

**Bildgebung und chemische Analytik  
mit Laserdesorptions-Massenspektrometrie  
im Bereich Forensik und Astrophysik**

Dissertation

zur Erlangung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Doktorgrades

„Doctor rerum naturalium“

der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von

**Alexander Beinsen**

aus Göttingen

Göttingen 2011

D7

Referent:

Prof. Dr. Bernd Abel

Korreferent:

Prof. Dr. Jürgen Troe

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Juni 2011

F. Y. u. N. u. m. F.



# Danksagung

Herrn Prof. Dr. Jürgen Troe danke ich für die freundliche Aufnahme in seine Abteilung und die förderlichen Arbeitsbedingungen. Ebenso danke ich ihm für die Übernahme des Korreferates.

Mein besonderer Dank gilt meinem Chef, Herrn Prof. Dr. Bernd Abel, für die interessante Aufgabenstellung, seine engagierte Unterstützung und Hilfsbereitschaft. Die hervorragenden Arbeitsbedingungen und die freundliche Atmosphäre in der Arbeitsgruppe haben entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Weiterhin danke ich Dr. Alès Charvat für seine Hilfe in fachlichen Fragen und Dr. Andreas Bögehold sowie Dipl.-Chem. Heinrich Prinzhorn für unterhaltsame Ablenkungen. Ebenso bedanke ich mich bei der MPI-Crew und Herrn Reinhard Bürsing danke ich für das Flottmachen des VUV-Lasers.

Herrn Prof. Dr. Udo Buck danke ich für die Vermittlung zwischen Heidelberg und Göttingen. Herrn Dr. Frank Postberg und der Heidelberg Dust Research Group danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Der Abel-Arbeitsgruppe in Leipzig danke ich für die freundliche Aufnahme und die netten Abende in der Leipziger Innenstadt. Allen Mitgliedern der Abteilung Troe danke ich für Ihren Beitrag zur freundlichen Arbeitsatmosphäre. Gleichfalls bedanke ich mich bei allen Mitgliedern der Abteilung Abel. Ein großes Dankeschön geht an Matthias und Heinrich für das gründliche Korrekturlesen der Arbeit.

Der DFG, insbesondere dem SFB 755, sei für die finanzielle Unterstützung gedankt.

Meinen herzlichsten Dank spreche ich meiner Familie und Freunden aus, die mich immer unterstützen.

Ich danke Dir, Yaxing, für alles. 我爱你亚星。



# Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>Übergreifende Einleitung</b>	<b>3</b>
<b>I Laserdesorptions-Massenspektrometrie</b>	<b>7</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>9</b>
1.1 Die Matrix unterstützte Laserdesorption-/ionisation . . . . .	9
1.1.1 Mechanismus der MALDI . . . . .	10
1.1.2 Desorption durch Laserstrahlung . . . . .	11
1.1.3 Energieabhängige Desorptionsmechanismen . . . . .	11
1.1.4 Geschwindigkeit der desorbierten Ionen . . . . .	13
1.1.5 MALDI-Matrizen . . . . .	14
1.1.6 Wasser als Matrix . . . . .	16
1.1.7 Desorption aus flüssigem Wasser . . . . .	16
1.1.8 Desorption aus Wassereis . . . . .	18
1.2 Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie (IR-FLMALDI) . . . . .	20
1.2.1 Mechanismus der Flüssigstrahldesorption . . . . .	20
1.2.2 Theoretische Überlegungen zum Ladungsmechanismus über schnelle Ladungstrennung . . . . .	22
1.3 Massenspektrometrie . . . . .	26
<b>2 Experimentelles</b>	<b>29</b>
2.1 Laserstrahldesorptions-Apparatur . . . . .	29
2.1.1 Vakuumkammer . . . . .	29
2.1.2 Mikro-Flüssigkeitsstrahl . . . . .	30

2.1.3	Probeneinführung ins Vakuum . . . . .	31
2.1.4	Eingesetzte Lasersysteme . . . . .	33
2.1.5	Das Massenspektrometer . . . . .	34
2.1.6	Datenaufzeichnung . . . . .	35
2.1.7	Messung der initialen Geschwindigkeitsverteilung der desorbierten Ionen . . . . .	35
2.2	Probenvorbereitung . . . . .	36
2.2.1	Eingesetzte Chemikalien und Materialien . . . . .	36
2.2.2	Ansatz der Probelösungen . . . . .	37
2.2.3	Ansatz der Konzentrationsreihen . . . . .	37
2.2.4	MALDI-Probenvorbereitung . . . . .	37
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>39</b>
3.1	Initialgeschwindigkeiten der desorbierten Ionen . . . . .	39
3.2	Desorption mittels VUV-Laser – Flüssigstrahl . . . . .	42
3.2.1	VUV-FLMALDI-MS von reinem Wasser . . . . .	42
3.2.2	VUV-FLMALDI-MS von Alkali- und Erdalkalisalzen . . . . .	44
3.2.3	VUV-FLMALDI-MS organischer Moleküle . . . . .	47
3.3	Desorption mittels VUV-Laser – MALDI . . . . .	48
3.3.1	Wassereis als Matrix . . . . .	51
3.3.2	Glycerol als Matrix . . . . .	51
3.4	Desorption mittels IR-Laser – Flüssigstrahl . . . . .	54
3.4.1	IR-FLMALDI-MS von Salzlösungen . . . . .	54
3.4.2	IR-FLMALDI-MS von Biomolekülen . . . . .	56
3.5	Desorption mittels IR-Laser – MALDI . . . . .	59
3.5.1	Wassereis als Matrix . . . . .	59
3.5.2	Glycerol als Matrix . . . . .	62
3.6	Vergleich der Plasmazündung für verschiedene Laserintensitäten . . . . .	65
3.7	Fazit und Ausblick . . . . .	65



<b>II</b>	<b>Enceladus – Laborexperimente</b>	<b>69</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>71</b>
1.1	Cassini und Enceladus . . . . .	71
1.2	Der Partikeldetektor – <i>Cosmic Dust Analyzer</i> . . . . .	73
1.3	Simulation der Cassini-Spektren mittels IR-FLMALDI . . . . .	76
1.4	Vergleich der Desorptionsarten von IR-FLMALDI und Einschlags-desorption . . . . .	78
<b>2</b>	<b>Experimentelles</b>	<b>81</b>
2.1	IR-Laser-System ( $\lambda = 1064 \text{ nm}$ ) . . . . .	81
2.2	Intensitätsabhängige Messungen . . . . .	81
2.3	Probenvorbereitung . . . . .	82
2.3.1	Eingesetzte Chemikalien und Materialien . . . . .	82
2.3.2	Ansatz der Probelösungen . . . . .	82
2.4	Datenaufnahme . . . . .	82
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>85</b>
3.1	Einschläge von Partikeln mit niedrigen kinetischen Energien . . . . .	86
3.1.1	Partikel mit niedrigen Salzkonzentrationen . . . . .	86
3.1.2	Partikel mit hohen Salzkonzentrationen . . . . .	87
3.2	Einschläge von Partikeln mit hohen kinetischen Energien . . . . .	90
3.3	Laborspektren für unterschiedliche Laserintensitäten . . . . .	92
3.3.1	Laborspektren für sehr hohe Laserintensitäten . . . . .	95
3.4	Sensitivitätsunterschied für unterschiedliche Ionen . . . . .	101
3.5	Fazit und Ausblick . . . . .	108
<b>III</b>	<b>Bildgebende Massenspektrometrie</b>	<b>109</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>111</b>
1.1	Historischer Überblick der bildgebenden Massenspektrometrie . . . . .	111
1.2	Funktionsweise und Charakteristika . . . . .	113
1.3	Probenvorbereitung . . . . .	117
1.4	Datenverarbeitung . . . . .	118

1.5	Bildgebende Massenspektrometrie in der Kriminaltechnik . . . . .	119
<b>2</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>123</b>
2.1	Das bildgebende Massenspektrometer . . . . .	123
2.1.1	Datenaufnahme . . . . .	124
2.1.2	Datenverarbeitung und Analyse . . . . .	124
2.2	Digitalmikroskop . . . . .	124
2.3	Probenvorbereitung . . . . .	124
2.3.1	Eingesetzte Chemikalien und Materialien . . . . .	124
2.3.2	Anfertigung der Fingerabdrücke und -spuren . . . . .	125
2.4	Fingerabdruckerkennung . . . . .	126
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>127</b>
3.1	Blauer Tintenfingerabdruck . . . . .	127
3.2	Lipidreiche Fingerspuren mit Matrix . . . . .	130
3.3	Vergleich lipidreicher Fingerspuren ohne Matrix von unterschiedli- chen Personen . . . . .	133
3.4	Detektion von Hautporen . . . . .	139
3.5	Vergleich lipidreicher Fingerspuren mit und ohne Matrix . . . . .	141
3.6	Verschwitzte Fingerspuren . . . . .	143
3.7	Fingerabdruck – Rekonstruktion und Erkennung . . . . .	145
3.8	Fazit und Ausblick . . . . .	146
<b>A</b>	<b>Tabellarischer Anhang</b>	<b>149</b>
<b>B</b>	<b>Grafischer Anhang</b>	<b>153</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>157</b>
	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>161</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>163</b>

# Zusammenfassung

Die Laserdesorption ist eine vielseitige Methode und ein unerlässliches Werkzeug in der bioanalytischen Massenspektrometrie. In dieser Arbeit wurde sie auf unterschiedliche Themengebiete angewandt.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befasst sich mit grundlegenden Untersuchungen der Laserdesorption, dem Einsatz von Wasser als Matrix und der Anwendbarkeit von VUV-Lasern zur Desorption in der Bioanalytik. Die Desorption mit IR-Lasern ist sanft und es lassen sich sogar strukturelle Änderungen der flüssigen Wassermatrix proben. Dagegen ist die Desorption mit VUV-Lasern hart und es tritt das Problem der Fragmentierung auf. Trotz der hohen Photonenenergien ist es dennoch möglich Biomoleküle mittels VUV-Laser unfragmentiert aus einer Wassereismatrix zu desorbieren.

Im zweiten Teil wurden kosmische Massenspektren der Weltraumsonde Cassini im Labor nachgebildet, um zu klären, ob sich unter der Eisoberfläche des Saturnmondes Enceladus ein flüssiger Ozean befindet. Die Ergebnisse belegen, dass es sich um einen sehr salzigen, basischen Wasserozean handelt, der NaCl, NaHCO<sub>3</sub> und KCl enthält. Zu Recht gilt Enceladus' Ozean deshalb als mögliches Habitat für extraterrestrisches Leben. Zusätzlich wurden laserintensitätsabhängige Desorptionsexperimente unterhalb und oberhalb der Plasmaschwelle durchgeführt. Damit konnten die Mechanismen der Desorption über Partikeleinschlag und Laserbeschuss verglichen und Gemeinsamkeiten festgestellt werden. Dies erlaubt es vorauszusagen, welche Spektren für bestimmte Einschlagsgeschwindigkeiten erwartet werden können.

Im dritten Teil der vorliegenden Arbeit wird das leistungsfähige Werkzeug der

bildgebenden Massenspektrometrie für kriminaltechnische Zwecke eingesetzt. Mit dieser Methode können Proben orts aufgelöst chemisch analysiert und das Ergebnis als Bild dargestellt werden. Neben der chemischen Struktur lassen sich auch feinste Oberflächendetails detektieren. Massenspektrometrische Bilder latenter, lipidreicher und verschwitzter Fingerabdrücke und -spuren mit und ohne Anwendung von Matrix wurden erstellt. Der Detailgrad der sichtbar gemachten Fingerabdrücke ermöglicht eine erfolgreiche Personenidentifikation. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die chemische Analyse genügt, um Fingerspuren verschiedener Personen eindeutig voneinander zu unterscheiden. Demnach kann die bildgebende Massenspektrometrie auch in der Kriminaltechnik gewinnbringend eingesetzt werden.

# Übergreifende Einleitung

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befasst sich mit grundlegenden Untersuchungen der Laserdesorption, dem Einsatz von Wasser als Matrix und der Anwendbarkeit von VUV-Lasern zur Desorption für die Bioanalytik. Besonders für die Bioanalytik wäre es von großem Vorteil, die natürliche Matrix Wasser zu nutzen [1]. Es wurden Desorptionsexperimente mit Laserwellenlängen von 157 nm und 2850 nm sowie unterschiedlichen Strahlungsintensitäten an den Matrizen flüssiges Wasser, Wassereis und Glycerol durchgeführt. Als Analyte kamen Salze, organische Lösungsmittel und Biomoleküle, wie Aminosäuren und Proteine zum Einsatz. Es stellte sich heraus, dass sich Wassereis für die VUV-Desorption besser eignet als flüssiges Wasser. Weiterhin wurde deutlich, dass eine Desorption von Biomolekülen in unfragmentiertem Zustand aufgrund der hohen Photonenenergie der VUV-Laserstrahlung praktisch fast ausgeschlossen ist. Trotzdem ist es für sehr kleine Strahlungsintensitäten möglich, obgleich der hohen Photonenenergien, in späten und damit kälteren Desorptionsfraktionen unfragmentierte Muttermoleküle mit hoher Signalintensität im Massenpektrum zu detektieren. Dabei ist es interessant, dass ausschließlich einfach geladene Spezies detektiert werden. Frühe Desorptionsfraktionen werden besonders bei hohen Strahlungsintensitäten im entstehenden Plasma vollständig fragmentiert. Dahingegen ist die Desorption mit einer IR-Laserwellenlänge, die auf die OH-Streckschwingung von Wasser abgestimmt ist, um viele Größenordnungen sanfter, so dass Biomoleküle unfragmentiert aus Wassereis und flüssigem Wasser desorbiert werden konnten. Für die Desorption aus flüssigem Wasser wurden zusätzlich die initialen Ionengeschwindigkeitsverteilungen ermittelt, die im Bereich von mehreren km/s liegen. Im zweiten Teil dieser Arbeit wird illustriert, dass sich mit dieser sanften Methode sogar strukturelle Änderungen der flüssigen Wassermatrix proben lassen.

Darüberhinausgehend werden im zweiten Teil Massenspektren von kosmischen Wassereispartikeln, welche die Weltraumsonde Cassini in der Nähe des Saturnmondes Enceladus aufgenommen hat, im Labor nachgebildet, um deren Auswertung und Deutung zu erleichtern. Der geologisch aktive Mond eruptiert Gas- und Wassereisfontänen aus tiefen Kratern am Südpol seiner eisigen Oberfläche, den sogenannten Tigerstreifen, deren Eispartikel den diffusen E-Ring von Saturn bilden. Die Krater reichen bis tief in das Innere des Mondes und besitzen an ihrer Oberfläche außergewöhnlich hohe Temperaturen. Daher wird vermutet, dass sich ein flüssiger Ozean unter der Eisoberfläche des Enceladus verbirgt. Da neben Wasser auch organische Materialien, sowie Ammoniak und Schwefelwasserstoff detektiert wurden, wird der vermutete Ozean des Enceladus als mögliches Habitat für extraterrestrisches Leben betrachtet. Die massenspektrometrische Analyse der Eispartikel gibt Auskunft über die chemische Zusammensetzung des Mondinneren, anhand derer sich die These des flüssigen Ozeans belegen lässt. Im Labor wurden die Massenspektren der Cassini-Sonde mit Hilfe der IR-Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie von unterschiedlich konzentrierten Salzlösungen nachgebildet. Erst dadurch konnten einige Massenlinien in den Cassini-Spektren gedeutet werden. Die Ergebnisse belegen, dass Enceladus' Ozean sehr salzig ist, neben hohen Konzentrationen von NaCl auch  $\text{NaHCO}_3$  und KCl enthält und einen basischen pH-Wert besitzt. Die hohen Salzkonzentrationen lassen sich nur dadurch erklären, dass ein flüssiges Wasserreservoir existiert, welches mit dem Gesteinskern von Enceladus in Verbindung steht. Neben Desorptionsexperimenten im Labor mit geringen Laserintensitäten, wurden auch Experimente mit sehr hohen Intensitäten jenseits der Plasmaschwelle durchgeführt. Damit konnten die Mechanismen der Desorption über Partikeleinschlag und Laserbeschuss verglichen und Gemeinsamkeiten festgestellt werden. Für kleine Desorptionsenergien lassen sich beide Desorptionsarten über den Mechanismus der schnellen Ladungstrennung erklären. Dabei werden bereits vorhandene Ladungsträger in Lösung durch Dispersion schnell voneinander getrennt und dadurch geladene Mikroteilchen erzeugt. Der Ladungsmechanismus lässt sich bis für eine nicht zu große Ionenkonzentration rein statistisch darstellen.

Schließlich wird im dritten Teil der vorliegenden Arbeit der Einsatz der bildgebenden Massenspektrometrie in der Kriminaltechnik untersucht. Die leistungsfähige

---

Methode der massenspektrometrischen Bildgebung (MSI) ist in der Bioanalytik bereits fest etabliert. In der Kriminaltechnik findet sie allerdings bislang noch keine breite Anwendung. Dabei kann die MSI latente Fingerspuren ohne aufwendige Probenvorbereitungen sichtbar machen und chemisch analysieren. Bei der MALDI-MSI werden von einer Probe orts aufgelöst Massenspektren aufgenommen. Über die computergestützte Analyse der massenspektrometrischen Datensätze kann die Verteilung der Signalintensitäten detektierter Massen über die gesamte Probe als Bild visualisiert werden. Die Probe wird orts aufgelöst chemisch analysiert und das Ergebnis als Bild dargestellt. Neben der chemischen Struktur der Probe lassen sich feinste Oberflächendetails detektieren. Im Falle der latenten Fingerspuren sind dies die Papillarlinien der Fingerkuppen. So können mit der MSI unsichtbare Fingerabdrücke sichtbar gemacht und gleichzeitig chemisch analysiert werden. Es wurden Massenbilder latenter, lipidreicher und verschwitzter Fingerabdrücke mit und ohne Anwendung von MALDI-Matrix erstellt und untersucht, inwiefern sie sich für eine forensische Analyse, d.h. für eine Personenidentifikation eignen. Die mit der MALDI-MSI erstellten Massenbilder besitzen Auflösungen, die es ermöglichen, die sichtbar gemachten Fingerabdrücke eindeutig Personen zuzuordnen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die chemische Analyse von Fingerspuren genügt, um Fingerspuren verschiedener Personen eindeutig voneinander zu unterscheiden. Die bildgebende Massenspektrometrie ist eine wertvolle Methode, die demnach auch in der Kriminaltechnik gewinnbringend eingesetzt werden kann.





# Teil I

## Laserdesorptions- Massenspektrometrie



# Kapitel 1

## Einleitung

Dieser Teil der vorliegenden Arbeit befasst sich mit den Grundlagen der Laserdesorptions-Massenspektrometrie und bildet das Fundament für die sich anschließenden Themengebiete. Die dargestellten Ergebnisse sind für beide folgenden Teile der Arbeit relevant. Es werden die Desorptionsmethoden MALDI und Flüssigstrahldesorption vorgestellt und untersucht, inwieweit sich die natürliche Matrix Wasser für die Laserdesorptions-Massenspektrometrie eignet. Denn besonders für die Bioanalytik wäre es von großem Vorteil, diese natürliche Matrix zu nutzen [1]. Auch für die bildgebende Massenspektrometrie würde dies enorme Vorteile bringen, insbesondere für die Probenvorbereitung. Weiterhin wird die Anwendbarkeit von VUV-Laserstrahlung zur Laserdesorption untersucht.

### 1.1 Die Matrix unterstützte Laserdesorption-/ionisation

Die *matrix assisted laser desorption/ionisation* (MALDI) wurde durch Hillenkamp und Karas in den späten 80er Jahren entwickelt [2–4] und ist heute nicht mehr aus dem Standardrepertoire der Analytik wegzudenken. Sie ermöglicht die sanfte und fragmentierungsfreie Überführung von nicht flüchtigen, thermisch labilen Molekülen bis zu 1 MDa in die Gasphase. Weiterhin ist sie tolerant gegenüber Probenverunreinigungen durch Salze und Detergenzien, wie sie oft bei der biomolekularen Analytik vorkommen. Ihr Probenverbrauch ist sehr gering und liegt im Subfemtomolbereich. Karas und Hillenkamp setzten im UV-Bereich absorbieren-

de organische Moleküle als Matrix ein, um die Laserdesorption (LD) zu mildern und Molekülonen unfragmentiert in die Gasphase zu befördern. Tanaka benutzte eine ähnliche Methode, er setzte allerdings eine Mischung von Glycerol und metallischen Nanopartikeln ein [5]. Da hierbei die Analyt- und Matrixmoleküle auf dem Metallsubstrat vorliegen, wird diese Methode *surface assisted laser desorption/ionization* (SALDI) genannt. Im Allgemeinen wird ein axialer Flugzeitdetektor (*time-of-flight*, TOF) mit verzögerter Ionenextraktion (*delayed extraction*, DE) zur Detektion der desorbierten Ionen eingesetzt. Viele Erweiterungen dieser Methode wurden im Laufe der Zeit entwickelt, welche im Kapitel 1.1 in Teil III besprochen werden (siehe auch die Tabelle A.1 im Anhang für eine Übersicht der gebräuchlichsten Akronyme).

### 1.1.1 Mechanismus der MALDI

Der zugrundeliegende Mechanismus der MALDI ist ein komplexer, noch immer nicht vollständig geklärter Prozess und ist seit über 30 Jahren Thema der Wissenschaft. Er beinhaltet optische und mechanische Phänomene sowie thermodynamische und physikochemische Prozesse, wie Phasenübergänge und Ionisation [6–12]. Vereinfacht erklärt, absorbieren im Überschuss vorliegende, mit Analytationen vermischte Matrixmoleküle eingestrahktes Laserlicht und werden im Falle von UV-MALDI ionisiert. Gleichzeitig wird eingestrahkte Energie in Wärme umgewandelt und das Material expandiert auf einer Zeitskala von Pikosekunden. Eine sogenannte MALDI-Wolke (MALDI-*plume*) wird erzeugt, in der Ladungsübertragung von Matrixmolekülen auf Analytmoleküle stattfindet. Desorbierte Ionen- und Ionencluster fliegen in Richtung Massenspektrometer und kühlen durch Verdampfen der Matrix ab [13, 14]. Dabei sind laut Karas *et al.* einfach geladene Spezies die „glücklichen Überlebenden“ im MALDI-Desorptionsprozess [15]. MALDI ist eine sanfte Desorptionsmethode und im Massenspektrum werden zum Großteil einfach geladene Muttermoleküle aufgezeichnet. In der IR-MALDI sind meist protonierte Spezies des Analyten in der Überzahl (siehe auch Abb. 3.17). Jedoch auch Kationenaddukte von z.B.  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  sind typisch. Bei der IR-MALDI ist die eingesetzte Photonenenergie um ein vielfaches kleiner und die Eindringtiefe der Laserstrahlung größer als bei der UV-MALDI. Auch der photoakustische Stress

ist stärker [16]. Trotzdem ist die IR-MALDI eine noch sanftere Desorptionsmethode und eignet sich sehr gut zur Desorption von großen Biomolekülen ( $> 100$  kDa) sowie Nukleinsäure-Oligomeren [16–18]. Obwohl die Mechanismen für UV- und IR-MALDI unterschiedlich sind bzw. bei IR-MALDI zusätzlich zwischen festen und flüssigen Matrizen unterschieden werden muss, sind die erhaltenen Massenspektren allesamt ähnlich.

### 1.1.2 Desorption durch Laserstrahlung

Bei der UV-MALDI (266 – 355 nm) liegt die Schwellenintensität zur Desorption im Bereich von  $10^6 - 5 \times 10^7$  W/cm<sup>2</sup>. Darüberliegende Intensitäten führen zur Plasmabildung und starker Fragmentierung. Typischerweise werden Laserfluenzen von  $50 - 500$  J/m<sup>2</sup>, Laserpulslängen von  $1 - 10$  ns und Laserfokusbereich im Bereich von  $20 - 200$   $\mu$ m eingesetzt [10]. Laserfokusbereich und darauf einzustellende Fluenzen sind von wesentlicher Bedeutung für eine hohe Analytioneausbeute. Dies ist im Hinblick auf die bildgebende Massenspektrometrie wichtig, denn dort werden bevorzugt kleine Laserfoki eingesetzt, um hohe Ortsauflösungen zu erhalten (siehe auch Teil III dieser Arbeit) [19]. Interessanterweise ist auch das Laserfokusbereich sehr wichtig für eine gute MALDI Leistung. Holle *et al.* fanden heraus, dass das Gaussprofil eines Nd:YAG-Lasers im Vergleich zum typischen Profil eines N<sub>2</sub>-Lasers wesentlich schlechtere Ergebnisse liefert [20]. Durch eine künstliche Strukturierung des Nd:YAG-Profiles konnten sie die Ergebnisse des N<sub>2</sub>-Lasers übertreffen. Die Vorteile von Nd:YAG-Lasern gegenüber N<sub>2</sub>-Lasern liegt in den niedrigeren Schuss-zu-Schuss-Schwankungen, dem höheren Durchsatz und längeren Lebensdauer. Da die benötigte Schwellenintensität für die Desorption mit zunehmender Wellenlänge ansteigt, werden für IR-MALDI höhere Laserintensitäten benötigt als für UV-MALDI [2]. Im Falle der IR-FLMALDI liegen die verwendeten Laserintensitäten im Bereich von  $10^8$  W/cm<sup>2</sup>.

### 1.1.3 Energieabhängige Desorptionsmechanismen

Je nach deponierter Laserpulsenergie unterscheiden sich die resultierenden MALDI-Massenspektren erheblich. Vertes *et al.* klassifizierten für die UV-MALDI je nach Laserintensität drei unterschiedliche Regime der Laserdesorption, wobei die Über-

gänge fließend und systemabhängig sind [21]. Im unteren Intensitätsbereich von  $10^5 - 10^6 \text{ W/cm}^2$  ist der Massentransfer ins Vakuum gering. Da bevorzugt unfragmentierte Muttermoleküle im Spektrum auftreten, eignet sich dieser Bereich für die Feststellung von Molekülmassen. Wird die Laserintensität auf  $10^7 - 10^8 \text{ W/cm}^2$  erhöht, wird die Laserenergie von der erzeugten MALDI-Wolke und der Probe absorbiert. Fragmentierungs- und Rekombinationsprozesse können auftreten und die Massenspektren strukturelle Informationen der Probe liefern. Für sehr hohe Intensitäten von  $10^9 - 10^{11} \text{ W/cm}^2$  wird eine Plasmawolke erzeugt, die die Laserstrahlung stark absorbiert und so die Probe abschirmt. Analyt und Matrix werden vollständig fragmentiert und die Detektion der geladenen Einzelteile (Elementarlinien) lässt sich als Elementaranalyse nutzen. Dieses im Folgenden als Plasma-desorption bezeichnete Phänomen wird in den Ergebnissen genauer untersucht. Denn die expandierende Plasmawolke (Plasmaexplosion) vermag es Molekülonen ohne Fragmentierung zu desorbieren. So können nach einer gewissen Wartezeit und dem Abklingen des anfänglichen Elementarionensignals unfragmentierte Molekülonen detektiert werden, wie in den Ergebnissen gezeigt werden wird. Dabei unterscheiden sich die Expansionsmechanismen von auftretenden Schockwellen und Plasmawolken für verschiedene Photonenenergien (siehe dazu auch Tab. A.2 im Anhang) und Absorption der Laserstrahlung durch die Matrix, wie von Smurov *et al.* berichtet wurde [22]. Für die resultierenden Massenspektren spielt dies aber kaum eine Rolle. Weiterhin sei anzumerken, dass bei sehr geringer Absorption der Probe, wie im Falle von Wasser und einer Laserwellenlänge von 1064 nm, eine Desorption nur im Plasmaregime herbeigeführt werden kann, wie in den Ergebnissen gezeigt werden wird.

Bei der MALDI mit Laserstrahlung im Vakuum-UV-Bereich (VUV-MALDI) ist Plasmazündung infolge der hohen Photonenenergien und der starken Absorption fast unumgänglich. Selbst bei schwachen Intensitäten tritt daher starke Fragmentierung auf. In den Ergebnissen wird gezeigt, inwiefern sich VUV-Strahlung für die Desorption von Biomolekülen eignet.

Die oben beschriebene Einteilung in drei Regime lässt sich auf die IR-MALDI übertragen. Nur ist eine Ionisation der Matrix im Bereich der kleinen Laserintensitäten aufgrund der geringen Photonenenergie eher unwahrscheinlich. Auch liegen die Ionisierungspotentiale organischer Matrizen in der Gasphase im Bereich von

7.5 – 9 eV [7]. Erst beim Übergang ins Plasma-Regime tritt Ionisation auf. Dies gilt insbesondere bei der Desorption aus flüssigem Wasser, wie bei der IR-FLMALDI. Auf den ihr zugrundeliegenden Mechanismus der schnellen Ladungstrennung und der daraus resultierenden Ladungserzeugung wird später noch eingegangen (siehe Abschnitt 1.2.2).

#### 1.1.4 Geschwindigkeit der desorbierten Ionen

Die Untersuchung der initialen Ionengeschwindigkeiten nach der Laserdesorption ist eine wertvolle Differenzierungsmöglichkeit von MALDI-Desorptionsprozessen und liefert einen wesentlichen Ansatz zur Aufklärung der mechanistischen Grundlagen im MALDI-Prozess. Weiterhin bildet die initiale Ionengeschwindigkeit eine Art qualitative Bewertungsmöglichkeit des Desorptionsprozesses. Zusätzlich hat sie Auswirkungen auf die Qualität der Ergebnisse, denn breite Geschwindigkeitsverteilungen bei hohen Geschwindigkeiten der initialen Ionengeschwindigkeiten resultieren in schlecht aufgelösten Massenspektren. Für UV-MALDI liegen die resultierenden initialen Ionengeschwindigkeiten typischerweise bei 300 – 800 m/s und für IR-MALDI bei 800 – 1500 m/s. Berkenkamp *et al.* haben für den IR-MALDI-Prozess für unterschiedliche feste und flüssige Matrizen mittlere initiale Ionengeschwindigkeiten von 800 – 1500 m/s ermittelt [23]. Dafür benutzten sie die feldfreie Drift-Methode (FFDM). Sie variierten in einem MALDI-MS die feldfreie Distanz zwischen Probenplatte und Beschleunigungsblende, um eine Flugzeitänderung der Ionen zu bewirken. Die Ionengeschwindigkeit ergibt sich dabei aus dem Quotienten von Distanzänderung und Flugzeitänderung. Zur Desorption verwendeten sie unter anderem einen Er:YAG-Laser mit einer Wellenlänge von  $2.94\ \mu\text{m}$  und einer Pulslänge von 90 ns. Es konnte der Trend festgestellt werden, dass die Geschwindigkeiten für Matrix- und Analytmoleküle mit kleiner Masse höher sind als für Moleküle mit großen Massen. Weiterhin traten bei flüssigen Matrizen (Glycerol) höhere Geschwindigkeiten auf als bei festen und auch nahmen diese bei flüssiger Matrix stärker zu, wenn die Laserintensität erhöht wurde. Bei festen Matrizen nahmen die Geschwindigkeiten unwesentlich zu, wenn die Laserintensität erhöht wurde. Dies konnte auch durch Ermer *et al.* festgestellt werden [8]. Die Initialgeschwindigkeiten nahmen ab, wenn das Matrix- zu Analyt-Verhältnis zunahm.

Interessanterweise waren die initialen Geschwindigkeiten so gut wie nicht von der IR-Wellenlänge abhängig. Bei Wellenlängen von  $2.79\ \mu\text{m}$  (Er:YSGG-Laser),  $2.94\ \mu\text{m}$  (Er:YAG-Laser) und  $10.59\ \mu\text{m}$  ( $\text{CO}_2$ -Laser) sowie Pulslängen im Bereich von  $80 - 90\ \text{ns}$  wurden ähnliche Geschwindigkeiten ermittelt. Um den Desorptionsprozess der IR-FLMALDI zu beleuchten und in die hier vorgestellten Prozesse einzugliedern, wurden in dieser Arbeit die initialen Ionengeschwindigkeiten bei der Desorption mittels IR-Laser aus dem flüssigem Wasserstrahl untersucht. Hierbei ist die FFDM mit unserer Methode zur Geschwindigkeitsmessung vergleichbar. Hier müssen die aus dem Flüssigstrahl mittels Laserdesorption freigesetzten Ionen eine feldfreie Strecke von etwa  $10\ \text{cm}$  zurücklegen, bis sie im Massenspektrometer angekommen sind und sich zwischen Repeller- und Extraktionsblende befinden. Demnach werden sie nach einer bestimmten Wartezeit (*delayed extraction*) dort eintreffen und mittels gepulster Repeller-Spannung beschleunigt und extrahiert (siehe auch Abschnitt 2.1.5). Das bedeutet, dass Ionen, die nicht zum Zeitpunkt der Hochspannungsschaltung in der Ionenkammer zwischen Repeller und Extraktionsblende sind, abgeblockt und somit nicht detektiert werden. Die Verzögerungszeit bis zur Beschleunigung wird eingestellt, sodass maximales Signal erhalten wird. Für die Aminosäure Arginin ( $174\ \text{Da}$ ) beträgt die Verzögerungszeit im Allgemeinen  $13\ \mu\text{s}$ , somit ergibt sich eine Initialgeschwindigkeit der Ionen von  $0.1\ \text{m}/13\ \mu\text{s} \approx 7700\ \text{m/s}$ .

### 1.1.5 MALDI-Matrizen

Für gewöhnlich werden nur wenige verschiedene MALDI-Matrizen eingesetzt, obwohl die Palette an unterschiedlichen Matrizen stetig zunimmt. Die meist gebräuchlichsten sind  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure (CHCA), 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) und Sinapinsäure (SA) für UV-MALDI sowie Bernsteinsäure, Glycerol und Tris  $\cdot$  HCl für IR-MALDI. Die Wahl der Matrix hängt dabei vom zu untersuchenden Analytensystem ab und kann entscheidend für eine erfolgreiche Analyse sein [10]. Z.B. liefert CHCA gute Ergebnisse für Peptide  $< 4000\ \text{Da}$ , aber nur schlechte für Proteine. Dafür wird z.B. Bernsteinsäure eingesetzt. Die Funktion der Matrix ist zunächst, die Analytmoleküle voneinander zu trennen. Sie soll die Laserenergie absorbieren und sanft auf den Analyten übertragen, somit den



Analyten vor photolytischem Schaden, d.h. vor Fragmentierung bewahren, damit dieser als intaktes Molekülion detektiert werden kann. Letztlich soll die Matrix, wenn möglich, eine hohe Toleranz für Probenverunreinigungen aufweisen. Typischerweise werden Analyt/Matrix-Verhältnisse von  $10^{-6} - 10^{-7}$  eingesetzt. Die Ionisierungspotentiale (IP) organischer Matrizen in der Gasphase liegen im Bereich von 7.5 – 9 eV. Z.B. hat DHB ein IP von  $\sim 8$  eV [7]. Dabei beschäftigen sich neuere wissenschaftliche Arbeiten damit, dass die Bildung eines sogenannten Kokristallitates, wie es bei der *dried droplet*-Methode<sup>1</sup> auftritt, eher hinderlich für eine sanfte Desorption sei, da aufgrund der großen Gitterenergien größere Laserintensitäten aufgebracht werden müssen. Daher seien sehr kleine Kristallgrößen mit großem Oberfläche zu Volumen Verhältnis zu bevorzugen. Ansätze zur Präparation liefern z.B. das Sublimieren der Matrix oder gänzlich lösungsmittelfreie Verfahren, wie das Erstellen einer homogenen pulverförmigen Mischung von Matrix und Analyt [24–26]. Je homogener die Verteilung, desto unwahrscheinlicher wird das Auftreten sogenannter *sweet spots*. Dies sind Probenstellen, an denen besonders hohe Analytionensignale detektiert werden können. Weitere Präparationsverfahren sind im Abschnitt 1.3 im Teil III aufgeführt. Die verminderten Gitterenergien spiegeln sich in höheren initialen Ionengeschwindigkeiten wieder [24]. Weiterhin ist eine starke Absorption der Matrix im angewandten Laserwellenlängenbereich zu bevorzugen, da so eine milde Desorption eher gewährleistet ist. Die Anwendung von Matrix ist im Allgemeinen unproblematisch, wenn es um nicht orts aufgelöste Probenanalyse geht. Wird jedoch eine orts aufgelöste Analysetechnik, wie die bildgebende Massenspektrometrie (*imaging mass spectrometry*, IMS) verwendet, so spielen Faktoren wie Kristallgröße, Lösungsmittel und Kompatibilität zu anderen Präparations- bzw. Untersuchungsmethoden, wie der Histologie, eine entscheidende Rolle. Besonders bei der hoch aufgelösten IMS ist die Kristallgröße entscheidend für die Erzeugung von detailreichen massenspektrometrischen Bildern.

---

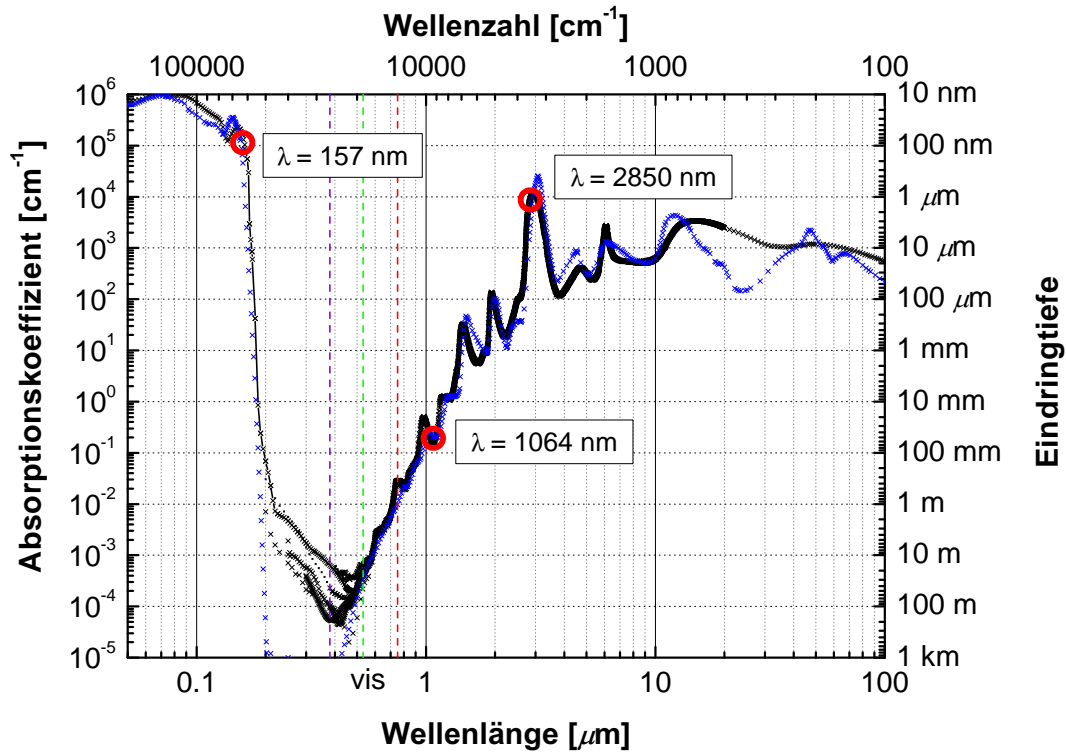
<sup>1</sup> *dried droplet*-Methode: Vermischen der Analytlösung zu gleichen Teilen mit Matrixlösung, Aufbringen auf den Probenhalter und Trocknen oder alternativ, Pipettieren von Matrixlösung auf den getrockneten Analyten und Trocknen.

### 1.1.6 Wasser als Matrix

Da durch die Anwendung von MALDI-Matrix Proteine größtenteils denaturiert werden, wird schon länger versucht, die in biologischen Systemen im Überfluss vorhandene natürliche Matrix Wasser in der MALDI zu nutzen [1]. Auch für die bildgebende Massenspektrometrie würde dies enorme Vorteile bieten, da dadurch die Probenvorbereitung erleichtert würde und außerdem die Dislokation von Biomolekülen durch Aufbringung von Matrix reduziert werden könnte. Wie bereits erwähnt, ist es für den Desorptionsprozess von Vorteil, wenn die eingesetzte Laserstrahlung stark von der Matrix absorbiert wird. Für Wasser bietet sich daher die starke Absorptionsbande der OH-Streckschwingung im infraroten Bereich bei  $2.9\ \mu\text{m}$  an, wie das Absorptionsspektrum in Abb. 1.1 verdeutlicht. Bei dieser Wellenlänge lässt sich Wasser sanft und effizient mittels Laserstrahlung dispergieren, weshalb sie für die IR-FLMALDI eingesetzt wird. Im Hinblick auf die bildgebende Massenspektrometrie, die kleine Laserfoki benötigt, um massenspektrometrische Bilder mit hohen Auflösungen zu erzeugen, ist eine kurze Laserwellenlänge zu favorisieren, da dafür die theoretische Fokussierbarkeit höher ist. Um eine hohe Absorption der Matrix Wasser zu gewährleisten, wurde der Einsatz eines  $\text{F}_2$ -Excimer-Lasers, mit einer Wellenlänge von 157 nm, zur Desorption getestet. Im Allgemeinen wird die Laserdesorption bei der MALDI im Vakuum durchgeführt, weshalb der Analyt aus Wassereis desorbiert wird, oder wie bei der IR-FLMALDI, aus einem flüssigen Wasserstrahl. Dabei ist der flüssige Wasserstrahl im Vakuum wesentlich einfacher zu handhaben als eine Eisoberfläche, da zum einen keine Temperierung erfolgen muss und zum anderen eine sich ständig selbst erneuernde Oberfläche für die Desorption vorliegt. Jedoch ist die Flüssigstrahldesorption für bildgebende Massenspektrometrie nicht verwendbar, weil sie keine Ortsauflösung bietet.

### 1.1.7 Desorption aus flüssigem Wasser

Die Desorption aus flüssigem Wasser durch IR-Laserstrahlung unter Anwendung der Mikro-Flüssigstrahl-Technik wird in unserer Arbeitsgruppe schon seit längerer Zeit als Analysemethode eingesetzt. Da diese Methode zur MALDI ähnlich ist, wird hier der Name *infrared - free liquid* MALDI (IR-FLMALDI) favorisiert. Bei dieser wird ein Mikrometer dünner Flüssigkeitsstrahl mittels Laserbeschuss schnell



**Abbildung 1.1:** Das Absorptionsspektrum von Wasser. Bis auf die Daten von Warren und Brandt [27, 28] für Eis (blauer Plot), sind die Daten für die Auftragung der Zusammenstellung von Prahl [29] entnommen worden (schwarze Plots) [27, 30–48]. Bis auf den, aufgrund der geringen Absorption, schwierig zu vermessenden Wellenlängenbereich zwischen 200 – 600 nm liegen alle Kurven annähernd gut übereinander. Die schwarze Linie gibt die Daten von Segelstein [41] wieder. Für die in dieser Arbeit verwendeten Laserwellenlängen ergeben sich Eindringtiefen der Laserstrahlung von  $\sim 100 \text{ nm}$  für  $\lambda = 157 \text{ nm}$ ,  $\sim 1 \mu\text{m}$  für  $\lambda = 2850 \text{ nm}$  und  $\sim 5 \text{ cm}$  für  $\lambda = 1064 \text{ nm}$ .

dispergiert und dadurch die in der Lösung befindlichen Ionen freigesetzt. Die eingesetzte Laserwellenlänge beträgt  $2.9\ \mu\text{m}$  und ist auf die Absorptionsbande der OH-Streckschwingung eingestellt. Auf diese Methode wird in Abschnitt 1.2 und folgende näher eingegangen.

### 1.1.8 Desorption aus Wassereis

Schon seit längerem wird versucht Wassereis als Matrix in der IR-MALDI einzusetzen. Dabei treten bei der Desorption aus gefrorenen Analytlösungen meist folgende Probleme auf: Das Eis muss im Vakuum temperiert werden, damit es nicht schmilzt oder sublimiert. Die starke Kohäsion und Oberflächenspannung erschwert die Herstellung dünner Proben, weshalb meist Ethanol zugemischt wird. Der größte Schwachpunkt ist, dass relativ hohe Analytkonzentrationen benötigt werden und große Biomoleküle, wie Proteine nur schwer zu desorbieren sind. Diese Probleme führen zu einer geringen Wiederholbarkeit qualitativ hochwertiger MALDI-Ergebnisse und spielen eine entscheidende Rolle für die weitere Verbreitung der Methode in der Bioanalytik.

Ansätze zur Lösung dieser Probleme liegen z.B. im Einsatz der SALDI oder ähnlichen Methoden sowie der Verwendung von sehr dünnen und nur leicht feuchten Proben. Von der Schwierigkeit, Proteine aus gefrorenen Lösungen zu desorbieren, berichten explizit z.B. Kraft *et al.* [49]. Erst mittels der cryo-SALDI-Technik und dem Beimischen von Graphitpartikeln zur Analytlösung gelang es ihnen Proteine aus Wassereis zu desorbieren. Bereits Williams *et al.* berichteten, dass sie Nukleinsäuren und Lysozym aus deren gefrorenen Pufferlösungen von einem Kupfersubstrat desorbieren konnten [50]. Dabei lag die eingesetzte Farbstoff-Laserwellenlänge im Sichtbaren bei 581 nm und das Kupfersubstrat übernahm die Eigenschaft der Matrix. Auch wurde untersucht, inwiefern sehr kurze Laserpulse etwas zur Verbesserung der Methode beitragen können. Winograd *et al.* verwendeten 200 fs-UV-Laserpulse mit einer Wellenlänge von 400 nm [1]. Der Probenlösung wurde Ethanol beigemischt, um die Erstellung eines dünnen Eisfilms auf einem Goldsubstrat zu erleichtern. Es gelang ihnen die Proteine Bradykinin und Insulin effizient zu desorbieren. Sogar Freie-Elektronen-Laser und Pikosekundenpulse wurden von Haglund *et al.* ausprobiert [51]. Auch wenn Freie-Elektronen-Laser in der Analy-

tik wahrscheinlich keine breite Anwendung finden werden, so sind kurze Laserpulse geeignet, um den Desorptionsprozess zeitaufgelöst zu untersuchen.

Von Ziskind *et al.* konnten Wassercluster kleiner organischer Moleküle aus deren gefrorenen Lösungen desorbiert werden [52]. Jedoch benutzten sie neben einem Desorptionslaser mit einer Wellenlänge von  $3.1\ \mu\text{m}$  noch einen UV-Laser ( $\lambda = 266\ \text{nm}$ ) zur nachträglichen Ionisierung der MALDI-Wolke.

Hillenkamp *et al.* berichten von der erfolgreichen Desorption des Proteins Lysozym aus einer gefrorenen wässrigen Lösung mit einer Konzentration von  $3 \times 10^{-3}\ \text{M}$  [53]. Allerdings waren die erzielte Auflösung ( $m/\Delta m \approx 40$ ) und die Ionenausbeute sehr gering. Das Hauptsignal im Massenspektrum machten  $\text{Na}^+$ -Wassercluster aus. Daher wurde von Hillenkamp *et al.* folgende Technik favorisiert, die leicht an SALDI erinnert: Eine wässrige Proteinlösung wird auf einem Metallsubstrat luftgetrocknet, eingefroren und anschließend desorbiert. So können sehr dünne Probenflächen erzeugt werden. Mit Hilfe dieser Technik konnten Massenspektren von Proteinen mit guter Auflösung erzeugt werden ( $m/\Delta m > 200$ ). Für Proteine über 10 kDa wurden allerdings Konzentrationen im Bereich von  $10^{-3}\ \text{M}$  benötigt und Proteine größer als 30 kDa konnten nicht desorbiert werden. Eine Ausnahme machte BSA (*bovine serum albumin*, 66 kDa), welches in einer Konzentration von  $5 \times 10^{-4}\ \text{M}$  durch Zugabe von  $\text{Tris} \cdot \text{HCl}$ , welches selbst eine IR-Matrix ist, gute Spektren lieferte. Weiterhin konnte Lysozym aus Lysozym-Einkristallen desorbiert werden. Für die Einkristalle wurde ein Verhältnis von Wasser zu Lysozym von etwa 250 : 1 abgeschätzt. Dieses Verhältnis ist 2 – 3 Größenordnungen kleiner, als das bei der Probenvorbereitung unter standardmäßigen MALDI-Bedingungen verwendete. Normalerweise kommen Matrix/Analyt-Verhältnisse von  $10^4 - 10^5$  zum Einsatz. Letztlich wurde von Hillenkamp *et al.* geschlossen, dass die geringe erreichte Sensitivität eine allgemeine Anwendbarkeit von Wasser als Matrix in der IR-MALDI zu limitieren scheint [53].

In dieser Arbeit wurden Analyte aus Wassereis mittels IR- und VUV-MALDI desorbiert, um die Eigenschaften von Eis als Matrix in der MALDI und MALDI-MSI zu untersuchen. Darüber hinaus liefern die Ergebnisse Informationen, inwiefern mittels MALDI Spektren im Labor simuliert werden können, wie sie durch die Weltraumsonde Cassini über den Mechanismus der Einschlagsdesorption aufgenommen wurden und welche Gemeinsamkeiten die Desorptionsprozesse besitzen.

## 1.2 Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie (IR-FLMALDI)

Die laserinduzierte Flüssigstrahldesorption ist eine Desorptionsmethode in der Massenspektrometrie, durch die bereits in Lösung befindliche Ionen sanft aus der Flüssigkeit in die Gasphase gebracht werden, indem durch Laserdispersion/-desorption eine schnelle Ladungstrennung erfolgt [54–57]. Sie ist am ehesten mit der Methode der Matrix unterstützten Laserdesorption (*matrix assisted laser desorption/ionization*, MALDI) [58] vergleichbar. Bei beiden Methoden werden Analytione aus der kondensierten Phase per Laser in die Gasphase überführt und fast ausschließlich einfach geladene Ionen erzeugt. Die Flüssigstrahldesorption unterscheidet sich vom MALDI-Verfahren durch die eingesetzte Matrix, ein sich erneuernder flüssiger Strahl, während bei der MALDI aus einer festen Matrix desorbiert wird (siehe Abschnitt 1.1).

Die Methode wurde erstmals von Brutschy *et al.* [59] als *Laser Induced Liquid Beam Ionization and Desorption* (LILBID) vorgestellt. In unserer Arbeitsgruppe wurde sie stetig erweitert und verfeinert. Da sie der MALDI-Methode ähnlich ist, wird hier die Bezeichnung *Infrared Free Liquid MALDI* (IR-FLMALDI) bevorzugt [60]. Mit Hilfe der IR-FLMALDI ist es möglich auch empfindliche Biomoleküle sowie nicht kovalent gebundene Komplexe unfragmentiert in die Gasphase zu überführen. Da bei ihr fast ausschließlich einfach geladene Ionen erzeugt werden, und die Ionenausbeute für Biomoleküle einen linearen Zusammenhang mit deren Konzentration aufweist, eignet sie sich besonders für den Einsatz in der Bioanalytik und Proteinanalytik. Sie wird z.B. für zeitaufgelöste Studien von Proteinaggregations- und Oxidationsprozessen eingesetzt [61–65]. Weiterhin ist sie eine wertvolle Methode für die Analyse von komplexen Ionenmischungen, wie Salzlösungen [65, 66]. Es ist möglich die IR-FLMALDI mit HPLC-Technik zu koppeln und sie kann sowohl im Vakuum als auch bei Normaldruck an Luft eingesetzt werden [60].

### 1.2.1 Mechanismus der Flüssigstrahldesorption

Die Dispersion des Wasserstrahls und Desorption der Ionen erfolgt durch Beschuss des Flüssigstrahls mit einem Laserpuls, der eine Wellenlänge besitzt, die vom flüs-

sigen Medium absorbiert wird. Im Falle von Wasser, welches hier als Medium verwendet wurde, ist der Laser auf die OH-Streckschwingung eingestellt ( $\lambda \approx 2.9 \mu\text{m}$ , siehe auch Abb. 1.1 bzgl. des Absorptionsspektrums von Wasser). Der folgende etablierte Mechanismus wird durch experimentelle Ergebnisse und MD-Simulationen gestützt [67–69].

Durch eine inhomogene, schlagartige Erhitzung des Wasserstrahls mittels Laserbeschuss bildet sich eine Schockwelle aus, die den Strahl durchläuft und ihn schnell in kleine, bis zu nanometergroße, Tröpfchen dispergiert [69]. Die Tröpfchen verdampfen auf ihrem Weg zum Massenspektrometer ihre Wasserhülle, kühlen deshalb schnell ab und werden schließlich im Spektrometer detektiert. Je nach Größe der desorbierten Ionen, können diese mittlere Geschwindigkeiten von bis zu 10 km/s erreichen (siehe Abb. 3.1 und Abb. 3.2). Die inhomogene Erhitzung kommt z.B. über die geringe Eindringtiefe der Laserstrahlung in den Wasserstrahl zustande (etwa  $1 \mu\text{m}$  bei  $\lambda \approx 2.9 \mu\text{m}$ , siehe Abb. 1.1). MD-Simulationen belegen, dass Biomoleküle durch die Wassermatrix optimal vor Fragmentierung geschützt sind und nur minimal aufgewärmt werden [69, 70]. Dies spiegelt den sanften Charakter der Desorption wider.

Die Ladung der detektierten Ionen kommt bei gelösten Salzen durch deren Eigenladung zustande, bei Biomolekülen treten bevorzugt protonierte oder deprotonierte (positiv oder negativ geladene) Spezies des Muttermoleküls auf. Dabei können bei hohen Salzkonzentrationen auch Salzaddukte des Muttermoleküls, wie z.B.  $[\text{M}+\text{K}]^+$  auftreten. Aufgrund der Autoprotolyse von Wasser sind in Lösung immer genügend Ionen für den Ladungsprozess vorhanden. Zusätzlich vergrößert sich das Ionenprodukt von Wasser beim Aufheizen durch den Laserbeschuss. Interessanterweise werden fast ausschließlich Ionen mit einfachen Ladungszuständen (+1, -1) erzeugt, was die Ähnlichkeit mit der MALDI Methode unterstreicht, in der die einfach geladenen Ionen als „glückliche Überlebende“ bezeichnet werden [15]. Selbst mehrfach geladene Kationen, wie Erdalkaliionen, werden nur als einfach geladene Spezies detektiert. Dies geschieht bevorzugt, indem Hydroxid- und Ionencluster gebildet werden, um Ladungen auszugleichen. Z.B. bildet  $\text{Ca}^{2+}$  Cluster der Form  $\text{CaOH}^+$ . Nur für große Biomoleküle, wie Proteine, können Ladungsstufen größer als eins detektiert werden, vermutlich weil sich die Ladung auf den großen Molekülen gut verteilen kann. Erst bei sehr hohen Laserintensitäten

und der Erzeugung von Plasma werden auch anorganische Ionen mehrfach geladen detektiert (siehe Abb. 3.9 in Teil III).

Um den Ladungsmechanismus dieser Desorptionsmethode qualitativ zu erklären, wurde in früheren Arbeiten noch auf die Debye-Hückel-Theorie eingegangen [65]. Im folgenden Abschnitt wird gezeigt, wie sich der Ladungsmechanismus über einfache, rein statistische Überlegungen qualitativ und quantitativ erklären lässt.

### 1.2.2 Theoretische Überlegungen zum Ladungsmechanismus über schnelle Ladungstrennung

Wenn ein Ausgangsvolumen, das Ionen (Anionen und Kationen) enthält, schneller fragmentiert wird, als dass eine Ladungsrekombination erfolgen kann, so können Volumenfragmente erzeugt werden, die eine Nettoladung besitzen. Nach dem Prinzip der schnellen Ladungstrennung werden also bereits vorhandene Ionen voneinander getrennt und müssen nicht erst erzeugt werden. Dies ist der Grund, warum für diesen Prozess weit geringere Energien nötig sind als für eine Ionisierung. Im Falle von Wasser sind aufgrund dessen Autoprotolyse immer ausreichend Ionen für eine Ladungserzeugung vorhanden.

