

Massenspektroskopie mit einer Elektrospray-Ionenquelle

Mass spectrometry with an electrospray ion
source

Bachelorarbeit

vorgelegt am

Fachbereich 07
(Mathematik und Informatik, Physik, Geographie)
der
Justus-Liebig-Universität Gießen

von

Daniel Schury

Institut für Atom- und Molekülphysik
Justus-Liebig-Universität Gießen
2011

Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit dem Betrieb einer Elektrospray-Ionisationsquelle. Ziel war es, den Ionenstrom der Gießener Elektrospray-Ionisationsquelle zu erhöhen. Dazu wurden der bisher verwendete Radiofrequenzquadrupol zu einem Radiofrequenzoktupol aufgerüstet sowie dünnere Nadeln zum Sprühen verwendet. Der erste Teil der Arbeit beschäftigt sich mit dem Bau des Oktupols und legt dar, warum dieser Vorteile dem Quadrupol gegenüber bringt. Im zweiten Teil wird das Verhalten von Änderungen verschiedener Betriebsparameter auf die Quelle ausgewertet. Zunächst wird der Einfluss des Oktupols auf den Gesamtstrom der Quelle betrachtet. Weiterhin wurden mehrere Spektrumsmessungen durchgeführt. Die Spektren wurden mithilfe eines masseselektierenden Magneten sowie einem Einzelteilchendetektor aufgenommen. Ziel dieser Messreihen war es, den Einfluss des Oktupols, des verwendeten Ionentrichters sowie der Kapillarentemperatur auf die einzelnen Massebestandteile des Gesamtstroms zu bestimmen. Für alle Messungen wurde eine Lösung der protonisierten Aminosäure Leucin verwendet.

Abstract

This thesis deals with the operation of an electrospray ion source. The aim was to increase the ion current of the ion source in Gießen. This was established by upgrading the former used radiofrequency quadrupole to a radiofrequency octupole as well as using thinner needles to spray the solution. The first part describes the construction process of the octupole as well as theoretical considerations about the advantages of the octupole over the quadrupole. The second part presents the evaluation of the influence of different operating parameters on the source. Firstly, the influence of the octupole on the total current is discussed. Secondly, the influence of the octupole, the ion funnel and the temperature of the capillary, used as an entry to the source, on the individual parts of the ion current, measured with the help of mass spectra, is discussed. The spectra were taken with a mass-selecting magnet and a single-particle-detector. All tests were taken with a solution of the protonized amino acid Leucine.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	6
Inhaltsverzeichnis	ii
Abbildungsverzeichnis	iv
Tabellenverzeichnis	v
Abkürzungsverzeichnis	viii
1 Einleitung	1
2 Die Gießener Elektrospray-Ionisationsquelle	3
2.1 Überblick	3
2.2 Ionentransport	4
2.2.1 Oktupol	4
3 Elektrospray-Ionisation	9
3.1 Geschichte der Elektrospray-Ionisation	9
3.2 Ionisationsmechanismen	9
4 Optimierung der ESI-Quelle	11
4.1 Bestimmung des mittleren Magnetfelds	11
4.2 Zusammenhang zwischen Heizstrom und Kapillarentemperatur . .	13
4.3 Gesamtstrommessungen	14
4.3.1 Verhalten bei Änderung des Oktupoloffsets	14
4.3.2 Verhalten bei Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktupols	17
4.4 Spektrumsmessungen	18
4.4.1 Einfluss der Messzeit auf die Intensität	18

4.4.2	Verhalten bei Änderung des Oktupoloffsets	19
4.4.3	Verhalten bei Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktupols	21
4.4.4	Verhalten bei Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Ionentrichters	22
4.4.5	Einfluss der Kapillarentemperatur auf das Massenspektrum	23
5	Fazit und Ausblick	29
	Literaturverzeichnis	31

Abbildungsverzeichnis

2.1	Übersicht über den Aufbau bestehend aus Ionenquelle und Ionen- teststand.	3
2.2	Die ionenleitenden RF-Elemente der Gießener ESI-Quelle mit Druck- bereichen [9].	4
2.3	Die einzelnen Phasen des Oktupolbaus.	5
2.4	Multipolgeometrie.	5
2.5	Mit SimION 8.4 simulierte Äquipotentiallinien und Feldgradienten des Quadrupols.	7
2.6	Mit SimION 8.4 simulierte Äquipotentiallinien und Feldgradienten des Oktupols.	8
3.1	Strukturformel von l-Leucin und d-Leucin.	9
3.2	Eingang in Vakuumbereich mit davor montierter Nadel.	10
4.1	Messwerte zur Bestimmung des mittleren Magnetfelds.	12
4.2	Fit des Heizstroms gegen die Kapillarentemperatur.	13
4.3	Funktion der Kapillarentemperatur gegen den Heizstrom.	15
4.4	Auswirkung der Änderung des Oktupoloffsets auf den Gesamtstrom.	16
4.5	Auswirkung der Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktu- pols auf den Gesamtstrom.	17
4.6	Dreidimensionale Darstellung des Einflusses der Offsetspannung und der Peak-to-Peak-Amplitude auf den Gesamtstrom.	19
4.7	Spektrum des Massebereichs von Leucin.	20
4.8	Einfluss der Messzeit auf die Intensitäten.	21
4.9	Auswirkung der Änderung des Oktupoloffsets auf den Leucinio- nenstrom.	22
4.10	Auswirkung der Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktu- pols auf den Leucinionenstrom.	23

4.11	Auswirkung der Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Ionen- trichters auf den Leucinionenstrom.	26
4.12	Spektren des Massebereichs von Leucin bei verschiedenen Kapil- larentemperaturen.	26

Tabellenverzeichnis

4.1	Spannungswerte der Messungen für die Gesamtstrommessungen. .	15
4.2	Spannungswerte der Spektrumsmessungen des Oktupolverhaltens.	24
4.3	Spannungswerte der Spektrumsmessungen des Ionentrichter- verhaltens.	25
4.4	Spannungswerte der Spektrumsmessungen zur Kapillarentempera- tur sowie für das Beispielspektrum.	27

Abkürzungsverzeichnis

DAC		Digital-Analog-Konverter
ESI		Elektrospray-Ionisation
gu		Grid Units (Gittereinheiten)
RFO		Radiofrequenz-Oktupol
RFQ		Radiofrequenz-Quadrupol

1 Einleitung

Die Untersuchung von in der Gasphase vorliegenden Biomolekülen ist von großem wissenschaftlichem Interesse. Peptide, Proteine und Bruchstücke von DNA- und RNA-Molekülen sind essentieller Bestandteil eines jeden Organismus und wurden in Proben von Meteoriten gefunden [7]. Die Funde legen nahe, dass diese Moleküle ebenfalls im freien Weltraum vorkommen, neben anderen Ionen, Atomen, Molekülen und verschiedenen energetischen Photonen. In dieser Umgebung ist es sehr wahrscheinlich, dass Stöße zwischen diesen Teilchen stattfinden. Um diese Prozesse auf der Erde nachzustellen, werden Kollisions- sowie Photoionisations- und Photofragmentationsexperimente durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Experimente helfen dabei, Erkenntnis über fundamentale Prozesse im Weltraum zu erlangen. Zur Bereitstellung von in der Gasphase vorliegenden Biomolekülen kann hierbei die Elektrospray-Ionisation (ESI) verwendet werden. Diese wird häufig in der Massenspektroskopie verwendet, da hierbei schon geringe Mengen an Biomolekülen fragmentationsfrei verwendet werden können. Der für diese Arbeit verwendete Aufbau hingegen zielt darauf ab, möglichst hohe Ströme biomolekularer Ionen zu erzeugen, um eine möglichst hohe Luminosität zu erreichen. Ein Strom hoher Luminosität ist für Elektron-Ion-Kollisions- sowie Photoionisations- und Photofragmentationsexperimente, wie z.B. PIPE und PETRA III, von Vorteil. Die hier verwendete Quelle wurde im Rahmen einer Masterarbeit von Werner [9] aufgebaut und in Betrieb genommen. Für die vorliegende Arbeit wurden der zuvor verwendete Radiofrequenzquadrupol zu einem Radiofrequenzoktupol aufgerüstet sowie dünnere Nadeln zum Sprühen verwendet. Weiter wurden das Verhalten bei Änderung der Betriebsparameter des verwendeten Ionentrichters sowie der Temperatur der als Zugang zum Experiment verbauten Kapillare gemessen.

2 Die Gießener Elektrospray-Ionisationsquelle

2.1 Überblick

Das Design der Gießener Elektrospray-Ionenquelle (ESI-Quelle) basiert auf einem Aufbau der Universität Aarhus [1]. Wie in Abb. 2.1 dargestellt, ist die Ionenquelle direkt an einen Ionenteststand angeschlossen, welcher aus verschiedenen ionenleitenden Elementen (unter anderem Radiofrequenz-Trichter, Radiofrequenz-Oktupol, Einzellinsen), einem nach Masse-Ladung-Verhältnis selektierenden Ablenkmagneten sowie mehreren Faraday-Cups und einem Einzelteilchendetektor zum

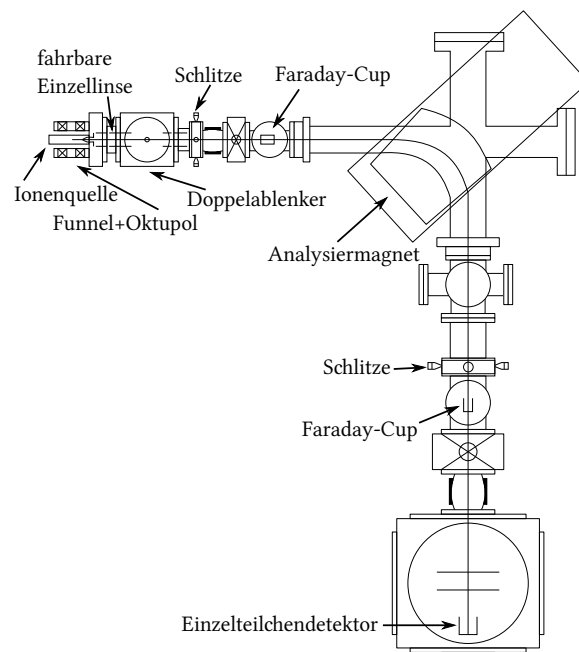


Abbildung 2.1: Übersicht über den Aufbau bestehend aus Ionenquelle und Ionenteststand.

