

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

K. B.
Matthias Ernst
Gruppe 11

Datum des Praktikumstags: 20.11.2007
Protokoll-Datum: 24.11.2007
Assistent: A. Glöss

Testat:

8. Versuch: F70 - Laserdesorptionsspektrometrie

Aufgabenstellung

1. Kalibrierung des Massenspektrometers mit einer Na, K, Rb und Cs enthaltenden Probe
2. Bestimmung der Auflösung des Geräts
3. Aufnahme und Auswertung eines Massenspektrums einer Probe unbekannter Zusammensetzung
4. Erklärung der Funktionsweise eines Stickstoff-Lasers

Theoretischer Hintergrund

Bei der Flugzeitmassenspektrometrie wird die zu analysierende Probe in der Gasphase ionisiert und in einem statischen elektrischen Feld beschleunigt. Durch Messung der Flugzeit der Ionen, die vom Verhältnis Masse durch Ladung abhängt, lässt sich deren Masse bestimmen.

Überführung des Analyten in die Gasphase und Ionenerzeugung

Für feste Proben gibt es verschiedene Verfahren, die Proben in die Gasphase zu bringen. Im Versuch wird Laserdesorption angewendet. Dabei wird die auf einem Substrat aufgebrachte Probe mittels Bestrahlung mit einem i.A. gepulsten Laser verdampft.

Es kann zu verschiedenen Arten der Laserdesorption kommen: substratvermittelte thermische Desorption (das Substrat wird aufgeheizt, bis die Probe desorbiert), Desorption durch photochemische Fragmentation (durch den Laser werden bestimmte Bindungen der adsorbierten Probe angeregt, bis diese Bindung selektiv gebrochen wird, woraufhin die Fragmente die Oberfläche verlassen) und adsorbatvermittelte explosive Desorption (die adsorbierte Probe wird aufgeheizt, sodass sie explosiv desorbiert, wobei unselektiv Fragmente entstehen).

Wenn es nicht möglich ist, die Probe selber auf einfache Weise zu desorbieren, kann die matrixvermittelte Laserdesorption/Ionisation (MALDI) angewendet werden. Dabei wird die Probe in eine inerte, gut absorbierende und somit leicht zu verdampfende Matrix eingebettet. Beim Verdampfen der Matrix wird der Analyt ebenfalls in die Gasphase transportiert, unterliegt dabei nur sehr geringer bis keiner Fragmentierung und kann anschließend ionisiert werden. Auf diese Weise lassen sich auch große Moleküle wie z.B. langkettige Proteine mit molaren Massen bis zu 100000amu massenspektrometrisch untersuchen.

Die Ionenerzeugung kann entweder mit dem gleichen Laserpuls erfolgen, der die Probe desorbiert,

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

oder auch mit einem separaten Puls.

Eine weitere schonende Ionisierungsmethode ist die Elektronensprayionisation (ESI), bei der die gelöste Probe in einer Kapillare, an der Hochspannung anliegt, tröpfchenweise ionisiert wird. Wenn das Lösungsmittel unter geringem Druck verdampft, erhöht sich die Ladung, bis der Tropfen aufgrund der Abstoßung der gleichnamigen Ladung quasi explodiert und damit freigesetzt werden. Auf diese Weise lassen sich ebenfalls sehr schonend Makromoleküle mit molaren Massen über 100000 amu untersuchen.

Separation der Ionen, Flugzeit, Kalibrierung

Abbildung 1 zeigt schematisch den Aufbau des Spektrometers. Dabei ist die Probe direkt in die Repellerplatte eingelassen (bei $x=0$) und wird bis zur geerdeten Platte (im Abstand $x=s$) beschleunigt. Bis zum Detektor (im Abstand d von der Repellerplatte) fliegt das Teilchen unbeschleunigt, also mit konstanter Geschwindigkeit. Der Detektor ist hier im Experiment an ein Oszilloskop angeschlossen, welches gleichzeitig mit dem Desorptions-/Ionisationslaserpuls getriggert wird und so sehr genau die Flugzeit der einzelnen Fragmente detektieren kann.

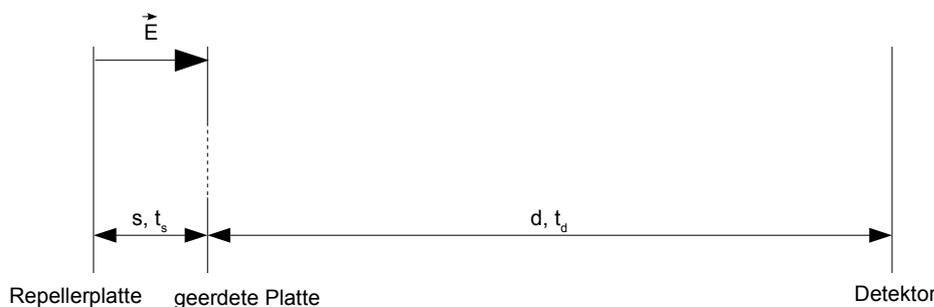


Abbildung 1: Schematischer Aufbau des Flugzeitmassenspektrometers

Im elektrischen Feld E wird Ionen mit Ladung q beschleunigt, erhalten also die kinetische Energie

$$E_{\text{kin}} = q \int_0^s \vec{E} d\vec{x} = qEs = qU \quad (1)$$

wenn das Feld homogen ist und nur in x -Richtung wirkt. Für die Beschleunigung gilt

$$a = \frac{F}{m} = \frac{q \cdot E}{m} \quad (2)$$

Damit ergibt sich für die Strecke zwischen der Repellerplatte und der geerdeten Platte

$$s = \frac{a}{2} t_s^2 + \underbrace{v_0}_{=0} t_s = \frac{qE}{2m} t_s^2 \Rightarrow t_s = \sqrt{\frac{2ms}{qE}} = \sqrt{\frac{2ms^2}{qU}} \quad (3)$$

unter der Voraussetzung, dass die Ionen zu Beginn der Beschleunigung nur vernachlässigbare kinetische Energie aufweisen.