Der Ladungsmechanismus durch schnelle Ladungstrennung tritt in der Natur häufig auf und bildet die Grundlage der Flüssigstrahl-Laserdesorption sowie der Einschlagsdesorption bei kleinen Einschlagsenergien [71–73], weshalb im Folgenden näher auf ihn eingegangen wird.

Um den Mechanismus hinter der Ladungstrennung zu untersuchen, wurden experimentelle Ergebnisse mit Hilfe von computergestützten Berechnungen simuliert. Die Simulationen wurden durch Dr. Esteban Vöhringer-Martinez [69] in Kooperation mit Dr. Frank Wiederschein [70] angefertigt und werden hier nur qualitativ und vereinfacht wiedergegeben. Die experimentellen Ergebnisse zeigen die summierten Signalintensitäten aller positiven Natrium enthaltenden Signale für Massenspektren von wässriger NaCl-Lösung im Konzentrationsbereich von  $10^{-6}$  –  $10^{-1}$  M.

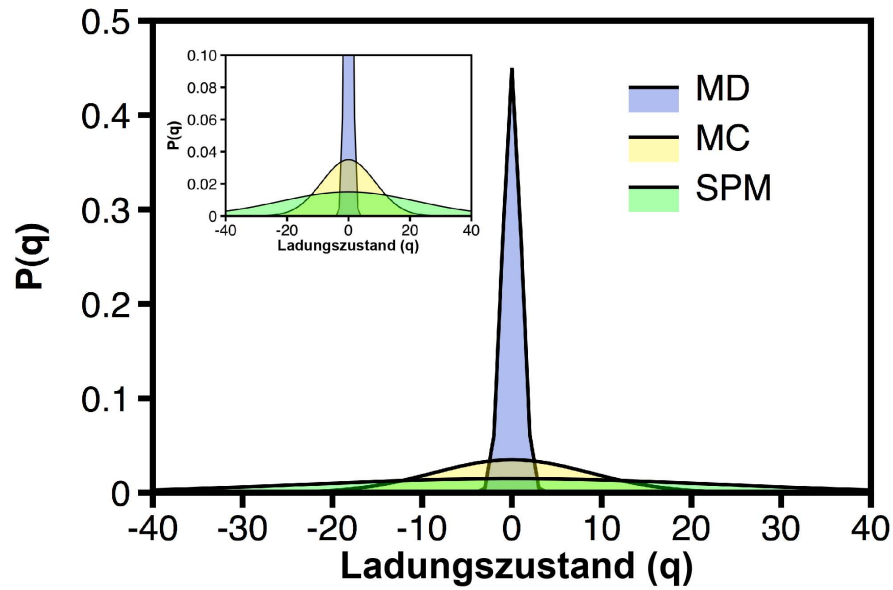
Bei der schnellen Dispersion eines Volumenelements im Pikosekundenbereich, z.B. von einer wässrigen Salzlösung, wird dieses in kleine Fragmente zerteilt, die Anionen und Kationen beinhalten. Die Wahrscheinlichkeit eine nicht neutrale Nettoladung eines Fragmentes zu finden kann nach einem rein statistischen Modell,



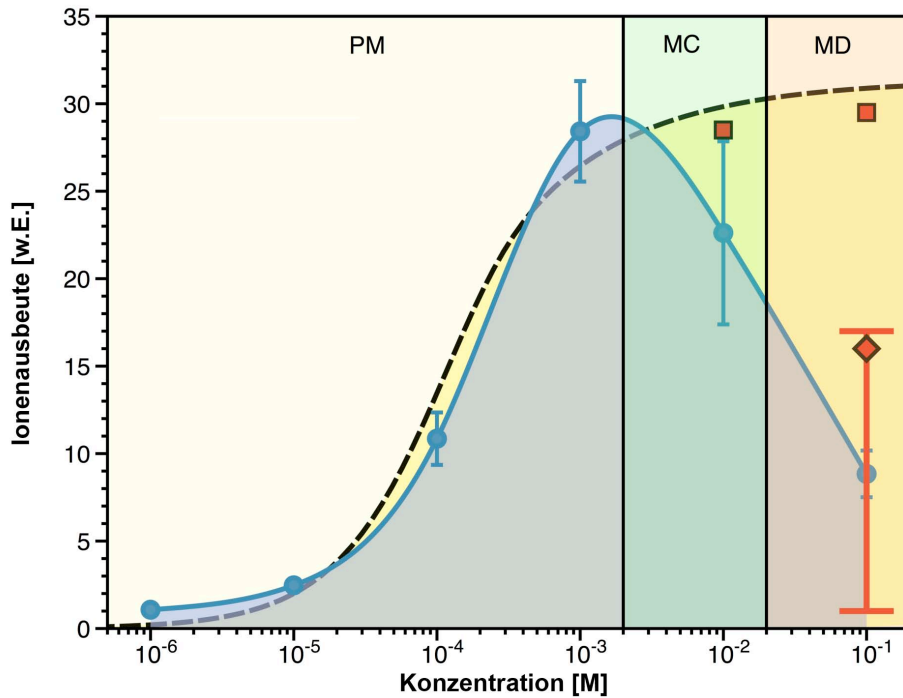
basierend auf einer Poisson-Verteilung, angenähert werden, wenn man vereinfacht annimmt, dass keine Wechselwirkungen zwischen den geladenen Teilchen auftreten. Demnach verteilen sich die Anionen  $k$  und Kationen  $i$  unabhängig voneinander. Dabei wird man eine durchschnittliche, konzentrationsabhängige Ionenanzahl  $\lambda$  im Volumenfragment vorfinden. Um die Wahrscheinlichkeit zu berechnen, ein Volumenfragment mit einer Nettoladung  $\Delta q$  vorzufinden, muss die Summe über alle Auftretswahrscheinlichkeiten aller möglicher Kombinationen von positiven und negativen Ionen gebildet werden:

$$P(\lambda, \Delta q) = \sum_{i=1}^{\infty} \sum_{k=1}^{\infty} \frac{\lambda^{i+k} e^{-2\lambda}}{i! \cdot k!} \delta(\Delta q + k + i) \quad (1.1)$$

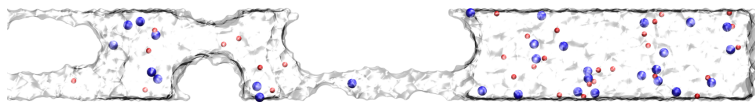
Mit diesem Ansatz kann nicht nur das Auftreten von ausschließlich einfach geladenen Ionen im Massenspektrum wiedergegeben werden, sondern zusätzlich der experimentell gemessene Intensitätsverlauf des Massenspektrensignals (über  $P(\lambda) = \sum_{i=1}^{\infty} \sum_{k=1}^{\infty} \frac{\lambda^{i+k} e^{-2\lambda}}{i! \cdot k!}$ ). Allerdings sagt dieser Ansatz fälschlicherweise für hohe Salzkonzentrationen hohe Nettoladungszustände der Fragmentvolumina voraus. In der Abbildung 1.2 sind die Ladungszustandsverteilungen für die verschiedenen Modellierungen dargestellt. Erst durch den Einsatz der MD-Simulation kann die Verteilung soweit geschmälert werden, dass sie nahe an den experimentellen Ergebnissen liegt, welche nur einfach geladene Ionen aufweisen. Allerdings können die Signalintensitätsverläufe der experimentellen Ergebnisse bei kleinen Salzkonzentrationen in einem Bereich von  $10^{-6} - 10^{-3}$  M über den Poisson-Ansatz gut angenähert werden, wie durch Abb. 1.3 deutlich wird. Bei höheren Salzkonzentrationen nimmt die gemessene Signalintensität schnell ab, was nicht durch den einfachen Poisson-Ansatz wiedergegeben werden kann, da dieser die Wechselwirkung zwischen den Ionen nicht einbezieht. Mit Hilfe einer Monte-Carlo-Simulation wurde die Wechselwirkung berücksichtigt und der Intensitätsverlauf korrigiert. Um der Ladungsrekombination bei hohen Ionenkonzentrationen Rechnung zu tragen, wurde mittels MD-Simulation der Fluss von Ionen zwischen Volumenfragmenten berechnet und dadurch die Ladungszustandsverteilung sowie der Intensitätsverlauf für sehr große Salzkonzentrationen angepasst. Ein Schnappschuss der MD-Simulation ist in Abb. 1.4 dargestellt und zeigt den Ionenfluss zwischen Volumenfragmenten.



**Abbildung 1.2:** Simulierte Wahrscheinlichkeitsverteilungen der Ladungszustände für unterschiedliche Modellansätze. Der grüne Kurvenverlauf zeigt die vorausgesagten, sehr hohen Ladungszustände für den einfachen Poisson-Ansatz. Durch den Monte-Carlo-Ansatz (gelb) kann die Verteilung zwar geschmälert werden, allerdings sind die modellierten Ladungszustände noch immer viel zu groß. Erst durch die MD-Simulation wird eine Ladungszustandsverteilung ermittelt, die nahe an den experimentellen Ergebnissen liegt, die ausschließlich einfache geladene Ionen zeigen. Die Simulationen wurden von Dr. Esteban Vöhringer-Martinez [69] in Kooperation mit Dr. Frank Wiederschein [70] durchgeführt. Grafik adaptiert aus Abel *et al.* [74].



**Abbildung 1.3:** Simulierter Intensitätsverlauf einer NaCl-Konzentrationsreihe. In blau ist der experimentelle Verlauf dargestellt. Man erkennt zunächst einen starken Anstieg bis zur Konzentration  $10^{-3}$  M und einen darauf starken Abfall der Kurve aufgrund von Ladungsrekombination. Der simulierte Kurvenverlauf ist schwarz, gestrichelt abgebildet und kann in drei Teilbereich unterteilt werden. Im ersten Teil von  $10^{-6}$  –  $10^{-3}$  M kann das Poisson-Modell gut den experimentellen Kurvenverlauf abbilden. Für hohe Konzentrationen muss der Verlauf stark korrigiert werden, was hier über Monte-Carlo-Simulationen erfolgte (rote Quadrate). Mittels MD-Simulation können die Wechselwirkungen der Ionen mit einbezogen werden (roter Diamant) und der Kurvenverlauf so angepasst werden, dass er auch bei hohen Konzentrationen den experimentellen Verlauf wiedergibt. Die Simulationen wurden von Dr. Esteban Vöhringer-Martinez [69] in Kooperation mit Dr. Frank Wiederschein [70] durchgeführt. Grafik adaptiert aus Abel *et al.* [74].



**Abbildung 1.4:** Schnappschuss einer MD-Simulation die den Fluss von Ionen zwischen zwei dispergierten Wasserfronten einer NaCl-Lösung mit einer Konzentration von 0.154 M zeigt.  $\text{Na}^+$ -Ionen sind rot und  $\text{Cl}^-$ -Ionen blau dargestellt, die Wassermoleküle sind schematisch durch die grauschattierte Fläche dargestellt. Grafik adaptiert aus Abel *et al.* [74].

### 1.3 Massenspektrometrie

Zumeist werden in der (MA)LDI-MS axiale Flugzeit-Massenspektrometer (TOF-MS) mit verzögerter Extraktion (*delayed extraction*) eingesetzt. Im TOF-MS werden Ionen je nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis  $m/z$  mittels eines elektrischen Feldes unterschiedlich stark beschleunigt und trennen sich aufgrund ihrer verschiedenen Geschwindigkeiten beim Flug durch eine (lineare) feldfreie Flugstrecke. Anschließend werden sie nach einer gewissen Flugzeit über einen Sekundärelektronenvervielfacher (SEV), wie der Mikrokanalplatte (*micro-channel plate*, MCP), detektiert. Die Flugzeit ist also vom Verhältnis  $m/z$  abhängig:

$$t = \sqrt{\frac{m}{z} \cdot \frac{l^2}{2 \cdot e \cdot U}} \quad (1.2)$$

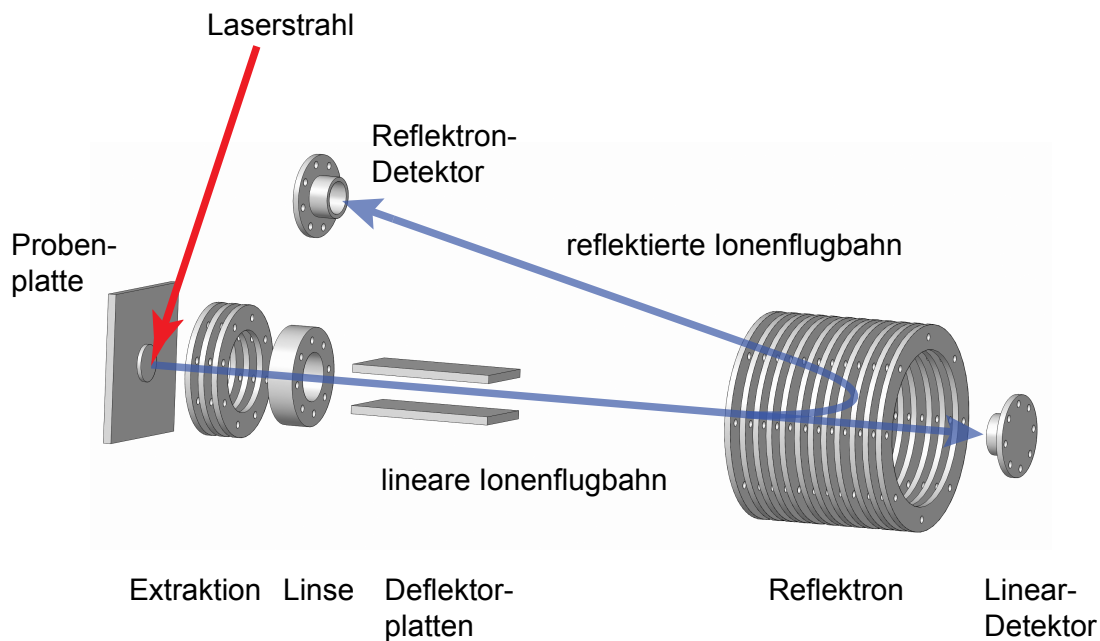
Dabei ist  $t$  die Flugzeit in der feldfreien Flugstrecke,  $m/z$  das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis,  $l$  die Länge der feldfreien Flugstrecke,  $e$  die Elementarladung und  $U$  die Potentialdifferenz (elektrische Spannung).

Da bei der Laserdesorption Ionen mit hohen Geschwindigkeiten und breiten Geschwindigkeitsverteilungen erzeugt werden, führt dies zu Fehlern bei der Bestimmung des  $m/z$  über die Flugzeit, wodurch eine Verbreiterung der Linien im Massenspektrum resultiert; die Massenauflösung ( $m/\Delta m$ , FWHM) wird verringert. Denn die Ionen besitzen schon vor der Beschleunigung unterschiedliche, initiale Geschwindigkeiten. Dieses Problem lässt sich mit Hilfe der verzögerten Extraktion (*delayed extraction*, DE) beheben [75, 76]. Die Beschleunigung der Ionen im TOF-MS erfolgt dabei gepulst und zeitlich verzögert zum Laserpuls. Haben die Ionen eine hohe initiale Geschwindigkeit, so werden sie sich näher an der Extraktionsblende befinden und eine geringere Beschleunigung erfahren als langsame Ionen, die sich beim Einschalten des elektrischen Feldes weiter entfernt von der Blende befinden. So können die langsamen Ionen die schnellen einholen, die initiale Geschwindigkeitsverteilung wird also geschmälert, und somit die Auflösung des Massenspektrums erhöht.

Wird eine hohe Sensitivität benötigt, wird das TOF-MS meist im linearen Modus betrieben. Zur Erhöhung der Auflösung wird im Allgemeinen ein Reflektron (re) verwendet, wodurch allerdings die Sensitivität leidet. Ionen mit gleichem  $m/z$  können unterschiedliche kinetische Energien besitzen, was zu einer Verringerung

der Auflösung führt. Durch den Einsatz eines Reflektrons kann dies korrigiert werden [77]. Dieses reflektiert den Ionenstrahl in Richtung des Detektors. Ionen mit hoher kinetischer Energie dringen tiefer in das Feld des Reflektrons ein, benötigen also einen längeren Flugweg zum Detektor. Niedrig energetische Ionen dringen weniger ein, benötigen also einen kürzeren Flugweg. So werden die Ionen zeitlich gebündelt.

Ein schematischer Aufbau eines MALDI-TOF-MS mit Reflektron ist in Abb. 1.5 illustriert. Bei der eingangs erwähnten axialen Anordnung bewegt sich die erzeugte MALDI-Wolke in Richtung des Beschleunigungsfeldes. Durch den Einsatz der neueren orthogonalen Anordnung lassen sich noch höhere Auflösungen und eine insgesamt bessere Performance erzielen.



**Abbildung 1.5:** Schematischer Aufbau eines MALDI-TOF-MS mit Reflektron und zwei Ionendetektoren. Per Laser desorbierte Ionen werden extrahiert und über eine Linse gebündelt in Richtung Detektor geleitet. Die Ionen können im Reflektron umgelenkt werden, wodurch eine höhere Massenaufösung ( $m/\Delta m$ ) erreicht wird.



# Kapitel 2

## Experimentelles

### 2.1 Laserstrahldesorptions-Apparatur

Die Apparatur ist bereits ausführlich in der Literatur [54, 56, 61, 64, 65, 78] beschrieben. Hier wird daher ein zusammenfassender Überblick gegeben. Änderungen und Erweiterungen des Aufbaus werden dabei hervorgehoben. Die Apparatur besteht aus der Vakuumkammer, dem Massenspektrometer und dem jeweiligen Lasersystem (siehe Abb. 2.1).

Zu Justagezwecken und zur Videoaufnahme des Desorptionsprozesses wird ein Stereomikroskop (*Zeiss*) mit eingesetzter Digitalkamera (*Watec* WAT 902B, monochrom) verwendet. Die Videoaufnahme erfolgt über eine PCI-TV-Karte (*Pinnacle Systems* PCTV 110i) und dem Aufnahmeprogramm AMCap.

#### 2.1.1 Vakuumkammer

Die Edelstahlvakuumkammer wird über eine Diffusionspumpe mit 3700 L/s Förderleistung auf  $5 \times 10^{-5}$  mbar evakuiert. Der benötigte Vordruck wird dabei über eine der Diffusionspumpe vorgeschalteten Wälzkolbenpumpe sowie einer Drehschieberpumpe erzeugt. Der Flüssigkeitsstrahl wird von oben in die Vakuumkammer durch eine Düse injiziert und unten in einer mit flüssigem Stickstoff gekühlten Kühlfalle ausgefroren. Vaporisierte Flüssigkeit wird an einer zweiten Kühlfalle ausgefroren. Beim Messen von stationären Proben wird diese Kryopumpe nicht benötigt.

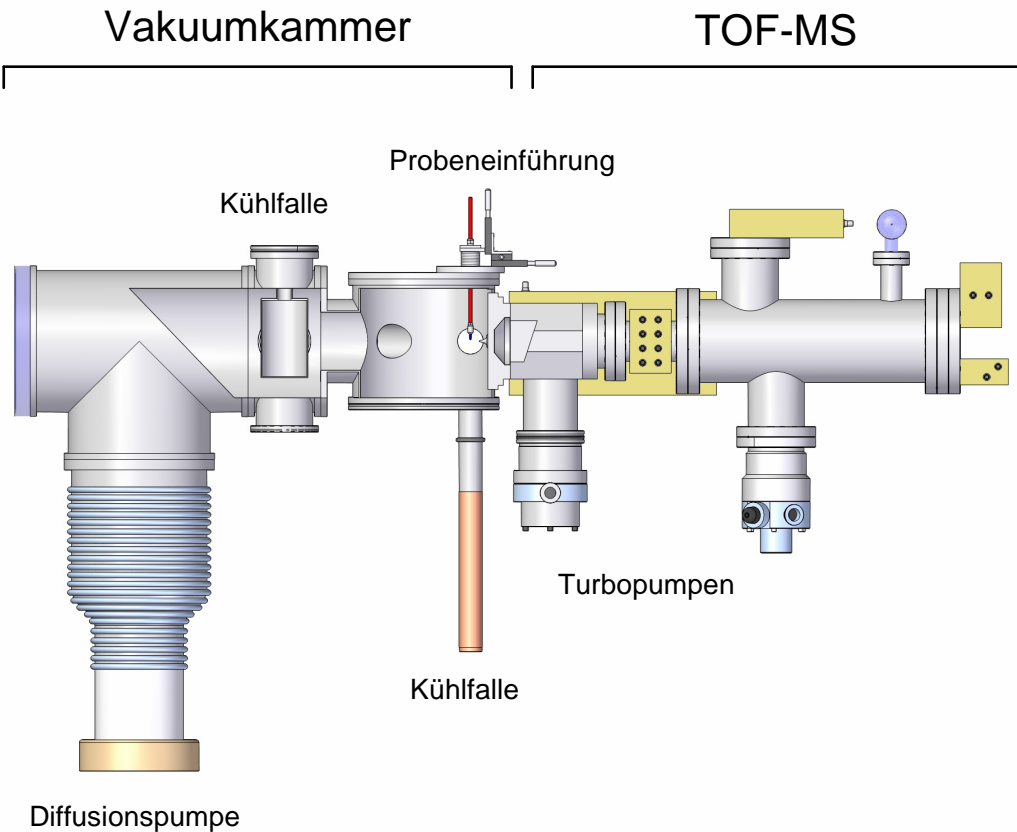
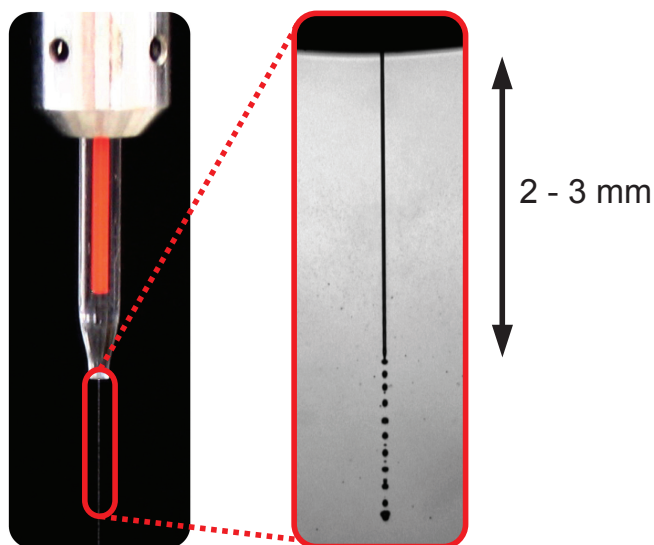


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau der IR-FLMALDI-MS-Apparatur.

### 2.1.2 Mikro-Flüssigkeitsstrahl

Der Flüssigkeitsstrahl wird nach dem Prinzip von Faubel *et al.* erzeugt [54, 79]. Das flüssige Medium, in diesem Fall doppelt destilliertes und gefiltertes Wasser, wird von einer HPLC-Pumpe (*Gynkotec*, Modell 300C) mit konstanter Flussrate (0.29 mL/min) durch eine konvergente Quarzdüse, welche auf einem *xyz*-Manipulator montiert ist, gepumpt. Die verwendete Quarzdüse hat einen Enddurchmesser von 17  $\mu\text{m}$ . Der so erzeugte Flüssigkeitsstrahl mit einem Durchmesser von etwa 15  $\mu\text{m}$  hat einen intakten Bereich von circa 3 mm bevor er in Tröpfchen zerfällt (siehe Abb. 2.2). Zur Vorbeugung der Düsenverstopfung wird zwischen Probenaufgäbeventil und Quarzdüse ein Edelstahlfilter mit 0.5  $\mu\text{m}$  Porengröße eingesetzt.





**Abbildung 2.2:** Das Foto links zeigt den mikro-Flüssigkeitsstrahl (eingerahmter Bereich) und die Quarzdüse mit eingeschobener Kapillare. Er hat einen Durchmesser von etwa  $15\ \mu\text{m}$  und einen intakten Bereich von ca. 3 mm bevor er in Tröpfchen zerfällt.

### 2.1.3 Probeneinführung ins Vakuum

In die Vakuumkammer können Proben per Flüssigkeitsstrahl über ein Injektionsventil eingeleitet werden. Auch stationäre Proben, d.h. feste und flüssige Proben auf einem Probenhalter, können untersucht werden.

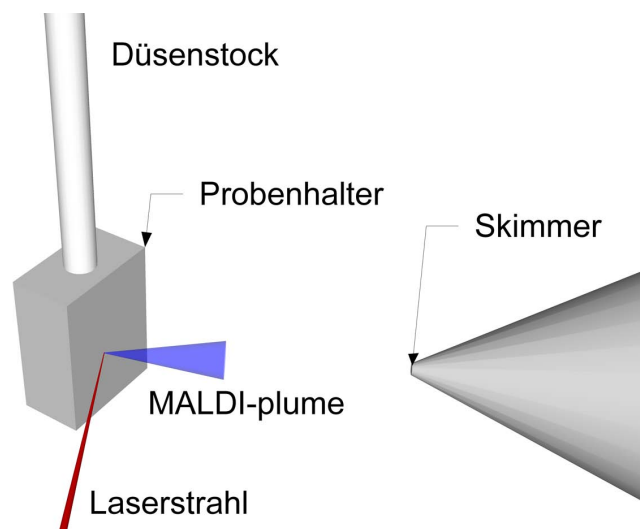
#### Einführung des Flüssigkeitsstrahls

Die Probenaufgabe erfolgt über ein 6-Port HPLC-Injektionsventil (*Rheodyne*, Modell MX9925), dessen Probeschleife ein Volumen von 0.3 mL fasst. Für die eingesetzte Flussrate von 0.29 mL/min ergibt sich somit eine Messzeit von etwa 60 s oder umgerechnet 1200 Spektren pro injizierter Probe. Um gleichmäßige Konzentration des Analyten in der Kapillare zu gewährleisten, wird immer die dreifache Menge an Probeschleifenvolumen injiziert. Die für die Probeführung eingesetzten Kapillaren und Fittings (*Upchurch Scientific*) sind aus Polyetheretherketon (PEEK). Um ein geringes Totvolumen zu erreichen, wird zwischen Filter und Düse eine Kapillare mit einem Außendurchmesser von 0.8 mm ( $1/32$  Zoll) eingesetzt, die bis in die

Düse geschoben werden kann. Bei längeren Messreihen mit nur einer Probensorte, wie z.B. bei den Messungen der NaCl-Lösungen, wird alternativ zur Probenaufgabe mittels Injektionsventil und Probeschleife die Analytlösung direkt durch die HPLC-Pumpe und Quarzdüse in die Vakuumkammer gepumpt. Bei Messungen von Konzentrationsreihen wird immer mit der geringsten Konzentration begonnen.

### Einführung von stationären Proben

Zur Einführung von stationären Proben in die Vakuumapparatur werden Probenhalter aus Edelstahl oder Aluminium auf den Düsenstock geschraubt. So können sie leicht mittels *xyz*-Manipulator in den Laserfokus vor den Skimmer des TOF-MS gebracht werden. Der Probenhalter steht schräg zum Skimmer und der Laserstrahl trifft unter einem Winkel von etwa  $30^\circ$  auf die Probe (siehe Abb. 2.3).



**Abbildung 2.3:** Der verwendete MALDI-Aufbau. Der Probenhalter steht schräg zum Skimmer des TOF-MS und der Laserstrahl trifft unter einem Winkel von ca.  $30^\circ$  auf die Probe.

## 2.1.4 Eingesetzte Lasersysteme

### IR-Laser ( $\lambda = 2850$ nm)

Zur Erzeugung des IR-Laserstrahls mit einer Wellenlänge von etwa 2850 nm und einer Pulslänge von 7 ns, wird ein, über die Fundamentale eines Nd:YAG-Lasers (*Spectra Physics*, INDI-Series,  $\lambda = 1064$  nm, 20 Hz-Repetitionsrate) gepumpter, optisch parametrischer Oszillator (*GWU*, OPO-C 1064,  $\text{KNbO}_3$ ) verwendet. Der Idler-IR-Strahl wird dann über einen Goldspiegel und einen dielektrischen halbdurchlässigen Spiegel, über den der zu Justage-Zwecken verwendete Helium-Neon-Laser eingekoppelt wird, durch ein Vergrößerungsteleskop nach Kepler (Vergrößerungsfaktor 1.5,  $\text{CaF}_2$ -Linsen) auf einen weiteren Goldspiegel gelenkt, der den Laserstrahl durch eine Fokussierungslinse (Fokuslänge 50 mm,  $\text{CaF}_2$ ) und ein  $\text{CaF}_2$ -Fenster auf die Probe in der Vakuumkammer fokussiert. Die Fokussierlinse ist auf einer Mikrometerbühne montiert und kann verschoben werden, um den Fokussdurchmesser auf der Probe anzupassen. Der kleinste erreichbare Fokussdurchmesser liegt bei 140  $\mu\text{m}$ . Die Pulsenergie des IR-Strahls beträgt, falls nicht anders angegeben, etwa 2.5 mJ. Für hochwertige Massenspektren werden Laserintensitäten von etwa  $10^8$  W/cm<sup>2</sup> benötigt.

### VUV-Laser ( $\lambda = 157$ nm)

Die eingesetzte Laserwellenlänge von 157 nm (7.9 eV) wird mit einem  $\text{F}_2$ -Excimer-Laser erzeugt (*Lambda-Physik*, LPF 200, 20 Hz-Repetitionsrate, Pulslänge 20 ns, 25kV HV). Da bei dieser Wellenlänge Luftsauerstoff stark absorbiert, wird der Strahlengang mit Stickstoff gespült. Dazu wird der Strahlengang mit einem Aluminiumrohrsystem ummantelt und mit Stickstoff bei einem Druck von etwa 0.5 bar gespült. Die Laserintensität wird über einen dielektrischen Abschwächer reguliert und der Laserstrahl mit zwei dielektrischen Spiegeln auf eine  $\text{CaF}_2$ -Linse (Fokuslänge 250 mm) gelenkt, die den Strahl mit einem Fokus von  $0.2$  mm<sup>2</sup> auf die Probe fokussiert (1 mm  $\times$  0.2 mm). Die eingesetzte Pulsenergie beträgt maximal 1 mJ. Für den angegebenen Laserfokus entspricht dies  $2.5 \times 10^6$  W/cm<sup>2</sup>.

## 2.1.5 Das Massenspektrometer

Das bipolare Reflektron-Flugzeit-Massenspektrometer (reTOF) (*Kaesdorf*) mit zweistufiger Ionenextraktion ist von der Vakuunkammer abschließbar und von dieser durch einen Skimmer (*Beam Dynamics*, Öffnungsdurchmesser 1.5 mm) getrennt. Es besteht aus zwei Stufen, welche von zwei Turbomolekularpumpen evakuiert werden.

Die desorbierten Ionen erreichen nach etwa 10 cm Weglänge die Beschleunigungselektroden (Repeller und Extraktion im Abstand von 1 cm). Diese werden nach dem erläuterten Prinzip der verzögerten Extraktion betrieben und nach einer bestimmten zum Laserpuls versetzten Verzögerungszeit für 4  $\mu\text{s}$  eingeschaltet. Die Verzögerungszeit wird über einen Pulsgenerator eingestellt (DG535, Stanford Research Systems). Die Ionen werden durch die Extraktionsblende (Extraktion) gemäß Wiley-McLaren [80] räumlich fokussiert durch eine freie Driftstrecke von 79 cm in das Reflektron extrahiert. Der Ionenstrahl kann über Ablenkelemente und der elektrostatischen Einzellinse abgelenkt und fokussiert werden. Das zweistufige Reflektron besteht aus Mittel- und Endnetz. Am Ende des Reflektrons werden die Ionen durch den Ionenspiegel umgekehrt und um  $6^\circ$  von der Strahlachse verdreht Richtung Detektor geleitet. Bevor sie den Detektor (MCP, 10  $\mu\text{m}$  Porengröße, *Burle*) erreichen, werden sie mit 10 kV (positive Ionen) bzw. 8.5 kV (negative Ionen) nachbeschleunigt. Die Nachbeschleunigungsstrecke beträgt 13.5 cm, die Betriebsspannung des MCP kann auf maximal 2.45 kV eingestellt werden.

Für einige der VUV-FLMALDI-Messungen wurde noch ein anderes Massenspektrometer eingesetzt, welches nur positive Ionen detektieren kann. Dieses ist ebenfalls von *Kaesdorf* und unterscheidet sich in folgenden Punkten vom obigen: Die Weglänge zwischen Wasserstrahl und erster Beschleunigungselektrode beträgt nur  $\sim 5$  cm. Aufgrund dieser kürzeren Weglänge werden auch kürzere Verzögerungszeiten benötigt. Die freie Driftstrecke ist etwas kürzer als beim obigen TOF-MS. Weiterhin sind MCP und Endnetz gekoppelt. In den Ergebnissen werden Spektren, die mit diesem Spektrometer gemessen wurden mit dem Kürzel *TOF2* gekennzeichnet.

### 2.1.6 Datenaufzeichnung

Das am Detektor erzeugte Signal wird verstärkt, über ein 200 MHz Digitaloszilloskop (*Tektronix*, Modell 2440) visualisiert und mit einer 150 MHz 8-bit AD-Wandlerkarte (*Acqiris*, Modell DP105) über das in unserer Arbeitsgruppe erstellte in C++/QT geschriebene Messprogramm aufgezeichnet [62]. Das resultierende Massenspektrum ergibt sich aus der Mittelung der Einzelspektren. Im Allgemeinen wird über wenige hundert Spektren gemittelt. Sofern nicht anders angegeben, sind alle Spektren dieser Arbeit ungeglättet. Die zur Umrechnung der Flugzeit in  $m/z$  verwendeten Eichkurven sind in Tab. A.3 im Anhang zu finden.

Die Datenaufnahme wird zusammen mit dem Schalten der Hochspannung für die Extraktionsblende des MS gestartet. Die Verzögerungszeit zwischen Laserbeschuss und Hochspannungsschaltung für maximales Ionensignal liegt für kleine Moleküle im Bereich von  $13 \mu\text{s}$  und nimmt für große Molekülmassen zu. Für Cytochrom C beträgt sie beispielsweise  $17 \mu\text{s}$ . Durch Einstellen der Verzögerungszeit können initiale Ionengeschwindigkeitsverteilungen gemessen werden.

Die Spektren dieser Arbeit sind allgemein im positiven Ionenmodus des Massenspektrometers aufgenommen. Im negativen Modus gemessene Spektren sind explizit gekennzeichnet. Es sei erwähnt, dass die Schaltung des bipolaren Detektors ein Nachschwingen des gemessenen Ionensignals verursacht. Dieses Signalabklingen ist im Anhang in Abbildung B.4 verdeutlicht.

Für die Messungen wurden die in Tabelle 2.1 aufgeführten Einstellungen des Massenspektrometers verwendet. Diese wurden während einer Messung konstant gehalten. Die für alle Messungen konstant eingestellten Werte sind im Folgenden aufgelistet:  $U_{\text{Extraktion}} = 3.0 \text{ kV}$ ,  $U_{\text{Repeller}} = 6.0 \text{ kV}$ ,  $U_{\text{Mittelnetz}} = 3.6 \text{ kV}$ ,  $U_{\text{Nachbeschleunigung}} = 10.0 \text{ kV}$ .

### 2.1.7 Messung der initialen Geschwindigkeitsverteilung der desorbierten Ionen

Die aus dem Flüssigstrahl mittels Laserdesorption freigesetzten Ionen müssen eine feldfreie Strecke von etwa 10 cm zurücklegen, bis sie im Massenspektrometer angekommen sind und sich zwischen Repeller- und Extraktionsblende befinden. Demnach werden sie nach einer bestimmten Wartezeit (*delayed extraction*) dort

Molekül	Masse [Da]	$U_{Endnetz}$	$U_{Linse}$ [kV]	$U_{MCP}$	Verzögerungszeit [ $\mu$ s]
	< 1000	6.4	3.1	1.90	13.0
Insulin	5734	6.6	3.4	2.30	15.5
Cytochrom C	12384	6.7	4.2	2.40	17.0
Lysozym	14386	6.7	4.2	2.40	17.0
Apomyoglobin	16952	6.8	4.2	2.44	18.5

**Tabelle 2.1:** Einstellungen des Massenspektrometers für verschiedene Massen.

ankommen und mittels gepulster Repeller-Spannung beschleunigt und extrahiert (siehe auch Abschnitt 2.1.5). Das bedeutet, dass Ionen, die nicht zum Zeitpunkt der Hochspannungsschaltung in der Ionenkammer zwischen Repeller und Extraktionsblende sind, abgeblockt und somit nicht detektiert werden. Für aufsteigende Verzögerungszeiten wurden die Signalintensitäten von Arginin und Cytochrom C ermittelt und gegen die Verzögerungszeit aufgetragen. Für eine Verzögerungszeit von 13  $\mu$ s ergibt sich z.B. für Arginin eine Geschwindigkeit von  $0.1 \text{ m}/13 \mu\text{s} \approx 7700 \text{ m/s}$ .

## 2.2 Probenvorbereitung

### 2.2.1 Eingesetzte Chemikalien und Materialien

Natriumchlorid, Calciumchlorid, Glycerol, Methanol, Ethanol, n-Heptan und Salzsäure wurden von Merck, Arginin-Hydrochlorid *S*-(+) wurde von Merck-Suchardt, *L*-Asparaginsäure (> 98 %) von Lancaster, *L*-Histidin ( $\geq 99$  %), Lysin, *L*-Arginyl-Glycyl-*L*-Aspartyl-*L*-Serin (95 %), gefriergetrocknetes Lysozym aus Hühnereiweiß ( $\sim 95$  %), gefriergetrocknetes Cytochrom C aus Pferdeherzen (95 %) und gefriergetrocknetes Myoglobin aus Pferdemuskel (> 95 %) wurden von Sigma-Aldrich bezogen.

Das verwendete Wasser wurde doppelt destilliert (*dd*H<sub>2</sub>O) und mittels Millipore Milli-Q Wasserreinigungssystem gereinigt.

### 2.2.2 Ansatz der Probelösungen

Alle Reagenzien wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt. Als Lösungsmittel kam bidestilliertes, gereinigtes Wasser zum Einsatz. Alle Lösungen wurden vor ihrem Einsatz frisch angesetzt. Alle folgenden Konzentrationen sind in  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (M) angegeben.

### 2.2.3 Ansatz der Konzentrationsreihen

Es wurde zunächst die Lösung der höchsten Konzentration angesetzt und daraus durch sukzessive Verdünnung die niedriger konzentrierten Lösungen hergestellt. Gemessen wurden die Lösungen dann aufsteigend von der niedrigsten zur höchsten Konzentration.

### 2.2.4 MALDI-Probenvorbereitung

Für die Desorption aus Wassereis wurden Analytlösungen auf den Probenhalter aufgefroren. Dazu wurde der Probenhalter zunächst in flüssigen Stickstoff getaucht und heruntergekühlt. Anschließend wurde Probenlösung auf den kalten Probenhalter aufgebracht und gefroren. Die Matrix Glycerol konnte ohne Einfrieren verwendet werden. Dafür wurden die Proben nach dem Prinzip der *dried-droplet*-Methode vorbereitet. Dazu wurde wässrige Analytlösung zu gleichen Teilen mit Glycerol gemischt und davon  $1 \mu\text{L}$  auf den Probenhalter pipettiert. Vor dem Einbringen in das Vakuum wurde gewartet, bis das Wasser verdampft war, damit die Glyceroltropfen im Vakuum nicht durch verkochendes Wasser zerplatzten. Von einem Tropfen lassen sich etwa 200 Massenspektren aufnehmen, bevor alle Substanz desorbiert ist.





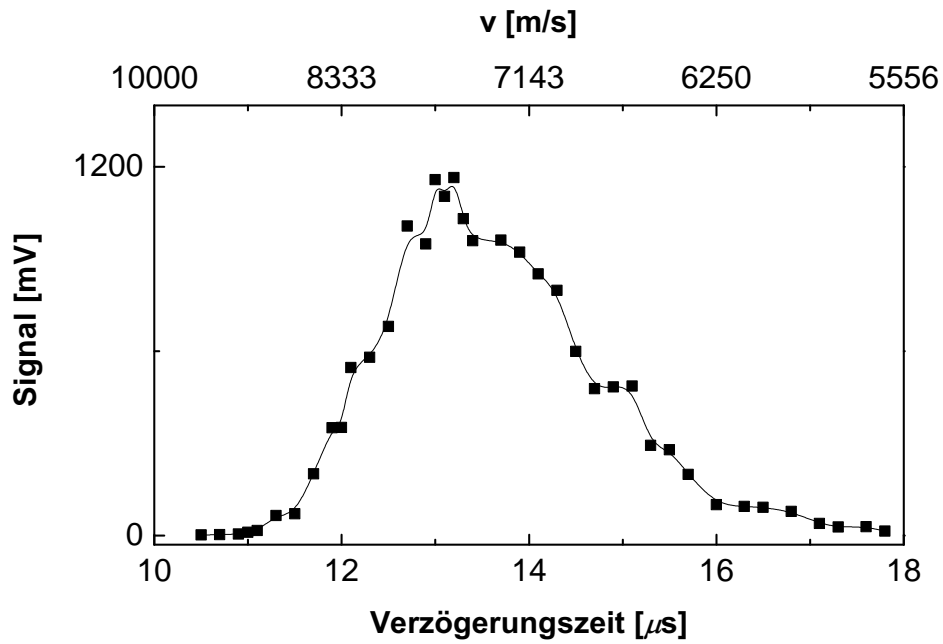
# Kapitel 3

## Ergebnisse und Diskussion

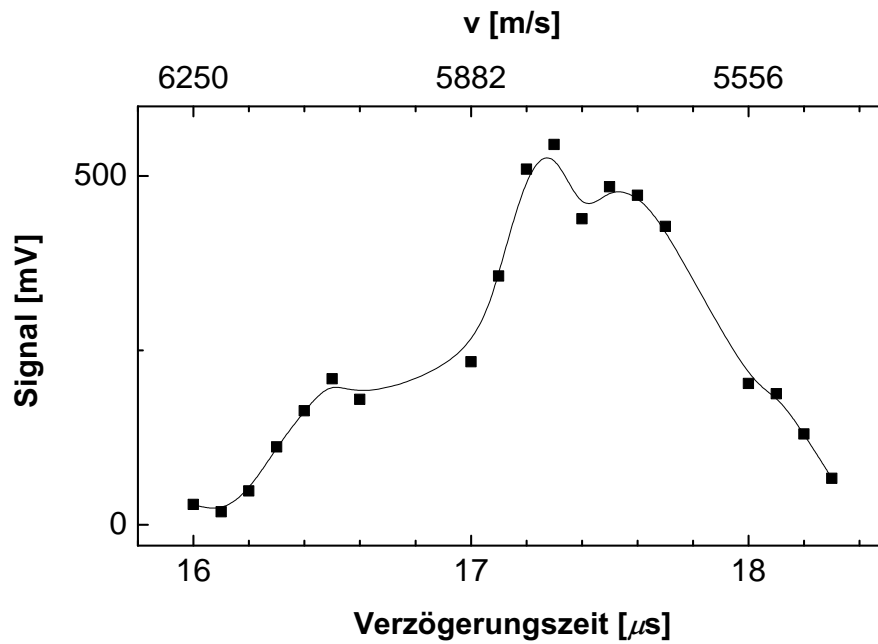
### 3.1 Initialgeschwindigkeiten der desorbierten Ionen

Für Arginin ergibt sich ein Maximum der initialen mittleren Ionengeschwindigkeit von etwa 7700 m/s für eine Verteilung von 5620 – 9520 m/s (siehe Abb. 3.1). Das Maximum für Cytochrom C liegt bei  $\sim 5900$  m/s und die Verteilung im Bereich von 5400 – 6250 m/s (siehe Abb. 3.2). Damit sind die Initialgeschwindigkeiten um etwa den Faktor 2 größer als bei der IR-MALDI mit Glycerol oder Eis als Matrix. Hier liegen die Verzögerungszeiten für maximale Signalintensität bei 25  $\mu$ s, woraus sich Geschwindigkeiten von 4000 m/s ergeben. Dies liegt vermutlich an den unterschiedlichen Ausbreitungsarten der mittels Laserbeschuss generierten Schockwellen. Die Justage des Laserfokus auf den Wasserstrahl zur Erzielung eines maximalen Analytsignals im Massenspektrum erfolgt so, dass dieser bevorzugt von der dem Massenspektrometer abgewandten Seite getroffen wird. So liegt die Ausbreitungsrichtung der Schockwelle, die den Wasserstrahl dispergiert, in Richtung des Spektrometers. Dies kann die hohen Geschwindigkeiten der desorbierten Ionen erklären. Im Vergleich zu den Ergebnissen von Berkenkamp *et al.* sind die hier gemessenen Geschwindigkeiten um den Faktor 5 größer [23]. Dies könnte an den unterschiedlichen Pulslängen der eingesetzten Laser liegen. Berkenkamp *et al.* setzten einen Er:YAG-Laser mit einer Pulslänge von 90 ns ein, wohingegen hier ein Nd:YAG OPO System mit 7 ns Pulslänge verwendet wurde. Auch können unterschiedliche Laserintensitäten eine Rolle spielen. Im Vergleich von Eis und flüssigem

Wasser als Matrix bestätigt sich der Trend, dass flüssige Matrizen höhere Initialgeschwindigkeiten der Ionen verursachen. Ebenso haben Ionen mit kleinen Massen höhere Initialgeschwindigkeiten, als jene mit großen Massen.



**Abbildung 3.1:** Signalintensitäten von Arginin ( $10^{-4}$  M) bei verschiedenen Verzögerungszeiten, gemessen mittels IR-FLMALDI-MS. Das Maximum liegt bei etwa  $13 \mu\text{s}$ . Es ergeben sich Initialgeschwindigkeiten der Ionen von  $5620 - 9520$  m/s.



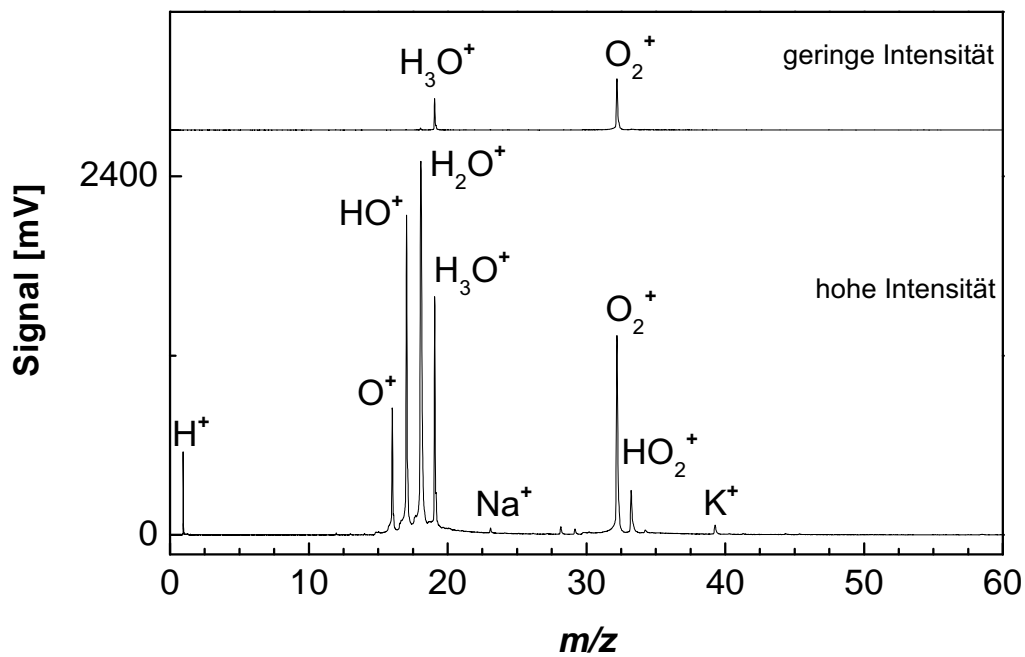
**Abbildung 3.2:** Signalintensitäten von Cytochrom C ( $10^{-4}$  M) bei verschiedenen Verzögerungszeiten, gemessen mittels IR-FLMALDI-MS. Das Maximum liegt bei etwa  $17 \mu\text{s}$ . Es ergeben sich Initialgeschwindigkeiten der Ionen von  $5400 - 6250 \text{ m/s}$ .

## 3.2 Desorption mittels VUV-Laser – Flüssigstrahl

Das Hauptaugenmerk beim Einsatz von VUV-Laserstrahlung lag auf der Reproduktion von UV-MALDI bzw. IR-FLMALDI-Massenspektren. In Hinsicht auf die bildgebende Massenspektrometrie wurde versucht, Biomoleküle möglichst unfragmentiert zu desorbieren und detektieren. Die hohe Photonenenergie von 7.9 eV führt dabei unweigerlich zu einigen Problemen. Denn selbst bei geringen Strahlungsintensitäten kommt es zu Fragmentierung von Analyten und Matrix. Trotz der hohen Laserenergien werden ausschließlich einfach geladene Spezies detektiert.

### 3.2.1 VUV-FLMALDI-MS von reinem Wasser

Bei hohen Laserintensitäten wird Wasser durch entstehendes Plasma vollständig fragmentiert, wie das Massenspektrum in Abb. 3.3 zeigt. Bei niedriger Laserintensität tritt nur das Hydroniumion  $\text{H}_3\text{O}^+$  und  $\text{O}_2^+$  auf.

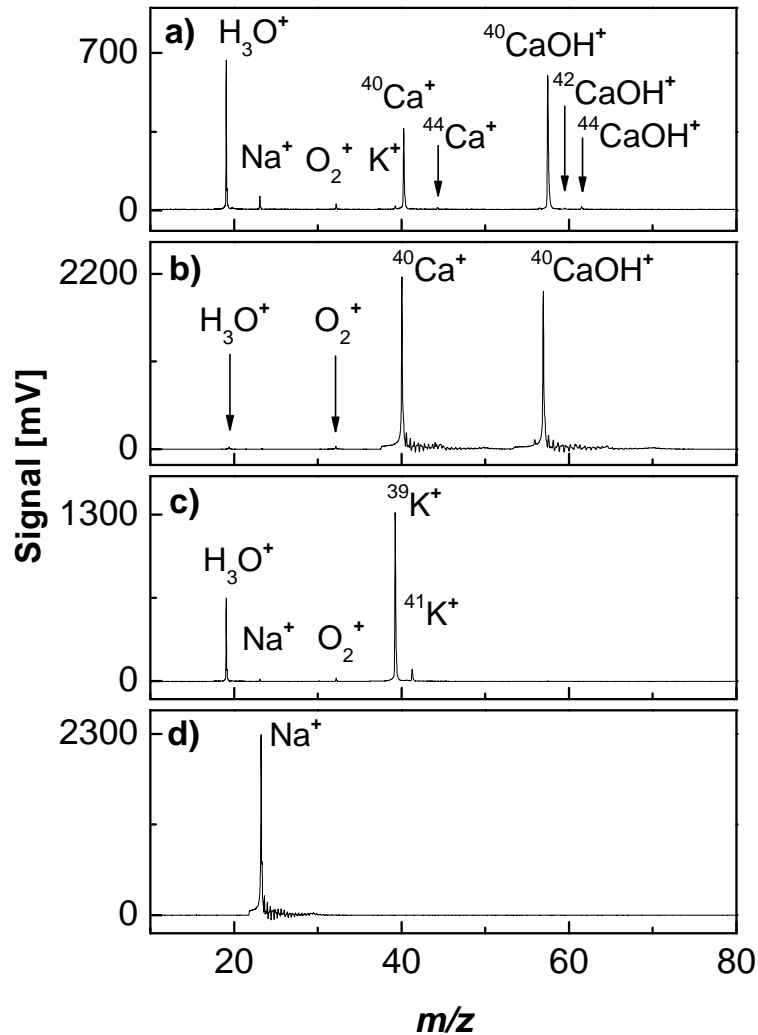


**Abbildung 3.3:** VUV-FLMALDI-Massenspektrum von reinem Wasser bei unterschiedlicher Laserintensität (Verzögerungszeit  $7 \mu\text{s}$ , TOF2). Bei niedriger Laserintensität tritt nur das Hydroniumion und  $\text{O}_2^+$  auf. Bei hoher Intensität erscheinen eine Vielzahl von Fragmentationen. Die Methode ist so sensitiv, dass auch geringste Spuren von Natrium und Kalium detektiert werden.

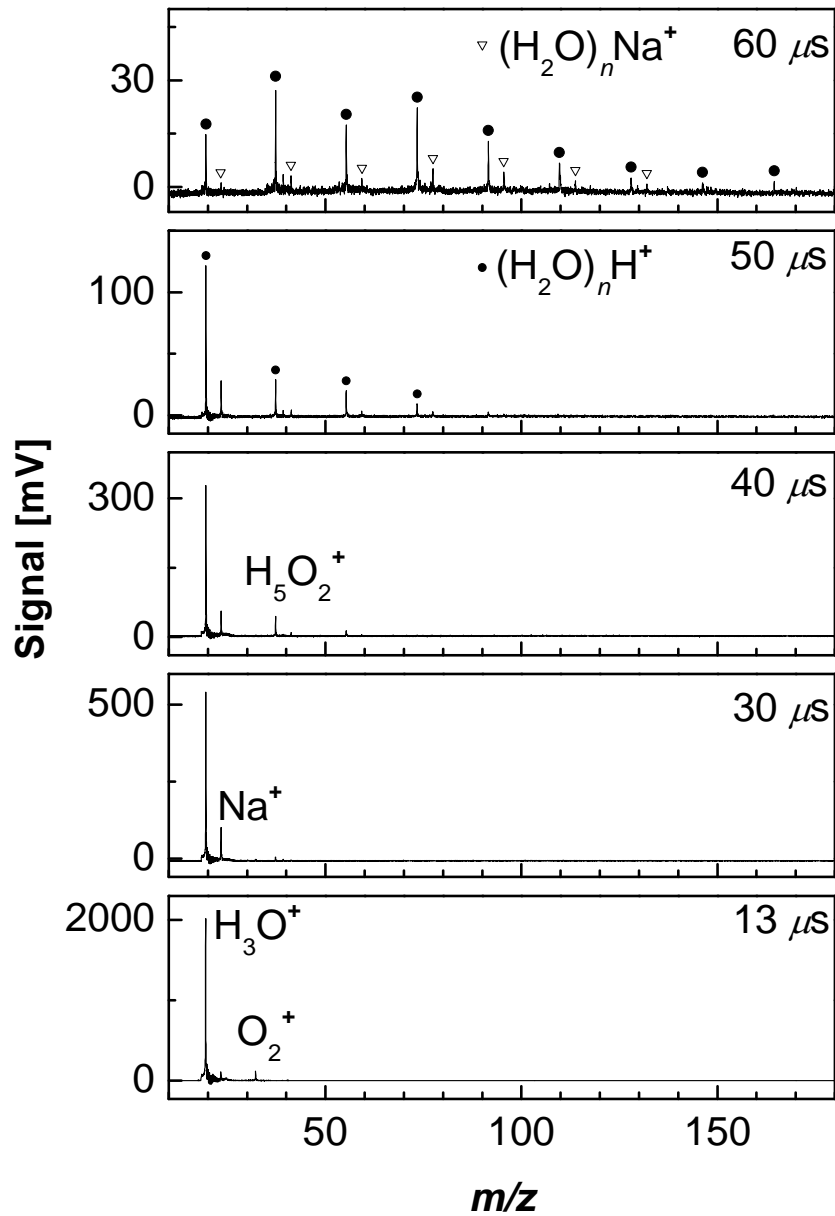
### 3.2.2 VUV-FLMALDI-MS von Alkali- und Erdalkalisalzen

Bei hohen Laserintensitäten haben die Zersetzungsprodukte von Wasser sehr hohe Signalintensitäten im Massenspektrum und verdrängen andere Analytionen stark. Auch für niedrige Strahlungsintensitäten werden relativ hohe Analytkonzentrationen benötigt, wie die Spektren in Abb. 3.4 zeigen. Mittels IR-FLMALDI erzeugte Spektren von Alkalisalzen, wie z.B. NaCl, zeigen gewöhnlich Wassercluster der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$  (siehe z.B. Abb. 3.1 in Teil II). In den VUV-Spektren treten keine solche Cluster auf, sondern nur Linien für wasserfreie Ionen. Die Abb. 3.4 a) zeigt das Spektrum von  $\text{CaCl}_2$  für eine Konzentration von  $10^{-3}$  M. Es werden sowohl  $\text{Ca}^+$ - als auch  $\text{CaOH}^+$ -Ionen detektiert. Hier wird deutlich, wie groß die Energieunterschiede bei der VUV-FLMALDI und IR-FLMALDI sind, denn bei letzterer bleiben Oxidationsstufen von Salzen unbeeinflusst, wie in Abb. 3.11 zu erkennen ist. Erst bei sehr hohen Analytkonzentrationen können die Wassersignale unterdrückt werden, wie Abb. 3.4 b) und d) darstellen. Abb. b) zeigt ein Spektrum von  $\text{CaCl}_2$  in der Konzentration  $10^{-2}$  M, es werden fast ausschließlich  $\text{Ca}^+$ - und  $\text{CaOH}^+$ -Ionen detektiert. Auch das Spektrum von Kalium in der Konzentration von  $10^{-3}$  M zeigt noch Wassersignale (Abb. c)). Schließlich werden die Wassersignale für eine Konzentration von 1 M NaCl vollständig unterdrückt. Es wird nur das Natriumion detektiert (Abb. d)). Trotz der hohen Photonenenergien werden ausschließlich einfach geladene Spezies detektiert. Wie gezeigt, treten bei kurzen Verzögerungszeiten keine Cluster im Spektrum auf. Nur die Plasmasignale, d.h. Signale von Ionen, die direkt aus dem Plasma desorbiert wurden, sind im Spektrum erkennbar.

