



(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
16.10.1996 Patentblatt 1996/42

(51) Int. Cl.⁶: **H01J 49/04**, H01J 49/42

(21) Anmeldenummer: **95114449.2**

(22) Anmeldetag: **14.09.1995**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
CH DE FR GB LI NL

(71) Anmelder: **Bruker-Franzen Analytik GmbH**
D-28359 Bremen (DE)

(30) Priorität: **18.03.1995 DE 19509939**
02.06.1995 DE 19520282
30.06.1995 DE 19523859

(72) Erfinder:
• **Franzen, Jochen**
D-28359 Bremen (DE)
• **Schubert, Michael**
D-28209 Bremen (DE)

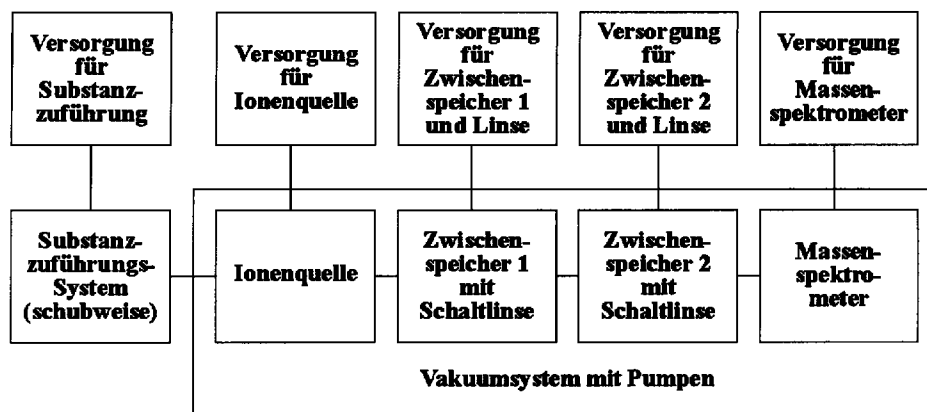
(54) **Zwischenspeicherung von Ionen für massenspektrometrische Untersuchungen**

(57) Die Erfindung betrifft Verfahren und Vorrichtungen für die Zwischenspeicherung von Ionen, die einer massenspektrometrischen Untersuchung zugeführt werden sollen.

Die Erfindung besteht darin, die an sich bekannte Zwischenspeicherung für solche Ionen zu verwenden, die in einer Ionenquelle aus zeitlich getrennt zugeführten Schüben einzelner Substanzen oder Substanzgemischen gewonnen werden. Der Zwischenspeicher nimmt dabei genügend Ionen eines Substanzschubes für mehrere nachfolgende massenspektrometrische Untersuchungen auf, so daß eine massenspektrometrische Charakterisierung der Substanzen, die auch ver-

schiedenartige Meßmethoden erfordern kann, in gewünschtem Maße ermöglicht wird.

Insbesondere sollen Ionen von elektrophoretisch oder chromatographisch getrennten Substanzschüben solange zwischengespeichert werden können, bis die massenspektrometrischen Untersuchungen in gewünschtem Umfang abgeschlossen sind. Mehrere Zwischenspeicher können die Ionen aus mehreren schnell aufeinanderfolgenden Substanzschüben aufnehmen. Aber auch kurzdauernde Substanzschübe aus laser-desorptiven oder pyrolytischen Vorgängen können durch Zwischenspeicherung eingehend untersucht werden.



Figur 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft Verfahren und Vorrichtungen für die Zwischenspeicherung von Ionen, die einer massenspektrometrischen Untersuchung zugeführt werden sollen. Eine solche Zwischenspeicherung von Ionen in einem Hochfrequenz-Multipol-Stabsystem für deren Analyse in einer Hochfrequenz-Quadrupol-Ionenfalle ist aus US 5 179 278 bekannt.

Die Erfindung besteht darin, die an sich bekannte Zwischenspeicherung für solche Ionen zu verwenden, die in einer Ionenquelle aus zeitlich getrennt zugeführten Schüben einzelner Substanzen oder Substanzgemischen gewonnen werden. Der Zwischenspeicher nimmt dabei genügend Ionen eines Substanzschubes für mehrere nachfolgende massenspektrometrische Untersuchungen auf, so daß eine massenspektrometrische Charakterisierung der Substanzen, die auch verschiedenartige Meßmethoden erfordern kann, in gewünschtem Maße ermöglicht wird.

Insbesondere sollen Ionen von elektrophoretisch oder chromatographisch getrennten Substanzschüben solange zwischengespeichert werden können, bis die massenspektrometrischen Untersuchungen in gewünschtem Umfang abgeschlossen sind. Mehrere Zwischenspeicher können die Ionen aus mehreren schnell aufeinanderfolgenden Substanzschüben aufnehmen. Aber auch kurzdauernde Substanzschübe aus laser-desorptiven oder pyrolytischen Vorgängen können durch Zwischenspeicherung eingehend untersucht werden.

Allgemeiner Stand der Technik

Die Speicherung von Ionen in Hochfrequenz-Quadrupol-Stabsystemen ist im Prinzip seit den Zeiten der Erfindung dieses Prinzips durch Wolfgang Paul bekannt.

Eine Anwendung dieser Speicherung ist in US 5 179 278 beschrieben. Hier werden Ionen aus einer Ionenquelle vor ihrer Analyse in einer Hochfrequenz-Quadrupol-Ionenfalle in einem Hochfrequenz-Multipol-Stabsystem zwischengespeichert. An dem Hochfrequenz-Multipol-Stabsystem wurden zur Speicherung der Ionen an beiden Enden Aperturblenden mit reflektierenden elektrischen Potentialen angebracht. Die Zwischenspeicherung dient der Sammlung von Ionen auch in derjenigen Zeitperiode, in der die Ionenfalle für die Analyse der Ionen benutzt wird, und daher keine Ionen aufnehmen kann. Es wird damit der zeitliche Ausnutzungsgrad sowohl der Ionenquelle wie auch der Ionenfalle erhöht. In US 179 278 wird dabei durch Berechnungen der Speicherkapazitäten von Hochfrequenz-Multipol-Ionenfallen und Hochfrequenz-Quadrupol-Stabsystemen abgeschätzt, daß je nach Ausführung des Stabsystems in dem Stabsystem die Ionen für weit mehr als nur eine Füllung der Ionenfalle zwischengespeichert werden können, es wird jedoch ausdrücklich betont, daß in der Speicherung von mehr

Ionen als für eine Füllung der Ionenfalle kein Sinn gesehen werde („there is little point in collecting more than the 1.1×10^7 ions that the ion trap can accept", Spalte 5, Zeile 22 ff.).

Die ungefilterte Zwischenspeicherung von Ionen ergibt jedoch, wie auch schon in US 5 179 278 durch Zahlenbeispiele ausgeführt wurde, an sich keine bedeutende Verbesserung, da sich mit dem Verfahren eine maximale Verbesserung des Ausnutzungsgrades von Ionenquellen oder Ionenfallen unter günstigsten Umständen um einen Faktor 2 ergibt, wie folgender Betrachtung entnommen werden kann: Liefert die Ionenquelle einen so geringen Ionenstrom, daß die Zeit der Befüllung der Ionenfalle weitaus länger dauert, als die Zeitdauer der Analyse in der Ionenfalle, so stellt die Zwischenspeicherung praktisch keine Verbesserung dar, da das Sammeln während der Analysezeit kaum einen Gewinn bringt. Liefert die Ionenquelle einen so hohen Ionenstrom, daß die Zeit der Befüllung sehr kurz ist im Vergleich zur Zeitdauer der Analyse, so ergibt sich wiederum keine Verbesserung, da das Sammeln während der Analysezeit keinen Sinn macht. Nur wenn die Zeitdauer der Befüllung etwa gleich der Zeitdauer der Analyse ist, ist das Sammeln der Ionen während der Analyse sinnvoll. Es muß für die Verbesserung um einen Faktor 2 aber noch zusätzlich die Bedingung erfüllt werden, die Ionenfalle aus dem Zwischenspeicher heraus sehr schnell befüllen zu können. Nur wenn diese Befüllungszeit aus dem Zwischenspeicher sehr kurz ist gegenüber der Zeitdauer der Analyse, läßt sich der maximal mögliche Faktor 2 zur Verbesserung der Ausnutzung erreichen.

Es ist jedoch so, daß Hochfrequenz-Quadrupol-Ionenfallen heutzutage außerordentlich schnell arbeiten. Im Massenbereich bis hinauf zu 500 atomaren Masseneinheiten kann ein Spektrum in etwa 15 Millisekunden aufgenommen werden. Selbst für den Massenbereich bis hinauf zu 2000 atomaren Masseneinheiten, der heute insbesondere für biochemische Probleme interessant wird, kann die Ionenfalle mit Untersuchungszeiten von etwa 100 Millisekunden arbeiten. Dagegen dauert die Befüllung der Ionenfalle aus den als Zwischenspeicher benutzten Hochfrequenz-Multipol-Stabsystemen, wie bereits in US 5 179 278 angegeben, einige 10 Millisekunden, ist also in jedem Falle vergleichbar mit den Zeiten der Ionenanalyse.

Diese Verhältnisse sind auch bereits den Zahlenbeispielen in US 5 179 278 zu entnehmen und waren daher auch dem Erfinder bekannt. Der Nutzen der Zwischenspeicherung wird in US 5 179 278 denn auch hauptsächlich darin gesehen, im Zwischenspeicher bereits unerwünschte Ionen ausfiltern zu können. Die Hauptansprüche sind daher bereits so formuliert, nur erwünschte Ionen zwischenzuspeichern, und unerwünschte Ionen von der Speicherung auszuschließen. Für die Filterung der erwünschten Ionen werden verschiedene Methoden angeführt. Erst durch diese filternde Zwischenspeicherung wird der Nutzungsgrad

ganz wesentlich erhöht. (Zur Zeit der Erfindung US 5 179 278 war es noch nicht bekannt, daß man in der Ionenfalle selbst beim Einspeichern der Ionen bereits unerwünschte Ionen ausfiltern kann).