Für die Strecke zwischen der geerdeten Platte und dem Detektor fliegen die Ionen unbeschleunigt mit der durch das elektrische Feld zugeführten Energie. Es gilt also

$$E_{\text{kin}} = qEs = qU = \frac{1}{2} m v^2 \Rightarrow v = \sqrt{\frac{2qEs}{m}} \quad (4)$$

und mit $v = \frac{s}{t}$ hier: $s=d$ $t_d = \frac{d}{v}$ folgt

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

$$t_d = d \cdot \sqrt{\frac{m}{2qEs}} = d \cdot \sqrt{\frac{m}{2qU}} \quad (5)$$

Die Gesamtflugzeit, also die Zeit zwischen Desorption und Detektion, ist $t_{\text{ges}} = t_s + t_d$. Also gilt:

$$\sqrt{\frac{m}{q}} = \text{const} \cdot t \quad (6)$$

Da jedoch die oben gemachten Bedingungen (insbesondere, dass die Ionen durch den Laser vernachlässigbarer kinetischer Energie erhalten), nicht exakt zutreffen, lässt sich die Kalibrierung besser durchführen, wenn folgender Zusammenhang angenommen wird:

$$\sqrt{\frac{m}{q}} = a \cdot t + b \quad (7)$$

Auflösung des Geräts

Die Auflösung ist definiert als

$$R = \frac{m}{\Delta m} \approx \frac{t}{2\Delta t} \quad \text{mit } \Delta m: \text{ Peakhalbwertsbreite im Intensitäts-Massenspektrum} \quad (8)$$

und Δt : Peakhalbwertsbreite im Intensitäts-Flugzeitspektrum

Zu einer Signalverbreiterung können mehrere Faktoren führen:

- Startzeit: aufgrund der endlichen Pulslänge des Lasers oder verzögerter Ionisation können die Ionen zu unterschiedlichen Zeiten gebildet werden
- Startort: die Ionen werden von unterschiedlichen Orten aus beschleunigt, infolgedessen ist ihre Flugzeit unterschiedlich. Im Experiment wird direkt von der Repellerplatte ionisiert, um diesen Effekt zu minimieren.
- kinetische Energie (Anfangsgeschwindigkeit) der Ionen: durch den Laser wird den Ionen bereits Energie zugeführt, was zu einer Anfangsgeschwindigkeit führt. Dieser Effekt kompensiert, indem die Beschleunigungsenergie sehr viel größer als diese kinetische Energie ist. Die Ionen können auch in unterschiedliche Richtungen zeigende Geschwindigkeitsvektoren haben, was durch einen speziellen, zweistufigen Aufbau (nach Wiley und McLaren) kompensiert werden kann.
- Fragmentierung während der Beschleunigung: wird ein Ion während der Beschleunigung fragmentiert, so erhält das Fragment geringere Energie als ein gleichartiges, sofort bei der Desorption entstandenes Fragment. Dadurch entstehen breitere Peaks, die zu höheren Massen verzerrt sind.

Um die Auflösung zu verbessern, kann man den Wiley-McLaren-Aufbau verwenden. Dabei werden Ionen zwischen zwei (statt wie oben skizziert einer) Platte mit unterschiedlichen Spannungen beschleunigt. Es gibt einen Fokuspunkt, bei dem die langsameren Ionen von den schnelleren eingeholt werden. Indem hier der Detektor plaziert wird, kann die Signalverbreiterung aufgrund unterschiedlicher anfänglicher kinetischer Energien minimiert werden.

Weiter erhöhen lässt sich die Auflösung mit einem Reflektron. In diesem werden die Ionen zunächst abgebremst, reflektiert und wieder beschleunigt werden. Dabei können Ionen höherer kinetischer Energie tiefer ins Feld eindringen, ihre Flugzeit verlängert sich also im Vergleich zu Ionen geringerer kinetischer Energie. Außerdem kann die Flugstrecke so bei gleicher Länge der Messkammer vergrößert werden, was auch die Auflösung verbessert.

Nachweis der Ionen

Zum Nachweis werden Mikrokanalplatten (MCP) eingesetzt. Es handelt sich dabei um Bleiglasplatten,

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

die dicht gepackte schräg eingelassene Kanäle enthalten. Außerdem liegt längs der Kanäle eine Spannung an. Wenn ein Ion in einen solchen Kanal eintritt, wird es mehrfach reflektiert und schlägt bei jedem Stoß mit der Wand Sekundärelektronen aus der Kanalwand heraus. Diese Elektronen können dann z.B. mit einem Oszilloskop detektiert werden.

Versuchsdurchführung

Nachdem die Geräte in Betrieb genommen wurden (Beschleunigungsspannung $U=20010$ V, Detektorspannung 2,3 V), wurde zunächst die Kalibrierungsprobe eingesetzt und davon das Spektrum aufgenommen (s. Anhang, Spektrum 1). Für die Bestimmung der Auflösung bei dieser Spannung wurde der letzte Peak (Cs) vergrößert aufgenommen (Spektrum 3).

Dann wurde die Kalibrierungsprobe entnommen und eine Probe unbekannter Zusammensetzung eingesetzt und ein gesamtes Spektrum aufgenommen (Spektrum 4). Auch hier wurde der letzte Peak wieder vergrößert aufgenommen.

Alle Spektren wurden als Flugzeitspektren aufgenommen und über mehrere Messungen gemittelt, um Rauschen möglichst gut zu unterdrücken.

Auswertung

Für alle Spektren wurde die Intensität so verschoben, dass die Grundlinie bei 0 liegt. Außerdem wurde der Betrag der Intensitäten gebildet und somit das Spektrum "nach oben" aufgetragen.