Erst bei sehr späten Desorptionsfraktionen treten Signale von Wasserclustern auf, deren Clustergröße für späte Verzögerungszeiten zunimmt. Dies ist in Abb. 3.5 dargestellt, welche ein Spektrum von NaCl ( $10^{-4}$  M) für die Verzögerungszeiten von  $13 - 60 \mu\text{s}$  zeigt. Ab einer Verzögerungszeit von etwa  $40 \mu\text{s}$  treten Massenlinien von Clustern der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$  und  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$  im Spektrum auf, die allerdings noch von den starken Signalen der Plasmalinien überragt werden. Diese Cluster stammen vermutlich aus kälteren Fraktionen der Desorption.



**Abbildung 3.4:** VUV-FLMALDI-Massenspektren von Alkalisalzen unterschiedlicher Konzentrationen. Abb. a) zeigt das Spektrum von  $\text{CaCl}_2$  ( $10^{-3}$  M, Verzögerungszeit  $7 \mu\text{s}$ , TOF2). Neben den Ionisationsprodukten von Wasser sind Spuren von  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  zu erkennen. Calcium wird als  $\text{Ca}^+$ - und  $\text{CaOH}^+$ -Ionen detektiert. Auch die Isotopenmuster sind erkennbar. Die Abb. b) zeigt ein Spektrum von  $\text{CaCl}_2$  in der Konzentration  $10^{-2}$  M (Verzögerungszeit  $13 \mu\text{s}$ , MCP 2.0 kV). Aufgrund der höheren Konzentration werden nur  $\text{Ca}^+$ - und  $\text{CaOH}^+$ -Ionen detektiert. Ein Spektrum von  $\text{KCl}$  in der Konzentration  $10^{-3}$  M ist in Abb. c) abgebildet (Verzögerungszeit  $7 \mu\text{s}$ , TOF2). Auch hier sind nur einfach geladene Ionen zu erkennen. Wird die Salzkonzentration noch weiter erhöht, werden andere Ionen vollständig unterdrückt, wie in Abb. d) deutlich wird. Diese zeigt das Massenspektrum von  $\text{NaCl}$  für die Konzentration 1 M (Verzögerungszeit  $13 \mu\text{s}$ , MCP 1.8 kV).

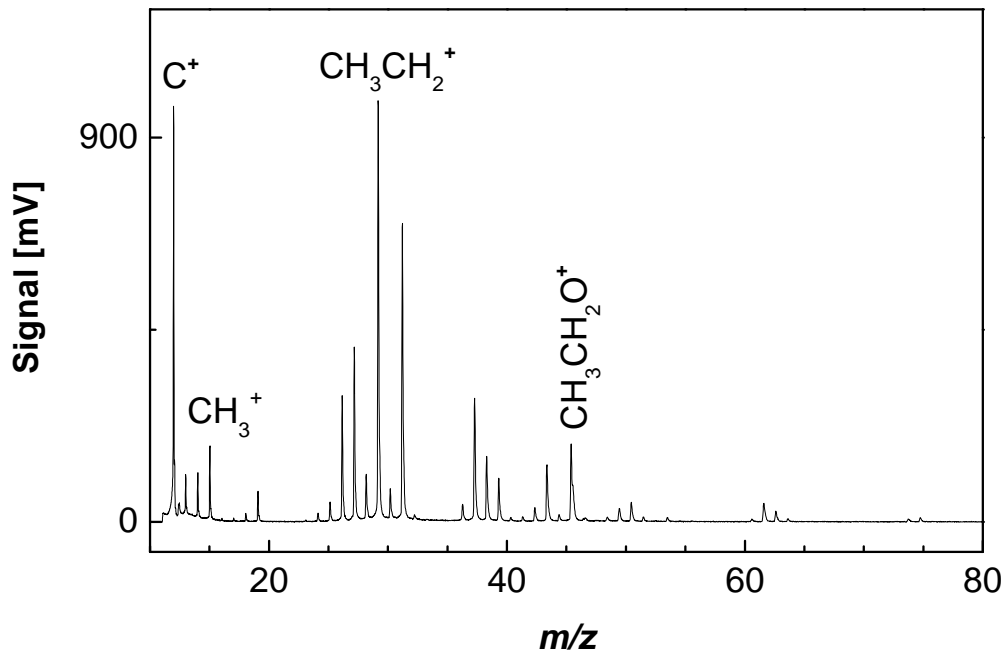


**Abbildung 3.5:** VUV-FLMALDI-Massenspektren von NaCl-Lösung ( $10^{-4}$  M) für Verzögerungszeiten von 13 – 60  $\mu\text{s}$  (MCP 2.3 kV). Bei kurzen Verzögerungszeiten sind nur die Plasmasignale zu erkennen, d.h.  $\text{H}_3\text{O}^+$  und  $\text{O}_2^+$ . Ab 40  $\mu\text{s}$  treten Signale von Wasserclustern und Natrium-Wasserclustern auf. Deren Clustergröße nimmt bei späten Verzögerungszeiten zu.



### 3.2.3 VUV-FLMALDI-MS organischer Moleküle

Das Massenspektrum von reinem Ethanol in Abb. 3.6 bei kurzer Verzögerungszeit zeigt, dass das Molekül durch das Plasma vollständig fragmentiert wird. Somit wird eine massenspektrometrische Analytik von organischen Molekülen oder sogar Biomolekülen in Bezug auf die Detektion unfragmentierter Spezies fast gänzlich verhindert. Erst die Massenspektren von späten Desorptionsfraktionen zeigen unfragmentierte Moleküle, wie im Folgenden gezeigt wird.



**Abbildung 3.6:** VUV-FLMALDI-Massenspektrum von reinem Ethanol (Verzögerungszeit  $7 \mu\text{s}$ , TOF2). Das Spektrum besteht aus Fragmentationensignalen, das Muttermolekül ist vollständig fragmentiert.

### 3.3 Desorption mittels VUV-Laser – MALDI

Im Folgenden wird dargestellt, wie die Messung von Massenspektren kälterer Fraktionen der VUV-initiierten Desorption das Problem der vollständigen Analytfragmentierung vermindert. Da die Desorption mittels VUV-Strahlung für die bildgebende Massenspektrometrie gedacht ist, werden in diesem Abschnitt Ergebnisse der Laserdesorption von festen und flüssigen Proben aufgeführt. Weiterhin wird gezeigt, dass sich organische Matrizen weniger für die VUV-Desorption eignen, da ihre Fragmentlinien das Analytsignal überlagern. Abbildung 3.7 zeigt das Spektrum von gefrorenem n-Heptan auf einem Aluminiumträger. Frühe Fraktionen zeigen allein Fragmentlinien. Für sehr späte Fraktionen treten immer noch Fragmentationen auf. Dabei ist eine Zuordnung der Massenlinien zu einzelnen Ionen schwierig.

Für gefrorenes Methanol können ab einer Verzögerungszeit von ca. 30  $\mu\text{s}$  Methanolcluster der Form  $(\text{CH}_3\text{OH})_n\text{H}^+$  detektiert werden, wie Abb. 3.8 zeigt. Für eine Verzögerungszeit von 100  $\mu\text{s}$  werden fast ausschließlich solche Cluster detektiert.

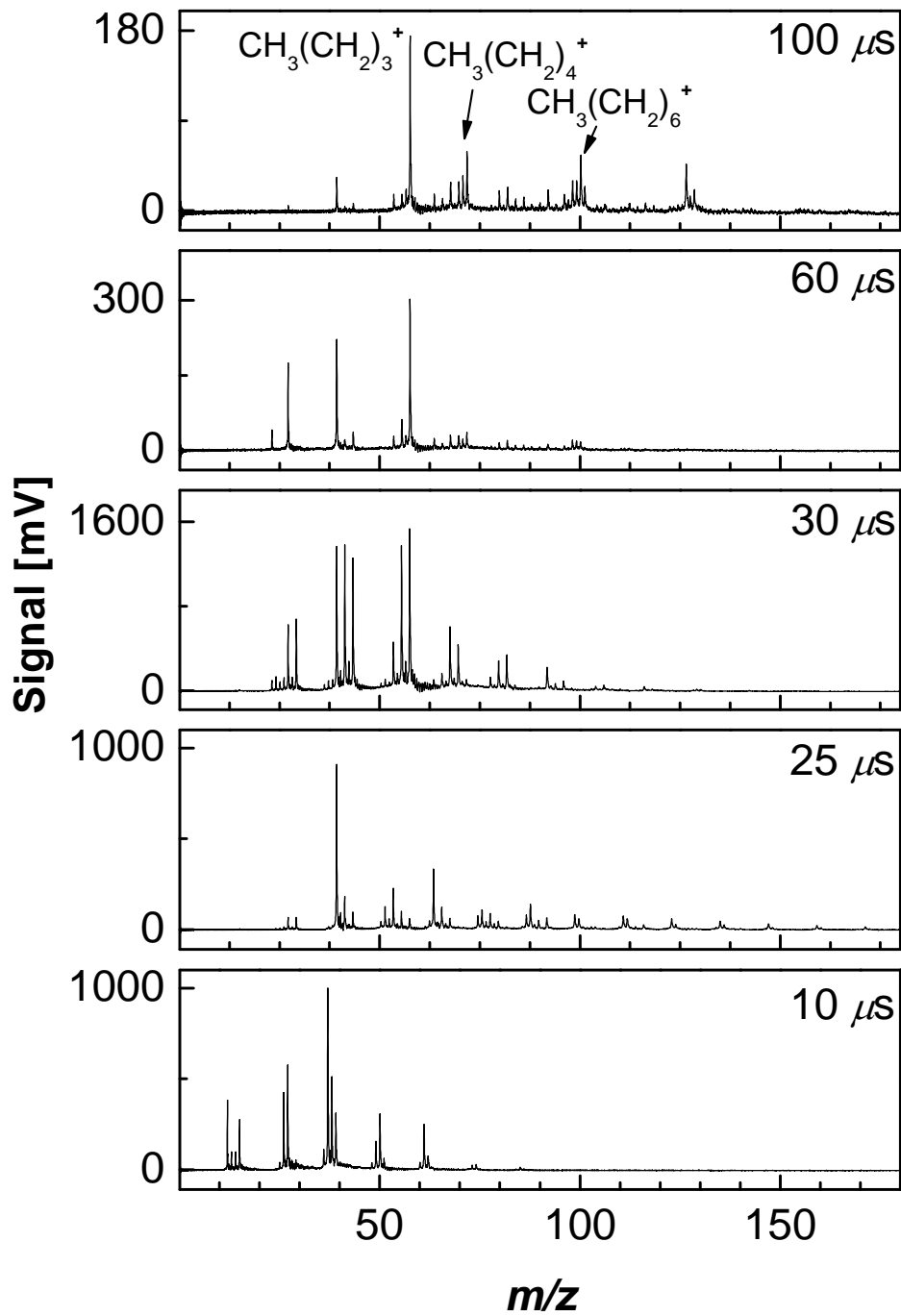
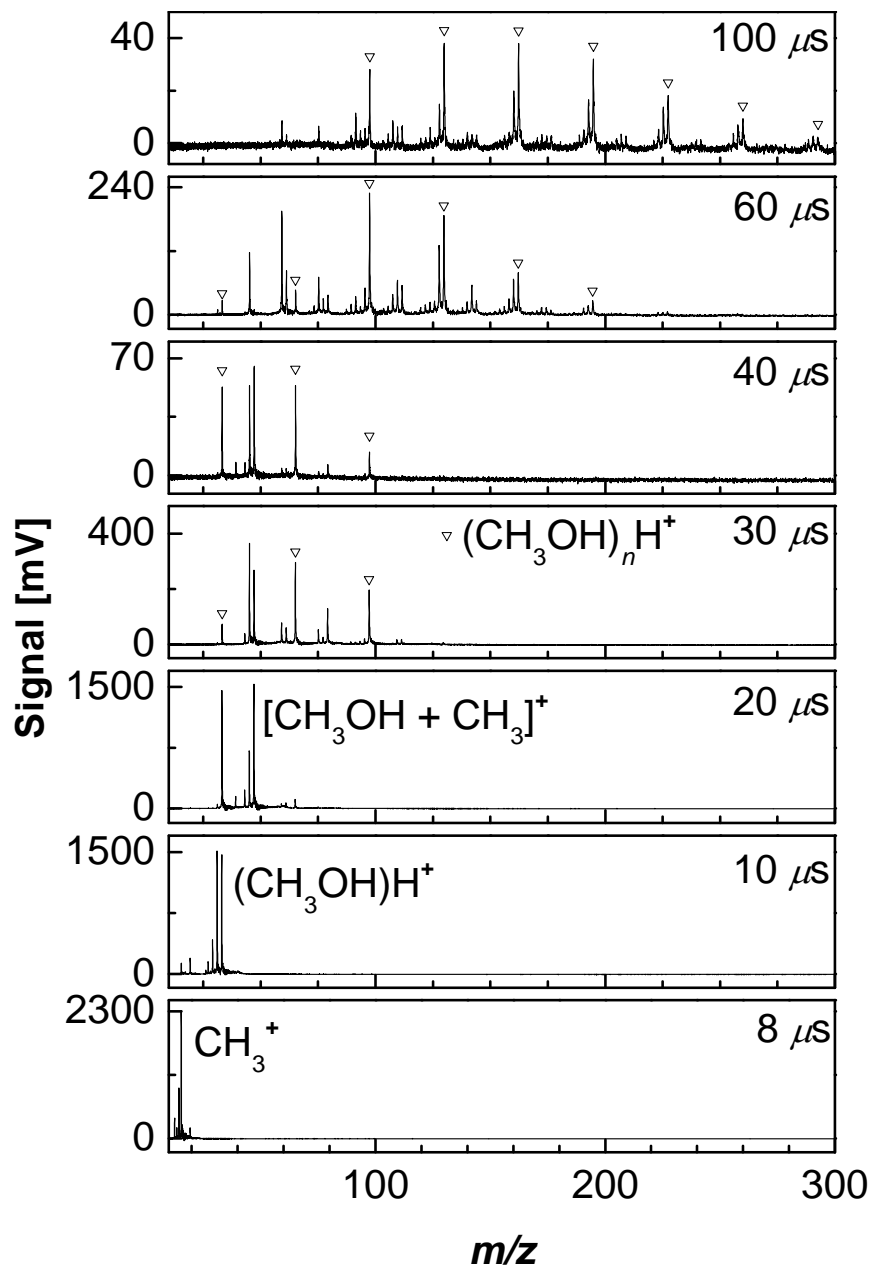


Abbildung 3.7: VUV-MALDI-Massenspektren von gefrorenem n-Heptan auf Aluminium bei verschiedenen Verzögerungszeiten von 10 – 100  $\mu\text{s}$ .



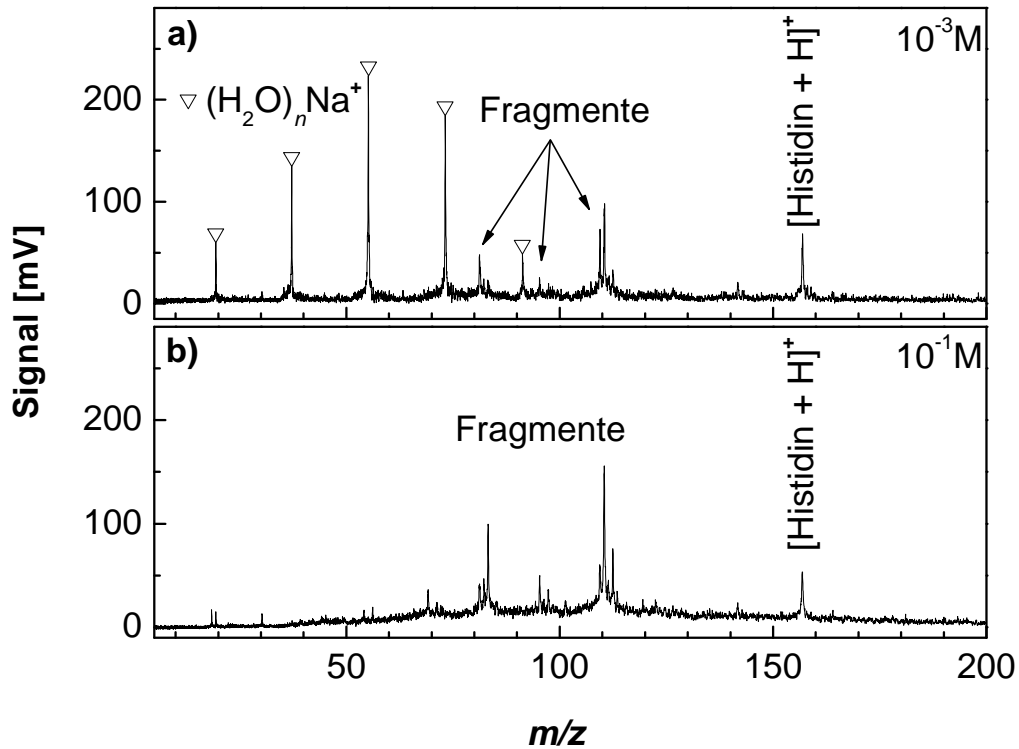
**Abbildung 3.8:** VUV-MALDI-Massenspektren von gefrorenem Methanol auf Aluminium für Verzögerungszeiten von 8 – 100  $\mu\text{s}$ . Bei kurzen Verzögerungszeiten überwiegen die durch Plasma erzeugten Fragmentationen. Bei langen Zeiten werden zunehmend intakte Methanolcluster detektiert ( $\nabla = (\text{CH}_3\text{OH})_n\text{H}^+$ ).

### 3.3.1 Wassereis als Matrix

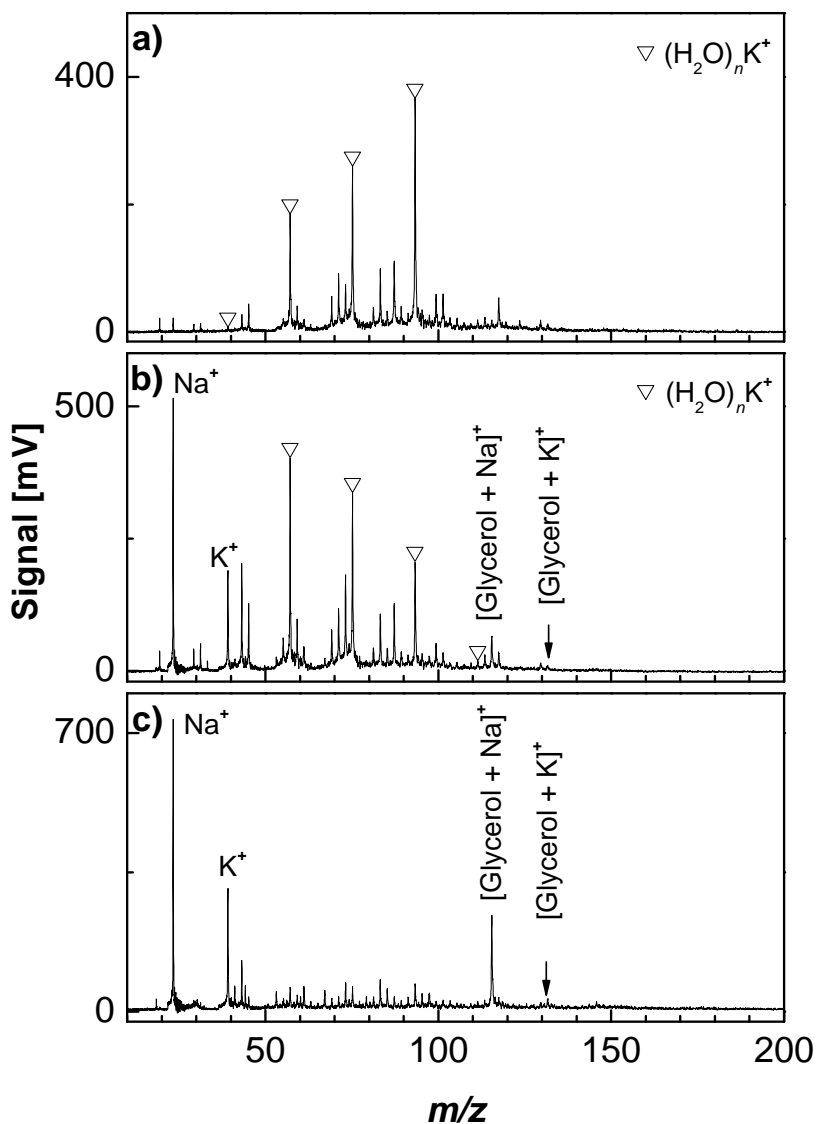
Das Problem der Überlagerung von Analytsignal durch Matrixlinien tritt bei Wassereis als Matrix nicht auf. Wie das Massenspektrum in Abb. 3.9 a) zeigt, ist es möglich die Aminosäure Histidin aus seiner gefrorenen Lösung unfragmentiert zu desorbieren. Dies ist bei einer Verzögerungszeit von etwa  $40 \mu\text{s}$  möglich. Auch Fragmentationen können detektiert werden. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um decarboxiliertes Histidin (Histamin) bei  $m/z$  110 und 109, deaminiertes Histamin bei  $m/z$  95 sowie 4-Methylimidazol bei  $m/z$  83. Allerdings ist die Konzentration des Histidins mit  $10^{-3}$  M relativ hoch. Bei einer Erhöhung der Histidinkonzentration auf  $10^{-1}$  M steigt zwar nicht die Intensität des Muttermolekülsignals an, aber das Signal von Histidin und seiner Fragmente verdrängt andere Spezies im Spektrum, wie Abb. 3.9 b) zeigt. Die höchste Intensität im Spektrum hat das Signal von Histamin.

### 3.3.2 Glycerol als Matrix

Da Wassereis im Vakuum schwierig zu handhaben ist, wurde untersucht, inwiefern sich die bekannte, flüssige und einfach zu handhabende IR-Matrix Glycerol für die VUV-Desorption eignet. Aus Glycerol konnte Histidin nicht desorbiert werden. Im Spektrum sind nur die Massenlinien von Glycerol erkennbar. Wie Abb. 3.10 a) und Abb. 3.10 b) zeigen, sind sich die Spektren von Histidin in Glycerol und reinem Glycerol bis auf die Intensität des Natrium- und Kaliumionensignals sehr ähnlich. Beide zeigen Fragmentationen der Glycerolmatrix. Erst für sehr späte Verzögerungszeiten von  $83 \mu\text{s}$  können unfragmentierte Glycerolmoleküle als Natriumaddukte detektiert werden, wie das Spektrum in Abb. 3.10 c) darstellt.



**Abbildung 3.9:** VUV-MALDI-Massenspektren von gefrorener Histidin-Lösung unterschiedlicher Konzentration auf Aluminium (Verzögerungszeit  $43 \mu\text{s}$ , MCP 2.2 kV). Abb. a) zeigt das Spektrum einer gefrorenen Histidin-Lösung der Konzentration  $10^{-3}$  M. Man erkennt das Mutterionensignal bei  $m/z$  156 sowie Fragmentationen und Natrium-Wassercluster ( $\nabla = (\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$ ). Bei den Fragmentationen handelt es sich wahrscheinlich um decarboxiliertes Histidin (Histamin) bei  $m/z$  110 und 109, deaminiertes Histamin bei  $m/z$  95 sowie 4-Methylimidazol bei  $m/z$  83. In Abb. b) ist das Spektrum für die Konzentration  $10^{-1}$  M dargestellt. Das Spektrum zeigt das Mutterionensignal bei  $m/z$  156 sowie Fragmentationen, aber keine Natrium-Wassercluster ( $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$ ). Neben den in Abb. a) beschriebenen Fragmentationen sind zusätzlich Massenlinien bei  $m/z$  69 und  $m/z$  18 zu erkennen, die vermutlich Imidazolfragmenten und  $\text{NH}_4^+$  zuzuordnen sind.



**Abbildung 3.10:** Abb.a) VUV-MALDI-Massenspektrum von Histidin in Glycerol (Histidin  $10^{-3}$  M, Verzögerungszeit  $43 \mu s$ , MCP 2.2 kV). Es sind nur Kaliumcluster ( $\nabla = (H_2O)_n K^+$ ) und Glycerolfragmente zu erkennen. Ein Histidinsignal ist nicht sichtbar. Abb.b) VUV-MALDI-Massenspektrum von Glycerol auf Aluminium ( $1 \mu L$ , Verzögerungszeit  $43 \mu s$ , MCP 2.2 kV). Es sind hauptsächlich das Natrium- und Kaliumion, Kalium-Wassercluster ( $\nabla = (H_2O)_n K^+$ ) und Glycerolfragmente zu erkennen. Das Glycerol-Natriumaddukt zeigt nur ein schwaches Signal. Abb.c) VUV-MALDI-Massenspektrum von Glycerol für eine Verzögerungszeit von  $83 \mu s$  (MCP 2.2 kV). Es werden unfragmentierte Glycerolmutterionen als Natriumaddukte detektiert.

## 3.4 Desorption mittels IR-Laser – Flüssigstrahl

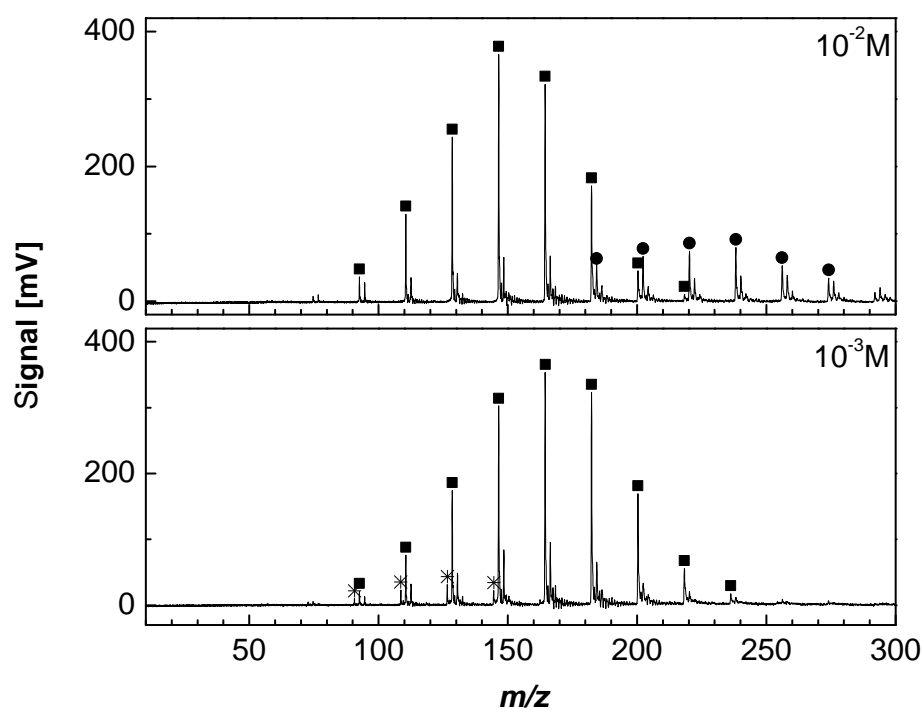
Die Desorption von flüssigem Wasser nach der Methode der Flüssigstrahldesorption (IR-FLMALDI) liefert die besten Ergebnisse. Flüssiges Wasser eignet sich sehr gut als Matrix für die IR-MALDI. Auch werden nur geringe Analytkonzentrationen benötigt. Im Falle der Aminosäure Arginin liegt das Detektionslimit bei einer Konzentration von etwa  $10^{-7}$  M. Eine Sammlung von Massenspektren einiger Biomoleküle, wie Aminosäuren und Proteine, ist in den Abbildungen 3.12 und 3.13 zu finden.

### 3.4.1 IR-FLMALDI-MS von Salzlösungen

Bei der IR-FLMALDI-MS von Salzen treten im Massenspektrum Clustersignale auf. Die Zuordnung der Massenlinien zu den entsprechenden Clusterspezies kann aufgrund von sich überlagernden Massen recht kompliziert werden. Allerdings bleiben Oxidationsstufen durch die Desorption unberührt und auch treten nur einfach geladene Ionen im Spektrum auf, was die Problematik der Zuordnung etwas erleichtert. Als einfaches Beispiel dazu dient die Abbildung 3.11, in welcher Spektren von wässrigen  $\text{CaCl}_2$ -Lösungen dargestellt sind. Für Konzentrationen im Bereich von  $10^{-3}$  M werden bevorzugt Cluster der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{CaOH})^+$  detektiert. Für höhere Konzentrationen tauchen Cluster der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{CaOH}_2)_m(\text{CaOH})^+$  auf. Im Allgemeinen lässt sich für Salzlösungen das Auftauchen verschiedener Clusterspezies in das folgende, am Beispiel von  $\text{NaCl}$  illustrierte, Muster einordnen. Für kleine Konzentrationen bis  $10^{-3}$  M sind im Spektrum zunächst Wasseraddukte des Kations dominant, z.B. in der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$ . Falls es sich um ein mehrfach geladenes Kation handelt, so fungiert  $\text{OH}^-$  als Gegenion, sodass die Nettoladung des Clusters +1 nicht übersteigt. Steigt die Salzkonzentration auf etwa  $10^{-2}$  M, so werden Cluster gebildet, in denen  $\text{OH}^-$  als Anion auftaucht, wie z.B.  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{NaOH})_m\text{Na}^+$ . Für noch höhere Konzentrationen ab  $10^{-1}$  M nimmt  $m$  zu und zusätzlich werden Cluster gebildet, in denen das Anion des Salzes auftaucht, wie z.B.  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{NaCl})_l\text{Na}^+$ . Darüber hinaus erscheinen auch Mischcluster, wie  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{NaOH})_m(\text{NaCl})_l\text{Na}^+$ . Dies führt für hohe Konzentrationen schließlich zu komplex aussehenden Massenspektren, wie anhand der Abb. B.3 im Anhang illustriert wird. Um detailreiche Spektren von Lösungen mit sehr hohen Salzkonzentra-



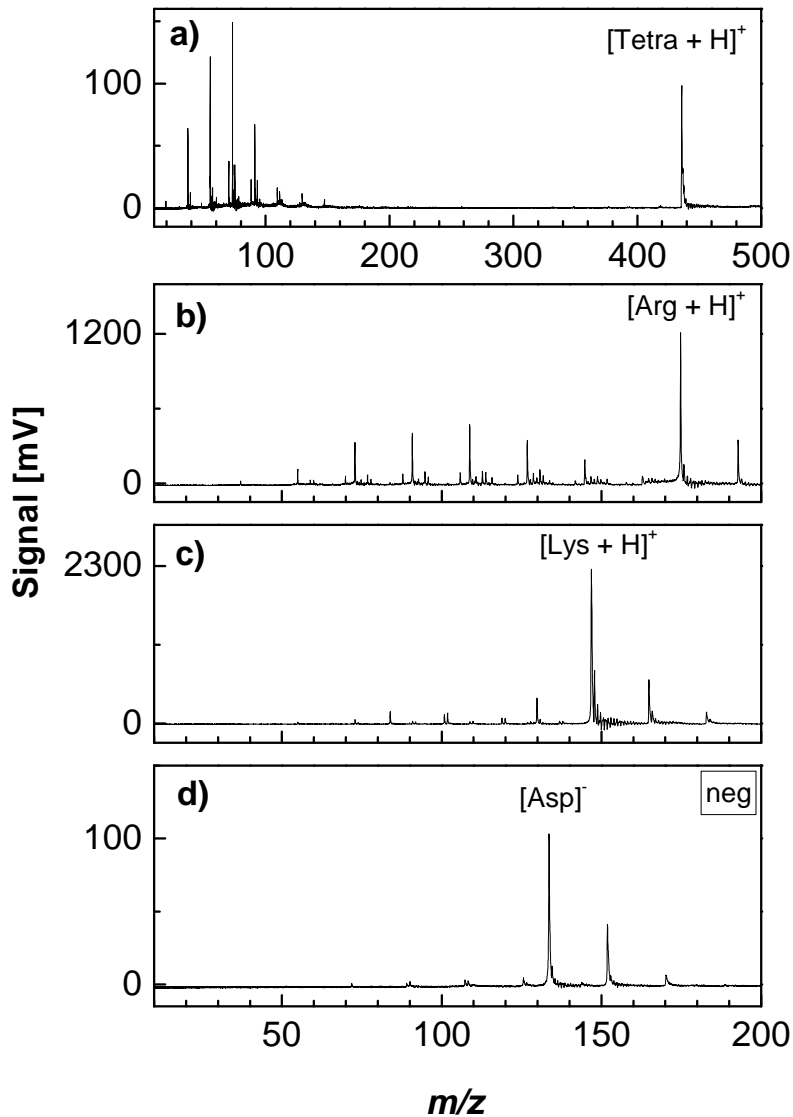
tionen zu erzeugen, muss die Laserintensität auf etwa  $10^9 \text{ W/cm}^2$  erhöht werden. Dies führt zum Problem, dass bei manchen Laserschüssen bereits Plasma gezündet wird.



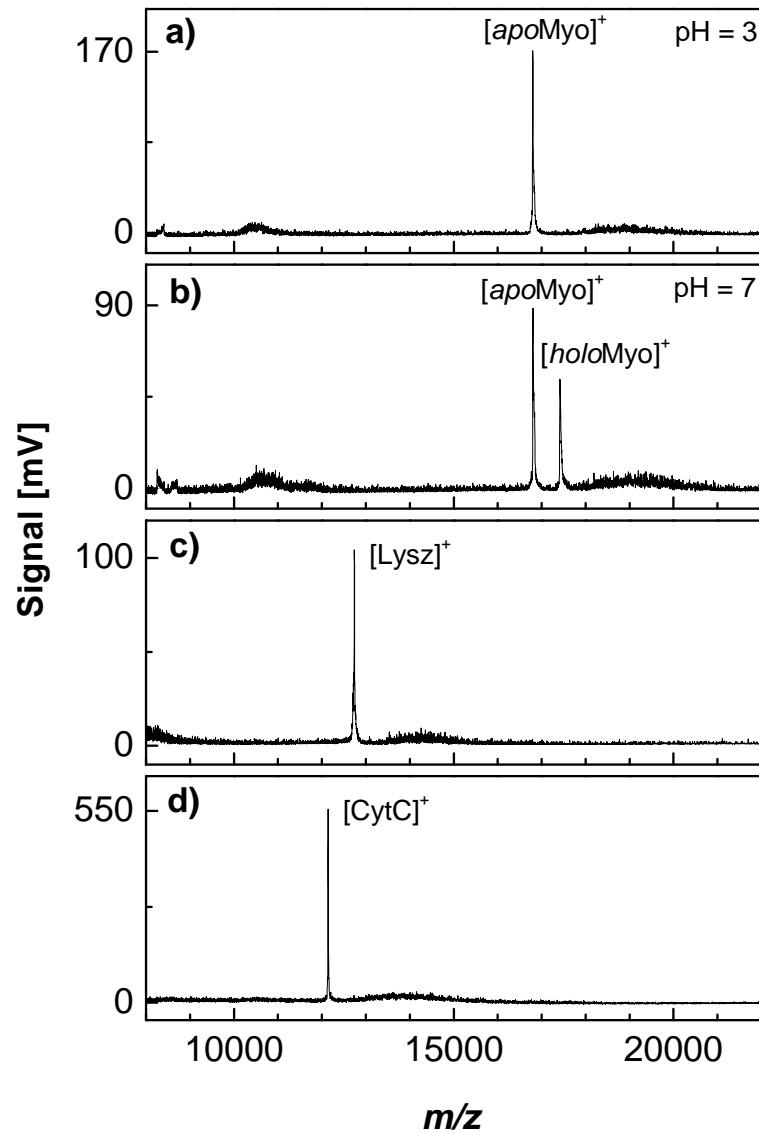
**Abbildung 3.11:** IR-FLMALDI-Massenspektren von  $\text{CaCl}_2$  für die Konzentrationen  $10^{-3} \text{ M}$  und  $10^{-2} \text{ M}$ . Bei  $10^{-3} \text{ M}$  sind Wassercluster mit schwacher Intensität im Spektrum zu erkennen ( $* = (\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ ). Die mit ■ gekennzeichneten Massenlinien können zu Clustern der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{CaOH})^+$  und  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{CaCl})^+$  gehören, wobei die Isotopenlinien allerdings auch Cluster der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{Na})^+$  sein können. Für die Konzentration  $10^{-2} \text{ M}$  treten weitere Cluster auf, gekennzeichnet durch ●. Diese können zu Clustern der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{CaOH}_2)(\text{CaOH})^+$ ,  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{CaCl}_2)(\text{CaOH})^+$  und  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{CaCl}_2)(\text{CaCl})^+$  gehören, da deren Massen für hinreichende  $n$  identisch sind. Wahrscheinlich ist jedoch, dass chloridhaltige Cluster erst bei noch höheren Konzentrationen vermehrt auftreten, wie dies auch bei  $\text{NaCl}$  der Fall ist [65]. (Verzögerungszeit  $13 \mu\text{s}$ , MCP 2.1 kV).

### 3.4.2 IR-FLMALDI-MS von Biomolekülen

Die IR-FLMALDI eignet sich neben der Analytik von Salzen auch für die Detektion von Biomolekülen, wie Aminosäuren und Proteine. Basische Aminosäuren werden bevorzugt im positiven Modus des Massenspektrometers detektiert und saure bevorzugt im negativen Modus. In der Abb. 3.12 sind einige Massenspektren von Aminosäuren beispielhaft aufgeführt. Einer der Vorzüge der IR-FLMALDI gegenüber anderen Methoden liegt in ihrer Toleranz gegenüber Probenverunreinigungen durch Salze [65]. Auch Proteine können sanft mittels IR-FLMALDI desorbiert werden. Massenspektren von Proteinen sind in Abb. 3.13 aufgeführt. Wie Abb. 3.13 b) zeigt, lässt sich z.B. die *holo*-Form von Myoglobin, ein nicht kovalent gebundener Komplex mit Häm b, unfragmentiert desorbieren.



**Abbildung 3.12:** IR-FLMALDI-Massenspektren von Aminosäuren und Peptiden. Abb. a) zeigt das Spektrum des Tetrapeptids Arg-Gly-Asp-Ser in der Konzentration  $10^{-4}$  M (MCP 2.0 kV). Bei kleinen  $m/z$  sind Natrium-Wasser-Cluster zu erkennen. Abb. b) zeigt das Spektrum der basischen Aminosäure Arginin in der Konzentration  $10^{-6}$  M. Diese Aminosäure kann bis zu einer minimalen Konzentration von  $10^{-7}$  M detektiert werden (MCP 2.3 kV). In der Abb. c) ist das Spektrum der weniger basischen Aminosäure Lysin dargestellt ( $10^{-3}$  M, MCP 2.3 kV). Das Spektrum in Abb. d) wurde im negativen Modus gemessen und zeigt Asparaginsäure in der Konzentration  $10^{-3}$  M (MCP 1.80 kV). Im positiven Modus des Massenspektrometers ist diese Aminosäure kaum zu detektieren.



**Abbildung 3.13:** IR-FLMALDI-Massenspektren von Proteinen. Abb. a) zeigt das Spektrum von Myoglobin in der Konzentration von  $10^{-4}$  M. Durch den eingestellten sauren pH wurde das Protein denaturiert und es ist nur die *apo*-Form des Proteins im Spektrum erkennbar, welcher die Häm-Gruppe fehlt. Dagegen zeigt das Spektrum in Abb. b) bei einem pH von 7 sowohl *apo*- als auch *holo*-Form von Myoglobin ( $10^{-4}$  M). Dies unterstreicht die Sanftheit der Desorption mittels IR-FLMALDI, denn der nicht kovalent gebundene Komplex aus Myoglobin und Häm lässt sich unfragmentiert desorbieren. In beiden Spektren ist zusätzlich zweifach geladenes Protein zu erkennen. Abb. c) zeigt das Spektrum von Lysozym und Abb. d) das Spektrum von Cytochrom C, beide in der Konzentration  $10^{-4}$  M.

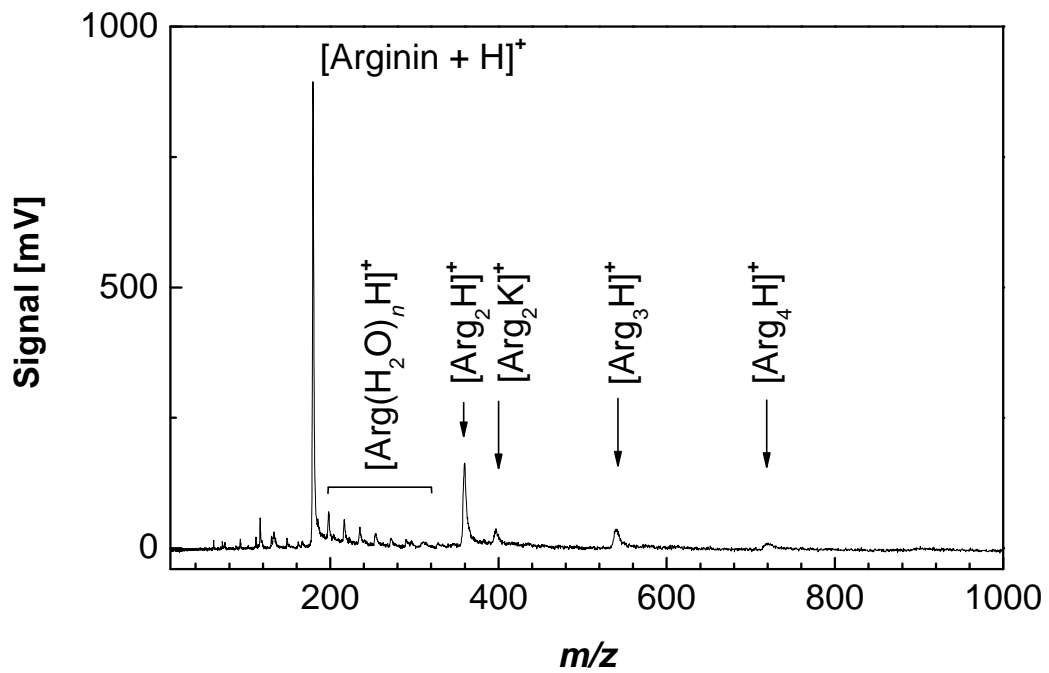
## 3.5 Desorption mittels IR-Laser – MALDI

Als Vergleich zur Desorption mittels VUV-Strahlung und um zu testen, inwiefern sich der experimentelle Aufbau für MALDI-Desorption eignet, wurden zusätzlich Messungen mit IR-Laserstrahlung durchgeführt. Die Massenspektren liefern eine Referenz für die Messungen mittels VUV-Laser.

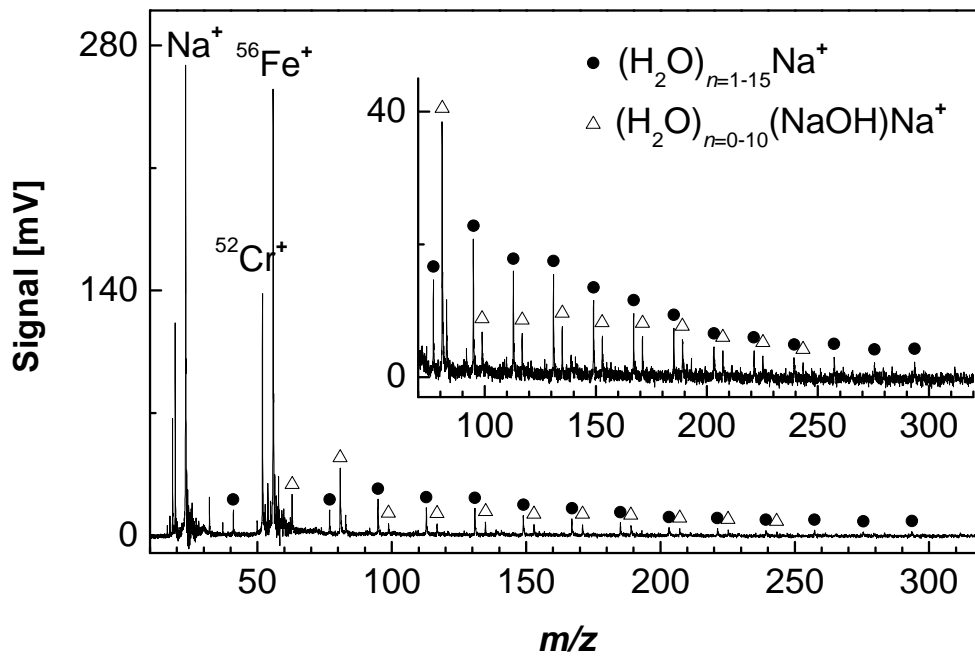
### 3.5.1 Wassereis als Matrix

In Abb. 3.14 ist das Massenspektrum einer gefrorenen Arginin-Lösung der Konzentration 0.1 M dargestellt. Neben der Massenlinie des protonierten Muttermoleküls treten im Spektrum Arginin-Wassercluster sowie Argininoligomere auf. Die Bildung von Oligomeren ist auf die hohe Konzentration des Arginins zurückzuführen. Proteine konnten im Einklang mit der Literatur nicht in ausreichender Ausbeute desorbiert werden.

Für gefrorene Salzlösungen ergeben sich die zu erwartenden Spektren von Clustern. So zeigt Abb. 3.15 das Massenspektrum einer gefrorenen NaCl-Lösung der Konzentration 0.1 M. Die auftretenden Cluster haben die Form  $(\text{H}_2\text{O})_n(\text{NaOH})\text{Na}^+$  und  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$ . Da Eis bereits nach wenigen Laserschüssen verdampft ist, wurde in diesem Fall auch der Probenhalter aus Edelstahl ablatiert. Beim Auftreffen der Laserstrahlung auf Metalle entsteht sofort Plasma. Daher wurden neben den Massenlinien der Zersetzungsprodukte von Wasser auch Eisen und Chrom detektiert.



**Abbildung 3.14:** IR-MALDI-Massenspektrum von gefrorener Argininlösung (Arginin 0.1 M, Verzögerungszeit 25  $\mu\text{s}$ , MCP 1.9 kV). Neben der Massenlinie des protonierten Muttermoleküls treten im Spektrum Arginin-Wassercluster sowie Argininoligomere auf. Die Bildung von Oligomeren ist auf die hohe Konzentration des Arginins zurückzuführen.

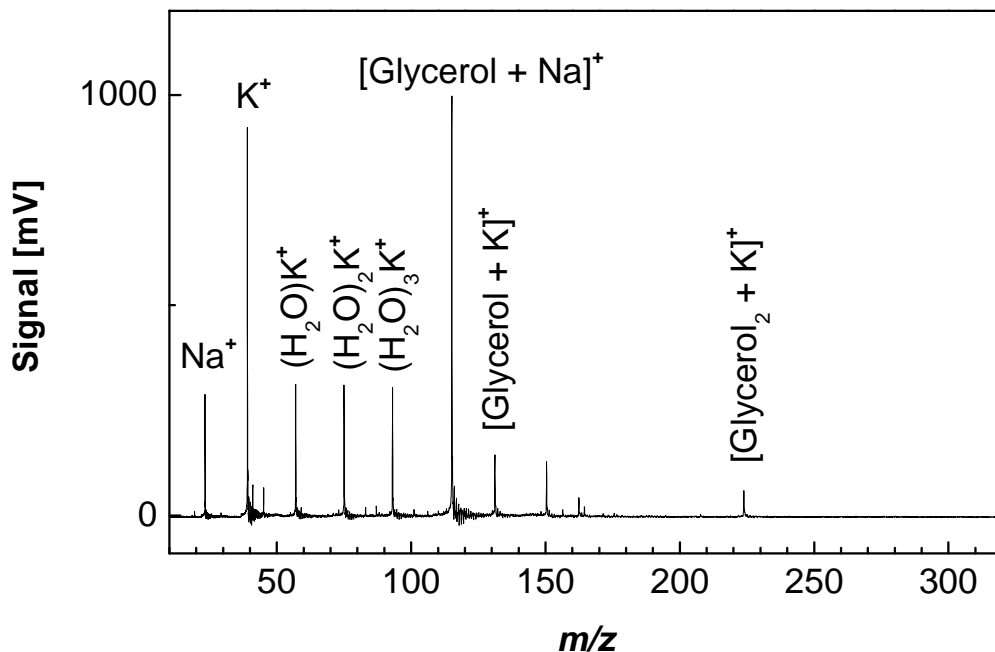


**Abbildung 3.15:** IR-MALDI-Massenspektrum von gefrorener NaCl-Lösung auf Edelstahl (NaCl 0.1 M, Verzögerungszeit 30  $\mu$ s, MCP 2.0 kV). Der  $m/z$ -Bereich unterhalb von 70 zeigt, dass bereits Edelstahl desorbiert wurde und aufgrund des auftretenden Plasmas auch Sauerstoffionen detektiert werden. Dennoch zeigt das Natriumion die höchste Signalintensität. Die Natrium-Wasser-Cluster sind nochmals vergrößert abgebildet. Dabei sind die Cluster folgendermaßen gekennzeichnet,  $\bullet = (\text{H}_2\text{O})_{n=0-10}(\text{NaOH})\text{Na}^+$ -Cluster und  $\triangle = (\text{H}_2\text{O})_{n=1-15}\text{Na}^+$ -Cluster.

### 3.5.2 Glycerol als Matrix

Als Referenz zu der Laserdesorption aus Wassereis wurde auch für die IR-Laserdesorption Glycerol als Matrix eingesetzt. Das Massenspektrum von reinem Glycerol für eine Verzögerungszeit von  $25 \mu\text{s}$  ist in Abb. 3.16 dargestellt. Es zeigt sich, dass Glycerol relativ stark mit den Alkaliionen Natrium und Kalium verunreinigt ist. Obwohl das Kaliumion eine höhere Intensität als das Natriumion im Spektrum besitzt, bildet Glycerol bevorzugt ein Natriumaddukt. Das Natriumaddukt des Glycerols hat die stärkste Intensität im Spektrum. Auch Glycerol-Addukte sind präsent. Bis zu einer Verzögerungszeit von  $110 \mu\text{s}$  kann noch Glycerolsignal detektiert werden.

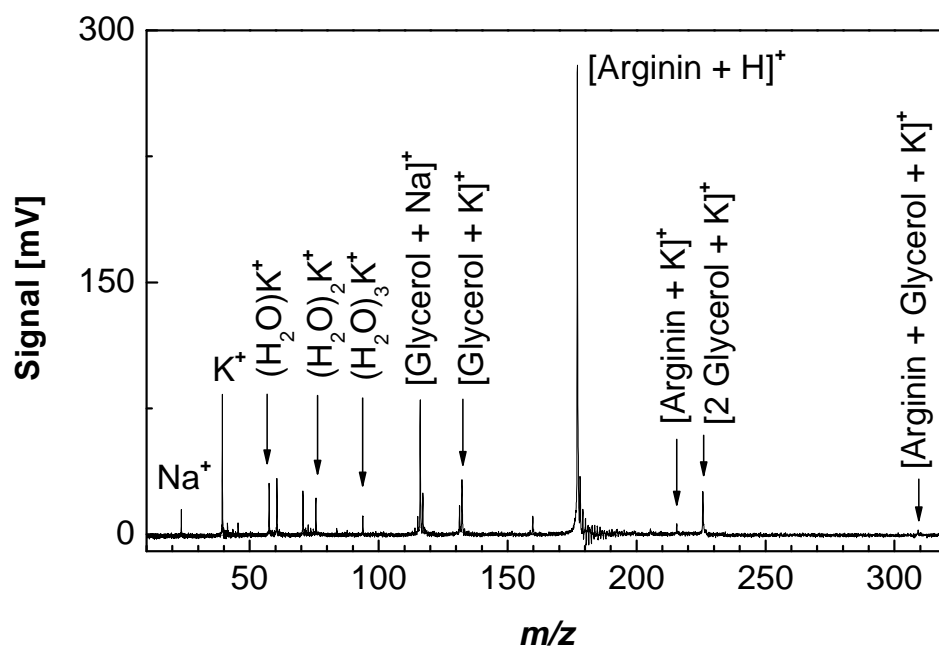
Die Matrix Glycerol eignet sich besser für die Desorption von Biomolekülen als Eis, wie das Massenspektrum einer wässrigen Argininlösung in Glycerol, dargestellt



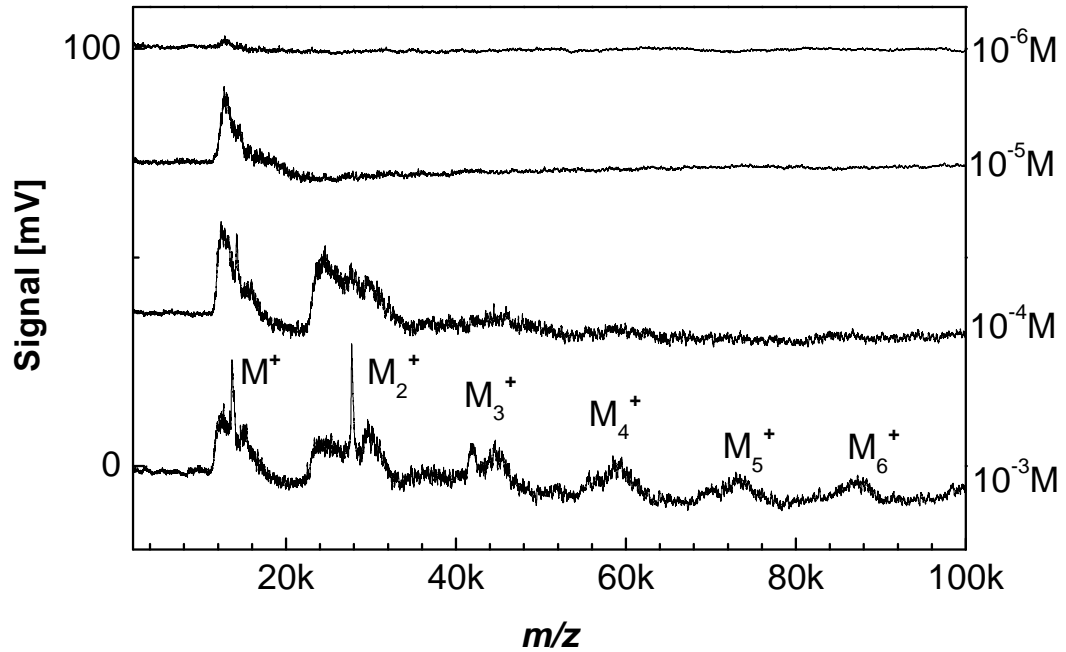
**Abbildung 3.16:** IR-MALDI-Massenspektrum von Glycerol auf Aluminium (Verzögerungszeit  $25 \mu\text{s}$ , MCP 2.1 kV).



in Abb. 3.17, zeigt. Die Probe wurde nach der *dried-droplet*-Methode vorbereitet. Bereits bei einer Argininkonzentration von  $10^{-3}$  M ist das Signal für Arginin im Spektrum am stärksten. Aufgrund seiner starken Basizität tritt Arginin als protonierte Spezies auf. Weiterhin eignet sich Glycerol auch für die Desorption von Proteinen, wofür allerdings eine relativ hohe Analytkonzentration benötigt wird. Dies könnte an der Verunreinigung des Glycerols durch Alkalisalze liegen. In der Abbildung 3.18 ist das Massenspektrum von Lysozym in der Konzentration  $10^{-3}$  M dargestellt. Auch hier wurde nach dem Verfahren der *dried-droplet*-Methode gearbeitet. Neben der Linie des Muttermoleküls treten auch Oligomere von Lysozym auf. Demnach eignet sich der experimentelle MALDI-Aufbau sehr wohl für eine erfolgreiche Desorption von Proteinen. Im Vergleich zu kommerziellen MALDI-Spektrometern, liefert dieser relativ einfache Versuchsaufbau sehr gute Ergebnisse.



