

**Entwicklung und Charakterisierung eines Pikoliter-Dosiersystems
für Kalibrierungen in der induktiv gekoppelten Plasma-
Massenspektrometrie in Verbindung mit der Laserablation**

Dissertation zur Erlangung des Grades

Doktor der Naturwissenschaften

im Promotionsfach Analytische Chemie

im Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

von

Jan Hauke Petersen

geb. in Braunschweig am 23.05.1983

Mainz 2017

Dekan: Cppp{o kugtv

1. Gutachter: Anonymisiert

2. Gutachter: Anonymisiert

Tag der mündlichen Prüfung: 23.06.2017

Little by little,

one travels far.

J.R.R. Tolkien

... Für "

Abschnitt I

Abstract & Kurzfassung

Abstract:

Laser ablation in hyphenation with inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) is one of the most sensitive techniques for analyzing the elemental composition of objects and offers an extended linear working range for most elements from concentrations within the ultra-trace regime up to the determination of major compounds. Furthermore, using a minimum effort for sample preparation LA-ICP-MS allows the direct sampling of small objects and sampling areas with diameters of only a few μm , respectively. However, a well-known limitation is the restricted availability of suitable reference materials for calibration and verification in various applications in the μm -size regime. Since without further investigations the ablated mass remains unknown, commonly a relative calibration strategy is applied, for which the sampled mass for calibration standards and samples is kept as constant as possible. Analyzing μm -sized, discrete, individual object such as cells or particles, the target objects may be completely ablated, and often vary in size. In such cases mostly no constant sampling mass can be achieved. However, if such discrete objects can be completely ablated it may be possible to obtain signals which correlate linearly to the ablated analyte mass and an absolute calibration approach may be applied. Concentrations may be calculated if the ablated mass can be determined or estimated by additional investigations. This absolute calibration strategy is topic of current fundamental research and there is high need for further research on preparation of calibration standards and preparation and characterization of reference materials.

Within this work a novel pL-dosing system was developed, which allows the preparation of calibration standard samples for LA-ICP-MS from highly available element-standard solutions. The system is based on the thermal inject process. To drive modified inject printer cartridges, a combination of electronic microcontrollers connected to a computer interface was developed, which allows to individually optimize the dosing process for each solution to be transferred. Using this system, it is possible to transfer defined amounts of analyte mass under microscopic observation directly onto solid surfaces. Within this work, it was determined that the ejected droplets impact within a radius of 65-122 μm onto a target surface and contain a volume of approx. 30 pL per dosing event. After drying on hydrophobic surfaces, residues with diameters of 12-50 μm remained. While targeting agarose gels, impact marks with diameters of approx. 50-100 μm were observed. After total ablation of such residues transient signals with duration of a few seconds were observed by LA-ICP-MS. The respective integrated signal intensities with relative standard deviations of 4-10 % allow for a linear calibration. Detection limits of low femtogram analyte masses could be determined for selected elements. Furthermore, it could be demonstrated, that the developed pL-dosing system enables the direct dosing of known amounts of analyte mass onto the selected μm -sized samples and allows therefore a quantification using the method of standard addition. The developed system and the investigated calibration technique demonstrated its potential as a promising tool for the analysis of μm -sized objects.

Kurzfassung:

Die Laserablation in Verbindung mit der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (LA-ICP-MS) gehört zu den nachweisstärksten Analysetechniken für die Untersuchung der Elementzusammensetzung und besitzt für viele Elemente einen linearen Arbeitsbereich vom Ultraspurenbereich bis zur Bestimmung von Hauptkomponenten. Die LA-ICP-MS ermöglicht zudem durch eine direkte Beprobung kleinster Objekte mit Durchmessern von wenigen μm einen minimalen Probenvorbereitungsaufwand. Eine Limitierung der LA-ICP-MS ist die eingeschränkte Verfügbarkeit von geeigneten Referenzmaterialien zur Kalibrierung und Verifizierung für Objekte im μm -Größenbereich. Da die bei der Ablation abgetragene Masse ohne weitere Untersuchungen zumeist unbekannt ist, wird typischerweise eine relative Kalibrierstrategie verwendet, bei der die beprobte Masse von Probe und Kalibrierstandard möglichst konstant gehalten wird. Bei der Analyse von diskreten individuellen μm -großen Objekten, wie einzelnen Zellen oder Partikeln, können die Zielobjekte allerdings vollständig abgetragen werden und besitzen häufig unterschiedliche Größen, so dass meist kein konstanter Probenabtrag erreicht werden kann. Bei vollständigen Ablationen diskreter Objekte können jedoch Messsignale erhalten werden, die linear mit der absoluten ablatierten Analytmasse korrelieren, so dass eine absolute Kalibrierstrategie verfolgt werden kann. Konzentrationen lassen sich ggf. durch zusätzliche Bestimmung oder Abschätzung der ablatierten Masse berechnen. Diese absolute Kalibrierstrategie ist Gegenstand aktueller Grundlagenforschung und es besteht sowohl für die Herstellung von Kalibrierstandards, als auch bei der Herstellung und Charakterisierung von Referenzmaterialien starker Forschungsbedarf.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neuartiges pL-Dosiersystem entwickelt, welches ermöglicht, aus gut verfügbaren Elementstandardlösungen feste Kalibrierstandards für die LA-ICP-MS herzustellen. Das System basiert auf dem thermischen Tintenstrahldruckverfahren. Für die Steuerung von modifizierten Tintenstrahldruckerpatronen wurde eine Kombination aus elektronischen Mikrokontrollern in Verbindung mit einer Computerschnittstelle entwickelt, die es erlaubt den Dosiervorgang in Abhängigkeit der zu dosierenden Lösung zu optimieren. Das System ermöglicht eine definierte Analytmasse unter mikroskopischer Beobachtung gezielt auf feste Oberflächen zu transferieren. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ermittelt, dass die ausgestoßenen Tropfen in einem Radius von 56-122 μm auf der Probenoberfläche auftreffen und ein Gesamtvolumen von ca. 30 pL pro Dosierung besitzen. Nach Trocknung verblieben auf hydrophoben Oberflächen Rückstände mit Durchmessern von 12-50 μm während sich auf Agarosegelen Impaktionsspuren mit Durchmessern von ca. 50-100 μm beobachten ließen. Nach vollständiger Ablation dieser Rückstände konnten mittels LA-ICP-MS transiente Signale mit einer Gesamtdauer von wenigen Sekunden detektiert werden. Die integrierten Signalintensitäten besitzen eine relative Standardabweichung von 4-10 % und erlauben eine lineare Kalibrierung, bei der für ausgewählte Elemente absolute Nachweisgrenzen von wenigen Femtogramm Analytmasse ermittelt werden konnten. Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass das pL-Dosiersystem eine direkte Dosierung von bekannten Analytmassen auf das zu untersuchende μm -große Objekt erlaubt und somit eine Quantifizierung mittels Standardaddition ermöglicht. Darüber hinaus wurde die Anwendbarkeit für die Analyse von Modellproben und Referenzmaterialien untersucht. Das entwickelte System und die untersuchte Kalibriertechnik haben sich hierbei als vielversprechende Werkzeuge für die Untersuchung von individuellen μm -großen Objekten herausgestellt.

