(19) Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) Veröffentlichungsnummer : **0 333 912 B1**

(12) # EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag der Patentschrift : **28.06.95 Patentblatt 95/26**

(51) Int. Cl.[6] : **H01J 49/14,** H05H 3/02

(21) Anmeldenummer : **88111565.3**

(22) Anmeldetag : **19.07.88**

(54) **Verfahren zum Verdampfen einer Probensubstanz.**

(30) Priorität : **22.03.88 DE 3809504**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung : **27.09.89 Patentblatt 89/39**

(45) Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung : **28.06.95 Patentblatt 95/26**

(84) Benannte Vertragsstaaten : **CH FR GB IT LI**

(56) Entgegenhaltungen :
DE-A- 3 018 455
ANALYTICAL CHEMISTRY, Band 50, Nr. 7, 19. June 1978, Seiten 985-991, American Chemical Society, Columbus, Ohio, US; M.A. POSTHUMUS et al.: "Laser desorption-mass spectrometry of polar nonvolatile bio-organic molecules"
TRAC (TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY), Band 6, Nr. 4, April 1987, Seiten 78-81,Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, NL; R. ISOBE et al.: "Direct microanalysis by negative ion fast atom bombardment mass spectrometry"

(56) Entgegenhaltungen :
ANALYTICAL CHEMISTRY, Band 53, Nr. 1, Januar 1981, Seiten 109-113, American Chemical Society, Columbus, Ohio, US; L.K. LIU et al.: "Matrix-assisted secondary ion mass spectra of biological compounds"

(73) Patentinhaber : **Bruker Franzen Analytik GmbH**
Kattenturmer Heerstrasse 122
D-28277 Bremen (DE)

(72) Erfinder : **Schlag, Edward, Prof. Dr.**
Lichtenbergstrasse 4
D-8046 Garching (DE)
Erfinder : **Lindner, Josef**
Hohenzollernstrasse 113
D-8000 München 40 (DE)
Erfinder : **Beavis, Ronald C., Dr.**
Pettenkoferstrasse 9
D-8300 Landshut (DE)
Erfinder : **Grotemeyer, J., Dr.**
Kleiberweg 5
D-8050 Freising (DE)

(74) Vertreter : **KOHLER SCHMID + PARTNER**
Patentanwälte
Ruppmannstrasse 27
D-70565 Stuttgart (DE)

Anmerkung : Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

EP 0 333 912 B1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Verdampfen einer aus großen Molekülen bestehenden Probensubstanz, bei dem die Probensubstanz Laserstrahlimpulsen hoher Energie ausgesetzt wird, so daß die sich an der Oberfläche der Probensubstanz befindenden Moleküle durch die Energie der Laserstrahlimpulse desorbiert werden.

Ein solches Verfahren ist z.B. aus Analytical Chemistry, Band 50, Nr. 7, 19. Juni 1987, Seiten 985-991, American Chemical Society, Columbus, Ohio, USA; M.A. Posthumus et al.: "Laser Desorption-Mass Spectrometry of Polar Nonvolatile Bio-Organic Molecules" bekannt.

Für die massenspektroskopische Untersuchung ist es erforderlich, feste Probensubstanzen in einen gasförmigen Zustand zu überführen. Ein solcher Vorgang ist dann mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden, wenn die Probensubstanz aus sehr großen Molekülen besteht, die durch die Zufuhr der zum Verdampfen erforderlichen Energie leicht zersetzt werden können. Aus der DE-A- 32 24 801 ist ein Verfahren zum Verdampfen einer aus großen Molekülen bestehenden Probensubstanz bekannt, bei dem die Probensubstanz Laserstrahlimpulsen ausgesetzt wird, deren Energie und Dauer so bemessen ist, daß die Probensubstanz schneller verdampft als sie sich zersetzt. Die dabei entstehenden neutralen Moleküle werden dem Strahl eines Trägergases beigemischt, der durch Expansion adiabatisch gekühlt wird. Indem die neutralen Moleküle in einen Bereich des Strahles eingeführt werden, in dem dieser zu expandieren beginnt, und dieser Bereich auf einer Temperatur gehalten wird, die wesentlich geringer ist als die Zersetzungstemperatur der Probensubstanz, erfolgt eine effektive Kühlung der Moleküle der Probensubstanz, durch die deren Zersetzung weitgehend ausgeschlossen werden soll. Die zur massenspektroskopischen Untersuchung erforderliche Ionisierung der Probenmoleküle erfolgt innerhalb des Strahles des Trägergases zu einem späteren Zeitpunkt.

Obwohl das bekannte Verfahren bei vielen Substanzen mit Erfolg angewendet werden kann, haben die massenspektroskopischen Untersuchungen solcher Substanzen gezeigt, daß sich im Spektrum Linien befinden, die als Zerfallsprodukte der Probensubstanz betrachtet werden können. Eingehende Untersuchungen haben gezeigt, daß diese Zerfallsprodukte beim Verdampfen der Probensubstanz und nicht bei der späteren Ionisierung entstehen. Diese Zerfallsprodukte verhindern zwar nicht die spektrometrische Feststellung der Probensubstanz, vermindern jedoch die Ausbeute an unversehrten Molekülen und führen zu störenden Linien im Spektrum.

Aus TRAC (Trends in Analytical Chemistry), Band 6, Nr. 4, April 1987, Seiten 78-81, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Niederlande; R. Isobe et al.: "Direct microanalysis by negative ion fast atom bombardment mass spectrometry" ist ein Verfahren zur massenspektrometrischen Untersuchung von Probensubstanzen bekannt, die aus einer Matrix durch Beschuß mit schnellen Atomen als Molekül-Ionen abgelöst und nachfolgend detektiert werden.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zum Verdampfen von großen neutralen Molekülen zur Verfügung zu stellen, bei dem die Gefahr einer Zerstörung der Moleküle durch die zum Verdampfen zugeführte Energie stark reduziert, wenn nicht sogar gänzlich ausgeschaltet ist.

Diese Aufgabe wird nach der Erfindung dadurch gelöst, daß die Probensubstanz vor dem Bestrahlen mit einem unter dem Einfluß der Laserstrahlimpulse leicht zerfallenden Matrixmaterial, das mindestens eine Verbindung enthält, die Licht mit der Wellenlänge der Laserstrahlimpulse absorbiert, vermischt und das aus der Probensubstanz und dem Matrixmaterial bestehende Gemisch den Laserstrahlimpulsen ausgesetzt wird, wobei neutrale Moleküle desorbiert und dem Strahl eines Trägergases beigemischt werden, und daß zu einem späteren Zeitpunkt eine zur massenspektroskopischen Untersuchung erforderliche Ionisierung der Probenmoleküle innerhalb des Strahles des Trägergases erfolgt.