**Abbildung 3.17:** IR-MALDI-Massenspektrum von Arginin in Glycerol (Arginin  $10^{-3}$  M,  $1 \mu\text{L}$ -Tropfen auf Edelstahl, Verzögerungszeit  $25 \mu\text{s}$ , MCP 1.8 kV). Trotz des Auftretens von kationischen Matrixaddukten zeigt das protonierte Arginin das höchste Signal im Spektrum.



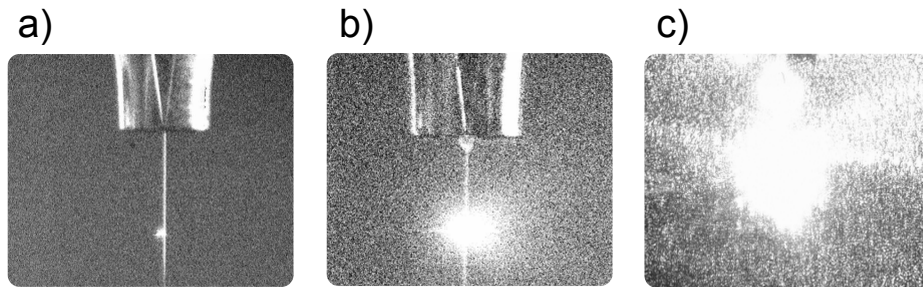
**Abbildung 3.18:** IR-MALDI-Massenspektren von Lysozym in Glycerol (Lysozym  $10^{-3} - 10^{-6}$  M, Verzögerungszeit  $40 \mu\text{s}$  für  $10^{-3} - 10^{-4}$  M und  $90 \mu\text{s}$  für  $10^{-5} - 10^{-6}$  M, MCP 2.3 – 2.44 kV), Spektren geglättet (Mittelung von je 30 angrenzenden Datenpunkten). Die Signale sind sehr schwach und stark verrauscht. Trotzdem ist bei den hohen Konzentrationen das Auftreten von Lysozym-Oligomeren zu erkennen.

## 3.6 Vergleich der Plasmazündung für verschiedene Laserintensitäten

Auch bei einer Wellenlänge von 2850 nm und geringen Laserintensitäten im Bereich von  $10^8$  W/cm<sup>2</sup> kann eine oberflächliche Plasmazündung festgestellt werden, wie in Abb. 3.19 a) gezeigt. Die Ursache hierfür sind die hohe Absorption und kurze Eindringtiefe der Laserstrahlung. Allerdings ist dies nur optisch detektierbar und es gibt keinerlei Auswirkungen auf die erhaltenen Massenspektren. Um eine gute Desorption der Analytioneen und somit ein optimales Massenspektrum zu erhalten, ist es von Vorteil, wenn der Wasserstrahl auf der vom Spektrometer abgewandten Seite vom Laser getroffen wird. So kann die sich ausbreitende Schockwelle den Wasserstrahl in Richtung Spektrometer durchlaufen und dispergieren. Wie beschrieben, kann oberhalb von  $10^9$  W/cm<sup>2</sup> bei der IR-FL-MALDI Plasma gezündet werden, welches eine Detektion von Wasserfragmenten zur Folge hat. Dabei erleichtert eine hohe Salzkonzentration im Wasserstrahl die Plasmazündung, d.h. es wird eine geringere Laserintensität benötigt, als z.B. Plasma in reinem Wasser zu zünden. Dieses Phänomen ist bekannt und begründet sich aus der erniedrigten Intensitätsschwelle für die Kaskadenionisation des laserinduzierten optischen Durchbruchs (*laser induced optical breakdown*) [81, 82]. Das Foto in Abb. 3.19 b) zeigt diese Plasmazündung. Höhere Laserintensitäten als  $2 \times 10^9$  W/cm<sup>2</sup> konnten mit dem OPO-Lasersystem nicht erreicht werden. Zur Erzeugung höherer Laserintensitäten von  $2 \times 10^{10}$  W/cm<sup>2</sup> wurde die Fundamentale des Nd:YAG-Lasers genutzt ( $\lambda = 1064$  nm). Die damit erzeugten Spektren sind im Abschnitt 3.3.1 von Teil II zu finden. Ein Foto vom Laserbeschuss des Wasserstrahls mit dieser Intensität ist in Abb. 3.19 c) abgebildet. Die durch Plasmadesorption erhaltenen Massenspektren unterscheiden sich kaum, d.h. die eingesetzte Laserwellenlänge spielt keine große Rolle.

## 3.7 Fazit und Ausblick

Beim Vergleich der Matrizen Wassereis und Glycerol zeigt sich für IR-Wellenlängen deutlich der Vorzug des Glycerols. Zum einen ist die Handhabbarkeit von Glycerol im Vakuum wesentlich unkomplizierter. Wassereis muss temperiert werden und



**Abbildung 3.19:** Plasmazündung im Wasserstrahl. Bild a) zeigt die Dispersion des Wasserstrahls durch Laserbeschuss mit einer Wellenlänge von 2850 nm und der, zur standardmäßigen Desorption eingesetzten, geringen Laserintensität von  $10^8 \text{ W/cm}^2$ . Bild b) zeigt das Zünden von Plasma bei Laserintensitäten größer als  $10^9 \text{ W/cm}^2$ . In Bild c) wird der Wasserstrahl mit Laserstrahlung mit einer Wellenlänge von 1064 nm und einer Intensität von  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  beschossen.

lässt sich sehr leicht ablatieren, so dass die Eisoberfläche nur wenige Laserschüsse aushält, bevor sie vollständig verdampft ist. Glycerol hingegen ist hochviskos und zieht sich nach Laserbeschuss in seine ursprüngliche Form zurück. So wird für jeden Schuss eine ebene und neue Oberfläche geschaffen, wodurch sich die Reproduzierbarkeit der Messungen stark erhöht. Zum anderen lassen sich auch große Biomoleküle, wie Proteine, aus Glycerol desorbieren, wohingegen dies für Eis nicht oder nur mit sehr schlechter Ausbeute gelingt. Allerdings ist es möglich Aminosäuren aus ihren gefrorenen Lösungen zu desorbieren. Für beide Matrizen ist die Analytioneausbeute gering und es werden hohe Analytkonzentrationen benötigt. Flüssiges Wasser liefert hier, wie zu erwarten, die besten Ergebnisse. Bei der Desorption mit VUV-Strahlung scheint wiederum Wassereis eine bessere Matrix zu sein. Einerseits ist seine Ionisierungsenergie höher und andererseits überlagern auftretende Linien von Zersetzungsprodukten aufgrund ihres Auftretens in einem eingeschränkten Massenbereich Analytsignale nicht so stark, wie dies bei organischen Matrizen der Fall ist.

Es konnte gezeigt werden, dass es möglich ist Aminosäuren aus ihrer gefrorenen Lösungen mittels VUV-Laser zu desorbieren. Dabei können auch unfragmentierte Muttermoleküle mit hoher Signalintensität im Spektrum detektiert werden. Allerdings funktioniert dies nur für sehr kleine Strahlungsintensitäten und großen

Verzögerungszeiten, d.h. es werden die langsameren, kalten Desorptionsfraktionen zur Analytdetektion herangezogen. Frühe Fraktionen werden im Plasma vollständig fragmentiert. Massenspektren dieser Fragmentationen könnten für eine Elementaranalyse dienen. Interessanterweise werden trotz der hohen Photonenenergien ausschließlich einfach geladene Spezies detektiert.

Somit scheint es, dass die VUV-Laserdesorption bislang nur eingeschränkt für die Bioanalytik nutzbar ist. Zukünftig wird versucht werden, VUV-Laserquellen an kommerzielle MALDI-Massenspektrometer zu koppeln und den hohen Sensitivitätsvorteil zu nutzen. Auch ist es interessant, die Auswirkungen der Veränderung von Laserfoki und Pulslängen auf die Desorption zu untersuchen.



## Teil II

# Enceladus – Laborexperimente





# Kapitel 1

## Einleitung

Dieser Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob der eisige Saturnmond Enceladus einen flüssigen Wasserozean unter seiner Eiskruste verbirgt und somit ein Habitat für außerirdisches Leben sein könnte. Den Schlüssel zur Klärung dieser Frage liefert die Analyse von massenspektrometrischen Daten vom Inneren des Mondes, aufgenommen durch die Weltraumsonde Cassini. Dafür wurden Massenspektren salzreicher, wässriger Lösungen im Labor erstellt [83].

### 1.1 Cassini und Enceladus

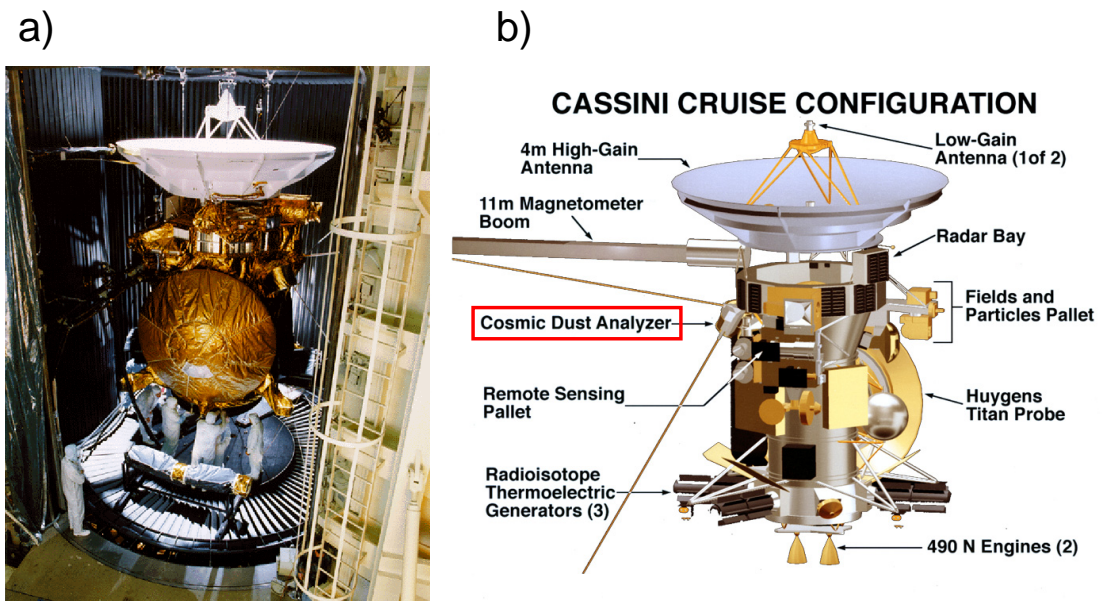
Die Weltraumsonde Cassini (siehe Abb. 1.1) wurde im Oktober 1997 auf den Weg gebracht und erreichte 2004 den Saturn. Ihre Mission<sup>1</sup> ist die Untersuchung des Saturnsystems und unter anderem die Untersuchung des hochinteressanten Mondes Enceladus. Er ist der sechstgrößte Mond des Saturn und befindet sich im diffusen E-Ring. Enceladus besteht hauptsächlich aus Wassereis mit einem Kern aus Gestein, hat einen mittleren Durchmesser von etwa 500 km, eine mittlere Dichte von  $1.6 \text{ g/cm}^3$  und seine Oberflächentemperatur liegt im Mittel bei 72 K (siehe Abb. 1.2). Die Besonderheit von Enceladus ist seine geologische Aktivität. An der Südpolregion des Enceladus sind 100 km lange und mehrere km tiefe Risse beobachtet worden, die vier sogenannten Tigerstreifen (*tiger stripes*), welche in Abb. 1.3 erkennbar sind. Aus diesen Rissen schießen geysirähnliche Fontänen (*plumes*) bis zu 500 km weit ins Weltall hinaus (siehe Abb. 1.2). Diese Fontänen bestehen über-

---

<sup>1</sup>Internetseite der NASA zur Cassini Mission <http://saturn.jpl.nasa.gov/index.cfm>.

wiegend aus Eispartikeln ( $0.3 - 3 \mu\text{m}$ ) und Gasen, wie  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$  und  $\text{N}_2$ . Interessanterweise sind auch kurzketting Kohlenwasserstoffe, Ammoniak sowie Schwefelwasserstoff nachgewiesen worden [84]. Diese Fontänen bilden den Ursprungsort des E-Rings und sorgen auf Enceladus für eine dünne Atmosphäre [85]. Eine weitere Besonderheit des Enceladus ist seine Temperatur. Die Oberflächentemperatur am Südpol ist bis zu 20 K wärmer als sonst, was nicht durch Sonneneinstrahlung erklärt werden kann (siehe Abb. 1.2). In den Rissen wurden an den Ursprungsorten der Fontänen in neusten Aufnahmen sogar Temperaturen bis zu „heißen“ 190 K festgestellt [84].

Unter der salzfreien Eisschicht des Mondes wird seit 2006 ein Ozean aus flüssigem Wasser vermutet [86, 87]. Ob dieser Ozean noch immer flüssig ist, wurde lange diskutiert. Ein Schlüssel zur Klärung ist die Analyse der Eispartikel der Fontänen, denn sie liefert direkten Einblick in das Innere des Mondes. Laut Berechnungen von Zolotov müsste ein flüssiger Ozean, der mit dem Gesteinskern des Mondes in



**Abbildung 1.1:** Bild und Beschreibung der Cassini Raumsonde. Das Bild in Abb. a) zeigt ein Foto der Raumsonde Cassini. In Abb. b) sind die wichtigsten Bestandteile der Sonde markiert. Die Bilder sind adaptiert von der NASA <http://saturn.jpl.nasa.gov/index.cfm>.

Verbindung steht, überwiegend aus alkalischer NaCl-Lösung bestehen ( $\text{pH} = 8 - 11$ ) und zusätzlich  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen beinhalten [86].

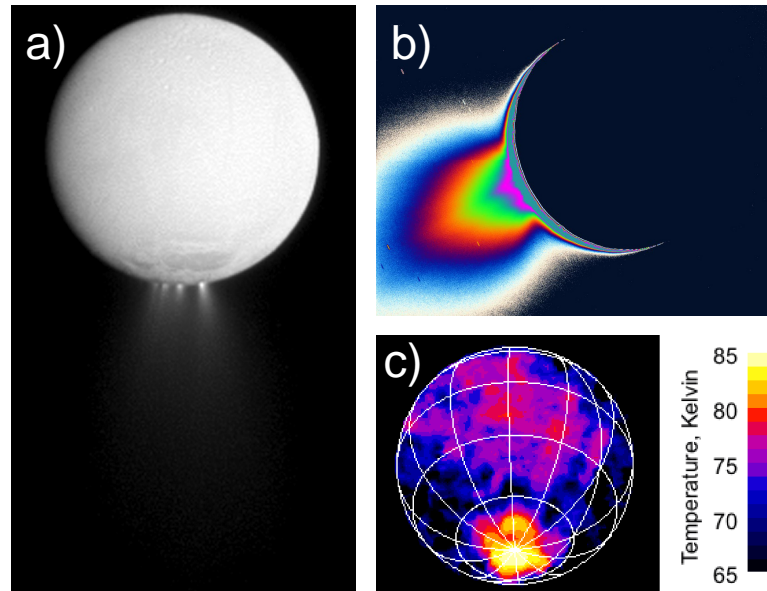
An Bord der Cassini-Raumsonde befindet sich der *Cosmic Dust Analyzer*<sup>2</sup> (CDA), der zur Untersuchung von Staubpartikeln entwickelt wurde [88, 89]. Mit dessen Hilfe konnten Massenspektren von den Eispartikeln des E-Ringes aufgenommen werden, die zeigen, dass es sich tatsächlich um salzreiche Wassereispartikel handelt. Da bei den durch Cassini aufgenommenen Massenspektren Unklarheiten bei der Zuordnung der Signale auftraten, wurden in dieser Arbeit im Labor Vergleichsmessungen mittels Flüssigstrahl-Laserdesorptionsmassenspektrometrie (siehe Abschnitt 1.2 in Teil I) angefertigt, um die Messungen zu untermauern. Die Ergebnisse bestätigen die Messungen des CDA und zeigen, dass es sich bei der Zusammensetzung der analysierten Eispartikel um dieselbe handelt, wie von Zolotov vorausgesagt. Dies bestätigt die Vermutung, dass sich unter der Eiskruste des Enceladus ein flüssiger Ozean befindet [83]. Neben dem Vorkommen von flüssigem, salzreichem Wasser konnten während Vorbeifügen an Enceladus auch Ammoniak, Schwefelwasserstoff und organische Moleküle detektiert werden. Dies kann als Indikator dafür angesehen werden, dass es auf Enceladus extraterrestrisches Leben geben könnte [90].

## 1.2 Der Partikeldetektor – *Cosmic Dust Analyzer*

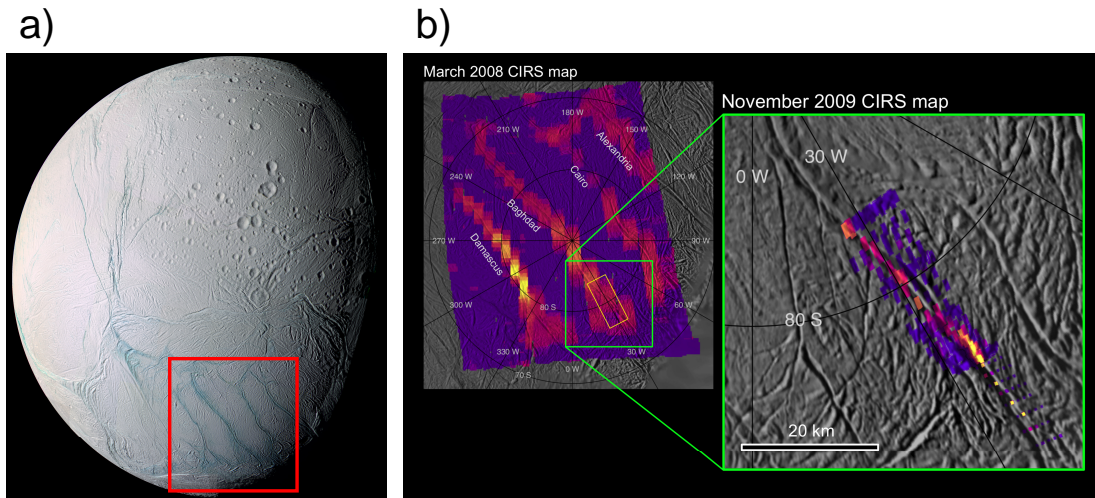
Der *Cosmic Dust Analyzer* (CDA) besteht aus mehreren Unterkomponenten, die zur Aufgabe haben, den kosmischen Staub bestmöglich zu charakterisieren. Im Folgenden wird nur die grobe Funktionsweise des Staubanalysierers (DA) wiedergegeben und für eine genaue Beschreibung des Systems auf die Literatur verwiesen, insbesondere auf Srama *et al.* [88, 89]. Neben Einschlagsraten können Einschlagsrichtung, Einschlagsgeschwindigkeit, Ladung, Masse und die chemische Zusammensetzung der Staubpartikel detektiert werden. Der Detektor ist etwa 51 cm lang und hat einen Durchmesser von 45 cm. Ein Foto des Detektors ist in Abb. 1.4 a) aufgeführt. Anhand der schematischen Zeichnung in Abb. 1.4 b) werden die drei Einzelkomponenten des DA beschrieben. Das *Entrance Grid* (EG), der *Impact*

---

<sup>2</sup>Internetseite der Heidelberg Cosmic Dust Research Group <http://www.mpi-hd.mpg.de/dustgroup/>.



**Abbildung 1.2:** Der Mond Cassini und seine Oberflächentemperatur. Bild a) zeigt den Mond Enceladus, an dessen Südpolregion die vier Wasserfontänen deutlich erkennbar sind. Dieses Bild wurde am 25.12.2009 von der Nahwinkelkamera der Cassini Raumsonde aufgenommen. Der Abstand von der Raumsonde zum Mond betrug 617000 km. Um die Länge der Fontänen besser sichtbar zu machen ist in Abb. b) ein Falschfarbenbild des Enceladus dargestellt. Im Bild c) ist das erstaunliche Wärmebild des Mondes abgebildet. Es wurde am 14.07.2005 in einem Abstand von 84000 km durch das Infrarotspektrometer (Wellenlängenbereich 9 – 16,5  $\mu\text{m}$ ) der Raumsonde aufgenommen und zeigt die deutlich wärmere Südpolregion. Eigentlich sollte der Südpol, wie auf der Erde, kälter sein als der Rest der Oberfläche. Durch neue Messungen wurden die Ursprungsorte der Fontänen an der Südpolregion mit Temperaturen von bis zu 190 K gefunden. Die Bilder sind adaptiert von der NASA <http://saturn.jpl.nasa.gov/index.cfm>.



**Abbildung 1.3:** Nahaufnahme von Enceladus und Wärmebild der Tigerstreifen. Die Nahaufnahme in Bild a) ist ein Falschfarbenmosaik aus mehreren Nahaufnahmen und wurde am 14.07.2005 aufgenommen. Es zeigt Enceladus und seine geologisch aktive Tigerstreifenregion am Südpol, hier rot markiert. Das Bild b) zeigt ein Wärmebild der Tigerstreifenregion aufgenommen im März 2008 und eine Ausschnittvergrößerung, aufgenommen am 21.11.2009 durch das Infrarotspektrometer von Cassini. Das letztere wurde in einem Abstand von etwa 2000 km aufgenommen. Es zeigt tiefe Risse, aus denen die Wasserfontänen aufsteigen. Die gemessenen Temperaturen reichen bis zu 190 K. Bildquelle: NASA <http://saturn.jpl.nasa.gov/index.cfm>.

*Ionization Detector* (IID) aus Gold und die hier wichtigste Komponente, da für die Massenspektrenenerzeugung essentiell, der *Chemical Analyzer* (CA) aus Rhodium. Das EG dient als Ladungsdetektor und steuert gleichzeitig die Schaltung der Hochspannungsversorgung für den Massenspektrometerteil der Apparatur, den CA. Um Strom zu sparen, wird die Hochspannung nur bei Partikeleintritt geschaltet. Partikelauflschläge mit hohen Einschlagsgeschwindigkeiten auf den IID und CA erzeugen ein Einschlagsplasma. Es entstehen Partikel- und Targetfragmente, neutrale Atome, Ionen und Elektronen. Über ein elektrisches Feld werden Elektronen (gesammelt durch das Target) und Ionen (gesammelt durch das Ionengitter QI) getrennt und alle auftretenden Ladungsänderungen verstärkt und detektiert.

Auswertbare Massenspektren können nur erzeugt werden, wenn Staubpartikel auf dem *Chemical Analyzer Target* (CAT) einschlagen. An diesem liegt ein Poten-

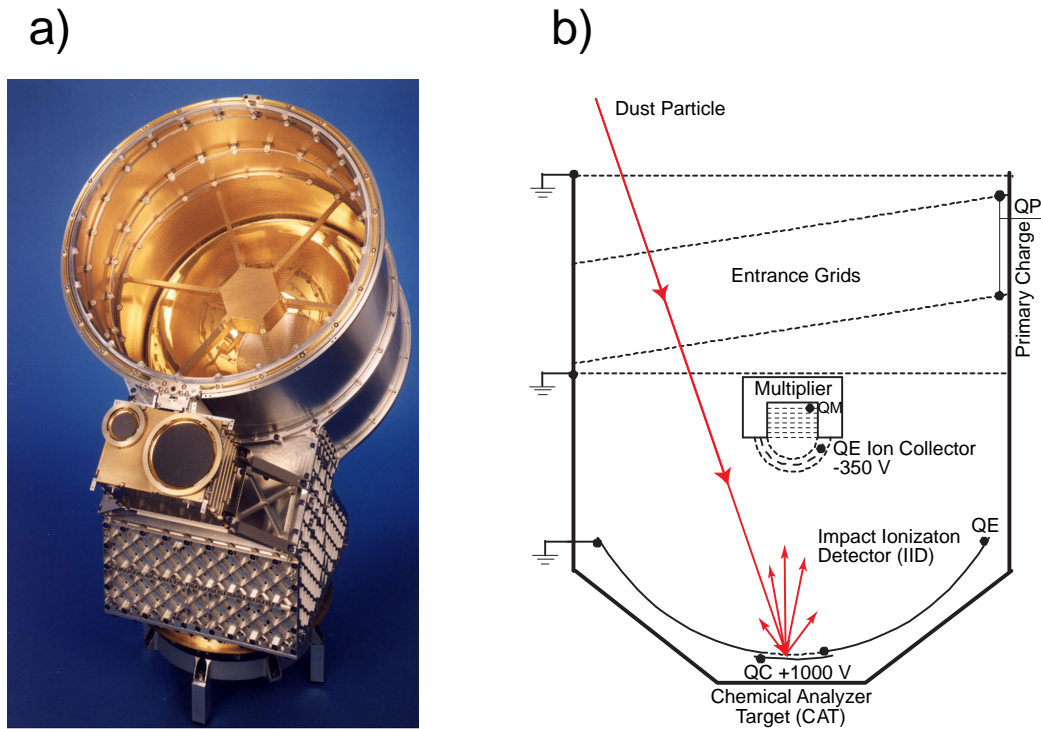
tial von +1 kV an, welches positive Ionen durch ein geerdetes Gitter in Richtung Ionengitter (−0.35 kV) und Multiplier beschleunigt. Die Runde Form des  $\sim 16$  cm im Durchmesser großen CAT begünstigt die Fokussierung in Richtung Multiplier. Die Flugstrecke dieses *Time-of-Flight*-Spektrometers beträgt 230 mm und die resultierende Massenaufösung ( $m/\Delta m$ ) liegt bei 20 – 50 für einen detektierbaren Massenbereich bis etwa 120 Da. Mit diesem Detektor können Partikel mit Massen von  $1 \times 10^{-12} - 5 \times 10^{-18}$  kg und Geschwindigkeiten von 1 – 100 km/s detektiert werden [91].

### 1.3 Simulation der Cassini-Spektren mittels IR-FLMALDI

Um die durch Cassini übermittelten Massenspektren im Labor zu simulieren, wurden Messungen mittels laserinduzierter Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie (IR-FLMALDI) durchgeführt. Diese Methode ist im Abschnitt 1.2 von Teil I genauer beschrieben. Bei der IR-FLMALDI wird mittels IR-Laser ein Wasserstrahl, der Analytione enthält dispergiert, und die Ionen desorbiert. Beim Aufschlag von Eispartikeln auf den Detektor der Cassini-Sonde werden ebenfalls Ionen desorbiert. Bei kleinen Einschlagsenergien, also geringer Geschwindigkeit der Eispartikel, erfolgt dabei keine Ionisation bzw. es tritt kein Plasma auf. Die Massenspektren der Cassini-Sonde können mit zwei unterschiedlichen Verfahren nachgebildet werden. Zum einen kann der Einschlag von Partikeln auf den Detektor im Labor des Max-Planck-Instituts für Kernphysik in Heidelberg<sup>3</sup> direkt durchgeführt werden. Dieser Detektor ist eine exakte Kopie des Detektors der Cassini-Sonde und wird zu Kalibrierungszwecken benutzt. Die Teilchenbeschleunigung erfolgt über einen Van-de-Graaf-Generator, der Partikel elektrostatisch auflädt und je nach ihrer Masse auf bis zu 50 km/s beschleunigt [92]. Der größte Nachteil dieses Aufbaus ist allerdings, dass sich Wassereispartikel nicht ausreichend beschleunigen lassen, da ihre Leitfähigkeit nicht groß genug ist. Ebenso gilt dies für organische Partikel oder Silikate.

---

<sup>3</sup>Internetseite der Heidelberg Dust Accelerator Group <http://www.mpi-hd.mpg.de/dustgroup/laboratory/overview.html>.



**Abbildung 1.4:** Bild und Funktionsweise des *Cosmic Dust Analyzer* (CDA). Ein Foto des CDA ist links in a) abgebildet. In Abb. b) sind die Einzelkomponenten des CDA erläutert. Ein auswertbares Massenspektrum wird nur erzeugt, wenn ein Staubpartikel mit ausreichender Größe und Geschwindigkeit auf die Rhodiumplatte, das sogenannte *Chemical Analyzer Target* (CAT) aufschlägt und die erzeugten Ionen mittels Multiplier detektiert werden. Die Bilder sind bezogen bzw. adaptiert von der Heidelberg Cosmic Dust Research Group [http://www.mpi-hd.mpg.de/dustgroup/cassini/images\\_cda.html](http://www.mpi-hd.mpg.de/dustgroup/cassini/images_cda.html).

Zwar ist es möglich die Oberfläche über ein chemisches Beschichtungsverfahren leitfähig zu machen, nur funktioniert dies nicht für Eispartikel [93].

Daher wurde zur Nachbildung der Cassini-Spektren die IR-FLMALDI ausgewählt. Dabei spielt es im Prinzip keine Rolle, ob das Wasser flüssig oder gefroren ist, da beim Einschlag von Eispartikeln auf den Detektor diese schmelzen bzw. verdampfen. Ebenfalls werden bei der Desorption aus flüssigem Wasser und Eis gleiche Ergebnisse erzielt (siehe auch Abb. 3.15 in Teil I). Allerdings ist der Wasserstrahl im Vakuum wesentlich besser handhabbar als eine Eisoberfläche und hat weiterhin den Vorteil, dass sich die Wasserstrahloberfläche konstant erneuert. Zudem wird bei der IR-FLMALDI ein TOF-MS mit hoher Massenaufösung eingesetzt. Dies erleichtert die Identifikation von Clusterspezies im Spektrum enorm. Die Massenspektren der Cassini-Sonde und der durch IR-FLMALDI erzeugten unterscheiden sich nur in ihrer Auflösung. Daher wird vermutet, dass der zugrundeliegende Ladungsmechanismus in beiden Fällen, Desorption durch Partikeleinschlag und Wasserstrahldesorption, auf das Prinzip der Ladungserzeugung durch schnelle Ladungstrennung zurückzuführen ist. Dieser Mechanismus der Ladungserzeugung wurde bereits in Abschnitt 1.2.2 des Teils I besprochen. Bei hohen Einschlagsenergien der Partikel tritt die Bildung von Plasma auf, und die resultierenden Massenspektren unterscheiden sich stark von denen ohne Plasmabildung. Auch diese Spektren können mittels FLMALDI nachgebildet werden, wenn die Laserintensität hoch genug ist, um Plasma zu zünden. Dabei spielt es für die Spektren prinzipiell keine Rolle welche Laserwellenlänge zum Einsatz kommt, da alle Spektren, bei denen Plasma erzeugt wird, ähnlich aussehen. Diese zeichnen sich durch vollständige Fragmentierung von organischen Analyten sowie der Matrix aus und zeigen nur geringe bis keine Clusterbildung.

## 1.4 Vergleich der Desorptionsarten von IR-FLMALDI und Einschlagsdesorption

Bislang wurde angenommen, dass der Partikeldetektor der Cassini-Raumsonde nur funktioniert, wenn die einschlagenden Partikel schnell genug sind, um bei der Kollision auf den Detektor ein Plasma zu erzeugen, also die Partikel ionisiert wer-



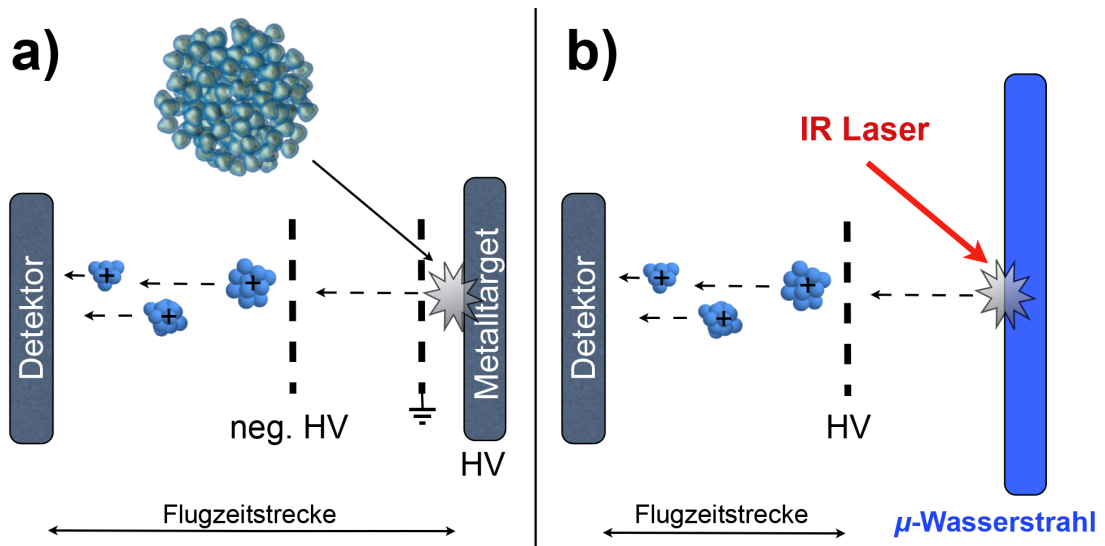
den. Allerdings zeigen neue Messungen der Raumsonde, dass auch Massenspektren von Eispartikeln mit kleinen kinetischen Einschlagsenergien detektiert werden können [83]. Weiterhin zeigen diese Massenspektren Signale von Natriumwasserclustern, wie sie bei der IR-FLMALDI, also bei kleinen Desorptionsenergien, auftreten [65, 94]. Dabei ist schon lange bekannt, dass beim Aufschlag von neutralen Wasserclustern auf eine Oberfläche geladene Fragmente erzeugt werden [71–73]. Selbst im makroskopischen Maßstab können dadurch geladene Fragmente erzeugt werden [95]. Die kinetischen Energien der Einschlagsgeschwindigkeiten liegen dabei weit unter der Ionisierungsenergie der Cluster.

Je nach Geschwindigkeit der einschlagenden Partikel, kann zwischen harten und sanften Aufschlägen unterschieden werden, d.h. zwischen Einschlägen mit hohen und niedrigen kinetischen Energien. Bei harten Aufschlägen werden die Partikel ionisiert und Plasma erzeugt, bei sanften führt die schnelle Dispersion zu einer Ladungserzeugung durch Ladungstrennung. Demnach ist es hoch wahrscheinlich, dass die Ladungserzeugung beim Einschlag mit niedrigen Geschwindigkeiten auch nach dem Mechanismus der schnellen Ladungstrennung verläuft, wie sie im Abschnitt 1.2.2 von Teil I beschrieben ist.

Um dies weiter zu untersuchen, wurden in dieser Arbeit Laserdesorptionsmessungen mit unterschiedlichen Laserintensitäten und Laserwellenlängen durchgeführt, um die im Weltall aufgenommenen Massenspektren qualitativ und quantitativ nachzubilden und zu zeigen, wie ähnlich sich Einschlagsdesorption und Laserdesorption sind.

In Abb. 1.5 werden Einschlagsdesorption und Flüssigstrahldesorption bildlich verglichen. Die Einschlagsdesorption, wie sie beim Partikeldetektor und sanften Partikelauflägen vorkommt, ist in Abb. 1.5 a) dargestellt. In Abb. 1.5 b) ist die Flüssigstrahldesorption, durchgeführt mit vergleichbaren Desorptionsenergien, abgebildet. In Abb. a) treffen sehr schnelle Eispartikel auf das Metalltarget des CDA und werden fragmentiert. Die geladenen Fragmente werden per Hochspannungspotential (HV) in Richtung Detektor beschleunigt und nach einer bestimmten Flugzeit detektiert (*Time-of-Flight-MS*). Die Flüssigstrahldesorption in Abb. b) zeigt die Dispersion eines Mikroflüssigkeitsstrahls im Vakuum. Die erzeugten, geladenen Fragmente werden mittels Flugzeitmassenspektrometer analysiert. Natürlich werden bei der Ladungserzeugung über schnelle Ladungstrennung positiv sowie nega-

tiv geladene Ionen generiert. Im Falle des CDA werden negativ geladene Teilchen aber aussortiert, weshalb die Labormessungen im positiven Modus des Massenspektrometers durchgeführt wurden.



**Abbildung 1.5:** Vergleich von Einschlagsdesorption a), wie sie beim Partikeldetektor und sanften Einschlägen vorkommt, und Flüssigstrahldesorption b), durchgeführt mit vergleichbaren Desorptionsenergien. In a) treffen sehr schnelle Eiskristalle auf das Metalltarget des CDA und werden dispergiert. Die geladenen Fragmente werden per Hochspannungspotential (HV) in Richtung Detektor beschleunigt und nach einer bestimmten Flugzeit detektiert (*Time-of-Flight*-MS). Die Flüssigstrahldesorption in b) zeigt die Dispersion eines Mikroflüssigkeitsstrahls im Vakuum. Die erzeugten, geladenen Teilchen werden mittels Flugzeitmassenspektrometer analysiert. Natürlich werden bei der Ladungserzeugung über schnelle Ladungstrennung positiv sowie negativ geladene Ionen generiert. Im Falle des CDA werden negativ geladene Teilchen aber aussortiert, weshalb die Labormessungen im positiven Modus des Massenspektrometers durchgeführt wurden.

# Kapitel 2

## Experimentelles

Die Messungen der Salzlösungen wurden mit der Methode der Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie durchgeführt. Deren experimentelle Grundlagen wurden bereits im Teil I in Kapitel 2 beschrieben.

### 2.1 IR-Laser-System ( $\lambda = 1064 \text{ nm}$ )

Für die Messungen bei einer Laserwellenlänge von 1064 nm wurde ein ähnlicher Aufbau wie für die Messungen bei  $\lambda = 2850 \text{ nm}$  verwendet. Es wurde die Fundamentale des beschriebenen Nd:YAG-Lasers benutzt. Dafür wurde der OPO aus dem Strahlengang entfernt und der halbdurchlässige Spiegel durch einen Goldspiegel ersetzt. Die Laserintensität wurde über die Blitzlampenspannungsversorgung auf etwa  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  eingestellt.

### 2.2 Intensitätsabhängige Messungen

Bei den Desorptionsmessungen für unterschiedliche Laserintensitäten wurden die Intensitäten über die Größe des Laserfokus eingestellt und berechnet. Der Laserfokus wurde über das Verfahren der bewegten Messerschneide (*knife-edge method*) ausgemessen.

## 2.3 Probenvorbereitung

### 2.3.1 Eingesetzte Chemikalien und Materialien

Natriumchlorid, Kaliumchlorid und Natriumhydrogencarbonat wurden von Merck, Lithiumchlorid, Rubidiumchlorid und Cäsiumchlorid wurden von Sigma-Aldrich bezogen.

Das verwendete Wasser wurde doppelt destilliert ( $ddH_2O$ ) und mittels Millipore Milli-Q Wasserreinigungssystem gereinigt.

### 2.3.2 Ansatz der Probelösungen

Alle Reagenzien wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt. Als Lösungsmittel kam bidestilliertes, gereinigtes Wasser zum Einsatz. Alle Lösungen wurden vor ihrem Einsatz frisch angesetzt. Alle folgenden Konzentrationen sind in  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (M) angegeben. Für die Konzentrationsreihen wurde zunächst die Lösung der höchsten Konzentration ( $10^{-1}$  M) angesetzt und daraus durch sukzessive Verdünnung die niedriger konzentrierten Lösungen hergestellt. Gemessen wurden die Lösungen dann aufsteigend von der niedrigsten zur höchsten Konzentration.

## 2.4 Datenaufnahme

Das Massenspektrometer der Cassini-Sonde besitzt keine verzögerte Extraktion. Der Startpunkt der Flugzeitmessung wird auf den Auftritt eines Einschlagsereignisses gelegt. Zum einen ergeben sich dadurch sehr breite Massenlinien, d.h. die Auflösung ist gering. Zum anderen erfolgt die Datenaufnahme gemittelt über die gesamte Verteilung des erzeugten Ionen-*plumes*. In unserem Fall werden Ionen nach einer eingestellten Verzögerungszeit nicht mehr detektiert, da sie vom Feld der Repeller-Blende abgeblockt werden. Es wird im Prinzip ein Ausschnitt aus dem ankommenden Ionenstrom erzeugt und detektiert. Um diesen Ausschnittseffekt zum umgehen, aber gleichzeitig nicht die hohe Auflösung zu verlieren, wurden Massenspektren für bestimmte Verzögerungszeiten in einem Intervall gemittelt. Dabei lagen die Verzögerungszeiten im Zeitintervall, in welchem Ionen detektiert

wurden. Das Verzögerungszeitintervall lag im Allgemeinen bei  $12 - 29 \mu\text{s}$ . Im Abstand von  $1 \mu\text{s}$  wurden Massenspektren für dieses Verzögerungszeitintervall aufgenommen und summiert.



# Kapitel 3

## Ergebnisse und Diskussion

Da die Eispartikel des E-Ringes aus dem Saturn-Mond Enceladus herausgeschossen werden, liefert die chemische Zusammensetzung der Partikel Aufschluss über das Innere des Mondes, insbesondere, ob es unterhalb der Eiskruste ein Reservoir an flüssigem Wasser gibt (siehe Abschnitt 1.1). Die mit dem *Comic Dust Analyzer* an Bord der Cassini-Sonde aufgenommenen Massenspektren der E-Ring-Partikel bieten demnach direkten Einblick in das Innenleben des Enceladus.

Von der Raumsonde Cassini konnten im Zeitraum von Oktober 2004 bis Dezember 2005 mehrere tausend Massenspektren aufgenommen werden. Diese mit Hilfe des CDA aufgenommen Massenspektren lassen sich zunächst in Spektren von Eispartikeln mit niedrigen und hohen Einschlagsenergien kategorisieren. Dabei erfolgt die Ladungserzeugung bei kleinen Energien nach dem Prinzip der schnellen Ladungstrennung (Einschlagsgeschwindigkeiten von  $\sim 5$  km/s). Bei hohen Energien wird ein Einschlagsplasma erzeugt (Einschlagsgeschwindigkeiten von  $\sim 15$  km/s). Der Übergang zwischen diesen Desorptionsbedingungen ist fließend. Dabei ist das Augenmerk vor allem auf die Spektren mit kleinen Einschlagsenergien gerichtet, da anhand der detektierten Salzcluster Rückschlüsse auf die zugrundeliegenden quantitativen Zusammensetzungen der Eispartikel gezogen werden können. Da der Mechanismus der Ladungserzeugung bei kleinen Einschlagsenergien auf demselben Prinzip beruht, wie bei der FL-IR-MALDI, nämlich der schnellen Ladungstrennung, wurden im Labor Spektren unterschiedlicher Salzkonzentrationen aufgenommen und durch Vergleich der Cassini-Spektren und Laborspektren auf die zugrundeliegenden Salzkonzentrationen in den E-Ring-Partikeln geschlossen (siehe Abschnitt 1.2.2 und 1.4). Zusätzlich erleichtern die im Vergleich zu den Cassini-

Spektren hochaufgelösten Laborspektren eine Zuordnung der auftretenden Massenlinien zu etwaigen Clustern erheblich.

## 3.1 Einschläge von Partikeln mit niedrigen kinetischen Energien

### 3.1.1 Partikel mit niedrigen Salzkonzentrationen

Wie beschrieben konnten durch die Raumsonde Massenspektren für Eispartikel mit niedrigen Einschlagsenergien aufgenommen werden. Dabei wurde das Auftreten von natriumarmen Clustern zunächst auf eine Verunreinigung des Detektors zurückgeführt [96]. Diese Annahme konnte allerdings durch neue Untersuchungen widerlegt werden [97]. Denn Partikelspektren außerhalb des E-Rings weisen viel kleinere Häufigkeiten von  $\text{Na}^+$ -Linien auf, als Spektren der natriumarmen E-Ring-Partikel. Weiterhin können die Spektren mit sehr hohen Salzkonzentrationen nicht über eine Detektorkontamination erklärt werden.

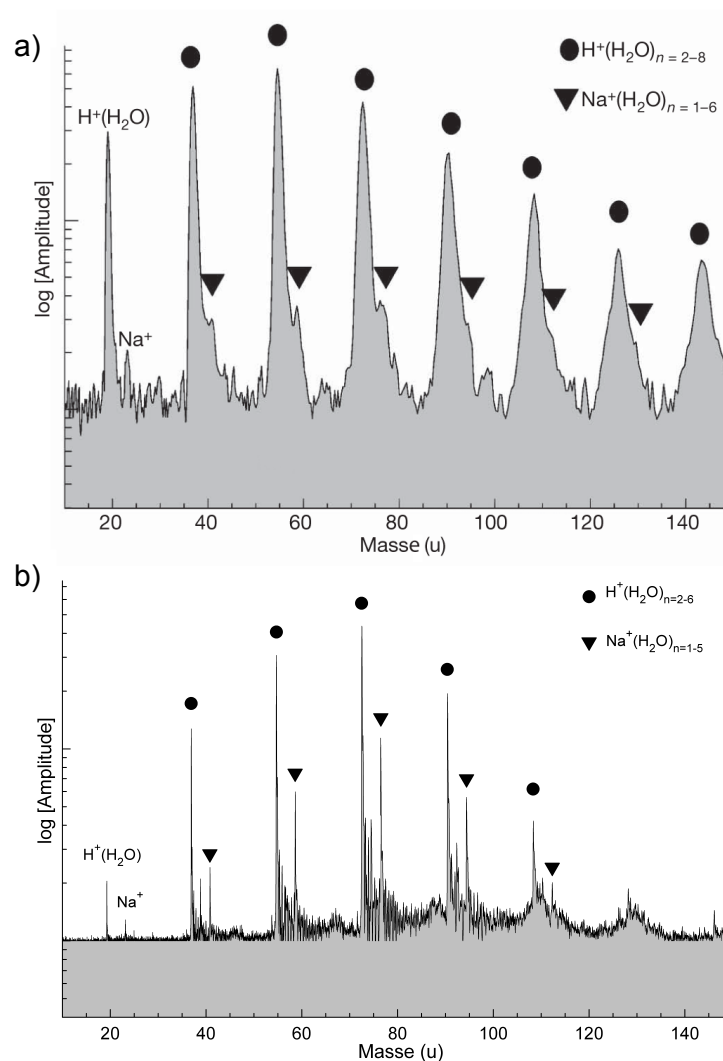
Die Abbildung 3.1 a) zeigt das summierte Cassini-Spektrum für Partikel mit niedrigen Salzkonzentrationen. Die überwiegend auftretenden Wassercluster haben die Form  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$  mit  $n = 2 - 8$ . Außerdem sind Linien von  $\text{Na}^+$  und Natriumhydrat-Ionen der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$  mit  $n = 1 - 6$  vorhanden. Da die Sensitivität des Detektors mehrere hundertmal höher für Natrium ist als für Wasser, heißt dies, dass die Eispartikel  $\text{Na}^+$  nur in Spuren enthalten. Im Vergleich dazu zeigt Abb. 3.1 b) das entsprechende Laborspektrum einer wässrigen Salzlösung mit einer  $\text{NaCl}$ -Konzentration von  $10^{-6}$  M, aufgenommen mittels FL-IR-MALDI-Technik. Es zeigt dieselben Cluster-Charakteristika, wie das Spektrum der natriumarmen E-Ring-Eispartikel. Auch hier überwiegen die Wassercluster im Spektrum ( $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ ,  $n = 2 - 6$ ).  $\text{Na}^+$  und seine Hydrate ( $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$ ,  $n = 1 - 5$ ) treten ebenfalls auf.



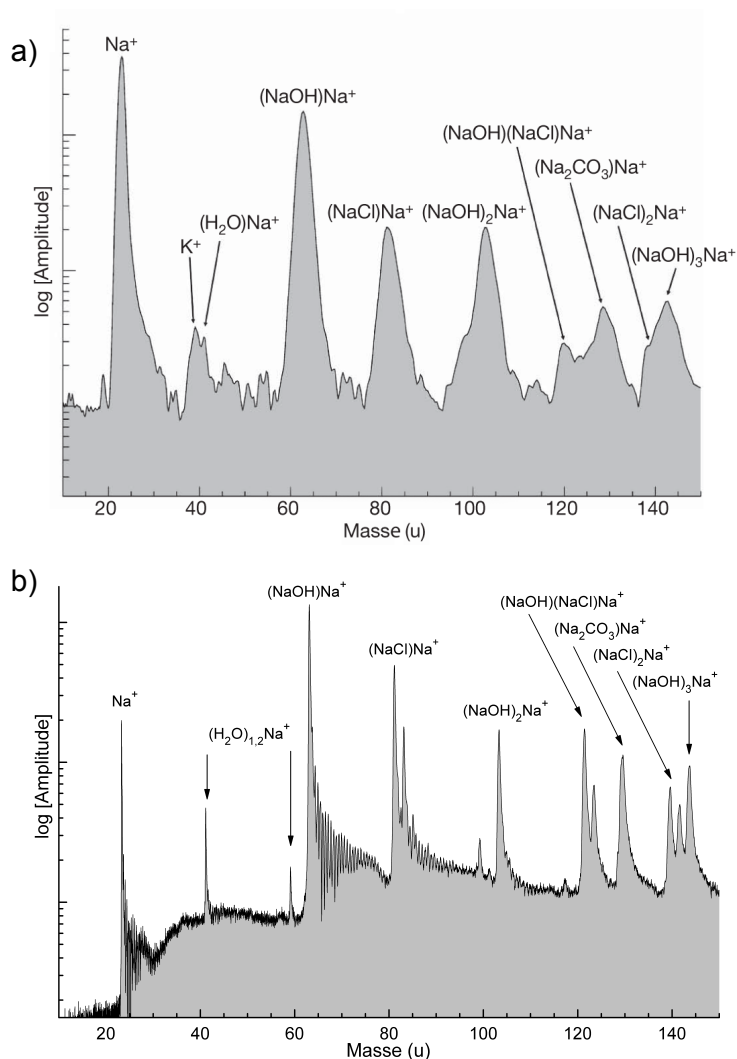
### 3.1.2 Partikel mit hohen Salzkonzentrationen

Besonders hervorzuheben sind die natriumreichen Massenspektren der Cassini-Sonde. In der Abbildung 3.2 a) ist das CDA-Spektrum von salzreichen Eispartikeln dargestellt. Es zeigt die charakteristischen, stark ausgeprägten Linien von  $\text{Na}^+$  und Hydroxyl-Cluster-Ionen  $((\text{NaOH})_n\text{Na}^+)$ . Solche Cluster treten erst ab einem  $\text{Na}/\text{H}_2\text{O}$ -Verhältnis von  $10^{-3}$  auf [65]. Auch ein kleiner Anteil von  $\text{K}^+$  ist vorhanden. Besonders schwierig bereitete sich die Zuordnung der Mischcluster, in denen  $\text{NaOH}$  und  $\text{NaCl}$  vorliegen, da das CDA-Spektrum nur eine geringe Auflösung bietet ( $m/\Delta m$ ). Auch das Carbonatsignal  $(\text{Na}_2\text{CO}_3)\text{Na}^+$  konnte erst eindeutig über die Labormessungen zugeordnet werden. Die Abb. 3.2 b) zeigt das entsprechende Laborspektrum für eine wässrige Lösung von 0.2 M  $\text{NaCl}$  und 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$ , mit  $\text{pH} = 9$ . Es zeigt alle charakteristischen Linien, die im Spektrum der Eispartikel vorkommen. Neben  $\text{Na}^+$  treten insbesondere Cluster der Form  $(\text{NaOH})_n\text{Na}^+$ ,  $(\text{NaCl})_n\text{Na}^+$  sowie  $(\text{NaHCO}_3)_n\text{Na}^+$  auf. Durch die höhere Auflösung lässt sich das Isotopenmuster von Chlor erkennen ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl} = 3:1$ ). Die nicht beschrifteten Linien geringer Intensität gehören zu Hydraten der angegebenen Cluster, wie z.B. bei  $m/z$  99, mit Clustern der Art  $(\text{NaOH})(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$  bzw.  $(\text{NaCl})(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$ .

Diese hohen Salzkonzentrationen können nach Zolotov nur erklärt werden, wenn unter der Eiskruste des Enceladus ein flüssiger Ozean existiert, der mit dessen Gesteinskern in Verbindung steht [86]. Somit kann mit hoher Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass der auch jetzt noch flüssige Ozean überwiegend aus alkalischer  $\text{NaCl}$ -Lösung besteht,  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen beinhaltet und einen  $\text{pH}$ -Wert von 8 – 11 aufweist. Während neueren Vorbeifügen an Enceladus konnten auch Ammoniak,  $\text{H}_2\text{S}$  und organische Moleküle detektiert werden [84]. Besonders das Vorkommen von Ammoniak unterstützt die These des flüssigen Ozeans, da Salze und zusätzlich Ammoniak im Wasser als Gefrierschutz dienen und bis zu einer Temperatur von 176 K das Gefrieren verhindern. Die relativ hohen Temperaturen, das Vorkommen von organischen Molekülen und flüssigem Wasser sprechen für die Möglichkeit von extraterrestrischem Leben in Form von Mikroorganismen auf bzw. innerhalb Enceladus. Denn auch auf der Erde sind isolierte, anaerobe, chemoautotrophe, mikrobielle Ökosysteme bekannt, die unter extremen Bedingungen leben können [90].