Inhaltsverzeichnis

Abschnitt I	Abstract & Kurzfassung.....	i
Abschnitt II	Motivation und Zielsetzung	vi
Abschnitt III	Theoretische Grundlagen und Kenntnisstand	1
III.1.	Analytische Güteziffern, Kenngrößen und mathematische Grundlagen	1
III.2.	Röntgenfluoreszenzspektrometrie.....	6
III.2.1.	Aufbau eines TRFA-Spektrometers	7
III.2.2.	Kalibriertechniken in der TRFA.....	10
III.3.	Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie	11
III.3.1.	Allgemeiner Aufbau eines ICP-MS.....	11
III.3.2.	Das induktiv gekoppelte Plasma	12
III.3.3.	Probeneinführung	22
III.3.4.	Interface und Ionenoptik.....	26
III.3.5.	Massenanalytoren	28
III.3.5.1.	Sektorfeld Massenanalysator	31
III.3.5.2.	Quadrupol Massenanalysator	38
III.3.6.	Detektoren	44
III.3.7.	Interferenzen und Limitierungen in der ICP-MS	48
III.3.8.	Kalibriertechniken in der ICP-MS	51
III.4.	Laserablation	53
III.4.1.	Physikalische Grundlagen und Funktionsweise von Lasern	55
III.4.2.	Übersicht über verschiedene Lasermedien.....	62
III.4.3.	Aerosolbildungsprozesse in der Laserablation.....	65
III.4.4.	Allgemeiner Aufbau eines Laserablationssystems	68
III.4.5.	Funktionen und Design der Ablationszelle.....	69
III.4.6.	Kalibriertechniken in der LA-ICP-MS	71
III.5.	Flüssigkeitsdosierung und Tropfenerzeugung.....	76

III.5.1.	Tintenstrahldruckverfahren	80
III.5.2.	Kalibrierstrategien auf Basis diskreter Flüssigkeits-volumina mit Bezug zur LA-ICP-MS	85
III.5.2.1.	µL-Pipetten	85
III.5.2.2.	nL-Tropfengeneratoren	86
III.5.2.3.	Tintenstrahldrucker und pL-Dispenser	87
III.5.2.4.	Schlussfolgerungen	91
Abschnitt IV	Material und Methoden	93
IV.1.	Verwendete Gase, Reagenzien, Geräte, Verbrauchsmaterialien und Software	93
IV.2.	Allgemeiner Aufbau eines Drop-on-Demand Generators	95
IV.2.1.	Herstellung der Dosiereinheit	96
IV.2.2.	Elektronische Steuerung der pL-Dosiersysteme Typen "A" und "B"	97
IV.3.	Aufbau des finalen pL-Dosiersystems Typ "C"	101
IV.3.1.	Elektronische Steuerung des pL-Dosiersystems Typ "C"	103
IV.4.	Optimierung des Dosiervorgangs	105
IV.5.	Experimentelles Vorgehen	106
IV.5.1.	Bestimmung der dosierten Analytmasse mittels ICP-MS und TRFA	107
IV.5.1.1.	ICP-MS	107
IV.5.1.2.	TRFA	108
IV.5.1.3.	Mikroskopische Untersuchungen des Tropfenausstoßes	109
IV.5.2.	Rasterkraftmikroskopie	110
IV.5.3.	LA-ICP-SFMS	110
IV.5.4.	LA-ICP-QMS	111
IV.5.5.	Gewinnung und Dotierung der <i>Saccharomyces ludwigii</i> Hefezellen	112
IV.5.6.	Gewinnung der Gewebeschnitte des Kompostwurms <i>Eisenia foetida</i>	113
Abschnitt V	Ergebnisse & Diskussion	114
V.1.	Charakterisierung des pL-Dosiersystems Typ "A"	114
V.2.	Charakterisierung des pL-Dosiersystems Typ "B"	118

V.3.	Charakterisierung des pL-Dosiersystems Typ "C"	125
V.3.1.	Optimierung des Schutzgasflusses des Dosierinterfaces	125
V.3.2.	Optische Charakterisierung des Dosiervorgangs	128
V.4.	Dosierung von pL-Volumina zur Herstellung von Kalibrierstandards für die TRFA und die LA-ICP-MS.....	131
V.4.1.	Dosierung von Multielementlösungen.....	135
V.4.2.	Studien zur matrixangepassten Kalibrierung und Störanfälligkeit.....	140
V.5.	Untersuchungen von Modell- und Realproben: Anwendung und Limitierungen der entwickelten Kalibrierstrategie	148
Abschnitt VI	Zusammenfassung und Ausblick	164
Abschnitt VII	Verzeichnisse.....	171
VII.1.	Literaturverzeichnis.....	171
VII.2.	Abbildungsverzeichnis.....	195
VII.3.	Formel- und Gleichungsverzeichnis	200
VII.4.	Abkürzungsverzeichnis	203
Lebenslauf	205	
Danksagung:	208	

Abschnitt II

Motivation und Zielsetzung

In den Naturwissenschaften nimmt die Analytik einen bedeutenden Stellenwert ein und gilt für den Wissenschaftler als Grundlage für die Wahrnehmung, zur Erklärung und dem Verständnis seiner Umwelt. Dies zeigt sich darin, dass seit den Anfängen der Wissenschaft die Beschreibung von Stoffen nach Farbe, Geruch - in vergangenen Jahrhunderten sogar nach Geschmack - praktiziert wurde und auch heute im Rahmen der Grundlagen eines Chemiestudiums vermittelt wird. Darüber hinaus wurden verschiedenste Techniken entwickelt, die eine Untersuchung von Proben- und Materialeigenschaften abseits der eigenen Wahrnehmung erlauben. So wurde beispielsweise die Untersuchung von elektrischen, magnetischen oder elektromagnetischen Eigenschaften ermöglicht.