Durch das Einbetten der Probensubstanz in ein leicht zerfallendes Matrixmaterial wird die mittels der Laserstrahlimpulse zugeführte Energie auf die Probensubstanz und das Matrixmaterial verteilt und in erster Linie dazu verbraucht, einen Zerfall der Matrix zu bewirken. Durch diesen Zerfall des Matrixmaterials in Gasmoleküle findet in der Umgebung der in die Matrixsubstanz eingebetteten Probenmoleküle eine effektvolle Zerstörung des Materials mit dem Ergebnis statt, daß die Probenmoleküle die Verbindung zur Oberfläche und damit auch zu anderen Molekülen verlieren und dadurch von der Oberfläche der Probensubstanz weggeschleudert werden. Diesen Vorgang könnte man als "lokale Explosion" bezeichnen. Daher werden bei Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens die empfindlichen Moleküle der Probensubstanz von der Probenoberfläche gelöst, ohne daß sie selbst eine sehr hohe Energie aufnehmen müßten. Zugleich entsteht durch den Zerfall des Matrixmaterials eine Art "Eigenjet", der von der Probenoberfläche weggerichtet ist und dessen Gasteilchen die desorbierten Probenmoleküle schon wirksam abkühlen, bevor sie beispielsweise einen Überschallstrahl erreichen, in dem in der oben beschriebenen Weise eine weitere Abkühlung stattfindet.

Bei einer Variante des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein Matrixmaterial verwendet, das aus mindestens einer thermolytisch leicht in Gasmoleküle zerfallenden Verbindung besteht. Hierbei ist es für einen wirksamen Schutz der Probensubstanz vorteilhaft, wenn ein Gemisch verwendet wird, in dem die Anzahl der Moleküle des Matrixmaterials größer ist

als die Anzahl der Moleküle der Probensubstanz. Dabei kann der Anteil der Probensubstanz im Gemisch, je nach Art der Probensubstanz einerseits und der Art der für die Matrix verwendeten Verbindungen andererseits, 10 bis 40 Gew. % betragen.

Die oben genannte Bedingung, daß die das Matrixmaterial bildenden Verbindungen thermolytisch leicht in gasförmige Moleküle zerfallen, wird sowohl von organischen als auch anorganischen Verbindungen erfüllt. Besonders geeignete organische Verbindungen sind Zucker, insbesondere Pentose oder Hexose, aber auch Polysaccharide wie Cellulose. Diese Verbindungen zerfallen thermolytisch zu CO_2 und H_2O, so daß sie keine Rückstände bilden, die zu chemischen Reaktionen führen könnten. An anorganischen Verbindungen ist insbesondere Ammoniumnitrat zu nennen, das praktisch rückstandsfrei zerfällt.

Bei einer anderen Variante des erfindungsgemäßen Verfahrens wird in das Matrixmaterial Metallstaub, vorzugsweise Gold- oder Silberstaub mit einer Korngröße von weniger als 40 µm, eingebettet. In diesem Fall können auch Matrixmaterialien verwendet werden, die nicht infolge der Absorption der Laserstrahlung thermolytisch zersetzt werden. Obwohl diese Theorie nicht vollständig gesichert ist, kann angenommen werden, daß an der Oberfläche der Metallteilchen Plasmawellen entstehen, die sich als Schockwellen ausbreiten und an der Oberfläche des Matrixmaterials ein Zerreißen der Matrix und damit wiederum ein Freisetzen der eingebetteten Moleküle bewirken. Als besonders geeignet hat sich für diese Variante des erfindungsgemäßen Verfahrens die Verwendung eines Polyethylens als Matrixmaterial erwiesen. Die Verwendung von Polyethylen hat den besonderen Vorteil, daß dieses Material bereits in der Infrarot-Spektroskopie als Matrixmaterial Material verwendet wird und daher erprobte Materialien und Geräte zur Einbettung der Probensubstanz in solches Polyethylen zur Verfügung stehen.
So können insbesondere aus dem Matrixmaterial und der Probensubstanz Pellets geformt und den Laserstrahlimpulsen ausgesetzt werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren wurde zur Verdampfung von organischen Verbindungen angewendet, die in ihrer chemischen Zusammensetzung stark variieren. So läßt es sich ohne weiteres bei Molekülen, die stark polare Gruppen haben, als auch bei unpolaren Molekülen anwenden. Zu den ersten gehören Verbindungen mit acidischem und/oder basischem Charakter, wie z.B. Peptide, Amminosäuren und Farbstoffe, während zu den letzten aromatische und nicht aromatische Kohlenwasserstoffe zählen. Dabei hat sich als besonders vorteilhaft herausgestellt, daß die Totalausbeute an desorbierten Probenmolekülen gegenüber der Verdampfung ohne die Vermischung mit einem Matrixmaterial, je nach der Art der Probensubstanz, um einen Faktor 4 bis 10 erhöht werden konnte.

Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden Pellets aus einem spektroskopischen Polyethylen, das für Strahlung im Bereich von 10 µm Wellenlänge durchlässig ist, mit einem Anteil von etwa 10^{-1} bis 10^{-2} Gew.T. der Probensubstanz und etwa 10^{-1} bis 10^{-2} Gew.T. an Gold- oder Silberstaub hergestellt und der Strahlung eines CO_2-Lasers ausgesetzt. Auf diese Weise ist es gelungen, nicht nur die Empfindlichkeit des erfindungsgemäßen Verfahres erheblich zu steigern, sondern auch Moleküle der Massenspektroskopie zuzuführen, deren massenspektroskopische Untersuchung bisher unmöglich schien, nämlich Nukleotide.

Die Erfindung wird im folgenden anhand einiger Beispiele näher beschrieben und erläutert, deren Ergebnisse durch die in den Fig. 1 bis 9 der Zeichnung dargestellten Diagramme wiedergegeben werden.

Bei den durch die Fig. 1 bis 4 veranschaulichten Beispielen wurde zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens eine Probe, die sich auf einem wenige Millimeter unterhalb einer Überschall-Strahldüse angeordneten Probenträger befand, mit einem IR-Laserstrahlimpuls bestrahlt, dessen Energie 50 mJ und dessen Dauer 20 µs betrug. Der Überschall-Gasstrahl wurde jeweils nach einem IR-Laserstrahlimpuls eingeschaltet, so daß die durch den Laserstrahlimpuls erzeugten gasförmigen Produkte von dem Überschall-Gasstrahl mitgenommen und bei der Expansion des Gasstrahles gekühlt wurden. Der Gasstrahl wurde dann durch Einrichtungen zum Entfernen jeglicher Kationen geführt, so daß in einen folgenden Ionisationsbereich nur neutrale Moleküle eintreten, in dem ein UV-Laserstrahl den Gasstrahl schneidet. Von dem UV-Laser wurden Laserstrahlimpulse von 5 ns Dauer mit einer Energie von 300 µJ erzeugt. Die dadurch erzeugten Kationen wurden einem Flugzeit-Massenspektrometer zugeführt und mit einer Mehrkanal-Plattenanordnung detektiert. Das verwendete Flugzeit-Massenspektrometer war von der in Anal. Instrum., 16, 151 (1986) beschriebenen Art. Die typische Massenauflösung liegt im Bereich von 6000 bis 10000 nach der FWHM-Definition.

Bei den mit der beschriebenen Einrichtung untersuchten Probensubstanzen handelte es sich um Dipeptide. Es wurden etwa 1 mg des Peptids in 50 µl Wasser aufgeschlämmt und es wurden dann 20 µl dieser Aufschlämmung auf den Probenträger aufgebracht. Bei den meisten der erhaltenen Spektren wurden etwa 10% der auf den Probenträger aufgebrachten Substanz zur Erzeugung des Spektrums verbraucht.