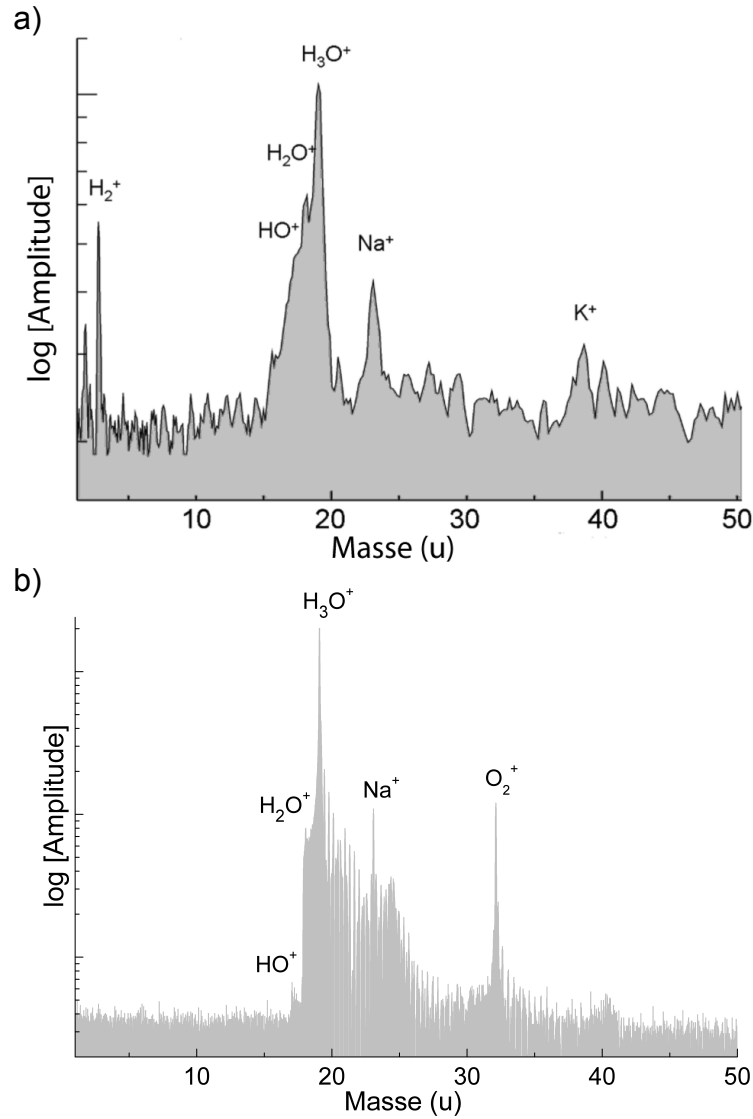
**Abbildung 3.1:** Vergleich von CDA-Spektren mit Labor-Spektren für niedrige Salzkonzentrationen. Abb. a) zeigt das Spektrum von natriumarmen Eispertikeln, aufgenommen vom *Cosmic Dust Analyzer*. Es treten überwiegend Wassercluster der Form  $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_n$  mit  $n = 2 - 8$  auf. Außerdem sind Linien von  $\text{Na}^+$  und Natriumhydrat-Ionen der Form  $\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_n$  mit  $n = 1 - 6$  vorhanden. Da die Sensitivität des Detektors mehrere hundertmal höher für Natrium ist als für Wasser, heißt dies, dass die Eispertikel Natrium nur in Spuren enthalten. Die Abb. b) zeigt das Laborspektrum einer wässrigen Salzlösung, aufgenommen mittels FL-IR-MALDI-Technik, für eine  $\text{NaCl}$ -Konzentration von  $10^{-6}$  M (Verhältnis  $\text{Na}/\text{H}_2\text{O} \approx 2 \times 10^{-8}$ ). Es zeigt dieselben Cluster-Charakteristika, wie das Spektrum der natriumarmen E-Ring-Eispertikel. Auch hier überwiegen die Wassercluster im Spektrum ( $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ ,  $n = 2 - 6$ ) aber auch  $\text{Na}^+$  und seine Hydrate ( $(\text{H}_2\text{O})_n\text{Na}^+$ ,  $n = 1 - 5$ ) treten auf. Das Spektrum in Abb. a) wurde adaptiert von Postberg *et al.* [83].



**Abbildung 3.2:** Vergleich von CDA-Spektren mit Labor-Spektren für hohe Salzkonzentrationen. Abbildung a) zeigt das CDA-Spektrum von natriumreichen Eispartikeln. Es zeigt die charakteristischen, stark ausgeprägten Linien von Na<sup>+</sup> und Hydroxyl-Cluster-Ionen ((NaOH)<sub>n</sub>Na<sup>+</sup>). Solche Cluster treten erst ab einem Na/H<sub>2</sub>O-Verhältnis von 10<sup>-3</sup> auf [65]. Auch ein kleiner Anteil von K<sup>+</sup> ist vorhanden. Die Abb. b) zeigt das entsprechende Laborspektrum für eine wässrige Lösung von 0.2 M NaCl und 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> (Verhältnis Na/H<sub>2</sub>O ≈ 5 × 10<sup>-3</sup>, pH = 9). Es zeigt alle charakteristischen Linien, wie sie im Spektrum der Eispartikel vorkommen. Neben Na<sup>+</sup> treten insbesondere Cluster der Form (NaOH)<sub>n</sub>Na<sup>+</sup>, (NaCl)<sub>n</sub>Na<sup>+</sup> sowie (NaHCO<sub>3</sub>)<sub>n</sub>Na<sup>+</sup> auf. Durch die höhere Auflösung lässt sich das Isotopenmuster von Chlor erkennen (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl = 3). Die nicht beschrifteten Linien geringer Intensität gehören zu Hydraten der angegebenen Cluster, wie z.B. bei *m/z* 99, mit Clustern der Art (NaOH)(H<sub>2</sub>O)Na<sup>+</sup> bzw. (NaCl)(H<sub>2</sub>O)Na<sup>+</sup>. Das Spektrum in Abb. a) wurde adaptiert von Postberg *et al.* [83].

## 3.2 Einschläge von Partikeln mit hohen kinetischen Energien

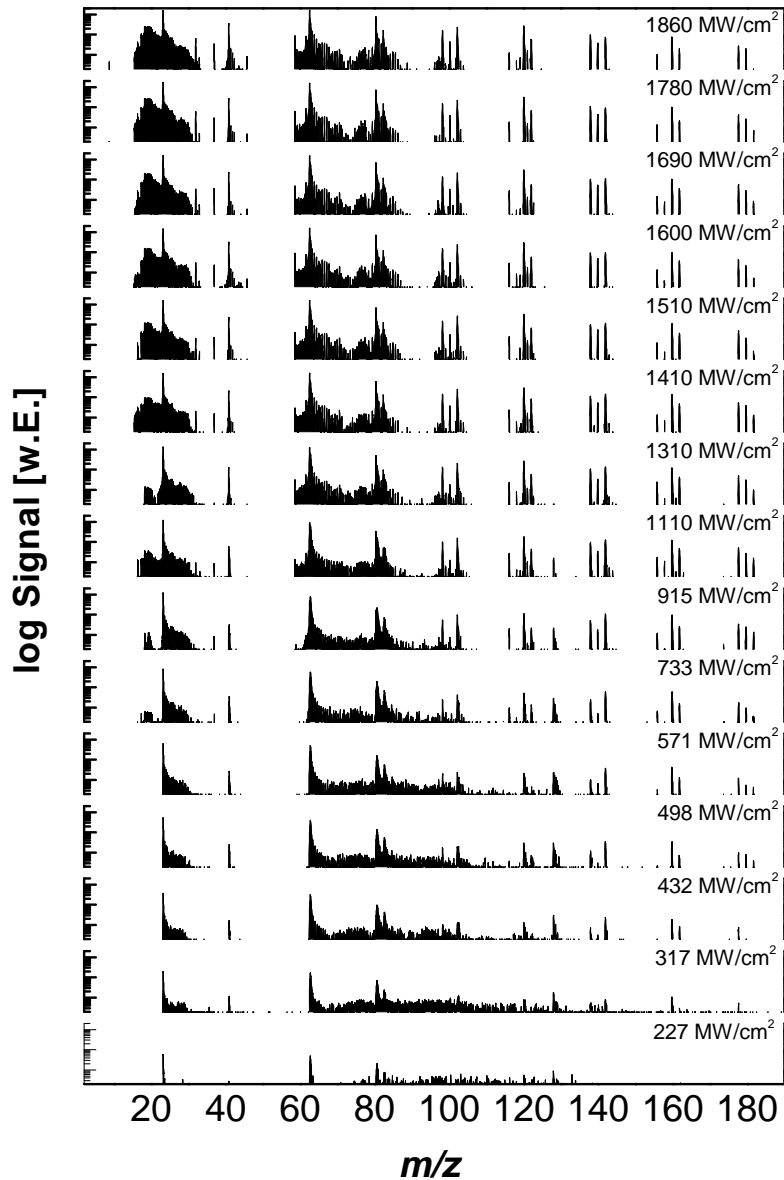
Für hohe kinetische Energien der Partikel wird beim Einschlag Plasma geformt und Moleküle, wie z.B. Wasser, vollständig fragmentiert. Um die CDA-Spektren bei hohen Einschlagsenergien im Labor nachzubilden, wurden hohe Laserintensitäten oder Laserquellen mit hohen Photonenenergien eingesetzt (siehe Abschnitt 3.2 in Teil I). Plasmadesorptionsspektren besitzen gleiche Charakteristika, dabei spielen Laserwellenlängen eine untergeordnete Rolle. Abb. 3.3 a) zeigt ein typisches CDA-Massenspektrum mit hohen kinetischen Einschlagsenergien. Das beim Einschlag gebildete Plasma fragmentiert auch Wasser. Im Vergleich dazu wurde in Abb. 3.3 b) ein Massenspektrum einer wässrigen NaCl-Lösung der Konzentration  $10^{-4}$  M mittels VUV-FLMALDI aufgenommen.



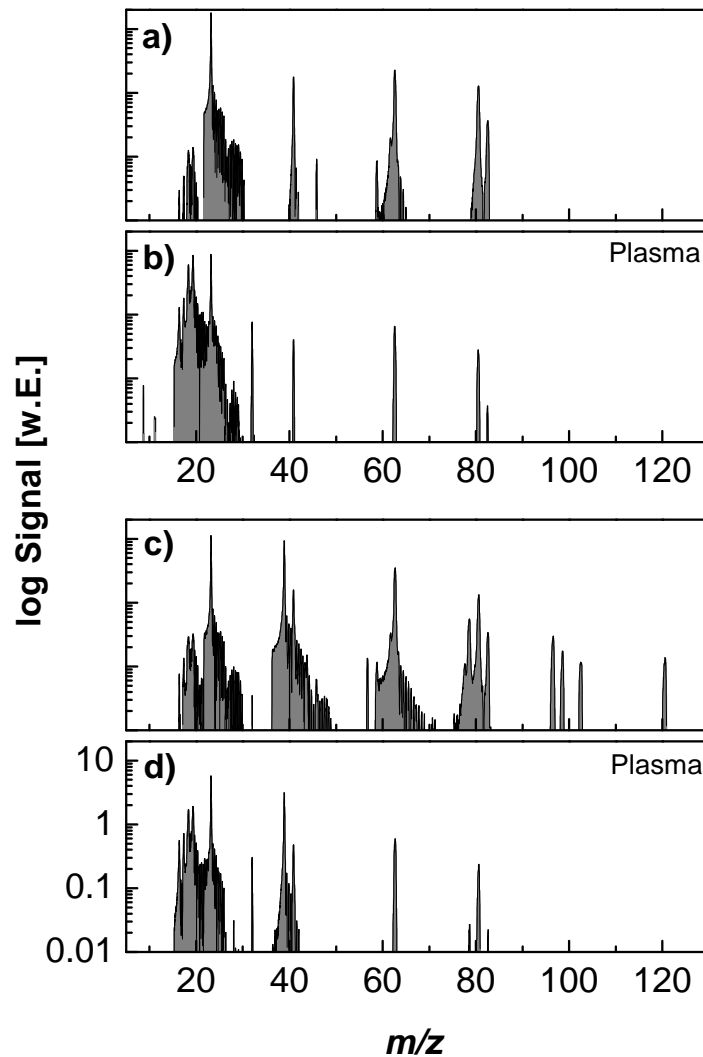
**Abbildung 3.3:** Vergleich von CDA-Spektren mit Labor-Spektren für hohe kinetische Partikelenergien. Abb. a) zeigt ein typisches CDA-Massenspektrum für hohe kinetische Einschlagsenergien. In Abb. b) ist ein Laborspektrum einer wässrigen NaCl-Lösung dargestellt, aufgenommen mittels VUV-FLMALDI. (CDA-Spektrum adaptiert aus Postberg *et al.* [74].)

### 3.3 Laborspektren für unterschiedliche Laserintensitäten

Da unterschiedliche Einschlaggeschwindigkeiten der Eispartikel auf den Detektor der Cassini-Sonde in unterschiedlichen Massenspektren resultieren, wurden im Labor laserintensitätsabhängige Massenspektren aufgenommen, um so, allein über Abgleich der Spektren, auf die zu Grunde liegenden Desorptionsenergien schließen zu können. Die Abb. 3.4 zeigt Massenspektren einer wässrigen Lösung von 0.2 M NaCl und 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> für Strahlungsintensitäten von etwa 200 – 1900 MW/cm<sup>2</sup>. Die niedrigste Intensität befindet sich am Desorptionslimit für diese Salzkonzentrationen und die höchste oberhalb der Plasmazündung. Ab etwa 300 MW/cm<sup>2</sup> sind bereits alle Cluster zu erkennen, die auch im Spektrum in der Abb. 3.2 vorkommen. Ab 1000 MW/cm<sup>2</sup> kommt es vereinzelt zur Plasmazündung, wie es anhand der zunehmenden Signalintensität von Wasserfragmenten im Bereich von  $m/z$  16 bis 19 erkennbar ist. Schließlich wird bei jedem Laserschuss Plasma gezündet, so dass ab 1800 MW/cm<sup>2</sup> auch O<sup>2+</sup>-Ionen detektiert werden. Oberhalb der Plasmaschwelle nehmen die Signalintensitäten der Cluster zusehends ab, wie durch Abb. 3.5 verdeutlicht. Es ist leicht zu erkennen, wie die Signalintensität der Salzcluster abnimmt, wenn Plasma gezündet wird. Diese Ergebnisse spiegeln die der VUV-Desorptionsmessungen in Abschnitt 3.2 im Teil I dieser Arbeit wider.



**Abbildung 3.4:** IR-FLMALDI-Massenspektrum von 0.2 M NaCl und 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>, gemessen bei unterschiedlichen Laserintensitäten. Die angegebenen Laserintensitäten sind berechnet. Die niedrigste Intensität befindet sich am Desorptionslimit für diese Salzkonzentration und die höchste oberhalb der Plasmazündung. Ab etwa 300 MW/cm<sup>2</sup> sind bereits alle entscheidenden Cluster im Spektrum zu erkennen. Ab 1000 MW/cm<sup>2</sup> kommt es vereinzelt zur Plasmazündung bis schließlich bei 1800 MW/cm<sup>2</sup> auch O<sup>2+</sup>-Ionen generiert werden. Oberhalb der Plasmaschwelle nehmen die Signalintensitäten der Cluster zusehends ab, siehe dazu auch Abb. 3.5. (Verzögerungszeit 13 μs, MCP 2.3 kV).



**Abbildung 3.5:** IR-FLMALDI-Massenspektren mit hohen Laserintensitäten kurz unter und über der Plasmaschwelle. Die Spektren von Abb. a) und b) sind von einer wässrigen Lösung aus 0.2 M NaCl und 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>. Das Spektrum in Abb. a) wurde mittels einer Laserintensität kurz unterhalb der Plasmazündung aufgenommen und das in b) bei einer Intensität, die für Plasmazündung ausreicht. Es ist leicht zu erkennen, wie die Signalintensität der Salzcluster abnimmt, wenn Plasma gezündet wird. Analog dazu sind die in Abb. c) und d) dargestellten Spektren einer wässrigen Lösung aus 0.2 M NaCl, 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> und 0.01 M KCl aufgenommen. Auch in Abb. d) nimmt die Signalintensität der Salzcluster bei Plasmazündung stark ab. Alle Spektren sind Summenspektren der Verzögerungszeiten 9 – 20  $\mu$ s (MCP 1.9 kV).



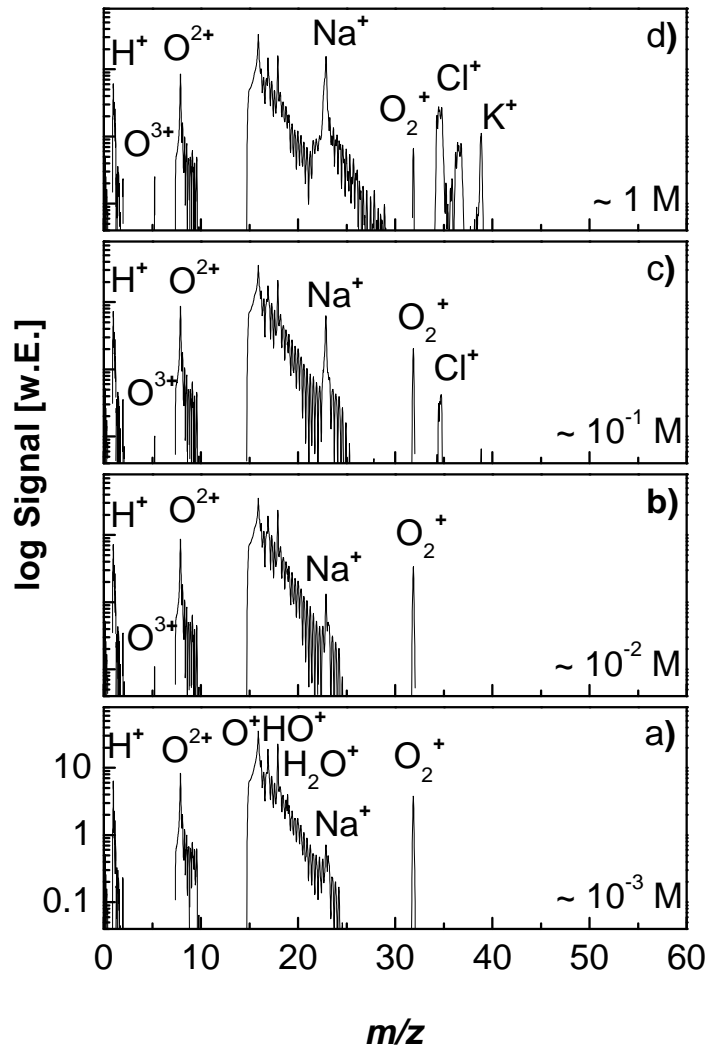
### 3.3.1 Laborspektren für sehr hohe Laserintensitäten

Mit dem OPO-Lasersystem konnten maximale Intensitäten von  $2 \times 10^9 \text{ W/cm}^2$  erreicht werden. Um Massenspektren für noch höhere Intensitäten zu erzeugen, wurde die Fundamentale des Nd:YAG-Lasers mit einer Wellenlänge von 1064 nm verwendet. So konnten Intensitäten von  $2 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  und höher erzeugt werden. Diese sind hoch genug, um auch in Luft Plasma zu zünden. Bei diesen hohen Intensitäten spielt die geringe Absorption von Wasser in diesem Wellenlängenbereich keine Rolle mehr. Durch den Laserbeschuss wird sofort sehr heißes Plasma erzeugt. Die Temperaturen befinden sich schätzungsweise im Bereich von 25000 K ( $\sim 2 \text{ eV}$ ) [22, 98]. Damit konnten auch mehrfach geladene Ionen und positiv geladene Chloridionen generiert werden [99].

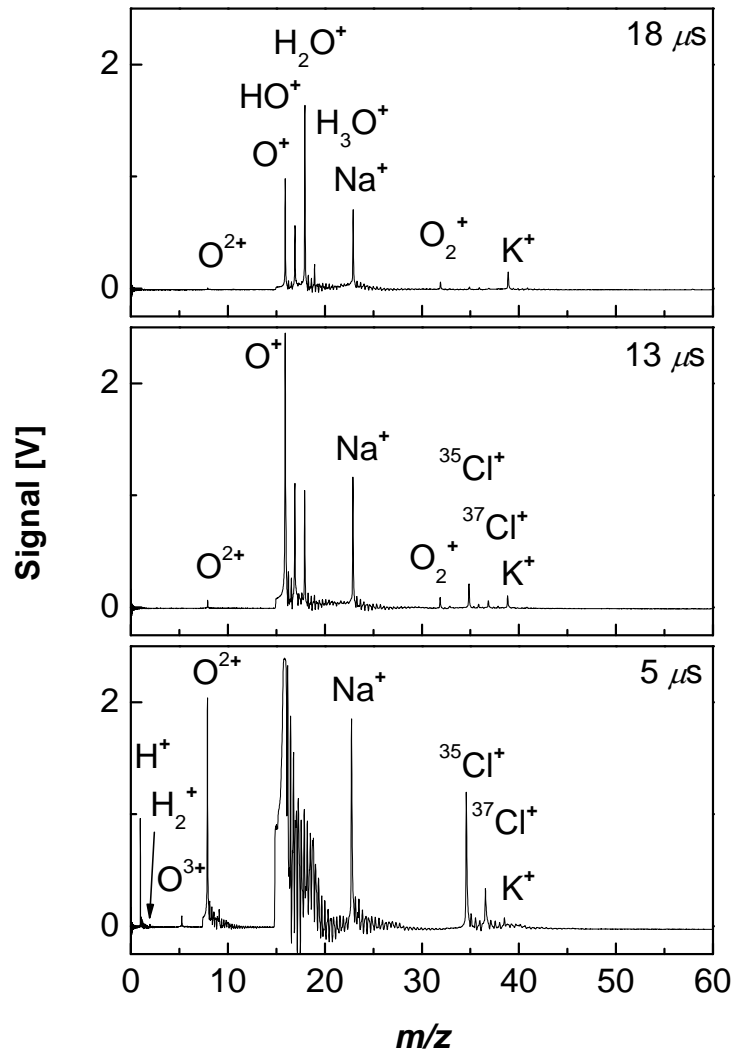
Die Abb. 3.6 zeigt Massenspektren wässriger Lösungen von NaCl und KCl in aufsteigenden Konzentrationen für eine Laserintensität von  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$ . Für kleine Salzkonzentrationen haben die Zersetzungsprodukte von Wasser die stärkste Signalintensität (Abb. a)). Selbst bei sehr hohen  $\text{Na}^+$ -Konzentrationen von 3 M dominieren diese Signale das Spektrum (Abb. b)). Die eingesetzte Laserintensität reicht aus, um  $\text{O}^{2+}$ - und sogar  $\text{O}^{3+}$ -Ionen zu erzeugen. Auch  $\text{Cl}^+$ -Ionen werden detektiert. Interessanterweise wird kein Signal für  $\text{H}_3\text{O}^+$  gefunden. Erzeugte  $\text{O}^{3+}$  und  $\text{O}^{2+}$  treten bevorzugt bei hohen Salzkonzentrationen auf und ihre Signalintensität nimmt mit steigender Salzkonzentration zu. Wie bereits in Abschnitt 3.6 im Teil I erklärt, wird die Intensitätsschwelle zur Plasmazündung durch gelöstes Salz herabgesetzt. Demnach kann mehr Laserenergie in das Plasma eingekoppelt werden, wodurch es heißer wird.

Die sehr heißen und schnellen Desorptionsfraktionen werden bevorzugt bei kurzen Verzögerungszeiten detektiert ( $5 \mu\text{s}$ ), wie Abb. 3.7 und Abb. 3.9 zeigen. Wie das entsprechende Spektrum in Abb. 3.7 zeigt, wird auch das Carbonation im Plasma zersetzt, so dass im Spektrum Kohlenstoffionen auftreten. Daher lässt sich allein anhand der Massenlinie von  $\text{C}^+$  nicht ableiten, dass organisches Material in der Probe vorliegt. Die Massenspektren von reinem Wasser in Abb. 3.9 zeigen, dass für Laserintensitäten oberhalb von  $3 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  und sehr kleinen Verzögerungszeiten von  $1 \mu\text{s}$  ausschließlich die Ionen  $\text{H}^+$ ,  $\text{O}^{3+}$ ,  $\text{O}^{2+}$  und  $\text{O}^+$  detektiert werden. Für große Verzögerungszeiten von  $20 \mu\text{s}$  können selbst bei den sehr großen Laserintensitäten noch intakte Wassercluster der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$  detektiert werden,

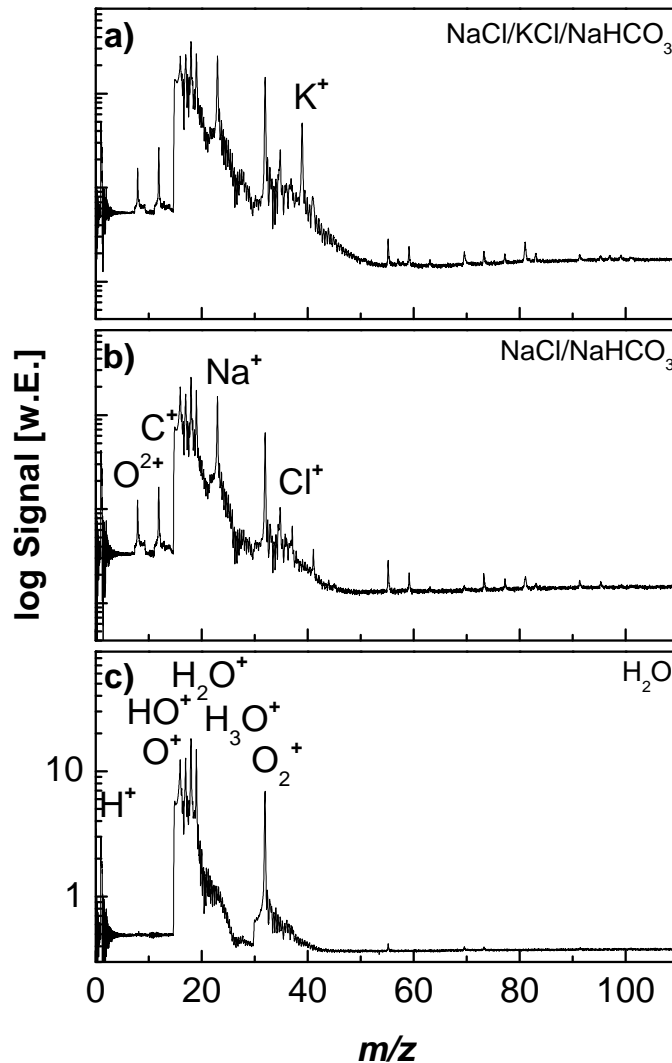
ähnlich wie bei den VUV-Desorptionsmessungen im Abschnitt 3.2 im Teil I der Arbeit.



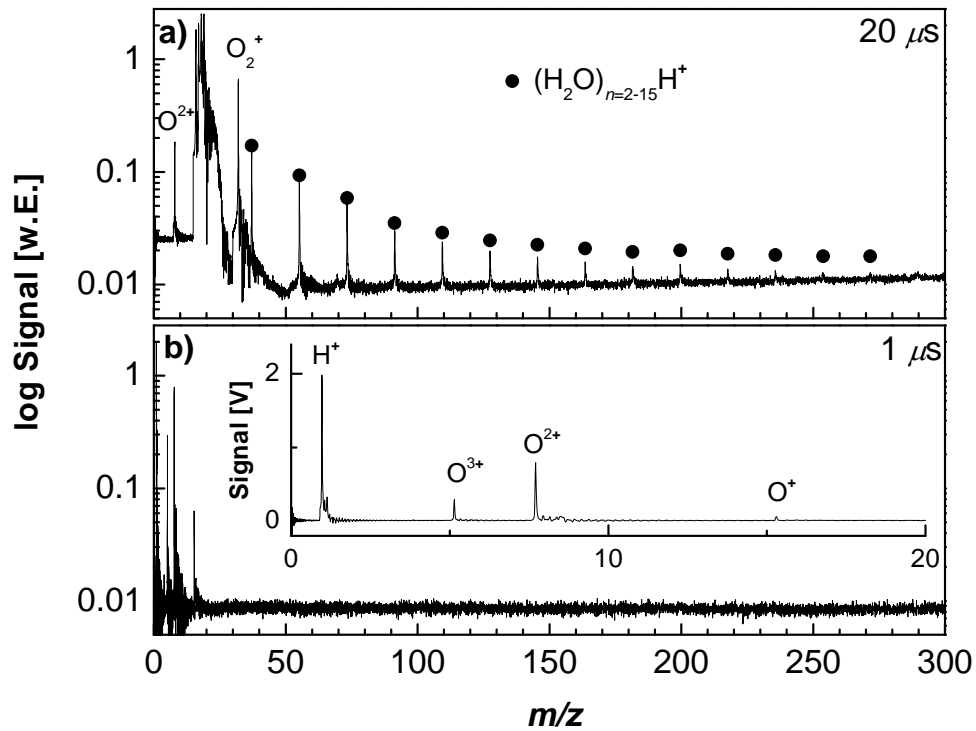
**Abbildung 3.6:** IR-1064-FLMALDI-Massenspektren wässriger Lösungen von NaCl/KCl in dekadischen Schritten aufsteigend von der Konzentration  $3 \times 10^{-3} \text{ M}/10^{-4} \text{ M}$  bis  $3 \text{ M}/10^{-1} \text{ M}$ , dargestellt in a) bis d). Aufgenommen mittels einer Laserwellenlänge von 1064 nm bei Intensitäten von  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  (Summenspektren der Verzögerungszeiten  $3 - 20 \mu\text{s}$ , MCP 1.6 kV). Die eingesetzte Laserintensität reicht aus, um sogar  $\text{O}^{2+}$ ,  $\text{O}^{3+}$  und  $\text{Cl}^+$ -Ionen zu erzeugen. Diese sehr heißen und schnellen Ionenfraktionen werden bevorzugt bei kurzen Verzögerungszeiten detektiert ( $5 \mu\text{s}$ ), wie Abb. 3.7 zeigt. Erzeugte  $\text{O}^{3+}$  und  $\text{O}^{2+}$  treten bevorzugt bei hohen Salzkonzentrationen auf und ihre Signalintensität nimmt mit steigender Salzkonzentration zu.



**Abbildung 3.7:** IR-1064-FLMALDI-Massenspektren einer wässrigen Lösung von 3 M NaCl und 0.1 M KCl aufgenommen mittels einer Laserwellenlänge von 1064 nm bei Intensitäten von  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  für verschiedene Verzögerungszeiten (MCP 1.6 kV). Die eingesetzte Laserintensität reicht aus, um sogar O<sup>2+</sup>, O<sup>3+</sup> und Cl<sup>+</sup>-Ionen zu erzeugen. Diese sehr heißen und schnellen Ionenfraktionen werden bevorzugt bei kurzen Verzögerungszeiten detektiert (5 μs). Das Signal der Ionen von m/z 16 bis 19 ist selbst bei geringer Detektorspannung so stark, dass es in Sättigung ist. Für späte Verzögerungszeiten treten neben den Zersetzungsprodukten von Wasser allmählich Wassercluster, wie das H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>-Ion, auf.



**Abbildung 3.8:** IR-1064-FLMALDI-Massenspektren von reinem Wasser, wässrigen Lösungen von NaCl/NaHCO<sub>3</sub> in der Konzentration 0.2 M/0.1 M und NaCl/KCl/NaHCO<sub>3</sub> in der Konzentration 0.2 M/0.01 M/0.1 M aufgenommen mittels einer Laserwellenlänge von 1064 nm bei Intensitäten von  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$ . Für hohe Salzkonzentrationen nimmt die Signalintensität der  $O^{2+}$ -Ionen zu. Auch das Carbonation wird im Plasma zersetzt, so dass im Spektrum Kohlenstoffionen auftreten. Daher lässt sich allein anhand der Massenlinie von  $C^+$  nicht ableiten, dass organisches Material in der Probe vorliegt. Weiterhin lassen sich bei höheren  $m/z$  Cluster erkennen, wie in Abb. 3.9 noch genauer gezeigt ist. (Summenspektren der Verzögerungszeiten 3 – 20  $\mu\text{s}$ , MCP 1.7 kV).



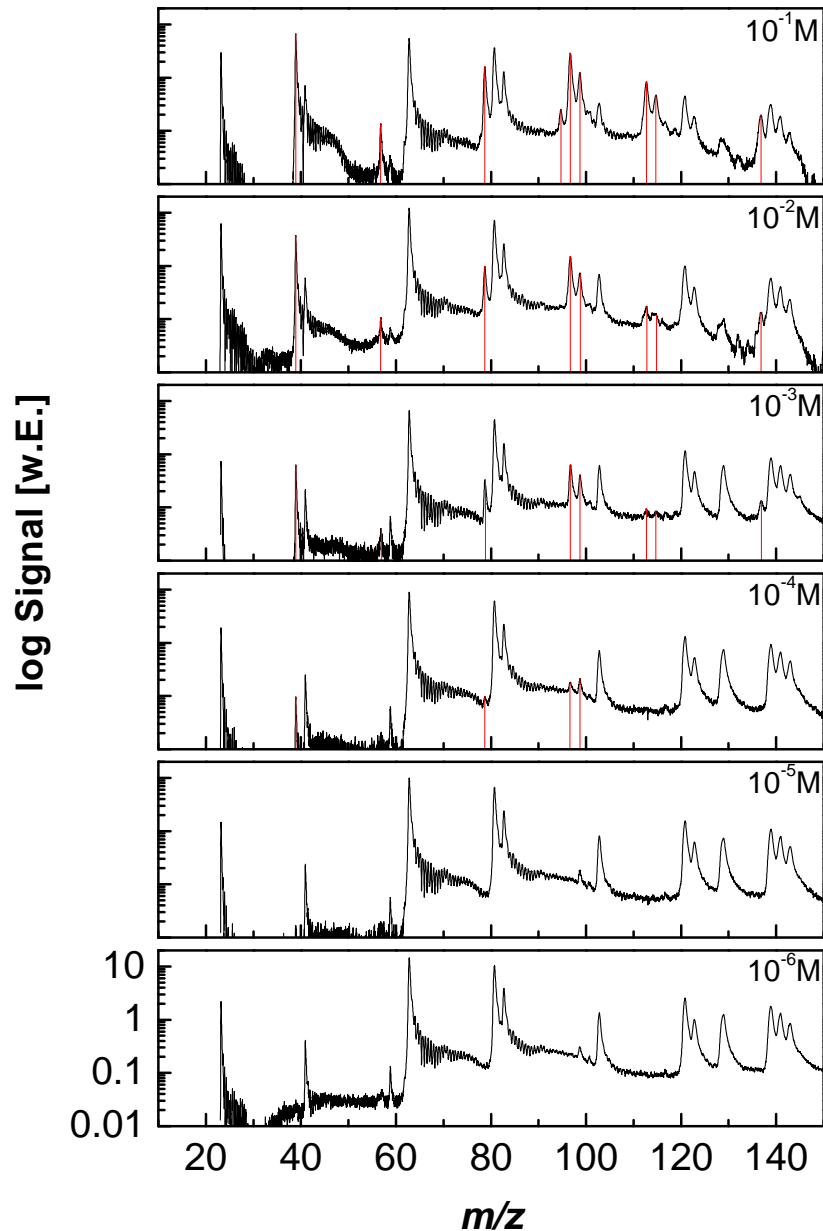
**Abbildung 3.9:** IR-1064-FLMALDI-Massenspektrum von reinem Wasser bei höchsten Laserintensitäten für verschiedene Verzögerungszeiten, aufgenommen mittels einer Laserwellenlänge von 1064 nm bei Intensitäten oberhalb von  $3 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$ . Für sehr kleine Verzögerungszeiten von  $1 \mu\text{s}$  werden ausschließlich die Ionen  $\text{H}^+$ ,  $\text{O}^{3+}$ ,  $\text{O}^{2+}$  und  $\text{O}^+$  detektiert. Für große Verzögerungszeiten von  $20 \mu\text{s}$  können selbst bei den sehr großen Laserintensitäten noch intakte Wassercluster der Form  $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$  detektiert werden.

## 3.4 Sensitivitätsunterschied für unterschiedliche Ionen

Um zu überprüfen, ob die Sensitivität für bestimmte Ionen unterschiedlich ist, wurden Desorptionsexperimente von Halogenidsalzen der Alkalireihe durchgeführt. Zunächst wird illustriert, wie sich die Massenspektren für hohe Salzkonzentrationen und kleinen Laserintensitäten verändern, wenn Kalium hinzugefügt wird. Die in der Abb. 3.10 aufgeführten Massenspektren zeigen Lösungen von 0.2 M NaCl und 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>, denen ansteigende Konzentrationen von KCl zugefügt wurden. Bereits ab einer Konzentration von 10<sup>-4</sup> M KCl treten das Kaliumion und erste Kaliumcluster im Spektrum auf (mittels roter Linien gekennzeichnet). Schon ab einem Verhältnis von Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> = 30 : 1 beginnen Kaliumcluster die Natriumcluster zu verdrängen. Die Beschriftung der auftretenden Kaliumcluster ist in Abb. 3.11 durchgeführt. Dabei sind auftretende Kaliumcluster rot markiert.

Wie es scheint, ist es leichter K<sup>+</sup> zu desorbieren als Na<sup>+</sup>. Um dieses Ergebnis genauer zu betrachten, wurden Massenspektren einer wässrigen Lösung von Alkalichloriden aufgenommen. Das in Abb. 3.12 dargestellte Summenspektrum zeigt, dass für aufsteigende Ionenradien steigende Signalintensitäten gemessen werden. Das Cäsiumion hat die größte Signalintensität im Spektrum, während das Natriumion die kleinste besitzt und das Lithiumion kaum erkennbar ist.

Da die Signalintensitäten für Lösungen einzelner Salze gleicher Konzentration für alle Alkaliionen ähnlich sind, werden hier demnach die Signale der kleinen Ionen durch die der großen verdrängt. Eine Diskriminierung durch den Detektor findet nicht statt. Die Laser- und Photonenintensitäten sind bei der IR-FLMALDI sehr klein, daher sollten die unterschiedlichen ersten Ionisierungsenergien der Alkalimetalle nicht der Grund für die Ergebnisse sein. Die erste Ionisierungsenergie nimmt von Lithium zu Cäsium um etwa den Faktor 1.5 ab. Vielmehr spielen die Ionenradien eine Rolle, die von Lithium zu Cäsium um den Faktor 2 zunehmen. Die Wechselwirkung mit den Wassermolekülen ist beim kleinen Li<sup>+</sup> größer. Dadurch ist das Lithiumion in Lösung viel stärker hydratisiert, als das große Cäsiumion. Der fallende Hydratisierungsgrad für steigenden Ionenradius entspricht einer leichteren Desorption aus der Wassermatrix, also der Trennung von Wassermolekülen

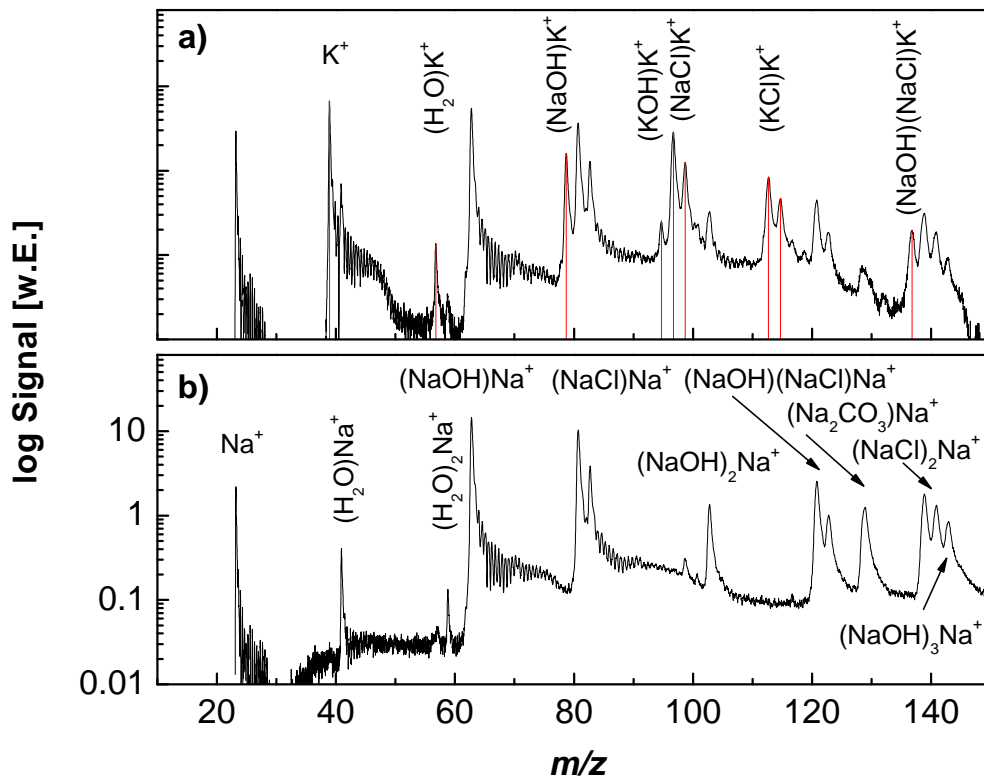


**Abbildung 3.10:** IR-FLMALDI-Massenspektren wässriger Lösungen von 0.2 M NaCl, 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> und ansteigenden Konzentrationen von KCl ( $10^{-6}$  –  $10^{-1}$  M). Bereits ab einer Konzentration von  $10^{-4}$  M KCl treten das Kaliumion und erste Kaliumcluster im Spektrum auf (mittels roter Linien gekennzeichnet). Dabei ist die Natriumionenkonzentration um  $3 \times 10^3$  M größer. Bereits ab einem Verhältnis von  $\text{Na}^+/\text{K}^+ = 30 : 1$  beginnen Kaliumcluster die Natriumcluster zu verdrängen. Die Beschreibung der Cluster ist in Abb. 3.11 zu finden. (Summenspektren der Verzögerungszeiten 12 – 27  $\mu\text{s}$ , MCP 2.1 kV).



und Ionen. Dies äußert sich schließlich in den steigenden Signalintensitäten für Ionen mit steigendem Radius.

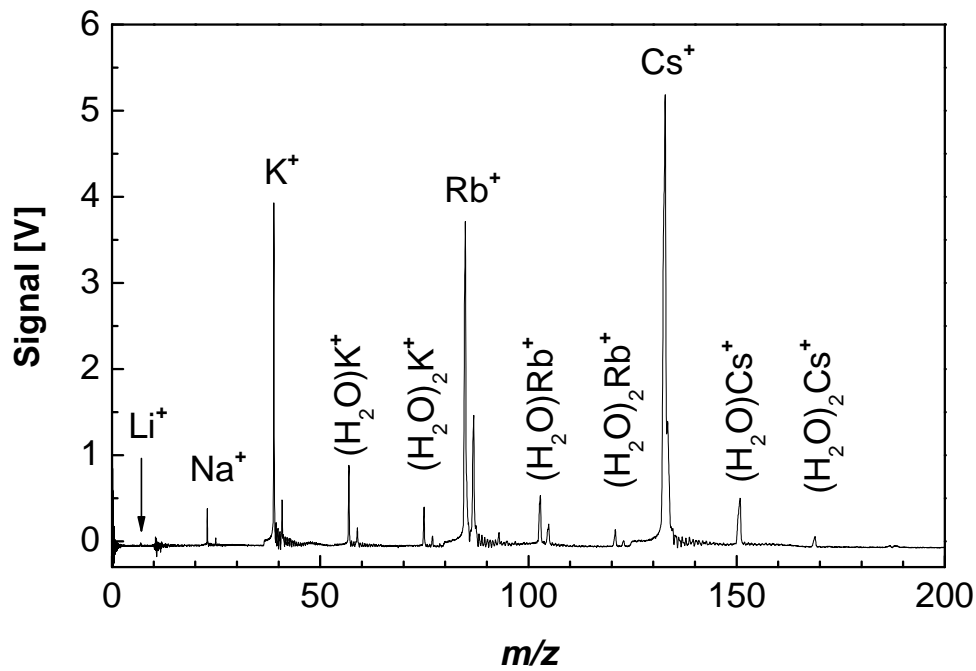
Wie aus den Spektren für unterschiedliche Verzögerungszeiten in Abb. 3.13 deutlich wird, spielt auch eine etwaige Signaldiskriminierung durch unpassend gewählte Verzögerungszeiten nur eine untergeordnete Rolle. Denn selbst für kleine Verzögerungszeiten sind die Signalintensitäten von  $\text{Li}^+$  und  $\text{Na}^+$  sehr schwach. Weiterhin zeigt sich, dass  $\text{Cs}^+$  am leichtesten desorbierbar ist, auch dadurch, dass es noch bei einer Verzögerungszeit von  $50 \mu\text{s}$  mit relativ hoher Signalintensität detektiert wird und dies dazu unhydratisiert. Allein nach seiner Masse sollte Cäsium ähnlich



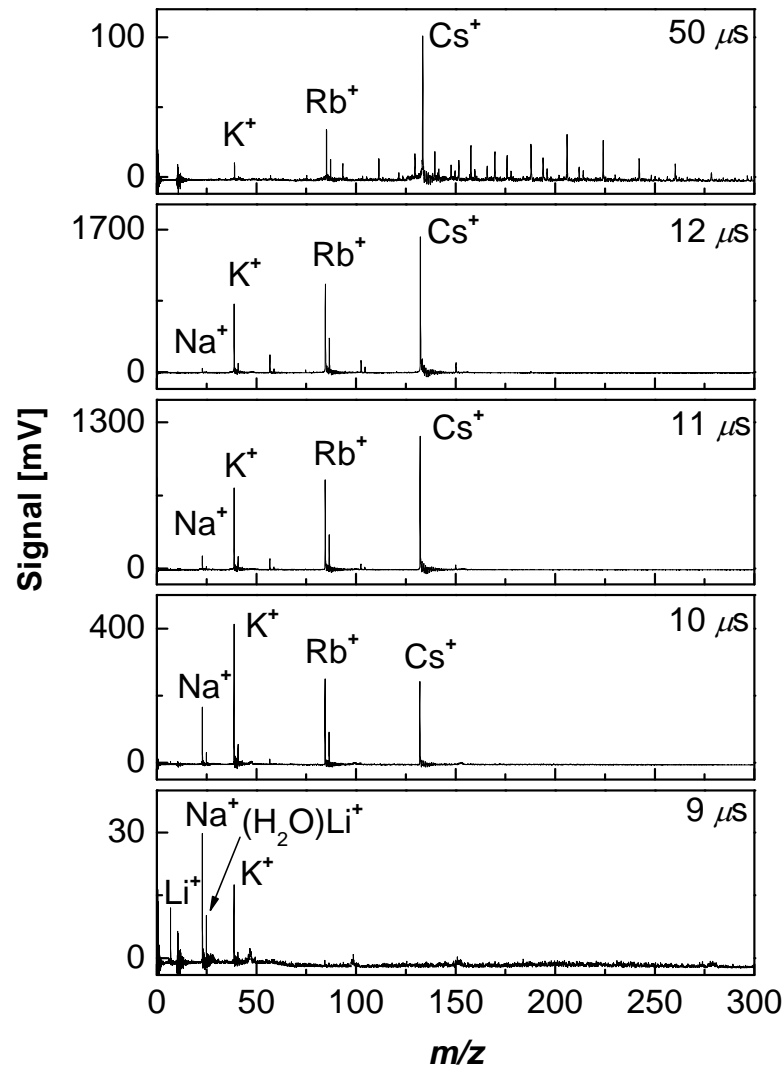
**Abbildung 3.11:** IR-FLMALDI-Massenspektren zweier wässriger Lösungen von 0.2 M NaCl, 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$  mit unterschiedlicher Konzentration von KCl. Abb. a) zeigt das Spektrum für eine KCl-Konzentration von  $10^{-1}$  M. Die hinzugekommenen Kaliumcluster sind rotmarkiert. In der Abb. b) ist das Spektrum für  $10^{-6}$  M KCl dargestellt. Bei dieser Konzentration ist noch kein Kalium im Spektrum zu erkennen. (Summenspektren der Verzögerungszeiten  $12 - 27 \mu\text{s}$ , MCP 2.1 kV).

wie Arginin bereits vor einer Verzögerungszeit von  $18 \mu\text{s}$  kaum noch Signalintensität aufweisen (siehe Abb. 3.1 in Teil I). Auch sollten Wassercluster das Spektrum bei diesen späten und kalten Desorptionsfraktionen dominieren, zumal die Salzkonzentration nur  $10^{-3} \text{ M}$  beträgt. Diese Tatsachen unterstreichen die geringe Hydratisierung der großen Alkaliionen und deren leichte Desorbierbarkeit aus der Wassermatrix. Die Ergebnisse belegen auch, wie sanft die Desorption bei der IR-FLMALDI Methode ist.

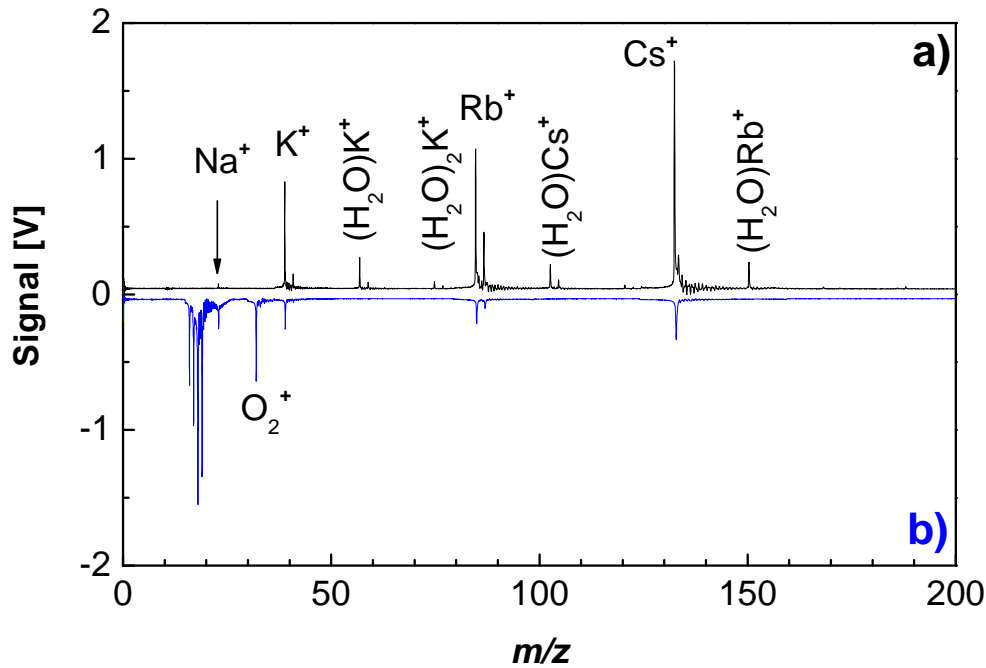
Die Deutung der Ergebnisse lässt sich weiter unterstützen, indem ein Vergleich der Desorption von Alkaliionen mittels niedriger und hoher Laserintensitäten durchgeführt wird. In der Abb. 3.14 sind Massenspektren der Alkalilösung für eine Verzögerungszeit von  $13 \mu\text{s}$  abgebildet. Für Spektrum a) wurden eine Laserwellenlänge von  $2850 \text{ nm}$  und eine Intensität von etwa  $10^8 \text{ W/cm}^2$  eingesetzt. Es sind Alkali-Wasseraddukte zu erkennen und das Verhältnis der Signalintensitäten von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  und  $\text{Cs}^+$  beträgt  $1 : 11 : 19 : 22$ . Spektrum b) wurde mit einer Laserwellenlänge von  $1064 \text{ nm}$  und einer Intensität von etwa  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  aufgenommen. Es treten im Spektrum keine Cluster auf und das Verhältnis der Signalintensitäten von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  und  $\text{Cs}^+$  ist  $1.00 : 1.06 : 1.33 : 1.38$ , die Intensitäten sind also in diesem Spektrum fast gleich. Der geringe Unterschied lässt sich über die Diskriminierung durch die eingestellte Verzögerungszeit erklären. Ebenso ist das Fehlen eines  $\text{Li}^+$ -Signals dadurch begründbar. Wie zu erwarten, zeigt der Vergleich der Spektren, dass sich die unterschiedlich starke Hydratisierung der Alkaliionen in unterschiedlichen Signalintensitäten äußert. Dieser Effekt kann nur mit kleinen Laserintensitäten gemessen werden. Für hohe Intensitäten ist genügend Energie vorhanden, um alle Alkaliionen gleich gut zu desorbieren.



**Abbildung 3.12:** IR-FLMALDI-Massenspektrum einer Alkalisalzlösung der Salze LiCl, NaCl, KCl, RbCl und CsCl in der Konzentration  $10^{-3}$  M. Cäsiumionen weisen die höchste Signalintensität auf und Lithiumionen die geringste. (Summenspektrum der Verzögerungszeiten 9 – 20  $\mu$ s, MCP 2.3 kV).



**Abbildung 3.13:** IR-FLMALDI-Massenspektrum einer wässrigen Lösung der Salze LiCl, NaCl, KCl, RbCl und CsCl in der Konzentration  $10^{-3}$  M für verschiedene Verzögerungszeiten. Für frühe Verzögerungszeiten von  $9 \mu\text{s}$  wird das Signal des Lithiumions und seines Wasseradduktes detektiert, wenn auch mit sehr geringer Signalintensität. Die Signalintensität des Natriumions ist bei dieser Verzögerungszeit größer als die des Kaliumions. Zwischen  $\text{Li}^+$  und  $\text{Na}^+$  liegt kein Massensignal sondern elektronisches Störsignal, wie es auch für die Verzögerungszeit von  $50 \mu\text{s}$  erkennbar ist. Sehr große Signalintensitäten zeigen sich für die Verzögerungszeit  $13 \mu\text{s}$ . Die Signalintensität von  $\text{Cs}^+$  ist am größten. Bis zu sehr späten Verzögerungszeiten von  $50 \mu\text{s}$  können noch Ionensignale gemessen werden, wenn auch mit geringer Signalintensität. Nichtbeschriftete Massenlinien gehören zu Wasserclustern der Ionen Kalium, Rubidium und Cäsium. (MCP 2.3 kV).



**Abbildung 3.14:** IR-FLMALDI-Massenspektren einer Alkalisalzlösung der Salze LiCl, NaCl, KCl, RbCl und CsCl in der Konzentration  $10^{-3}$  M für eine Verzögerungszeit von  $13 \mu\text{s}$ . Spektrum a) wurde mittels einer Laserwellenlänge von 2850 nm und einer Intensität von etwa  $10^8 \text{ W/cm}^2$  aufgenommen. Es zeigt die Alkaliionen  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  und  $\text{Cs}^+$  in aufsteigender Signalintensität und deren Wasseraddukte. Das Verhältnis der Signalintensitäten von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  und  $\text{Cs}^+$  ist 1 : 11 : 19 : 22. Die Wasseraddukte sind im Spektrum b) nicht zu sehen. Auch sind die Signalintensitäten der Alkaliionen fast gleich und nicht unterschiedlich, wie in Spektrum a). In Spektrum b) ist das Verhältnis der Signalintensitäten von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  und  $\text{Cs}^+$  1.00 : 1.06 : 1.33 : 1.38. Hier wurde eine Laserwellenlänge von 1064 nm sowie eine Intensität von etwa  $1.6 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  eingesetzt und Plasma gezündet, wie an den Massenlinien der Zersetzungsprodukte von Wasser zu erkennen ist ( $\text{O}^+$ ,  $\text{HO}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}^+$ ,  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{O}_2^+$ ).

### **3.5 Fazit und Ausblick**

Die Labormessungen helfen bei der Analyse der durch Cassini aufgenommenen Massenspektren und unterstützen die These, dass es auf Enceladus einen flüssigen, versteckten Ozean geben könnte. Die gewählte Methode der Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie eignet sich gut, um die Weltraumspektren im Labor nachzubilden. Dabei sind die Desorptionsbedingungen über die Intensität der Laserstrahlung einstellbar. So können sowohl sanfte Desorptionsbedingungen geschaffen werden, mit denen strukturelle Änderungen der Wassermatrix geprobt und Biomoleküle analysiert werden können, als auch harte Bedingungen, wie bei der Plasma-desorption. Zur Zeit wird bereits an einer weiteren Weltraummission geplant, die den Jupitermond Europa als Ziel hat, da auch dieser auf der Liste der möglichen Habitats für Leben steht. Auch bei dieser 2020 startenden Mission sollen, wenn möglich, Massenspektrometer mit an Bord, die Spektren von kosmischen Staub aufnehmen. Die dort vorkommenden Partikelgeschwindigkeiten liegen im Bereich von wenigen km/s und so werden Massenspektren erwartet, die denen der IR-FLMALDI ähneln. Weiterhin ist geplant, die Methode der Flüssigstrahldesorption als Partikelbeschleuniger einzusetzen, um Massenspektren von Wassereispartikeln direkt mittels CDA aufnehmen zu können.

## Teil III

# Bildgebende Massenspektrometrie





# Kapitel 1

## Einleitung

In diesem Teil der Arbeit wird die Leistungsfähigkeit der bildgebenden MALDI-Massenspektrometrie auf die Kriminaltechnik angewandt. Dafür werden massenspektrometrische Bilder von latenten Fingerspuren erstellt und gezeigt, wie die gewonnenen chemischen Informationen zum Zwecke der Personenidentifikation genutzt werden können.