Neben der Ermittlung von qualitativen Informationen liegt es in der Natur wissenschaftlichen Denkens, die Umwelt quantitativ zu erfassen und die Zusammenhänge mathematisch zu beschreiben. Mit Hilfe der seit Jahrtausenden verwendeten Messinstrumente wie Waagen oder Volumenmessgeräte, wurden verschiedenste Verfahren entwickelt, die beispielsweise die Bestimmung von Dichte oder Härte eines Materials erlauben. In Kombination mit Erkenntnissen über den Aufbau und die Eigenschaften der zu untersuchenden Materialien auf molekularer oder atomarer Ebene lassen sich die beiden seit der Frühzeit bekannten Konzepte von Volumen- und Gewichtbestimmung kombinieren und ermöglichen so eine quantitative Analyse - z.B. bei Titration von Molekülen oder Ionen. Im Laufe der Menschheitsgeschichte wurden so mit zunehmendem Kenntnisstand immer komplexer werdende qualitative Analysetechniken entwickelt, mit denen sich physikalische und chemische Phänomene quantifizieren und mathematisch beschreiben lassen. Kann hierbei der Kenntnisstand erweitert werden, ist die Entwicklung neuer analytischer Verfahren möglich, und der Kreis kann erneut vorgeführt werden. Die qualitative Analytik ist damit eine der zentralen Disziplinen bei der Erweiterung des wissenschaftlichen Kenntnisstands.

Im Zuge des elektrotechnischen Fortschritts hat die instrumentelle Analytik stark an Bedeutung gewonnen, wodurch auch verschiedene andere wissenschaftliche Disziplinen deutlich weiter entwickelt werden konnten. Die Entwicklung der Infrarot- und Kernspinresonanzspektrometrie hat beispielsweise maßgeblich zum Erfolg der organischen Chemie beigetragen, ebenso wie die automatisierte Bestimmung von Nukleotidsequenzen in genetischem Material zu einem rasanten Aufstieg der Molekularbiologie geführt hat.

Eine in sehr vielen naturwissenschaftlichen Bereichen angewendete analytische Disziplin ist die Elementspurenanalytik, die unter anderem zur Untersuchung von miniaturisierten elektronischen Bauteilen¹ zum Verständnis von physiologischen² oder geologischen³ Prozessen sowie archäologischen⁴ oder forensischen⁵ Fragestellungen beitragen kann.

Innerhalb der Elementspurenanalytik hat sich die Laserablation (LA) verbunden mit der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (ICP - inductively coupled plasma; MS - mass spectrometry) als eine hochempfindliche Technik entwickelt,⁶ die eine direkte und orts aufgelöste Analyse minimalen Probenmaterials, wie beispielsweise μm -große Flüssigkeitsinklusionen in natürlich entstandenen Quarzen⁷, Urankonzentrationen in einzelnen Haaren⁸ oder Uran-Isotopenverhältnissen in Partikeln im Submikron-Bereich⁹, ermöglicht. Wie bei vielen instrumentellen Verfahren handelt es sich auch bei der LA-ICP-MS um ein relatives Messverfahren, das einer sorgfältigen Kalibrierung bedarf. Hierfür sind Kalibrierstandards mit bekannter Analytzusammensetzung notwendig. Während für die Analyse von flüssigen Proben solche Kalibrierstandards durch Verdünnung aus kommerziell verfügbaren Standardlösungen für verschiedenste Elemente in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen hergestellt werden können, ist für die direkte orts aufgelöste LA-ICP-MS zumeist die geringe Verfügbarkeit von festen Kalibrierstandards und Referenzmaterialien ein limitierender Faktor.¹⁰⁻¹² Daher wurden in der Vergangenheit bereits viele Möglichkeiten untersucht, aus flüssigen Standardlösungen feste Kalibrierstandards herzustellen. Speziell für die Analyse von μm -großen Objekten konnten feste Kalibrierstandards mit Durchmessern von ca. 20-100 μm durch Dosierung von Standardlösungen in Form von pL-Tropfen mit modifizierten Tintenstrahl Druckern erzeugt und hinsichtlich einer Eignung der Kalibrierung in der Totalreflexion-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA) charakterisiert werden.¹³ Darüber hinaus wurde eine Übertragbarkeit auf die LA-ICP-MS-Analyse demonstriert und eine auf der vollständigen Ablation dieser Kalibrierstandards basierende Kalibrierstrategie vorgeschlagen.¹⁴ Diese LA-ICP-MS-Kalibrierstrategie ist jedoch bisher nur in wenigen Arbeiten untersucht worden und konnte zudem für die Analyse von μm -großen Objekten bisher noch nicht verifiziert werden.

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines neuartigen Dosiersystems, welches ermöglichen soll, Volumina von wenigen Pikolitern gezielt auf Oberflächen zu dosieren. Bezüglich des Volumens der individuellen Dosierungen soll hierbei eine möglichst hohe Reproduzierbarkeit erreicht werden. Darüber hinaus wäre es wünschenswert, wenn das System eine einfache Handhabung besitzt, nach Möglichkeit das Ziel der Dosierung mit Hilfe mikroskopischer Betrachtung ausgewählt werden kann und eine hohe räumliche Dosierpräzision für die Mehrfachdosierungen auf einen Punkt gewährleistet ist.