Ionennachweis besteht. Eine detaillierte Beschreibung des Aufbaus mit seinen einzelnen Elementen ist in der Masterarbeit von J. Werner [9] zu finden.

2.2 Ionentransport

Da die Ionen bei der ESI konstruktionsbedingt außerhalb des Vakuumbereichs erzeugt werden müssen, existiert immer ein bewusstes Leck im Aufbau, durch welches die Ionen den Vakuumbereich betreten können. Würde man die Nadel nicht im Normaldruck-, sondern im Vakuumbereich betreiben, so würde die Flüssigkeit aufgrund des fehlenden Drucks innerhalb kürzester Zeit aus der Spritze herausgezogen und es wäre keine kontrollierte Dosierung möglich. Um die Ionen vom Normaldruck im Bereich der Nadel in die Hochvakuumbereiche, in denen die Experimente stattfinden, zu leiten, nutzt man eine Kombination aus Druck- und elektrischen Gradienten zur Beschleunigung zusammen mit Radiofrequenzgeräten, um die Ionen auf der Bahn zu halten. In Abb. 2.2 ist der momentane Aufbau der ionenleitenden Elemente des Experiments dargestellt.

2.2.1 Oktupol

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der zuvor eingesetzte Radiofrequenz-Quadrupol (RFQ) durch einen Radiofrequenz-Oktupol (RFO) ersetzt. Abb. 2.3 zeigt die Bauphasen, welche aus dem Zerlegen des RFQs sowie dem anschließenden Zusammenbau mit vier zusätzlichen Stäben zu einem RFO bestehen. Der Sinn dieser Erweiterung bestand darin, die geometrischen Verhältnisse besser auszunutzen. Um

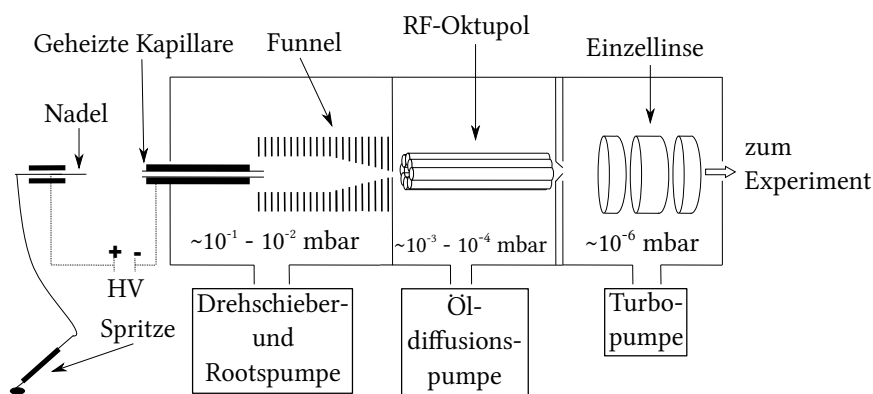


Abbildung 2.2: Die ionenleitenden RF-Elemente der Gießener ESI-Quelle mit Druckbereichen [9].

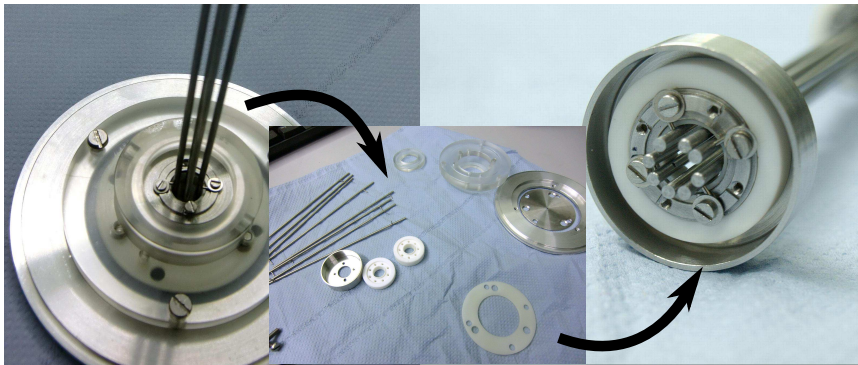


Abbildung 2.3: Die einzelnen Phasen des Oktupolbaus. Zunächst wurde der Quadrupol in seine Einzelteile zerlegt, anschließend mit den vier zusätzlichen Stäben wieder zusammengebaut.

ein ideales Multipolfeld zu erhalten, müssten die Stäbe parabolisch geformt sein. Aus fertigungstechnischen Gründen werden jedoch häufig runde Stäbe verwendet, welche eine gute Näherung darstellen. Wie Rama Rao und Bhutani [6] in einer Arbeit gezeigt haben, hat das Verhältnis vom Abstand der Stäbe zu ihrem Durchmesser einen großen Einfluss auf die Güte des erzeugten Felds. Genauer wird das Verhältnis zwischen dem Stabdurchmesser r und dem Abstand vom Mittelpunkt des Aufbaus zum nächsten Punkt des Stabs r_0 betrachtet, wie in Abb. 2.4 veranschaulicht. Die Stäbe haben einen Radius von $r = 1$ mm sowie einen Abstand von 5,5 mm zueinander, was einem Feldradius von $r_0 = 2,75$ mm entspricht. Hier liegt das Verhältnis $\frac{r}{r_0}$ also bei 0,364, was fast dem von Rama Rao und Bhutani ermittelten Optimum für einen Oktupol von 0,355 entspricht. Je höher die Multipolordnung, desto geringer sollte bei gleichem r_0 der Stabdurchmesser r werden. In Abb. 2.5 sind die mit SimION 8.4 simulierten Verläufe des elektrischen Potentials und des Gradientens des Quadrupols zu sehen. Abb. 2.6 zeigt vergleichend dazu

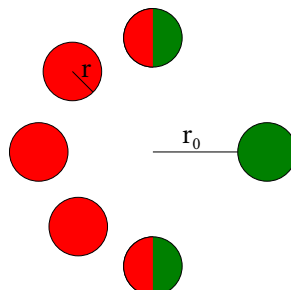
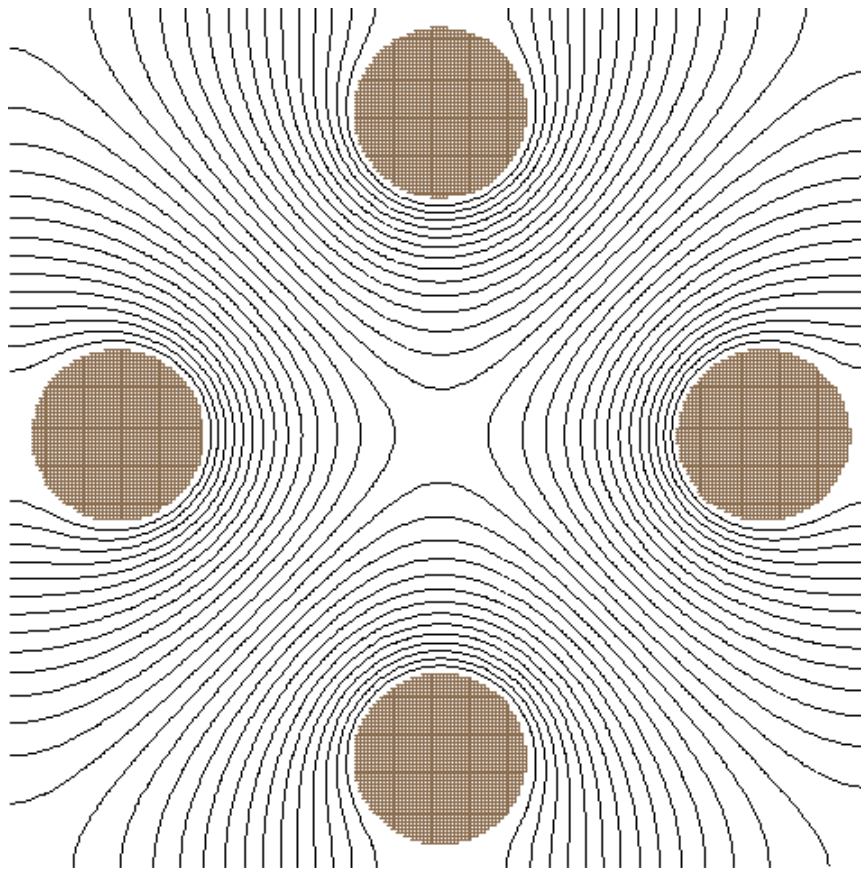
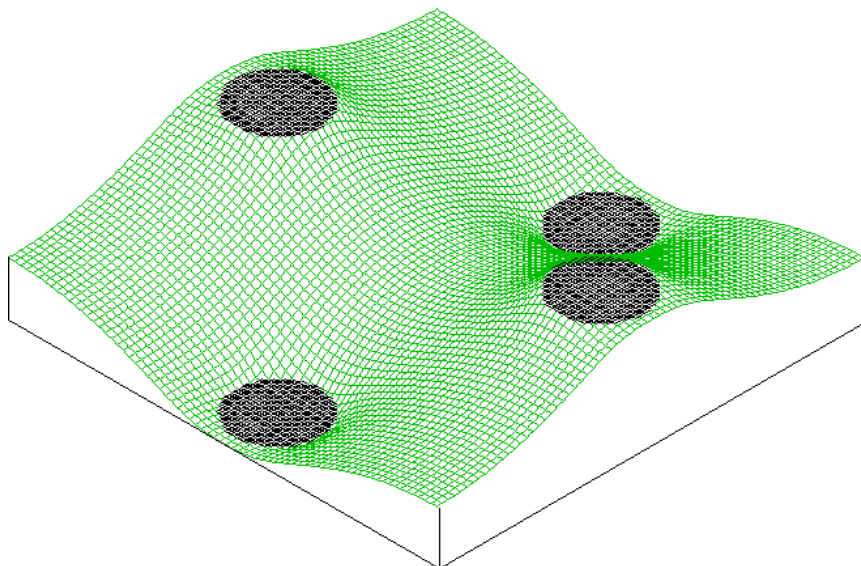


Abbildung 2.4: Die Geometrie des RFO (links, rot) und des RFQ (rechts, grün) mit den relevanten Größen.

die des Oktupols. Beide wurden mit einem Potential von ± 50 V (entspricht einem Peak-to-Peak-Potential von 100 V), 28 Äquipotentialflächen und einem Verhältnis von $100 \text{ gu} \equiv 1 \text{ mm}$ simuliert. Eine gu (Grid Unit, Englisch Gittereinheit) entspricht hierbei einem Gitterpunkt in der Geometriedatei SimIONs, in welcher man die Geometrie des Aufbaus definiert. Man kann anhand der Abbildungen gut den Vorteil bei der Ionenleitfähigkeit des Oktupols gegenüber des Quadrupol bei dieser Anordnung erkennen. Der Oktupol weist wesentlich steilere Gradienten auf, welche den Ionen stärkere Kicks geben und sie so leichter in der Bahn halten. Zudem sieht man, dass der feldfreie Bereich des Oktupols im Vergleich zum Quadrupol stärker ausgedehnt ist.