### 1.1 Historischer Überblick der bildgebenden Massenspektrometrie

Die experimentellen Grundlagen der bildgebenden Massenspektrometrie mittels Laserdesorption (*Imaging Mass Spectrometry*, IMS oder *Mass Spectrometry Imaging*, MSI) [100, 101] wurden bereits in den 70er Jahren entwickelt. Die damalige Technik wurde *laser microprobe mass analysis* (LAMMA) [102, 103] genannt. Im Prinzip handelt es sich um eine orts aufgelöste Form der *laser desorption ionization* (LDI). Dabei wird ein gepulster Laserstrahl auf eine sehr dünne Probe fokussiert, welche mittels *xyz*-Manipulator im Mikrometermaßstab bewegt werden kann. Durch das erzeugte Plasma werden Ionen desorbiert und mittels Massenspektrometer analysiert. Die LAMMA fand als orts aufgelöstes Elementaranalyseverfahren hauptsächlich Anwendung in den Materialwissenschaften für die Untersuchung von anorganischen Proben und Detektion von kleinen Molekülen. Bei der Untersuchung von biologischen Proben kam diese Methode außer in einigen Spezialgebieten wie z.B. bei pathologischen und nephrologischen Studien [104] kaum zum Einsatz, da

es nicht möglich ist große Biomoleküle in ausreichender Ausbeute zu desorbieren. Dies gilt allgemein für die LDI [105]. Die Ortsauflösung bei der LAMMA lag bereits unterhalb von  $1\ \mu\text{m}$ .

Es brauchte erst die Entwicklung des MALDI-Verfahrens um biologische Proben aussagekräftig analysierbar zu machen. Ungefähr 10 Jahre nach der ersten Publikation über MALDI [2–5] wurde durch Caprioli *et al.* 1997 von ersten mittels MALDI-MSI aufgenommenen Bildern berichtet [100]. Der grundlegende Unterschied zwischen LAMMA und MALDI-MSI besteht in der Desorptionsmethode. Durch die bereits im Teil I in Abschnitt 1.1 beschriebene MALDI-Methode können bei geeigneter Wahl der Matrix auch sehr große Biomoleküle bis zu etwa 1 MDa [18, 106] sanft desorbiert werden. Weiterhin ermöglichte die verfügbare Rechenleistung und Speicherkapazität der Personalcomputer in den späten 90er Jahren nun endlich bildgebende Verfahren. Denn bei der MSI fallen enorme Datenmengen an, aus denen die massenspektrometrischen Bilder (Massenbilder) generiert werden.

Seit 2004 wird von Heeren *et al.* über eine neue Herangehensweise an die MSI berichtet [107, 108], dem MALDI-MSI im sogenannten Mikroskop-Modus. Dabei wird eine sehr hohe Ortsauflösung von bis zu  $4\ \mu\text{m}$  erhalten, indem per Laserbeschuss desorbierte Ionen mittels ausgeklügelter Ionenoptik auf einem 2D-Ionendetektor abgebildet werden. Neuere Ergebnisse von Heeren *et al.* verdeutlichen das Potential dieser Methode trefflich [109].

Neben der MALDI-MSI ist auch das Verfahren der bildgebenden SIMS ein vorzügliches Analysewerkzeug. Bei der *secondary ion mass spectrometry* (SIMS) [110, 111] und dem neueren *matrix enhanced-SIMS* (ME-SIMS) wird anstatt eines Lasers ein Ionenstrahl zur Desorption benutzt. Die Auflösungen reichen dabei bis unter  $1\ \mu\text{m}$  [112]. Dabei ähnelt ME-SIMS in den Spektren sehr stark MALDI-MS. Die MSI mittels SIMS sowohl im Mikroprobe- [113] als auch im Mikroskop-Modus [114] ist schon seit den 60er Jahren möglich. Allerdings war es bei SIMS nicht möglich große Biomoleküle zu desorbieren. Dies hat sich erst mit der Entwicklung von ME-SIMS [115] und der Verwendung von großen ionischen Clustern zur Desorption geändert [101, 112, 116–118]. Durch dieses Verfahren ist es möglich Ionen bis  $m/z$  10000 ohne große Fragmentierung und mit ausreichender Ausbeute zu desorbieren. Noch höhere Auflösungen bis 150 nm lassen sich mittels *nanostructure*

*initiator mass spectrometry* (NIMS) erreichen [119], allerdings können nur Ionen bis etwa  $m/z$  2000 desorbiert werden.

Als neue Analysetechnik ist die MSI besonders wertvoll für die Biochemie allgemein [120], für die Proteomik [121–124], Lipidomik [125–127] und für die Analyse von Verteilung und Wirkungsweise von medikamentösen Wirkstoffen und Drogen sowie deren Metabolite [128]. Besonders die biomedizinische Diagnostik und molekulare Histologie profitieren von der MSI in großem Maße, da Gewebe, Organ-schnitte und bei hinreichender Auflösung sogar der Aufbau von Zellen auf molekularer Ebene untersucht werden können [101, 129–132]. Auch liefert sie neue Einsicht in alte Problemstellungen, wie der MALDI Probenvorbereitung [133].

Darüber hinaus wird die MSI seit kurzem in der Kriminalwissenschaft eingesetzt und im Speziellen bei der Detektion und Analyse von latenten Fingerprints (siehe Kap. 1.5).

## 1.2 Funktionsweise und Charakteristika

Vereinfacht geht es bei der MSI um das Sichtbarmachen der chemischen Oberfläche einer dünnen Probe, indem von jedem Punkt der Probe ein Massenspektrum angefertigt wird. Bei der MSI wird im Allgemeinen nach dem sogenannten Mikroprobe-Verfahren (*microprobe mode*) gearbeitet. Dabei wird eine dünne Probe auf einem verfahrbaren Objektträger mittels Laserbeschuss ablatiert und somit an jeder  $x,y$ -Koordinate der Probe ein Massenspektrum aufgenommen. Um aus allen aufgenommenen Massenspektren ein Bild zu erzeugen, wird für ein jeweiliges  $m/z$  über alle Spektren die dazugehörige Intensität im Spektrum ermittelt, in einen Graustufenwert umgerechnet und an der zugehörigen  $x,y$ -Koordinate als Bildpunkt aufgetragen. Alternativ kann das erhaltene Graustufenbild auch über eine Farbtabelle (*color map*) eingefärbt werden, um Intensitätsänderungen besser sichtbar zu machen. Jedes Bild entspricht also einer Intensitätsverteilung für ein selektiertes  $m/z$ . Dieses Prinzip ist in Abb. 1.1 bildlich dargestellt.

Bei diesem Verfahren hängt die Auflösung des erzeugten Bildes von der Größe des Laserfokus und von der Genauigkeit der Translationsbühne ab. Je kleiner der Laserfokus und die verfahrbare Strecke der Translationsbühne, umso kleiner werden die erzeugten Bildpunkte und desto größer die erzielbare Auflösung des

generierten Bildes. Je nach benötigter Sensitivität (siehe auch Abschnitt 1.1.2 in Teil I) werden bei der MALDI-MSI Auflösungen von  $50 - 200 \mu\text{m}$  verwendet. Auch höhere Auflösungen sind möglich [105], allerdings leidet dabei die Sensitivität in Bezug auf große Biomoleküle [134, 135].

Durch ein spezielles Verfahren, dem *oversampling*, kann die Auflösung relativ unabhängig vom Laserfokus erhöht werden [136]. Dabei wird die Probe an einer Position solange ablatiert, bis kein Signal mehr detektierbar ist. Dann wird die Probe um eine Distanz verschoben, die kleiner als die Fokusgröße des eingesetzten Lasers ist, und erneut ablatiert. Die erhaltene Ablationsfläche, von der Analytione desorbiert werden, ist jetzt kleiner als der Laserfokus. Dadurch kann auch bei großem Laserfokus eine Erhöhung der Bildauflösung erreicht werden, denn die Auflösung hängt jetzt nicht mehr vom Laserfokus ab, sondern von der Schrittweite der Mikrometerbühne. Allerdings geschieht die Auflösungsverbesserung auf Kosten der Probe, der verringerten Laserlebensdauer, der längeren Messdauer und prinzipiell auch der erhöhten Datenmenge. Mit dieser Methode können auch bei großem Laserfokus Auflösungen bis zu  $20 \mu\text{m}$  erreicht werden.

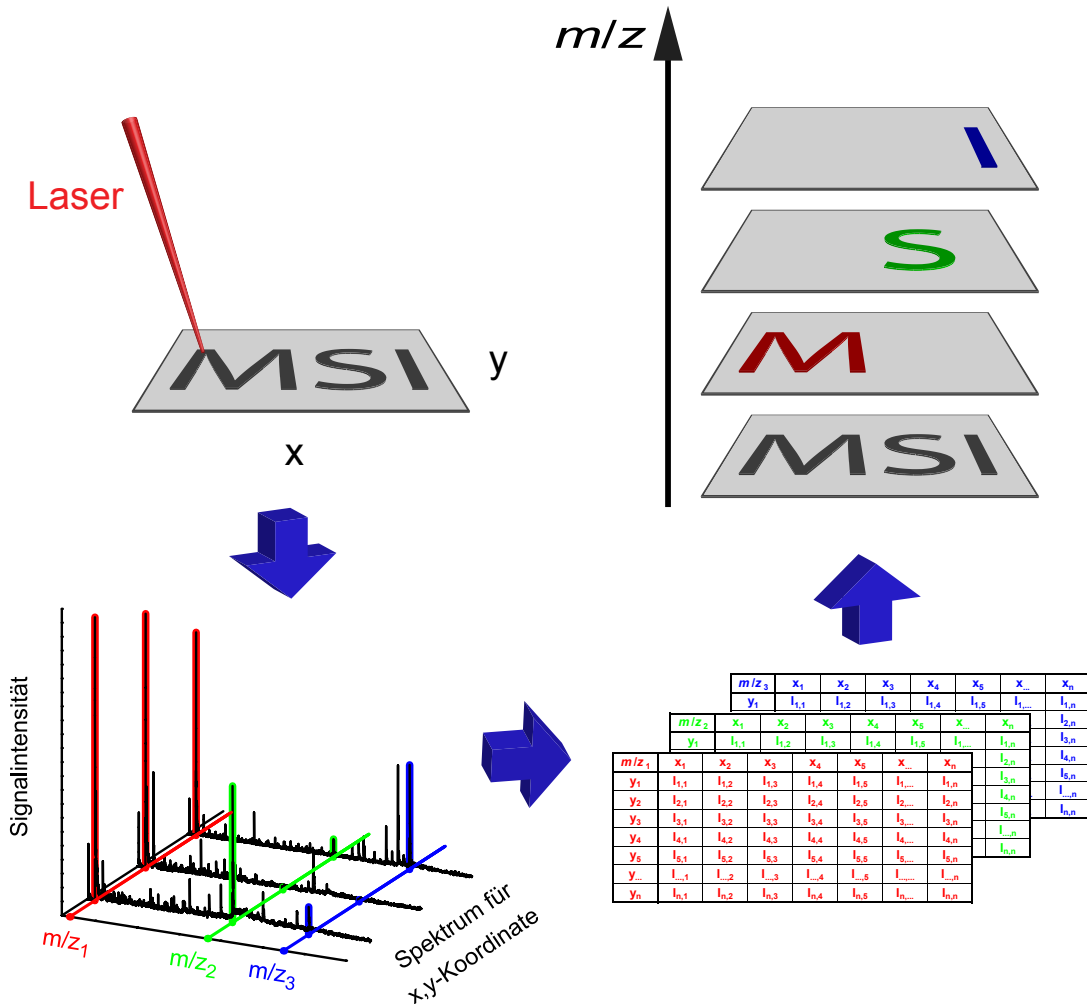
Beim *imaging* SIMS wird aufgrund der Wahl eines Ionenstrahls als Desorptionsquelle eine noch höhere Auflösung im subzellularen Bereich von unter  $1 \mu\text{m}$  erreicht. Allerdings können auch mit den neuen Techniken, wie z.B. ME-SIMS [115] nur Biomoleküle bis etwa 10 kDa desorbiert werden. Daher ist MALDI-MSI in der Bioanalytik bislang verbreiteter als bildgebende SIMS [112].

Erst seit kurzem wird auch MALDI-MSI im sogenannten Mikroskop-Modus angewandt. Dabei werden Auflösungen im Bereich von  $4 \mu\text{m}$  erzielt [107]. Bei diesem Verfahren wird nur ein Laserschuss abgegeben und die desorbierten Ionen werden nach ihrem  $m/z$  über eine spezielle Ionenoptik im MS auf einem 2D-Detektor abgebildet [109]. Zum einen kann über dieses Verfahren sehr viel Messzeit gespart werden, denn je nach Probengröße und Auflösung kann eine Messung im Mikroprobe-Modus mehrere Tage dauern, zum anderen reicht ein relativ großer Laserfokus aus, da die Auflösung nur von der Güte der Ionenoptik abhängt.

Alle angesprochenen Methoden zeichnen sich dadurch aus, dass sie nur unter Hochvakuum-Bedingungen funktionieren. Für biologische Proben sind diese harschen Bedingungen von Nachteil. Eine Lösung dafür ist die AP-IR-MALDI-MSI (*atmospheric pressure infrared* MALDI-MSI), die bei Normaldruck durchgeführt

werden kann [137, 138] und Auflösungen bis etwa  $300\ \mu\text{m}$  ermöglicht. Unter Normaldruckbedingungen und ganz ohne Matrix können neue Methoden, wie DESI (*desorption electrospray ionization*) und LAESI (*laser ablation electrospray ionization*) durchgeführt werden. Bei der DESI wird zur Desorption ein Elektrospray verwendet, und es werden Auflösungen im Bereich von  $250\ \mu\text{m}$  erzielt [139–141]. Beim LAESI wird mit einem IR-Laser desorbiert und die Ionen mittels Elektrospray in das Massenspektrometer gelenkt [142–144]. Alle bei Normaldruck durchgeführten Methoden arbeiten natürlich im Mikroprobe-Modus, da Luftmoleküle die Ionen ablenken und somit das Arbeiten im Mikroskop-Modus verhindern.

Wie beschrieben hängt die Güte der massenspektrometrischen Bilder bei der MALDI-MSI vom Laserfokus und der Translationsbühne ab. Allerdings ist auch die Probenvorbereitung entscheidend für die Qualität der Bilder und wird daher im nachfolgenden Abschnitt näher verdeutlicht.



**Abbildung 1.1:** Skizze zur Darstellung der MSI-Verfahrensweise. Die Probe wird mittels Laserbeschuss abgerastert und an jedem Rasterpunkt ein Massenspektrum erzeugt. Über alle Spektren wird für ein selektiertes  $m/z$  die Intensität ermittelt und die Intensitätsmatrix gespeichert. Aus den Matrizen wird für ein jeweiliges  $m/z$  ein Massenbild generiert. So wird eine neue Darstellungsdimension geöffnet.

## 1.3 Probenvorbereitung

Wenn die Probenvorbereitung bei MALDI-MS bereits wichtig ist, so ist sie für MSI essentiell. Besonders bei biologischen Proben hängt die Qualität der erhaltenen Bilder sowie der gewonnenen Informationen entscheidend von der Probenvorbereitung ab. Dabei spielt nicht nur die Wahl einer geeigneten Matrix eine Rolle, sondern es muss bei jedem Vorbereitungsschritt auf die Kompatibilität zur MSI geachtet werden [145]. Besonders im Bereich der Histologie sind aufwendige Probenvorbereitungsprotokolle Standard. Gewebefixiermethoden und dafür eingesetzte Chemikalien, Wasch- und Trocknungsvorgänge sowie Einbettungspolymere zur Schnitterleichterung müssen für das MSI angepasst werden [146]. Besonders das gern genutzte *optimal cutting temperature polymer* (OCT) führt zu starker Analytsignalunterdrückung in den Massenspektren [147]. Die einfachste Methode ist das Einfrieren der Probe mit anschließender Cryosektionierung und Matrixaufbringung, welche jedoch nicht für alle Probenarten möglich ist. Mit Hilfe neuer Vorbereitungsprotokolle ist es aber gelungen bereits eingelagerte Proben für das MSI vorzubereiten [131, 148].

Wie angesprochen, muss für hochaufgelöste MALDI-MSI auch das Aufbringen der Matrix beachtet werden. Die Kristallgröße der Matrixmoleküle ist entscheidend für die Sensitivität beim MALDI und umso wichtiger bei hochaufgelöster MSI. Daher wurden neue Verfahren zur Matrixaufbringung entwickelt, weil die *dried droplet*-Methode<sup>1</sup> nicht mehr ausreichende Ergebnisse liefert [24, 133]. Der Großteil der verwendeten Methoden basiert auf der Erzeugung kleiner Tröpfchen, wie es über den Einsatz von TLC-Sprayern aus der Dünnschichtchromatographie oder auch per Airbrush-Pistolen möglich ist. Allerdings kann es bei diesen Methoden zu Analytdelokalisierung kommen, wenn die Probe zu nass wird. Auch die Homogenität der Matrixschicht kann stark variieren. Automatisierte Geräte basieren meist auf Vernebelungstechniken und können sehr kleine Tröpfchen erzeugen, ebenso wie die Tröpfchenerzeugung mittels Elektrospray, welche bei der ESI-MS verwendet wird [149, 150]. Neue Ansätze sind z.B. die Verwendung von Tintenstrahldruckern

---

<sup>1</sup> *dried droplet*-Methode: Vermischen der Analytlösung zu gleichen Teilen mit Matrixlösung, Aufbringen auf den Probenhalter und Trocknen oder alternativ, Pipettieren von Matrixlösung auf den getrockneten Analyten und Trocknen.

zur Aufbringung der Matrix [151] als günstige Alternative zum kommerziell erhältlichen Verfahren der automatisierten akkustischen Matrix-Aufbringung [152]. Vielversprechend sind auch Sublimationsverfahren zum Aufbringen der Matrix, womit sehr homogene Matrixschichten erhalten werden können [24, 153]. Gänzlich lösungsmittelfrei wird beim *dry-coating* gearbeitet, bei dem feines Matrixpulver durch einen Mikrometersieb auf die Probe aufgebracht wird [154].

## 1.4 Datenverarbeitung

Besonders bei großen Proben, kleinen Rasterschritten und großem aufgenommenen  $m/z$ -Bereich benötigt der Datensatz für eine massenspektrometrische Bildaufnahme schnell mehrere hundert Gigabyte an Speicherplatz. Daher werden für die MSI leistungsfähige PC's oder Workstations benötigt. Wie bei der bioanalytischen Massenspektrometrie üblich, hängt die Tauglichkeit eines Massenspektrometers zu 50 % von der gelieferten Analysesoftware ab [155]. Bei MSI liegt dieser Prozentsatz noch höher, denn es geht hier zusätzlich um die Generierung von Bildern, bzw. um die bestmögliche Auswertung und Darstellung einer Fülle von Informationen.

Bereits durch Vorverarbeitung der Massenspektren mittels guter Basislinien-detektion und -Subtraktion (*baseline detection and subtraction*) [156] kann die Qualität der erzeugten Massenbilder stark verbessert werden. Weitere Vorverarbeitungsschritte, wie Rekalibrierung, Neuausrichtung und Normalisierung der Spektren erhöhen die Qualität der Massenbilder weiter [157]. Über statistische Analysen der Datensätze lassen sich noch detailliertere Informationen gewinnen [158–160]. Auch diese profitieren stark von einer Vorverarbeitung der Datensätze [161]. Mittels Software ist z.B. auch möglich eine 3D-Volumenrekonstruktion [162] der Massenbilder anzufertigen, so dass man 3D-Intensitätsverteilungen erhält. Die generierten Massenbilder selbst profitieren von neuen Interpolationsverfahren zur Bildverbesserung [163] und Erkenntnissen bei der Verwendung von Farbtabelle zur Einfärbung der Graustufenbilder [164, 165].

Das Problem der enormen Datenmengen und deren Auswertung wird bei der Kombination von MSI mit fortschrittlichen massenspektrometrischen Methoden wie MS/MS, FT-ICR [166] und Orbitrap [167] vergrößert, und es wird noch mehr



Rechenleistung und Speicherkapazität erfordert. Dieses Problem könnte z.B. durch gute Linien-Detektions-Algorithmen abgeschwächt werden.

## 1.5 Bildgebende Massenspektrometrie in der Kriminaltechnik

Die MSI hat bereits in der Medizin und der Bioanalytik ihren Platz gefunden. Sie wird z.B. zur Gewebsanalyse [120, 168] und zur Untersuchung von biologischen Prozessen angewendet, wobei mit Hilfe von bildgebender SIMS subzelluläre Auflösungen erzielt werden können [112, 117, 134]. Daher stellt sich die Frage, warum sie nicht auch im Bereich Forensik eine breitere Anwendung findet. Erst seit kurzem erscheinen wissenschaftliche Artikel, die sich mit diesem Thema beschäftigen [169, 170].

Die Identifizierung und Untersuchung von Fingerabdrücken (Daktyloskopie) ist ein integraler Bestandteil im Bereich der Forensik und Strafverfolgung. Da zwei Personen niemals den gleichen Fingerabdruck besitzen, ist eine Identifizierung über Fingerabdrücke möglich. Fingerabdrücke sind Kontrollabdrücke von bekannten Personen, die mit Tinte auf Papier gedruckt werden, oder gleich digital mit Hilfe eines optischen Fingerabdruckscanners aufgenommen werden können. Sie unterscheiden sich von den sogenannten Fingerspuren. Diese werden meist unbeabsichtigt erzeugt, wenn nach der Berührung von Gegenständen Rückstände auf deren Oberfläche zurückbleiben. Im Allgemeinen bestehen Fingerspuren aus einer transparenten Hydrolipidschicht, die für das bloße Auge unsichtbar ist, weshalb sie in diesem Fall als latente Fingerspuren bezeichnet werden. Die Hydrolipidschicht ist ein Gemisch aus Schweiß und anderen Drüsenausscheidungen, wie Sebum (Talg), und besteht zum Großteil aus Wasser, Salzen und Fettsäuren. Normalerweise ist eine physikalische oder chemische Aufbereitung der latenten Fingerabdrücke nötig, um sie sichtbar zu machen. Je nach Beschaffenheit der Fingerspuren und des Materials, auf dem sie zu finden sind, wird aus einer Vielzahl von Methoden ausgewählt. Standardmethoden sind z.B. das vorsichtige Bestäuben mit Ruß- oder magnetischen Partikeln oder das Sichtbarmachen über Farbreaktionen mittels Ninhydrin oder anderen organischen Substanzen [171]. Weiterhin können die Finger-

spuren sichtbar gemacht und aufbewahrt werden, indem sie mit Sekundenkleber (Cyanoacrylat) bedampft werden [172]. Neben der Geometrie der Fingerspur ist deren chemische und biochemische Zusammensetzung von großer Bedeutung, so dass vielfältige analytische Methoden eingesetzt werden, um z.B. nach Metaboliten, Drogen, Krankheitsmarkern oder chemischen Rückständen, wie Sprengstoffen, zu suchen. Neuere Untersuchungsmethoden benutzen Antikörper-funktionalisierte Nanopartikel zur Detektion von Drogen und Metaboliten [173, 174], Fluoreszenzbildgebung [175] und auch Infrarotspektroskopie [176], um weitere Informationen bzgl. der Fingerspuren zu erlangen. Dabei sind optische Untersuchungsmethoden am weitesten verbreitet, da sie eine hohe Auflösung bieten und auch kleinste Geometriedetails auflösen können. Allerdings müssen die Fingerspuren für die optische Untersuchung erst über komplizierte Verfahren vorbereitet werden. An diesem Punkt kann das Verfahren der massenspektrometrischen Bildgebung [100, 101] seine Vorteile ausspielen, da es mit diesem möglich ist, Fingerspuren zerstörungsfrei und nahezu ohne Probenvorbereitung rasch zu analysieren. Dabei kann die MSI nicht nur die räumliche Geometrie der Probe analysieren, sondern zusätzlich die chemische Zusammensetzung und ihre räumliche Verteilung darstellen.

Dass die MSI nicht auch im Bereich Forensik eine breitere Anwendung findet, könnte in der niedrigeren Auflösung im Vergleich zu den optischen Methoden liegen. Es werden drei Auflösungsbereiche unterschieden, über die sich kategorisieren lässt, welcher Detailgrad von einem Fingerabdruckscan erwartet werden kann. Bei Level 1 mit einer Auflösung von 380 *dots per inch / pixels per inch* (dpi / ppi) (entspricht 70  $\mu\text{m}$ ) können die drei grundlegenden Muster eines Fingerabdrucks unterschieden werden, der Bogen, die Schleife und der Wirbel. Bei Level 2 (500 dpi, 50  $\mu\text{m}$ ) können die sogenannten Minutiae, die Endungen und Verzweigungen der Papillarlinien, aufgelöst werden. Die Unterscheidung von Poren und Papillarlinien der Fingerkuppen ist ab der Auflösungsstufe Level 3 (1000 dpi, 25  $\mu\text{m}$ ) möglich [177]. Der menschliche Finger hat pro  $\text{cm}^2$  etwa 100 – 200 Schweißdrüsenporen und 50 – 100 Talgdrüsenporen. Die Porengrößen eines Fingers liegen im Größenbereich von 50  $\mu\text{m}$  (zum Vergleich, ein menschliches Haar ist durchschnittlich etwa 100  $\mu\text{m}$  dick).

Zurzeit werden nur Level 1 und Level 2 Merkmale für die Identifikation von Fingerabdrücken verwendet. Dies heißt, dass die geringere Auflösung der MSI keine

Rolle spielen dürfte, da es bereits kommerzielle MALDI-MSI-Geräte gibt, die eine Auflösung unterhalb von  $50\ \mu\text{m}$  erreichen. Sogar noch höhere Auflösungen können erzielt werden, wenn bildgebende SIMS angewendet wird [101]. Der größte Vorteil der MSI neben der Möglichkeit Level 1 und 2 Details von latenten Fingerspuren ohne Probenvorbereitung zu detektieren, ist die verfügbare neue Dimension an chemischen Informationen die dadurch zugänglich wird. Denn diese können weitere Hinweise bei Identitätsfeststellungen geben und sind besonders hilfreich, wenn kein ausgeprägter Fingerabdruck erhalten werden kann.

Im nachfolgenden Kapitel wird anhand von massenspektrometrischen Bildern von latenten Fingerspuren demonstriert, dass MSI ein leistungsfähiges Werkzeug für die Kriminaltechnik ist. Dafür wurden verschiedene Arten von Fingerspuren mittels MALDI-MSI und LDI-MSI analysiert. Da Lipidkomponenten praktisch in allen Fingerspuren vorkommen, wurden lipidreiche Fingerspuren und stark schweißhaltige, lipidarme, aber salzreiche Fingerspuren mit und ohne Matrixunterstützung untersucht.



# Kapitel 2

## Experimenteller Teil

### 2.1 Das bildgebende Massenspektrometer

Das hier eingesetzte Spektrometer (LaserToF RS, Firma Ionics MSV) ist ein bipolares MALDI Reflektron *Time-of-Flight* Massenspektrometer (MALDI-reTOF-MS). Neben der Möglichkeit *post-source decay* (PSD) zu detektieren, besitzt es auch eine Kollisionszelle für *collision induced dissociation* (CID). Der Arbeitsdruck liegt unterhalb von  $2 \times 10^{-6}$  mbar und wird durch eine Drehschieberpumpe sowie eine Turbomolekularpumpe erzeugt. Die Datenaufnahme erfolgt über einen 1 GHz Transientenrekorder. Über einen linearen und einen radialen Schrittmotor kann der Probenhalter in minimalen Schritten von  $100 \mu\text{m}$  bewegt und somit mittels Laser abgerastert werden. Zur Laser-Desorption wird ein Stickstoff-Laser mit einer Wellenlänge von 337 nm, einer Pulslänge von 4 ns und einer Pulsenergie von  $150 - 200 \mu\text{J}$  verwendet (*Spectra-Physics*, OEM VSL-337i, Repetitionsrate eingestellt auf 8 Hz, Strahlgröße  $3 \times 7 \text{ mm}^2$ ). Der Laserstrahl trifft in einem Einfallswinkel von  $30^\circ$  auf den Probenhalter auf. Die elliptische Fokusgröße beträgt etwa  $180 \times 60 \mu\text{m}^2$  und wurde bestimmt, indem die desorbierte Fläche einer mit Matrix beschichteten Probenplatte nach acht Laserschüssen unter dem Mikroskop ausgemessen wurde. Die mikroskopischen Aufnahmen sind in Abb. B.2 im Anhang gezeigt. Die Intensität, mit der der Laser die Probe trifft, kann über ein automatisiertes Graustufenfiltersystem über die mitgelieferte Software eingestellt werden.

### 2.1.1 Datenaufnahme

Die Massenspektren wurden im positiven Reflektron-Modus aufgenommen, in einem Massenbereich von  $m/z$  20 bis 1000. Die Beschleunigungsspannung betrug 20 kV, der Massenbereich wurde auf *niedrig* (bis 10 kDa) eingestellt. Es wurde keine Fokussierungsmasse gewählt und kein Massenbereich aussortiert. Pro Spektrum und Schrittmotoreinstellung, d.h. Desorptionsort wurden die Spektren von acht Laserschüssen aufsummiert. Die Schrittgröße betrug dabei 100  $\mu\text{m}$ . Die gewählte Laserintensität lag im Bereich von 80 %, dies entspricht etwa 160  $\mu\text{J}$  pro Puls.

Die Dauer der Datenaufnahme beträgt im Schnitt etwa 4 Sekunden pro Bildpunkt, d.h. bei  $100 \times 100$  Bildpunkten ca. 11 Stunden.

### 2.1.2 Datenverarbeitung und Analyse

Die Datenaufnahme und Analyse wurde mit Hilfe der beim Spektrometer mitgelieferten Imaging-Software, *MSPortrait* zur Datenaufnahme und *MSAnalyse* zur Datenanalyse unter dem Betriebssystem Solaris durchgeführt. Der Farbverlauf sowie der Kontrast der resultierenden Bilder wurde teilweise im Nachhinein mittels Adobe Photoshop<sup>®</sup> und MATLAB<sup>®</sup> angepasst, um eine differenziertere Darstellung zu erreichen.

## 2.2 Digitalmikroskop

Die mikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem Digitalmikroskop (*Bresser*, BR-Biolux-LCD-Mikroskop) durchgeführt.

## 2.3 Probenvorbereitung

### 2.3.1 Eingesetzte Chemikalien und Materialien

Acetonitril (ACN),  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxymizsäure (CHCA) und Trifluoressigsäure (TFA) wurden von Sigma-Aldrich bezogen. Das verwendete Wasser wurde doppelt

destilliert ( $ddH_2O$ ) und mittels Millipore Milli-Q Wasserreinigungssystem gereinigt.

### 2.3.2 Anfertigung der Fingerabdrücke und -spuren

#### Matrixauftragung

Für die Proben mit Matrix wurde eine gesättigte Lösung von CHCA in ACN/ $H_2O$  50:50 mit 0.1 % TFA mit einer Airbrush-Pistole in mehreren Schichten auf den Probenhalter aus Edelstahl aufgetragen und luftgetrocknet. Diese Methode liefert wesentlich kleinere Matrixkristalle als die *dried-droplet*-Methode, bei welcher der Probenhalter mit Matrixlösung benetzt und getrocknet wird (siehe dazu auch Abb. B.1 im Anhang für die sich ergebenden Matrixkristallgrößen). Die Fingerabdrücke wurden anschließend auf die getrocknete Matrixschicht aufgebracht. Wird die Matrix über die Fingerabdrücke gesprüht, können die Fingerabdrücke sehr leicht durch das Lösungsmittel der Matrix aufgelöst bzw. verschmiert werden.

#### Tintenfingerabdrücke

Für die Vergleichsfingerabdrücke wurde lediglich blaue Kugelschreibertinte und keine Matrix verwendet. Dafür wurde die Fingerkuppe gründlich mit Tinte gefärbt und der Finger auf ein Blatt Papier gedrückt, um überschüssige Tinte abzuwälen. Anschließend wurde der Fingerabdruck erstellt, indem der Finger leicht auf den Probenhalter gedrückt wurde.

#### Lipidreiche Fingerspuren

Für die lipidreichen Fingerabdrücke wurden die Fingerkuppen zunächst an der Stirn gerieben, so mit Talg beladen und anschließend leicht auf den Probenhalter gedrückt, um die Fingerspuren zu erstellen.

#### Verschwitzte Fingerspuren

Zunächst wurden die Hände mittels  $ddH_2O$  gründlich gereinigt und anschließend ein ungepudertes Nitrilhandschuh angezogen und für einige Minuten getragen, da-

mit die Finger feucht genug waren Fingerspuren zu hinterlassen. Es wurde keine Matrix verwendet.

## 2.4 Fingerabdruckerkennung

Für den Fingerabdruckerkennungstest wurde ein Tintenfingerabdruck auf Papier erstellt und bei einer Auflösung von 600 dpi mit einem Flachbettscanner optisch eingescannt. Dieser Abdruck wurde dann in eine Datenbank von 300 gescannten Fingerabdrücken verschiedener Personen eingefügt. Die per MSI erstellten Massenbilder wurden zunächst auf eine Auflösung von 500 dpi hochgerechnet und anschließend gegen die Datenbank abgeglichen. Somit konnte eine eindeutige Übereinstimmung mit dem gescannten Fingerabdruck gefunden werden. Die verwendete Software war die VeriFinger<sup>®</sup> 3.1 Demo Applikation, welche den VeriFinger<sup>®</sup> Algorithmus in Version 6.2 verwendet. Die Fingerabdruckdatenbank sowie die eingesetzte Software wurde von der Internetseite des Herstellers *NEUROtechnology* bezogen [178].



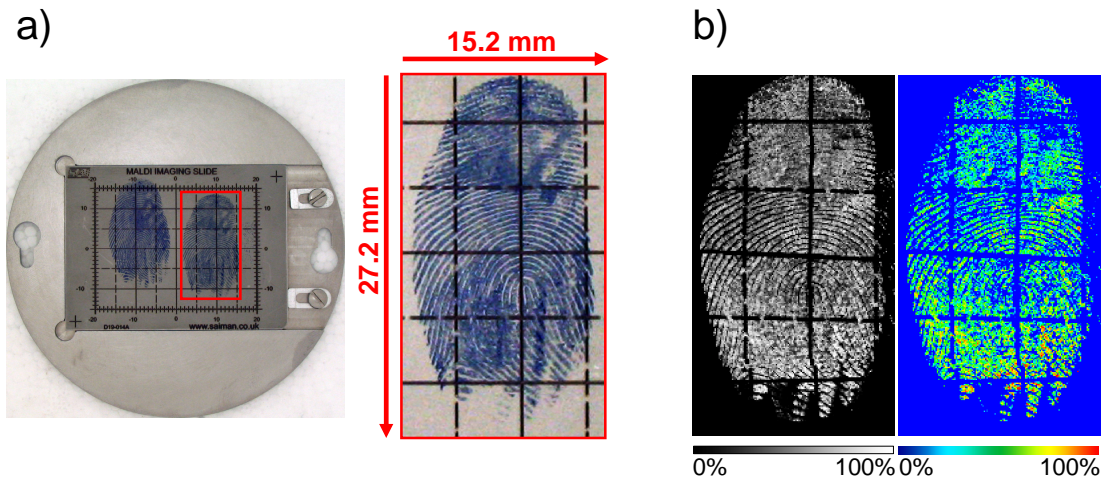
# Kapitel 3

## Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Blauer Tintenfingerabdruck

Als Referenz für die latenten Fingerspuren wurde zunächst ein Fingerabdruck mittels blauer Kugelschreibertinte erzeugt und massenspektrometrisch untersucht. Das aromatische Kation (monoisotopische Masse 372.2 Da) des Farbstoffes Methylviolett (Kristallviolett, C.I. 42535, Strukturformel siehe Abb. B.5 im Anhang), der häufig in Kugelschreibertinte eingesetzt wird, lässt sich auch ohne Matrix sehr leicht desorbieren und gibt im Massenspektrum intensive Signale. Ein Bild des Fingerabdrucks ist in Abb. 3.1 a) zu sehen. Es zeigt ein Foto des Probenhalters mit blauem Tintenfingerabdruck und seine Vergrößerung. Das korrespondierende Massenbild für das Kation des Tintenfarbstoff ist in Abb. 3.1 b) gezeigt. Auf der linken Seite ist das Intensitätsbild in Graustufen dargestellt und auf der rechten unter Verwendung einer Farbtabelle (*heat map*) eingefärbt. Das Bild wurde mit einer Rastergröße von  $100\ \mu\text{m}$  aufgenommen und hat eine Größe von  $272 \times 152$  Bildpunkten, was  $27.2 \times 15.2\ \text{mm}^2$  entspricht. Man erkennt, dass Foto und Massenbild denselben Detailgrad aufweisen. Das Gittermuster im Massenbild kommt durch den gravierten Probenhalter zustande. Der leichte Versatz der Gitterstruktur begründete sich durch eine nicht ganz fest aufliegende Probenplatte.

Weitere Massenbilder für den blauen Fingerabdruck sind in Abb. 3.2 zu sehen. Die Bilder sind nach absteigender Maximalintensität des selektierten  $m/z$  in den Massenspektren sortiert. In Abb. 3.2 a) ist zum Vergleich noch einmal das Bild für die Masse des Methylviolettions dargestellt. Dabei lieferte Methylviolett die intensivsten Signale im Vergleich zu den anderen hier dargestellten Ionen. Ab-

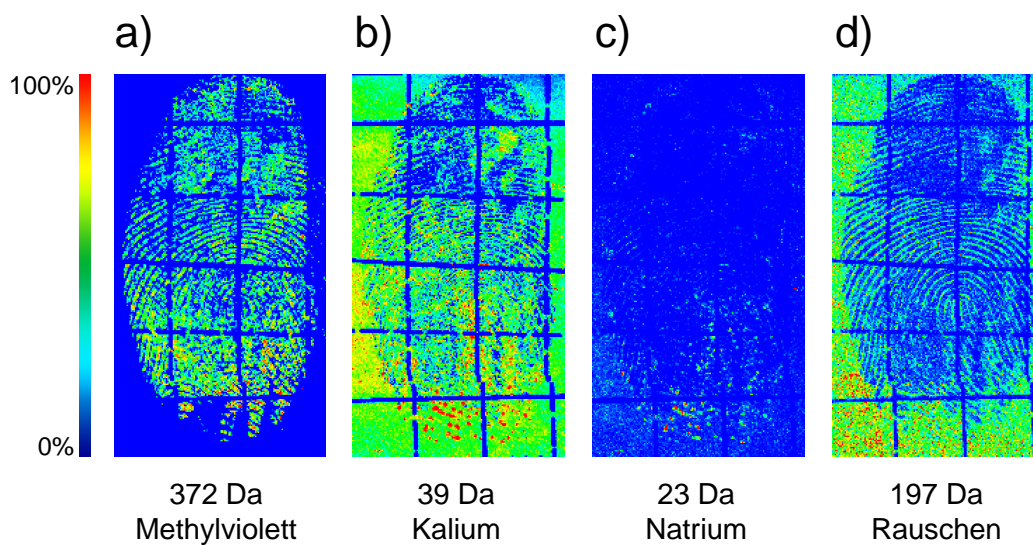


**Abbildung 3.1:** Photographie und Massenbild eines mit Tinte blau gefärbten Fingerabdruckes bei  $m/z$  372. Bild a) zeigt ein Foto des Probenhalters mit blauem Tintenfingerabdruck und seine Vergrößerung. Das korrespondierende Massenbild für das Kation des Tintenfarbstoff Methylviolett mit einer monoisotopischen Masse von 372.2 Da ist in Bild b) abgebildet. Links das Intensitätsbild in Graustufen und rechts dargestellt unter Verwendung einer Farbtabelle (*heat map*). Das Bild wurde mit einer Rastergröße von  $100\ \mu\text{m}$  aufgenommen und hat eine Größe von  $272 \times 152$  Bildpunkten, was  $27.2 \times 15.2\ \text{mm}^2$  entspricht.

bildung b) zeigt das Massenbild für das Kaliumkation, und Abb. c) für das Natriumkation. Beide Bilder zeigen eine starke Ionenkonzentration im unteren Teil des Bildes (dicke rote Punkte) in einem Bereich, in dem keine Tinte auf den Finger aufgetragen wurde. Dies lässt auf die Detektion von Schweißsporen schließen. Die Maximalintensität vom Natriumion in den Massenspektren ist etwa zehnmal kleiner als die vom Kaliumion. Abb. d) zeigt das Massenbild bei einer willkürlich selektierten Masse von 197 Da, welche im Massenspektrum Rauschen entspricht. So ist Bild d) prinzipiell ein invertiertes Bild von a), denn dort wo Tinte aufgetragen wurde, war weniger Rauschen (Probenhalteroberfläche bzw. Verunreinigungen) zu detektieren.

Die vermutliche Detektion von Schweißsporen, d.h. die Detektion von punktförmigen Ansammlungen hoher Kaliumkonzentration, ist beachtlich, denn die hier verfügbare Auflösung sollte nicht ausreichen, um die Schweißsporen in ausreichen-

der Qualität von den Papillarlinien zu unterscheiden. Der Fokus auf die Auflösung allein vernachlässigt aber die Funktion der Schweißporen, welche hier deutlich dargestellt wird. Weiterhin ist eine Verunreinigung in dieser geordneten Form praktisch auszuschließen und somit der Schluss naheliegend, dass es sich um durch Schweißporen erzeugte Schweißtropfen handelt. Weitere Untersuchungen dazu sind im Abschnitt 3.4 beschrieben. Dieses Ergebnis unterstreicht die Leistung der MSI besonders auch lebende Systeme untersuchen zu können.

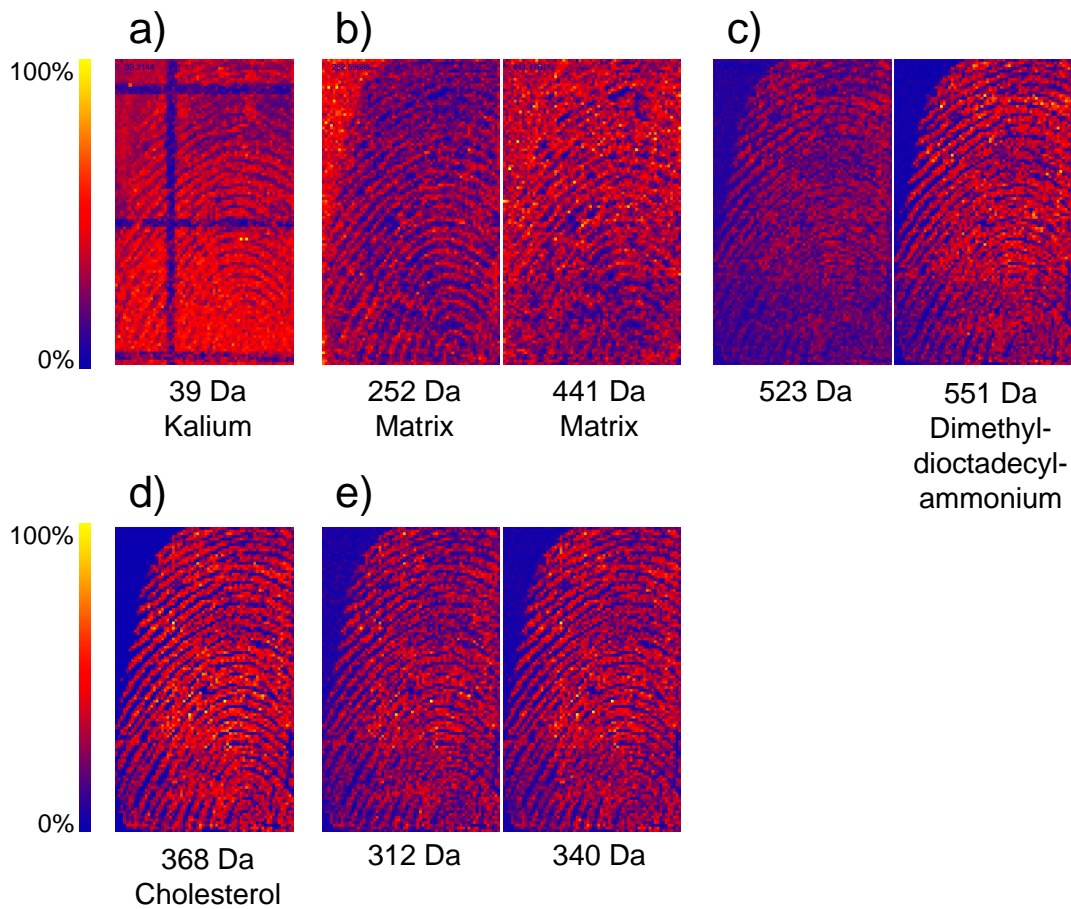


**Abbildung 3.2:** Massenbilder des blau gefärbten Fingerabdruckes für verschiedene Massen. Die Bilder sind nach absteigender Maximalintensität des selektierten  $m/z$  in den Massenspektren sortiert. In Bild a) ist zum Vergleich noch einmal das Bild für die Masse des Methylviolett-kations dargestellt. Abbildung b) zeigt das Massenbild für das Kaliumkation, und Abb. c) für das Natriumkation. Beide Bilder zeigen eine starke Ionenkonzentration im unteren Teil des Bildes (dicke rote Punkte) in einem Bereich, wo keine Tinte auf den Finger aufgetragen wurde. Dies lässt auf die Detektion von Schweißporen schließen. Die Maximalintensität vom Natriumion im Massenspektrum ist etwa zehnmal kleiner als die vom Kaliumion (siehe Abschnitt 3.4). Die Abb. d) zeigt das Massenbild bei einer willkürlich selektierten Masse von 197 Da, welche im Massenspektrum Rauschen entspricht. So ist Bild d) prinzipiell ein invertiertes Bild von a). Denn dort, wo Tinte aufgetragen wurde, war weniger Rauschen (Probenhalteroberfläche bzw. Verunreinigungen) zu detektieren. Zu den Abmessungen der Bilder siehe Abb. 3.1.

Im Folgenden werden latente Finger Spuren, d.h. schwer sichtbare bis unsichtbare Fingerabdrücke, untersucht.

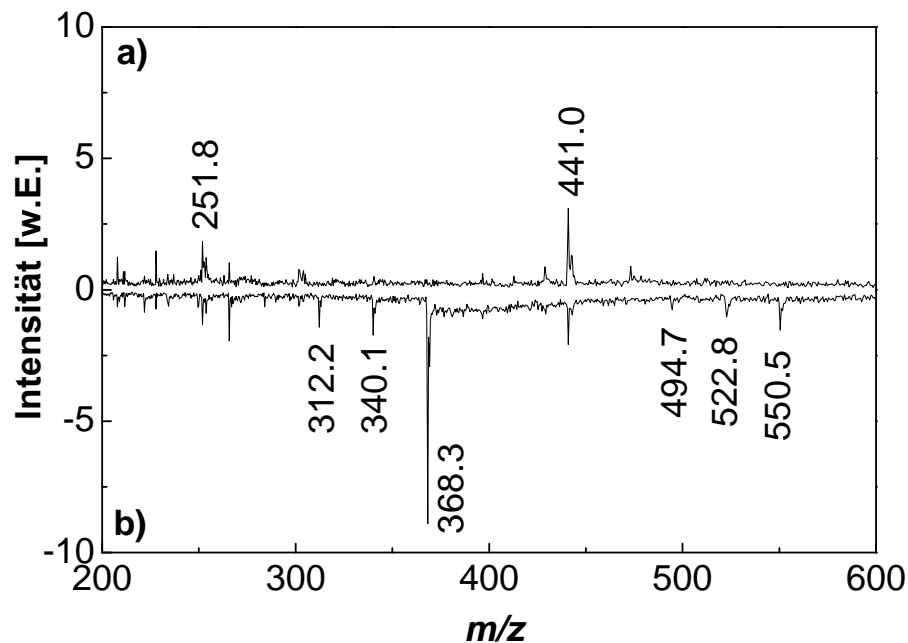
## 3.2 Lipidreiche Finger Spuren mit Matrix

Zunächst wurden Massenspektren einer lipidreichen Finger Spur erzeugt. Dazu wurde der Finger vor dem Aufpressen auf den mit Matrix eingesprühten Probenhalter an der Stirn gerieben, um ihn mit Talg einzureiben. In Abb. 3.3 sind die erzeugten Massenspektren aufgelistet. Abb. 3.3 a) zeigt das Massenspektrum für die Masse des Kaliumions. Dieses ist in jeder Finger Spur präsent und kann fast immer als Masse selektiert werden, um ein Bild der Finger Spur zu generieren. Hier weist es aufgrund des Matrixuntergrunds im gesamten Bild eine starke Intensität auf, weshalb die Finger Spur nur schlecht erkennbar ist. Interessanterweise ist das Gittermuster des Probenhalters noch deutlich erkennbar. Abb. 3.3 b) zeigt Massenspektren für Matrix-Salz-Addukte. Es ist erkennbar, dass Matrix überall dort fehlt, wo die Finger Spur verläuft. In Abb. 3.3 c) ist das Massenspektrum für das vermutete Dimethyldioctadecylammonium dargestellt. Dieses wird z.B. häufig als Detergenz in Haarshampoo und Kosmetikprodukten eingesetzt. Die Masse von 523 Da kann zu einem Abbauprodukt dessen gehören oder zu einer Fettsäure. Das Massenspektrum für die Masse von Cholesterol ist in Abb. 3.3 d) abgebildet. Cholesterol ist bei weitem das am meisten vorkommende Sterol in tierischem Gewebe und ist hier deutlich auf der gesamten Finger Spur zu erkennen. Die Massenspektren für zwei Fettsäuren sind in Abb. 3.3 e) zu sehen. Im Ganzen wurde die Finger Spur in guter Qualität und detailreich abgebildet. Da Cholesterol und Dimethyldioctadecylammonium mit großer Intensität detektiert wurden, lässt dies darauf schließen, dass das Gesicht der Person, die ihren Fingerabdruck zur Verfügung gestellt hatte, mit Hautcreme eingerieben war.



**Abbildung 3.3:** Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur aufgebracht auf eine Matrixschicht. Abb. a) zeigt das Massenbild für die Masse des Kaliums. Kalium weist aufgrund des Matrixuntergrunds im gesamten Bild starke Intensität auf, weshalb die Fingerspur nur schlecht erkennbar ist. Interessanterweise ist das Gittermuster des Probenhalters noch deutlich erkennbar. Abb. b) zeigt Massenbilder für Matrix-Salz-Addukte. Es ist erkennbar, dass Matrix überall dort fehlt, wo die Fingerspur verläuft. In Abb. c) ist das Massenbild für das Dimethyldioctadecylammonium dargestellt. Die Masse von 523 Da kann zu einem Abbauprodukt dessen gehören oder zu einer Fettsäure. Das Massenbild für die Masse von Cholesterol ist in Abb. d) abgebildet. Auch hier ist die Fingerspur deutlich sichtbar. Die Massenbilder für zwei Fettsäuren sind in e) zu sehen. Die Bilder haben eine Größe von  $113 \times 66$  Bildpunkten ( $11.3 \times 6.6 \text{ mm}^2$ ). Zugehörige Massenspektren sind in Abb. 3.4 zu finden.

Repräsentativ sind in Abb. 3.4 die korrespondierenden Massenspektren für zwei Bildpunkte der lipidreichen Fingerspur abgebildet. Im positiven Bereich a) und nach oben aufgetragen ist das Spektrum für den Rasterpunkt 1,1 (erster Rasterpunkt, Ursprung links oben), welches überwiegend Matrix-Salz-Addukte (CHCA) zeigt. Nach unten b) im negativen Bereich aufgetragen ist das Spektrum für Position 36,78, welche sich mitten auf der Fingerspur befindet. Es zeigt eine starke Intensität für Cholesterol bei  $m/z$  368.3. Auch das Signal für das Dimethyldioctadecylammoniumion bei  $m/z$  550.5 ist relativ stark. Die übrigen beschrifteten Signale sind vermutlich Fettsäuren zuzuordnen.



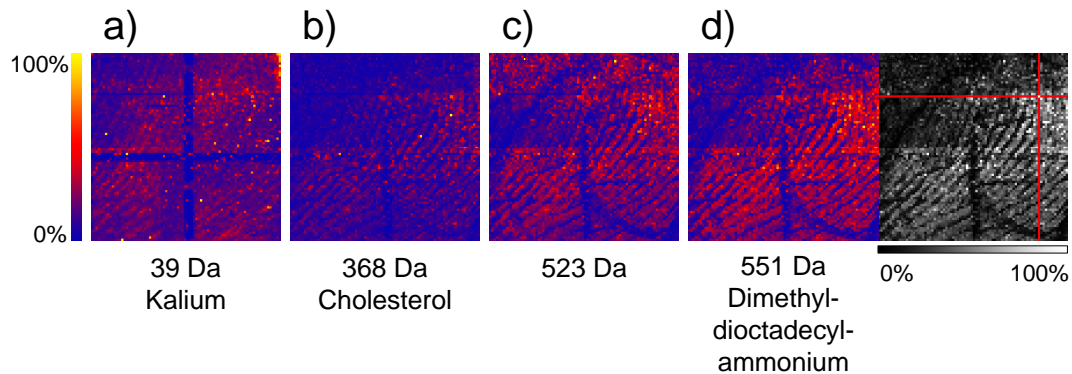
**Abbildung 3.4:** Massenspektren einer lipidreichen latenten Fingerspur auf Matrix. Repräsentative Massenspektren für zwei Rasterpunkte der lipidreichen Fingerspur (siehe auch Abb. 3.3). Nach oben aufgetragen a) ist das Massenspektrum für den Rasterpunkt 1,1 (erster Rasterpunkt, Ursprung links oben), welches überwiegend Matrix-Salz-Addukte (CHCA) zeigt. Nach unten b) im negativen Bereich aufgetragen ist das Spektrum für Position 36,78, welche sich mitten auf der Fingerspur befindet. Es zeigt eine starke Intensität für Cholesterol bei  $m/z$  368.3. Ebenfalls ist das Signal für das Dimethyldioctadecylammoniumion bei  $m/z$  550.5 relativ stark. Die übrigen beschrifteten Signale sind vermutlich Fettsäuren zuzuordnen.

### 3.3 Vergleich lipidreicher Fingerspuren ohne Matrix von unterschiedlichen Personen

Im Folgenden wird darauf eingegangen, ob die Verwendung von Matrix bei der Untersuchung von Fingerspuren zwingend nötig ist. Weiterhin werden Fingerspuren von zwei Personen verglichen, um zu zeigen, dass bzgl. der Massenbilder von einem chemischen Fingerabdruck im doppelten Sinne gesprochen werden kann.

Es wurden Fingerspuren derselben Person, von der die Fingerspuren in Abb. 3.3 stammen, ohne Verwendung von Matrix untersucht. Das Verwenden von Matrix unterstützt im Allgemeinen nur die Analytik und sollte keinen Einfluss auf den Detailgrad der ermittelten Fingerspur haben. Die Güte des Fingerabdruckes hängt von der aufgetragenen Menge an Sebum und auch vom verwendeten Aufpressdruck ab. Ebenso gibt es unterschiedliche Resultate, wenn der Finger abgerollt wird oder nicht. In der Abb. 3.5 sind die Massenbilder ohne Verwendung von Matrix erstellt worden. Der Strukturdetailgrad der Fingerspuren reicht für eine Identifizierung nicht aus. Trotzdem ist es möglich die Spuren einer Person zuzuordnen, wenn die zugehörigen Massenspektren untersucht werden. Alle dargestellten Massen wurden bereits bei Abb. 3.3 besprochen. Abb. 3.5 d) rechts zeigt den markierten Rasterpunkt zu dem das Massenspektrum von Abb. 3.7 b) gehört.

