

Versuch I002: Massenspektrometrie

Skript von Bernhard Mentler und Wiebke Scholz

March 12, 2024

1 Organisatorisches und Vorbereitung

Wir treffen uns pünktlich mittwochs um 13 Uhr im Labor 01/401. Sollte das bei Ihnen nicht möglich sein, melden Sie sich bitte rechtzeitig, dann verlegen wir es nach hinten. Bitte bringen Sie einen USB-Stick für die Daten und die Auswertesoftware mit. Bitte lesen Sie das Skript vollständig mitsamt Versuchsbeschreibung durch und notieren Sie sich Ihre unbeantworteten Fragen.

Schauen Sie sich auch bereits die Hinweise zur Software an, mit der Sie arbeiten werden und laden Sie sich diese (den gesamten Ordner!) auf ihren Rechner und versuchen diese bereits im Vorfeld zu öffnen, damit wir im Falle von Schwierigkeiten reagieren können. Es ist empfehlenswert, sich bereits im Vorhinein Gedanken darüber zu machen, wie Sie Ihre Experimente dokumentieren und sich eventuell mit einer Programmiersprache auseinanderzusetzen (mehr Infos am Ende des Skripts).

Sie erreichen mich für Organisatorisches, Fragen und Anregungen per Mail:

`Wiebke.Scholz@uibk.ac.at`.

Bewertung des Reports

In der Beschreibung finden Sie für Teilaufgaben erreichbare Punkte für Ihren Report. Die Maximalpunktzahl pro Teilaufgabe ist jeweils in Klammern in Kapitel 6 "Das Experiment" angegeben. Die Summe beträgt 5 Punkte. 1 Punkt wird zusätzlich für eine insgesamt saubere Dokumentation, sowie Fehleranalyse und Auswertung mithilfe einer Programmiersprache (Empfehlung Python / Jupyter Notebook, dann bitte den Code verfügbar machen!), klare Sprache und gute Struktur vergeben. Mein Fokus bei der Bewertung liegt ganz klar auf der Auswertung und der Dokumentation ihrer Messungen und Ihrer experimentellen Vorgehensweise. Seien Sie präzise und lassen Sie keine wichtigen Informationen aus. Schreiben Sie dafür auf jeden Fall während des Versuchs mit was Sie tun und beobachten (diese Aufgabe kann während des Versuchs gerne von einem zum anderen weitergegeben werden). Ich erwarte im Report keine lange simple Wiedergabe von Informationen aus dem Skript. Sollten Sie Formeln und Informationen aus dem Skript oder aus anderen Quellen für die Auswertung benötigen, können Sie das Skript und weitere Quellen auch an entsprechender Stelle (bitte korrekt!) zitieren.

2 Zielsetzung

In diesem Versuch lernen Sie die Grundprinzipien massenspektrometrischer Methoden kennen. Im Speziellen arbeiten Sie an einem Protonen-Transfer-Reaktions-Flugzeit-Massenspektrometer. Der Schwerpunkt liegt bei diesem Versuch auf einer eigenständigen Datennahme und -Analyse, und der Interpretation der Daten im Zusammenhang mit Fehlerabschätzung, sowie einer leserfreundlichen Aufbereitung. Sie können diesen Versuch außerdem nutzen, um ihre Programmierkenntnisse bezüglich Datenauswertung und Visualisierung auszubauen und anzuwenden.

3 Einführung in die Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie zählt zu einem der wichtigsten Analyseverfahren. Wissenschaftler in verschiedensten Bereichen, sei es Physik, Chemie, Pharmazie, Lebensmitteltechnologie oder Medizin, greifen auf diese Methode zurück. Wie der Name zum Ausdruck bringt, ist Massenspektrometrie ein Verfahren, das das exakte Vermessen der Masse (eigentlich: das Messen des Masse-zu-Ladungsverhältnisses!) von Molekülen (und Atomen) ermöglicht. Die zu messenden Probenmoleküle werden zunächst ionisiert, damit sie durch elektromagnetische Felder beeinflusst werden können. Die Ionisierung findet bei vielen Massenspektrometern - jedoch nicht allen - im Vakuum statt, um sekundäre Reaktionen zu vermeiden. Um das Masse-zu-Ladungsverhältnis zu ermitteln, werden die ionisierten Moleküle mit Hilfe eines elektrischen Feldes in einen Massenanalysator gelenkt, in welchem die Ionen nach ihrer Masse getrennt werden. Nach dem Massenanalysator gelangt das Ion zu einem Detektor und wird gezählt. Für jeden instrumentellen Abschnitt existiert eine Vielzahl an unterschiedlichen Methoden, die je nach spezifischer Fragestellung ausgewählt werden. Die Informationen des Detektors werden schließlich an einen Computer weitergeleitet.

Der Massenanalysator und der Detektor müssen unter Hochvakuum stehen, das mit Turbomolekularpumpen (TMP) erzeugt wird, um die sogenannte mittlere freie Weglänge der Teilchen zu maximieren. Die mittlere freie Weglänge gibt an, welche Strecke ein Teilchen durchschnittlich absolviert, bevor es mit einem anderen Teilchen stößt. Sie ist definiert als:

$$\lambda = \frac{k_B T}{\sqrt{2} p \sigma} \quad (1)$$

wobei k_B die Boltzmann-Konstante, T die Temperatur, p der Druck und σ der geometrische Wirkungsquerschnitt der Teilchen sind. Für die Massenspektrometrie werden möglichst große freie Weglängen benötigt, um die Flugbahn der Teilchen nach der Ionisation nicht zu verändern und sekundäre Reaktionen zu minimieren. Ein Massenspektrometer kann ohne zusätzliche Hilfsmittel keine Informationen über die Struktur eines Moleküls liefern, das bedeutet, dass Isomere (Moleküle mit gleicher Summenformel, also elementarer Zusammensetzung) nicht voneinander getrennt werden können. Es wird lediglich das Masse-zu-Ladungsverhältnis ermittelt. Ist das Masse-zu-Ladungsverhältnis

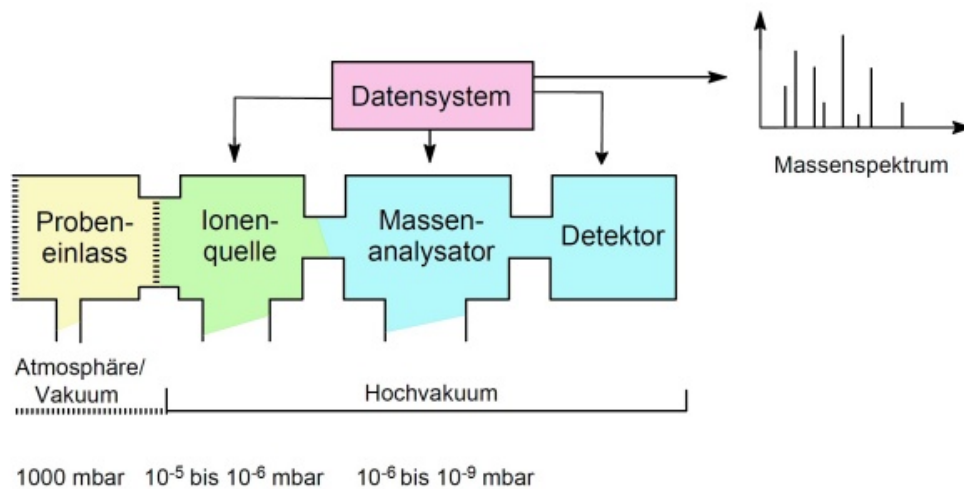


Abbildung 1: Schematische Darstellung der wesentlichen Komponenten eines Massenspektrometers. Übernommen von der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie

präzise genug ermittelbar, so lässt sich daraus jedoch die elementare Zusammensetzung des ionisierten Moleküls errechnen, da jedes Element einen anderen sogenannten Massendefekt hat. Während Kohlenstoff (C, Masse 12.000) keinen Massendefekt aufweist, hat beispielsweise Wasserstoff (H, Masse 1.00783) einen Massendefekt von +0.00783. Sauerstoff (O, Masse 15.99492) hat einen negativen Massendefekt von -0.00508. Die Messgröße für diese Präzision ist die Massenauflösung.