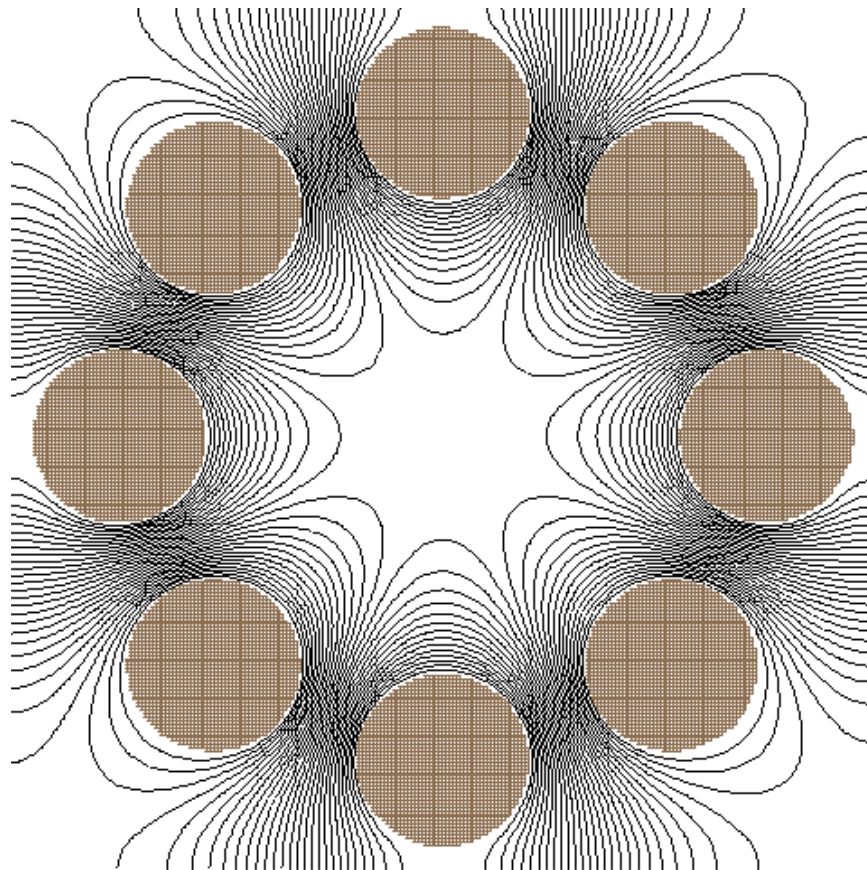


(a) Äquipotentiallinien

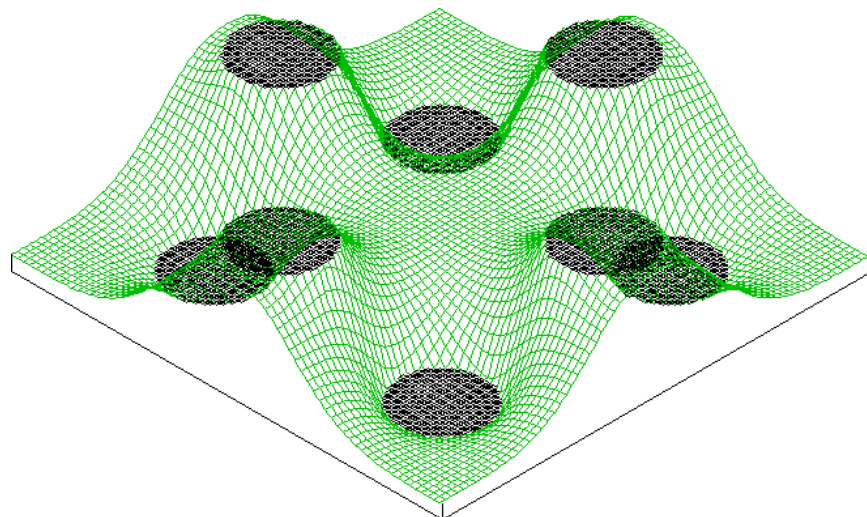


(b) Feldgradient

Abbildung 2.5: Mit SimION 8.4 simulierte Äquipotentiallinien und Feldgradienten des Quadrupols. Simuliert wurde mit Potentialen von ± 50 V, was einem Peak-to-Peak-Potential von 100 V entspricht. 100 μ m entsprechen hierbei 1 mm.



(a) Äquipotentiallinien



(b) Feldgradient

Abbildung 2.6: Mit SimION 8.4 simulierte Äquipotentiallinien und Feldgradienten des Oktupols. Simuliert wurde mit Potentialen von ± 50 V, was einem Peak-to-Peak-Potential von 100 V entspricht. 100 gu entsprechen hierbei 1 mm.

3 Elektrospray-Ionisation

3.1 Geschichte der Elektrospray-Ionisation

Die Methode der Elektrospray-Ionisation geht zurück auf die Arbeit von Malcolm Dole [2] im Jahr 1968 und wurde erstmals in den späten 1980er Jahren von John. B. Fenn umgesetzt, wofür er 2002 zusammen mit Toichi Tanaka und Kurt Wüthrich den Nobelpreis in Chemie gewann [5]. Hierbei werden Makroionen durch das Sprühen einer Lösung von der Spitze einer elektrisch geladenen Nadel erzeugt. Im Gegensatz zu anderen Ionisationsverfahren, wie z.B. der Elektronenstoßionisation, stellt die ESI ein weiches Ionisationsverfahren dar, welches sich gut dazu eignet, große Moleküle, wie z.B. Proteine, unbeschadet, d.h. ohne Fragmentation zu ionisieren. Häufig schließt sich an die ESI ein massenspektrometrisches Verfahren an, um die ionisierten Bestandteile der Lösung zu analysieren. ESI ist ein Verfahren, das häufig in biochemischen Laboren, z.B. zur Untersuchung von Medikamenten oder anderen biochemischen Substanzen, eingesetzt wird.

3.2 Ionisationsmechanismen

Bei der ESI wird die zu untersuchende Substanz, in diesem Fall Leucin (Abb. 3.1), welche in Lösung dipolar vorliegen sollte, in einem Gemisch aus Wasser und/oder Methanol mit einem geringen Zusatz an Ameisensäure gelöst. Die Ameisensäure

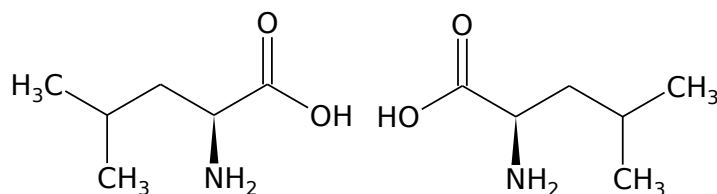


Abbildung 3.1: Strukturformel von l-Leucin und d-Leucin.

fungiert hierbei als Protonendonator. Auch bei in Methanol nur schlecht löslichen Substanzen kann die Zugabe von Methanol sinnvoll sein, da dieses die Oberflächenspannung reduziert und leichter verdampft, was bei der Tröpfchenbildung von Vorteil ist. Die zuvor in der Summe neutralen, dipolaren Moleküle werden somit durch Anlagerung von Protonen an der basischen Seite zu positiv geladenen Molekülen. Die zu untersuchende Lösung wird anschließend gleichmäßig durch eine dünne Nadel außerhalb des Vakuumbereichs gedrückt. Die Nadel wird, wie in Abb. 3.2 zu sehen, in kurzem Abstand (1 cm und weniger) vor einer geheizten, länglichen Kapillare montiert, welche als Eingang zum Vakuumbereich dient. Zwischen Nadel und Kapillare wird Hochspannung im Bereich von 2 – 5 kV angelegt. Das elektrische Feld sorgt dafür, dass die geladenen Moleküle sich vorne in der Spitze der Nadel sammeln bis die resultierende Kraft die Kohäsionskräfte übersteigt und die Moleküle in feinen Tröpfchen aus der Spitze gezogen werden. Aus diesen Tröpfchen verdampfen nun die Lösungsmittel Wasser und Methanol, was zur Erhöhung der Ladungsdichte führt. Der Grund für das Heizen der Kapillare ist, dass dieses das Verdampfen der Lösungsmittel beschleunigen soll. An einem bestimmten Punkt wird die Ladungsdichte so hoch, dass es zu einer Coulomb-Explosion kommt [3], nach der mehrere kleinere Tröpfchen zurück bleiben. Dieser Vorgang wiederholt sich so oft, bis (im Idealfall) einzelne Molekülonen zurückbleiben [9].