Für die Ionen aus solchen Ionenquellen, die außerhalb des Vakuumsystems lokalisiert sind, und deren Ionen in das Vakuumsystem eingeführt werden, kann das Hochfrequenz-Multipol-Stabsystem auch zur Thermalisierung der während der Einführung beschleunigten Ionen benutzt werden, wie aus US 4 962 736 hervorgeht. US 4 962 736 ist zwar auf die Verwendung in Quadrupol-Massenspektrometern beschränkt, doch liegt es auf der Hand, dieses Verfahren auch für andere Massenspektrometer anzuwenden, die mit Ionen homogener kinetischer Energie arbeiten.

Zwischenspeicherung und Thermalisierung können jedoch nicht nur in Hochfrequenz-Multipol-Stabsystemen vorgenommen werden. Vom Anmelder dieser Patentanmeldung ist in Anmeldung BFA 25/95 beim Deutschen Patentamt eine neue Klasse von ionenoptischen Systemen vorgestellt worden, die als Führungssysteme, Speichersysteme und Thermalisierungssysteme verwendet werden können. Der beschreibende Text dieser Anmeldung soll hier vollinhaltlich eingeschlossen werden.

Die Möglichkeit der Zwischenspeicherung von Ionen ist bis auf das zitierte Patent bisher noch nicht weiter verfolgt worden, wenn auch Systeme für die Thermalisierung und Führung von Ionen inzwischen weitere Verbreitung gefunden haben und seit Anfang dieses Jahres in kommerziellen Massenspektrometern verschiedener Art Anwendung finden.

Andererseits ist es ein bisher ungelöstes massenspektrometrisches Problem, die massenspektrometrischen Meßverfahren an die immer kürzer werdenden Substanzschübe moderner Substanztrennverfahren anzupassen. Separationsverfahren wie Kapillarelektrophorese und Flüssigkeitschromatographie mit Mikrokapillarsäulen werden aus Gründen der Zeitersparnis zu immer schneller arbeitenden Verfahren entwickelt. Sie liefern heutzutage die aufgetrennten Substanzen in Schüben, die nur noch einige 10 bis 100 Millisekunden dauern. Die Massenspektrometrie ist gerade noch in der Lage, einzelne Übersichtsspektren der Substanzen aus den Substanzschüben zu liefern.

Für die massenspektrometrischen Untersuchungen an größeren organischen Molekülen, vor allem an Biomolekülen und Polymeren, werden aber heute immer kompliziertere massenspektrometrische Meß- und Charakterisierungsverfahren eingesetzt. Dabei ist es häufig notwendig, mehrere verschiedene Meßverfahren nacheinander einzusetzen, wobei die nachfolgenden Meßverfahren häufig von den vorausgehenden abhängen und von deren Ergebnissen gesteuert werden müssen. Ein Beispiel dazu ist das Verfahren zur Messung der Bruchstückionen (oder Tochterionen) ausgewählter Primärionen (oder Elternionen), für das zunächst das Primärionenspektrum aufgenommen werden muß, woraus dann erst die Elternionen bestimmt

werden. Noch komplizierter wird es bei der Aufnahme von Enkelionenspektren an ausgewählten Tochterionen.

Diese komplizierten massenspektrometrischen Meßverfahren lassen sich heute noch gar nicht mit physiko-chemischen Trennverfahren koppeln. Auch andere Formen der schubartigen Zuführung von Substanzen oder Substanzgemischen lassen sich mit diesen Verfahren nicht koppeln, da diese Verfahren bis heute eine kontinuierliche Zuführung der Substanzen über die Zeitdauer aller Messungen hinweg verlangen. Obwohl die einzelnen Meßverfahren nur jeweils einige 100 Millisekunden dauern, und eine sofortige Auswertung der Spektren durch die moderne Datenauswertung in Reichweite ist, kommen selbst bei automatischer Sofort-Auswertung sehr schnell viele Sekunden Meßdauer zusammen, ganz abgesehen davon, daß häufig mehrfache Wiederholungen der Messungen zur Verbesserung der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse und zur Bestätigung der Meßergebnisse wünschenswert sind.

Es bleibt also ein ungelöstes Problem, die Substanzen aus den Substanzschüben mit einmaliger Zuführung, also geringstem Substanzverbrauch, möglichst umfassend unter Ausnutzung der heute möglichen massenspektrometrischen Untersuchungsmethoden wie niederauflösende Massenspektren, hochauflösende Massenspektren, Neutralverlustspektren, Tochterionenspektren (MS/MS) ausgewählter Elternionen oder sogar Enkelionenspektren (MS/MS/MS) ausgewählter Töchter charakterisieren zu können. Die Arten der wünschenswerten Untersuchungen können sogar noch wesentlich erweitert werden, wenn Reaktantgase zugeführt und die entstehenden Produkt-Ionen wiederum durch die verschiedenen Verfahren analysiert werden, wodurch Aussagen über die Faltungsstrukturen komplizierter Moleküle möglich werden.

Aufgabe der Erfindung

Es ist ein Verfahren und eine Vorrichtung zu finden, mit denen Substanzen aus einem oder mehreren aufeinanderfolgenden Substanzschüben moderner Substanz-Zuführungssysteme in vielfältiger Weise mit verschiedenartigen massenspektrometrischen Untersuchungsmethoden möglichst umfassend auf verschiedenartige Eigenschaften hin untersucht werden können, ohne die Zuführung der Substanzen unter Erhöhung des Substanzverbrauchs und unter Verlängerung der Analysendauer mehrmals wiederholen zu müssen.

Die möglichst umfassende Untersuchung verschiedenartiger Eigenschaften werde hier kurz - der Literatur folgend - mit „Charakterisierung der Substanz“ bezeichnet. Die „Substanzschübe“ werden durch die kurze Zeitdauer charakterisiert, in der die Ionen einer Substanz für Messungen zur Verfügung stehen, wobei die Kürze der Zeitdauer relativ zur Gesamtzeit der Messungen zu sehen ist.

Bei den Zuführungssystemen kann es sich beispielsweise um elektrophoretische oder chromatographische Trennsysteme, aber auch um Laser-Desorptionen an Oberflächen, um schnelle Pyrolyseverfahren oder um andere Verfahren handeln, bei denen Substanzschübe erzeugt werden. Dabei soll es möglich sein, die Substanzen aus einzelnen Substanzschüben getrennt, oder aber auch mehrere Substanzschübe zusammengefaßt, unter verschiedenen Gesichtspunkten eingehend zu untersuchen.

Beschreibung der Erfindung

Es ist der Grundgedanke der Erfindung, den an sich bekannten, aber bisher nur in Verbindung mit Ionenfilterung genutzten Zwischenspeicher für Ionen so auszulegen, daß er die Ionen eines Substanzschubs, der der Ionenquelle zugeführt wird, möglichst vollständig aufnehmen kann, und die Ionen des Zwischenspeichers dann portionenweise massenspektrometrisch mit verschiedenartigen Verfahren zu untersuchen. Der Zwischenspeicher soll also so viele Ionen eines Substanzschubs des Zuführungssystems aufnehmen können, daß in aufeinanderfolgenden massenspektrometrischen Untersuchungen dieser Ionen aus dem Zwischenspeicher heraus mit verschiedenartigen Verfahren eine gewünschte Charakterisierung der Untersuchungssubstanz ermöglicht wird. Für jede Untersuchung wird dabei nur eine Teilmenge der Ionen aus dem Zwischenspeicher entnommen.

Eine solche Zwischenspeicherung der Ionen hat bis heute nicht nahegelegen. Auch heute noch ist die Ionisierung durch Elektronenstoß die vorherrschende Ionisierungsmethode für die massenspektrometrische Identifizierung von Substanzen, praktisch alle Massenspektren der kommerziell erhältlichen Spektrenbibliotheken sind so gewonnen. Die Erkennung einer Substanz durch diese Ionisierungsmethode beruht aber darauf, daß nicht nur Molekülionen, sondern auch Fragmentationen in bestimmten Proportionen gebildet und gemessen werden. Diese Messung muß schnell geschehen, da ein großer Teil dieser Ionen nicht stabil ist und im Laufe der Zeit zerfällt. Die bekannten Unterschiede der Massenspektren einer Substanz, die mit Magnetfeld-Massenspektrometern, Quadrupol-Massenspektrometern und Ionenfallen-Massenspektrometern gemessen wurden, beruhen weitgehend auf diesem Zerfall metastabiler Ionen, der wegen der verschiedenen Laufzeiten der Ionen in diesen Arten der Massenspektrometer verschieden weit fortschreitet, und so scheinbar das Massenspektrum verzerrt. Eine noch viel länger dauernde Zwischenspeicherung dieser Ionen würde das Massenspektrum noch weiter verzerren und einer Identifizierung der Substanzen entgegenstehen.

Für viele der heutigen massenspektrometrischen Untersuchungen an biochemischen Substanzen trifft das aber nicht mehr zu. Die dazu notwendigen Ionisierungsverfahren wie das Elektrosprühen (ESI), chemi-

sche Ionisierung bei Atmosphärendruck (APCI) oder die matrixunterstützte ionisierende Laser-Desorption (MALDI) erzeugen im wesentlichen nur unfragmentierte Ionen des ursprünglichen Moleküls, es werden ohne besondere Maßnahmen praktisch keine Fragmentationen gebildet. Für eine Charakterisierung dieser Substanzen unter Einsatz dieser Ionisierungsarten ist es daher mindestens notwendig, die Ionen während der massenspektrometrischen Analyse nachträglich zu fragmentieren, wie es durch die verschiedenartigen MS/MS-Verfahren wie Stoßgasfragmentierung in Ionenfallen oder in Stoßkammern von Tandem-Massenspektrometern (CID), Photonenfragmentierung in Ionenfallen (PID), oder durch „post source decay“ (PSD) in Flugzeitspektrometern geschieht. Intensivere Charakterisierungen verlangen sogar noch weitergehende Untersuchungen, wie MS/MS/MS oder Studien darüber, an welchen Stellen des ionisierten Moleküls Reaktantgasmoleküle angebunden werden können.

Die Erfindung findet ihre Anwendung daher primär durch diese neuen Arten der Ionisierung. Es soll jedoch diese Erfindung ausdrücklich nicht nur auf diese Arten der Ionisierung beschränkt werden. Auch bei den bisher üblichen Ionisierungsarten, etwa bei der Gemischanalyse mit Elektronenstoß und MS/MS, ergeben sich große Vorteile aus dieser Erfindung.