In der Abb. 3.6 sind Massenbilder von lipidreichen Fingerspuren einer zweiten Person aufgeführt. Auch hier wurde keine Matrix verwendet. Der Detailgrad der Massenbilder ist gut, allerdings zeigen die Bilder nur einen kleinen Ausschnitt der Fingerspur, was eine Identifizierung erschwert. Die Masse in Abb. c) kann einem Picolinyolester (Picolinyl-5-docosenoat) zugeordnet werden (siehe auch Abb. 3.14). Wie gehabt, zeigt Abb. 3.6 c) rechts den markierten Rasterpunkt, zu dem das Massenspektrum von Abb. 3.7 a) gehört. Weiterhin soll dieses Beispiel veranschaulichen, zu welchen praktischen Problemen die nachträgliche Anwendung einer Matrix führen kann. Wie zu sehen ist, weisen alle Massenbilder dieser Reihe im oberen Teil eine stark verminderte Papillarstrukturqualität auf. Der untere Teil der Fingerspur wurde mit einem Blatt Papier abgedeckt und der obere mit Matrixlösung mittels Airbrush-Technik besprüht. Dadurch wurde die Papillarlinienstruktur aufgelöst bzw. stark mit Matrix überdeckt. Somit ist bei der Anwendung von Matrix nach diesem Verfahren Vorsicht geboten, um die Fingerspur nicht zu zerstören. Wie



**Abbildung 3.5:** Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Verwendung von Matrix. Der strukturelle Detailgrad der Massenbilder reicht für eine Identifizierung nicht aus. Unter Verwendung der zugehörigen Massenspektren kann dies trotzdem erfolgen. Die aufgeführten Massen wurden bereits in bei Abb. 3.3 besprochen. Abb. d) rechts zeigt den markierten Rasterpunkt, zu dem das Massenspektrum von Abb. 3.7 b) gehört. Die Bilder haben eine Größe von  $82 \times 81$  Bildpunkten ( $8.2 \times 8.1 \text{ mm}^2$ ).

bereits geschrieben, wird die Matrix nicht benötigt, um die Fingerspur sichtbar zu machen. Auch scheint das Aufbringen von Matrix bzgl. der Papillarstruktur eher Schwierigkeiten zu bereiten. Zur Analyse der chemischen Fingerspurkomponenten wird die Anwendung von Matrix auch nicht zwingend benötigt, wie im Folgenden gezeigt wird.

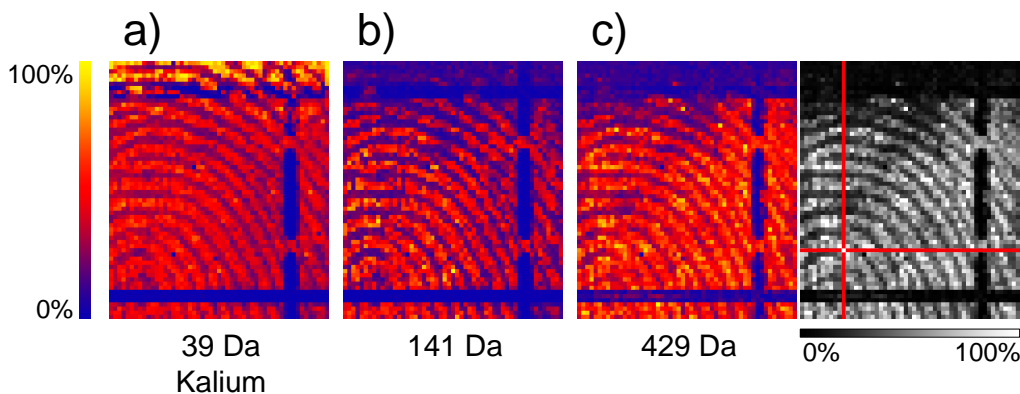
Werden Massenspektren von Fingerspurmassenbildern unterschiedlicher Personen verglichen, so kann eine Identifizierung anhand der chemischen Zusammensetzung der Fingerspur erfolgen, falls die Qualität der Papillarstruktur dies nicht zulassen sollte. Dies wird durch die Massenspektren in Abb. 3.7 verdeutlicht. Diese Spektren sind repräsentativ für die dazugehörigen Massenbilder. Das Massenspektrum in Abb. 3.7 a) gehört zu den Massenbildern in Abb. 3.6 und das Spektrum in Abb. 3.7 b) gehört zu den Bildern in Abb. 3.5. Der Unterschied zwischen den Spektren ist deutlich sichtbar. Während Spektrum a) Signale von Picolinylestern um  $m/z$  429.3 zeigt (siehe Abb. 3.14), zeigt b) Signale von Cholesterol bei  $m/z$  386.3 und dem Dimethyldioctadecylammoniumion bei  $m/z$  550.5 (vergleiche Abb. 3.4). Weiterhin weist das Signal bei  $m/z$  177.8 auf ein Kaliumaddukt von Salicylsäure hin. Salicylsäure findet in Gesichtskosmetika häufig Verwendung als Mittel gegen Akne. Da die Fingerspuren und Massenbilder alle an verschiedenen Tagen erstellt



### 3.3 Vergleich lipidreicher Fingerspuren ohne Matrix von unterschiedlichen Personen

wurden, die Massenspektren und somit die Fingerspuren aber zwei verschiedenen Personen zugeordnet werden können, zeigt dies, dass die mittels MSI gewonnene chemische Information eine starke Hilfestellung bei einer Identifizierung liefern kann. So kann in diesem Fall aufgrund von unterschiedlichen Hauttypen bzw. der Verwendung oder nicht Verwendung von Hautcremes eine Zuordnung der Fingerspuren zur jeweiligen Person erfolgen.

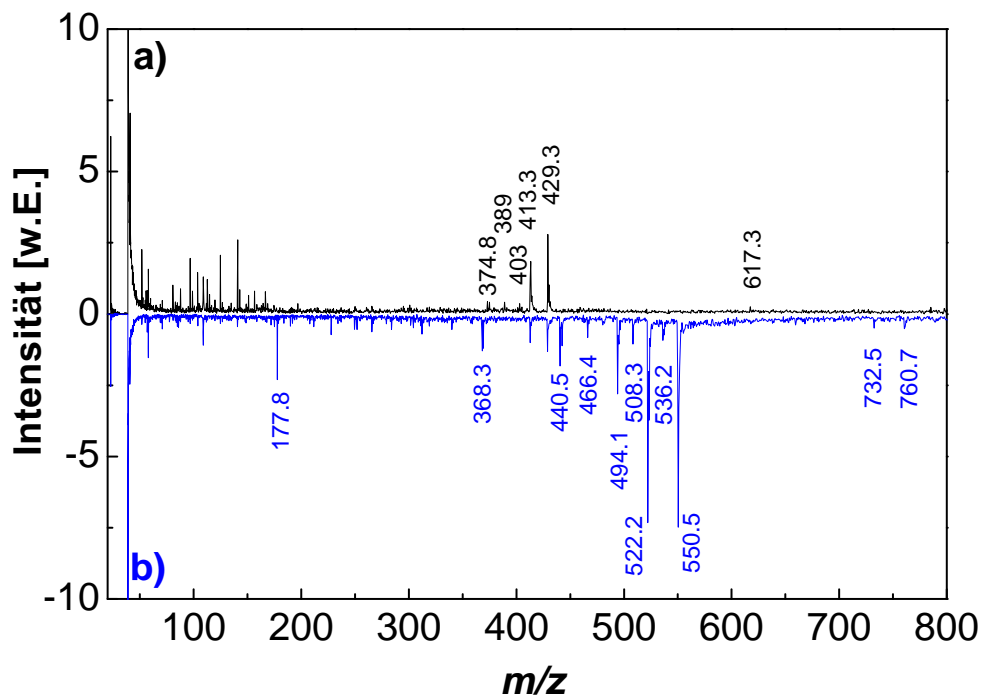
Weiterhin wurde dargestellt, dass die Aufbringung von Matrix auf Fingerspuren vorsichtig und unter Auswahl geeigneter Verfahrensprotokolle erfolgen muss, um die Papillarstruktur der Fingerspuren nicht zu zerstören. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Matrix nicht zwingend erforderlich ist. Dies wird beim Vergleich der Massenspektren aus Abb. 3.4 und Abb. 3.7 b) deut-



**Abbildung 3.6:** Massenspektrenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Verwendung von Matrix. Der strukturelle Detailgrad der Massenspektrenbilder ist hoch. Allerdings erschwert der kleine Ausschnitt der Fingerspur eine Identifizierung. Die Masse in Abb. c) kann einem Picolinylester (Picolinyl-5-docosenoat) zugeordnet werden (siehe auch Abb. 3.14). Die Abb. c) zeigt rechts den markierten Rasterpunkt, zu dem das Massenspektrum von Abb. 3.7 a) gehört. Alle Massenspektrenbilder dieser Reihe weisen im oberen Teil eine stark verminderte Papillarstrukturqualität auf. Der untere Teil der Fingerspur wurde mit einem Blatt Papier abgedeckt und der obere mit Matrixlösung mittels Airbrush-Technik besprüht. Dadurch wurde die Papillarlinienstruktur aufgelöst bzw. stark mit Matrix überdeckt. Dies soll veranschaulichen, zu welchen praktischen Problemen die nachträgliche Anwendung von Matrix führen kann. Die Bilder haben eine Größe von  $62 \times 53$  Bildpunkten ( $6.2 \times 5.3 \text{ mm}^2$ ).

lich, denn das Spektrum aus der letzteren Abbildung weist mindestens genauso viele Signale auf.

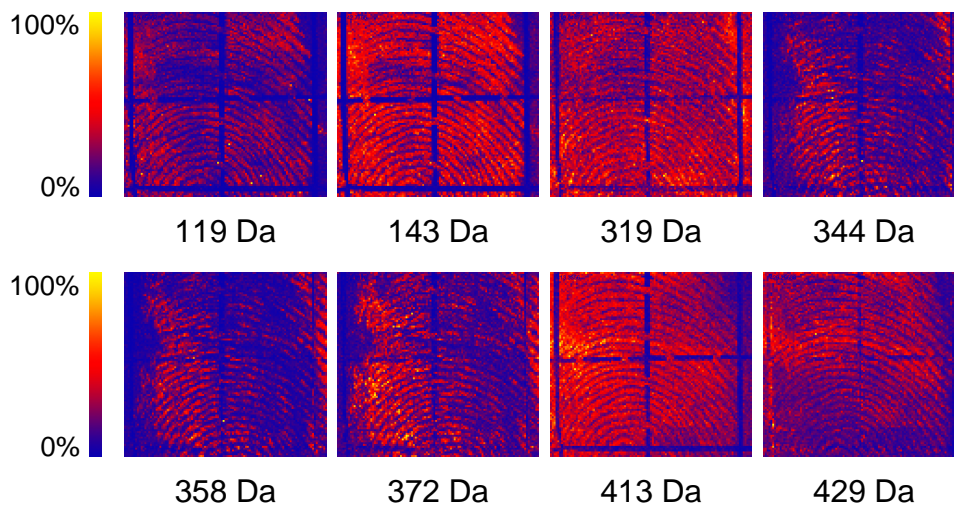
Um diese Ergebnisse nochmals zu unterstützen, wurden lipidreiche Fingerspuren angefertigt, bei denen das Gesicht einige Stunden zuvor mittels Hautcreme (Nivea) eingerieben wurde. Somit sollten in der Fingerspur zusätzlich Bestandteile der Creme gefunden werden. Die resultierenden Massenbilder sind in Abb. 3.8 dargestellt. Die Massen von 319 Da bis 372 Da sind der Hautcreme zuzuordnen. Das repräsentative zugehörige Massenspektrum wird in Abb. 3.9 b) mit dem Spektrum der



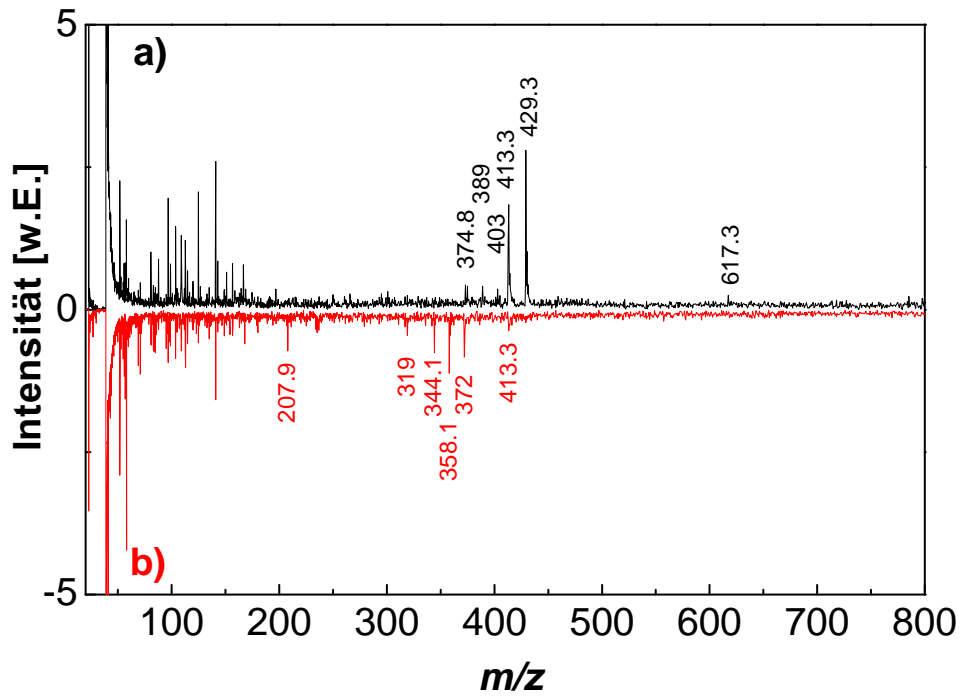
**Abbildung 3.7:** Massenspektren der lipidreichen latenten Fingerspuren von zwei unterschiedlichen Personen. Es wurde keine Matrix verwendet. Die Spektren sind repräsentativ für die dazugehörigen Massenbilder. Spektrum a) gehört zu den Massenbildern in Abb. 3.6 und Spektrum b) gehört zu den Bildern in Abb. 3.5. Der Unterschied zwischen den Spektren ist deutlich sichtbar. Während Spektrum a) Signale von Picolinylestern um  $m/z$  429.3 zeigt (siehe Abb. 3.14), zeigt b) Signale von Cholesterol bei  $m/z$  386.3 und dem Dimethyldioctadecylammoniumion bei  $m/z$  550.5 (siehe Abb. 3.4). Weiterhin weist das Signal bei  $m/z$  177.8 auf ein Kaliumaddukt von Salicylsäure hin.

### 3.3 Vergleich lipidreicher Fingerspuren ohne Matrix von unterschiedlichen Personen

Fingerspur ohne Creme aus Abb. 3.7 a) verglichen. Bis auf einen Bereich in Spektrum b) um  $m/z$  350 sind sich beide Spektren ähnlich. Die Signale von  $m/z$  319 bis  $m/z$  372 lassen sich Bestandteilen der Hautcreme zuordnen und sind vermutlich Kaliumaddukte von Mineralöl. Durch diese Ergebnisse wird gezeigt, dass der mittels MSI sichtbar gemachte chemische Fingerabdruck personenspezifisch sein kann und dass er für eine Personenidentifizierung hilfreich ist.



**Abbildung 3.8:** Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur mit Gesichtscreme ohne Verwendung von Matrix. Der strukturelle Detailgrad der Massenbilder ist hoch. Die Massen von 319 Da bis 372 Da sind der Hautcreme zuzuordnen. Die Bilder haben eine Größe von  $100 \times 109$  Bildpunkten ( $10.0 \times 10.9 \text{ mm}^2$ ).



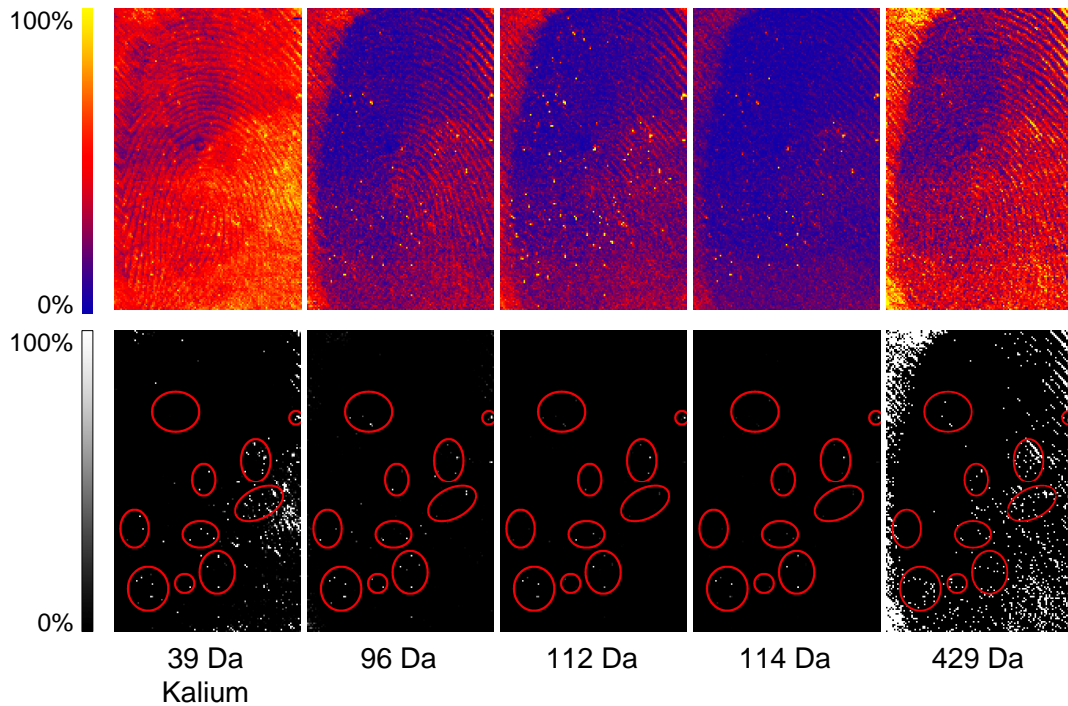
**Abbildung 3.9:** Massenspektren der lipidreichen latenten Fingerspuren mit und ohne Gesichtscrème von ein und derselben Person. Die Spektren sind repräsentativ für die dazugehörigen Massenbilder. Spektrum a) gehört zu den Massenbildern in Abb. 3.6 ohne Hautcrème und Spektrum b) gehört zu den Bildern in Abb. 3.8 mit Crème. Bis auf einen Bereich um  $m/z$  350 sind sich die Spektren ähnlich. Die Signale von  $m/z$  319 bis  $m/z$  372 lassen sich Bestandteilen der Hautcrème zuordnen und sind vermutlich Kaliumaddukte von Mineralöl.

## 3.4 Detektion von Hautporen

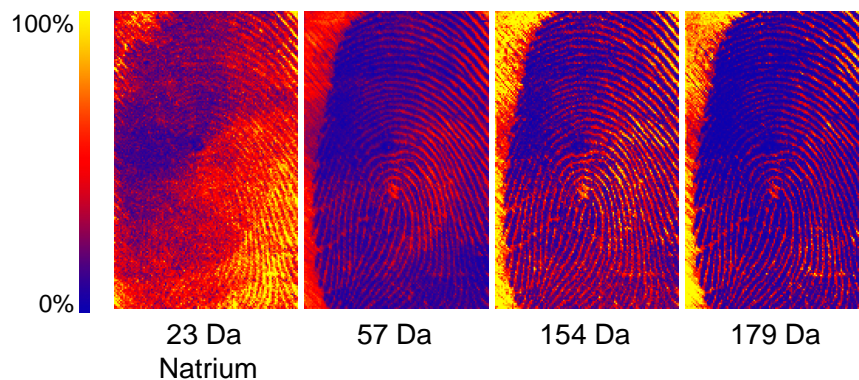
Wie bereits zu Abb. 3.2 im Abschnitt 3.1 angesprochen, wurden bei diesem Massenbild vermutlich Schweißdrüsenporen oder Talgdrüsenporen erkannt. Auch wenn die Auflösung der MSI in unserem Fall nicht ausreichend sein sollte, Schweißporen von Papillarlinien zu unterscheiden, so können doch erzeugte Schweißtropfen detektiert und somit die Schweißporen lokalisiert werden. Dieses Level 3 Merkmal könnte eine Identifizierung anhand der Fingerspur unterstützen.

Die Massenbilder einer weiteren lipidreichen Fingerspur sind in Abb. 3.10 aufgeführt. Dabei wurde der Abdruck auf die Rückseite des Probenhalters aufgebracht, um das Gittermuster der Vorderseite nicht im Massenbild wiederzufinden. Deutlich erkennbar sind die Papillarlinien der Fingerspur und viele vereinzelte Punkte hoher Intensität, die auf den Linien liegen. Der Kontrast der abgebildeten Graustufenbilder wurde stark erhöht, um die Punkte besser sichtbar zu machen. Punkte, die in allen Massenbildern an gleicher Stelle vorkommen, wurden rot umrandet. Die Zuordnung von Kalium ist eindeutig. Die Masse von 429 Da lässt sich einem Picolinylester zuordnen (Picolinyl-5-docosenoat, siehe auch Abb. 3.14). Die übrigen Massen können Abbauprodukten von Fettsäuren oder Fettsäureestern zugeordnet werden.

Das Massenbild für die Masse des Natriumions in Abb. 3.11 weist keine Übereinstimmung in den Punktlokalationen auf. Dies könnte heißen, dass es sich deshalb bei den detektierten Punkten nicht um Schweißporen handelt. Auch wenn die Schweißsekretion von Natriumionen im Durchschnitt viermal größer ist als die von Kaliumionen [179], so ist aber zu beachten, dass die Desorbierbarkeit von Kaliumionen im Vergleich zu Natriumionen um etwa einen Faktor 30 größer ist (siehe dazu Abschnitt 3.4 in Teil II). Somit könnte es durchaus sein, dass hier Schweiß- oder Talgdrüsenporen sichtbar gemacht wurden.



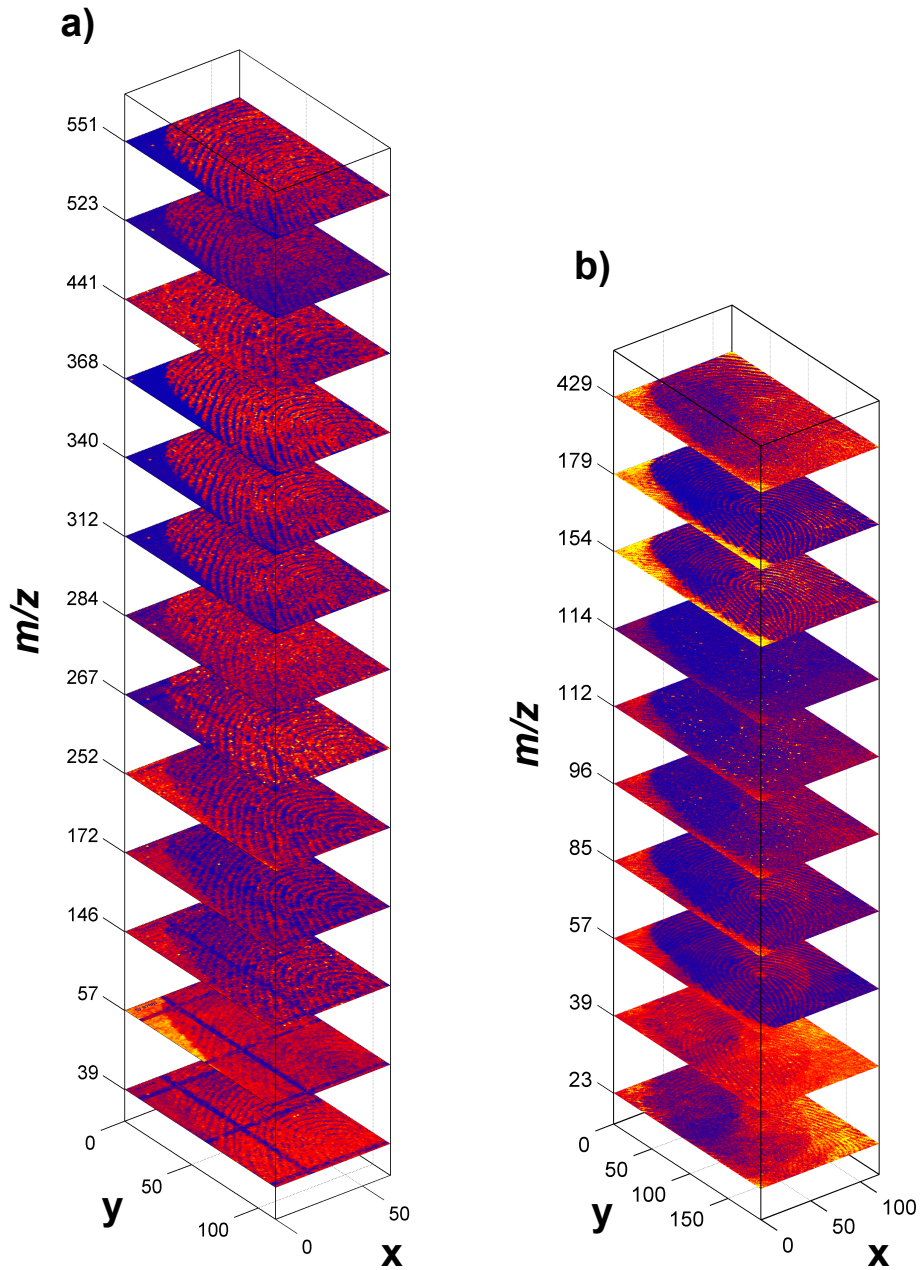
**Abbildung 3.10:** Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Matrix. Deutlich erkennbar sind die Papillarlinien der Fingerspur und viele vereinzelte Punkte hoher Intensität, die auf den Linien liegen. Der Kontrast der abgebildeten Graustufenbilder wurde stark erhöht, um die Punkte besser sichtbar zu machen. Punkte, die in allen Massenbildern an gleicher Stelle vorkommen, wurden rot umrandet. Die Bilder haben eine Größe von  $193 \times 119$  Bildpunkten ( $19.3 \times 11.9 \text{ mm}^2$ ).



**Abbildung 3.11:** Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Matrix. Das Massenbild für 57 Da wurde für die Fingerabdruckererkennung ausgewählt (siehe Abschnitt 3.7). Die Bilder haben eine Größe von  $193 \times 119$  Bildpunkten ( $19.3 \times 11.9 \text{ mm}^2$ ).

## 3.5 Vergleich lipidreicher Fingerspuren mit und ohne Matrix

Zum Vergleich der Massenspektren der lipidreichen Fingerspuren mit Matrix aus Abb. 3.3 mit denen ohne Matrix aus Abb. 3.10 sind sie in der Abbildung 3.12 gegenübergestellt. In den Massenspektren der lipidreichen latenten Fingerspur, aufgebracht auf eine Matrixschicht, in Abb. 3.12 a) lässt sich die Fingerspur aufgrund des Matrixuntergrundes nur schwer erkennen. Im Vergleich dazu ist der erreichte Detailgrad der Fingerspur in den Massenspektren ohne Matrix, dargestellt in Abb. 3.12 b), wesentlich höher und die Papillarlinien sind deutlich erkennbar.



**Abbildung 3.12:** Vergleich von Massenbildern einer lipidreichen latenten Fingerspur mit und ohne Matrix. In der Abb. a) wurden die Fingerspuren auf eine Matrixschicht aufgebracht. Die Fingerspur lässt sich aufgrund des Matrixuntergrundes nur schwer erkennen. Im Vergleich dazu ist der Detailgrad der Fingerspur in den Massenbildern von Abb. b) sehr hoch und die Papillarlinienstruktur eindeutig sichtbar. Die Bilder in Abb. a) haben eine Größe von  $113 \times 66$  Bildpunkten ( $11.3 \times 6.6 \text{ mm}^2$ ) und die in Abb. b) eine Größe von  $193 \times 119$  Bildpunkten ( $19.3 \times 11.9 \text{ mm}^2$ ).

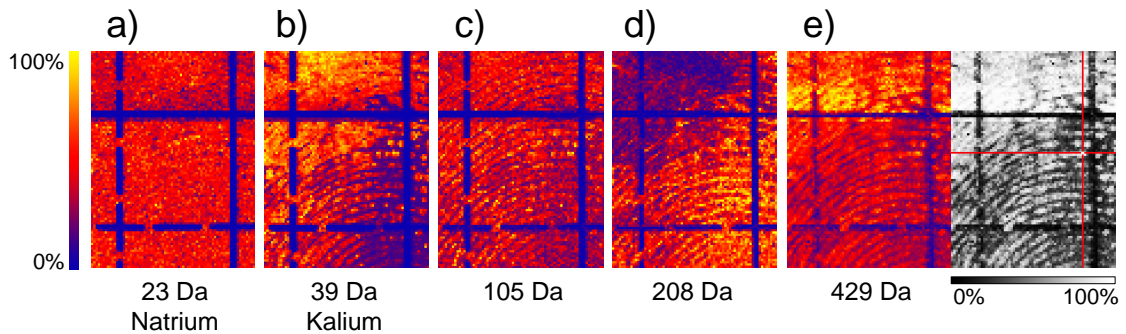


## 3.6 Verschwitzte Fingerspuren

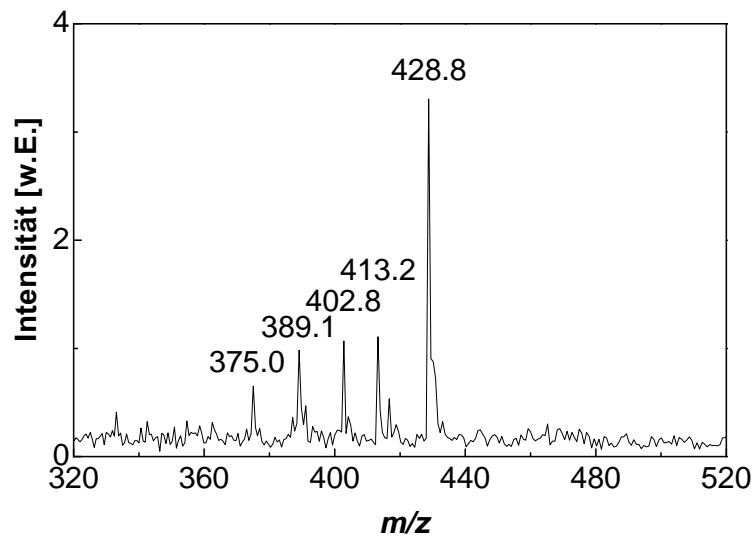
Als Gegenbeispiel zu den lipidreichen Fingerspuren wurden feuchte, verschwitzte Fingerspuren untersucht. Die erzeugten Massenbilder sind in Abb. 3.13 dargestellt. Auch ohne viel fettige Komponenten in der Fingerspur, die eine Papillarlinienstruktur aufrecht erhalten könnten, ist eine Linienstruktur deutlich zu sehen. Da der Finger beim Erstellen der Fingerspur sehr feucht war und nach oben abgerollt wurde, blieb eine kleine Schweißpfütze im linken oberen Teil der Spur zurück. Nach dem Trocknen sind dort fast keine strukturellen Details erhalten geblieben. Insgesamt sind die Fingerspuren daher relativ unscharf und verschmiert. Dies wird besonders durch Abb. 3.13 b) gut illustriert. Die getrocknete Schweißpfütze hat im linken oberen Bildbereich sehr viel Kaliumsalz zurückgelassen. Für die Masse von 105 Da in c) ist eine Linienstruktur erkennbar, die interessanterweise über das gesamte Bild erhalten bleibt. Diese Lipidkomponente scheint also schwer wasserlöslich zu sein. Im Gegensatz dazu zeigt Abb. d) nur erhaltene Linienstruktur im rechten unteren Bildbereich, also komplementär zu Abb. b). Es handelt sich bei dieser Komponente wohl um eine Fettsäure und diese scheint gut wasserlöslich zu sein, weil die durch sie erzeugte Linienstruktur durch die Schweißpfütze aufgelöst wurde. Die Abb. e) zeigt das Massenbild eines zugeordneten Picolinylesters mit 429 Da. Rechts daneben ist ein kontrastverbessertes Graustufenbild mit markiertem Bildpunkt, für den das Massenspektrum in Abb. 3.14 zugehörig ist.

Das zugehörige Massenspektrum für den Rasterpunkt 57,44 ist in Abb. 3.14 präsentiert. Die hochmassigen Komponenten können folgenden Picolinylestern zugeordnet werden:  $m/z$  375.0 Picolinyloctadecanoat,  $m/z$  389.1 Picolinylnonadecanoat,  $m/z$  402.8 Picolinylicosanoat,  $m/z$  413.2 Picolinylnonadecanoat und für  $m/z$  428.8 Picolinylnonadecanoat.

Dieses Beispiel zeigt noch einmal deutlich die Vorteile der MSI. Die geringen Strukturdetails der Fingerspur konnten durch die Information der chemischen Zusammensetzung der Spur ergänzt werden. Neben der Analyse der Schweißkomponenten, konnte auch eine Aussage über deren Wasserlöslichkeit getroffen werden.



**Abbildung 3.13:** Massenbilder einer verschwitzten latenten Fingerpur ohne Matrix. Das Massenbild für Natrium in Abb. a) zeigt keine Linienstruktur. Für Kalium in b) ist eine deutliche Linienstruktur zu erkennen. Dabei ist die Konzentration von Kalium besonders im Bildbereich links oben sehr hoch. Für die Masse von 105 Da in c) ist eine Linienstruktur erkennbar, die über das gesamte Bild erhalten bleibt. Im Gegensatz dazu zeigt Abb. d) nur erhaltene Linienstruktur im rechten unteren Bildbereich, also komplementär zu b). Die Abb. e) zeigt das Massenbild eines zugeordneten Picolinylesters mit 429 Da. Rechts daneben ist ein kontrastverbessertes Graustufenbild mit markiertem Bildpunkt, für den das Massenspektrum in Abb. 3.14 zugehörig ist. Die Bilder haben eine Größe von  $95 \times 72$  Bildpunkten ( $9.5 \times 7.2 \text{ mm}^2$ ).

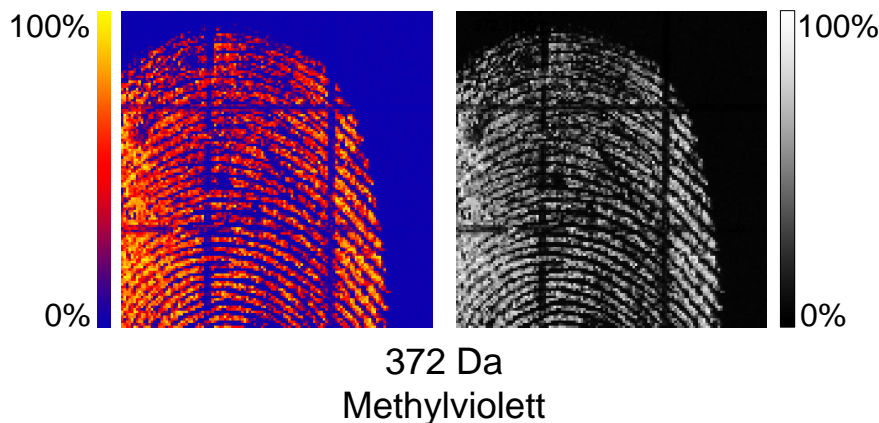


**Abbildung 3.14:** Massenspektrum der verschwitzten Fingerpur bei Rasterpunkt 57,44 (Ursprung links oben). Siehe auch Abb. 3.13 e) für die genaue Rasterpunktlage. Das Spektrum zeigt mehrere Signale, die Picolinylestern zugeordnet werden können:  $m/z$  375.0 Picolinyl-octadecanoat,  $m/z$  389.1 Picolinyl-nonadecanoat,  $m/z$  402.8 Picolinyl-icosanoat,  $m/z$  413.2 Picolinyl-5,9-henicosenoat,  $m/z$  428.8 Picolinyl-5-docosenoat.

## 3.7 Fingerabdruck – Rekonstruktion und Erkennung

Um die Qualität der von den Fingerspuren erzeugten Massenbilder auf Identifizierbarkeit zu überprüfen, wurden exemplarisch zwei Bilder mittels der Fingerabdruckerkennungsoftware VeriFinger® [178] ausgewertet und mit Fingerabdrücken in einer Datenbank verglichen, in der sich ein optisch eingescannter Abdruck desselben Fingers befand. Zur genauen Vorgehensweise sei auf den Abschnitt 2.4 im Experimentaltel verwiesen. Da die Papillarlinienstrukturgüte des Abdruckes aus Abschnitt 3.1 aufgrund des Gitterversatzes nicht ausreichend war, wurde ein Massenbild eines neuen Fingerabdruckes erstellt. In der Abb. 3.15 ist das resultierende Massenbild für die Masse des Tintenfarbstoffes mit 372.2 Da gezeigt.

Das Graustufenbild ist in Abb. 3.16 a) links noch einmal zu sehen. Zum Vergleich ist rechts daneben der optisch eingescannte Tintenfingerabdruck auf Papier desselben Fingers zu sehen. Die Erkennungssoftware hat die Übereinstimmung der beiden Fingerabdrücke festgestellt (softwarespezifischer Übereinstimmungsgrad: *score* 111). Ein Vergleich der Abdruckcharakteristika ist in Abb. 3.16 b) abgebildet. Dabei sind in grüner Farbe die computergenerierten Abdrücke illustriert und mittels



**Abbildung 3.15:** Massenbild eines mit Tinte blau gefärbten Fingerabdruckes für das Kation des Tintenfarbstoffes Methylviolett mit einer Masse von 372.2 Da. Rechts das Intensitätsbild in Graustufen und links dargestellt unter Verwendung einer Farbtabelle (*heat map*). Die Bilder haben eine Größe von  $129 \times 127$  Bildpunkten ( $12.9 \times 12.7 \text{ mm}^2$ ).

roten Punkten und Linien Merkmale hervorgehoben. Rote Linien im rechten Bild geben Auskunft über den Übereinstimmungsgrad. Da es sich beim Massenbild nur um einen kleinen Ausschnitt des Abdruckes handelt, ist die Übereinstimmung nicht besonders groß. Trotzdem konnte der Fingerabdruck innerhalb der 300 Datensätze eindeutig zugeordnet werden.

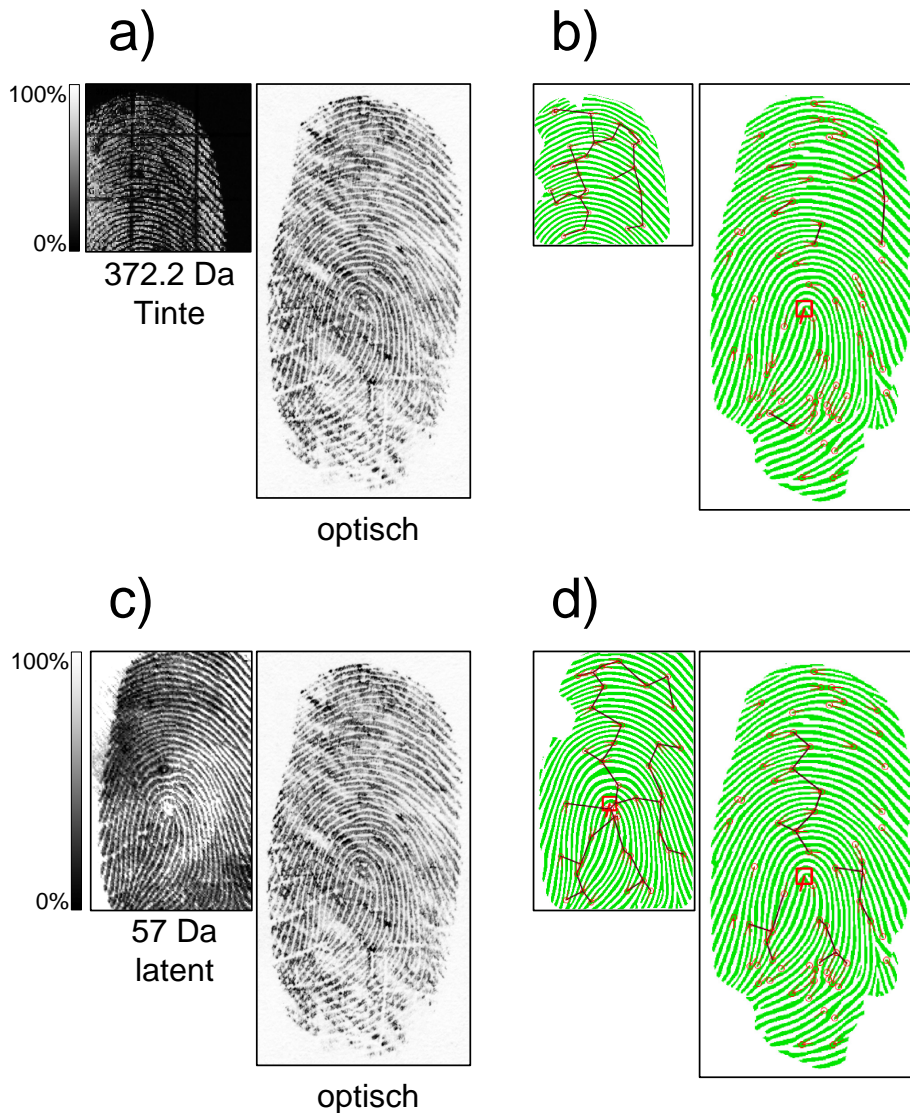
Ebenso wurde für das Massenbild eines latenten Fingerabdrucks ohne Matrixverfahren. Um keine Beeinflussung der Erkennung durch das Probenhalterraster zu erhalten, wurde die Fingerspur auf der Rückseite des Probenhalters aufgebracht, da sich auf dieser Seite kein Raster befindet. Das kontrastverbesserte Massenbild für  $m/z$  57 ist in Abb. 3.16 c) gezeigt. Auf der rechten Seite ist nochmal der optisch eingescannte Fingerabdruck zu sehen. Abb. 3.16 d) zeigt das Ergebnis der Erkennungssoftware. Der Abdruck wurde eindeutig identifiziert und der Übereinstimmungsgrad ist höher als beim ersten Beispiel (*score* 327).

Die Ergebnisse zeigen zum einen, dass die Methode der MSI in der Lage ist identifizierbare Bilder von latenten Fingerspuren zu erzeugen und zum anderen, dass die hier verfügbare Auflösung dazu ausreicht. Der fortschrittlichen Erkennungssoftware ist es dabei zu verdanken, dass auch Teile von ganzen Fingerabdrücken ausreichen, um einen Fingerabdruck eindeutig zu identifizieren.

## 3.8 Fazit und Ausblick

Die MALDI-MSI ist ein leistungsfähiges Werkzeug für die Kriminaltechnik. Wie gezeigt wurde, kann der sichtbar machbare chemische Fingerabdruck für eine Personenidentifizierung ausreichend sein. Weiterhin können mittels MSI anhand der gewonnenen chemischen Informationen auch Level 3 Merkmale von Fingerspuren erkannt werden, auch wenn die Massenauf Auflösung nicht sehr hoch ist. Zusätzlich kann anhand der Detektion von Schweißsporen auf den Zustand des Fingers, der die Spur hinterlassen hat geschlossen werden, z.B. ob er zu einer lebenden Person gehört, oder nicht.

Für die Zukunft wird versucht die Auflösung des bildgebenden Massenspektrometers zu erhöhen. Dies soll über die Verbesserung des Laserfokus erfolgen. Auch die Aussicht andere Lasersysteme einzusetzen scheint vielversprechend.



**Abbildung 3.16:** Test zur Fingerabdruck-Erkennung und -Rekonstruktion. Abb. a) zeigt links das Massenbild eines Tintenfingerabdruckes für die Masse des Farbstoffs bei  $m/z$  372.2 und rechts den optisch gescannten, auf Papier aufgetragenen Tintenfingerabdruck desselben Fingers. Mit einer Fingerabdruckerkennungssoftware wurde das Massenbild gegen eine Fingerabdruckdatenbank abgeglichen, in der auch der optisch gescannte eingefügt war. Die computergenerierten Bilder beider Abdrücke und ihr Übereinstimmungsgrad sind in Abb. b) gezeigt. Der Abdruck konnte eindeutig identifiziert werden. Dies wurde ebenso für das Massenbild für  $m/z$  57 einer latenten Fingerspur durchgeführt (siehe Abb. c) links). Auch hier wurde der Abdruck eindeutig identifiziert. Die generierten Abdrücke und ihr Übereinstimmungsgrad sind in Abb. d) dargestellt.



Anhang A

Tabellarischer Anhang

Akronym	Bedeutung	Referenz
AP	atmospheric pressure	[180]
AP-FL-MALDI-MS	AP free liquid MALDI MS	Abel, Charvat [60]
DESI	desorption electrospray ionization	Cooks [139]
DIOS	desorption/ionization on silicon	[181]
ESI	electrospray ionization	Dole, Fenn [182, 183]
FAB	fast atom bombardment	Barber [184]
FTICR	fourier transform ion cyclotron resonance	Marshall [185]
IMS	imaging mass spectrometry	[101]
LAESI	laser ablation electrospray ionization	Vertes [142]
LAMMA	laser microprobe mass analysis	Hillenkamp, Karas [102, 103]
LDI	laser desorption/ionization	[6]
MALDI	matrix assisted laser desorption/ionization	Karas, Hillenkamp [2–4]
MS	mass spectrometry or mass spectrum	Thomson [110]
MSI	mass spectrometry imaging	Caprioli (MALDI-MSI) [100]
Q	quadrupol mass filter	Paul [186]
SALDI	surface assisted laser desorption/ionization	Tanaka [5]
SIMS	secondary ion mass spectrometry	Thomson, Herzog [110–112]
TOF	time of flight	Stephens [187]

**Tabelle A.1:** Verzeichnis der gebräuchlichsten Akronyme in der Massenspektrometrie.



---

Spektralbereich	Laser	Wellenlänge [nm]	Photonenenergie [eV]
VUV	F <sub>2</sub>	157	7.90
UV-C	Nd:YAG (4 ×)	266	4.66
UV-A	N <sub>2</sub>	337	3.68
UV-A	Nd:YAG (3 ×)	355	3.49
NIR	Nd:YAG	1064	1.17
MIR	Nd:YAG, OPO	2850	0.44
MIR	CO <sub>2</sub>	10591 (10P20)	0.12

**Tabelle A.2:** Photonenergien für gebräuchliche Laserwellenlängen.

Massenbereich [Da]	Eichkurve
0 – 200	$m/z = 0.07539 - 0.31239 \cdot t + 0.66431 \cdot t^2$
2 – 2000	$m/z = 1.93745 - 0.64578 \cdot t + 0.67485 \cdot t^2$
5000 – 40000	$m/z = 2268.665453 - 51.948906 \cdot t + 0.999194 \cdot t^2$

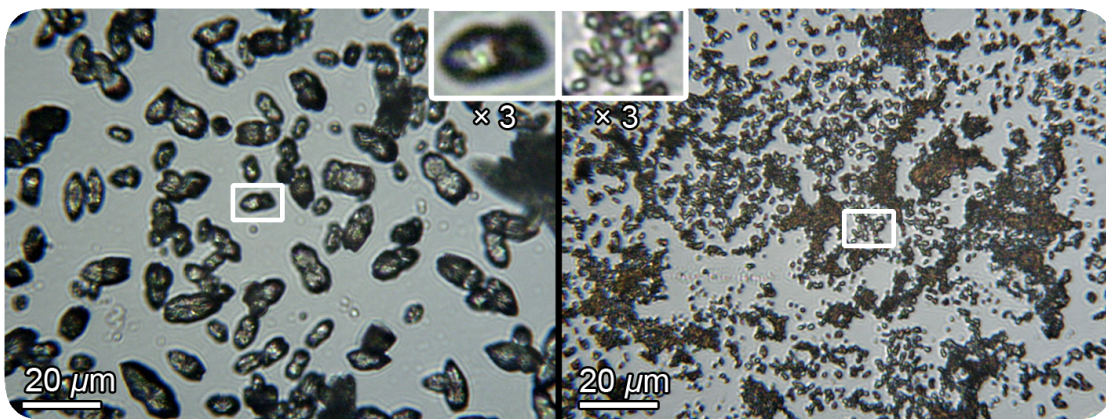
**Tabelle A.3:** Eichkurven für das TOF-MS für unterschiedliche Massenbereiche und Spektrometereinstellungen. Die Flugzeit  $t$  wird in  $\mu s$  angegeben. Siehe auch Tab. 2.1 in Kap. 2 von Teil I für die Spektrometereinstellungen.

	Masse [Da]			
Li	6	(8 %)	7	(93 %)
Na	23	(100 %)		
K	39	(93 %)	41	(7 %)
Rb	85	(72 %)	87	(28 %)
Cs	133	(100 %)		
Ca	40	(97 %)	42 (1 %)	44 (2 %)
Cl	35	(76 %)	37	(24 %)
NH <sub>3</sub>	17			
Formamidin	44			
Guanidin	59			
Asparaginsäure	133			
Lysin	146			
Histidin	155			
Arginin	174			
Arg-Gly-Asp-Ser	433			
Häm b	616			
Cytochrom C	12384			
Lysozym	14386			
Apomyoglobin	16952	[188]		

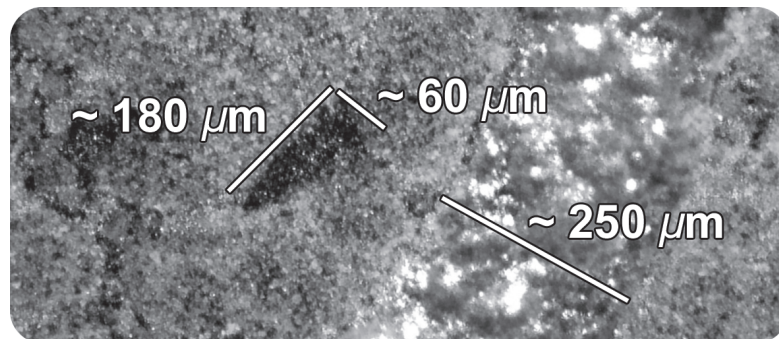
**Tabelle A.4:** Massenübersicht. Die relevante, relative Häufigkeit der auftretenden natürlichen Isotope ist jeweils in Klammern hinter der Masse angegeben.

# Anhang B

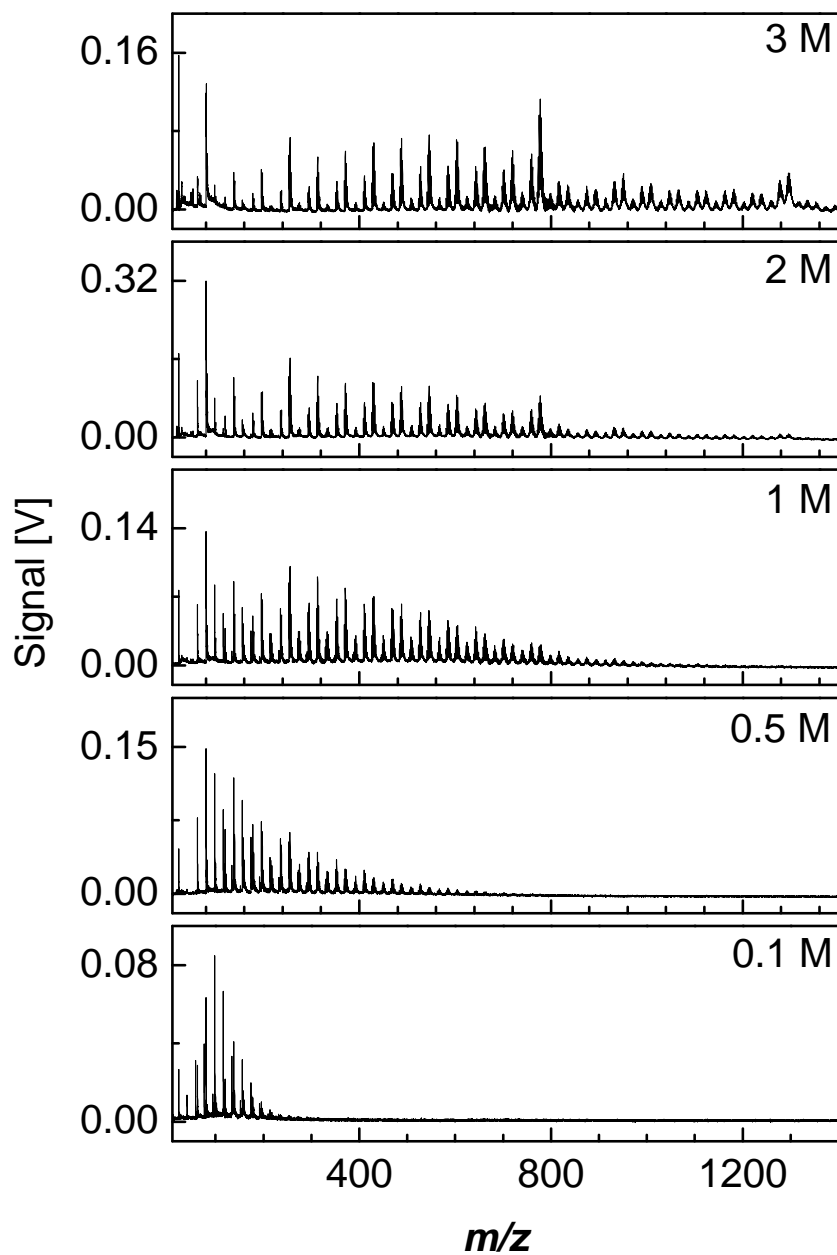
## Grafischer Anhang



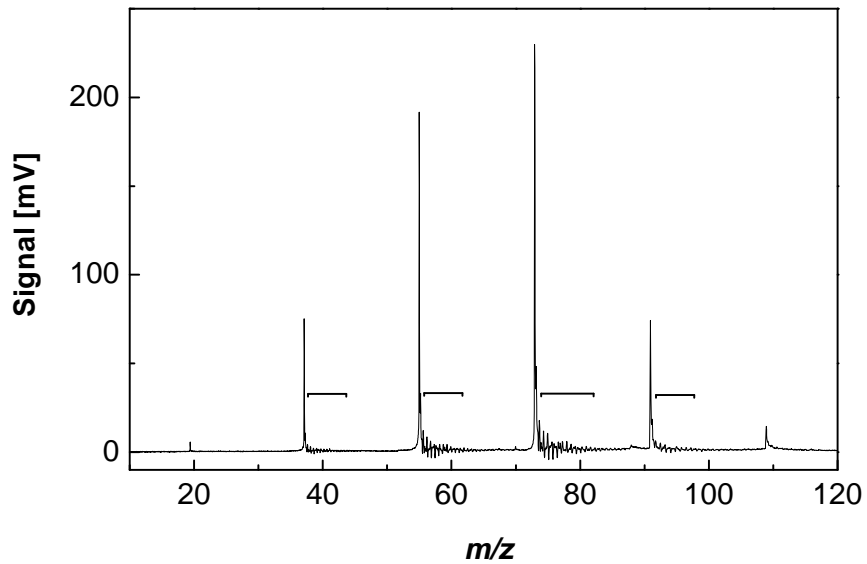
**Abbildung B.1:** Vergleich von unterschiedlich erzeugten Matrixkristallen. Die beiden Bilder zeigen digitalmikroskopische Aufnahmen von CHCA-Matrixkristallen auf einem Glasobjektträger in 40-facher Vergrößerung. Die Kristalle im linken Bild wurden mittels *dried droplet*-Methode erzeugt und sind im Vergleich wesentlich größer als die Kristalle im rechten Bild. Im rechten Bild sind CHCA-Matrixkristalle zu sehen, die per Airbrush durch viermaliges Aufsprühen auf den Probenhalter aufgebracht wurden. Mit Hilfe der Airbrush-Methode können wesentlich kleinere Kristallgrößen erzielt werden. Die Skala am linken unteren Bildrand verdeutlicht den Maßstab der Aufnahmen.