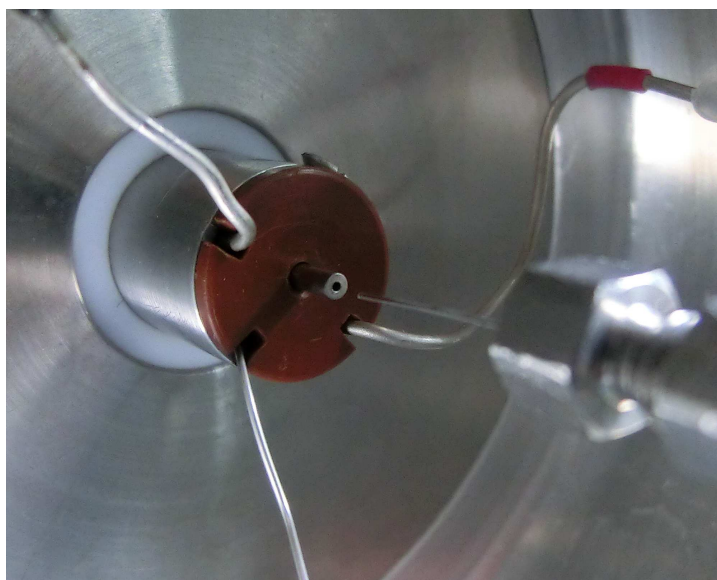


Abbildung 3.2: Eingang in Vakuumbereich mit davor montierter Nadel.

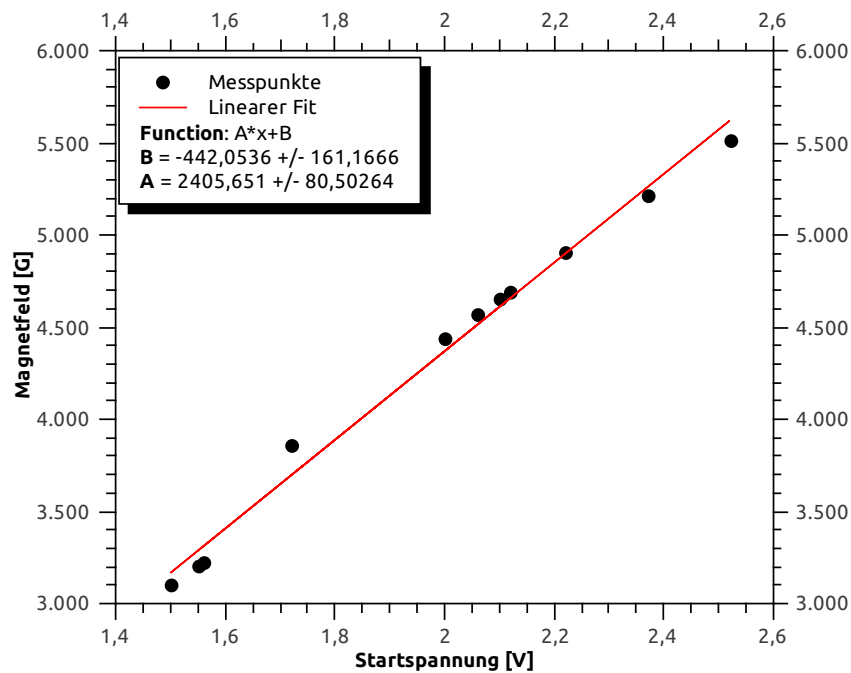
4 Optimierung der ESI-Quelle

In diesem Kapitel erfolgt die Auswertung der den vorgenommenen baulichen Veränderungen zugehörigen Messungen. Hierbei wurde der Einfluss verschiedener Parameter, wie z.B. des Oktupoloffsets, auf den Gesamtstrom bzw. auf die Höhe des Leucinpeaks in einem Massenspektrum bestimmt. Ziel ist es, eine für den Betrieb der Quelle optimale Konfiguration zu bestimmen, welche einen möglichst reinen und hohen Leucinionenstrom erzeugt. Der Auswertung vorangestellt sind einige allgemeine Messbetrachtungen, welche nicht direkt die Optimierung der Quelle sondern deren Betrieb betreffen.

4.1 Bestimmung des mittleren Magnetfelds

Um ein nach Masse-Ladung-Verhältnis getrenntes Massenspektrum zu erhalten, wird bei dem Aufbau (siehe Abb. 2.1) ein Ablenkmagnet verwendet. Zur Beeinflussung des Magnetfelds wird der den Magnet durchfließende Strom mittels eines per Digital-Analog-Konverters (DAC) an einen Rechner angeschlossenen Netzteils gesteuert. Das im Magneten herrschende Feld wird während der Messung mit einer Magnetfeldmesssonde bestimmt und über den ebenfalls mit der Sonde verbundenen Rechner ausgelesen. Das von der Messsonde bestimmte Magnetfeld schwankt immer leicht, so dass es, gegen die durch den DAC ausgegebene Spannung aufgetragen, keinen streng linearen Verlauf nimmt. Zur Erstellung der Spektren ist es allerdings von Nöten, die Ionenstrahlintensität gegen ein Magnetfeld aufzutragen, welches hierzu gemittelt bestimmt wird. Um diese Mittlung nicht immer wieder erneut durchführen zu müssen, wird im Folgenden die aus mehreren Messungen gemittelte Formel zur Umrechnung angegeben. Die beiden das Bild des Magnetfeldverlaufs bestimmenden Parameter sind die vom DAC ausgegebene Startspannung V_{Start} , welche bewirkt, dass Messungen nicht immer von einem Magnetfeld von 0 G aus gestartet werden müssen, sowie die Schrittweite S . Die Schrittweite S bestimmt, um wie viel Volt die vom DAC ausgegebene Spannung pro Schritt an-

gehoben wird. Bei einer Schrittweite von eins beträgt diese Änderung pro Schritt 0,00030518 V, bei einer Schrittweite von zwei 0,00061036 V usw. Die allgemeine Formel für die Umrechnung des Schritts X in ein Magnetfeld B in Gauß lautet $B = \alpha \cdot S \cdot X + \beta \cdot V_{\text{Start}} + \gamma$. α , β und γ wurden aus elf Messungen bei verschiedenen Startspannungen bestimmt. β und γ wurden aus dem in Abb. 4.1a dargestellten linearen Plot des Offsets gegen die Startspannung ermittelt. α ergibt sich als Mittelwert der in Tab. 4.1b angegebenen Werte der Magnetfeldsteigung. Die Fehler ergeben sich entweder aus dem Plot oder als größte Abweichung vom Mittelwert. Insgesamt erhält man somit $\alpha = (0,6143 \pm 0,01229) \text{ G}$, $\beta = (2405,651 \pm 80,50264) \frac{\text{G}}{\text{V}}$ und $\gamma = (-442,0536 \pm 161,1666) \text{ G}$.



(a) Plot zur Bestimmung des Magnetfeldoffsets.

0,6197	0,6042	0,6026	0,6039	0,6229	0,6143
0,6236	0,6266	0,6189	0,6118	0,6084	

(b) Messwerte der Magnetfeldsteigung.

Abbildung 4.1: Messwerte zur Bestimmung des mittleren Magnetfelds.

4.2 Zusammenhang zwischen Heizstrom und Kapillarentemperatur

Die Kapillare wird zum Beschleunigung des Verdampfungsvorgangs des Lösungsmittels der ESI-Lösung geheizt. Dazu wird ein um die Kapillare gewickelter Heizdraht verwendet, durch welchen ein regulierbarer Strom fließt. Zum Auslesen der Temperatur wird ein Typ J-Thermoelement verwendet. Dieses gibt je nach Temperaturdifferenz zwischen Spitze und Außentemperatur eine Spannung aus, die abgegriffen und ausgewertet werden kann. Diese Spannung kann mithilfe einer Tabelle [8] in eine Temperaturdifferenz zur Außentemperatur umgerechnet werden. Um nicht immer ein Voltmeter zu benötigen, wurde eine Messreihe durchgeführt, um zu bestimmen, welche Temperatur die Kapillare bei welchem Heizstrom annimmt. Hierfür wurde der Heizstrom bei einer Heizspannung von 2,5 V von 0 A bis 4 A in 0,1 A-Schritten erhöht. Sobald die vom Thermoelement ausgegebene Spannung sich einigermaßen stabilisiert hatte wurde diese notiert. Im Anschluss wurden die Spannungen mithilfe der Umrechnungstabelle in eine

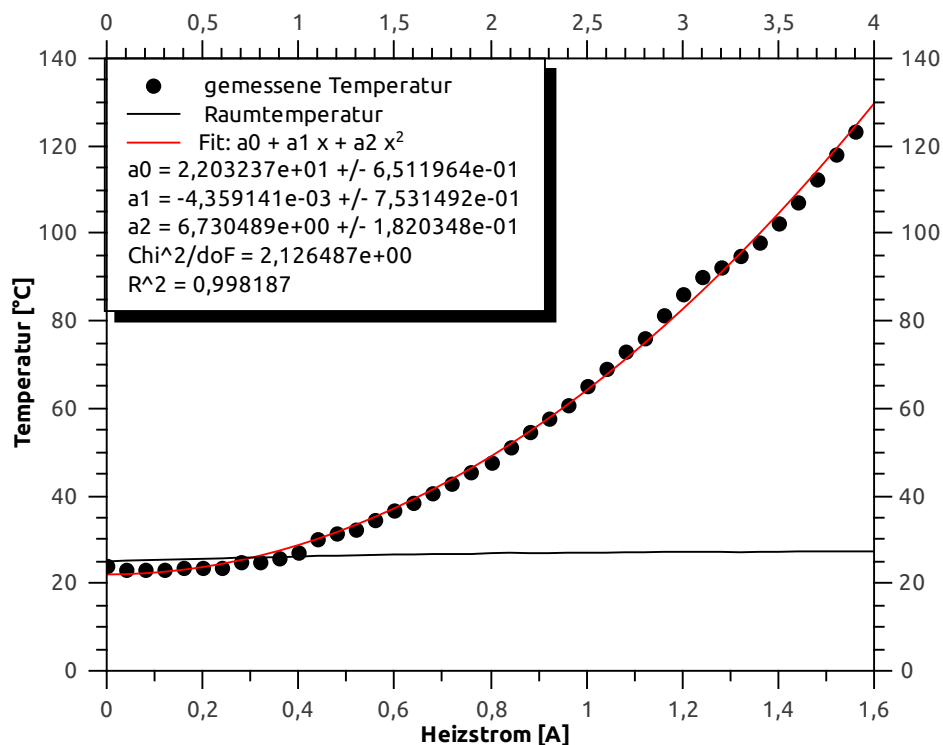


Abbildung 4.2: Fit des Heizstroms gegen die Kapillarentemperatur.