Es können für die Untersuchungen verschiedenartige massenspektrometrische Prinzipien verwendet werden, wie beispielsweise Hochfrequenz-Quadrupol-Ionenfallen, ICR-Massenspektrometer, oder auch Tandem-Massenspektrometer verschiedener Arten, wie beispielsweise das Dreifach-Quadrupol-Massenspektrometer („Triple Quad“). In Tandem-Massenspektrometern werden die Untersuchungs-Ionen („Elternionen“) beim Durchfliegen eines ersten Massenspektrometers ausgefiltert, in einer Stoßzelle fragmentiert, und in einem zweiten Massenspektrometer nach ionisierten Bruchstücken („Tochterionen“) analysiert. In Hochfrequenz-Quadrupol- wie auch in ICR-Ionenfallen werden diese Schritte in derselben Speicherzelle nacheinander ausgeführt, weswegen man auch von „zeitlicher Tandem-Massenspektrometrie“ („tandem in time“) spricht.

Bei diesen Untersuchungen können verschiedenartige massenspektrometrische Untersuchungsverfahren zur Anwendung kommen, wie die Aufnahme von jeweils nieder- und hochaufgelösten Primärspektren, Neutralverlustspektren, Tochterionenspektren ausgewählter Elternionen (MS/MS) oder sogar Enkelionenspektren ausgewählter Töchter (MS/MS/MS). Die Arten der Untersuchungen können sogar noch wesentlich erweitert werden, wenn den untersuchten Ionen Reaktantgase zugeführt und die entstehenden Produkt-Ionen analysiert werden. Die Reaktantgase können wiederum im Massenspektrometer, aber auch bereits im Zwischenspeicher zugeführt werden.

Bei den Substanzschüben kann es sich sowohl um Schübe sauber separierter Einzelsubstanzen aus physiko-chemischen Trennverfahren handeln, wie auch um Schübe aus Substanzgemischen mit vielen einzelnen

Substanzen, wie sie etwa in pulsartig durchgeführten pyrolytischen Zersetzungsprozessen oder durch Laserpulse desorbierende Oberflächenanalysen frei werden. Auch Ionen aus matrix-unterstützter Laser-Desorption (MALDI), insbesondere nach zweidimensionaler Trennung durch Gel-Elektrophorese, gehören zu dieser Gruppe von Zuführungssystemen mit Substanzschüben.

Bei Substanzschüben aus Separationsverfahren kann das Separationsverfahren nach der Füllung des Speichers mit Ionen abgeschaltet werden, wenn ein nächster Substanzschub naht, bevor die vorausgehende Substanz fertig untersucht ist. Sowohl elektrophoretische wie auch flüssigkeitschromatographische Verfahren können unterbrochen werden, ohne daß die Güte der Separation wesentlich verschlechtert wird. Auch die gaschromatographische Trennung kann man unterbrechen, aber hier leidet die nachfolgende Separation unter schlechterer Substanztrennung, da die Substanzen im Trägergas viel leichter diffundieren können, und das Abschalten des Trägergasflusses die Druck- und Volumenverhältnisse jedesmal drastisch ändert. Bei zweidimensionaler Gel-Elektrophorese ist die Trennung bei der Analyse bereits abgeschlossen, die Substanzschübe werden durch den Vorschub der Trägerplatten gegenüber dem Abtaststrahl des Lasers erzeugt.

Da nicht alle Separationsverfahren ohne Schaden unterbrechbar sind, auf jeden Fall aber die Unterbrechungen die Analysendauer verlängern, ist es ein weiterer Grundgedanke der Erfindung, mehrere Zwischenspeicher für Ionen aus mehreren Substanzschüben aus solchen elektrophoretischen oder chromatographischen Trennverfahren im Vakuumsystem des Massenspektrometers zu verwenden. Es können damit die Ionen aus Separationsverfahren auch dann ohne Abschalten des Separationsverfahrens zwischengespeichert werden, wenn einige Substanzschübe in so kurzen Zeiten aufeinanderfolgen, daß die Zeit zwischen den Schüben für eine gewünschte massenspektrometrische Charakterisierung nicht ausreicht. Das Auftreten von Situationen, in denen das Separationsverfahren selbst dann unterbrochen werden muß, wird wegen der normalerweise ungleichen Verteilung der Substanzschübe über die Separationszeit ganz wesentlich herabgesetzt.

Der Zwischenspeicher in US 5 179 278 arbeitet als Durchgangsspeicher, die jetzige Erfindung soll aber ausdrücklich nicht nur auf diese beschränkt werden. Durchgangsspeicher bilden aber die einfachste Art der Zwischenspeicherung. Sie haben einen als solchen festgelegten Eingang für die Ionen, die gespeichert werden sollen, und einen normalerweise gegenüberliegenden Ausgang, durch den die Ionen den Speicher verlassen.

Es ist ein weiterer Grundgedanke der Erfindung, den Durchgangsspeicher so auszubilden, daß er die Ionen mit einem permanenten oder temporären Antrieb in Richtung Ionenausgang treibt. Dadurch wird die

Befüllung des Zwischenspeichers einfacher, da die Ionen sofort vom Ioneneingang hinweggetrieben werden und sich dort keine Raumladungssperre ausbilden kann. Außerdem wird die Entnahme von Ionen einfacher und schneller, da die Ionen bereits vor dem Ausgang versammelt sind und dort durch den Ionenantrieb eine bestimmte Ionendichte aufrechterhalten wird. Ohne einen solchen Antrieb der Ionen in Richtung Ausgang werden die Ionen, wie in US 5 179 278 geschildert, innerhalb des Zwischenspeichers mit thermischer Geschwindigkeit zwischen den reflektierenden Potentialen an Ioneneingang und Ionenausgang längs der Achse des Stabsystems hin- und herpendeln, wodurch die Leerungszeit auf mindestens zwei volle Pendelbewegungen, das heißt auf einige 10 Millisekunden, gedehnt wird.

Der Antrieb der Ionen innerhalb des Zwischenspeichers in Richtung Ionenausgang kann auf verschiedene Weise verwirklicht werden. So ist es bei allen Zwischenspeichern möglich, ein schwaches elektrisches Gleichfeld längs der Achse zu erzeugen, das die Ionen Richtung Ausgang treibt, wo sie während der Speicherphase in erwünschter Weise durch das schaltbare Reflektionspotential am Ausfluß gehindert und so gespeichert werden.

In Multipol-Stabsystemen kann ein Gleichfeld erzeugt werden, indem alle Stäbe, zusätzlich zu ihrer Versorgung mit einer Hochfrequenzspannung, gleichsinnig von einem Gleichstrom durchflossen werden. Dabei ist es vorteilhaft, die Stäbe aus einem Widerstandsmaterial zu fertigen. Eine Erzeugung einer achsialen Gleichfeldkomponente in Ringsystemen oder in Doppelhelix-Speichern ist in BFA 25/95 beschrieben.

Andererseits kann ein permanenter Antrieb in Richtung Ionenausgang auch dadurch erzeugt werden, daß statt eines zylindrischen Speichers ein konischer verwendet wird. Bei einem konischen Multipol-Stabsystem, aber auch bei allen anderen Hochfrequenz-Ionenleitsystemen, werden die Ionen innerhalb des Speichers durch ein schwaches Pseudo-Potentialfeld permanent in Richtung der Öffnungserweiterung getrieben. Allerdings ist es ein Nachteil des konischen Multipol-Stabsystems, daß der Pseudo-Potentialwall zum Einsperren der Ionen zum weiter geöffneten Ende des Stabsystems hin immer niedriger wird.

Diesen Nachteil hat der in BFA 25/95 beschriebene, als Doppel- oder Mehrfachhelix ausgebildete Speicher nicht, wenn dabei die Windungen der Helices auch im weiter geöffneten Bereich des Konus den gleichen Abstand behalten. Die Doppelhelix und deren höhere Abkömmlinge wie Vierfachhelix oder Sechsfachhelix eignen sich daher in besonders guter Weise als Zwischenspeicher.

Eine Anordnung von mehreren Zwischenspeichern in Reihe kann leicht durch solche Durchgangsspeicher verwirklicht werden. Bei der Benutzung der Reihenanordnung werden die Ionen des ersten Substanzschubes bis zum letzten Speicher vor dem Massenspektrometer durchgeleitet, und von dort aus massenspektrometrisch

in der beschriebenen Weise untersucht. Die Ionen eines kurz darauf erscheinenden Substanzschubes werden bis zum zweitletzten Speicher geleitet und dort gespeichert, wenn die Analyse des vorhergehenden Schubes noch nicht abgeschlossen ist. Die Ionen eines dritten Substanzschubes können in einem drittletzten Speicher untergebracht werden. Ist dann die Analyse der Ionen im letzten Speicher abgeschlossen, so wird dieser letzte Speicher durch kurzfristiges Abschalten der Hochfrequenzspannung vollständig entleert, und die Ionen des vorletzten Speichers werden hierher überführt. In analoger Weise werden dann auch die Ionen der anderen Speicher weitergereicht („Eimerkettenprinzip“).

Der Ausfluß der Ionen aus dem Zwischenspeicher wird durch das Öffnen des Reflektors am Ende des Zwischenspeichers ermöglicht. Es ist günstig, hier Schalltinsen einzusetzen, die die ausfließenden Ionen aus einem kleinen Bereich des Zwischenspeichers absaugen und in die nächste Stufe der Verarbeitung dieser Ionen hinein fokussieren können. Der kleine Einzugsbereich der Schalltlinse wird durch das Nachströmen der Ionen wieder gefüllt, vor allem dann, wenn die Ionen einem Vortrieb zum Ausgang unterliegen.

Bei gleichen Verhältnissen an der Schalltlinse ist damit die Ausflußgeschwindigkeit der Ionen nur noch von der Ionendichte im Zwischenspeicher, also vom Füllgrad, abhängig. Dieser Zusammenhang kann experimentell bestimmt und beispielsweise dazu benutzt werden, die Füllung von Ionenfallen in aufeinanderfolgenden Füllungen immer gerade bis zur Raumladungsgrenze zu steuern, oder aber auch durch Veränderung der Linsenspannung einen gleichmäßigen Ausfluß zu erzeugen, wie er etwa für ein nachfolgendes Tandem-Massenspektrometer gebraucht wird.