Wichtige Kenngrößen eines Massenspektrometers sind:

- **die Sensitivität:** Die Sensitivität ϵ eines Massenspektrometers beschreibt die Intensität des aufgenommenen Signals bei einer genau definierten Konzentration der gemessenen Probemoleküle. Sie gibt also an wie viele Einschläge der Detektor zählt in Abhängigkeit von der Konzentration des zu messenden Moleküls:

$$\epsilon[\text{cpsppb}^{-1}] = \frac{(\text{Signal}[\text{cps}])}{(\text{Konzentration}[\text{ppb}])}$$
- **das Detektionslimit** oder englisch Limit of Detection (LOD) in der Massenspektrometrie ist der Wert, der kleinsten Menge des gemessenen Stoffes, bei dem sie noch vom Hintergrundsignal unterscheidbar ist. Man kann das LOD durch $\text{LOD} = \frac{2\delta}{\epsilon}$ beschreiben. Wobei δ die Standardabweichung des Hintergrundsignals darstellt. Man sieht, dass auch die Sensitivität ϵ miteinfließt.
- **Die Transmission:** Die Transmission beschreibt wie viele Ionen den Detektor erreichen im Vergleich zu den Ionen, die in der Ionisationskammer gebildet werden. Dieser Parameter ist geräte- und oftmals massenabhängig und kann nur anhand von vielen präzisen Messungen der Sensitivität von Stoffen mit bekannter Ionisationsrate bestimmt werden. In diesem Versuch bleibt die Transmissionskure ein

Unsicherheitsfaktor.

- **Die Massenauflösung** (engl. "resolution") $R = \frac{m}{\Delta m}$ gibt Aufschluss darüber wie gut der Massenfilter zwei Massen trennen kann. Die Auflösung lässt sich mit der full-width-at-half-maximum (FWHM = Δm) Methode bestimmen.
- **Der lineare dynamische Bereich:** Eine Angabe über welchen Bereich die Signalintensität des Detektors mit der Konzentration linear ansteigt. Ein Beispiel für das Verlassen oder Überschreiten des linearen dynamischen Bereiches wäre, wenn die Konzentration des zu analysierenden Moleküls linear ansteigt, aber das Detektorsignal konstant bleibt. Am unteren Limit ist dies durch das LOD gegeben.
- **Der Tastgrad ("duty cycle"):** Der relative Anteil der Zeit, in welcher ein spezifischer Teilmassenbereich des Spektrums vom Detektor detektiert wird.
- **die Messfrequenz:** Anzahl der Messungen pro Zeiteinheit

4 Die Komponenten des Massenspektrometers im Detail

4.1 Probeneinlass

Die zu vermessenden Moleküle werden über den Probeneinlass in das Massenspektrometer eingeführt. In den meisten Massenspektrometern ist der Übergang von Atmosphärendruck zu Unterdruck zwischen Probeneinlass und Ionisationskammer zu finden. Probeneinlässe sind zum Beispiel Gaseinlässe, mit denen gasförmige Moleküle über eine kritische Blende oder eine Kapillare ins Vakuum überführt werden können. Das Massenspektrometer dieses Versuchs verwendet eine Kapillare, um den Druckunterschied zu erzeugen.

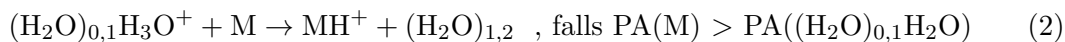
Moleküle, die keinen gasförmigen Zustand vorweisen, müssen zuerst in die Gasphase überführt werden. In der Regel geschieht dies durch Erhitzen der Probe. Manche Ionisationsmethoden wie Electro Spray Ionisation (ESI) oder Matrix assisted laser desorption ionisation (MALDI) können jedoch auch eingesetzt werden, um Moleküle aus einer Flüssigkeit oder einem Feststoff direkt zu ionisieren und im Zuge dieses Prozesses in freie Ionen aufzubrechen.

4.2 Ionisation

Zur massenspektrometrischen Analyse eines Stoffes müssen die Moleküle, wie zuvor erwähnt, ionisiert werden. Dazu gibt es eine Vielzahl an unterschiedlichen Ionisationsmethoden. Je nach Ionisationsmethode kann es zur Fragmentation (Zerstörung) des zu analysierenden Moleküls kommen. Eine klassische Methode zur Ionisierung eines gasförmig vorliegenden Stoffes ist die Elektronenstoßionisation (EI). Dabei werden Elektronen mit typischerweise 70 Elektronenvolt auf die zu analysierenden Moleküle geschossen und lösen dabei vereinzelt Elektronen aus den Molekülen, was zu einer Ionisierung des Analyten führt. Um sekundäre Reaktionen unter den bereits ionisierten

Molekülen zu vermeiden, braucht man Hochvakuum. Bei der Elektronenstoßionisation kommt es aber auch zu Fragmentationen. Deshalb spricht man hier in der Regel von einer "harten" Ionisationsmethode. Weitere Beispiele für Ionisationsmethoden sind Photoionisation, Proton Transfer Reaktion und andere chemische Ionisationstechniken. Je nach Methode entstehen positive oder negative Ionen. In diesem Praktikum wird der Fokus auf Protonentransferreaktionen gelegt.

Protonentransferreaktionen In diesem Versuch verwenden wir die ProtonenTransferReaktions MassenSpektrometrie (PTR-MS) (Hansel et al. (1995)). PTR-MS hat sich in den letzten zwei Jahrzehnten als ein Standardverfahren in der Analyse volatiler organischer Spurengase (VOC; vom engl. Volatile Organic Compounds) etabliert. In einem klassischen PTR-MS werden in einer Hohlkathodenentladung aus Wasserdampf die Ionen $(\text{H}_2\text{O})_{0,1}\text{H}_3\text{O}^+$ gebildet und mithilfe eines elektrischen Feldes (U_{jet}) in Richtung Driftröhre beschleunigt. Die Ionen reagieren via Protonentransfer in der Driftröhre mit Molekülen M , welche eine höhere Protonenaffinität PA haben:



Die höchsten Signale in einem PTR-TOF-MS Spektrum haben die protonierten Wassermoleküle. Die H_3O^+ Ionen und die Wassercluster dieser Ionen werden auch als Primärionen bezeichnet. Wie schon zuvor erwähnt werden die Primärionen in der Ionenquelle erzeugt und in die Ionisationskammer (In Abbildung 3: Driftregion mit Probeneinlass) eingeleitet, wo sie dann VOCs mit höherer Protonenaffinität als Wasser ionisieren.

Bei der Protonentransferreaktion treten teilweise Fragmente auf, aber in deutlich geringerem Maße, als bei der Elektronenstoß-Ionisation. Die Fragmentation ist abhängig von der überschüssigen Energie (also von der Kollisionsenergie: höhere Kollisionsenergie = mehr Fragmentation), sowie von der Stabilität des ionisierten Moleküls. Die Spannung U_{drift} ist entlang der Driftröhre angelegt und regelt damit die Kollisionsenergie sowie die Aufenthaltszeit der Ionen in der Driftröhre. Das besondere an der PTR-MS-Methode ist, dass sekundäre Stöße zwischen Ionen und Molekülen vermieden werden, indem bei niedrigem Druck und kurzer Reaktionszeit und einem klaren Primärionenspektrum (hauptsächlich H_3O^+ Ionen) gearbeitet wird.