Temperatur umgerechnet und auf diese wurde die parallel gemessene Raumtemperatur aufgeschlagen, um die echte Temperatur der Kapillare zu erhalten. Die Raumtemperatur stieg dabei im Laufe der Messung von 25°C auf 27,3°C an. Die Gesamttemperatur wurde dann gegen den Heizstrom aufgetragen. Da durch die Kenntnis der Heizspannung effektiv der Zusammenhang zwischen Heizleistung und Temperatur gemessen wurde und die elektrische Leistung mit dem Quadrat der Stromstärke geht, wundert es nicht, dass der Graph in Abb. 4.2 einen quadratischen Verlauf annimmt, da zwischen Heizleistung und Temperatur ein linearer Zusammenhang besteht. Dieser wurde weiter mit einer quadratischen Funktion der Form $a_0 + a_1 \cdot x + a_2 \cdot x^2$ angefitet. Als Fitparameter erhält man $a_0 = (22,03 \pm 0,65)^\circ\text{C}$, $a_1 = (-0,004359 \pm 0,75) \frac{^\circ\text{C}}{\text{C}}$, und $a_2 = (6,730 \pm 0,18) \frac{^\circ\text{C}}{\text{C}^2}$. Die Kapillarentemperatur betrug zu Beginn der Messung mit ungefähr 22°C etwa 3°C weniger als die Raumtemperatur, was sich durch den Entzug von Wärme durch das Verdampfen des Lösungsmittels in der Kapillare erklären lässt. In Abb. 4.3 wurde die erhaltene Funktion über den gesamten vom Netzteil möglichen Strombereich von 0 A bis 10 A aufgetragen. Dieser Plot kann zur groben Einstellung der Temperatur auf ungefähr 10°C bis 15°C genau genutzt werden. Dies ist für Anwendungen, bei denen die Temperatur nicht auf das Grad genau stimmen muss, durchaus hinreichend.

4.3 Gesamtstrommessungen

Nach dem Einbau des Oktupols wurden zunächst einige Messungen zum Verhalten des Gesamtstroms direkt hinter des Oktupols (siehe Abb. 2.2) auf Änderungen des Offsets bzw. der Peak-to-Peak-Amplitude des Wechselfelds des Oktupols durchgeführt. Dazu wurde direkt hinter dem Oktupol eine Metallplatte in die Ionenflugbahn eingeführt und an ein analoges Amperemeter angeschlossen, von dem die Werte abgelesen wurden. Abb. 4.6 zeigt das Endergebnis der Messung in Form eines dreidimensionalen Plots mit der Offsetspannung und der Peak-to-Peak-Amplitude als veränderbare Größen auf der X- bzw. Y-Achse und der Höhe des an dieser Koordinate gemessenen Gesamtstroms auf der Z-Achse. In Tab. 4.1 können die bei diesen Messungen angelegten Spannungen nachgelesen werden.

4.3.1 Verhalten bei Änderung des Oktupoloffsets

Zur Beobachtung des Verhaltens des Gesamtstroms bei Änderung des Oktupoloffsets (Bias) wurde dieser bei verschiedenen Peak-to-Peak-Amplituden gemessen.

Tabelle 4.1: Spannungswerte der Messungen für die Gesamtstrommessungen. Es wurde eine $37,5 \frac{\text{mol}}{\text{kg}}$ starke Leucinlösung verwendet. Die erhaltenen Graphen sind in Abb. 4.4, Abb. 4.5 und Abb. 4.6 zu sehen.

Nadel	2,925 kV
Funnel DC 1	$2,18 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel DC 2	$12,5 \cdot 20 \text{ V}$
Funnel Extraktion	$14,4 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel V_{pp}	227,8 V
Kapillare	20 V
Linse 1	-50 V
Linse 2	-125 V

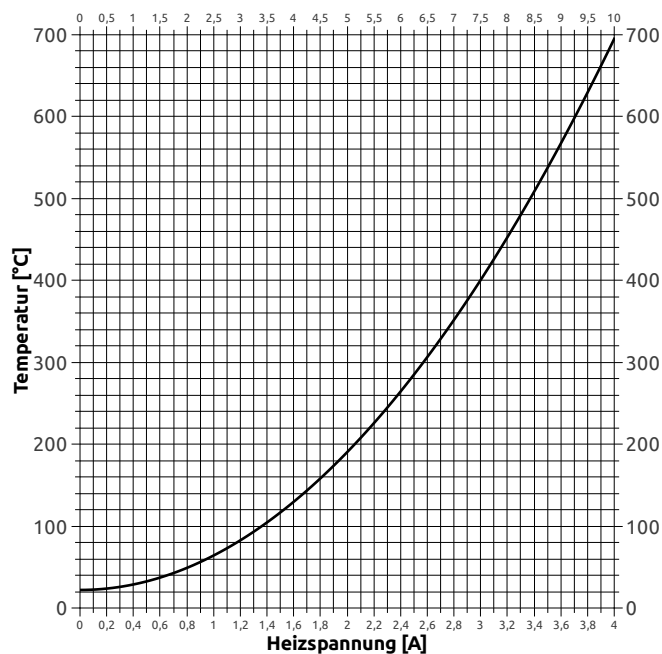


Abbildung 4.3: Funktion der Kapillarentemperatur gegen den Heizstrom.

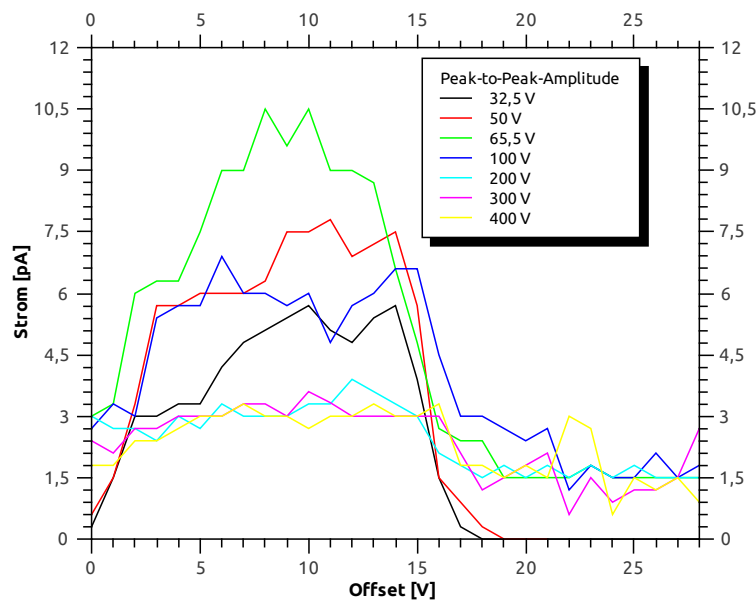


Abbildung 4.4: Auswirkung der Änderung des Oktupoloffsets auf den Gesamtstrom.

Der Offset wurde dabei in 5 V-Schritten erhöht. Die obere Grenze von 28 V ist durch das verwendete Netzteil bedingt. Nach einer Änderung wurde der Quelle eine gewisse Zeit gegeben, sich einzupendeln. Anschließend wurde der Strom vom Messgerät abgelesen. Nachdem die Kurven ab einer Peak-to-Peak-Amplitude von 250 V keine signifikanten Unterschiede mehr aufwiesen, wurde die Amplitude bei 400 V nicht weiter erhöht. Die aus den Messwerten erhaltenen Kurven sind in Abb. 4.4 zu sehen. Allen Kurven gleich ist zunächst der Anstieg des Gesamtstroms bei einer Offsetspannung von 2 V - 4 V. Der Strom steigt an, bis ein Intensitätsplateau erreicht wird. Hierbei gilt: je kleiner die Peak-to-Peak-Amplitude, desto höher und schmaler ist das Plateau. So liegt es bei einer Amplitude von 65,5 V im Offsetbereich von 7 V bis 13 V bei einer Höhe von ungefähr 10 pA, bei einer Amplitude von 100 V im Offsetbereich von 3 V bis 15 V bei ungefähr 6 pA und bei einer Amplitude von 300 V im Offsetbereich von 2 V bis 16 V bei ungefähr 2 pA. Allgemein lässt sich festhalten, dass ein Offset von 10 ± 2 V für den Gesamtstrom optimal erscheint.

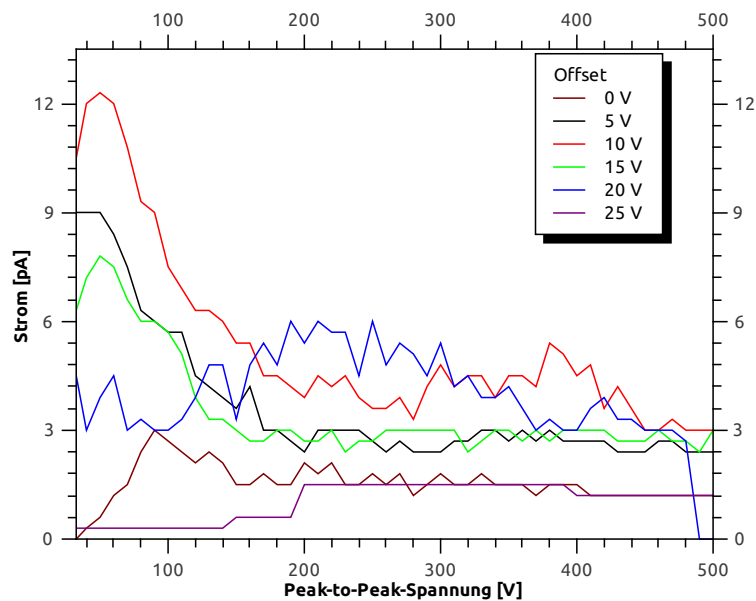


Abbildung 4.5: Auswirkung der Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktupols auf den Gesamtstrom.