Auch die selektive Befüllung einer Ionenfalle mit ausgewählten Elternionen bis knapp an die Raumladungsgrenze heran kann so gesteuert werden. Dabei wird während der Befüllung in bekannter Weise eine Filterung der Ionen vorgenommen, meist durch die Einstrahlung eines Frequenzgemisches, das die unerwünschten Ionen aus der Ionenfalle treibt, die erwünschten aber in ihr beläßt. Aus dem Primärionenspektrum ist das Verhältnis der ausgewählten Elternionen zur Gesamtladung bekannt, und aus der bekannten Füllgeschwindigkeit und dem bekannten Wirkungsgrad der Filterung kann die Befüllung bis zum optimalen Füllungsgrad gesteuert werden.

Kurze Beschreibung der Bilder

Figur 1 zeigt ein Blockdiagramm eines Massenspektrometers mit zwei Zwischenspeichern gemäß dieser Erfindung. Ein Substanzzuführungssystem führt Substanzen schubweise einer Ionenquelle zu, die sich in diesem Beispiel im Vakuumsystem des Massenspektrometers befindet. Als schubweise arbeitende Substanzzuführungssysteme kommen beispielsweise alle chromatographischen und elektrophoretischen Trenn-

verfahren, aber auch pyrolytische oder laser-desorptive Verfahren infrage. Die Ionen aus den Substanzschüben können in den beiden Zwischenspeichern 1 und 2 aufbewahrt werden. Die Ionen des Zwischenspeichers 2 werden portionenweise im Massenspektrometer untersucht, bis eine genügende Charakterisierung der Substanzen des Substanzschubes erreicht ist, oder die Ionen verbraucht sind. Die Zwischenspeicher können durchaus so dimensioniert werden, daß sie Ionen für eine große Zahl nachfolgender massenspektrometrischer Untersuchungen aufnehmen können. Raumladungsbegrenzungen spielen bei Zwischenspeichern eine nur untergeordnete Rolle.

Figur 2 zeigt einen solchen Zwischenspeicher, der hier als Doppelhelix (4) ausgelegt ist. Die Doppelhelix (4) befindet sich zwischen dem Linsensystem (1, 2, 3) am Eingang des Zwischenspeichers und dem Linsensystem (7, 8, 9) am Ausgang des Zwischenspeichers. An den Blenden (3) und (7) liegt dabei ein Potential, das die Ionen jeweils in die Doppelhelix zurücktreibt. Die Hochfrequenzspannung für die Speicherung wird über die Anschlüsse (5) und (6) zugeführt. Durch die Schaltung des Potentials an der Linsenapertur (8) können die Ionen aus dem Zwischenspeicher ausgesaugt und einem nachfolgenden System zugeführt werden.

Figur 3 zeigt eine besondere Art der Reflektion der gespeicherten Ionen am Ende der Doppelhelix, hier ausgeführt als HF-versorgte Doppelspirale auf einem isolierenden Träger (7a). Der Träger (7a) ersetzt die Potentialblende (7) der Ausgangslinse in Figur 2. Die Doppelspirale wird durch die gleiche Hochfrequenzspannung versorgt wie die Doppelhelix (4). Die Doppelspirale auf dem Träger (7a) hat gegenüber einer metallisch leitenden Potentialblende (7) den Vorteil einer viel geringeren Reichweite des reflektierenden Pseudo-Potentials, so daß mehr Ionen gespeichert werden können, und die Entnahme der Ionen aus dem Zwischenspeicher schneller vonstatten geht.

Figur 4 gibt eine Anordnung eines Massenspektrometers mit drei Zwischenspeichern als Prinzipskizze wieder, wobei die einzelnen Funktionseinheiten nur symbolisch, und die elektrischen und vakuumtechnischen Versorgungseinheiten überhaupt nicht dargestellt sind. Die Ionenquelle befindet sich hier - anders als im Blockschaltbild der Figur 1 - außerhalb des Vakuumsystems des Massenspektrometers. Die schubweise Zuführung der Substanzen wird von einer chromatographischen oder elektrophoretischen Kapillarsäulentrenneinrichtung übernommen, wobei hier nur symbolisch die Trennkapillare (10) gezeigt ist. Die Substanzen werden zunächst in einer Detektionseinheit (11) detektiert, die beispielsweise eine UV-Absorptionseinheit sein kann, und dann der Nadel (12) einer Elektrospüh-Ionenquelle zugeführt. Zwischen dieser Nadel (12) und der Eingangskapillaren (13), die die Ionen in das Vakuumsystem überführt, liegt eine Elektrospüh-Spannung von einigen Kilovolt, durch die sowohl die Trägerflüssigkeit wie auch die darin gelösten Untersuchungssubstanzen versprüht werden. Dabei werden in der Regel

die Moleküle der Untersuchungssubstanzen vollständig und fragmentierungsfrei ionisiert.

Durch die Eingangskapillare (13) wird ein kräftiger Strom an Umgebungsgas in die Vakuumkammer (14), die über Stutzen (25) be-
pumpt wird, gesaugt. In diesem Strom wird ein Teil der Ionen viskos mitgenommen. Der Gasstrom dehnt sich in der Kammer (14) der ersten Differenzpumpstufe adiabatisch aus, wobei die mitgenommenen Ionen auf Geschwindigkeiten von etwa 1000 Metern pro Sekunde beschleunigt werden. Ein Teil der Ionen kann die Vakuumkammer (14) durch die feine Öffnung im Abstreifer (15) verlassen und tritt in die Vakuumkammer (17) der nächsten Differenzpumpstufe ein, die durch den Stutzen (26) be-
pumpt wird. Die Ionen treten dabei in den Zwischenspeicher (16) ein. In diesem Zwischenspeicher (16) werden die Ionen eingefangen, sie verbleiben dort so lange, bis sich ihre kinetischen Energien thermalisiert haben, was bei dem herrschenden Druck von etwa 10^{-2} Millibar nur wenige 10 Millisekunden dauert.

Die thermalisierten Ionen des ersten Substanzschubes werden dann durch den Zwischenspeicher (18) in den Zwischenspeicher (20) geführt und dort wiederum gespeichert. Aus diesem Speicher werden die Ionen portionenweise in das als Hochfrequenz-Quadrupol-Ionenfalle dargestellte Massenspektrometer überführt und dort analysiert. Die Ionenfalle besteht aus den beiden Endkappen-Elektroden (21) und (23), und der Ringelektrode (24). Die Ionen werden bei den Analysenverfahren massenselektiv aus der Ionenfalle durch die Endkappe (23) ausgeworfen und im Ionendetektor (24) gemessen.

Figur 5 zeigt ein Diagramm der Trennung von Substanzen in einem Trennsystem. Die zeitlich getrennten Substanzen (a) bis (i) werden als Substanzschübe der Ionenquelle zugeführt und ionisiert. Wird ein Massenspektrometer nach Figur 4 mit drei Zwischenspeichern benutzt, so können die Ionen der rasch aufeinanderfolgenden Substanzschübe (a), (b) und (c) in den letzten (20), vorletzten (18), und drittletzten Zwischenspeicher (16) gebracht und dort gespeichert werden. Die Ionen der Substanzschübe (a), (b) und (c) können dann analysiert werden, bevor Substanzschub (d) eintrifft, dessen Ionen daher wieder im letzten Zwischenspeicher (20) eingelagert werden können. Bevor Substanzschub (e) eintrifft, sind die Ionen von (d) bereits analysiert. Die Schübe (e), (f) und (g) können daher wieder zwischengespeichert werden. Anders aber Substanzschub (h), hier muß, etwa bei der gestrichelten Linie, das Separationsverfahren für kurze Zeit unterbrochen werden, allerdings nur so lange, bis die Ionen des Substanzschubs (e) analysiert sind.

Besonders günstige Ausführungsformen

Die hier geschilderte Ausführungsform betrifft die Kopplung eines Ionenfallen-Massenspektrometers mit dem Trennverfahren der Kapillar-Elektrophorese, wie sie insbesondere für die Trennung von Proteinen

benutzt werden kann. Die Ionisierung erfolgt durch Elektrosprühen an Atmosphärendruck, wodurch sich die im Elektrolyten der Elektrophorese gelösten Proteine fragmentierungsfrei mit praktisch vollständiger Ausbeute ionisieren lassen. Eine solche Anordnung mit drei Zwischenspeichern ist als Prinzipskizze in Figur 4 wiedergegeben. Aus der Prinzipskizze wird jeder Fachmann die Anordnung der meist kommerziell erhältlichen Funktionselemente herstellen können.

Diese Ausführungsform ist insofern besonders günstig, als sie die sehr schnelle Kapillar-Elektrophorese mit ihren sehr kurzdauernden Substanzschüben mit einer Art der Massenspektrometrie koppelt, die sich in vielfältiger Weise variieren läßt, einschließlich der Aufnahme von Tochter- und Enkelionenspektren, und einschließlich der Einschaltung von Ionen-Molekül-Reaktionen mit beliebigen Reaktantgasen und der Analyse der Produkt-Ionen. Diese Arten der Untersuchungen brauchen jedoch ihre Zeit, zumal wenn mehrere solche Verfahren in Folge mit Rücksteuerung aus den Ergebnissen der vorangehenden Analysen stattfinden sollen, und waren bis zu dieser Erfindung überhaupt nicht mit schnellen Trennverfahren koppelbar, selbst wenn in den Trennverfahren nur sehr wenige Substanzen aufgetrennt wurden.

Die Prinzipskizze in Figur 4 gibt die Kapillarelektrophorese nur symbolisch durch die Kapillarsäule (10) wieder. Am Ende der Kapillarsäule wird der Substanzfluß detektiert, um die Substanzschübe festzustellen. Die Detektion kann beispielsweise durch eine kommerzielle UV-Absorptionseinheit (11) innerhalb der Kapillare geschehen.