Die ionisierten Analyten werden mithilfe der Extraktionsspannung (U_{ql}) in einen niedrigeren Druckbereich überführt, wobei teilweise auch noch Stöße besonders mit N_2 auftreten, was zu Fragmentation führen kann und schließlich in einen Massenanalysator geleitet. Hier werden die Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladungsverhältnis (m/z) aufgetrennt. Dies geschieht beispielsweise mittels eines Quadrupols oder eines Flugzeitmassenspektrometers.

Aufgabe: Schauen Sie sich die Animation der Ionisation in einem PTR-MS unter <https://www.uibk.ac.at/ionen-angewandte-physik/umwelt/research/pics/animation.gif> an. Ist die Darstellung der Ionisation und der Pfad der Ionen verständlich oder haben Sie Fragen?

4.2.1 Ionisation mit NH_4^+

In den nächsten Monaten wird unser Gerät häufig auch in ein Laborexperiment eingebunden, bei dem es teilweise erforderlich ist, das Gerät mit NH_4^+ -Ionen als Primärionen zu betreiben. Die Prinzipien sind genau dieselben wie im klassischen PTR-MS-Modus, allerdings haben die NH_4^+ -Ionen zwei Möglichkeiten, mit den Gasmolekülen der Probe zu reagieren: Entweder es finden ebenfalls Protonentransfers statt



, oder, falls die Bindungsenergie groß genug ist, "clustern" die Primärionen mit den Probenmolekülen:



Das bedeutet, die finalen Ionen liegen teilweise 17 amu (atomic mass units) höher, als im reinen PTR Modus. Die Experimente lassen sich ganz analog durchführen. Sie erhalten außerdem eine Liste mit Massen, die erwartbar wären, um Ihnen die Auswertung zu vereinfachen.

4.3 Massenanalysatoren

Die in der Ionisationskammer erzeugten Ionen können jetzt also durch angelegte, elektrische Felder in den Massenanalysator eingeleitet werden. Die Moleküle werden dort nach ihrem Masse-zu Ladungsverhältnis aufgetrennt. Diese Auftrennung kann räumlich oder zeitlich erfolgen.

In unserem Versuch verwenden wir ein Flugzeitmassenspektrometer (Time of Flight, TOF), mitsamt der Ionisationsmethode also ein PTR-TOF-MS, wie schematisch gezeigt in Abb. 2.

Flugzeitmassenspektrometer Die Grundlage dieser Methode bildet die Energieerhaltung. Ionen werden im elektrischen Potential des Pulsers beschleunigt, um dann feldfrei eine Driftröhre zu durchqueren. Dabei wird die elektrostatische potentielle Energie $E_{\text{pot}} = qU$ vollständig in kinetische Energie $E_{\text{kin}} = mv^2/2$ umgewandelt, sodass die finale Geschwindigkeit der Ionen nach Passieren der Beschleunigungsstrecke

$$v = \sqrt{\frac{2qU}{m}} \quad (5)$$

beträgt. Schwerere Ionen bewegen sich bei gleicher kinetischer Energie langsamer und brauchen damit auch entsprechend länger (Flugzeit t) zum Durchqueren der feldfreien Strecke l , bevor sie am Detektor ankommen:

$$t = \frac{l}{v} = l \sqrt{\frac{m}{2qU}} \quad (6)$$

Wird die Flugzeit präzise gemessen, lässt sich also das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis berechnen:

$$\frac{m}{q} = \frac{2Ut^2}{l^2} \quad (7)$$

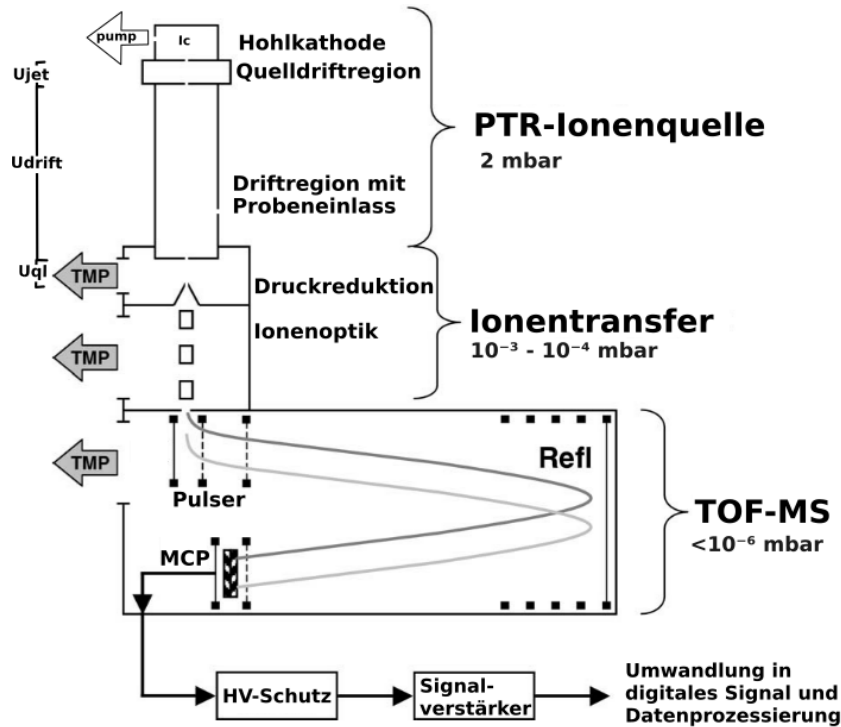


Abbildung 2: Schema eines PTR-TOF-MS.

Da die Moleküle üblicherweise nur 1-fach ionisiert werden ($q = 1$), ergibt sich ein direkter Zusammenhang zur Masse des Stoffes. Damit ist die Massenauflösung eines Flugzeitmassenspektrometers:

$$R = \frac{m}{\Delta m} = \frac{t}{2\Delta t} \quad (8)$$

Soweit die Theorie. Wie geht man jedoch mit unterschiedlichen Grundenergien (Startgeschwindigkeiten) und einer zeitlich/räumlichen Verteilung der Ionen um? Diese statistischen Abweichungen würden das Spektrum "verschmieren". Für eine möglichst einheitlichen Startzeitpunkt der Ionen zu erreichen, kann entweder die Ionenquelle oder die Beschleunigungsspannung gepulst werden (zweiteres ist bei unserem Gerät der Fall). Dafür die Spannung am "Pulser" mit einem möglichst kurzen und scharfen (rise time $< \mu s$) Rechtecksignal (der Spannung U in 6) moduliert.

Gegen den Effekt einer gestreuten Energieverteilung wirkt das Reflektron: Es besteht aus gestapelten Gittern, an die - linear ansteigend - Spannungen angelegt werden. Dies ist in unserem TOF mithilfe von hochohmigen Widerständen realisiert, sodass eine einzelne Spannung (Refl. Backplane) die maximal angelegte Spannung am Reflektron sowie den Gradienten dieses Reflektionspotentials steuern kann. Je höher die kinetische Energie des Ions, desto größer die Eindringtiefe und desto länger die Aufenthaltszeit im Reflektron. Das gleicht die im feldfreien Raum durch die höhere kinetische Energie kürzere Flugzeit des Ions aus, es findet also eine Fokussierung statt. Der Detektor sollte genau

in der Fokusebene des Reflektrons sitzen, um eine möglichst gute Auflösung zu erreichen. Die Fokusebene ist abhängig von der Geometrie und der angelegten Spannung am Reflektron.