4.3.2 Verhalten bei Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktupols

Zur Beobachtung des Verhaltens des Gesamtstroms bei Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktupols wurde dieser bei verschiedenen Offsetspannungen gemessen. Die Amplitude wurde von einer durch das Netzteil vorgegebenen unteren Grenze von 32,5 V bis zu 500 V in 10 V-Schritten durchgeföhren. Wie auch bei der Offsetmessung wurde der Gesamtstrom von einem analogen Amperemeter abgelesen. Die aus den Messwerten erhaltenen Kurven sind in Abb. 4.5 dargestellt. Zunächst einmal bestätigen die Plots den bereits festgestellten Trend. Den höchsten Strom erhält man bei einer Offsetspannung von 10 V und einer Amplitude von 60 V. Bei einem Offset von 5 - 15 V verhalten die Kurven sich sehr ähnlich. So steigt der Gesamtstrom zunächst an, um bei ungefähr 60 V sein Maximum zu erreichen, danach wieder abzufallen, um sich ab ungefähr 200 V auf einen konstanten Wert einzupendeln. Die Kurven bei 5 V und 15 V verlaufen dabei fast deckungsgleich, abgesehen von einem höheren Startstrom der 5 V-Kurve und einem zunächst konstantem Verlauf, bevor die Kurve abfällt. Die Kurven bei 20 V und 25 V zeigen ein davon verschiedenes Verhalten. Ist der Gesamtstrom dieser zunächst in etwa konstant, beginnt er bei 150 V zu steigen, um sich auf einem von 200 V bis 300

V (bei 20 V) bzw. bis 400 V (bei 25 V) dauernden Maximum einzupendeln und danach wieder abzusinken. In der Arbeit von Werner [9] wurde eine solche Messung bereits mit dem Quadrupol durchgeführt. Ein Vergleich der Ergebnisse zeigt, dass sich der Oktupol ähnlich dem zuvor verwendeten Quadrupol verhält. Bei jeder Offsetspannung lässt sich ein Maximum finden, welches tendentiell mit der Offsetspannung zu höheren Amplituden wandert. Allerdings sind die Kurvenverläufe des Oktupols viel schärfer und extremer sowie deutlich zu kleinen Amplituden hin verlagert, anders als beim Quadrupol. Während die Maxima des Quadrupols sich bei Amplituden von 150 V bis 350 V befinden, liegen sie bei Offsetspannungen von unter 20 V schon bei ungefähr 60 V. Erst bei höheren Offsetspannungen wandern sie in den Bereich von 200 V. Zudem lässt der Quadrupol bei der Minimalamplitude von 32,5 V keinerlei Strom hindurch, wohingegen der Gesamtstrom des Oktupols hier schon bei ca. 80 % des Maximums liegt. Außerdem sind die Maxima des Oktupols wesentlich schmaler, also über einen größeren Bereich der Amplitude hinweg ungefähr gleich hoch. Sind sie beim Quadrupol noch über einen Amplitudenbereich von ungefähr 100 V ungefähr gleich hoch, so sind es beim Oktupol nur noch wenige 10 V.

4.4 Spektrumsmessungen

Weiterhin wurden auch mehrere Massenspektren, wie in Abb. 4.7 beispielhaft zu sehen, aufgenommen, da der Gesamtstrom allein nicht aussagekräftig für die Höhe des Leucinionenstroms ist. Schließlich ist es nicht das Ziel, einen möglichst großen Strom irgendwelcher Ionen zu erhalten, sondern möglichst einen hohen Leucinionenstrom. Für die Messungen wurde nur der Massenbereich von protonisiertem Leucin durchgefahen und anschließend die Höhe des erhaltenen Massenpeaks gemessen.

4.4.1 Einfluss der Messzeit auf die Intensität

Zur Bestimmung der Intensität an jedem Messpunkt wird die jeweilige Intensität vom Messprogramm über eine einstellbare Messzeit gemittelt. Während der Messungen fiel auf, dass bei schnellen Scans mit kurzen Messzeiten höhere Intensitäten gemessen wurden. Dieses Verhalten wurde daraufhin genauer untersucht und der in Abb. 4.8 dargestellte Zusammenhang festgestellt. Dazu wurden die Intensitäten des Leucinpeaks bei Messzeiten von 125 ms, 250 ms, 500 ms, 1000 ms, 1500 ms und

2000 ms verglichen. Es zeigt sich, dass die Intensität mit steigender Messzeit nahezu linear abnimmt. Aus diesem Grund sind die Intensitäten verschiedener Spektren auch immer im Kontext der Messzeit zu vergleichen. Vermutlich kommt der Intensitätsverlust bei längeren Messzeiten daher, dass das Magnetfeld mit der Zeit leicht driftet. Je länger die Messung bei einem Messpunkt andauert, desto stärker wirkt sich dieser Effekt auf die Messung aus. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden alle Spektrumsmessungen bei einer Messzeit von 500 ms durchgeführt. Die Zeit wurde als Kompromiss aus Zeitaufwand und guter Statistik gewählt.

4.4.2 Verhalten bei Änderung des Oktupoloffsets

Um einen direkten Vergleich zwischen Gesamtstrommessung und Spektrumsmessungen zu erhalten, wurde der Einfluss des Oktupols diesmal auf die Spektren gemessen. Hierbei wurde das Oktupoloffset bei verschiedenen Peak-to-Peak-Amplituden von 0 V bis 20 V in 2 V-Schritten durchgeführt, jeweils eine Spektrumsmessung

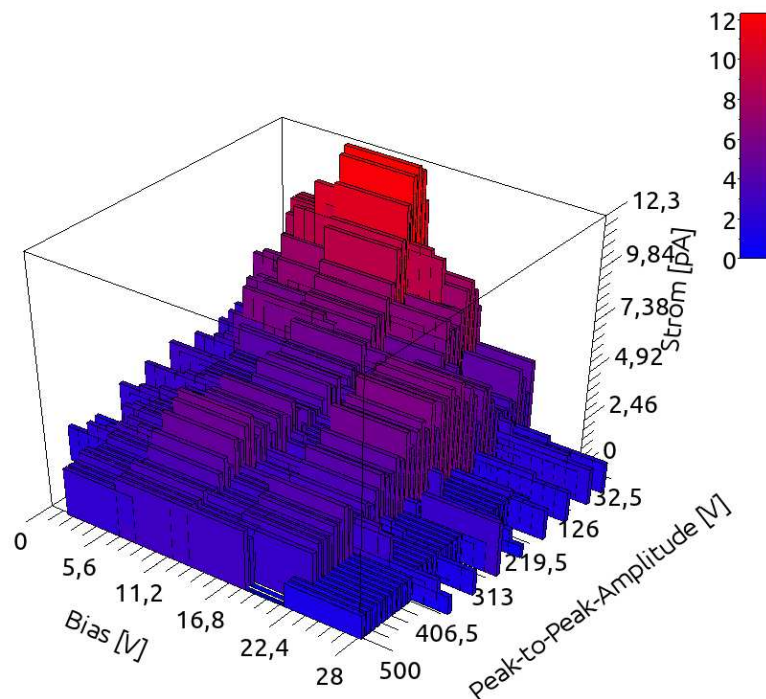


Abbildung 4.6: Dreidimensionale Darstellung des Einflusses der Offsetspannung und der Peak-to-Peak-Amplitude auf den Gesamtstrom. Der Plot wurde aus den vorhergehenden Graphen Abb. 4.5 und Abb. 4.4 erzeugt.

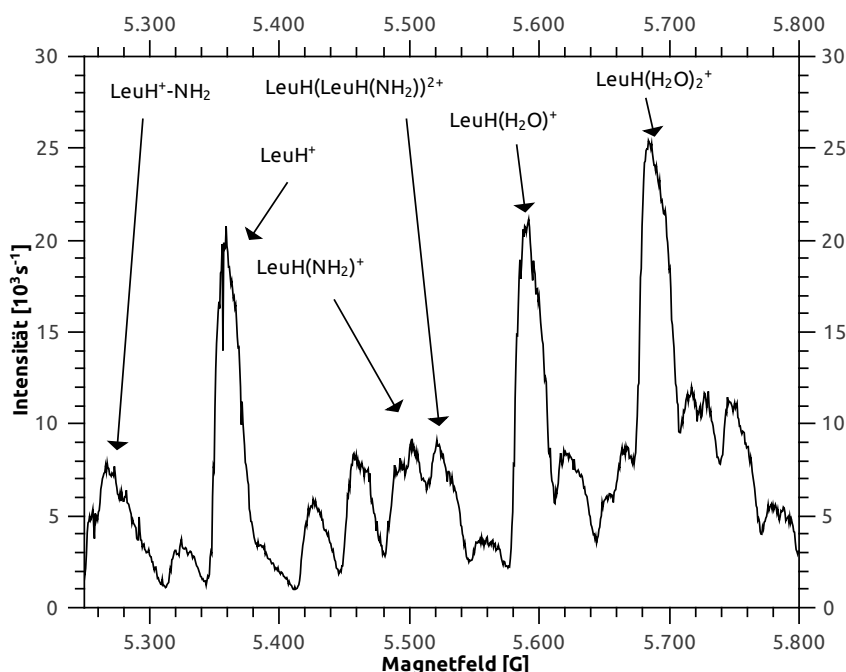


Abbildung 4.7: Spektrum des Massebereichs von Leucin. Die zur Aufnahme verwendeten Einstellungen sind in Tab. 4.4 zu finden.

vorgenommen und diese im Anschluss ausgewertet. Die Peak-to-Peak-Amplitude lag dabei zwischen 32,5 V und 55 V. Bei größeren Amplituden war kein Leucinpeak mehr zu sehen. Die Intensität in Ionen pro Sekunde wurde anschließend gegen den Offset grafisch aufgetragen. Die erhaltenen Graphen sind in Abb. 4.9 zu sehen. Die Spektrumsmessungen zeigen ein recht unerwartetes und von der Gesamtstrommessung abweichendes Verhalten. Der Strom steigt von einem Offset von 0 V an linear an, bis er bei 4 V ein Maximum erreicht. Danach fällt der Strom wieder schnell und ungefähr exponentiell ab, bis er bei einem Offset von 20 V eine Intensität von 0 s^{-1} erreicht. Der Verlauf ist für alle Peak-to-Peak-Amplituden gleich, wobei die Kurven umso niedriger und flacher verlaufen, je höher die Amplitude ist. Dies steht in Kontrast zu den Gesamtstrommessungen, bei denen ein Maximum bei einem Offset im Bereich von 10 V erreicht wurde. Zudem war bei den Gesamtstrommessungen auch bei höheren Offsetspannungen als 20 V noch ein Strom messbar, wohingegen der Leucinpeak ab 20 V nicht mehr zu sehen war.