In gleicher Weise wurden Mischungen von Dipeptiden und Matrixmaterialien hergestellt. Es wurde 1 mg des Peptids in 50 ml einer wässrigen Lösung der gewünschten Matrixverbindung aufgeschlämmt und es wurden dann 20 ml der resultierenden Aufschlämmung auf dem Probenträger aufgebracht. In beiden

Fällen wurde das Wasser einfach durch Trocknen an der Luft entfernt. Als Matrixverbindungen wurden Sucrose und Glucose verwendet. Das verwendete Wasser war dreifach deionisiert.

Fig. 1 zeigt das auf die vorstehend beschriebene Weise erhaltene Massenspektrum des reinen Peptids Leucin-Tryptophan. Neben der Linie 1 für das reine Peptid mit der sich aus der auf der Abszisse aufgetragenen Flugzeit ergebenden Masse M zeigt das Spektrum eine weitere Linie 2 einer Substanz der Masse M - 18. Fig. 2 zeigt das Spektrum des gleichen Peptids Leucin-Tryptophan, jedoch nach Einbetten des Peptids in eine Glucosematrix im Verhältnis 1 mg Glucose pro 1 mg Peptid. Die Vermischung mit der Glucose hat eine fast vollständige Unterdrückung der Linie M - 18 zur Folge, die auf eine Zerstörung eines Teiles der Peptid-Moleküle bei der Verdampfung zurückzuführen ist.

Ähnlich wie die Fig. 1 und 2 zeigen auch die Fig. 3 und 4 das Spektrum eines reinen Peptids bzw. eines in eine Sucrose-Matrix eingebetteten Peptids. Als Peptid findet diesmal Methionin-Tyrosin Verwendung. Auf der Abszisse der Diagramme nach den Fig. 3 und 4 ist diesmal das Massen/Ladungs-verhältnis M/Z aufgetragen, während die Koordinate wiederum die Intensität der Linien wiedergibt. Bei der Ionisation der Substanz entstand nur das A_1 Fragment mit M/Z = 104. Die Bezeichnung A-Fragment beruht auf der Roepstroff-Fohlman-Nomenklatur [Biodmed. Mass Spectrom. 11,601 (1984)].

Ähnlich wie bei dem durch die Fig. 1 und 2 veranschaulichten Versuch tritt auch hier bei der Verdampfung des reinen Peptids eine Fragmentation des Peptids ein, die zu der Linie mit der Massenzahl M - 18 führt. Dagegen verschwindet diese Linie vollkommen, wie aus Fig. 4 ersichtlich, wenn das Peptid in eine Sucrosematrix eingebettet wird. Es ist ohne weiteres verständlich, daß das erst nach der Verdampfung der Peptidmoleküle bei der Ionisation entstehende A_1-Fragment auch bei dem Verdampfen des Peptids in einer Sucrosematrix erhalten bleibt.

Es sei noch erwähnt, daß an den Proben, die zu den vorstehend behandelten Spektren geführt haben, die Pyrolyse der Zuckermatrix als Schwärzung der Probe durch die Einwirkung der wiederholten Laserstrahlimpulse erkennbar war. Eine solche Schwärzung trat bei den Proben, welche die reinen Peptide enthielten, nicht ein. Es ist anzunehmen, daß die Zersetzung der Zucker eine pyrolytische Dehydratation der Peptide verhindert, weil die Pyrolyse des Zuckers zu einem Überschuß an Wasser in der Umgebung der Peptid-Moleküle führt, wodurch die Dehydratations-Reaktion der Peptide in die andere Richtung getrieben wird.

Für die durch die Diagramme nach den Fig. 5 bis 9 veranschaulichten Beispiele wurden, soweit nichts anderes angegeben, aus 5 mg pulverförmigem Polyethylen, etwa 0,1 mg pulverförmigem Silber oder Gold und der angegebenen Menge der Probensubstanz Pellets hergestellt. Diese Pellets wurden der Strahlung eines getasteten TEA-Lasers mit einer Wellenlänge von 10,6 µm und einer Pulsleistung von 10 mJ ausgesetzt. Der von dem Laser erzeugte Puls war bimodal und hatte eine kurze, scharfe Spitze von 2 µs Dauer (d.h. FWHM = 2 µs) und eine breite Rückflanke von 20 µs Dauer (d.h. FWHM = 20 µs). Die Intensität der Rückflanke betrug nur etwa die Hälfte der Intensität der scharfen Spitze. Die durch die Laserstrahlimpulse desorbierten Moleküle der Probensubstanz gelangten in einen von einer Überschall-Düse erzeugten Gasstrahl, die sich in einem Abstand von 1 bis 2 mm von der Desorptionsstelle befand. Der Staudruck des Strahls betrug 0,1 bis 0,2 MPa (1 bis 2 bar). Die Moleküle der Probensubstanz verteilten sich über den Gasstrahl nach einem Flug von 80 mm in Richtung auf den Ionisationsbereich. Das verwendete Massenspektrometer war das gleiche wie bei den vorhergehenden Beispielen.

Die Fig. 5 und 6 veranschaulichen die bedeutende Steigerung der Empfindlichkeit, die durch das Einbetten der zu untersuchenden Substanz in eine Matrix aus Polyethylen mit einer Beimengung von Silber erhalten werden kann. So ergeben 10 mg pulverförmiges Leu-Tyr-Leu eine Linie mit einer Intensität, die nur wenig größer ist als die Intensität der Linie, die von nur 100 ng in Polyethylen mit Silber eingebettetes Leu-Tyr-Leu erhalten wird, also von einer um 10^{-5} geringeren Menge. Der Grund dafür besteht darin, daß die Verdampfung des in die Polyethylen-Matrix mit der Beimengung von Silberpulver eingebetteten Leu-Tyr-Leu praktisch ohne jegliche Zerstörung der Moleküle erfolgt, während die Substanz ohne schützende Matrix durch den Beschuß mit dem Laserstrahl in einem hohen Maße zerstört wird.

Die Fig. 7 bis 9 veranschaulichen die Spektren von Substanzen, von denen bisher, d.h. ohne die erfindungsgemäße Einbettung in ein Matrixmaterial, überhaupt kein Signal erhalten werden konnte. Das Spektrum nach Fig. 7 zeigt die Linie von Thymin, die von nur 50 µg der Substanz in einer Matrix aus Polyethylen mit Silber erhalten wurde. Das Spektrum nach Fig. 8 wurde unter Einsatz von sogar nur 10 µg Adenosin in einer Goldstaub enthaltenden Matrix erhalten. Endlich zeigt Fig. 9 das Spektrum von tris-Ru-Bipyridylacetat. Die eingesetzte Menge betrug nur 20 µg in einer Gold enthaltenden Matrix.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Verdampfen einer aus großen Molekülen bestehenden Probensubstanz, bei dem die Probensubstanz Laserstrahlimpulsen hoher Energie ausgesetzt wird, so daß die sich an der Oberfläche der Probensubstanz befindenden Moleküle durch die Energie der Laserstrahl-

impulse desorbiert werden,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Probensubstanz vor dem Bestrahlen mit einem unter dem Einfluß der Laserstrahlimpulse leicht zerfallenden Matrixmaterial, das mindestens eine Verbindung enthält, welche Licht mit der Wellenlänge der Laserstrahlimpulse absorbiert, vermischt und das aus der Probensubstanz und dem Matrixmaterial bestehende Gemisch den Laserstrahlimpulsen ausgesetzt wird, wobei neutrale Moleküle desorbiert und dem Strahl eines Trägergases beigemischt werden, und daß zu einem späteren Zeitpunkt eine zur massenspektroskopischen Untersuchung erforderliche Ionisierung der Probenmoleküle innerhalb des Strahles des Trägergases erfolgt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Matrixmaterial verwendet wird, das aus mindestens einer thermolytisch leicht in Gasmoleküle zerfallenden Verbindung besteht.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein Gemisch verwendet wird, in dem die Anzahl der Moleküle des Matrixmaterials größer ist als die Anzahl der Moleküle der Probensubstanz.

4. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Probensubstanz im Gemisch 10 bis 40 Gew.% beträgt.

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als eine das Matrixmaterial bildende Verbindung ein Zucker, insbesondere eine Pentose oder Hexose, verwendet wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß als eine das Matrixmaterial bildende Verbindung ein Polysaccharid, insbesondere Cellulose, verwendet wird.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß als eine das Matrixmaterial bildende Verbindung Ammoniumnitrat verwendet wird.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in das Matrixmaterial Metallstaub, vorzugsweise Gold- oder Silberstaub mit einer Korngröße von weniger als 40 µm, eingebettet wird.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß als eine das Matrixmaterial bildende Verbindung ein Polyethylen verwendet wird.

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß aus dem Matrixmaterial und der Probensubstanz und ggf. dem Metallstaub Pellets geformt und den Laserstrahlimpulsen ausgesetzt werden.

11. Verfahren nach den Ansprüchen 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Pellets aus einem spektroskopischen Polyethylen, das für Strahlung im Bereich von 10 µm Wellenlänge durchlässig ist, mit einem Anteil von etwa 10^{-4} bis 10^{-5} Gew.T. der Probensubstanz und etwa 10^{-4} bis 10^{-5} Gew.T. an Gold- oder Silberstaub hergestellt und der Strahlung eines CO_2-Lasers ausgesetzt werden.

Claims

1. Method for the evaporation of a sample substance comprising large molecules with which the sample substance is subjected to high energy laser beam pulses to desorb molecules located on the surface of the sample substance with the energy of the laser beam pulse,
characterized in that
the sample substance is mixed prior to irradiation with a matrix material which easily decomposes under the influence of the laser beam pulse and which contains at least one compound absorbing light at the wavelength of the laser beam pulse and the mixture comprising the sample substance and the matrix material is exposed to the laser beam pulses, whereby neutral molecules are desorbed and mixed with a carrier gas jet and, at a later point in time, an ionization of the sample molecule necessary for mass spectroscopy investigation is carried out within the carrier gas jet.

2. Method according to claim 1, characterized in that a matrix material is utilized which comprises at least one compound which easily decays thermolytically into gas molecules.

3. Method according to claim 1 or 2, characterized in that a mixture is utilized in which the number of matrix material molecules is larger than the number of sample substance molecules.

4. Method according to claim 2, characterized in that the fraction of sample substance in the mixture assumes a value of 10 to 40 % per weight.

5. Method according to one of the preceding claims, characterized in that a sugar, in particular, a pentose or hexose, is utilized as a compound forming the matrix material.

6. Method according to one of the claims 1 through 4, characterized in that a polysaccharide, in particular cellulose, is utilized as a compound forming the matrix material.

7. Method according to one of the claims 1 through 4, characterized in that ammonium nitrate is utilized as a compound forming the matrix material.

8. Method according to one of the preceding claims, characterized in that metallic dust, preferentially gold or silver dust having a grain size of less than 40 μm is embedded in the matrix material.

9. Method according to claim 8, characterized in that polyethylene is utilized as a compound forming the matrix material.

10. Method according to one of the preceding claims, characterized in that pellets are formed from the matrix material, the sample substance and possibly the metal dust and subjected to laser beam pulses.

11. Method according to the claims 8 through 10, characterized in that the pellets are produced from spectroscopic polyethylene transparent to radiation in the wavelength region of 10 μm having a fraction of approximately 10^{-4} to 10^{-5} by weight of the sample substance and approximately 10^{-4} to 10^{-5} by weight of gold or silver dust which are subjected to CO_2-laser radiation.

Revendications

1. Procédé d'évaporation d'un échantillon de matière constitué de molécules de grande taille, selon lequel on expose l'échantillon de matière à des impulsions de faisceau laser à haute énergie, de sorte que les molécules qui se trouvent à la surface de l'échantillon sont désorbées par l'énergie de ces impulsions, **caractérisé** en ce qu'on mélange, avant l'irradiation, l'échantillon de matière à un matériau de matrice se décomposant facilement sous l'influence des impulsions de faisceau laser et contenant un composé qui absorbe la lumière à la longueur d'onde des impulsions de faisceau laser, et on expose aux impulsions de faisceau laser le mélange constitué de l'échantillon de matière et du matériau de matrice, les molécules neutres étant désorbées et additionnées au faisceau d'un gaz porteur, et en ce que l'ionisation des molécules de l'échantillon qui est nécessaire pour l'analyse par spectrométrie de masse s'effectue à un instant ultérieur, à l'intérieur du faisceau de gaz porteur.

2. Procédé selon la revendication 1, **caractérisé** en ce qu'on utilise un matériau de matrice qui est constitué d'au moins un composé à décomposition thermolytique aisée en molécules gazeuses.

3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, **caractérisé** en ce qu'on utilise un mélange dans lequel le nombre de molécules du matériau de matrice est supérieur au nombre de molécules de l'échantillon de matière.

4. Procédé selon la revendication 2, **caractérisé** en ce que la part de l'échantillon de matière dans le mélange est de 10 à 40 % (en poids).

5. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé** en ce qu'on utilise comme composé formant le matériau de matrice un sucre, notamment un pentose ou un hexose.

6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, **caractérisé** en ce qu'on utilise comme composé formant le matériau de matrice un polysaccharide, notamment de la cellulose.

7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, **caractérisé** en ce qu'on utilise du nitrate d'ammonium comme composé formant le matériau de matrice.

8. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé** en ce qu'on incorpore dans le matériau de matrice de la poussière métallique, de préférence de la poussière d'or ou d'argent d'une taille de grains inférieure à 40 μm.

9. Procédé selon la revendication 8, **caractérisé** en ce qu'on utilise un polyéthylène comme composé formant le matériau de matrice.

10. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé** en ce qu'on forme des boulettes à partir du matériau de matrice, de l'échantillon de matière et le cas échéant de la poussière métallique, et on les expose aux impulsions de faisceau laser.

11. Procédé selon les revendications 8 à 10, **caractérisé** en ce qu'on fabrique les boulettes à partir d'un polyéthylène spectroscopique laissant passer le rayonnement dans la plage de 10 μm de longueur d'onde, avec une teneur d'environ 10^{-4} à 10^{-5} parts de poids d'échantillon de matière et d'environ 10^{-4}à 10^{-5} de poids de poussière d'or ou d'argent, et on expose ces boulettes au rayonnement d'un laser à CO_2.