Flugzeitmassenspektrometer haben einen sehr großen Massenbereich und eine hohe Messfrequenz. Mit einem Flugzeitmassenspektrometer lässt sich ein ganzes Spektrum an Masse- zu Ladungsverhältnissen in weniger als einer Zehntelsekunde aufnehmen.

4.3.1 Exkurs für Interessierte: Räumliche Massenanalysatoren

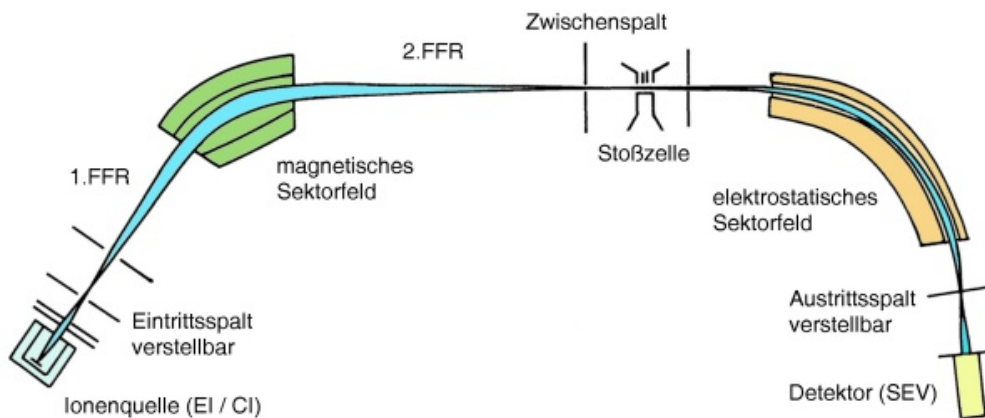


Abbildung 3: Schema eines Sektorfeld-Massenspektrometers, übernommen von der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie

Sektorfeld-Massenspektrometer (Abbildung 3) verwenden magnetische und elektrische Felder um die Flugbahn der Ionen zu manipulieren. Der Radius der Flugbahn eines Ions mit Ladung q in einem elektrischen Feld \vec{E} ist so groß, dass sich die elektrische Kraft $F_{el} = q\vec{E}$ und die Zentripetalkraft $F_z = mv^2 \cdot r^{-1}$ gerade ausgleichen:

$$r = \frac{mv^2}{q|\vec{E}|} \quad (9)$$

Ist das Ion einfach geladen, hängt der Radius im elektrischen Feld also neben der Feldstärke von der kinetischen Energie des Ions ab. In einem magnetischen Feld wirkt die Lorentzkraft $F_L = q\vec{v} \times \vec{B}$. Für den (bei sogenannten Sektorfeld-Massenspektrometern vorliegenden) Spezialfall, dass \vec{v} orthogonal zu \vec{B} ist, gilt für den Radius der Flugbahn also

$$r = \frac{m|\vec{v}|}{q|\vec{B}|} \quad (10)$$

Hier ist der Radius vom Impuls des Ions abhängig. Sektorfeld-Massenspektrometer haben eine hohe Massenauflösung. Ein entscheidender Nachteil im Vergleich zu anderen Massenanalysatoren ist, dass das Sektorfeld-Massenspektrometer auf Grund der Größe

und des Gewichts im Vergleich zu anderen Massenspektrometern nicht mobil eingesetzt werden kann. Das Quadrupol-Massenspektrometer hingegen hat eine sehr kompakte Bauweise. Im Quadrupol-Massenspektrometer kommen vier parallel anliegende Stabelektroden zum Einsatz. Die Ionen werden zentral in den Quadrupol eingeleitet. Durch angelegte elektrostatische Felder und E-Wechselfelder an den Stabelektroden werden die Flugbahnen der Ionen so manipuliert, dass nur Ionen eines bestimmten Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses den Quadrupolbereich passieren können. Das macht Quadrupol-Massenspektrometer zwar präzise im Filtern einzelner Massen, aber langsam in der Analyse verschiedener Massen-zu-Ladungsverhältnisse.

4.4 Detektion

Am Detektor werden die Ionen, die den Massenanalysator passiert haben, gezählt. Wie zuvor beschrieben gibt die Zählrate, typischerweise angegeben in counts per second (cps), Aufschluss auf die Konzentration des zu messenden Stoffes, wenn man das Gerät dementsprechend kalibriert. Als Detektor werden sehr gerne Mikrokanalplatten (engl.: "micro channel plates", MCP, Abbildung 4) verwendet.

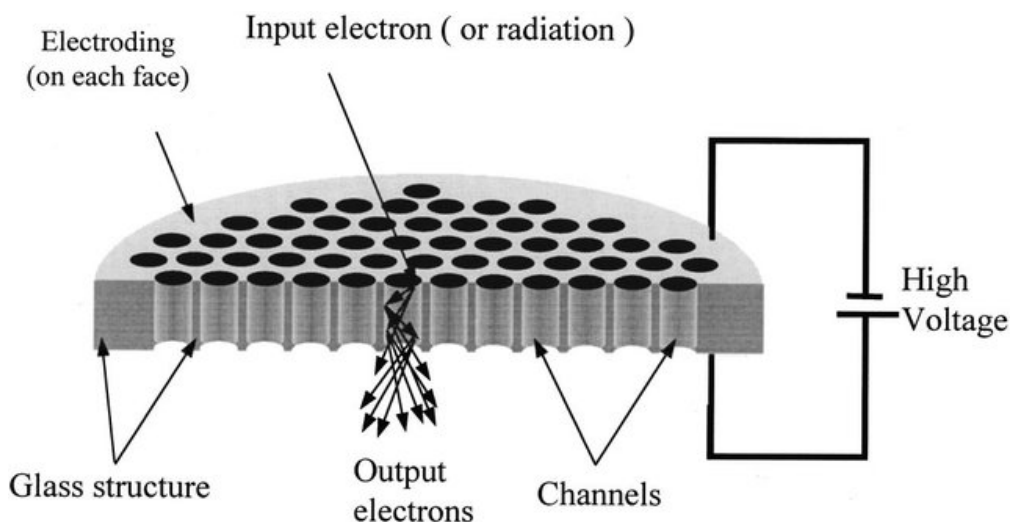


Abbildung 4: Funktionsprinzip und Aufbau eines MCP. Die zwischen den zwei Seiten angelegte Spannung ist in unserer Software als "MCP" bezeichnet. Aus: Yi et al., 2001. DOI: 10.1116/1.1420206.

Ein MCP ist aus einer Vielzahl an parallelen mikroskopischen Kanal-Elektronenvervielfachern (KEV, eine Optimierung der aus dem Studium bekannten Sekundärelektronenvervielfachern (SEV) bei gleichem Funktionsprinzip) aufgebaut. Trifft ein Ion auf die halbleitende Oberfläche (zum Beispiel eine Blei-Silikat-Matrix) eines KEV, lösen sich Elektronen heraus. Diese Elektronen durch den KEV beschleunigt und treffen dabei mehrfach auf das Wandmaterial, wobei sie zunehmend mehr Elektronen lostreten: Eine Elektronenkaskade

entsteht, das Ursprungssignal wird um ein Vielfaches (Faktor $10^6 - 10^7$!) verstärkt. Wie viele Elektronen losgelöst werden, hängt von der Beschleunigungsspannung ab. Während einer Elektronenkaskade in einem Channel, ist dieser blind für weitere Ionen, die auf ihn treffen. Diese Totzeit (duty-cycle!) hat einen direkten Effekt auf die Detektion der Ionen unterschiedlicher Masse.