1. Kalibrierung des Geräts

Element	t (berechnet) [μs]	t (gemessen) [μs]	Abweichung
Na ⁺	5,20	5,00	0,20
K ⁺ (alle Is.)	6,78	6,52	0,26
Cs ⁺	12,50	12,10	0,40
⁸⁵ Rb ⁺	9,99	9,63	0,36
⁸⁷ Rb ⁺	10,11	9,75	0,36

Tabelle 1: Berechnete und gemessene Werte für die Flugzeit

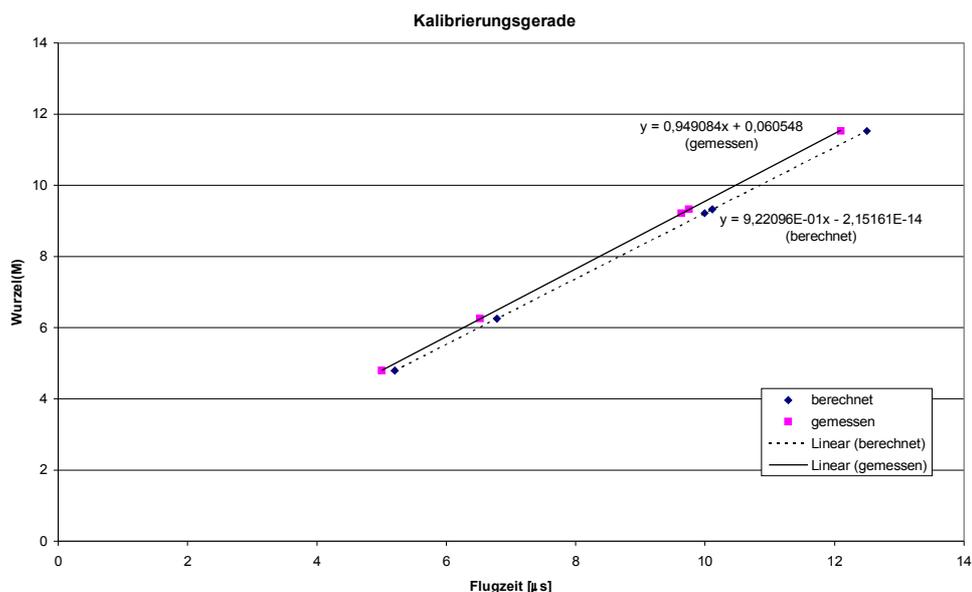
Der K-Peak wird offensichtlich aufgrund des geringen K-Gehalts der Probe nicht gut aufgelöst. Eigentlich sollten zwei Peaks erkennbar sein, dies ist jedoch nicht der Fall, weshalb hier mit der gemittelten molaren Masse gerechnet wurde.

Mit diesen Werten lässt sich eine Kalibrierungsgerade erstellen, die für die weitere Berechnung der Werte verwendet wird:

Es ergibt sich aus der Geradengleichung (da alle Ionen dieselbe Ladung haben):

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene



$$\sqrt{m} = 0,949084 t + 0,060548 \Rightarrow m = (0,949084 t + 0,060548)^2 \quad (9)$$

2. Auflösung des Geräts (s. Anhang, Spektrum 3)

Um die Auflösung zu bestimmen, wurde bei der Betriebsspannung (10020 V) der Cs-Peak, der der breiteste war, vergrößert (s. Anhang).

Dabei wurde das Maximum des Peaks bei 12,042 µs gefunden. Da der Peak offensichtlich schon recht gut einer Gauß-Kurve entspricht, wurde die Halbwertsbreite des Signals (im Spektrum mit einem Pfeil markiert) direkt abgelesen, diese beträgt 18 ns. Damit folgt

$$R = \frac{12,042}{2 \cdot 0,018} = 334,5. \text{ Für die Unschärfe in der Masse von Cs ergibt sich daraus } \Delta m = 0,40 \frac{\text{g}}{\text{mol}}.$$

3. Auswertung der Spektren

a) Kalibrierungsspektrum (s. Anhang, Spektrum 1 und 2)

Das Flugzeitspektrum für die Kalibrierung wurde nach Gleichung (5) in ein Massenspektrum umgerechnet. Damit ergaben sich die folgenden Werte:

Element	Na	K	⁸⁵ Rb	⁸⁷ Rb	Cs
Masse (aus Spektrum)	23,13	39,04	84,68	86,65	133,36
Molare Masse	22,99	39,1	84,9118	86,9092	132,91
Intensität	0,0228	0,0038	0,0132	0,0064	0,0128
relative Intensität			67,35	33,33	
natürliche Häufigkeit			72,15%	27,85%	

Tabelle 2: Kalibrierungsspektrum (natürliche Häufigkeiten aus [1])

Man sieht, dass die molaren Massen für die Atome allgemein zu groß berechnet werden, außer für Rubidium.

b) Spektrum der unbekannt Probe (s. Anhang, Spektrum 4 und 5)

Das Flugzeitspektrum wurde wiederum in ein Massenspektrum umgerechnet und dieses ausgewertet. Folgende 5 Peaks sind deutlich zu erkennen:

Peak	1	2	3	4	5
Masse	23,37	39,28	41,33	203,59	211,79
Intensität	0,0388	0,0752	0,0084	0,0076	0,0020

Tabelle 3: Peaks im Massenspektrum der unbekannt Probe

4. Durch Vergleich mit der Kalibrierungsprobe lassen sich die Peaks 1,2 und 3 direkt Na sowie ³⁹K

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

und ^{41}K zuordnen. Aufgrund der großen Masse handelt es sich bei den hinteren beiden wahrscheinlich um Blei-Isotope, also würde man 3 oder 4 Peaks erwarten (in der Natur kommen 4 Blei-Isotope vor, das radioaktive ^{204}Pb [Halbwertszeit $>10^{17}\text{a}$] allerdings nur mit einer rel. Häufigkeit von 1,5%^[1]). Aufgrund des breiten Signals wurden diese beiden Peaks nochmal genauer aufgelöst und über weniger Messungen gemittelt.

In den genaueren Spektren (6 und 7) ist zu erkennen, dass es sich in der Tat um drei verschiedene Isotope handelt, auch wenn die Spektren doch deutlich streuen (bei größerer Mittelung waren, wie auch im Übersichtsspektrum, nur noch zwei Peaks zu sehen).

Wenn der linke Doppelpeak als Artefakt aufgrund unbekannter Streuungen behandelt wird, können aus Spektrum 7 folgende Peaks abgelesen und den entsprechenden Blei-Isotopen zugeordnet werden:

Peak	1	2	3
Masse	203,6	204,6	205,5
Isotop	^{206}Pb	^{207}Pb	^{208}Pb
M des Isotops	205,97	206,98	207,98
Intensität	0,00208	0,00288	0,00560
rel. Intensität	19,70	27,27	53,03
nat. Häufigkeit	23,6%	22,6%	52,3%

Tabelle 4: Auswertung der unbekanntenen Probe (n.H. aus [1])

Wieder liegen die berechneten Massen deutlich unter den tatsächlichen Massen der jeweiligen Isotope, aber die Intensitätsverteilung stimmen recht gut mit den natürlichen Häufigkeiten überein.