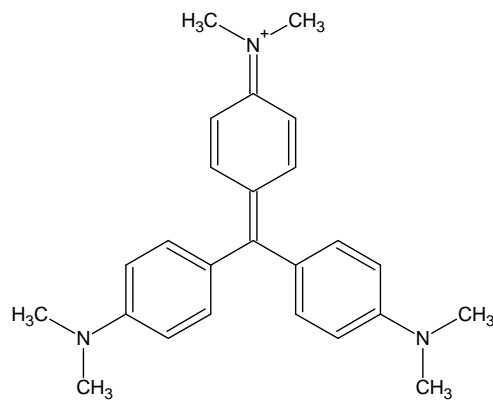
**Abbildung B.2:** Digitalmikroskopische Aufnahme (vierfache Vergrößerung, Bresser BR-Biolux-LCD-Mikroskop) der Spotgröße des verwendeten Stickstoff-Lasers. Zur Erzeugung des Spots wurden acht Schüsse auf eine mittels Airbrush aufgebrachte Matrixschicht gefeuert. Der resultierende Desorptionskrater hat elliptische Form, eine maximale Höhe von  $180\ \mu\text{m}$  und eine maximale Breite von  $60\ \mu\text{m}$ . Der Markierungsrand der Probenvertiefung auf der MALDI-Probenplatte hat eine Breite von etwa  $250\ \mu\text{m}$ .



**Abbildung B.3:** IR-FLMALDI-Massenspektrum von NaCl für die Konzentrationen 0.1 – 3 M (Verzögerungszeit  $16 \mu\text{s}$ , MCP 2.0 kV). Bei hohen Salzkonzentrationen werden hochmassige Salzcluster detektiert. Um eine hohe Signalintensität zu erreichen, wird eine relativ hohe Laserintensität in der Nähe der Plasmaschwelle benötigt ( $1 \text{ GW}/\text{cm}^2$ ).



**Abbildung B.4:** Signalabklingen am Beispiel eines Wasser-Cluster-Spektrums ( $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ -Cluster,  $\text{pH} \approx 1$ , TFA). Die Amplitude der Oszillation beträgt teilweise bis zu 10% der zugehörigen Peak-Höhe und die Abklingbreite ist bis zu dreimal breiter als die Peak-Breite.



**Abbildung B.5:** Strukturformel des Kations des blauen Farbstoffs Methylviolett 10b.

# Abbildungsverzeichnis

## Teil I – Laserdesorptions-Massenspektrometrie

1.1	Absorptionsspektrum von Wasser. . . . .	17
1.2	Simulierte Wahrscheinlichkeitsverteilungen der Ladungszustände für unterschiedliche Modellansätze. . . . .	24
1.3	Simulierter Intensitätsverlauf einer NaCl-Konzentrationsreihe. . . . .	25
1.4	Schnappschuss einer MD-Simulation die Ionenflüsse zeigt. . . . .	25
1.5	Schematischer Aufbau eines MALDI-reTOF-MS. . . . .	27
2.1	Schematischer Aufbau der IR-FLMALDI-MS-Apparatur. . . . .	30
2.2	Der Mikro-Flüssigkeitsstrahl. . . . .	31
2.3	Das MALDI-Setup. . . . .	32
3.1	Signalintensitäten von Arginin bei verschiedenen Verzögerungszeiten, gemessen mittels IR-FLMALDI-MS. . . . .	40
3.2	Signalintensitäten von Cytochrom C bei verschiedenen Verzögerungszeiten, gemessen mittels IR-FLMALDI-MS. . . . .	41
3.3	VUV-FLMALDI-MS von reinem Wasser. . . . .	43
3.4	VUV-FLMALDI-MS von Alkalisalzen unterschiedlicher Konzentrationen. . . . .	45
3.5	VUV-FLMALDI-MS von NaCl-Lösung bei verschiedenen Verzögerungszeiten. . . . .	46
3.6	VUV-FLMALDI-MS von reinem Ethanol. . . . .	47
3.7	VUV-MALDI-MS von gefrorenem n-Heptan. . . . .	49
3.8	VUV-MALDI-MS von gefrorenem Methanol. . . . .	50
3.9	VUV-MALDI-MS von gefrorener Histidin-Lösung. . . . .	52

3.10 VUV-MALDI-MS von Histidin in Glycerol und reinem Glycerol. . .	53
3.11 IR-FLMALDI-MS von $\text{CaCl}_2$ für verschiedene Konzentrationen. . .	55
3.12 IR-FLMALDI-MS von Aminosäuren und Peptiden. . . . .	57
3.13 IR-FLMALDI-MS von Proteinen. . . . .	58
3.14 IR-MALDI-MS von gefrorener Argininlösung. . . . .	60
3.15 IR-MALDI-MS von gefrorener NaCl-Lösung. . . . .	61
3.16 IR-MALDI-MS von Glycerol. . . . .	62
3.17 IR-MALDI-MS von Arginin in Glycerol. . . . .	63
3.18 IR-MALDI-MS von Lysozym in Glycerol. . . . .	64
3.19 Plasmazündung im Wasserstrahl. . . . .	66

## Teil II – Enceladus – Laborexperimente

1.1 Bild und Beschreibung der Cassini Raumsonde. . . . .	72
1.2 Der Mond Enceladus und seine Oberflächentemperatur. . . . .	74
1.3 Nahaufnahme von Enceladus und Wärmebild der Tigerstreifen. . .	75
1.4 Bild und Funktionsweise des <i>Cosmic Dust Analyzer</i> (CDA). . . . .	77
1.5 Vergleich von Einschlagsdesorption und Flüssigstrahldesorption. . .	80
3.1 Vergleich von CDA-Spektren mit Labor-Spektren für niedrige Salz- konzentrationen. . . . .	88
3.2 Vergleich von CDA-Spektren mit Labor-Spektren für hohe Salzkon- zentrationen. . . . .	89
3.3 Vergleich von CDA-Spektren mit Labor-Spektren für hohe kineti- sche Partikelenergien. . . . .	91
3.4 IR-FLMALDI-MS mit aufsteigender Laserintensität. . . . .	93
3.5 IR-FLMALDI-MS mit hohen Laserintensitäten. . . . .	94
3.6 IR-1064-FLMALDI-MS von NaCl/KCl-Konzentrationsreihen. . . . .	97
3.7 IR-1064-FLMALDI-MS für verschiedene Verzögerungszeiten. . . . .	98
3.8 IR-1064-FLMALDI-MS von Wasser und Salzen im Vergleich. . . . .	99
3.9 IR-1064-FLMALDI-MS von Wasser mit höchsten Laserintensitäten für verschiedene Verzögerungszeiten. . . . .	100
3.10 IR-FLMALDI-MS wässriger Lösungen von NaCl, $\text{NaHCO}_3$ und an- steigenden Konzentrationen von KCl. . . . .	102



3.11 IR-FLMALDI-MS zweier wässriger Lösungen von NaCl, NaHCO <sub>3</sub> mit unterschiedlicher Konzentration von KCl. . . . .	103
3.12 IR-FLMALDI-MS von Alkalisalzen ( $d = 9 - 20 \mu\text{s}$ ). . . . .	105
3.13 IR-FLMALDI-MS von Alkalisalzen für verschiedene Verzögerungszeiten. . . . .	106
3.14 IR-FLMALDI-MS von Alkalisalzen für unterschiedliche Laserwellenlängen. . . . .	107

## Teil III – Bildgebende Massenspektrometrie

1.1 Skizze zur Darstellung der MSI-Verfahrensweise. . . . .	116
3.1 Photographie und Massenbild eines mit Tinte blau gefärbten Fingerabdruckes. . . . .	128
3.2 Massenbilder des blau gefärbten Fingerabdruckes für verschiedene Massen. . . . .	129
3.3 Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur auf Matrix. . . . .	131
3.4 Massenspektren einer lipidreichen latenten Fingerspur auf Matrix. . . . .	132
3.5 Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Matrix. . . . .	134
3.6 Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Matrix. . . . .	135
3.7 Massenspektren der lipidreichen latenten Fingerspuren ohne Matrix von zwei unterschiedlichen Personen. . . . .	136
3.8 Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur mit Gesichtscreme ohne Matrix. . . . .	137
3.9 Massenspektren der lipidreichen latenten Fingerspuren mit und ohne Gesichtscreme von ein und derselben Person. . . . .	138
3.10 Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Matrix. . . . .	140
3.11 Massenbilder einer lipidreichen latenten Fingerspur ohne Matrix. . . . .	140
3.12 Vergleich von Massenbildern einer lipidreichen latenten Fingerspur mit und ohne Matrix. . . . .	142
3.13 Massenbilder einer verschwitzten latenten Fingerspur ohne Matrix. . . . .	144
3.14 Massenspektrum der verschwitzten Fingerspur. . . . .	144
3.15 Massenbild eines mit Tinte blau gefärbten Fingerabdruckes. . . . .	145
3.16 Test zur Fingerabdruck-Erkennung und -Rekonstruktion. . . . .	147

## B – Grafischer Anhang

B.1 Vergleich von unterschiedlich erzeugten CHCA-Matrixkristallen. . .	153
B.2 Mikroskopische Aufnahme der Spotgröße des verwendeten Stickstoff- Lasers. . . . .	154
B.3 IR-FLMALDI-MS von NaCl für hohe Konzentrationen. . . . .	155
B.4 Signalabklingen des TOF-MS. . . . .	156
B.5 Strukturformel des Kations des blauen Farbstoffs Methylviolett. . .	156

# Tabellenverzeichnis

## Teil I – Laserdesorptions-Massenspektrometrie

2.1	Einstellungen des Massenspektrometers für verschiedene Massen. . .	36
-----	--	----

## A – Tabellarischer Anhang

A.1	Akronymverzeichnis zur Massenspektrometrie. . . . .	150
A.2	Photonenenergien für gebräuchliche Laserwellenlängen. . . . .	151
A.3	Eichkurven für das TOF-MS. . . . .	151
A.4	Massenübersicht. . . . .	152



# Literaturverzeichnis

- [1] J. I. Berry, S. Sun, Y. Dou, A. Wucher und N. Winograd, "Laser desorption and imaging of proteins from ice via UV femtosecond laser pulses", *Anal. Chem.*, *75* (19), 5146–5151, **2003**.
- [2] M. Karas, D. Bachmann und F. Hillenkamp, "Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules", *Anal. Chem.*, *57* (14), 2935–2939, **1985**.
- [3] M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr und F. Hillenkamp, "Matrix-assisted ultraviolet laser desorption of non-volatile compounds", *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, *78*, 53–68, **1987**.
- [4] M. Karas und F. Hillenkamp, "Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons", *Anal. Chem.*, *60* (20), 2299–2301, **1988**.
- [5] K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida und T. Matsuo, "Protein and polymer analyses up to  $m/z$  100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry", *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, *2* (8), 151–153, **1988**.
- [6] H. F., K. M. und R. J., "Processes of Laser-Induced Ion Formation in Mass Spectrometry.", in L. P. A., Hrsg., "Desorption Mass Spectrometry", Kapitel 5, 69–82, American Chemical Society, Washington, D.C., **1985**.
- [7] H. Ehring, M. Karas und F. Hillenkamp, "Role of photoionization and photochemistry in ionization processes of organic molecules and relevance for matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry", *Org. Mass Spectrom.*, *27* (4), 472–480, **1992**.

- [8] D. R. Ermer, M. Baltz-Knorr und R. F. Haglund, “Intensity dependence of cation kinetic energies from 2,5-dihydroxybenzoic acid near the infrared matrix-assisted laser desorption/ionization threshold.”, *J. Mass Spectrom.*, *36* (5), 538–545, **2001**.
- [9] M. Karas und R. Krüger, “Ion formation in MALDI: the cluster ionization mechanism”, *Chem. Rev.*, *103* (2), 427–440, **2003**.
- [10] M. L. Gross und R. M. Caprioli, “Desorption by Photons”, in M. L. Gross und R. M. Caprioli, Hrsg., “The Encyclopedia of Mass Spectrometry”, Band 6, Kapitel 9, Elsevier, **2005**.
- [11] W. C. Chang, L. C. L. Huang, Y.-S. Wang, W.-P. Peng, H. C. Chang, N. Y. Hsu, W. B. Yang und C. H. Chen, “Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) mechanism revisited”, *Anal. Chim. Acta*, *582* (1), 1–9, **2007**.
- [12] R. Knochenmuss und L. V. Zhigilei, “Molecular dynamics simulations of MALDI: laser fluence and pulse width dependence of plume characteristics and consequences for matrix and analyte ionization”, *J. Mass Spectrom.*, *45* (4), 333–346, **2010**.
- [13] L. Balazs, R. Gijbels und A. Vertes, “Expansion of laser-generated plumes near the plasma ignition threshold”, *Anal. Chem.*, *63* (4), 314–320, **1991**.
- [14] A. A. Puretzky, D. B. Geohegan, G. B. Hurst, M. V. Buchanan und B. S. Luk’yanchuk, “Imaging of Vapor Plumes Produced by Matrix Assisted Laser Desorption: A Plume Sharpening Effect”, *Phys. Rev. Lett.*, *83* (2), 444–447, **1999**.
- [15] M. Karas, M. Glückmann und J. Schäfer, “Ionization in matrix-assisted laser desorption/ionization: singly charged molecular ions are the lucky survivors”, *J. Mass Spectrom.*, *35* (1), 1–12, **2000**.
- [16] K. Dreisewerd, S. Berkenkamp, A. Leisner, A. Rohlfig und C. Menzel, “Fundamentals of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry with pulsed infrared lasers”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *226* (1), 189–209, **2003**.

- [17] E. Nordhoff, F. Kirpekar, M. Karas, R. Cramer, S. Hahner, F. Hillenkamp, K. Kristiansen, P. Roepstroff und A. Lezius, "Comparison of IR- and UV-matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of oligodeoxynucleotides", *Nucleic Acids Res.*, *22* (13), 2460–2465, **1994**.
- [18] S. Berkenkamp, C. Menzel, M. Karas und F. Hillenkamp, "Performance of Infrared Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry with Lasers Emitting in the  $3\mu\text{m}$  Wavelength Range", *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, *11* (13), 1399–1406, **1997**.
- [19] K. Dreisewerd, M. Schurenberg, M. Karas und F. Hillenkamp, "Influence of the laser intensity and spot size on the desorption of molecules and ions in matrix-assisted laser desorption/ionization with a uniform beam profile", *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, *141* (2), 127–148, **1995**.
- [20] A. Holle, A. Haase, M. Kayser und J. Höhdorf, "Optimizing UV laser focus profiles for improved MALDI performance", *J. Mass Spectrom.*, *41* (6), 705–716, **2006**.
- [21] A. Vertes, P. Juhasz, L. Balazs und R. Gijbel, "Target heating, plasma formation and expansion processes during laser ionization.", in P. E. Russell, Hrsg., "Microbeam Analysis", 273–276, San Francisco Press, Inc., Box 6800, San Francisco, CA 94101-6800, USA, **1989**.
- [22] V. I. Mazhukin, V. V. Nossov und I. Smurov, "Modeling of plasma dynamics at the air-water interface: Application to laser shock processing", *J. Appl. Phys.*, *90* (2), 607–618, **2001**.
- [23] S. Berkenkamp, C. Menzel, F. Hillenkamp und K. Dreisewerd, "Measurements of mean initial velocities of analyte and matrix ions in infrared matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry", *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *13* (3), 209–220, **2002**.
- [24] T. W. Jaskolla, M. Karas, U. Roth, K. Steinert, C. Menzel und K. Reihls, "Comparison between vacuum sublimed matrices and conventional dried droplet preparation in MALDI-TOF mass spectrometry", *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *20* (6), 1104–1114, **2009**.

- [25] S. Trimpin, H. Räder und K. Müllen, “Investigations of theoretical principles for MALDI-MS derived from solvent-free sample preparation: Part I. Preorganization”, *Int. J. Mass Spectrom.*, 253 (1-2), 13–21, **2006**.
- [26] S. Trimpin und B. Brizzard, “Analysis of insoluble proteins”, *Biotechniques*, 46 (6), 409–419, **2009**.
- [27] S. G. Warren und R. E. Brandt, “Optical constants of ice from the ultraviolet to the microwave: A revised compilation”, *J. Geophys. Res.*, 113 (D14), D14220, **2008**.
- [28] R. Brandt, *Optical constants of ice from the ultraviolet to the microwave*, **2008 (aufgerufen am 7. September 2010)**, [http://www.atmos.washington.edu/ice\\_optical\\_constants/](http://www.atmos.washington.edu/ice_optical_constants/).
- [29] S. Prahl, *Optical Absorption of Water Compendium*, **1998 (aufgerufen am 7. September 2010)**, <http://omlc.org/spectra/water/abs/index.html>.
- [30] L. P. Boivan, W. F. Davidson, R. S. Storey, D. Sinclair und E. D. Earle, “Determination of the attenuation coefficients of visible and ultraviolet radiation in heavy water”, *Appl. Opt.*, 25, 877–882, **1986**.
- [31] H. Buiteveld, J. M. H. Hakvoort und M. Donze, “The optical properties of pure water”, in J. S. Jaffe, Hrsg., “SPIE Proceedings on Ocean Optics XII”, Band 2258, 174–183, **1994**.
- [32] O. V. Kopelevich, “Optical properties of pure water in the 250–600 nm range”, *Opt. Spectrosc.*, 41, 391–392, **1976**.
- [33] L. Kou, D. Labrie und P. Chylek, “Refractive indices of water and ice in the 0.65–2.5  $\mu\text{m}$  spectral range”, *Appl. Opt.*, 32, 3531–3540, **1993**.
- [34] L. Kou, “Refractive indices of water and ice in the 0.65–2.5  $\mu\text{m}$  spectral range”, Dissertation, Dalhousie University (Canada), **1993**.
- [35] A. Morel und L. Prieur, “Analysis of variations in ocean color”, *Limnol. Oceanogr.*, 22, 709–722, **1977**.



- [36] K. F. Palmer und D. Williams, “Optical properties of water in the near infrared”, *J. Opt. Soc. Am.*, *64*, 1107–1110, **1974**.
- [37] R. M. Pope und E. S. Fry, “Absorption spectrum (380–700 nm) of pure water. II. Integrating cavity measurements”, *Appl. Opt.*, *36*, 8710–8723, **1997**.
- [38] M. R. Querry, P. G. Cary und R. C. Waring, “Split-pulse laser method for measuring attenuation coefficients of transparent liquids: application to deionized filtered water in the visible region”, *Appl. Opt.*, *17*, 3587–3592, **1978**.
- [39] M. R. Querry, D. M. Wieliczka und D. J. Segelstein, “Water (H<sub>2</sub>O)”, in “Handbook of Optical Constants of Solids II”, 1059–1077, Academic Press, **1991**.
- [40] T. I. Quickenden und J. A. Irvin, “The ultraviolet absorption spectrum of liquid water”, *J. Chem Phys.*, *72*, 4416–4428, **1980**.
- [41] D. J. Segelstein, “The complex refractive index of water”, Diplomarbeit, University of Missouri-Kansas City, **1981**.
- [42] K. S. Shifrin, *Physical Optics of Ocean Water*, American Institute of Physics, New York, **1988**.
- [43] R. C. Smith und K. S. Baker, “Optical properties of the clearest natural waters (200–800 nm)”, *Appl. Opt.*, *20*, 177–184, **1981**.
- [44] F. M. Sogandares und E. S. Fry, “Absorption spectrum (340–640 nm) of pure water. I. Photothermal Measurements”, *Appl. Opt.*, *36*, 8699–8709, **1997**.
- [45] S. A. Sullivan, “Experimental study of the absorption in distilled water, artificial sea water, and heavy water in the visible region of the spectrum”, *Opt. Soc. Am. J.*, *53*, 962–968, **1963**.
- [46] A. C. Tam und C. K. N. Patel, “Optical absorption of light and heavy water by laser optoacoustic spectroscopy”, *Appl. Opt.*, *18*, 3348–3358, **1979**.
- [47] D. M. Wieliczka, S. Weng und M. R. Querry, “Wedge shaped cell for highly absorbent liquids: infrared optical constants of water”, *Appl. Opt.*, *28*, 1714–1719, **1989**.

- [48] L. Wang, “Measuring Optical Absorption Coefficient of Pure Water in UV Using the Integrating Cavity Absorption Meter”, Physics, Texas A&M University, College Station, Texas 77843, **2008**.
- [49] P. Kraft, S. Alimpiev, E. Dratz und J. Sunner, “Infrared, surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry on frozen aqueous solutions of proteins and peptides using suspensions of organic solids”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *9* (9), 912–924, **1998**.
- [50] R. W. Nelson, R. M. Thomas und P. Williams, “Time-of-flight mass spectrometry of nucleic acids by laser ablation and ionization from a frozen aqueous matrix”, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, *4* (9), 348–351, **1990**.
- [51] M. L. Baltz-Knorr, K. E. Schriver und R. F. Haglund, “Infrared laser ablation and ionization of water clusters and biomolecules from ice”, *Appl. Surf. Sci.*, *197-198*, 11–16, **2002**.
- [52] M. Ziskind, C. Mihesan, N. Lebrun, B. Chazallon, C. Focsa und J. Destombes, “Hydrated clusters of organic molecules generated by IR OPO resonant desorption of frozen aqueous solutions”, *Appl. Phys. A*, *79* (4), 991–995, **2004**.
- [53] S. Berkenkamp, M. Karas und F. Hillenkamp, “Ice as a matrix for IR-matrix-assisted laser desorption/ionization: mass spectra from a protein single crystal”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *93* (14), 7003–7007, **1996**.
- [54] A. Charvat, E. Lugovoj, M. Faubel und B. Abel, “New design for a time-of-flight mass spectrometer with a liquid beam laser desorption ion source for the analysis of biomolecules”, *Rev. Sci. Instrum.*, *75* (5), 1209–1218, **2004**.
- [55] B. Abel, A. Charvat, U. Diederichsen, M. Faubel, B. Girmann, J. Niemeyer und A. Zeeck, “Applications, features, and mechanistic aspects of liquid water beam desorption mass spectrometry”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *243* (2), 177–188, **2005**.

- [56] A. Charvat, B. Stasicki und B. Abel, “Product screening of fast reactions in IR-laser-heated liquid water filaments in a vacuum by mass spectrometry”, *J. Phys. Chem. A*, *110* (9), 3297–3306, **2006**.
- [57] A. Charvat, A. Bögehold und B. Abel, “Time-Resolved Micro Liquid Desorption Mass Spectrometry: Mechanism, Features, and Kinetic Applications”, *Aust. J. Chem.*, *59* (2), 81–103, **2006**.
- [58] F. Hillenkamp und M. Karas, “Matrix-assisted laser desorption/ionisation, an experience”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *200*, 71–77, **2000**.
- [59] W. Kleinekofort, J. Avdiev und B. Brutschy, “A new method of laser desorption mass spectrometry for the study of biological macromolecules”, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, *152* (2-3), 135–142, **1996**.
- [60] E. Rapp, A. Charvat, A. Beinsen, U. Plessmann, U. Reichl, A. Seidel-Morgenstern, H. Urlaub und B. Abel, “Atmospheric Pressure Free Liquid Infrared MALDI Mass Spectrometry: Toward a combined ESI/MALDI-Liquid Chromatography Interface”, *Anal. Chem.*, *81* (1), 443–452, **2009**.
- [61] A. Bögehold, “Quantitative Flüssigkeitsstrahldesorptions-Massenspektrometrie und ihre Anwendung auf kinetische Studien”, Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, **2005**.
- [62] A. Bögehold, “Kinetische Studien zur Bildung von Insulinfibrillen mittels Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie”, Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2008**.
- [63] D. Matthes, “Aggregation von Proteinen in Gegenwart von Nanopartikeln”, Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, **2007**.
- [64] H. Prinzhorn, “Massenspektrometrische Untersuchung der Aggregationskinetik von amyloiden Proteinfragmenten”, Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, **2008**.
- [65] A. Beinsen, “Flüssigstrahlmassenspektrometrie: Oxidationskinetik von Biomolekülen und Ionenanalytik in wässrigen Systemen”, Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, **2006**.

- [66] M. Poetsch, “Analytik komplexer Fluide mittels Flüssigstrahldesorptions-Massenspektrometrie”, Bachelorarbeit, Universität Leipzig, **2010**.
- [67] B. Stasicki, A. Charvat, M. Faubel und B. Abel, “Visualization of laser-induced liquid micro-jet disintegration by means of high-speed video stroboscopy”, Band 5580, 335–346, SPIE, **2005**.
- [68] Z. Chen, A. Bogaerts und A. Vertes, “Phase explosion in atmospheric pressure infrared laser ablation from water-rich targets”, *Appl. Phys. Lett.*, *89* (4), 041503, **2006**.
- [69] E. Vöhringer-Martinez, “Dynamics, ionization and charge separation in superheated metastable water”, Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2008**.
- [70] F. Wiederschein, “Investigation of Laser-Induced-Liquid-Beam-Ion-Desorption (LILBID) with Molecular Dynamics Simulations”, Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2009**.
- [71] A. A. Vostrikov, D. Y. Dubov und M. R. Predtechenskiy, “Ionization of water clusters by surface collision”, *Chem. Phys. Lett.*, *139* (1), 124–128, **1987**.
- [72] D. Dubov und A. Vostrikov, “Collision induced electrification of large water clusters”, *J. Aerosol Sci.*, *22* (Supplement 1), S245–S248, **1991**.
- [73] C. R. Gebhardt, H. Schroder und K.-L. Kompa, “Surface impact ionization of polar-molecule clusters through pickup of alkali atoms”, *Nature*, *400* (6744), 544–547, **1999**.
- [74] E. Vöhringer-Martinez, F. Wiederschein, A. Beinsen, F. Postberg, R. Srama, S. Kempf, J. Schmidt, H. Grubmüller und B. Abel, “Charge Separation and Isolation in Water and Ice Particles on Strong Impacts”, *Nature Phys.*, **2011**, submitted.
- [75] V. S. Antonov, V. S. Letokhov und A. N. Shibanov, “Formation of molecular ions as a result of irradiation of the surface of molecular crystals”, *JETP Lett.*, *31* (8), 441, **1980**.

- 
- [76] R. S. Brown und J. J. Lennon, “Mass resolution improvement by incorporation of pulsed ion extraction in a matrix-assisted laser desorption/ionization linear time-of-flight mass spectrometer”, *Anal. Chem.*, *67* (13), 1998–2003, **1995**.
- [77] B. A. Mamyrin, V. I. Karataev, D. V. Shmikk und V. A. Zagulin, “The mass-reflectron, a new nonmagnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution”, *Sov. Phys. JETP*, *37*, 45, **1973**.
- [78] D. Matthes, “Aggregation von Proteinen in Gegenwart von Nanopartikeln”, Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen, **2007**.
- [79] M. Faubel, S. Schlemmer und J. P. Toennies, “A molecular beam study of the evaporation of water from a liquid jet”, *Z. Phys. D*, *10*, 269–277, **1988**.
- [80] W. C. Wiley und I. H. McLaren, “Time-of-Flight Mass Spectrometer with Improved Resolution”, *Rev. Sci. Instrum.*, *26* (12), 1150–57, **1955**.
- [81] P. K. Kennedy, D. X. Hammer und B. A. Rockwell, “Laser-induced breakdown in aqueous media”, *Prog. Quantum Electron.*, *21* (3), 155–248, **1997**.
- [82] J. Noack und A. Vogel, “Laser-induced plasma formation in water at nanosecond to femtosecond time scales: calculation of thresholds, absorption coefficients, and energy density”, *IEEE J. Quantum Elect.*, *35* (8), 1156–1167, **1999**.
- [83] F. Postberg, S. Kempf, J. Schmidt, N. Brilliantov, A. Beinsen, B. Abel, U. Buck und R. Srama, “Sodium salts in E-ring ice grains from an ocean below the surface of Enceladus”, *Nature*, *459* (7250), 1098–1101, **2009**.
- [84] J. H. Waite Jr, W. S. Lewis, B. A. Magee, J. I. Lunine, W. B. McKinnon, C. R. Glein, O. Mousis, D. T. Young, T. Brockwell, J. Westlake, M.-J. Nguyen, B. D. Teolis, H. B. Niemann, R. L. McNutt Jr, M. Perry und W.-H. Ip, “Liquid water on Enceladus from observations of ammonia and  $^{40}\text{Ar}$  in the plume”, *Nature*, *460* (7254), 487–490, **2009**.

- [85] J. R. Spencer, J. C. Pearl, M. Segura, F. M. Flasar, A. Mamoutkine, P. Romani, B. J. Buratti, A. R. Hendrix, L. J. Spilker und R. M. C. Lopes, “Cassini encounters Enceladus: background and the discovery of a south polar hot spot”, *Science*, *311* (5766), 1401–1405, **2006**.
- [86] M. Y. Zolotov, “An oceanic composition on early and today’s Enceladus”, *Geophys. Res. Lett.*, *34* (23), L23203–L23208, **2007**.
- [87] C. C. Porco, P. Helfenstein, P. C. Thomas, A. P. Ingersoll, J. Wisdom, R. West, G. Neukum, T. Denk, R. Wagner, T. Roatsch, S. Kieffer, E. Turtle, A. McEwen, T. V. Johnson, J. Rathbun, J. Veverka, D. Wilson, J. Perry, J. Spitale, A. Brahic, J. A. Burns, A. D. Delgenio, L. Dones, C. D. Murray und S. Squyres, “Cassini observes the active south pole of Enceladus”, *Science*, *311* (5766), 1393–1401, **2006**.
- [88] R. Srama, “Vom Cosmic-Dust-Analyzer zur Modellbeschreibung wissenschaftlicher Raumsonden”, Dissertation, Technische Universität München, **2000**.
- [89] R. Srama, T. Ahrens, N. Altobelli, S. Auer, J. Bradley, M. Burton, V. Dikarev, T. Economou, H. Fechtig, M. Gorlich, M. Grande, A. Graps, E. Grun, O. Havnes, S. Helfert, M. Horanyi, E. Igenbergs, E. Jessberger, T. Johnson, S. Kempf, A. Krivov, H. Kruger, A. Mocker-Ahlreep, G. Moragas-Klostermeyer, P. Lamy, M. Landgraf, D. Linkert, G. Linkert, F. Lura, J. McDonnell, D. Mohlmann, G. Morfill, M. Muller, M. Roy, G. Schafer, G. Schlotzhauer, G. Schwehm, F. Spahn, M. Stubig, J. Svestka, V. Tschernjowski, A. Tuzzolino, R. Wasch und H. Zook, “The Cassini Cosmic Dust Analyzer”, *Space Sci. Rev.*, *114*, 465–518, **2004**.
- [90] C. P. McKay, C. C. Porco, T. Altheide, W. L. Davis und T. A. Kral, “The possible origin and persistence of life on Enceladus and detection of biomarkers in the plume”, *Astrobiology*, *8* (5), 909–919, **2008**.
- [91] S. Kempf, R. Srama, F. Postberg, M. Burton, S. F. Green, S. Helfert, J. K. Hillier, N. McBride, J. A. M. McDonnell, G. Moragas-Klostermeyer,

- M. Roy und E. Grün, “Composition of saturnian stream particles”, *Science*, *307* (5713), 1274–1276, **2005**.
- [92] M. Stübig, G. Schäfer, T.-M. Ho, R. Srama und E. Grün, “Laboratory simulation improvements for hypervelocity micrometeorite impacts with a new dust particle source”, *Planet. Space Sci.*, *49* (8), 853–858, **2001**.
- [93] J. K. Hillier, S. Sestak, S. Green, F. Postberg, R. Srama und M. Trieloff, “The production of platinum-coated silicate nanoparticle aggregates for use in hypervelocity impact experiments”, *Planet. Space Sci.*, *57* (14–15), 2081–2086, **2009**.
- [94] B. Hartke, A. Charvat, M. Reich und B. Abel, “Experimental and theoretical investigation of microsolvation of Na<sup>+</sup>-ions in the gas phase by high resolution mass spectrometry and global cluster geometry optimization”, *J. Chem. Phys.*, *116* (9), 3588–3600, **2002**.
- [95] D. A. Crawford und P. H. Schultz, “Macroscopic electric charge separation during hypervelocity impacts: Potential implications for planetary paleomagnetism”, in “Lunar and Planetary Institute Science Conference Abstracts”, Band 24 von *Lunar and Planetary Institute Science Conference Abstracts*, 337–338, **1993**.
- [96] F. Postberg, “A New View on the Composition of Dust in the Solar System: Results from the Cassini Dust Detector”, Dissertation, Heidelberg, **2007**.
- [97] F. Postberg, S. Kempf, D. Rost, T. Stephan, R. Srama, M. Trieloff, A. Mocker und M. Goerlich, “Discriminating contamination from particle components in spectra of Cassini’s dust detector CDA”, *Planet. Space Sci.*, *57* (12), 1359–1374, **2009**.
- [98] J. Camacho, M. Santos, L. Diaz, L. Juan und J. Poyato, “Spectroscopy study of air plasma induced by IR CO<sub>2</sub> laser pulses”, *Appl. Phys. A*, *99*, 159–175, **2010**.
- [99] G. A. Grieves, N. Petrik, J. Herring-Captain, B. Olanrewaju, A. Aleksandrov, R. G. Tonkyn, S. A. Barlow, G. A. Kimmel und T. M. Orlando, “Pho-

- toionization of Sodium Salt Solutions in a Liquid Jet”, *J. Phys. Chem. C*, *112* (22), 8359–8364, **2008**.
- [100] R. M. Caprioli, T. B. Farmer und J. Gile, “Molecular imaging of biological samples: localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS”, *Anal. Chem.*, *69* (23), 4751–4760, **1997**.
- [101] L. A. McDonnell und R. M. A. Heeren, “Imaging mass spectrometry”, *Mass Spectrom. Rev.*, *26* (4), 606–643, **2007**.
- [102] F. Hillenkamp, E. Unsöld, R. Kaufmann und R. Nitsche, “Laser microprobe mass analysis of organic materials”, *Nature*, *256* (5513), 119–120, **1975**.
- [103] F. Hillenkamp, E. Unsöld, R. Kaufmann und R. Nitsche, “A high-sensitivity laser microprobe mass analyzer”, *Appl. Phys. A*, *8*, 341–348, **1975**.
- [104] A. Verbueken, F. Van de Vyver, W. Visser, F. Roels, R. Van Grieken und M. De Broe, “Use of laser microprobe mass analysis (LAMMA) for localizing multiple elements in soft and hard tissues”, *Biol. Trace Elem. Res.*, *13*, 397–416, **1987**.
- [105] B. Spengler und M. Hubert, “Scanning microprobe matrix-assisted laser desorption ionization (SMALDI) mass spectrometry: instrumentation for sub-micrometer resolved LDI and MALDI surface analysis”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *13* (6), 735–748, **2002**.
- [106] B. J. Garrison, A. Delcorte, L. V. Zhigilei, T. E. Itina, K. D. Krantzman, Y. G. Yingling, C. M. McQuaw, E. J. Smiley und N. Winograd, “Big molecule ejection – SIMS vs. MALDI”, *Appl. Surf. Sci.*, *203–204*, 69–71, **2003**.
- [107] S. L. Luxembourg, T. H. Mize, L. A. McDonnell und R. M. A. Heeren, “High-spatial resolution mass spectrometric imaging of peptide and protein distributions on a surface”, *Anal. Chem.*, *76* (18), 5339–5344, **2004**.
- [108] S. L. Luxembourg, L. A. McDonnell, T. H. Mize und R. M. A. Heeren, “Infrared mass spectrometric imaging below the diffraction limit”, *J. Proteome Res.*, *4* (3), 671–673, **2005**.



- [109] L. A. Klerk, A. M. Altelaar, M. Froesch, L. A. McDonnell und R. M. Heeren, “Fast and automated large-area imaging MALDI mass spectrometry in microprobe and microscope mode”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *285* (1–2), 19–25, **2009**.
- [110] J. J. Thomson, “Rays of positive electricity”, *Philosophical Magazine Series 6*, *20* (118), 752–767, **1910**.
- [111] R. F. K. Herzog und F. P. Viehböck, “Ion Source for Mass Spectrography”, *Phys. Rev.*, *76* (6), 855–856, **1949**.
- [112] R. M. A. Heeren, L. A. McDonnell, E. Amstalden, S. L. Luxembourg, A. F. M. Altelaar und S. R. Piersma, “Why don’t biologists use SIMS?: A critical evaluation of imaging MS”, *Appl. Surf. Sci.*, *252*, 6827–6835, **2006**.
- [113] H. Liebl, “Ion Microprobe Mass Analyzer”, *J. Appl. Phys.*, *38* (13), 5277–5283, **1967**.
- [114] R. Castaing und G. Slodzian, “Microanalyse par émission ionique secondaire”, *J. Microsc.*, *1*, 395, **1962**.
- [115] K. J. Wu und R. W. Odom, “Matrix-Enhanced Secondary Ion Mass Spectrometry: A Method for Molecular Analysis of Solid Surfaces”, *Anal. Chem.*, *68* (5), 873–882, **1996**.
- [116] T. L. Colliver, C. L. Brummel, M. L. Pacholski, F. D. Swanek, A. G. Ewing und N. Winograd, “Atomic and molecular imaging at the single-cell level with TOF-SIMS”, *Anal. Chem.*, *69* (13), 2225–2231, **1997**.
- [117] A. F. M. Altelaar, J. van Minnen, C. R. Jiménez, R. M. A. Heeren und S. R. Piersma, “Direct molecular imaging of *Lymnaea stagnalis* nervous tissue at subcellular spatial resolution by mass spectrometry”, *Anal. Chem.*, *77* (3), 735–741, **2005**.
- [118] L. A. McDonnell, R. M. A. Heeren, R. P. J. de Lange und I. W. Fletcher, “Higher sensitivity secondary ion mass spectrometry of biological molecules for high resolution, chemically specific imaging”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *17* (9), 1195–1202, **2006**.

- [119] T. R. Northen, O. Yanes, M. T. Northen, D. Marrinucci, W. Uritboonthai, J. Apon, S. L. Golledge, A. Nordstrom und G. Siuzdak, “Clathrate nanostructures for mass spectrometry”, *Nature*, *449* (7165), 1033–1036, **2007**.
- [120] D. S. Cornett, M. L. Reyzer, P. Chaurand und R. M. Caprioli, “MALDI imaging mass spectrometry: molecular snapshots of biochemical systems”, *Nature Methods*, *4* (10), 828–833, **2007**.
- [121] R. M. A. Heeren, “Proteome imaging: a closer look at life’s organization”, *Proteomics*, *5* (17), 4316–4326, **2005**.
- [122] E. B. Monroe, J. C. Jurchen, B. A. Koszczuk, J. L. Losh, S. S. Rubakhin und J. V. Sweedler, “Massively Parallel Sample Preparation for the MALDI MS Analyses of Tissues”, *Anal. Chem.*, *78* (19), 6826–6832, **2006**.
- [123] D. B. Thibault, C. J. Gillam, A. C. Grey, J. Han und K. L. Schey, “MALDI Tissue Profiling of Integral Membrane Proteins from Ocular Tissues”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *19* (6), 814–822, **2008**.
- [124] A. C. Grey, P. Chaurand, R. M. Caprioli und K. L. Schey, “MALDI imaging mass spectrometry of integral membrane proteins from ocular lens and retinal tissue”, *J. Proteome Res.*, *8* (7), 3278–3283, **2009**.
- [125] K. R. Amaya, E. B. Monroe, J. V. Sweedler und D. F. Clayton, “Lipid imaging in the zebra finch brain with secondary ion mass spectrometry”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *260* (2-3), 121–127, **2007**.
- [126] K. Börner, P. Malmberg, J.-E. Månsson und H. Nygren, “Molecular imaging of lipids in cells and tissues”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *260* (2–3), 128–136, **2007**.
- [127] R. Chen, L. Hui, R. M. Sturm und L. Li, “Three Dimensional Mapping of Neuropeptides and Lipids in Crustacean Brain by Mass Spectral Imaging”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *20* (6), 1068–1077, **2009**.
- [128] S. S. Rubakhin, J. C. Jurchen, E. B. Monroe und J. V. Sweedler, “Imaging mass spectrometry: fundamentals and applications to drug discovery”, *Drug Discov. Today*, *10* (12), 823–837, **2005**.

- [129] M. Stoeckli, D. Staab und A. Schweitzer, “Compound and metabolite distribution measured by MALDI mass spectrometric imaging in whole-body tissue sections”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *260* (2-3), 195–202, **2007**.
- [130] M. Stoeckli, D. Staab, A. Schweitzer, J. Gardiner und D. Seebach, “Imaging of a  $\beta$ -Peptide Distribution in Whole-Body Mice Sections by MALDI Mass Spectrometry”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *18* (11), 1921–1924, **2007**.
- [131] P. Chaurand, J. C. Latham, K. B. Lane, J. A. Mobley, V. V. Polosukhin, P. S. Wirth, L. B. Nanney und R. M. Caprioli, “Imaging mass spectrometry of intact proteins from alcohol-preserved tissue specimens: bypassing formalin fixation”, *J. Proteome Res.*, *7* (8), 3543–3555, **2008**.
- [132] R. M. Heeren, D. F. Smith, J. Stauber, B. Kükreer-Kaletas und L. MacAleese, “Imaging Mass Spectrometry: Hype or Hope?”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *20* (6), 1006–1014, **2009**.
- [133] W. Bouschen und B. Spengler, “Artifacts of MALDI sample preparation investigated by high-resolution scanning microprobe matrix-assisted laser desorption/ionization (SMALDI) imaging mass spectrometry”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *266* (1-3), 129–137, **2007**.
- [134] L. A. McDonnell, S. R. Piersma, A. F. M. Altelaar, T. H. Mize, S. L. Luxembourg, P. D. E. M. Verhaert, J. van Minnen und R. M. A. Heeren, “Subcellular imaging mass spectrometry of brain tissue”, *J. Mass Spectrom.*, *40* (2), 160–168, **2005**.
- [135] P. Chaurand, K. E. Schriver und R. M. Caprioli, “Instrument design and characterization for high resolution MALDI-MS imaging of tissue sections”, *J. Mass Spectrom.*, *42* (4), 476–489, **2007**.
- [136] J. C. Jurchen, S. S. Rubakhin und J. V. Sweedler, “MALDI-MS imaging of features smaller than the size of the laser beam”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *16* (10), 1654–1659, **2005**.

- [137] Y. Li, B. Shrestha und A. Vertes, "Atmospheric pressure molecular imaging by infrared MALDI mass spectrometry", *Anal. Chem.*, *79* (2), 523–532, **2007**.
- [138] Y. Li, B. Shrestha und A. Vertes, "Atmospheric pressure infrared MALDI imaging mass spectrometry for plant metabolomics", *Anal. Chem.*, *80* (2), 407–420, **2008**.
- [139] J. M. Wiseman, D. R. Ifa, Q. Song und R. G. Cooks, "Tissue imaging at atmospheric pressure using desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, *45* (43), 7188–7192, **2006**.
- [140] J. M. Wiseman, D. R. Ifa, Y. Zhu, C. B. Kissinger, N. E. Manicke, P. T. Kissinger und R. G. Cooks, "Desorption electrospray ionization mass spectrometry: Imaging drugs and metabolites in tissues", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *105* (47), 18120–18125, **2008**.
- [141] M. Nefliu, J. N. Smith, A. Venter und R. G. Cooks, "Internal energy distributions in desorption electrospray ionization (DESI)", *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *19* (3), 420–427, **2008**.
- [142] P. Nemes und A. Vertes, "Laser ablation electrospray ionization for atmospheric pressure, in vivo, and imaging mass spectrometry", *Anal. Chem.*, *79* (21), 8098–8106, **2007**.
- [143] B. Shrestha und A. Vertes, "In situ metabolic profiling of single cells by laser ablation electrospray ionization mass spectrometry", *Anal. Chem.*, *81* (20), 8265–8271, **2009**.
- [144] P. Nemes, A. A. Barton und A. Vertes, "Three-dimensional imaging of metabolites in tissues under ambient conditions by laser ablation electrospray ionization mass spectrometry", *Anal. Chem.*, *81* (16), 6668–6675, **2009**.
- [145] N. Agar, H. Yang, R. Carroll, P. Black und J. Agar, "Matrix Solution Fixation: Histology-Compatible Tissue Preparation for MALDI Mass Spectrometry Imaging", *Anal. Chem.*, *79* (19), 7416–7423, **2007**.

- [146] E. H. Seeley, S. R. Oppenheimer, D. Mi, P. Chaurand und R. M. Caprioli, “Enhancement of protein sensitivity for MALDI imaging mass spectrometry after chemical treatment of tissue sections”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *19* (8), 1069–1077, **2008**.
- [147] S. A. Schwartz, M. L. Reyzer und R. M. Caprioli, “Direct tissue analysis using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: practical aspects of sample preparation”, *J. Mass Spectrom.*, *38* (7), 699–708, **2003**.
- [148] M. Ronci, E. Bonanno, A. Colantoni, L. Pieroni, C. D. Ilio, L. G. Spagnoli, G. Federici und A. Urbani, “Protein unlocking procedures of formalin-fixed paraffin-embedded tissues: application to MALDI-TOF imaging MS investigations”, *Proteomics*, *8* (18), 3702–3714, **2008**.
- [149] H. J. Wang, S. N. Jackson, J. Post und A. S. Woods, “A Minimalist Approach to MALDI Imaging of Glycerophospholipids and Sphingolipids in Rat Brain Sections”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *278* (2-3), 143–149, **2008**.
- [150] Y. Sugiura, M. Setou und D. Horigome, “Methods of Matrix Application”, in M. Setou, Hrsg., “Imaging Mass Spectrometry”, 71–85, Springer Japan, **2010**.
- [151] D. L. Baluya, T. J. Garrett und R. A. Yost, “Automated MALDI Matrix Deposition Method with Inkjet Printing for Imaging Mass Spectrometry”, *Anal. Chem.*, *79* (17), 6862–6867, **2007**.
- [152] P. Chaurand, D. S. Cornett und R. M. Caprioli, “Molecular imaging of thin mammalian tissue sections by mass spectrometry”, *Curr. Opin. Biotechnol.*, *17* (4), 431–436, **2006**.
- [153] J. A. Hankin, R. M. Barkley und R. C. Murphy, “Sublimation as a Method of Matrix Application for Mass Spectrometric Imaging”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *18* (9), 1646–1652, **2007**.

- [154] S. M. Puolitaival, K. E. Burnum, D. S. Cornett und R. M. Caprioli, “Solvent-Free Matrix Dry-Coating for MALDI Imaging of Phospholipids”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, *19* (6), 882–886, **2008**.
- [155] E. Rapp, personal communication, **2007**.
- [156] B. Williams, S. Cornett, B. Dawant, A. Crecelius, B. Bodenheimer und R. Caprioli, “An algorithm for baseline correction of MALDI mass spectra”, in “Proceedings of the 43rd annual Southeast regional conference - Volume 1”, ACM-SE 43, 137–142, ACM, New York, NY, USA, **2005**.
- [157] J. L. Norris, D. S. Cornett, J. A. Mobley, M. Andersson, E. H. Seeley, P. Chaurand und R. M. Caprioli, “Processing MALDI mass spectra to improve mass spectral direct tissue analysis”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *260* (2-3), 212–221, **2007**.
- [158] G. McCombie, D. Staab, M. Stoeckli und R. Knochenmuss, “Spatial and Spectral Correlations in MALDI Mass Spectrometry Images by Clustering and Multivariate Analysis”, *Anal. Chem.*, *77* (19), 6118–6124, **2005**.
- [159] L. A. Klerk, A. Broersen, I. W. Fletcher, R. van Liere und R. M. A. Heeren, “Extended data analysis strategies for high resolution imaging MS: New methods to deal with extremely large image hyperspectral datasets”, *Int. J. Mass Spectrom.*, *260* (2–3), 222–236, **2007**.
- [160] M. Hanselmann, M. Kirchner, B. Y. Renard, E. R. Amstalden, K. Glunde, R. M. A. Heeren und F. A. Hamprecht, “Concise Representation of Mass Spectrometry Images by Probabilistic Latent Semantic Analysis”, *Anal. Chem.*, *80* (24), 9649–9658, **2008**.
- [161] M.-C. Djidja, V. Carolan, P. M. Loadman und M. R. Clench, “Method development for protein profiling in biological tissues by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry”, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, *22* (10), 1615–1618, **2008**.

- [162] M. Andersson, M. R. Groseclose, A. Y. Deutch und R. M. Caprioli, “Imaging mass spectrometry of proteins and peptides: 3D volume reconstruction”, *Nature Methods*, 5 (1), 101–108, **2008**.
- [163] T. M. Milillo und J. A. Gardella, “Spatial analysis of time of flight-secondary ion mass spectrometric images by ordinary kriging and inverse distance weighted interpolation techniques”, *Anal. Chem.*, 80 (13), 4896–4905, **2008**.
- [164] J. C. Silverstein, N. M. Parsad und V. Tsirlina, “Automatic perceptual color map generation for realistic volume visualization”, *J. Biomed. Inform.*, 41 (6), 927–935, **2008**.
- [165] D. Borland und R. Taylor, “Rainbow Color Map (Still) Considered Harmful”, *Computer Graphics and Applications, IEEE*, 27 (2), 14–17, **2007**.
- [166] D. S. Cornett, S. L. Frappier und R. M. Caprioli, “MALDI-FTICR imaging mass spectrometry of drugs and metabolites in tissue”, *Anal. Chem.*, 80 (14), 5648–5653, **2008**.
- [167] N. E. Manicke, A. L. Dill, D. R. Ifa und R. G. Cooks, “High-resolution tissue imaging on an orbitrap mass spectrometer by desorption electrospray ionization mass spectrometry”, *Journal of Mass Spectrometry*, 45 (2), 223–226, **2010**.
- [168] M. L. Reyzer und R. M. Caprioli, “MALDI mass spectrometry for direct tissue analysis: a new tool for biomarker discovery”, *J. Proteome Res.*, 4 (4), 1138–1142, **2005**.
- [169] D. R. Ifa, N. E. Manicke, A. L. Dill und R. G. Cooks, “Latent Fingerprint Chemical Imaging by Mass Spectrometry”, *Science*, 321 (8), 805, **2008**.
- [170] R. Wolstenholme, R. Bradshaw, M. R. Clench und S. Francese, “Study of latent fingermarks by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging of endogenous lipids”, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 23 (19), 3031–3039, **2009**.

- [171] R. Jelly, S. W. Lewis, C. Lennard, K. F. Lim und J. Almog, "Lawsone: a novel reagent for the detection of latent fingerprints on paper surfaces", *Chem. Commun.*, (30), 3513–3515, **2008**.
- [172] L. A. Lewis, R. W. Smithwick, G. L. Devault, B. Bolinger und S. A. Lewis, "Processes involved in the development of latent fingerprints using the cyanoacrylate fuming method", *J. Forensic Sci.*, *46*, 214–246, **2001**.
- [173] R. Leggett, E. E. Lee-Smith, S. M. Jickells und D. A. Russell, "Intelligent Fingerprinting: Simultaneous Identification of Drug Metabolites and Individuals by Using Antibody-Functionalized Nanoparticles", *Angew. Chem. Int. Ed.*, *46*, 4100–4103, **2007**.
- [174] P. Hazarika, S. M. Jickells, K. Wolff und D. A. Russell, "Imaging of Latent Fingerprints through the Detection of Drugs and Metabolites", *Angew. Chem. Int. Ed.*, *47*, 10167–10170, **2008**.
- [175] G. Kwak, W.-E. Lee, W.-H. Kim und H. Lee, "Fluorescence Imaging of latent fingerprints on conjugated polymer films with large fractional free volume", *Chem. Commun.*, (16), 2112–2114, **2009**.
- [176] T. Chen, Z. D. Schultz und I. W. Levin, "Infrared spectroscopic imaging of latent fingerprints and associated forensic evidence", *Analyst*, *134*, 1902–1904, **2009**.
- [177] A. K. Jain, Y. Chen und M. Demirkus, "Pores and ridges: high-resolution fingerprint matching using level 3 features", *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, *29* (1), 15–27, **2007**.
- [178] NEUROtechnology, *VeriFinger*<sup>®</sup> 6.2, **aufgerufen am 20. November 2010**, <http://www.neurotechnology.com>.
- [179] C. F. Consolazio, L. O. Matoush, R. A. Nelson, R. S. Harding und J. E. Canham, "Excretion of Sodium, Potassium, Magnesium and Iron in Human Sweat and the Relation of Each to Balance and Requirements", *J. Nutr.*, *79* (4), 407–415, **1963**.



- 
- [180] D. I. Carroll, I. Dzidic, E. C. Horning und R. N. Stillwell, "Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry", *Appl. Spectrosc. Rev.*, *17* (3), 337–406, **1981**.
- [181] E. P. Go, J. E. Prenni, J. Wei, A. Jones, S. C. Hall, H. E. Witkowska, Z. Shen und G. Siuzdak, "Desorption/Ionization on Silicon Time-of-Flight/Time-of-Flight Mass Spectrometry", *Anal. Chem.*, *75* (10), 2504–2506, **2003**.
- [182] M. Dole, L. L. Mack, R. L. Hines, R. C. Mobley, L. D. Ferguson und M. B. Alice, "Molecular Beams of Macroions", *J. Chem. Phys.*, *49* (5), 2240–2249, **1968**.
- [183] J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong und C. M. Whitehouse, "Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules", *Science*, *246* (4926), 64–71, **1989**.
- [184] M. Barber, R. Bordoli, R. Sedgewick und A. Tyler, "Fast atom bombardment of solids as an ion source in mass spectrometry", *Nature*, *293* (5830), 270–275, **1981**.
- [185] M. B. Comisarow und A. G. Marshall, "Fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy", *Chem. Phys. Lett.*, *25* (2), 282–283, **1974**.
- [186] W. Paul und H. Steinwedel, "Ein neues Massenspektrometer ohne Magnetfeld", *Z. Naturforsch. A*, *8* (7), 448–450, **1953**.
- [187] W. E. Stephens, "A Pulsed Mass Spectrometer with Time Dispersion", *Phys. Rev.*, *69*, 691, **1946**.
- [188] J. Zaia, R. S. Annan und K. Biemann, "The correct molecular weight of myoglobin, a common calibrant for mass spectrometry", *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, *6* (1), 32–36, **1992**.



# Lebenslauf

Am 02.12.1980 wurde ich, Alexander Beinsen, als Sohn der Eheleute Gabriele Beinsen, geb. Zimnik und Kurt Beinsen in Göttingen geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule in Moringen von 1987 bis 1991 sowie der KGS in Moringen von 1991 bis 1993 wechselte ich auf das Gymnasium Corvinianum in Northeim, wo ich im Juni 2000 mein Abitur ablegte.

Von Juli 2000 bis Mai 2001 leistete ich meinen Wehrdienst in Osterode und Hannover.

Im Oktober 2001 begann ich das Studium der Chemie an der Georg-August-Universität zu Göttingen und legte im April 2004 meine Vordiplomprüfung ab.

Vom Juni bis Dezember 2006 arbeitete ich im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Jürgen Troe im Institut für Physikalische Chemie an meiner Diplomarbeit zum Thema „Flüssigstrahlmassenspektrometrie: Oxidationskinetik von Biomolekülen und Ionenanalytik in wässrigen Systemen“. Im Mai 2007 schloss ich mein Diplom in Chemie mit der Diplomprüfung ab.

Seit August 2007 arbeite ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bernd Abel an meiner Doktorarbeit.

Im Oktober 2007 begann ich das Fernstudium Lasertechnik an der Friedrich-Schiller-Universität zu Jena und schloss dieses Studium Ende 2009 erfolgreich ab. Im Laufe dieses Studium habe ich auch die Sachkunde als Laserschutzbeauftragter nach BGV B2 erworben.

Seit Januar 2009 bin ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter im Sonderforschungsbereich 755 „Nanoscale Photonic Imaging“ beschäftigt.

Im Rahmen der Tätigkeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bernd Abel entstand die vorliegende Dissertation, mit dem Titel „Bildgebung und chemische Analytik mit Laserdesorptions-Massenspektrometrie im Bereich Forensik und Astrophysik“.