Diskussion: Betrachten Sie nochmal die Animation eines PTR-MS. Achten Sie diesmal auf die Detektion am SEV. Wie ließe sich die Animation verbessern? Warum ist die Korrektur für den Duty-Cycle massenabhängig?

4.5 Forschungsgebiet der AG Hansel: Die Atmosphäre und Volatile Organische Spurengase (VOC)

Die Tabelle 1 gibt Einblick in die Luftzusammensetzung der Erdatmosphäre.

Formula	Abundance %v	Abundance ppmv	Proton Affinity kJ mol ⁻¹
N ₂	78.08	$7.808 \cdot 10^5$	494
O ₂	20.95	$2.095 \cdot 10^5$	421
Ar	0.93	$9.3 \cdot 10^3$	369
CO ₂	0.038	380	540
Wasser, H₂O	< 0.03	(highly variable)	691
Ne		18.18	199
He		5.24	178
<i>Methan, CH₄</i>		<i>~ 2</i>	543
Kr		1.14	425
H ₂		0.5	422
Xe		0.087	500
<i>CO</i>		<i>~ 0.1</i>	594
<i>O₃</i>		<i>~ 0.05</i>	625
<i>Isoprene, C₅H₈</i>		<i>< 0.02</i>	826
Ammoniak, NH₃		< 0.01	854
<i>Formaldehyd, HCHO</i>		<i>< 0.001</i>	713
<i>Monoterpenes, C₁₀H₁₆</i>		<i>< 0.001</i>	840 - 880
<i>OH</i>		<i>~ 10⁻⁷</i>	593

Tabelle 1: Zusammensetzung der Atmosphärenluft. Für atmosphärenchemische Prozesse wichtige Gase sind rot markiert. VOCs sind außerdem kursiv markiert. Die Daten für die Protonenaffinität stammen von NIST Webbook, außer für Monoterpene, die sind von Canaval et al., 2019

Volatile organische Spurengase (VOCs) sind nur in sehr geringen Konzentrationen in der Atmosphärenluft vorhanden, haben aber große Auswirkungen auf unsere Gesundheit, unter anderem durch die Entstehung von bodennahem Ozon, wenn NO_x, Licht und VOCs zusammenkommen, wie es in Städten im Sommer oft der Fall ist und durch

ihren Einfluss auf Aerosolbildung (Smog, Dunst, Wolkentropfenkeime). Ihre Rolle in der Atmosphärenchemie, dem Kohlenstoffzyklus und der Aerosolbildung verknüpft VOCs auch direkt mit dem Klima.

VOCs sind organische - also kohlenstoffhaltige - Stoffe in der Gasphase. Es existieren sowohl natürliche als auch anthropogene Quellen für VOCs. Natürliche Methanquellen sind beispielsweise Sümpfe oder schmelzender Permafrost (ein Klimawandelbeschleuniger). Pflanzen emittieren ebenfalls VOCs. Nadelbäume geben vorwiegend Monoterpene ($C_{10}H_{16}$) in die Atmosphäre ab und Laubbäume emittieren unter anderem Isopren (C_5H_8), das (abgesehen von Methan) am häufigsten vorkommende VOC. Auch beim Absterben von Organismen werden VOCs freigesetzt.

Ozeane sind die größten Quellen für DMS (Dimethylsulfid C_2H_6S) und somit die größte natürliche Quelle für das daraus resultierende Oxidationsprodukt, Schwefeldioxid, das dann wiederum weiter oxidiert zu Schwefelsäure - die Hauptzutat für sauren Regen.

Anthropogene Quellen für VOCs sind Landwirtschaft (vorwiegend Emission von Methan), Verkehr (vorwiegend Emission von Aromaten) oder Fabriken (vorwiegend Emission von Alkanen). VCPs (volatile chemical products), eine Unterkategorie von VOCs, spielen eine immer größere Rolle in der Atmosphärenluft, vor allem in der Stadt. Drogerieartikel (Parfums), Reinigungsmaterialien, Pestizide, Farben, Beschichtungen, Klebstoffe usw. sind verantwortlich für die Emission von VCPs.

Für einige VCPs bestehen aufgrund ihrer gesundheitsschädlichen Eigenschaften Grenzwerte. Beispielsweise darf die Konzentration von Formaldehyd, $HCHO$, nicht mehr als 0.1 mg m^{-3} (das entspricht etwa 0.1 ppm) in Innenräumen betragen.

Auch wir Menschen selbst emittieren einiges an VOCs! Das schauen Sie sich in der letzten Aufgabe dieses Versuchs an.

In meiner Arbeitsgruppe untersuchen wir, wie all diese Stoffe in der Atmosphäre weiterreagieren und zur Aerosolbildung beitragen. Das würde für diesen Versuch jedoch zu weit führen.

4.6 Kalibration

Wie Sie gelesen haben, braucht es einige Schritte, um die Masse und Konzentration eines Probenmoleküls zu messen. Während die Masse des Ions durch einen einzelnen Schritt bestimmt wird, beeinflussen mehrere Aspekte, wie groß die Sensitivität (S , siehe Gleichung 11) abhängig von der Menge des sich in der Probenluft befindlichen Stoffs) letztendlich ist:

- Der Fluss F der Primärionen, die erzeugt werden und in die Ionen-Molekül-Reaktionsregion gelangen
- die Wahrscheinlichkeit, dort auf das Probengas zu treffen ($t \cdot n_0 \cdot \frac{p_R}{T_R} \cdot \frac{T_0}{p_0}$, mit t : Aufenthaltszeit; $n_0 = 2.5 \cdot 10^{19}$ Moleküle cm^{-3} , $p_0 = 101325\text{Pa}$ und $T_0 = 273.15\text{K}$ die Gasdichte, der Druck und die Temperatur bei Normalbedingungen und p_R und T_R entsprechend Druck und Temperatur bei Reaktionsbedingungen)
- die Effizienz, es zu ionisieren (Reaktionsrate $(1.9 < k < 4) \cdot 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$, abhängig von der Art des Moleküls)
- und schließlich die Transmission τ in und durch den Hochvakuumbereich:

$$S = k \cdot F \cdot t \cdot n_0 \cdot \frac{p_R}{T_R} \cdot \frac{T_0}{p_0} \cdot \tau \quad (11)$$

Daher ist es unabdinglich, sein Gerät zu charakterisieren.

Für die Bestimmung der Konzentration von VOCs in der Analyseluft stehen prinzipiell zwei Möglichkeiten zur Verfügung:

- Kalibrierung des Messgeräts mit einem Eichgasgemisch
- Rechnerische Bestimmung aus den gemessenen Ionensignalen bei bekannten Ratenkoeffizienten und Transmissionskurve (das Gerät ist also bereits charakterisiert!)

Da Eichgasgemische nur für einen Bruchteil der interessanten Stoffe zur Verfügung stehen, wird man oft auf weitere Methode zurückgreifen müssen, dafür muss das Gerät aber zunächst mit einem Eichgasgemisch charakterisiert worden sein. In unserem Versuch gehen wir von einem - aus Ihrer Sicht nicht charakterisierten Gerät aus und konzentrieren uns daher auf die erste Methode. Bei der Kalibrierung mittels Eichgas wird das Signal ionisierter Analyten in Abhängigkeit verschiedener Volumenmischungsverhältnisse gemessen.