5. Funktionsweise eines Stickstofflasers

Der Stickstofflaser ist ein Vertreter der Molekülgaslaser, genauer der vibronischen Laser, deren Emission im Bereich des sichtbaren und ultravioletten Lichts liegt. Dabei sind Schwingungsniveaus verschiedener elektronischer Zustände beteiligt, was das nebenstehendem Schema verdeutlichen soll (es sind nur die wichtigsten Niveaus und Übergänge aufgeführt).

Im Schema sind die elektronischen Zustände C, B, A und X mit ihrem Termsymbol und je einigen Schwingungszuständen aufgeführt

Die Anregung des Lasers erfolgt meist durch eine Hochspannungsentladung, bei der die Elektronen des Lasermediums durch Elektronenstöße angeregt werden. Dabei findet die wahrscheinlichste elektronische Anregung aus dem Grundzustand X in den Zustand C statt.

Aus dem Zustand C kann ein Übergang in den Zustand B stattfinden. Dabei können in beiden sind in beiden elektronischen Niveaus unterschiedliche Schwingungsniveaus beteiligt, die intensivste Emission erfolgt jedoch aus dem Schwingungsgrundzustand von C in den Schwingungsgrundzustand von B. Dieser Übergang zeigt eine Wellenlänge von 337,1 nm, die charakteristisch für den Stickstofflaser ist. Allerdings ist die Lebensdauer des Zustands C deutlich kürzer (40 ns) als die des Zustands B (10 μs), weshalb sich die Besetzungsinversion

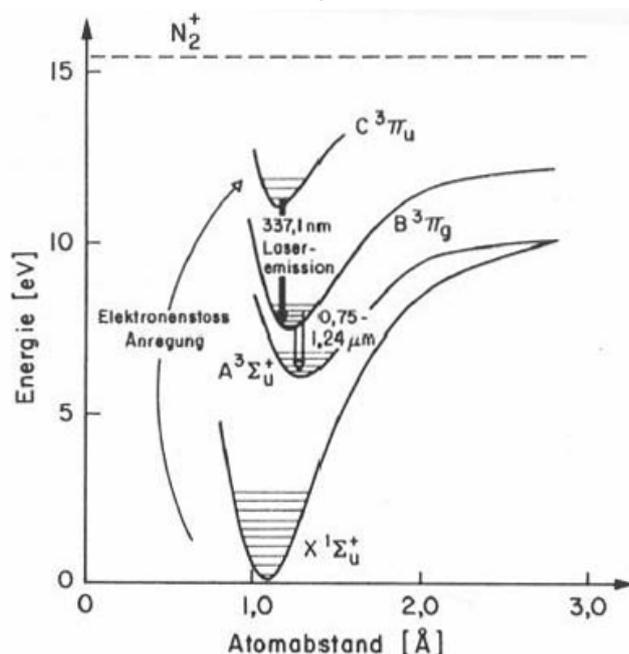


Abbildung 2: Energieniveauschema von Stickstoff [2]

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

nach einer Elektronenstoßanregung schnell wieder ausgleicht und der Laser dann nicht mehr emittiert, sondern absorbiert. Dieses Verhalten bezeichnet man als "self-terminating".

Infolgedessen ist nur ein gepulster Betrieb des Lasers möglich. Da die Anregung daher sehr schnell und sehr stark erfolgen muss, um überhaupt eine Besetzungsinversion aufbauen zu können, ist die Verstärkung des Lichts sehr groß und es kann ggf. auf einen Resonator verzichtet werden (dann wird der Aufbau als "Superstrahler" bezeichnet). Außerdem ist die Pulslänge dadurch sehr gering.

Weitere Laserübergänge können dann aus dem Zustand B in den Zustand A erfolgen. Diese liegen im Bereich zwischen $0,75 \mu\text{m}$ und $1,24 \mu\text{m}$. Auch diese Übergänge sind selbstterminierend, weil die Lebensdauer des Zustands A sehr groß ist (für die weitere Relaxation zurück in den Zustand X ist eine Änderung des Spins nötig, was die Lebensdauer des Zustands A stark vergrößert im Vergleich zu spinerlaubten Übergängen).

Stickstofflaser können mit Luft und bei Atmosphärendruck, aber auch mit reinem Stickstoff und bei höherem oder niedrigerem Druck betrieben werden.

Fehlerbetrachtung und Diskussion

Da die Fehler der möglicherweise fehlerbehafteten Größen nicht bekannt sind (z.B. Pulsdauer des Lasers, Ungenauigkeiten der Beschleunigung- und Detektorspannung, Ungenauigkeit des Oszilloskops...), ist eine genaue Fehlerrechnung nicht möglich.

Fehlerquellen im Verlauf des Experiments sind weiter oben schon aufgeführt worden (unterschiedlicher Startort und unterschiedliche kinetische Energie nach der Ionisierung, nicht exakte Erfassung der Startzeit aufgrund der endlichen Laserpulsdauer). Diese wurden aber durch den experimentellen Aufbau minimiert.

Als Fehlerquellen beim Experiment ist die starke Schwankung der Messwerte anzusehen. Die einzelnen Peaks schwankten bei einzelnen Messungen recht stark in ihrer Flugzeit, weshalb mehrere Messungen gemittelt wurden. Schon diese Mittelung birgt einen gewissen (unbekannten) Fehler. Für die genauer aufgelösten Peaks wurden nur sehr wenige (4) Messungen gemittelt, da die Details sonst untergingen, die Streuung wurde so aber wieder stärker. Möglicherweise war auch die Konzentration der Proben etwas zu gering,

Auch die Kalibrierung und infolgedessen die Umrechnung vom Flugzeit- ins Massenspektrum scheint nicht sonderlich gut gewesen zu sein, da alle Massen des mit der Kalibrierungsgeraden ausgewerteten Kalibrierungsspektrums nicht genau wiedergegeben wurden (auch in diesem Spektrum ist bereits zu sehen, dass die Massen des mehratomigen Rb unterschätzt werden - dieser Effekt kommt beim Blei dann voll zur Geltung). Immerhin entsprechen die Verteilungen der Intensitäten der Bleipeaks recht gut den natürlichen Häufigkeiten.