Dieses System muss hinsichtlich der dosierten Volumina bzw. transferierten Analytmassen und der hierbei erreichbaren Reproduzierbarkeit des Dosiervorgangs charakterisiert werden. Außerdem soll die Eignung eines solchen Systems zur Herstellung von Kalibrierstandards für die orts aufgelöste Elementspurenanalytik geprüft und deren Verwendung für die LA-ICP-MS umfassend untersucht werden. Hierbei sind die analytischen Kenngrößen der erhaltenen Kalibrierfunktionen und eine Anwendung zur Quantifizierung von Analytkonzentrationen in Realproben und Referenzmaterialien zu untersuchen und diskutieren.

Abschnitt III

Theoretische Grundlagen und Kenntnisstand

III.1. Analytische Güteziffern, Kenngrößen und mathematische Grundlagen

Die Beurteilung der Leistungsfähigkeit einer analytischen Methode und der Vergleich verschiedener Methoden untereinander erfolgt üblicherweise mithilfe von analytischen Güteziffern. Zur objektiven Beschreibung erfolgt dies zum Großteil mathematisch mit Hilfe der Analysis und Stochastik. Der verkürzte Überblick, der im Folgenden gegeben wird, richtet sich aus an den im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendeten bzw. diskutierten Berechnungsmethoden und Güteziffern sowie dem Lehrbuchwissen auf dem Gebiet der Analytischen Chemie.^{15,16}

Zu den fundamentalen mathematischen Berechnungen zur Beschreibung und Diskussion von Messdaten gehören der arithmetische Mittelwert (\bar{x} , Gleichung 1), die Standardabweichungen (σ oder SD, Gleichung 2) und relative Standardabweichungen (RSD, Gleichung 3), die sich jeweils aus den verfügbaren Einzelwerten (x_i) und der zugehörigen Anzahl (n) der Einzelwerte berechnen lassen.

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \text{Gleichung 1}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}} \quad \text{Gleichung 2}$$

$$\text{RSD} = \frac{\sigma}{\bar{x}} \quad \text{Gleichung 3}$$

Die Präzision gibt die Reproduzierbarkeit eines analytischen Verfahrens unter festgelegten Bedingungen an, kann über die Standardabweichung beschrieben werden und gibt die Streuung der erhaltenen Messdaten um den Mittelwert an.

Wird die Präzision allein durch zufällige Einflüsse oder Fluktuationen im Rahmen des Analyseprozesses beeinflusst, führt das häufig dazu, dass die Wahrscheinlichkeitsverteilung (f) der Messwerte (x) eine Normalverteilung um den Erwartungswert (μ) annimmt (Gleichung 9).

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}(x-\mu)^2} \quad \text{Gleichung 4}$$

Im Zusammenhang mit der Diskussion der Präzision wird der Erwartungswert häufig mit dem Mittelwert gleichgesetzt. Systematische Abweichungen von einer Normalverteilung oder vom erhaltenen Mittelwert mit einem aus zusätzlichen Quellen zugänglichen Erwartungswert können ein Zeichen für systematische oder methodische Fehler sein und sollte eine kritische Hinterfragung der im weiteren Verlauf dieses Kapitels diskutierten Richtigkeit der Methode nach sich ziehen.

Ein Mittelwert, der aus einer endlichen Stichprobenanzahl der Grundgesamtheit besteht, verfügt allerdings gegenüber dem Erwartungswert immer über eine Unsicherheit (u), die gemäß Gleichung 5 aus Standardabweichung (σ) der Messergebnisse und der Anzahl (n) der Messungen berechnet werden.

$$u = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad \text{Gleichung 5}$$

Eine Multiplikation der ermittelten Unsicherheit mit einem Erweiterungsfaktor k führt zu einer erweiterten Unsicherheit U . Hierdurch wird die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass der ermittelten Vertrauensbereichs $\bar{x} \pm U$ die theoretische Verteilung der Einzelwerte bei unendlicher Wiederholung der Messung beinhaltet. Häufig wird ein Faktor $k=2$ verwendet und es ergibt sich ein Konfidenzniveau von ca. 95.45 %.

Können für verschiedene, unabhängige Schritte im Analysenvorgang einzelne Beiträge zu Standardabweichungen (u_i) oder Unsicherheiten (σ_i) des Messergebnisses ermittelt werden, kann aus diesen die gesamte Standardabweichung bzw. Messunsicherheit gemäß Gleichung 6 ermittelt werden.

$$u = \sqrt{\sum_i u_i^2} \text{ bzw. } \sigma = \sqrt{\sum_i \sigma_i^2} \quad \text{Gleichung 6}$$

Im Gegensatz zu den oben genannten Messunsicherheiten addieren sich einzelne Fehlerkomponenten (Δx_i) bei der Berechnung eines Analysenergebnisses (y) gemäß Gleichung 7, als Produkte mit den jeweiligen partiellen Ableitungen.

$$\Delta y = \sum_i \left| \frac{\partial y}{\partial x_i} \right| \Delta x_i \quad \text{Gleichung 7}$$

Die Richtigkeit einer analytischen Methode ist eine Gütezahl, die unabhängig von der Präzision ist und die Übereinstimmung der Messergebnisse mit dem wahren Wert angibt. Da der wahre Wert in der Praxis unbekannt ist, wird die Richtigkeit einer Methode häufig mit Hilfe akzeptierter Referenzwerte, z.B. zertifizierte Konzentrationen in zertifizierten Referenzmaterialien (CRMs), untersucht. Eine anerkannte Methode zum Beleg, dass eine Methode richtige Ergebnisse liefert, ist die Prüfung auf signifikante Übereinstimmung der gemessenen Konzentration (C_m) mit der zertifizierten Konzentration eines geeigneten CRMs (C_{CRM}). Eine signifikante Übereinstimmung liegt gemäß Gleichung 8 vor, wenn die ermittelte Abweichung beider Konzentrationen kleiner ist als die erweiterte Gesamtunsicherheit beider Werte.¹⁷

$$\Delta_m = |c_m - c_{CRM}| \leq U = k \sqrt{u_m^2 + u_{CRM}^2} \quad \text{Gleichung 8}$$

Eine weitere häufig im Zusammenhang mit instrumentellen analytischen Methoden diskutierte Gütezahl ist **die Empfindlichkeit einer Methode**. Diese entspricht dem Verhältnis aus Messsignal (y) und Analytkonzentration (x). Liegt ein linearer Zusammenhang vor, entspricht die Empfindlichkeit der Methode der Steigung (m) des Messsignals in Abhängigkeit von der Analytkonzentration und kann durch lineare Regression z.B. mit Hilfe der Methode der kleinsten Fehlerquadrate gemäß Gleichung 9 berechnet werden.