Aus der Regressionsgeraden durch die Messpunkte kann einerseits die Sensitivität ϵ als auch das Detektionslimit LOD (limit of detection) bestimmt werden. Die Sensitivität ϵ wird in counts per second (cps) (Ioneneinschläge beim Detektor) pro parts per billion (ppb) (Mischungsverhältnis in der Probenluft) angegeben. 1000 ppb sind 1ppm (parts per million, 10^{-6}). Konzentrationen in Eichgasflaschen zum Kalibrieren von PTR-MS liegen in der Regel etwa bei 1-10ppm. Die Konzentrationen sind so hoch gewählt, damit die Genauigkeit der Konzentration in der Gasflasche höher ist und man nur einen kleinen Gasstrom des Eichgases benötigt, den man mit einem größeren Gasstrom mischen kann,

um die Konzentration zu verdünnen. Verwendet man beispielsweise einen Gasstrom von 10sccm (standard cubic centimetre per minute) eines Eichgases mit 1ppm eines Stoffes und mischt diesen in einen Gasstrom von 10 slpm, hätte man das Eichgas um einen Faktor 1000 verdünnt und das Mischungsverhältnis nach der Verdünnung betrüge 1 ppb. Je höher das Signal im Massenspektrum auf ein bestimmtes Molekül mit genau definierter Konzentration, desto höher ist also die Sensitivität auf dieses spezifische Molekül. Teilweise kann aus Ähnlichkeiten in der Masse und Polarisierbarkeit bzw. dem permanenten Dipolmoment sowie aufgrund einer hohen Protonenaffinität auch auf die Sensitivität nicht kalibrierter Stoffe geschlossen werden.

Zu hohe VOC-Konzentrationen in der Ionisationskammer können allerdings zu Problemen bei der Ionisation führen. Bei sehr hohen VOC-Konzentrationen außerhalb des linearen dynamischen Bereichs wird die Konzentration der Primärionen zu stark verringert und eine quantitative Messung der VOCs ist nicht mehr möglich. Es ist also wichtig immer darauf zu achten, dass die Konzentration der Primärionen in der Ionisationskammer nicht signifikant einbricht. Zu kleine VOC-Konzentrationen sind andererseits eventuell unter dem Limit-of-Detection und daher ebenfalls für eine Charakterisierung wenig nützlich.

Diskussion: *Methan kann nicht durch ein PTR-MS gemessen werden. Die Protonenaffinität von Methan ist zu niedrig. Was würde Ihrer Meinung nach passieren, wenn Methan eine deutlich höhere Protonenaffinität im Vergleich zu Wasser hätte?*

5 Verständnisfragen zur Vorbereitung

5.1 Grundlagen

1. Was zeigt ein Massenspektrum, was zeigen x- und y-Achse? Laden Sie sich dafür gerne die Testdaten in die zur Verfügung gestellte Software.
2. In welche Komponenten kann man ein massenspektrometrisches Verfahren unterteilen? Erläutern Sie die Komponenten.
3. Was ist die mittlere freie Weglänge und warum spielt sie in der Massenspektrometrie eine wichtige Rolle?
4. Erklären Sie den Unterschied zwischen Isotopen und Isomeren. Kann man Isomere mit einem Massenspektrometer auftrennen? Wann können Isotope in der Massenspektrometrie hilfreich sein?

5.2 Ionisation

1. Wie wird in einem PTR-MS ionisiert? Welche Eigenschaft müssen Moleküle haben, damit ein PTR-MS sie messen kann?
2. Erklären Sie die Begriffe "Sensitivität" und "Limit of Detection". Wovon hängen diese Kenngrößen ab?

5.3 Massenanalysatoren und Detektion

1. Beschreiben Sie ein Time of Flight Massenspektrometer. Welchen Effekt erwarten Sie bei einer Änderung der Spannungen am Pulser, am Reflektron und am MCP?
2. Wie ermittelt man die Massenauflösung eines Massenspektrometers?
3. Wie funktioniert ein MCP (micro channel plate)?
4. **Zum Knobeln:** Der "duty cycle" Korrekturfaktor ist abhängig von der Masse des Ions und zwar proportional zu $1/\sqrt{m}$. Warum?

5.4 Volatile organische Spurengase (VOCs) und Kalibration

1. In welchen Konzentrationen kommen VOCs ungefähr in der Atmosphärenluft vor?
2. Beschreiben Sie eine Kalibration. Wie bestimmt man das Volumenmischungsverhältnisses des Eichgases im Einlass des Massenspektrometers?

6 Das Experiment

Der Versuch wird am "STOF" (kurz für "Selective reagent ion Time of Flight Mass Spectrometer") entweder im PTR-MS-Modus oder im NH_4^+ durchgeführt. Die Übungsleiterin gibt Ihnen zu Beginn eine instrumentelle Einführung und eine kurze Einschulung für das Programm ToFdaqViewer. Die letzten Teile des Versuchsaufbaus werden gemeinsam eingerichtet. Im Folgenden sind Aufgaben im Labor mit Pfeilen, und Aufgaben für die Analyse und den Report mit Punkten markiert.

6.1 Aufgabe 1: Analyse eines Testspektrums und Variation der TOF-Spannungen (1.2 Punkte)

- Nehmen Sie ein beliebiges Spektrum auf (ca. 5 min.). Diskutieren Sie den Effekt längerer Zeiten zur Spektren-Mittelung und identifizieren Sie die Primärionen (H_3O^+ oder NH_4^+) und den eventuelle Wasser- / Ammoniakcluster ($\text{H}_2\text{O} \cdot \text{H}_3\text{O}^+$, oder $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{NH}_4^+$, $\text{NH}_3 \cdot \text{NH}_4^+$, sowie die Isotope von Chlor-Iod-Benzol (es wird durchgehend Chlor-Iod-Benzol, $\text{C}_6\text{H}_4\text{ClI}$, beim Inlet mit hineingegeben). (0.2 Punkte).
- Welche Summenformel hat das Fragment von Chlor-Iod-Benzol bei Masse 112? Belegen Sie Ihre Vermutung mithilfe der Isotope. (0.2 Punkte)
- Zoomen Sie auf ein gut sichtbares Signal im Spektrum und variieren Sie die folgenden TOF-Spannungen: U-low ($\pm 100\text{V}$), Refl. Backplane ($\pm 10\text{V}$), MCP ($\pm 100\text{V}$).
 - welche Effekte beobachten Sie? Und wie können Sie diese erklären? (0.4 Punkte)
Hinweis: Die Spannung U-low liegt am letzten der Drahtgitter des Pulsers an.
- Gehen Sie zurück zu den vorherigen TOF-Settings.
- Kalibrieren Sie die Massenachse mit den bekannten Massen im Spektrum (3 Massen genügen). Gibt es Peaks, die aufgrund ihrer Peakshape nicht für die Massenkali-bration geeignet sind? Wenn ja, welche und warum? (0.2 Punkte)
 - Wie groß ist die Messunsicherheit der gemessenen Isotopenverhältnisse von Chlor-Iod-Benzol und den Primärionen? Vergleichen Sie die Isotopenverhältnisse mit den Literaturwerten (<https://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm>). Versuchen Sie eventuelle Abweichungen zu erklären. (0.2 Punkte)

6.2 Aufgabe 2: Kalibration des Geräts mithilfe von Eichgas (1.4 Punkte)

- Nehmen Sie ein Hintergrundspektrum auf. Geben Sie zunächst eine beliebige Menge des Eichgases hinzu (Aufbau und Gasflüsse für den Report dokumentieren!), sodass die Peaks vom Eichgas an den erwartbaren Massen sichtbar werden.
- Variieren Sie anschließend die Konzentration des Eichgases in der Probenluft (mindestens vier unterschiedliche Konzentrationen).