Hiermit bestätige ich, dass ich das Protokoll eigenständig geschrieben habe.

Karlsruhe, den _____ 2007

Matthias Ernst

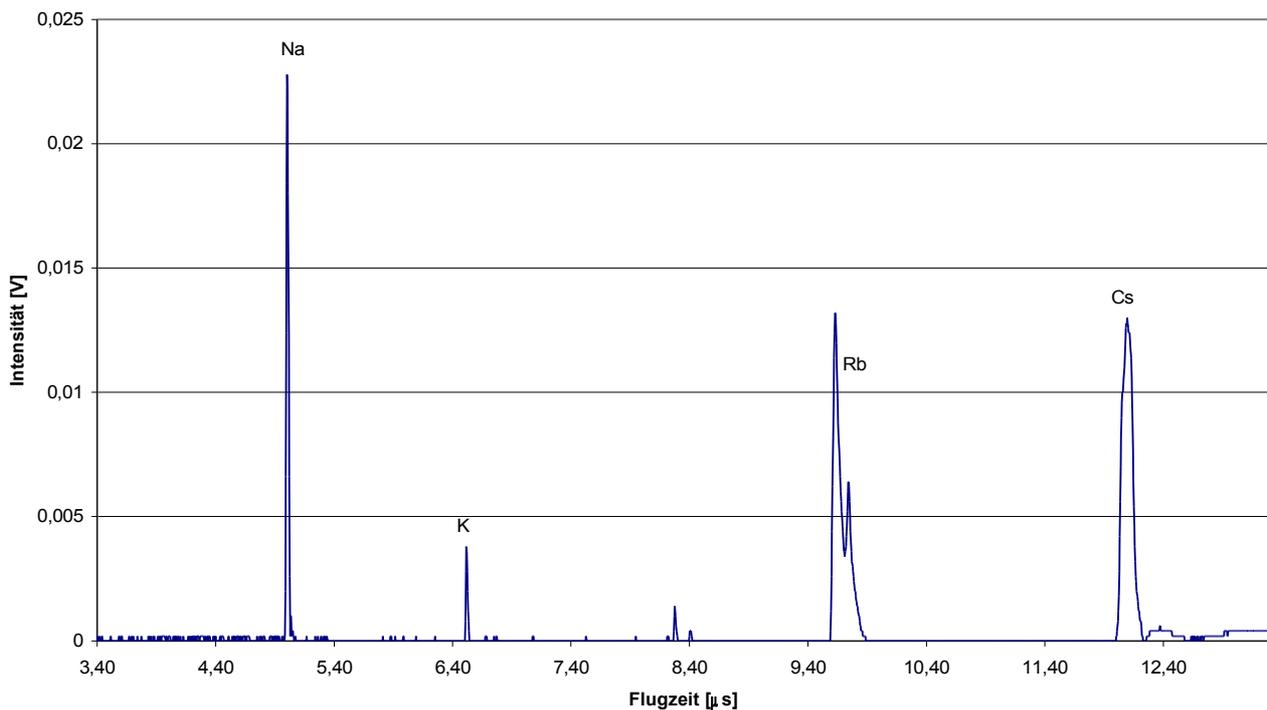
Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

Anhang

- Verwendete Literatur:
 - [1] *Handbook of Chemistry and Physics* (Hrsg.: R. C. Weast), 58. Aufl., CRC Press, **1977**.
 - [2] F.K.Kneubühl, M.W. Sigrist, *Laser*, 6. Aufl., B.G. Teubner Verlag, **2005**.
- Kalibrierungsspektrum (Flugzeit und Masse)
- Auflösung: Cs-Peak
- Spektren der unbekannten Probe (Flugzeit und Masse, 2 Massenspektren des letzten Peaks)