Die Kapillarsäule endet in einer Elektrosprühnadel (12). Zwischen dieser elektrisch leitfähigen Nadel (12) und der Stirnfläche der Eingangskapillare (13) wird eine Elektrosprühspannung von einigen Kilovolt Spannung angelegt. Das an der Spitze der Nadel stark inhomogene elektrische Feld zieht dabei einen praktisch kontinuierlichen Strom winziger Tröpfchen aus der Elektrophoreseflüssigkeit. Es ist dabei zweckmäßig, die Elektrosprühnadel coaxial mit einer zweiten Nadel zu umgeben, die einen Ausgleich der Flüssigkeitsströme herbeiführen kann, da die Elektrophorese einen elektroosmotischen Flüssigkeitsvortrieb liefert, der sehr klein ist und sogar in die Elektrosprühnadel hinein gerichtet sein kann, während die elektrophoretisch wandernden Untersuchungssubstanzen aus der Nadel herauswandern. Die winzigen Flüssigkeitströpfchen sind stark elektrisch aufgeladen und verdunsten rasch, wobei in der Regel in einem noch nicht voll geklärten Mechanismus die großen Substanzmoleküle geladen zurückbleiben.

Die geladenen Tröpfchen und die geladenen Moleküle werden im elektrischen Feld auf die Stirnfläche der Eingangskapillare (13) hin bewegt, wobei ein Gleichgewicht aus Zugkraft des elektrischen Feldes und Bremskraft im umgebenden Gas herrscht. Dieser Vorgang ist als „Ionenmobilität“ bekannt. Normalerweise wird dem Zwischenraum zwischen Elektrosprühnadel (12) und

Eingangskapillare (13) ein angewärmtes, sauberes Gas, meist Stickstoff, zugeführt, um den Verdunstungsvorgang zu begünstigen und den Flüssigkeitsdampf nicht in das Vakuum gelangen zu lassen.

Von der Eingangskapillare (13), die etwa 15 Zentimeter Länge und einen inneren Kapillardurchmesser von 500 Mikrometer hat, wird ein kontinuierlicher Gasstrom in das Vakuum der ersten Differenzpumpkammer (14) des Vakuumsystems transportiert. Dabei wird ein Teil der Ionen viskos in die Eingangskapillare (13) eingesaugt, und von diesen Ionen gelangt wiederum ein Teil ohne entladende Wandstöße bis in die Kammer (14). Im letzten Teil der Kapillare findet eine starke Beschleunigung des Gases durch die adiabatische Ausdehnung statt, durch die die Ionen eine Geschwindigkeit von etwa 1000 Metern pro Sekunde bekommen. In der Kammer wird von einer Vorvakuumpumpe über den Pumpstutzen (25) normalerweise ein Druck von einigen Millibar aufrechterhalten.

In der Kammer (14) kann ein Teil der Ionen, unterstützt von einem leichten elektrischen Feld, die Kammer (14) durchqueren und durch eine feine Öffnung von etwa 1,2 Millimeter Durchmesser in der Spitze des Abstreifers (15) in die nächste Kammer (17) der Differenzpumpeinrichtung gelangen. Diese Kammer (17) wird durch eine Turbomolekularpumpe über Stutzen (26) auf einem Druck von einigen 10^{-2} Millibar gehalten.

Die durch den Abstreifer (15) in die Kammer (17) eintretenden Ionen werden praktisch verlustfrei vom Zwischenspeicher (16) eingefangen und aufgenommen. Durch den relativ hohen Vakuumdruck von einigen 10^{-2} Millibar werden ihre kinetischen Geschwindigkeiten in wenigen 10 Millisekunden thermalisiert. Es ist daher zweckmäßig, alle Ionen eines Substanzschubes zunächst in diesem Zwischenspeicher aufzunehmen, sie dort nach Beendigung des Substanzschubes noch für etwa 30 Millisekunden zwischenzuspeichern, und erst dann in die nächsten Speicher (18) oder (20) weiterzuleiten.

Der Zwischenspeicher (16) besteht im optimalen Fall aus einer konisch geformten Doppelhelix, wie sie in Figur 2 dargestellt ist. Die beiden Anschlußdrähte (5) und (6) der Doppelhelix werden mit den beiden Phasen der Hochfrequenzspannung eines entsprechenden HF-Generators verbunden. Die Innenwände der Doppelhelix reflektieren die Ionen in gleicher Weise wie die Innenwände eines Hochfrequenz-Multipol-Stabsystems, doch kann bei der Doppelhelix das reflektierende Pseudo-Potential durch gleichbleibende Abstände der Wendeln auch im Falle eines konischen Systems gleich hoch gehalten werden, anders als bei Multipol-Stabsystemen, bei denen die Höhe des Pseudo-Potentials zum offenen Ende des Konus abnimmt. Die konische Form erzeugt einen permanenten Vortrieb der Ionen zum offeneren Ende des Konus zu, dieser Antrieb ist durch ein schwaches Pseudo-Potential in Achsenrichtung gegeben.

Der Zwischenspeicher (16) ist beidseitig durch reflektierende elektrische Potentiale verschlossen. Am

Eingang in den Zwischenspeicher ist es ein reales Potential zwischen Abstreifer (15) und dem Mittenpotential der Hochfrequenzspannung. Am Ausgang kann man durch eine Doppelspirale (7a), wie sie in Figur 3 wiedergegeben ist, einen günstigeren Abschluß erreichen. Die Doppelspirale ist mit der gleichen Hochfrequenzspannung verbunden, die auch die Doppelhelix versorgt, dadurch wird ein reflektierendes Pseudo-Potential erzeugt, das eine viel geringere Reichweite hat als ein reales Potential mit flächenhafter Ausdehnung. Die Doppelspirale kann beispielsweise durch Aufdampfen eines spiraligen Leiters auf einem Isolator erzeugt werden. Der Isolator kann wiederum sehr einfach auf der Wand der Kammer (17) befestigt werden. Die Herstellung einer mechanisch außerordentlich stabilen, aber gasdurchlässigen Doppelhelix ist in Anmeldung BFA 25/95 beschrieben.

Die Doppelspirale bildet einen Teil einer Schalllinse, die mit einer Mittelapertur (8) ausgestattet ist. Wird die Mittelapertur auf ein ionenabweisendes Potential geschaltet, so ist der Ausgang verschlossen. Wird aber ein saugendes Potential angelegt, so ist der Ausgang geöffnet. Die Ionen aus der Nähe der Linsenöffnung werden angesaugt, in die Linse hinein beschleunigt, dabei fokussiert, und abbremsend in den nächsten Zwischenspeicher (18) geschneilt.

Die beiden Zwischenspeicher (18) und (20) befinden sich beide in der Hauptkammer (19) des Vakuumsystems, die durch eine Turbomolekularpumpe über Stutzen (27) bepumpt wird. Beide Zwischenspeicher (18) und (20) haben einen Aufbau wie der Zwischenspeicher (16), nur wird die eingangsseitige Potentialdifferenz nicht vom Abstreifer (15), sondern von der jeweilig letzten Apertur der Linse der vorausgehenden Stufe gebildet.

Der Ausgang aus dem Zwischenspeicher (20) bringt die Ionen in das Ionenfallen-Massenspektrometer, das aus zwei Endkappen (21) und (23) und aus der Ringelektrode (22) besteht. Auf die Funktion des Ionenfallen-Massenspektrometers wird hier nicht weiter eingegangen, da sie jedem einschlägigen Fachmann bekannt ist. Es soll aber bemerkt werden, daß die Befüllung eines solchen Ionenfallen-Massenspektrometers sehr kritisch ist, da oberhalb einer Schwelle für die Füllmenge die Funktion des Massenspektrometers durch Raumladungseinwirkungen beeinträchtigt wird. Insbesondere nimmt die Massenauflösung ab. Ab der zweiten Befüllung kann nun der Befüllvorgang aus den Ergebnissen der ersten Spektrenmessung, bei der unter anderem auch die Totalladung in der Ionenfalle gemessen wird, und aus der bekannten Abnahme der Ionenanzahl im Zwischenspeicher (20) so gesteuert werden, daß keine Überladung der Ionenfalle eintritt. Der Beladungsvorgang kann experimentell kalibriert werden.

Enthält ein Substanzschub der Elektrophorese nur 10 Femtomol einer Substanz, so sind das 6×10^9 Moleküle. 10 Femtomol einer Substanz sind außerordentlich wenig, diese geringe Menge ist kaum hinreichend für

eine UV-Detektion. Zum Vergleich: Ein Fleck einer Gel-Elektrophoreseplatte braucht mindestens 100 Picomol bis 10 Mikromol, um nach dem Einfärben sichtbar zu werden, also mindestens 10000mal mehr Substanz für eine visuelle Detektion. Die Moleküle dieser 10 Femtomol Substanz werden in der Elektrosprüh-Ionenquelle praktisch vollständig ionisiert. Kann man nun 1/1000 der gebildeten Ionen in einen Zwischenspeicher im Vakuum überführen, so werden 6×10^6 Ionen gespeichert. Die Ionenanzahl einer Ionenfalle an der Raumladungsgrenze wird häufig fälschlich mit 10^6 Ionen angegeben, in Wirklichkeit liegt sie bei einer Hochleistungs-Ionenfalle bei nur etwa 3×10^4 Ionen. Kann man jeweils 10 % einer entnommenen Ionenportion in die Ionenfalle überführen und dort speichern, so reichen die 10 Femtomol des Substanzschubes für 20 Füllungen der Ionenfalle. Dieses Zahlenbeispiel demonstriert die hohe Empfindlichkeit massenspektrometrischer Verfahren.

Die Zahlen des Beispiels liegen allerdings heute noch im Grenzbereich des Machbaren und lassen sich heute nur unter günstigen Verhältnissen erreichen. Es ist jedoch zu erwarten, daß sie mit fortschreitender Technik, Erfahrung und Entwicklung routinemäßig erreicht werden können. In einem Zwischenspeicher lassen sich aber sehr viel mehr Ionen speichern, als in diesem Beispiel angegeben. Ein gut konstruierter Zwischenspeicher nimmt etwa 10^9 Ionen auf, also gut das hundertfache des obigen Beispiels. Unter den oben angegebenen günstigen Verhältnissen können also immer noch alle in das Vakuum überführte Ionen eines Substanzschubs aufgenommen werden, der etwa einem Picomol einer Substanz entspricht. Mit dieser Anzahl von Ionen kann die Ionenfalle etwa 2000mal gefüllt werden, wenn die Füllung ohne Filterung der Ionen vorgenommen wird. Es ist aber gerade die Stärke der Verfahren, nur ausgewählte Ionen zu untersuchen, also die Ionen bei ihrer Einspeicherung in die Ionenfalle so zu filtern, daß nur eine einzige Ionensorte gespeichert wird. Mit dieser Technik geht die Anzahl der möglichen Füllungen wieder stark zurück.