- Ziehen Sie das Hintergrundsignal von dem Spektrum ihres Eichgases ab und identifizieren Sie die Signale der Stoffe, die in definierten Konzentrationen im Eichgas enthalten sind, in Ihrem aufgenommenen Spektrum. (0.2 Punkte)
- Ermitteln Sie die Sensitivität des Massenspektrometers für die Stoffe, die im Eichgas enthalten sind und ihr Limit of Detection (LoD). (0.6 Punkte)
- Wie kann das LOD verbessert werden? Wie groß ist die Massenauflösung des Gerätes und wie beeinflusst sie das LOD? (0.2 Punkte)
- Treten Nichtlinearitäten auf? Falls ja, was sind mögliche Gründe im Versuchssetup oder ihrer Versuchsdurchführung? (0.2 Punkte)
- Schätzen Sie unter der Annahme, dass die Transmission massenunabhängig und maximal ($\tau = 1$) ist, die Reaktionszeit im Gerät ab. Der Druck in der Reaktionsregion beträgt 2.3mbar. Bestimmen Sie dafür das Signal auf den Primärionen mithilfe des Isotops und des Isotopenverhältnisses. (0.2 Punkte)

6.3 Aufgabe 3: Einfluss der Extraktionsspannung U_{el} und der Driftspannung U_{drift} (1.1 Punkte)

- Nehmen Sie ein Spektrum mit konstanten Eichgaskonzentrationen auf, bei dem die Signale der Stoffe gut sichtbar sind. Variieren Sie mehrmals die Extraktionsspannung U_{el} und die Driftspannung U_{drift} während Sie das Spektrum aufnehmen. Beobachten Sie dabei den Verlauf der Signale auf den zu erwartenden Eichgasmassen.
- Stellen Sie im Anschluss die Settings während der Kalibration wieder her!
- Stellen Sie die Signalstärke der gemessenen Stoffe in Abhängigkeit von der Extraktionsspannung und der Driftspannung dar. (0.6 Punkte)
- Welche Veränderungen können Sie bei den Signalen der Eichgasstoffe feststellen? Beschreiben Sie. (0.2 Punkte)
- Können Sie Fragmente der Eichgasstoffe im Spektrum finden? Was ist ihr Kriterium für die Identifikation eines Fragments? Stellen Sie dies graphisch an einem Beispiel dar. (0.3 Punkte)

6.4 Aufgabe 4: Atemgas-Analyse (1.3 Punkte)

- Nehmen Sie Spektren von der Atemluft eines/r Studierenden
 - mit und ohne gegessenem Kaubonbon oder
 - im Sitzen und im auf-der-Stelle-Rennen

auf. Dabei sollte die Versuchsperson auf jeden Fall mehrmals ein- und ausatmen, um genug Signal zum Mitteln zu erzeugen. Dokumentieren Sie bestenfalls die Ein- und Ausatemzeiten, um sich die Analyse zu vereinfachen.

- Auf welchen Massen sehen Sie Signale in der Atemluft? Sehen Sie Unterschiede zwischen den Signalen mit / ohne Kaubonbon bzw. im Sitzen / im Auf-der-Stelle-Rennen? Beschreiben Sie! (0.5 Punkte)
- Auf Masse 69 (bzw. 76 im NH_4^+ Modus) liegt Isopren. Nutzen Sie die Ergebnisse der Kalibration aus Aufgabe 2, um die Konzentration von Isopren in der Atemluft zu bestimmen. (0.4 Punkte)
- Wie sicher ist die Identifizierung der unbekannten Peaks? Welche Massenauflösung bräuchten Sie, um bei diesen Massen die möglichen Zusammensetzungen der unbekannten Moleküle aufzulösen (Realistische Annahme bei Atemgasanalyse: Nur Moleküle aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel)? (0.4 Punkte)

7 Hilfreiches für die Auswertung

7.1 Peakidentifikation und Sensitivitäts Interpretation

- <https://www.chemcalc.org/mf-finder> (geben Sie eine Exaktmasse an und erhalten Sie Vorschläge für die elementare Zusammensetzung des Moleküls)
- <https://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm> (Isotopenberechnung anhand einer Summenformel)
- <https://webbook.nist.gov/chemistry/form-ser/> (Eine umfassende Datenbank zu physikalisch-chemischen Informationen zu Atomen und Molekülen, z.B. der Protonenaffinität)

7.2 Auswertung mit Python / Jupyter Notebook

Ich würde mich sehr freuen, wenn Sie die Datenvisualisierung und Fehleranalyse - als Vorbereitung auf die heutige Arbeitswelt - mithilfe einer Programmiersprache durchführen. Jupyter Notebook ist sehr empfehlenswert, da es eine sehr übersichtliche Dokumenterstellung und einfache Zusammenarbeit ermöglicht. Damit könnten Sie den gesamten Report erstellen, statt nur die Auswertung. Sie können aber auch gerne andere Tools verwenden, mit denen Sie vertraut sind.

Sollten Sie sich an einer Auswertung mithilfe von Python / Jupyter Notebook, versuchen wollen, ohne diese Tools bereits installiert zu haben, beschäftigen Sie sich idealerweise bereits im Vorhinein mit diesen Tools und der Installation.

- Installationsempfehlung
 - Sollten Sie noch keine Python-Version installiert haben, installieren Sie zunächst python (<https://wiki.python.org/moin/BeginnersGuide/Download>)
 - Installieren Sie anschließend Jupyter Notebook (<https://jupyter.org/install>) und starten Sie ein jupyter notebook (<https://docs.jupyter.org/en/latest/running.html>) von dem Ordner aus, in dem Sie arbeiten möchten.
- Jupyter Notebook kann man auch online testen: <https://jupyter.org/try-jupyter/retro/notebooks/?path=notebooks/Intro.ipynb>
- Für eine schöne Darstellung von Text im Jupyter Notebook, benötigen Sie ein klein wenig Basiswissen zu Markdown: <https://www.markdownguide.org/cheat-sheet/>
- Datenanalyse und Visualisierung
 - Die matplotlib Galerie gibt viele Tipps und Code-Beispiele zur Datenvisualisierung mit python <https://matplotlib.org/stable/gallery/index.html>
 - Nutzen Sie zum Beispiel Pandas dataframes für ein einfaches Handling von Datentabellen https://pandas.pydata.org/docs/user_guide/index.html#user-guide

8 Hinweise zum TofDaqViewer

Peak Parameters

TofDaq Name	Bedeutung
TIC	total ion count: alle gemessenen Ionen des Spektrums summiert
ions/ex	Ionen pro Extraktion**
Resolution	wie beschrieben $m/\Delta m$, Δm das FWHM
Area (cps)	Integral über Peakfit
rawA (cps)	Summe der Rohdaten in den Grenzen des Fits

Tabelle 2: Peak Parameters in TofDaq. ****Hier versteckt sich der Duty cycle vom MCP!**
Wie lange dauert eine Extraktion ungefähr?

Abziehen eines Spektrums Rechtsklick auf das Spektrum. "Use this spectrum as background" (behält den BG auch bei, wenn man zum nächsten file klickt) Zum Rückgängigmachen: Rechtsklick in das Fenster. "Reset Background"

Identifikation von Peaks Nach Massenkalkulation und Peakfit können Peaks mit "ID" (rechts, im Peak Parameter Feld) identifiziert werden. Dabei lassen sich auch Filter für die Molekülzusammensetzung definieren.

Logbucheinträge Im TofDaqRecorder (nur Labor) kann man Logbucheinträge in die Files einfügen, um Änderungen im Setup / von Parametern einzutragen. Falls Sie das nutzen möchten, erinnern Sie mich daran, es Ihnen einmal zu zeigen. Diese Logbucheinträge lassen sich im TofDaqViewer anzeigen (siehe Bild nächste Seite)

Die Einträge bitte niemals als einziges Laborbuch nutzen, sondern nur als "doppelte Buchführung"!