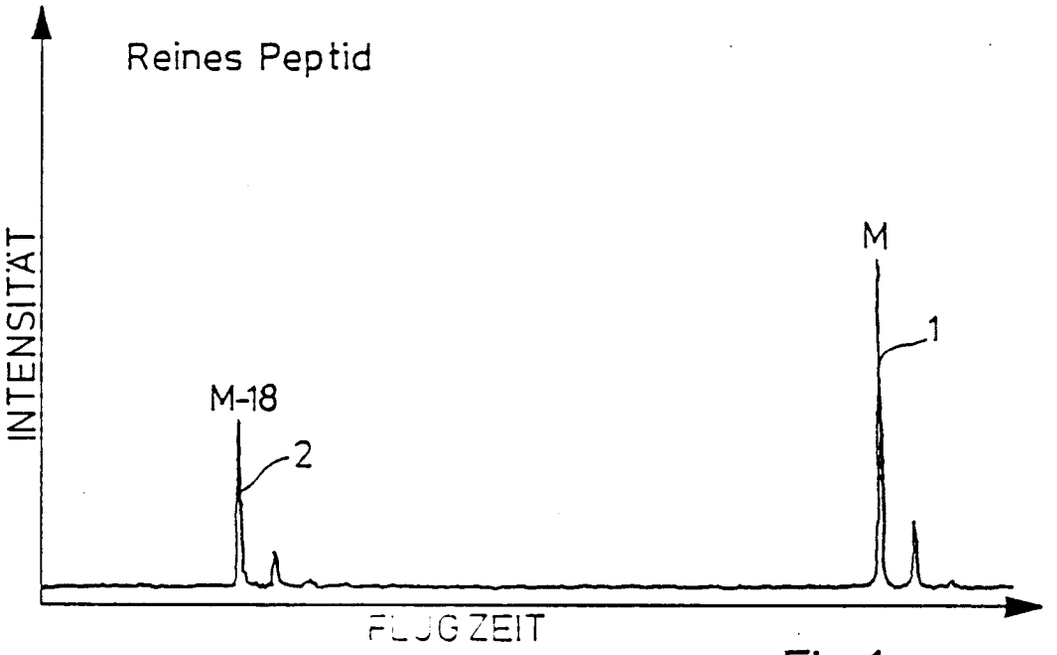
Reines Peptid
INTENSITÄT
M
1
M-18
2
FLUG ZEIT

Fig. 1

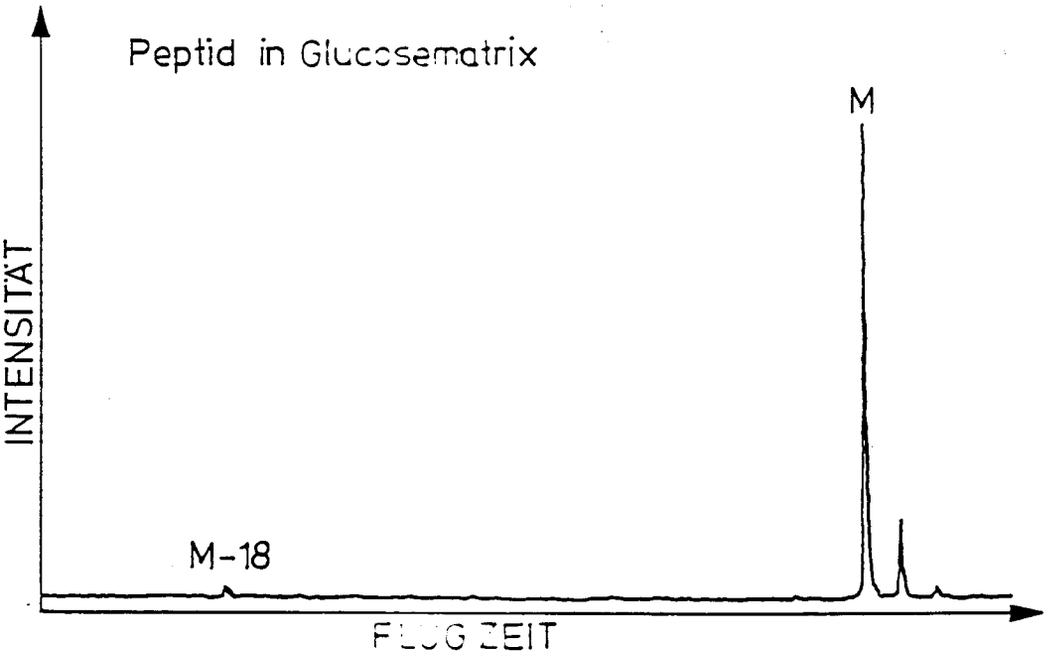
Peptid in Glucosematrix
INTENSITÄT
M
M-18
FLUG ZEIT

Fig. 2

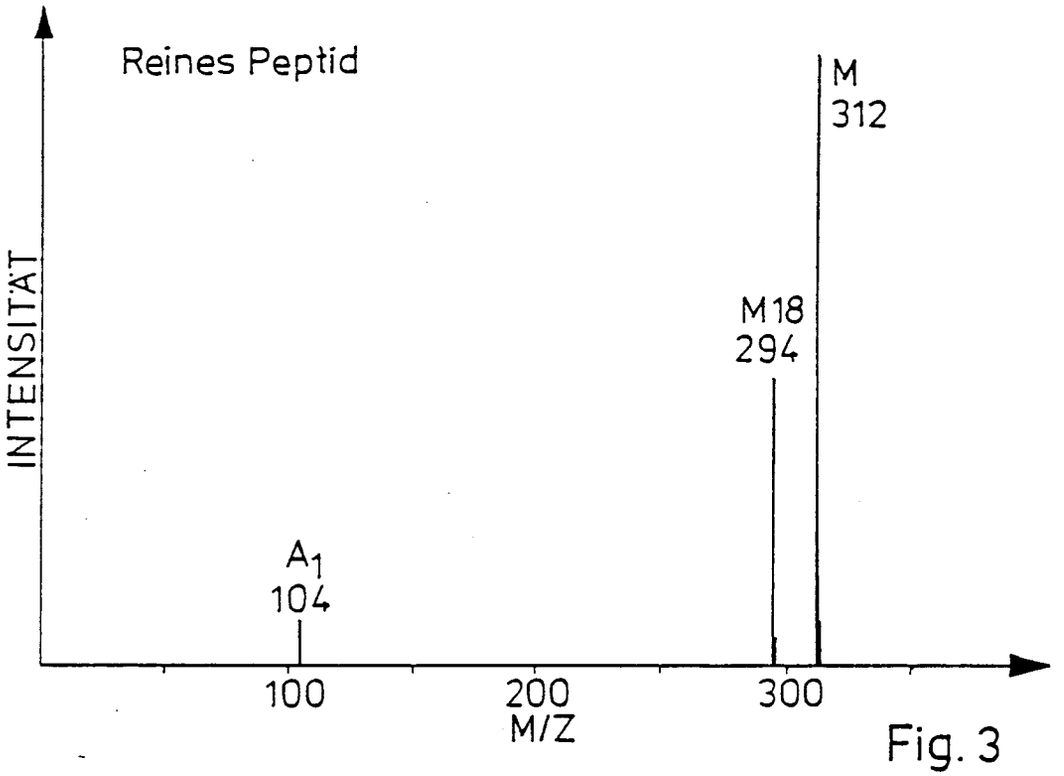
Reines Peptid
M
312
M18
294
A1
104
INTENSITÄT
100
200
300
M/Z