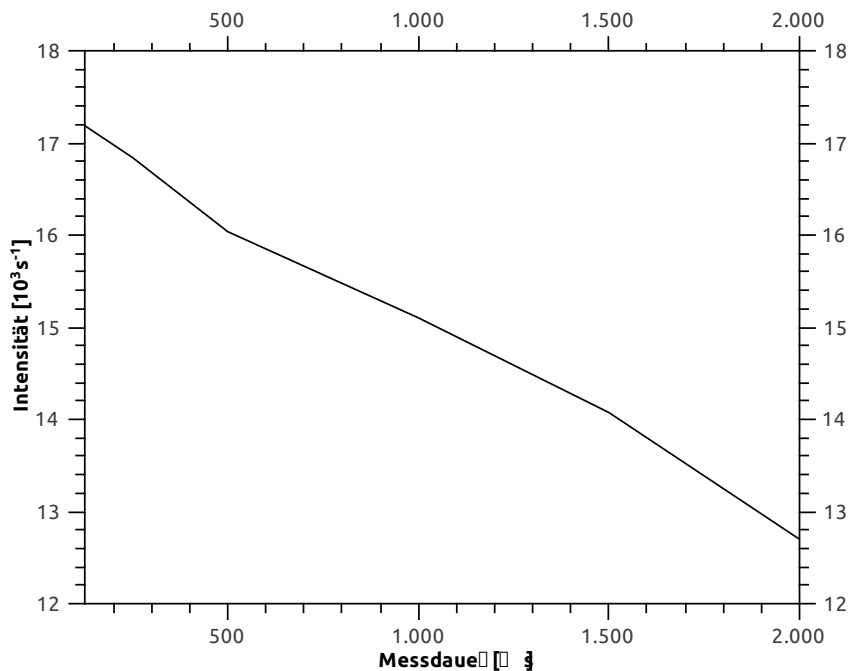


Abbildung 4.8: Einfluss der Messzeit auf die Intensitäten.

4.4.3 Verhalten bei Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktupols

Desweiteren wurde auch eine Messreihe zum Einfluss der Peak-to-Peak-Amplitude auf das Spektrum durchgeführt. Hierbei wurde die Peak-to-Peak-Amplitude bei verschiedenen Offsetspannungen zwischen 0 V und 20 V von 32,5 V, dem bauartbedingten Minimum des Oktupolnetzteils bis 55 V durchgeföhren. Die Intensität in Ionen pro Sekunde wurde anschließend gegen die Peak-to-Peak-Amplitude aufgetragen. Die resultierenden Graphen sind in Abb. 4.10 zu sehen. Auch beim Einfluss der Peak-to-Peak-Amplitude der an den Oktupol angelegten Wechselspannung zeigt sich ein Unterschied zwischen den Gesamtstrommessungen und der Auswertung der Spektren. Der Gesamtstrom stieg zunächst bis zu einem Maximum bei ungefähr 60 V V_{pp} an, danach wieder ab und blieb ab 200 V ungefähr konstant. Der größte Leucinpeak konnte bei einer Peak-to-Peak-Amplitude von 32,5 V gemessen werden und fiel danach schnell ungefähr exponentiell ab. Bei einer Amplitude von 35 V betrug seine Höhe schon nur noch ungefähr ein Drittel des Maximalwertes und ab 55 V war er nicht mehr feststellbar. Dieses Verhalten gilt für alle Offsetspannungen, wobei die Kurve bei einem Offset von 4 V die größten

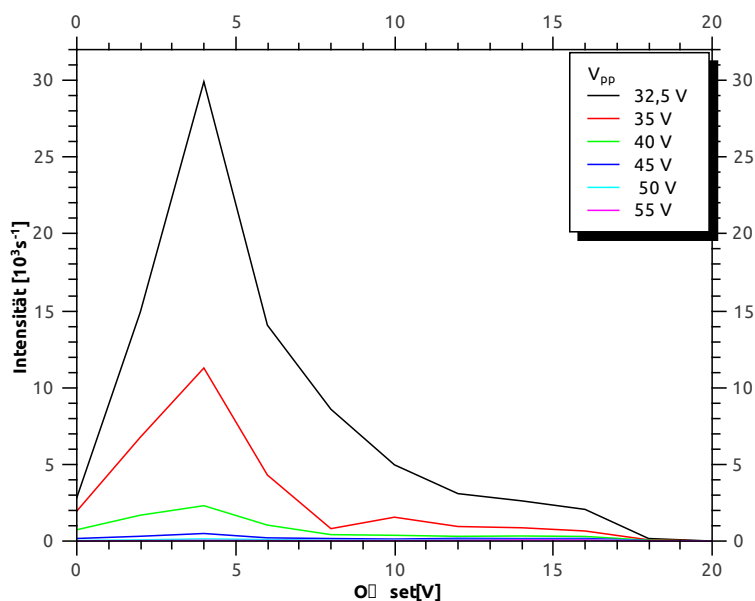


Abbildung 4.9: Auswirkung der Änderung des Oktupoloffsets auf den Leucinionenstrom.

Intensitäten aufweist. Dies stimmt mit dem erwarteten Verhalten aus den Offset-Spektrummessungen überein. Das Verhalten steht jedoch nicht nur in starkem Kontrast zur Gesamtstrommessung, sondern weicht ebenfalls deutlich von dem Verhalten eines an der Universität Aarhus in Stockholm verwendeten Oktupols ab. Dieser wird dort bei einer Amplitude von um die 250 V betrieben [4]. Auch wenn dieser in leicht modifizierter Version mit zusätzlichen Elektroden zwischen den Stäben betrieben wird, ist der große Unterschied in den Amplituden erstaunlich und kann auf eventuelle Montagefehler beim Zusammenbau des Gießener Oktupols hinweisen.

4.4.4 Verhalten bei Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Ionentrichters

Da in der Arbeit von Werner [9] bisher nur Gesamtstrommessungen für den Einfluss der Amplitude der Wechselspannung des Ionentrichters durchgeführt wurden, werden im Folgenden die Ergebnisse einer Messreihe gezeigt, welche den Einfluss der Amplitude auf das Spektrum zeigen. Die Graphen sind in Abb. 4.11 zu sehen. Die Ergebnisse der Gesamtstrommessung von Werner legen nahe, eine Amplitude zwischen 300 V und 400 V zu verwenden. Bei dieser Messung wurde eine Frequenz von 800 kHz verwendet. Messungen an der Universität Stockholm [4], bei welchen den gleichen Ionentrichter verwendet wurde, ergaben, dass für Leucin ei-

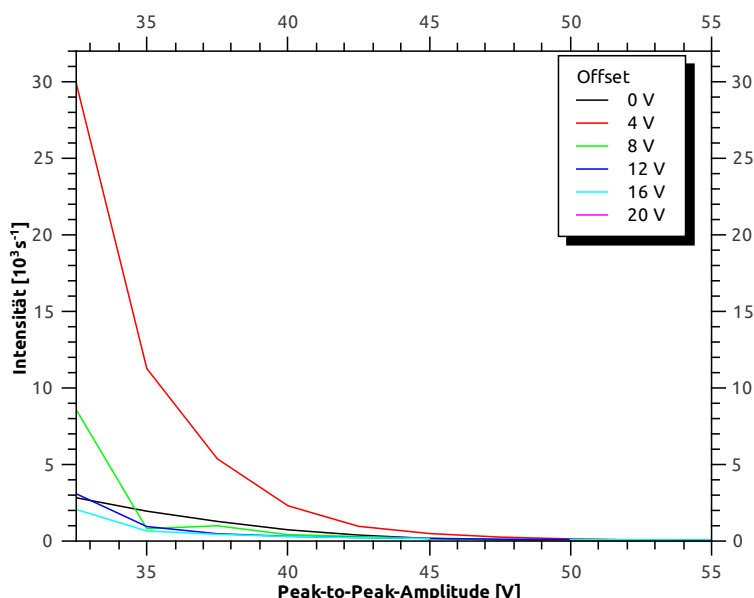


Abbildung 4.10: Auswirkung der Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Oktupols auf den Leucinionenstrom.

ne Amplitude von ungefähr 75 V einen optimalen Strom ergibt. Diese Messungen wurden bei 1.750 kHz durchgeführt. Diese Messungen zeigten außerdem, dass die Amplitude umso größer sein sollte, je schwerer die verwendeten Ionen sind. Dies legt nahe, dass bei den Gesamtstrommessungen von Werner schwerere Ionen den Strom dominierten. Aus der Messung, deren Ergebnis in Abb. 4.11 zu sehen ist, geht hervor, dass der höchste Leucinstrom bei einer Amplitude von ungefähr 80 V erreicht wird. Die Frequenz der Wechselspannung betrug hierbei ungefähr 570 kHz. Das steht in sehr guter Übereinstimmung mit den Messungen aus Stockholm, welche ungefähr den gleichen Wert als Ergebnis ergaben. Der Gießener Ionentrichter ist jedoch generell toleranter gegenüber höheren und niedrigeren Amplituden. Während die Höhe des Leucinpeaks selbst bei einer Amplitude von 32,5 V noch gut die Hälfte des Maximalwertes aufweist und erst ab 250 V Amplitude auf null abfällt, ist die Transmission nach Stockholm bei Amplituden um die 30 V nahezu null und ab 150 V real null.