Exportieren von Spektren und ausgewählten Traces Rechtsklick in das entsprechende Fenster. Dann: "Export all visible profiles to text file" für's Exportieren des Traces. "Export Spectrum to text file" zum Exportieren des Spektrums

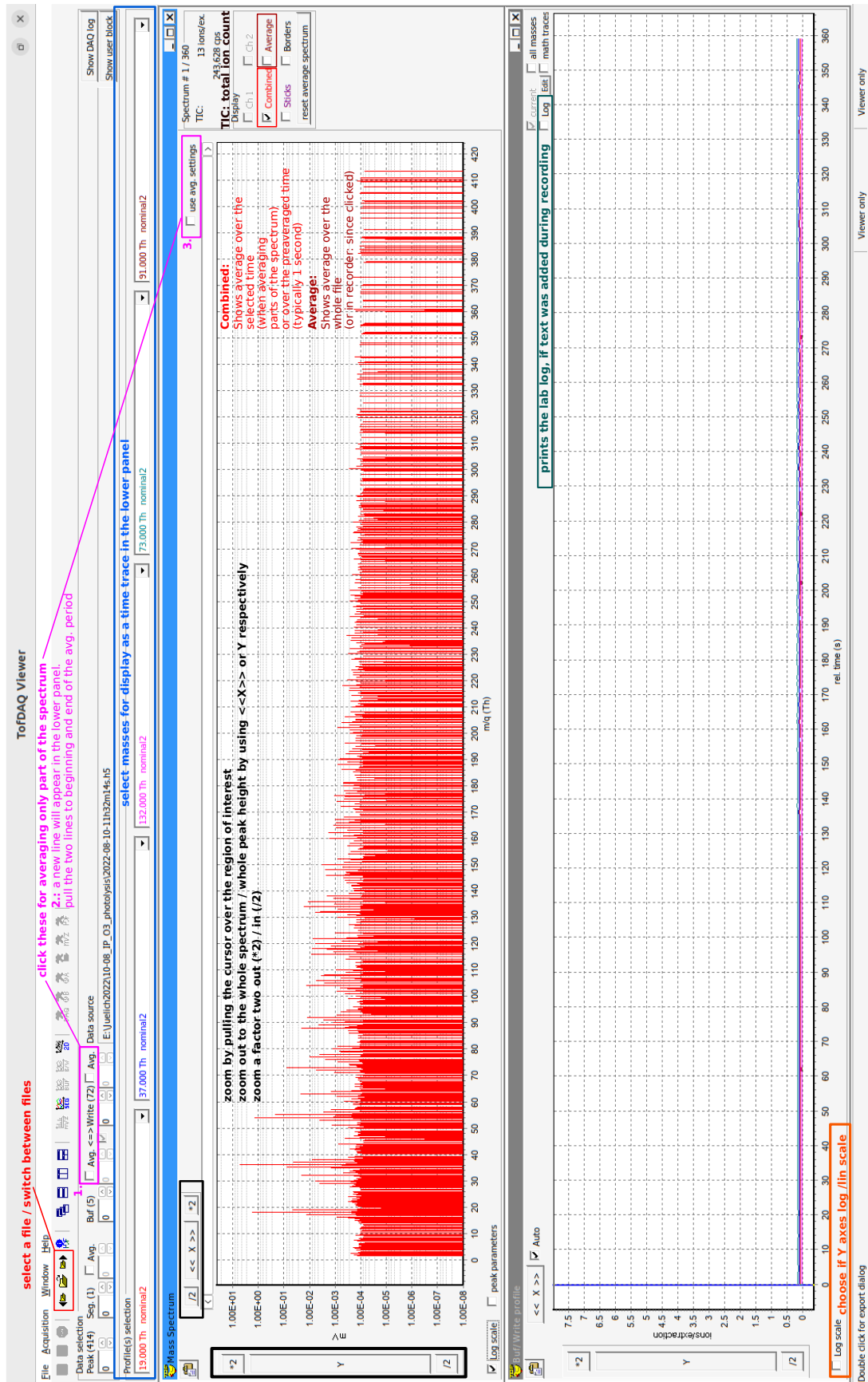
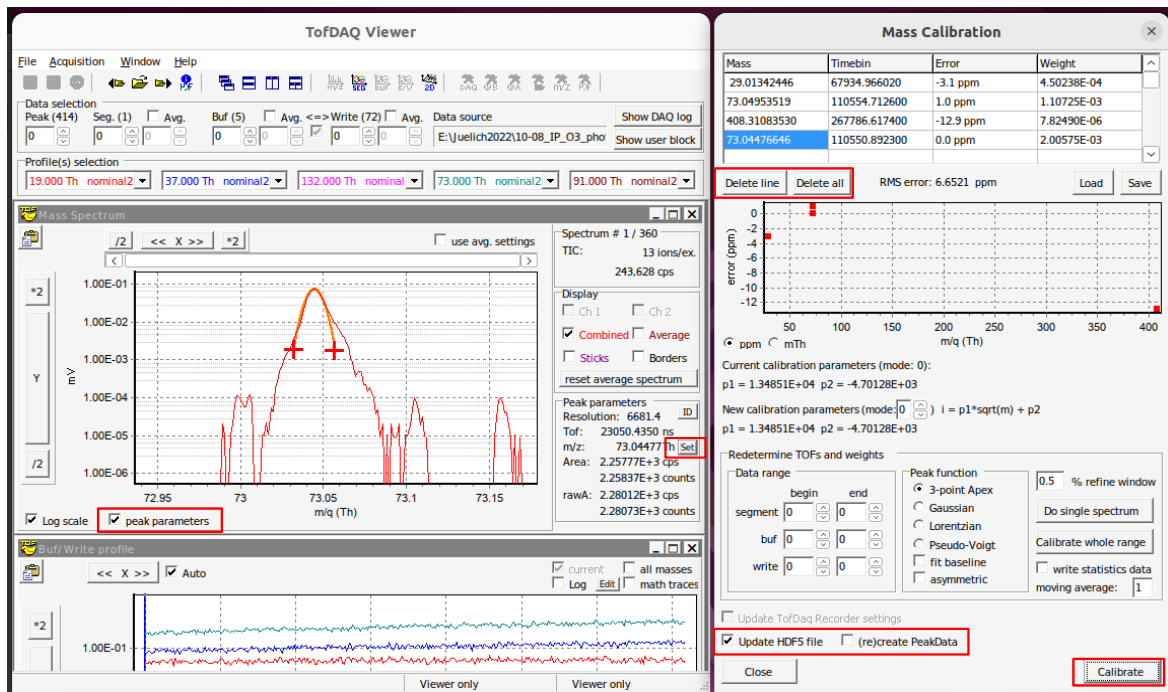


Abbildung 5: Übersicht über nützliche TofDaq Features



1. choose and zoom in on a peak you know
2. click on "peak parameters"
 - > peak parameters appear on the right.
3. click on "set"
 - > the mass calibration window opens, your peak is in the last line
4. if necessary, delete old mass calibration entries
5. type in the sumformula of your peak and click enter
 - > the calculated exact mass of this sumformula appears
6. close the window and repeat this for other known peaks
7. After adding the last peak, make sure that "update HDF5 file" and "recreate peak data" are clicked.
8. Finally, click "Calibrate"

for small peaks, it is useful to use the file average to get a better peakshape

Abbildung 6: Wie man die Massenachse kalibriert