Flugzeitspektrum zur Kalibrierung

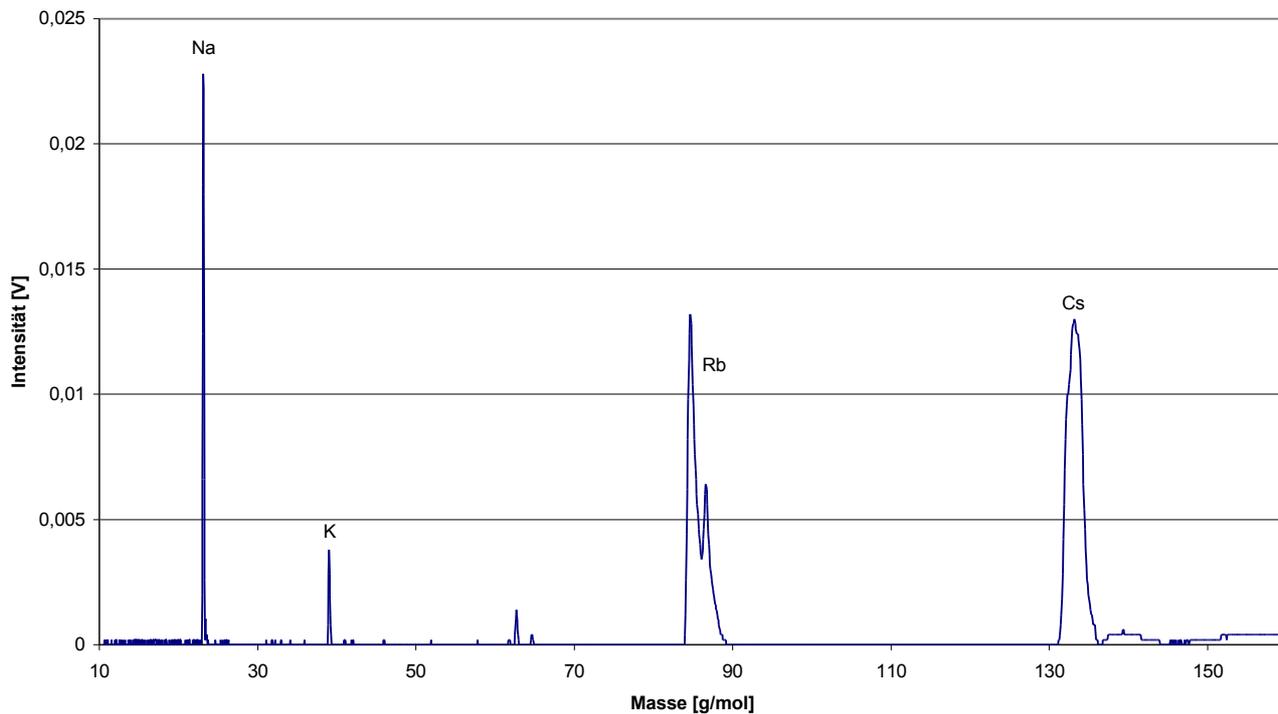


Spektrum 1: Flugzeitspektrum der Kalibrierungsprobe

Protokoll

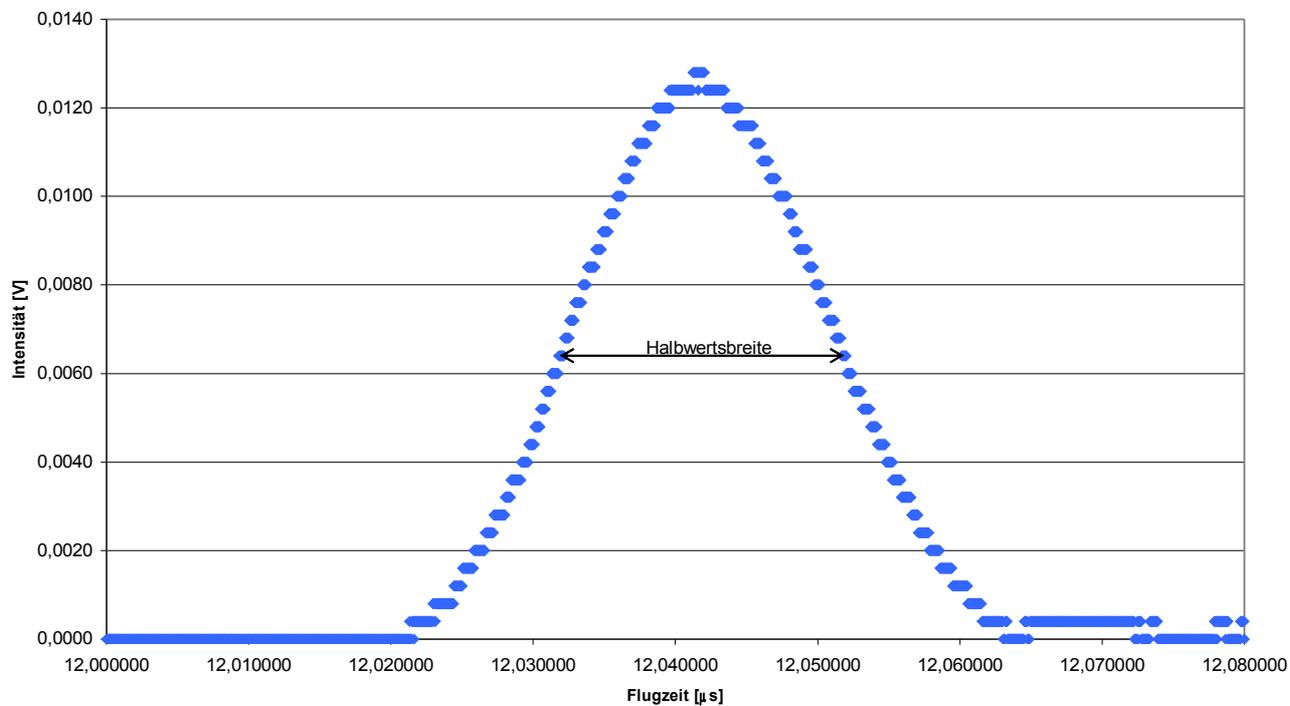
Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene

Massenspektrum zur Kalibrierung



Spektrum 2: Massenspektrum der Kalibrierungsprobe

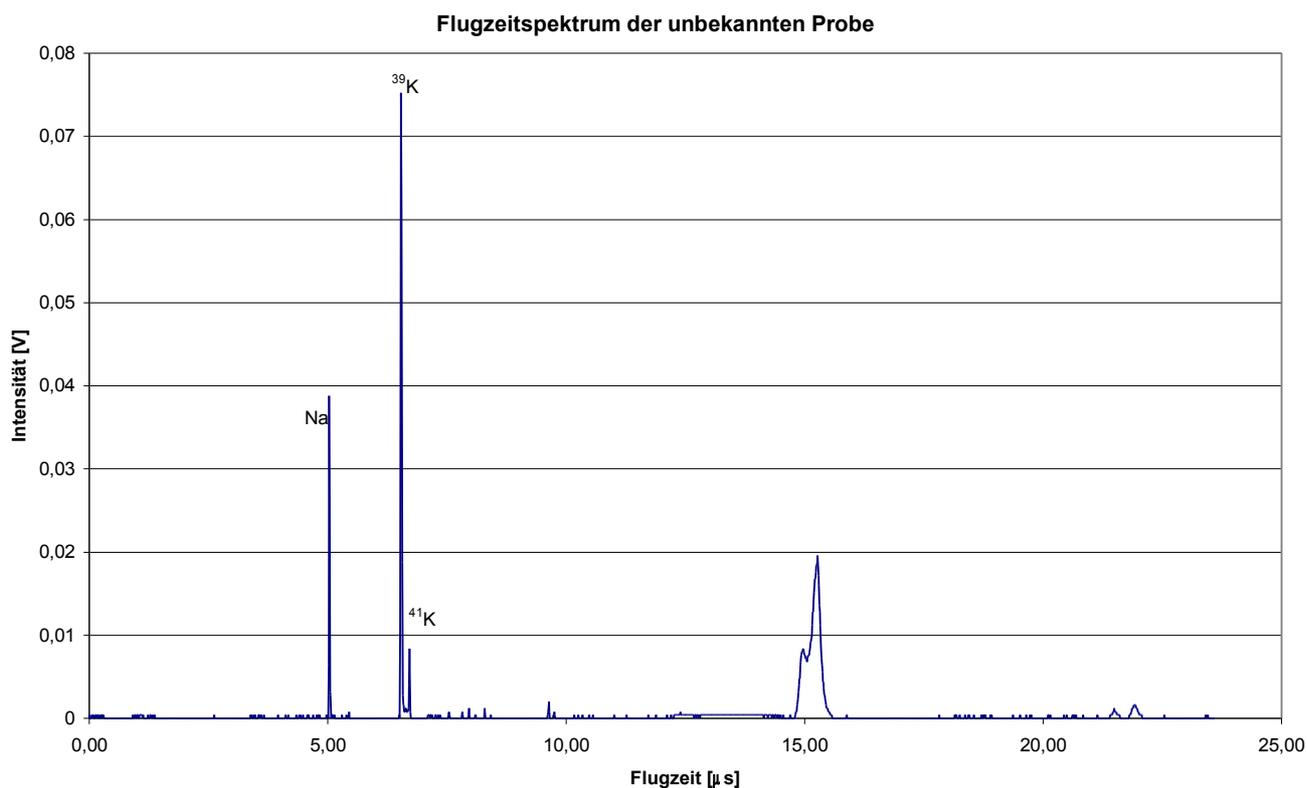
Auflösung - Cs-Peak



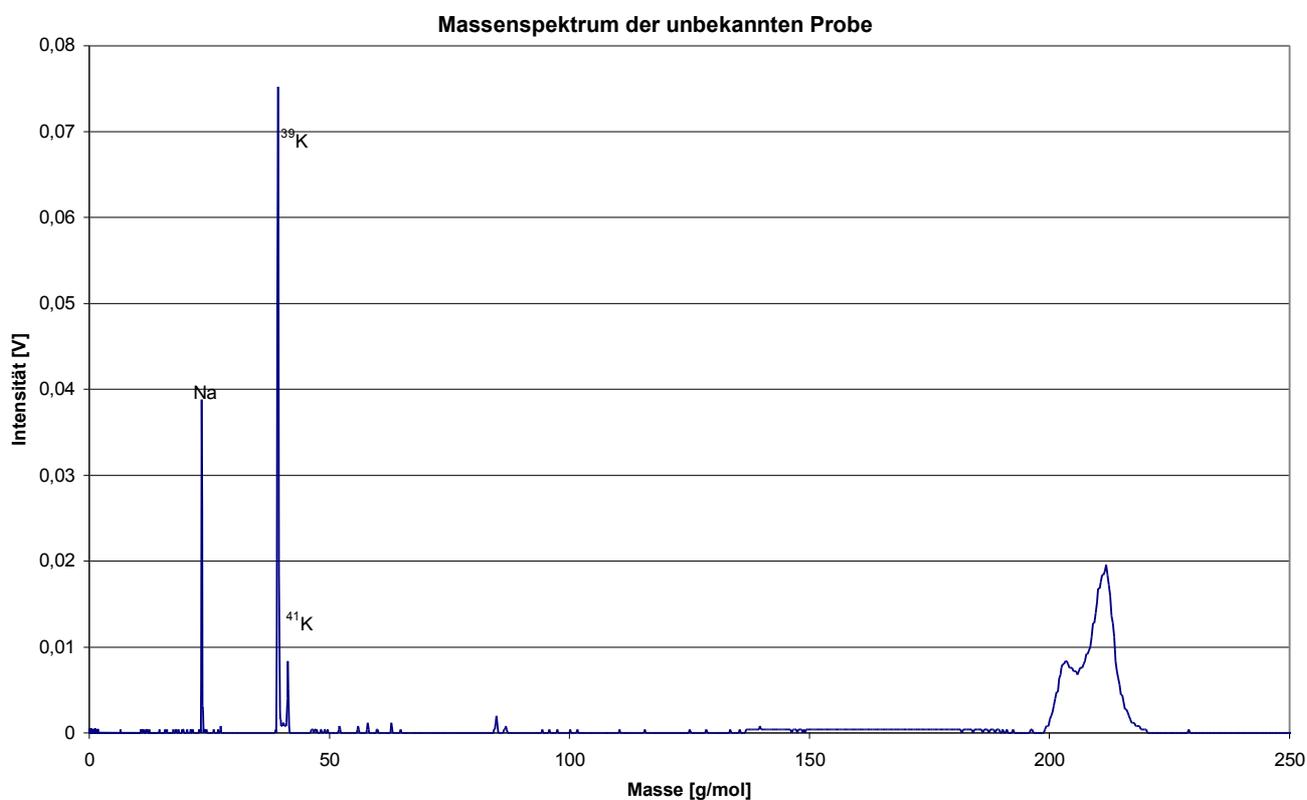
Spektrum 3: Auflösung anhand des Cs-Peaks im Kalibrierungsspektrum