Fig. 3

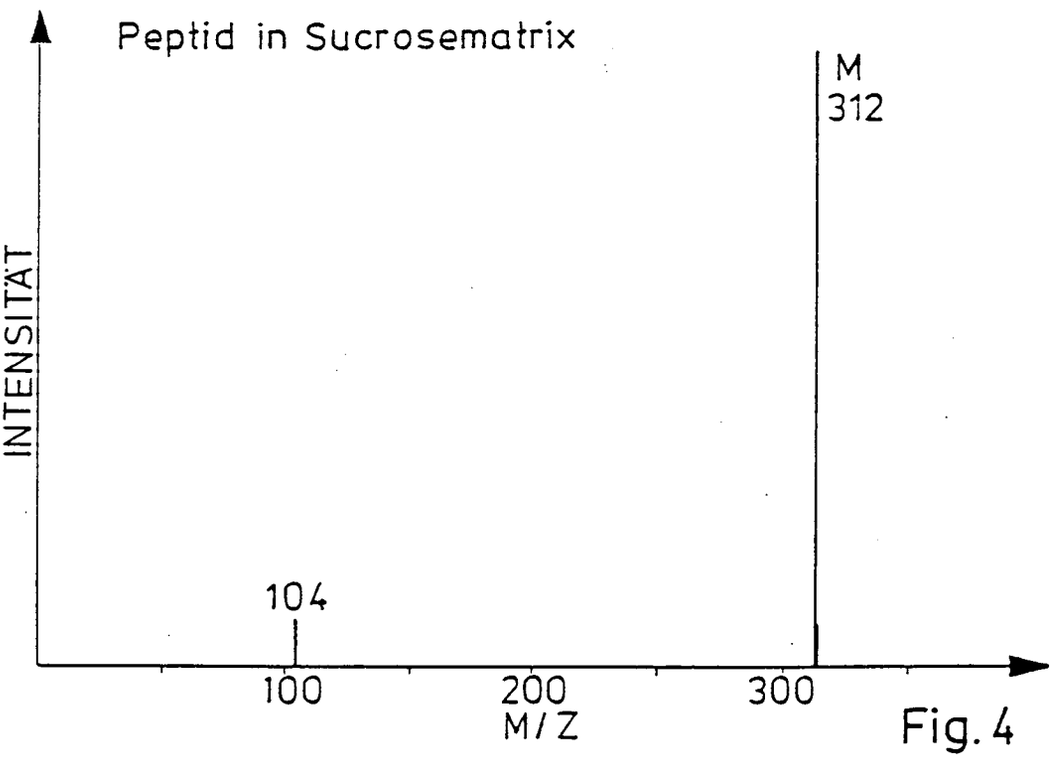
Peptid in Sucrosematrix
M
312
104
INTENSITÄT
100
200
300
M/Z

Fig. 4

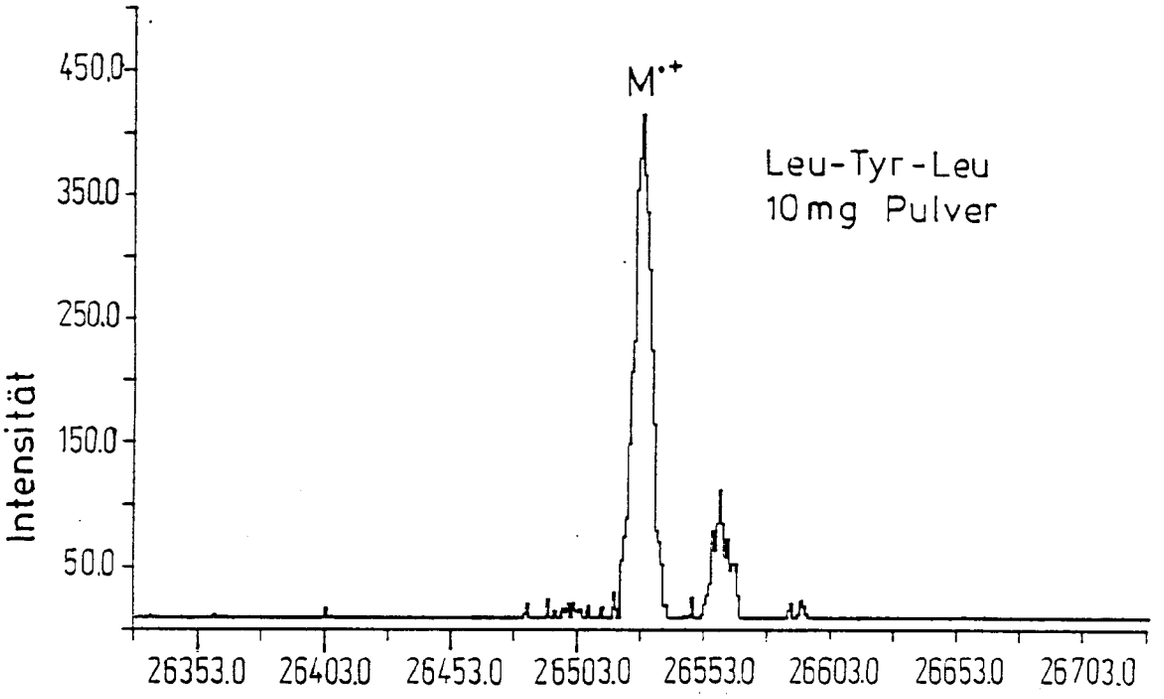
M·+
Leu-Tyr-Leu
10 mg Pulver
Intensität
450.0
350.0
250.0
150.0
50.0
26353.0
26403.0
26453.0
26503.0
26553.0
26603.0
26653.0
26703.0