In dem Zahlenbeispiel wurde angenommen, daß nur jeweils ein Ion aus 10000 für die Analyse zur Verfügung steht. Die anderen 9999 Ionen gehen bei der Überführung ins Vakuum und in die Ionenfalle verloren. Wenn in der Zukunft eine verlustfreie Überführung möglich sein wird, können möglicherweise Substanzmengen von 1 Picomol oder sogar 100 Attomol entsprechend charakterisiert werden.

Das Meßverfahren kann am besten anhand des Substanzflusses eines Elektrophorese-Chromatogramms beschrieben werden, wie es in Figur 5 dargestellt ist. Es werde angenommen, daß sich um eine Mischung aus Peptiden handelt, die sich aus einem unbekannten Eiweiß durch Schneiden mit Trypsin hergestellt wurde. Dieses Verfahren ist in der Biochemie weit verbreitet und wird standardmäßig für die Identifizierung von Eiweißen angewandt. Sobald durch den Substanzdetektor (12) ein erster Substanzschub (a)

dieser Peptidmischung festgestellt worden ist, wird der Ausgang des ersten Zwischenspeichers (16) geschlossen, damit die Ionen des Substanzschubs (a) darin gespeichert werden können. Sind die Ionen des Substanzschubs (a) vollständig aufgenommen, wird noch etwa 30 Millisekunden gewartet, um die Thermalisierung zu vollenden, und die Ionen dieses Substanzschubs (a) werden dann bis in den letzten Zwischenspeicher (20) weitergeleitet und dort gespeichert.

Es beginnt sodann die Untersuchung dieser Ionen des Substanzschubs (a). Beispielsweise wird zunächst ein normales, niederaufgelöstes Spektrum aufgenommen, wobei festgestellt wird, daß es sich um n -fach, $(n+1)$ -fach, $(n+2)$ -fach, ..., $(n+i)$ -fach geladene Ionen eines Peptids mit einem aus dem Spektrum berechenbaren Molekulargewicht m handelt. In einem nächsten Untersuchungsschritt können beispielsweise die zweifach geladenen Ionen dieses Peptids mit bekannten Methoden isoliert in die Ionenfalle eingespeichert, sodann durch leichte Energiezufuhr stoßfragmentiert und anschließend analysiert werden. Dabei kann ein Fragmentspektrum gemessen werden, das bereits zu einer ersten Aminosäuresequenzanalyse dieses Peptids führt. Da sich jedoch zwei der etwa zwanzig Aminosäuren nicht durch ihr Molekulargewicht unterscheiden, kann es sich als notwendig erweisen, in einem dritten Schritt ein Enkelionenspektrum einer ausgewählten Tochter zu messen, um zu einer eindeutigen Sequenz zu kommen. Diese Art der Analyse gehört zu den einfachsten Untersuchungen, und anhand der Sequenz einiger Peptide läßt sich das untersuchte Eiweiß identifizieren, falls es schon bekannt ist. An unbekannten Eiweißen läßt sich eine Reihe von Teilsequenzen bestimmen.

Mittlerweile sind die Ionen des Substanzschubs (b) im Zwischenspeicher (18) gespeichert, und die Ionen des Substanzschubs (c) im Zwischenspeicher (16). Nach der Untersuchung der Ionen des Substanzschubs (a) wird nun der Zwischenspeicher (20) einfach vollkommen geleert, indem die Hochfrequenzspannung für etwa 20 Millisekunden abgeschaltet wird. Anschließend werden die Ionen aus Zwischenspeicher (18) in den Zwischenspeicher (20) überführt und aus diesem heraus analysiert. Die Ionen aus Zwischenspeicher (16) werden in den Zwischenspeicher (18) gebracht, und Zwischenspeicher (16) steht wieder für die Speicherung der Ionen eines neuen Substanzschubs zur Verfügung.

Auf diese Weise lassen sich die Substanzschübe ohne Abschalten der Elektrophorese nacheinander untersuchen. Nur wenn, wie im Fall der Substanzschübe (e), (f), (g) und (h), die Substanzschübe so dicht aufeinanderfolgen, daß die Zeit zur Untersuchung nicht zur Verfügung steht, muß die Elektrophorese durch Abschalten der Elektrophoresespannung kurzzeitig unterbrochen werden.

Die Zwischenspeicher können eine sehr große Menge an Ionen aufnehmen, da bei ihnen schädliche Einflüsse durch die Raumladung nur in sehr geringem

Maße beobachtet werden. Der Zwischenspeicher reicht, wie oben durch das Zahlenbeispiel erläutert, durchaus für etwa 2000 unselektierte Füllungen der Ionenfalle aus, wie sie für die Aufnahme einfacher Massenspektren gebraucht werden. Einerseits steht meistens überhaupt nicht soviel Untersuchungssubstanz zur Verfügung, um mit einem Substanzschub den Speicher wirklich zu füllen. Andererseits werden bei der Aufnahme der Tochtterspektren von selektierten Elternionen nur die ausgewählten Elternionen in die Ionenfalle eingespeichert und die übrigen Ionen vernichtet, somit ist für diese filternde Einspeicherung die Anzahl von Tochtterspektren (und Enkelspektren) entsprechend der Konzentration der Elternionen (oder sogar Tochterionen) weitaus geringer.

Die Erfindung ist aber nicht auf die hier beschriebene besonders günstige Ausführungsform beschränkt. Dieser besonders günstigen Ausführungsform stehen vielmehr eine große Anzahl leicht abgewandelter Ausführungsformen gegenüber, die alle ihre speziellen Vorteile haben. Die Abwandlungen können leicht von einem einschlägigen Fachmann vorgenommen werden, sie werden daher nicht in der obigen Ausführlichkeit beschrieben.

So kann nicht nur die Kapillarelektrophorese entsprechende Substanzschübe liefern, sondern auch die Flüssigkeitschromatographie, insbesondere eine mit Mikrosäulen. Selbst die Gaschromatographie läßt sich auf diese Weise einsetzen, wobei es bei der letzteren günstig sein kann, die Anzahl der Zwischenspeicher noch zu erhöhen.

Die Detektion der Substanzschübe braucht nicht durch UV-Detektoren zu erfolgen. Durch das Verfahren der Aufteilung von Trägergas- oder Flüssigkeitsströmen („splitting“) kann ein Teilstrom in jedem handelsüblichen Detektor analysiert werden, um die Substanzschübe zu detektieren. So kann neben vielen anderen Detektoren beispielsweise der in der Gaschromatographie übliche Flammenionisationsdetektor (FID) benutzt werden. Es kann aber insbesondere auch eine Doppelionenquelle verwendet werden, bei der ein Teilionenstrom für die Detektion der Substanzschübe abgezweigt wird. Auch kann ein Teil des Ionenstroms nach Überführung der Ionen ins Vakuum abgezweigt und gemessen werden.

Die Substanzschübe brauchen auch nicht von physikalisch-chemischen Trennverfahren geliefert werden. Es können die Substanzschübe auch aus gepulsten Pyrolysen, beispielsweise den bekannten Curie-Punkt-Pyrolysen, oder aus Desorptionen stammen, die durch Laser-Pulse induziert wurden. In diesem Fall ist eine Detektion der Substanzschübe nicht notwendig, da die Zeiten für das Auftreten der Substanzschübe bereits bekannt sind. Für diese Arten der Analyse sind auch weniger Zwischenspeicher erforderlich, da die Taktrate ja vom Verfahren selbst gesteuert werden kann. Soll die Thermalisierung weiterhin in einem eigenen Zwischenspeicher erfolgen, so genügen insgesamt zwei Zwischenspeicher, einer für die Thermalisierung und einer für die Belieferung des Massenspektrometers. Für die

Pyrolyse sind aber im allgemeinen sehr große Zwischenspeicher erforderlich, da Pyrolysegemische sehr komplex sind und viele nachfolgende Untersuchungen, häufig mit selektivem Einspeichern seltener Ionensorten, benötigen.

Für die Untersuchung von Ionen aus Pyrolysevorgängen ist diese Erfindung besonders hilfreich. Die Substanzen der Pyrolysedämpfe reichen bis zu sehr hohen Molekulargewichten. Diese Moleküle dürfen keine Wandstöße erleiden, da sie sonst sofort in Form des bekannten Pyrolyseteers auskondensieren. Sie müssen vielmehr sofort ionisiert werden, beispielsweise durch chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck (APCI). Als Ionen können sie dann besser stoßfrei geführt werden als in Form neutraler Moleküle. Die längerdauernde Speicherung für mehrere aufeinanderfolgende Untersuchungen ist sogar nur in Form von Ionen möglich.

Anstelle des Elektrosprühens kann auch die chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck (APCI) für die Ionisierung der Substanzen verwendet werden. Diese Art der Ionisierung ist besonders für Pyrolysedämpfe und Desorptionsdämpfe günstig, aber auch für Substanzen, die durch Gaschromatographie getrennt wurden.

Die Einführung der Ionen ins Vakuum kann ebenfalls anders verlaufen, als in Figur 4 gezeigt. Es sind mit viel Erfolg einfache, düsenartige Öffnungen, beispielsweise solche mit 30 Mikrometer Durchmesser, verwendet worden, die allerdings wesentlich größere Pumpen bedingen als die oben geschilderten Eingangskapillaren.

Die Eingangskapillare (13) kann aber auch viel kürzer, dafür aber mit kleinerem Innendurchmesser, ausgebildet sein. Der Gasstrom in das Vakuumsystem ist dann viel geringer, und es kann die Differenzpumpstufe (14) vollkommen eingespart werden. Die Eingangskapillare (13) führt dann die Ionen direkt in den ersten Zwischenspeicher (16) der Differenzpumpkammer (17). Die günstigste Art der Einführung der Ionen ins Vakuum - Öffnung, weite Kapillare, enge Kapillare - hängt davon ab, auf wie engem Raum die Ionen gebildet werden, und wieviele Ionen gebildet werden.