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}} \quad \text{Gleichung 9}$$

Zu den weiteren Parametern, die über eine lineare Regression - z.B. im Rahmen einer Kalibrierung - bestimmt werden können, gehören der Achsenabschnitt (b) (Gleichung 10), und der Korrelationskoeffizient r (Gleichung 11).

$$b = \bar{y} - m\bar{x} \quad \text{Gleichung 10}$$

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}} \quad \text{Gleichung 11}$$

Als Bestimmtheitsmaß wird das Quadrat des Korrelationskoeffizienten bezeichnet.

Eine weitere wichtige Kenngröße ist **die Höhe des analytischen Untergrunds**, der z.B. durch Blindwerte, analytische Störungen oder elektronisches Rauschen des Messgeräts zustande kommt. Um diesen zwischen verschiedenen Messgeräten oder Verfahren objektiv vergleichen zu können, wird der Signaluntergrund durch die Untergrund-Äquivalentkonzentration (BEC - **background equivalent concentration**) als Quotient des Untergrundsignals y_0 und der Empfindlichkeit m beschrieben (Gleichung 12).

$$BEC = \frac{y_0}{m} \quad \text{Gleichung 12}$$

Zu den wichtigsten analytischen Gütezißern gehören **die Nachweisgrenze** (LOD –**limit of detection**) sowie die Bestimmungsgrenze (LOQ –**limit of quantification**). Ausgehend vom Signaluntergrund und der Empfindlichkeit einer Methode beschreiben diese Größen die minimale Konzentration, die mit einem analytischen Verfahren mit einer definierten, statistischen Sicherheit erfasst bzw. bestimmt werden kann. Ist die Streuung der Messergebnisse am Signaluntergrund und im Messbereich normalverteilt, lässt sich die Nachweisgrenze nach Blindwertkorrektur aus der Standardabweichung des Blindwertes σ_{y_0} und der Empfindlichkeit m berechnen Gleichung 13.

$$LOD = \frac{k_D \sigma_{y_0}}{m} \quad \text{Gleichung 13}$$

Häufig findet ein Faktor $k_D=3$ als Erweiterungsfaktor Verwendung, der sich aus den Eigenschaften der Gaußverteilung ergibt: 99,73 % aller Werte liegen bei einer Gaußverteilung im Bereich von $\bar{x} \pm 3\sigma$. Somit werden an der Nachweisgrenze ohne Vorliegen des Analyten ca. 0,14 % falschpositive Ergebnisse erhalten, während beim Vorliegen des Analyten in einer Konzentration, die dem LOD

entspricht, bei einer gleich großen Standardabweichung der Messwerte wie der Blindwerte, ca. 50 % der Ergebnisse falschnegativ abgelehnt werden. Sofern keine direkte Blindwertkorrektur erfolgt, muss angenommen werden, dass sich an der Nachweisgrenze Blindwert und Messsignal, sowie beide zugehörige Standardabweichungen überlagern. Unter der Annahme, dass die Standardabweichungen des Blindwertes und des Messsignals an Nachweisgrenze gleich groß sind und gemäß der in Gleichung 6 angegebenen Fehlerfortpflanzung summieren lassen, muss zusätzlich zum Erweiterungsfaktor 3 der Betrag der Nachweisgrenze noch um $\sqrt{2}$ erweitert werden (Gleichung 14).¹⁹

$$LOD = \frac{3\sqrt{2}\sigma_{y_0}}{m} \quad \text{Gleichung 14}$$

Während sich die Nachweisgrenze durch eine geringe Auftrittswahrscheinlichkeit von falsch positiven Messergebnissen auszeichnet, wird **die Bestimmungsgrenze** (LOQ –limit of quantification) gegenüber dem Blindwert so gewählt, dass zusätzlich die falschnegative Ablehnung von Messergebnissen minimiert wird. Sie bezeichnet die Grenze, ab der ein Messergebnis inklusive zugehöriger Unsicherheit ermittelt werden kann. Grundsätzlich gelten die gleichen Annahmen und Konzepte wie bei der Nachweisgrenze, so dass gemäß des am häufigsten verwendeten Berechnungsansatzes der Bestimmungsgrenze neben der Standardabweichung (σ) des Untergrundes und der Steigung (m) der Kalibriergerade ein Erweiterungsfaktor von 10 verwendet wird (Gleichung 15).¹⁸

$$LOD = \frac{10\sigma_{y_0}}{m} \quad \text{Gleichung 15}$$

Die Selektivität einer Methode beschreibt deren Verhalten, einen bestimmten Analyten oder eine Eigenschaft des Analyten zu erfassen und in wieweit diese Erfassung durch andere Spezies oder Matrix gestört werden kann. Die Selektivität lässt sich nicht für alle analytischen Verfahren in der gleichen Weise mathematisch beschreiben. Für die Chromatographie oder Spektrometrie wird in Zusammenhang mit der Selektivität häufig die Auflösung bzw. die Auftrennung verschiedener Messsignale diskutiert. In der Massenspektrometrie wird hierfür die Massenauflösung (R) verwendet. Sie kann aus der Differenz einer Masse (m) zu einer gerade noch von dieser aufgelösten Masse (m_2) ($\Delta m = m - m_2$) und der betrachteten Masse (m) berechnet werden kann (Gleichung 16).¹⁹

$$R = \frac{m}{\Delta m} \quad \text{Gleichung 16}$$

Δm lässt sich als der Abstand definieren, bei der das Signalminimum zwischen zwei benachbarten und gleichgroßen Signalen gleicher Symmetrie 10 % der jeweiligen Signalmaxima erreicht.¹⁹ Da in der

Praxis selten zwei Signale mit gleicher Intensität vorliegen, finden sich neben der zuvor vorgestellten Berechnungsmethode auch einige anerkannte Alternativen,^{21,22} bei denen die Signalbreite bei 5 %, 10 % oder bei 50 % der Signalhöhe eines einzelnen Signals zur Abschätzung von Δm herangezogen werden kann. Des Weiteren kann auch anstelle der betrachteten Masse (m) der Mittelwert zweier gerade noch unterscheidbaren Massen (\bar{m}) verwendet werden.²¹

Eine weiter analytische Güteziffer, die sich nicht direkt in Zahlen ausdrücken lässt, ist **die Robustheit**. Hiermit wird die Störanfälligkeit der Methode beschrieben gegenüber Änderungen bei der Probenvorbereitung und der Betriebsbedingungen, z.B. Geräteparameter, Umgebungstemperatur, Einflüsse bei Probenzuführung.