Fig. 5

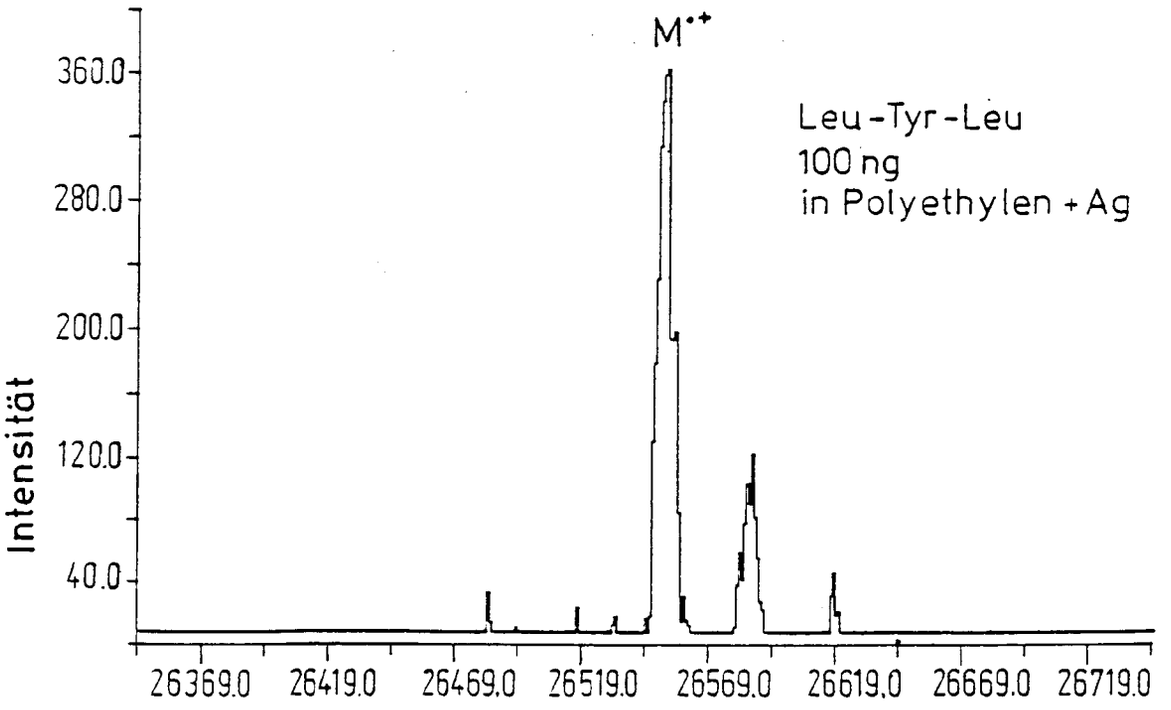
M·+
Leu-Tyr-Leu
100 ng
in Polyethylen + Ag
Intensität
360.0
280.0
200.0
120.0
40.0
26369.0
26419.0
26469.0
26519.0
26569.0
26619.0
26669.0
26719.0

Fig. 6

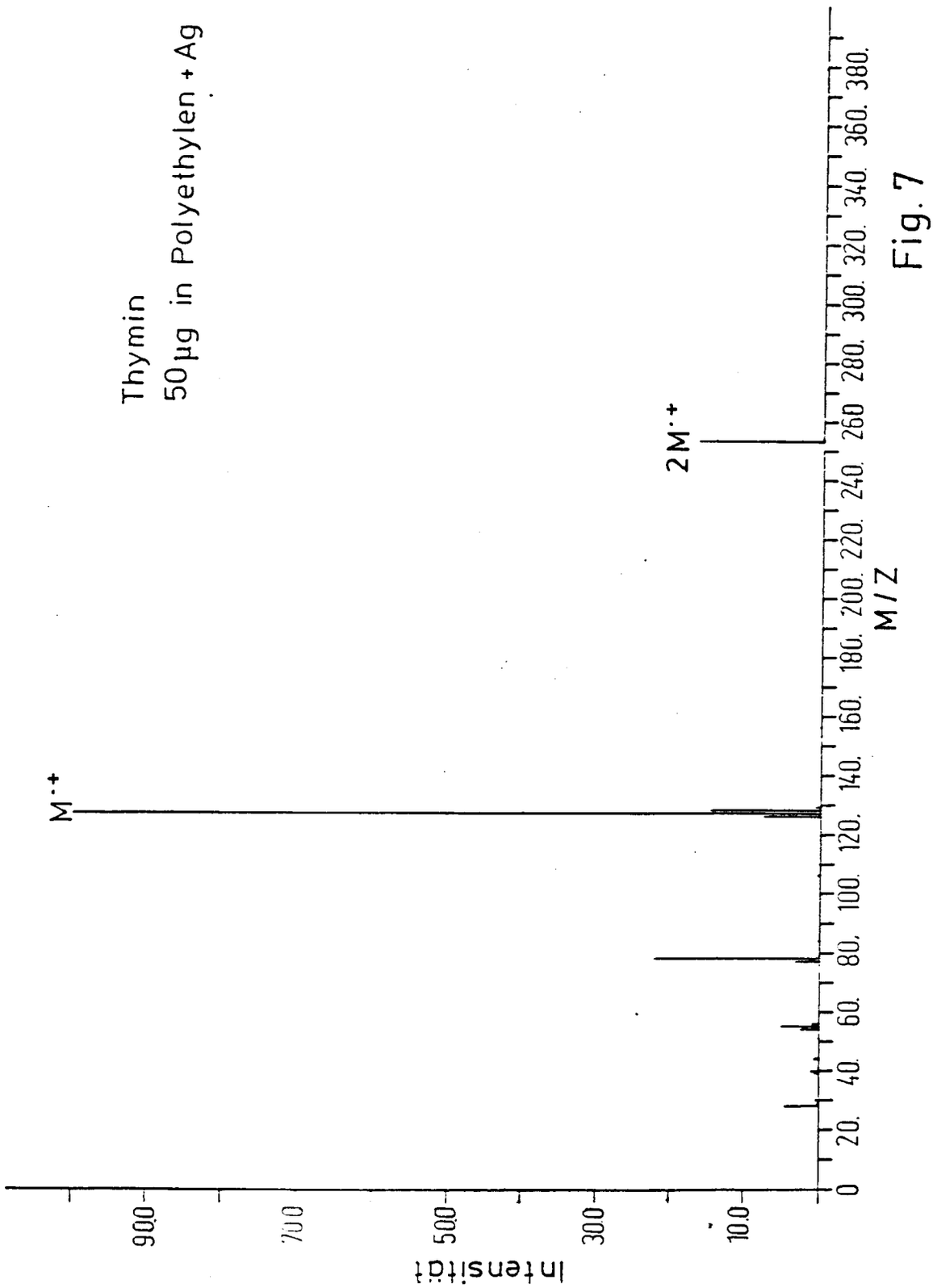
Thymin
50µg in Polyethylen + Ag
M·+
2M·+
Intensität
900
700
500
300
10.0
0
20.
40.
60.
80.
100.
120.
140.
160.
180.
200.
220.
240.
260
280.
300.
320.
340.
360.
380.
M/Z