Die Anzahl der Zwischenspeicher in der Hauptvakuumkammer (19) kann selbstredend an das Meßproblem angepaßt werden. Es kann dort nur ein Zwischenspeicher vorhanden sein, beispielsweise für die Analyse von Pyrolysedämpfen oder Desorptionen, es können aber auch vier oder mehr Zwischenspeicher eingebaut werden, wenn es sich vorwiegend um die Analyse komplexer Gemische mit schneller Trennung handelt. Da die Ionen relativ verlustfrei von einem Speicher in den nächsten überführt werden können, ist die Anzahl der Zwischenspeicher frei wählbar.

Auch das Ionenfallen-Massenspektrometer (21, 22, 23) kann durch andere Arten von Massenspektrometern ersetzt werden. Für die Aufnahme von hochaufgelösten Massenspektren von Primärionen oder sekundären (Tochter-)ionen eignen sich Ionen-Cyclo-

tron-Resonanz-Massenspektrometer (ICR oder FTMS) in ganz besonders guter Weise. Da die Aufnahme von Massenspektren je nach Anforderungen an Massenbereich und Massenauflösung mit dem ICR-Spektrometer besonders lange dauern kann, ist für ICR-Massenspektrometer durch die Erfindung ein besonderer Vorteil gegeben.

Aber auch andere Arten von Massenspektrometern, insbesondere alle Arten von Tandem-Massenspektrometern, können verwendet werden. Da diese Massenspektrometer mit einem kontinuierlichen Ionenstrom versorgt werden müssen, kann hier die Schalllinie des Zwischenspeichers (20) so gesteuert werden, daß ein über lange Zeit kontinuierlicher Ausfluß gegeben ist.

Der Massenspektrometrie-Fachmann kann mit Kenntnis seines speziellen Fachgebietes innerhalb der Massenspektrometrie leicht weitere Beispiele für die Vorteile des Einsatzes dieser Erfindung finden.

Anhang an Patentanmeldung BFA 26/95, mit Textauszügen der Patentanmeldungen, die für Prioritäten in Anspruch genommen werden:

1) Anmeldung DE 19 509 939.7 vom 18. 3. 95 (BFA 15/95),

1. *Auszug aus BFA 15/95:* „Bei Kopplungen der Ionenquelle mit chromatographischen oder elektrophoretischen Separationsverfahren in der Substanzzuführung ergibt sich ein weiterer Vorteil dieser Anordnung. Es können die Ionen aus einzelnen Substanzpeaks über längere Zeit gespeichert und in schnell aufeinanderfolgenden Füll- und Untersuchungsperioden unter verschiedenen Aspekten untersucht werden. So ist es möglich, zunächst ein normales Massenspektrum zu messen, und in anschließenden Schritten Tochterionenspektren aller auftretenden Ionensorten zu erzeugen.“

2. *Auszug aus BFA 15/95:* „Die Ionenquelle kann insbesondere mit Einrichtungen zur Probenseparation, beispielsweise mit kapillarer Elektrophorese, gekoppelt werden. Die kapillare Elektrophorese liefert dann zeitgetrennte Substanzen in sehr kurzen Zeitperioden sehr konzentriert an. Die Zwischenspeicherung der Ionen kann dann besonders günstig eingesetzt werden, um die Ionen einer Substanz für mehrere Füllungen der Ionenfalle aufzubewahren, wodurch zahlreiche MS/MS-Untersuchungen von Tochterionenspektren verschiedener Elternionen möglich werden. Sogar MS/MS/MS-Untersuchungen mit Enkelionenspektren können durchgeführt werden; letztere sind von besonderem Interesse für die Aminosäuresequenzanalyse von Proteinen. Der Elektrophoreselauf kann für längerdauernde Untersuchung leicht durch Abschalten der Spannung zwischenzeitlich unterbrochen werden.“

2) Anmeldung DE 19 520 282.1 vom 2. 6. 95 (BFA 21/95)

Auszug aus BFA 21/95: „Bei Kopplungen der Ionenquelle mit chromatographischen oder elektrophoretischen Separationsverfahren in der Substanzzuführung ergibt sich ein weiterer Vorteil dieser Anordnung. Es können die Ionen aus einzelnen Substanzschüben über längere Zeit gespeichert und massenspektrometrisch untersucht werden, indem die Ausflußrate der Ionen an die Bedürfnisse des Massenspektrometers angepaßt wird.“

In speichernden Massenspektrometern, beispielsweise Ionenfallen, können die Ionen in aufeinanderfolgenden Füll- und Untersuchungsperioden unter verschiedenen Aspekten untersucht werden. So ist es möglich, zunächst ein normales Massenspektrum zu messen, und in anschließenden Schritten Tochterionenspektren aller auftretenden Ionensorten zu erzeugen. Dabei ist es ein weiterer Vorteil der Zwischenspeicherung, daß die Zeitdauer für die Befüllung stark verkürzt werden kann, und damit eine schnellere Folge in der Aufnahme der Spektren erreicht wird.

Aber auch in kontinuierlich arbeitenden Massenspektrometern, beispielsweise in Dreifach-Quadrupol-Massenspektrometern („Triple Quads“) für die Untersuchung von Tochterionenspektren, kann die Anpassung der Ausflußrate sehr förderlich sein.“

3) Anmeldung DE 19 523 859.1 vom 30. 6. 95 (BFA 25/95)

Auszug aus BFA 25/95: „Die Ionenquelle kann insbesondere mit Einrichtungen zur Probenseparation, beispielsweise mit kapillarer Elektrophorese, gekoppelt werden. Die kapillare Elektrophorese liefert dann zeitgetrennte Substanzschübe kurzer Zeitdauer sehr konzentriert an. Die Zwischenspeicherung der Ionen in der ersten Doppel-Helix 8 kann dann besonders günstig eingesetzt werden, um die Ionen einer Substanz für mehrere Füllungen der Ionenfalle aufzubewahren, wodurch zahlreiche MS/MS-Untersuchungen von Tochterionenspektren verschiedener Elternionen möglich werden. Sogar MS/MS/MS-Untersuchungen mit Enkelionenspektren können durchgeführt werden; letztere sind von besonderem Interesse für die Aminosäuresequenzanalyse von Proteinen. Der Elektrophoreselauf kann für längerdauernde Untersuchung leicht durch Abschalten der Spannung zwischenzeitlich unterbrochen werden.“

Anspruch 18 aus BFA 25/95: „Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Anordnung für die Speicherung der Substanzen eines chromatographischen oder elektrophoretisch getrenntem Substanzschubs verwendet wird.“

Patentansprüche

1. Verfahren zur Charakterisierung der Ionen von Substanzen oder Substanzgemischen, die einer Ionenquelle in Schüben zugeführt werden, mit Hilfe eines Massenspektrometers und eines Zwischenspeichers zwischen Ionenquelle und Massenspektrometer, dadurch gekennzeichnet, daß die Ionen eines oder mehrerer Substanzschübe zunächst im Zwischenspeicher gespeichert werden, und daß diese Ionen portionenweise massenspektrometrisch untersucht werden. 5
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß noch weitere Zusatz-Zwischenspeicher für Ionen verwendet werden. 10
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusatz-Zwischenspeicher zwischen der Ionenquelle und dem Zwischenspeicher in Reihe angeordnet sind, und daß diese Zusatz-Zwischenspeicher bei Bedarf die Ionen weiterer Substanzschübe aufnehmen und bei Bedarf an den jeweils nächsten Zwischenspeicher weitergeben. 15 20
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß multipolare (vielpolige) Hochfrequenz-Ionenführungssysteme als Zwischenspeicher benutzt werden, wobei die Ionenführungssysteme beidseitig mit reflektierenden Potentialverteilungen abgeschlossen sind, von denen aber mindestens eine Potentialverteilung auf Ionendurchgang schaltbar ist. 25 30
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Hochfrequenz-Multipol-Stabsystem als Zwischenspeicher benutzt wird. 35
6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß ein System aus vertikal zu einer Achse angeordneten Ringen, die in abwechselnder Reihenfolge mit den Phasen einer Hochfrequenzspannung verbunden sind, als Zwischenspeicher benutzt wird. 40 45
7. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß eine mit den beiden gegenläufigen Phasen einer Hochfrequenzspannung betriebene Doppel- oder Mehrfachhelix als Zwischenspeicher benutzt wird. 50
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das als Zwischenspeicher benutzte System einen konisch geformten Innenraum hat, so daß ein permanenter Antrieb der Ionen in Achsenrichtung vorhanden ist. 55
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß längs der Achse des Zwischenspeichers zumindest temporär ein elektrisches Gleichfeld erzeugt wird.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine HF-Quadrupol- oder ICR-Ionenfalle als Massenspektrometer benutzt wird.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Ionenfalle nur bis zur Raumladungsgrenze befüllt wird, und daß der Füllvorgang durch die Füllrate der vorhergehenden Befüllung, durch die bekannte Abnahme der Ionenanzahl im Zwischenspeicher und durch die Wirkrate eines eventuell eingeschalteten Ionenfilters gesteuert wird.
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Massenspektrometer um ein räumliches Tandem-Massenspektrometer handelt.
13. Massenspektrometrisches System für die Charakterisierung von Substanzen, bestehend aus einem Substanzzuführungssystem, das Substanzen in Schüben anliefert, einer Ionenquelle für die Ionisierung der Substanzmoleküle aus den Substanzschüben, und einem Massenspektrometer für die Untersuchung der Ionen, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen Ionenquelle und Massenspektrometer ein Zwischenspeicher für eine temporäre Speicherung der Ionen aus den Substanzschüben angeordnet ist.
14. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen Ionenquelle und Massenspektrometer mehrere Zwischenspeicher in Reihe für die Aufnahme der Ionen aus mehreren Substanzschüben vorhanden sind.
15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Zwischenspeicher als drahtgewendelte Mehrfachhelices mit Anschluß an Spannungen aus je einem HF-Generator und mit jeweils endständigen Reflektoren ausgebildet sind.
16. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens einer der Reflektoren eine Doppelspirale mit Anschluß an die Hochfrequenzspannung des HF-Generators der Mehrfachhelix ist.
17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Ionen in den Zwischenspeichern einem Antrieb in Achsenrichtung des Zwischenspeichers durch elektrische Felder unterliegen.

18. Vorrichtung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Ionenantrieb in Achsenrichtung durch das Pseudopotential gebildet wird, das sich durch eine konische Ausbildung des Zwischenspeichers ergibt.