III.2. Röntgenfluoreszenzspektrometrie

Die Grundlagen der Röntgenfluoreszenz wurden bereits Anfang des 20. Jahrhunderts von Barkla beschrieben.¹⁹ Er beobachtete, dass bei der Absorption von Röntgenstrahlung elementcharakteristische Röntgenstrahlung emittiert werden kann. Die zugehörigen Wellenlängen lassen sich in die Serien K, L und M einteilen. Darüber hinaus stellte er fest, dass die Intensität der K-Linien proportional zur Anzahl der bei der Absorption emittierten Elektronen ist. Diese Experimente markieren den Beginn der Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA) und haben darüber hinaus einen wertvollen Beitrag zur Entwicklung des Atommodells und der Quantenmechanik geleistet.

In der RFA werden die kernnahen Elektronen durch Absorption von Röntgenstrahlung herausgeschlagen und es entsteht ein Ion im angeregten Zustand. Bei der Relaxation durch den Übergang eines Elektrons aus einem energetisch höheren Zustand in das nun unbesetzte, kernnahe Orbital kann die zugehörige Energiedifferenz als Röntgenstrahlung emittiert werden. Aus dieser vereinfachten Darstellung wird klar, dass sich durch die elementspezifische Lagen der einzelnen Energieniveaus elementcharakteristische Wellenlänge bei der Fluoreszenz ergeben. Die RFA hat sich als schnelle und zerstörungsfreie Analytik mit einem Anwendungsspektrum von Roherzen²⁴ über Werkstoffen²⁵ bis hin zu Kunstgegenständen²⁶ etabliert.

In der konventionellen RFA erfolgen die Anregung und Detektion unter einem steilen Winkel von ca. 45°-90°. Dies hat den Vorteil, dass der Großteil der anregenden Röntgenstrahlung direkt in die Probe eindringen kann und die Oberflächenbeschaffenheit der Probe hierauf nur einen geringeren Einfluss besitzt als bei einem flachen Anregungswinkel. Nachteilig ist allerdings, dass eine quantitative Analyse in vielen Fällen durch sogenannte Matrixeffekte erschwert wird. Diese haben ihren Ursprung meist im unterschiedlichen Absorptionsverhalten der anregenden Strahlung an den

Hauptkomponenten des Probenmaterials, hieraus resultierender Veränderung der Eindringtiefe der Röntgenstrahlung in die Probe sowie unterschiedlichen Streu- und Selbstabsorptionsprozessen der emittierten Röntgenfluoreszenzstrahlung. Eine matrixangepasste Kalibrierung ist somit für die meisten Anwendungen essentiell. Für viele Anwendungen im Bereich der Metall- und Werkstoffanalytik sind daher matrixangepasste Kalibrierstandards kommerziell erhältlich. Eine weitere Möglichkeit, eine matrixangepasste Kalibrierung durchzuführen bzw. Matrixeffekte zu minimieren, ist das Vermahlen von Proben unterschiedlicher Matrix mit einer Trägersubstanz, gefolgt von der Analyse hieraus gepresster Tabletten. Hierbei muss allerdings eine deutliche Verdünnung der Proben und damit verbundene höhere Nachweisgrenzen in Kauf genommen werden.

Eine Weiterentwicklung der RFA, bei der die oben genannten Limitierungen minimiert werden, ist die Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA). Hierbei trifft der primäre Röntgenstrahl unter einem Winkel von ca. $0,1^\circ$ auf die Probe, unterliegt den Bedingungen der Totalreflexion und hat, bedingt durch evaneszente Effekte, nur eine geringe Eindringtiefe von wenigen hundert Nanometern in die Probe bzw. den Probenträger. Hierdurch werden die aus unterschiedlichen Eindringtiefen resultierenden Matrixeffekte minimiert, sowie der spektrale Untergrund des Trägermaterials reduziert. Die Probe wird üblicherweise in flüssiger Form nach Lösen in einem geeigneten Lösungsmittel, Extraktion oder Aufschluss auf ein Trägermaterial direkt aufgebracht und darauf eingetrocknet. Bei der Analyse dieses Rückstandes wird durch den geringeren spektralen Untergrund das Signal-zu-Rausch Verhältnis erhöht, so dass deutlich geringere Nachweisgrenzen erreicht werden können.³² Bei Messaufbauten, die an Synchrotron-Einrichtungen angeschlossen sind, ist durch die hohe Brillanz eine präzise Strahlfokussierung mit hoher Strahlungsdichte erreichbar, wodurch die orts aufgelöste (T)RFA-Analytik im Ultraspurenbereich realisiert werden kann.²⁷

III.2.1. Aufbau eines TRFA-Spektrometers

Der Aufbau eines TRFA-Instruments ist in Abbildung 1 illustriert. Als Röntgenquelle dient bei Laborgeräten üblicherweise eine Röntgenröhre. Hier werden über eine Glühkathode Elektronen erzeugt und durch eine Hochspannung auf eine Metallanode, das sogenannte Target, beschleunigt. Beim Auftreffen auf dieses Target wird Röntgenstrahlung als Bremsstrahlung emittiert. Hierbei kann auch das Anodenmaterial zur Röntgenfluoreszenz angeregt werden, so dass das Spektrum der emittierten Röntgenstrahlung neben der angelegten Spannung auch durch die Wahl des Anodenmaterials bestimmt wird. Als Targetmaterial werden Metalle wie Mo, Rh, Ag und W mit hohen Konversationsraten - bezogen auf die Erzeugung von emittierter Röntgenstrahlung aus einfallender Elektronenstrahlung - verwendet. Zudem muss die emittierte Strahlung eine für die Anregung der Analytelemente adäquate Energie besitzen.