Fig. 7

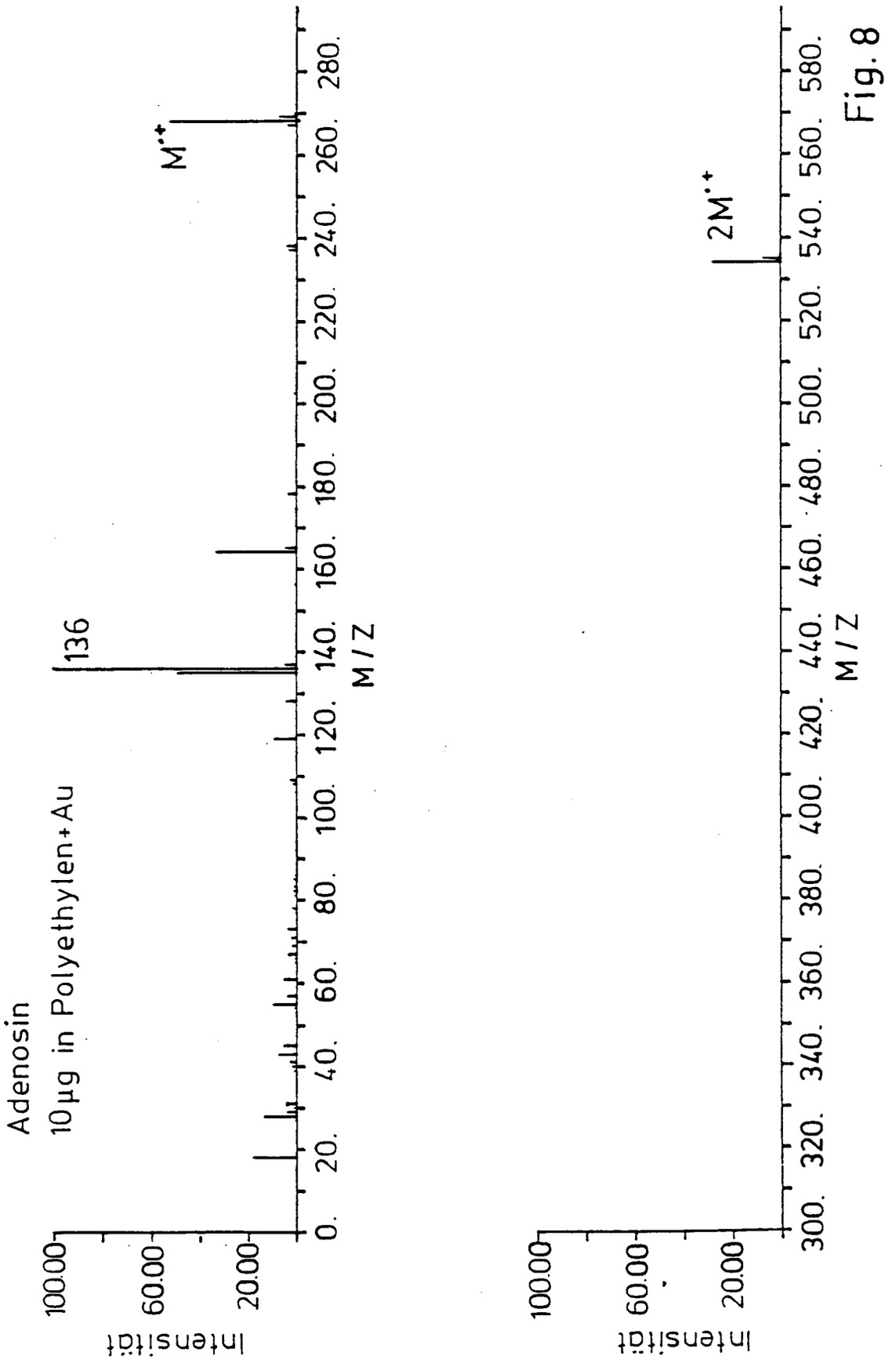
Adenosin
10µg in Polyethylen+Au
136
M·+
2M·+
Intensität
100.00
60.00
20.00
0. 20. 40. 60. 80. 100. 120. 140. 160. 180. 200. 220. 240. 260. 280.
300. 320. 340. 360. 380. 400. 420. 440. 460. 480. 500. 520. 540. 560. 580.
M / Z

Fig. 8

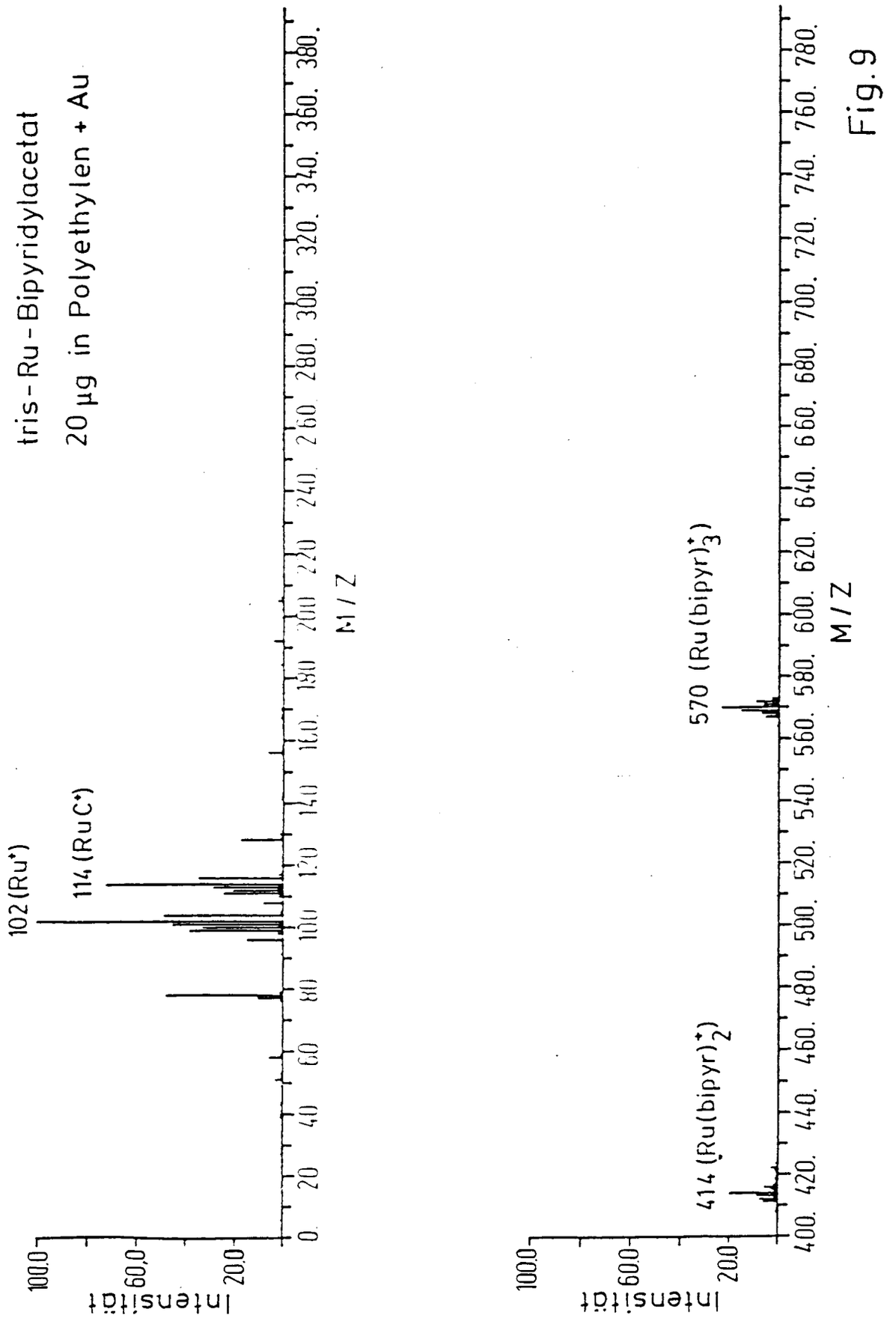
tris-Ru-Bipyridylacetat
20 µg in Polyethylen + Au
102 (Ru+)
114 (RuC+)
Intensität
100.0
60.0
20.0
0. 20. 40. 60. 80. 100. 120. 140. 160. 180. 200. 220. 240. 260. 280. 300. 320. 340. 360. 380.
M/Z
414 (Ru(bipyr)2+)
570 (Ru(bipyr)3+)
Intensität
100.0
60.0
20.0
400. 420. 440. 460. 480. 500. 520. 540. 560. 580. 600. 620. 640. 660. 680. 700. 720. 740. 760. 780.
M/Z

Fig. 9