5

19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 14 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß sich der erste Zwischenspeicher in der ersten Stufe einer Differenzpumpeinheit befindet, die durch eine Vakuumpumpe in einem Druckbereich zwischen 5×10^{-4} und 5×10^{-2} Millibar gehalten wird.

10

20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß der letzte Zwischenspeicher eine Gaszuleitung besitzt, durch die ein Reaktantgas zugeführt werden kann.

15

20

25

30

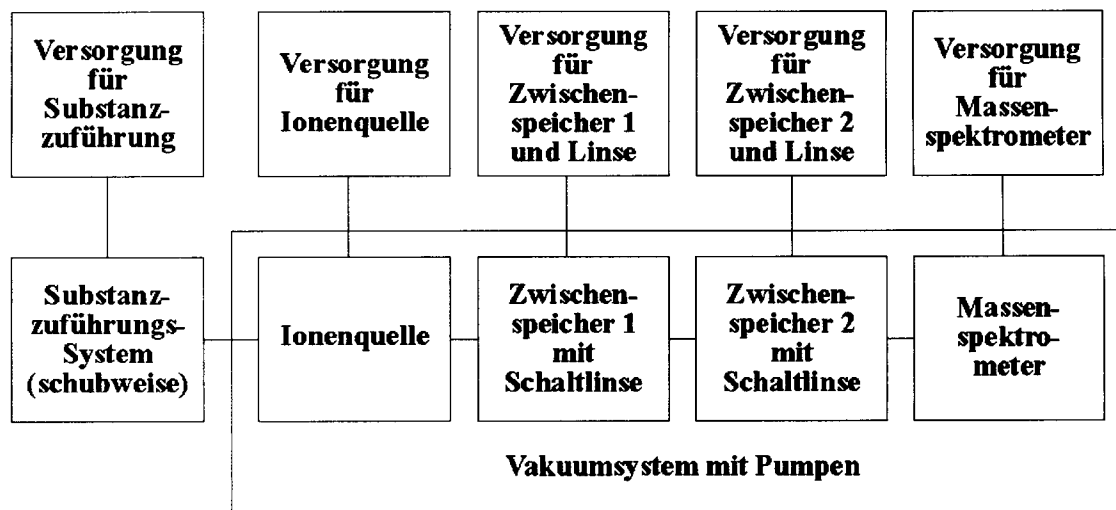
35

40

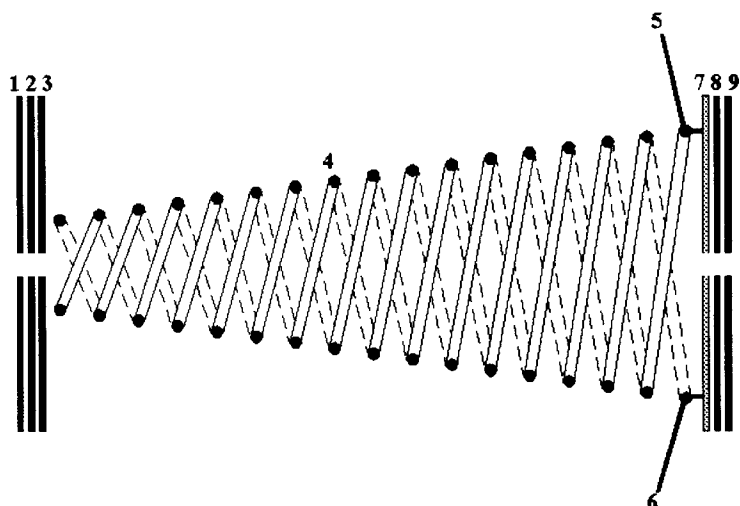
45

50

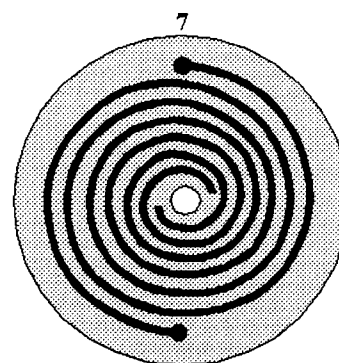
55



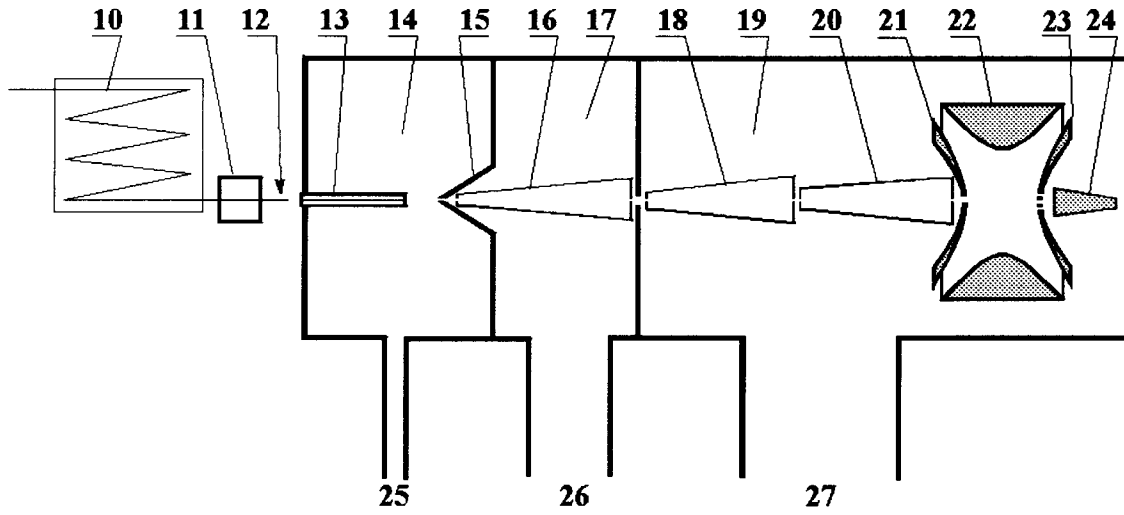
Figur 1



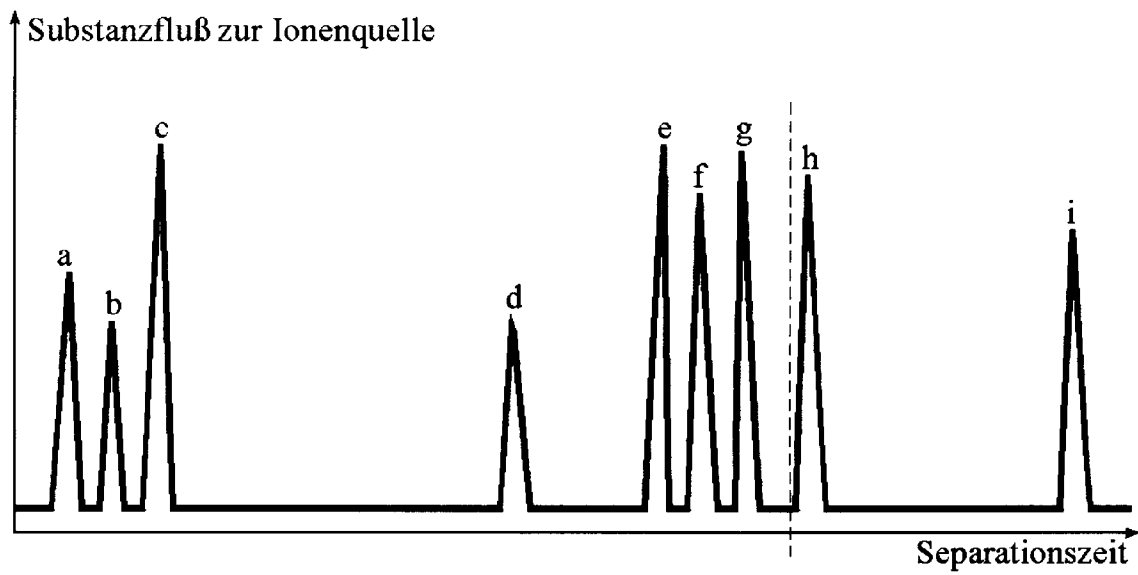
Figur 2



Figur 3



Figur 4



Figur 5



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 95 11 4449

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
X	REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, Bd. 63, Nr. 10 PT. 01, 1.Okttober 1992, Seiten 4277-4284, XP000316284 MICHAEL S M ET AL: "AN ION TRAP STORAGE/TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETER"	1,10,13	H01J49/04 H01J49/42
Y	* Zusammenfassung *	2-5,7,9, 14,16, 17,19	
	* Seite 4277 - Seite 4278, linke Spalte; Abbildungen 1-5 *		

Y	INTERNATIONAL JOURNAL OF MASS SPECTROMETRY AND ION PROCESSES, Bd. 101, Nr. 1, 15.November 1990, Seiten 1-20, XP000168146 SCHWARTZ J C ET AL: "A PENTA-QUADRUPOLE INSTRUMENT FOR REACTION INTERMEDIATE SCANS AND OTHER MS-MS-MS EXPERIMENTS"	2-5,9, 14,17,19	
	* Seite 2, letzter Absatz - Seite 4; Abbildungen 1,2 *		

Y	ERICH W. BLAUTH: "DYNAMIC MASS SPECTROMETERS" 1966 , ELSEVIER , AMSTERDAM NL XP002006939 * Seite 113 - Seite 115, Absatz 1 *	7,16	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6) H01J

A	ANALYTICAL CHEMISTRY, Bd. 66, Nr. 24, 15.Dezember 1994, Seiten 4385-4389, XP000485675 HUANG Y ET AL: "COLLISION-INDUCED DISSOCIATION FOR MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS OF BIOPOLYMERS: HIGH-RESOLUTION FOURIER TRANSFORM ION CYCLOTRON RESONANCE MS4" * Seite 4387, linke Spalte, Absatz 1; Abbildung 1 *	1,13	

	-/--		
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 27.Juni 1996	Prüfer Hulne, S
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 95 11 4449

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
D,A	US-A-5 179 278 (DOUGLAS DONALD J) 12. Januar 1993 * Spalte 1, Zeile 38 - Zeile 68; Abbildung 1 * -----	1	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 27. Juni 1996	
		Prüfer Hulne, S	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)