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene



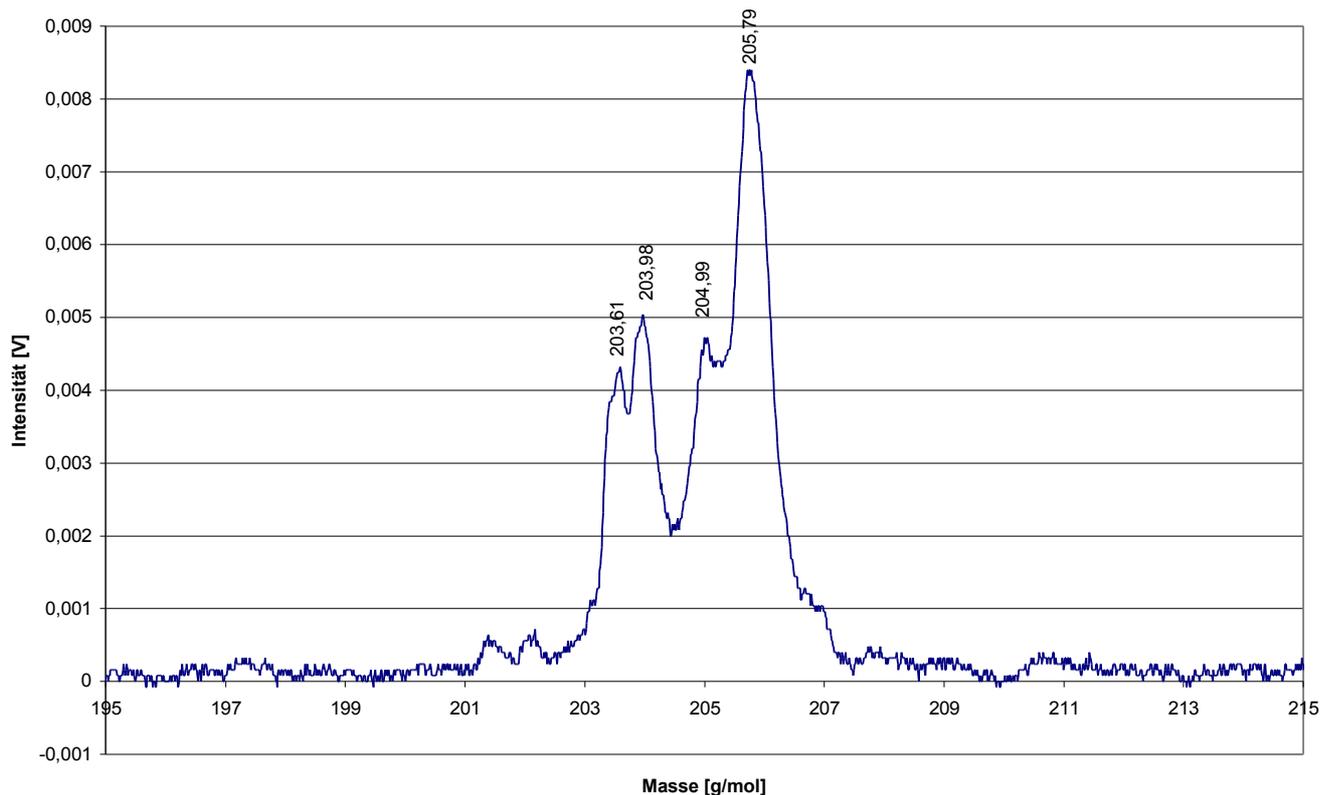
Spektrum 4: Flugzeitspektrum der Probe unbekannter Zusammensetzung



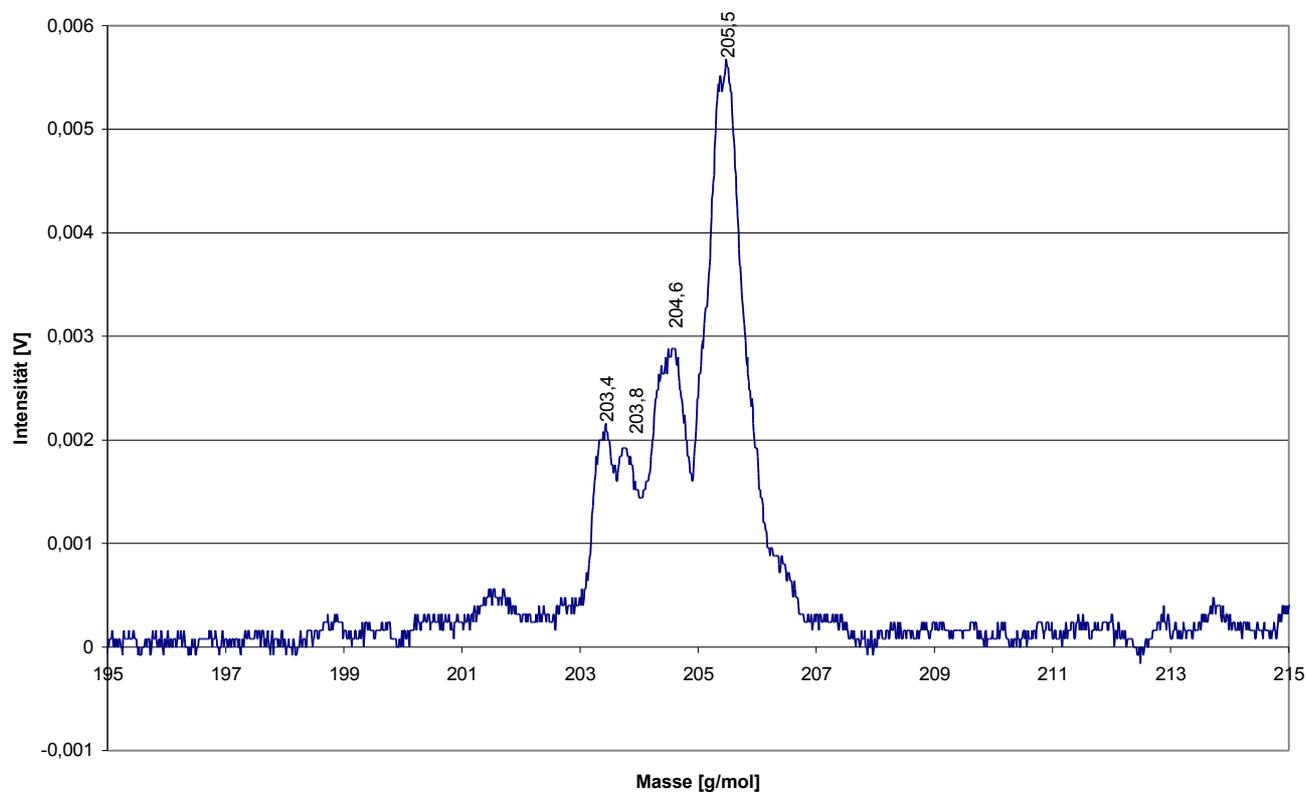
Spektrum 5: Massenspektrum der Probe unbekannter Zusammensetzung

Protokoll

Physikalisch-Chemisches Praktikum für Fortgeschrittene



Spektrum 6: Höher aufgelöster letzter Peak der Probe unbekannter Zusammensetzung



Spektrum 7: Höher aufgelöster letzter Peak der Probe unbekannter Zusammensetzung