4.4.5 Einfluss der Kapillarentemperatur auf das Massenspektrum

Zur Bestimmung des Einfluss der Kapillarentemperatur auf das Massenspektrum wurden bei Temperaturen zwischen 30°C und 90°C Spektren aufgenommen, siehe

Tabelle 4.2: Spannungswerte der Spektrumsmessungen des Oktupolverhaltens. Es wurde eine $37,5 \frac{\text{mol}}{\text{kg}}$ starke Leucinlösung verwendet. Die erhaltenen Graphen sind in Abb. 4.9 und Abb. 4.10 zu sehen.

Nadel	2,925 kV
Funnel DC 1	$2,01 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel DC 2	$12,48 \cdot 20 \text{ V}$
Funnel Extraktion	$14,5 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel V_{pp}	75 V
Kapillare	30 V
Linse 1	-55 V
Linse 2	-120 V
Einzellinse außen	$0,78 \cdot 35 \text{ V}$
Einzellinse innen	0 V

Abb. 4.12. Man erkennt gut die unterschiedlichen Einflüsse der Temperatur. So ist die Höhe des Untergrunds von der Temperatur unbeeinflusst. Die Höhe des Leucinpeaks ist für 34°C und 65°C ungefähr gleich, wohingegen sie im Vergleich dazu bei 93°C um ein Viertel geringer ist. Bei Leucin mit zweifach angelagertem Wasser ergibt sich das gleiche Bild, wohingegen bei Leucin mit einer angelagerten Wassergruppe die Intensitäten bei 34°C und 93°C ungefähr gleich sind und bei 65°C ein wenig höher. Am stärksten sieht man den Einfluss bei den Peaks mit fehlender bzw. angelagerter NH_2 Gruppe. Steigt die Temperatur in der Kapillare an, so steigt auch die Wahrscheinlichkeit, dass die NH_2 -Gruppe von Leucin, siehe Abb. 3.1, abbricht. Das lässt sich an der Zunahme der Intensität von Leucin ohne NH_2 erkennen. In gleichem Maße, wie die Intensität der Leucinionen mit fehlender NH_2 -Gruppe zunimmt, nimmt auch die Intensität von Leucinionen mit zusätzlich angelagerter NH_2 -Gruppe zu.

Tabelle 4.3: Spannungswerte der Spektrumsmessungen des Ionentrichterhaltens. Es wurde eine $37,5 \frac{\text{mol}}{\text{kg}}$ starke Leucinlösung verwendet. Der erhaltene Graph ist in Abb. 4.11 zu sehen.

Nadel	2,925 kV
Funnel DC 1	$2,01 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel DC 2	$12,48 \cdot 20 \text{ V}$
Funnel Extraktion	$14,5 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel V_{pp}	75 V
Kapillare	30 V
Linse 1	-55 V
Linse 2	-120 V
Einzellinse außen	$0,78 \cdot 35 \text{ V}$
Einzellinse innen	0 V
Oktupoloffset	4 V
V_{pp}^{Oktupol}	32,5 V

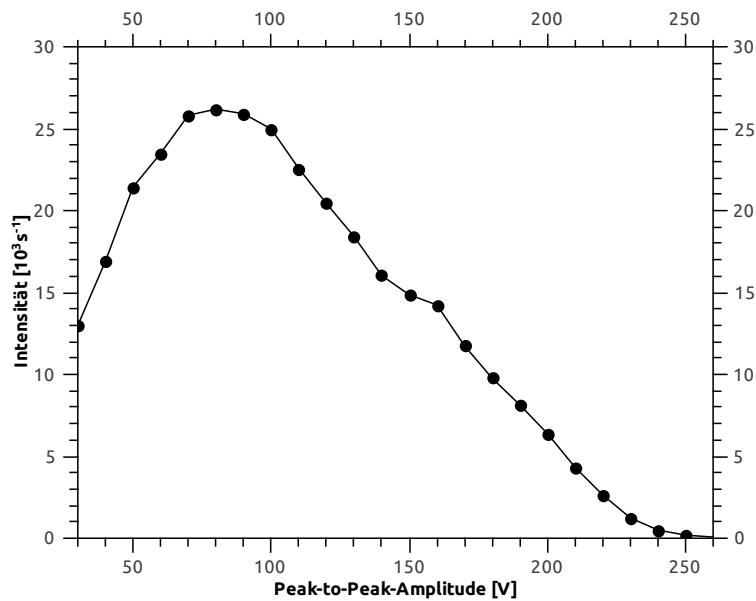


Abbildung 4.11: Auswirkung der Änderung der Peak-to-Peak-Amplitude des Ionentrichters auf den Leucinionenstrom.

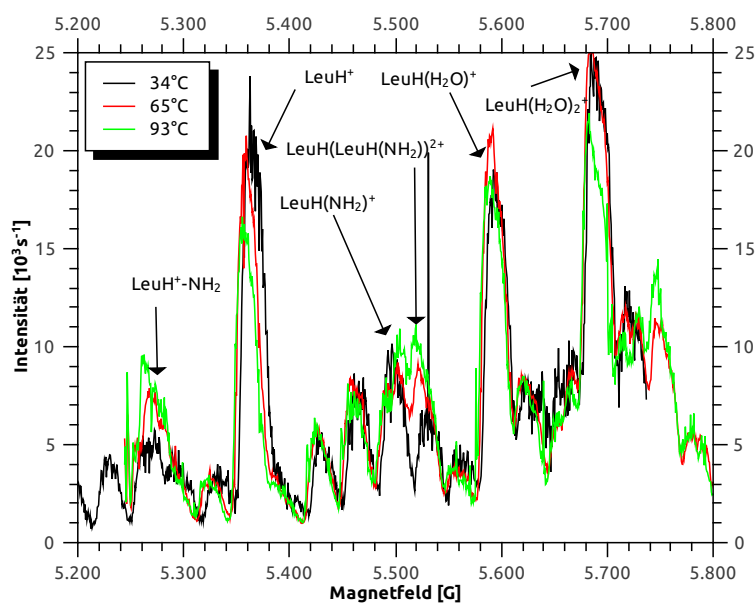


Abbildung 4.12: Spektren des Massebereichs von Leucin bei verschiedenen Kapillarentemperaturen. Die zur Messung verwendeten Einstellungen sind in Tab. 4.4 zu finden.

Tabelle 4.4: Spannungswerte der Spektrumsmessungen zur Kapillarentemperatur sowie für das Beispielspektrum. Es wurde eine $37,5 \frac{\text{mol}}{\text{kg}}$ starke Leucinlösung verwendet. Die Graphen sind in Abb. 4.7 und Abb. 4.12 zu sehen.

Nadel	2,925 kV
Funnel DC 1	$2,01 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel DC 2	$12,48 \cdot 20 \text{ V}$
Funnel Extraktion	$14,5 \cdot 35 \text{ V}$
Funnel V_{pp}	75 V
Kapillare	30 V
Linse 1	-55 V
Linse 2	-120 V
Einzellinse außen	$0,78 \cdot 35 \text{ V}$
Einzellinse innen	0 V
Oktupoloffset	4 V
V_{pp}^{Oktupol}	32,5 V

5 Fazit und Ausblick

Das für die Arbeit gesteckte Ziel der Erhöhung des Ionenstroms kann als geglückt gewertet werden. Die Intensität an Leucinionen konnte von ungefähr 5.000 s^{-1} auf bis zu 30.000 s^{-1} erhöht werden. Die Spektromessungen bezüglich des Ionenstrichers ergaben, dass dieser sich wie erwartet verhält [4]. Für optimalen Betrieb ist eine Peak-to-Peak-Amplitude zwischen 70 V und 80 V zu verwenden. Der aufgerüstete RF-Oktupol zeigte ein etwas unerwartetes Verhalten. Im Betrieb sollte eine Peak-to-Peak-Amplitude von 32,5 V, was deutlich unter den erwarteten 250 V liegt, sowie ein Offset von ungefähr 4 V gewählt werden. Dieses unerwartete Verhalten lässt Spielraum, dem Oktupol nochmals genauerer Betrachtung zu Teil werden zu lassen, um möglicherweise vorhandene Konstruktionsfehler ausfindig zu machen. Der Einfluss der Kapillarentemperatur ist relativ gering, es empfiehlt sich diese zwischen 40°C bis 60°C zu halten. Zur weiteren Erhöhung des Ionenstroms sollte die Kapillare genauer betrachtet werden. Eine kürzere und dünnere Kapillare sollte den Strom weiter erhöhen. Die Schwierigkeit liegt hierbei darin, dass der gesamte Kopf der Quelle angepasst werden muss sowie eine genügend hohe Pumpleistung bereitgestellt werden muss.

Literaturverzeichnis

- [1] J. U. Andersen, P. Hvelplund, S. B. Nielsen, S. Tomita, H. Wahlgreen, S. P. Möller, U. V. Pedersen, James S. Forster, and T. J. Jörgensen. *REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS*, 73(1284), 2002.
- [2] M. Dole, L. Mack, and R. Hines. Molecular Beams of Macroions. *THE JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS*, 49(5), 1968.
- [3] A. Gomez and K. Tang. Charge and fission of droplets in electrostatic sprays. *Phys. Fluids*, 6(404), 1994.
- [4] N. Haag. *Probing biomolecular fragmentation*. PhD thesis, Department of Physics, Stockholm University, 2011.
- [5] Nobelprize.org. The Nobel Prize in Chemistry 2002. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2002/index.html, July 2011.
- [6] V. R. Rao and A. Bhutani. Electric hexapoles and octopoles with optimized circular section rods. *International Journal of Mass Spectrometry*, 202:31–36, 2000.
- [7] scinexx.de. Ursuppe: Meteoriten brachten DNA-Bausteine. <http://www.g-o.de/wissen-aktuell-13760-2011-08-09.html>, August 2011.
- [8] temp-web.de. Grundwertreihe eines Thermelementes vom Typ J nach DIN EN 60584-1. http://www.temp-web.de/cms/front_content.php?idcat=141, August 2011.
- [9] J. Werner. Construction and optimization of an electrospray ionization source. Master's thesis, Institut für Atom- und Molekülphysik Justus-Liebig-Universität Gießen, 2011.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig und unter ausschließlicher Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel erstellt zu haben.

Gießen, 31. August 2011

Daniel Schury