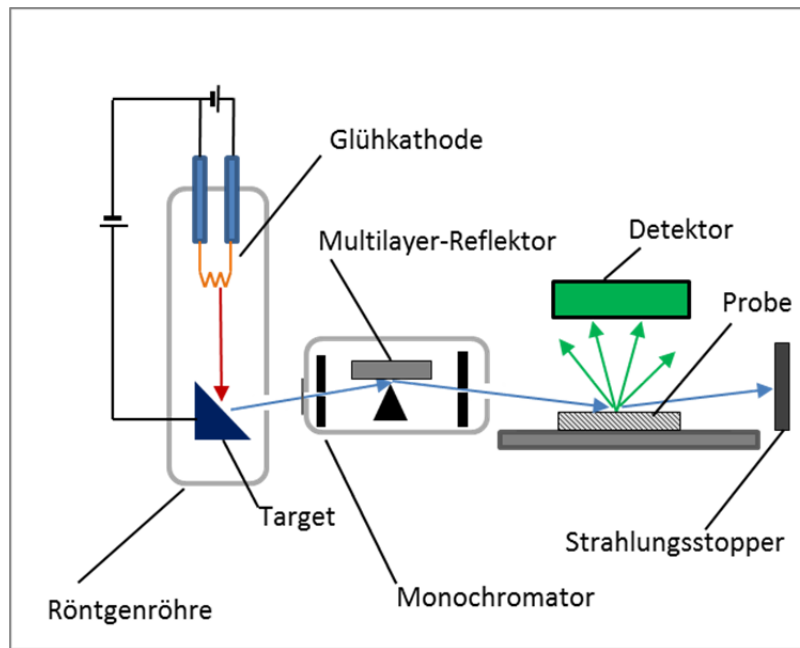


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines TRFA-Instruments.

Die erzeugte Strahlung passiert nun eine Metallfolie, die als Filter für langwellige Strahlungskomponenten wirkt. Im Monochromator wird der Strahl über eine Blende auf einen Multilayer-Reflektor gelenkt. Dieses mehrschichtige Material kann z.B. aus ca. 100 alternierenden Schichten aus Nickel und Kohlenstoff mit Schichtdicken von jeweils ca. 2,88 nm bestehen.²⁸ Die einfallende Röntgenstrahlung dringt in dieses Material ein und kann an jedem Übergang zwischen 2 Schichten reflektiert werden. Wie in einem optischen Gitter kommt es zur Ausbildung wellenlängenabhängiger Beugungsmuster. Zur Anregung der Probe gelangt über den Austrittsspalt Röntgenstrahlung mit ausgewählter Wellenlänge - z.B. die K_{α} -Linie des entsprechenden Targetmaterials oder ein kleiner Ausschnitt aus dem Spektrum der Bremsstrahlung – in den Probenraum und trifft unter Totalreflektionsbedingungen auf den Probenträger. Durch den flachen Einfallswinkel ist die angeregte Fläche auf dem Probenträger deutlich größer als die des Strahlquerschnitts: ein einfallender primärer Strahl mit einem Strahlquerschnitt von $7 \times 0,1 \text{ mm}^2$ wird bei einem Einfallswinkel von $0,1^{\circ}$ auf eine Fläche von ca. $7 \times 57 \text{ mm}^2$ projiziert. Bei diesem geringen Winkel führen Unebenheiten bzw. Rauigkeiten der Probe, bedingt durch daraus resultierende verstärkte Streuung und Fluoreszenz aus der Trägermatrix, zu einer Erhöhung des spektralen Untergrunds und des hiermit eng verbundenen absoluten Signalrauschens. Hierdurch sinkt das Signal-zu-Rausch-Verhältnis bzw. das Nachweisvermögens. Um dies zu vermeiden, werden sehr ebene bzw. hoch polierte Materialien wie Quarz, Silizium, Saphirglas, Polymethylmethacrylat oder Glaskohlenstoff als Probenträger verwendet. Alle aufgezählten Materialien bestehen aus Elementen der ersten beiden Perioden und zeichnen sich daher durch eine besonders langwellige eigene

Röntgenfluoreszenz aus (<1.8 keV). Diese kann durch eine Folie vor dem Detektor zu einem hohen Maß abgeschirmt werden und liefert im Bereich der typischen Analyten keine Interferenz. In geringem Abstand (z.B. 2,7 mm) über der Probe ist der Detektor angebracht,²⁹ so dass dieser von einem Großteil der emittierten Strahlung getroffen wird.

RFA-Spektren lassen sich über wellenlängendispersive Monochromatoren in Kombination mit Röntgenstrahlungsdetektoren oder direkt über energiedispersive Detektoren aufnehmen. Bei der wellenlängendispersiven Detektion ist in der Regel eine höhere wellenlängenbezogene Auflösung möglich als bei dem Direkteinsatz eines energiedispersiven Detektors, jedoch lässt sich im Monochromator ein Intensitätsverlust der zu detektierenden Röntgenstrahlung nicht vollständig vermeiden. Besitzen beide Detektoren ein vergleichbar empfindliches Responseverhalten, ist die Gesamtempfindlichkeit für die wellenlängendispersive Detektion somit geringer als für die energiedispersive. Darüber hinaus ist bei Verwendung wellenlängendispersiven Detektoren nur eine sequentielle Spektrenaufnahme möglich, während mit energiedispersiven Detektoren simultane Multielementanalysen, wie sie im Rahmen dieser Arbeit zur Anwendung kommen, durchgeführt werden können. Während in den Anfängen der RFA nur Li-dotierte Halbleiterdetektoren zur Verfügung standen, die permanente Kühlung durch flüssigen Stickstoff und damit auch viel Platz benötigten, stehen heute sehr kompakte Silizium-Drift Detektoren zur Verfügung, für die bereits durch Peltier-Elemente eine ausreichende Kühlung erreicht werden kann.³⁰ Das Detektionsprinzip hat sich jedoch nicht grundlegend geändert: Der Detektor besteht aus leitfähigen positiv dotierten (p^+) Bereichen, einem negativ (n) dotierten Bereich sowie einer Detektionsanode. Durch Anlegen einer Spannung werden vom n -dotierten Bereich Elektronen zur Anode verschoben, was zu einer Elektronenverarmung an der Grenze zwischen n/p^+ -Bereich führt. Treffen nun Röntgenquanten auf diese Grenze, regen sie den Übergang von gebundenen Elektronen aus dem n -Bereich in den p^+ -Bereich an, und hinterlassen positive Ionen. Dieser Vorgang wird als Bildung von Elektron-Loch-Paaren bezeichnet. Über Ladungsverschiebung driften die Elektronen zur Anode und die Löcher verschieben sich zur Kathode. Aus diesem Prozess resultieren messbare elektrische Pulse an der Anode. Da ein Röntgenquant in Abhängigkeit von seiner Energie mehrere Elektron-Loch-Paare erzeugen kann, lässt sich aus der Amplitude die Energie bzw. Wellenlänge bestimmen. Die Intensität der eintreffenden Strahlung wirkt sich hierbei direkt auf die Frequenz der auftretenden Pulse bzw. die Anzahl der detektierten Ereignisse aus. Die Aufzeichnung eines Fluoreszenzspektrums erfolgt über einen Analog-Digital-Konverter, der die Pulse in Abhängigkeit der Amplitude verschiedenen Kanälen zuordnet und die Anzahl der detektierten Ereignisse je Kanal aufsummiert.

III.2.2. Kalibriertechniken in der TRFA

Während bei der RFA aufgrund der starken Matrixeffekte routinemäßig mit matrixangepassten Standards kalibriert werden muss, und darüber hinaus die Verwendung von Algorithmen zur Kompensierung bei Schwankungen der Matrixzusammensetzungen empfohlen wird,³¹ sind solche Effekte in der TRFA oft vernachlässigbar. Durch die geringen Schichtdicken des angeregten und damit relevanten Probenvolumens können zumeist matrixunabhängige Kalibrierfunktionen in Form von Ursprungsgeraden aufgenommen werden.³² Das Verhältnis dieser Kalibrierfunktionen ist von der Geometrie und Art der Anregung abhängig. Ohne grundlegende Änderung der Geometrie ist es anerkannte Praxis, die relativen Empfindlichkeitsfaktoren einmalig zu bestimmen.^{32,33} Dies ermöglicht beim Bezug auf einen internen Standard oder ein Element, dessen Konzentration in der Probe bekannt ist, eine „quasi“ kalibrierfreie Analyse. Diese Kalibrierfaktoren werden meist vom Gerätehersteller in der Auswertungssoftware implementiert.

Während es in der Halbleiterindustrie aufgrund der Material- und Oberflächenbeschaffenheit möglich ist, Waver direkt und zerstörungsfrei auf Verunreinigungen zu untersuchen,³⁴ muss die Probe für den Großteil der Anwendungen auf einen polierten Probenträger (Vergleich Kapitel III.2.1) aufgetragen werden. Trotz dieser Einschränkung wird in der Literatur einer Verwendung der TRFA für verschiedenste Proben und eine Vielzahl von Probenvorbereitungsschritten beschrieben. Eine breite Zusammenstellung dieser Arbeiten findet sich beispielsweise in den Übersichtsartikeln von Wobrauchscek³⁵ und Del La Calle et al.³⁶ Flüssige Proben, die sich eintrocknen lassen, werden meist mit μL -Pipetten direkt auf die Träger dosiert. Da sich Flüssigkeiten sehr einfach dosieren lassen, werden feste Proben häufig gelöst oder aufgeschlossen. Daneben ist es auch möglich, die Probe als sogenannten Slurry, einer aufgeschlammten Suspension, oder mit Hilfe direkter Immobilisierung - z.B. von Pulverproben oder Dünnschnitten – auf die Träger aufzutragen. Bei den meisten dieser Probenvorbereitungstechniken ist es schwierig, die angeregte Probenmenge zu bestimmen, da die Form der eingetrockneten Rückstände durch die meist manuelle Probenvorbereitung in Verbindung mit den häufig benötigten Trocknungsschritten starken Schwankungen unterliegt. Zur Erhöhung der Reproduzierbarkeit beim Eintrocknen wässriger Lösungen und der Unterbindung des unkontrollierten Zerlaufens des Tropfens auf der Oberfläche werden hydrophile Träger üblicherweise mit alkoholischen Silikonlösungen hydrophobisiert. Weitere Einschränkungen bei der Anregung werden üblicherweise mit Hilfe eines zur Probe zugesetzten internen Standards (z.B. Ga, Y, Co) kompensiert.

III.3. Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie

III.3.1. Allgemeiner Aufbau eines ICP-MS

In einem Massenspektrometer werden die Analyten ionisiert und deren Masse bzw. Massen-zu-Ladungsverhältnisse bestimmt. Ein Massenspektrometer besteht im Allgemeinen aus einem Probeneinlasssystem gefolgt von einer Ionenquelle, einem Massenfilter und einem Detektor. Da ein Hochvakuum Voraussetzung für die Funktion von Massenfilter und Detektor ist, findet im Probeneinlasssystem oder bereits in der Ionenquelle ein Druckübergang statt.

Die Grundlagen der Massenspektrometrie wurden bereits 1912 von Sir J.J. Thomson beschrieben.³⁷ In seinen Arbeiten diente eine Gasentladungsröhre als Ionenquelle, für eine Analyse musste der Analyt somit gasförmig in diese Entladungsröhre überführt werden. Über die Kühlung mit flüssiger Luft wurde im Spektrometer ein Unterdruck erzeugt. Das beschriebene Instrument verwendete zur Ablenkung der gebildeten Ionen ein magnetisches und ein elektrisches Feld. Die Detektion der Ionen erfolgte über Fotoplatten. Große Geschwindigkeitsunterschiede der Ionen und die Anwesenheit von mehrfach-geladenen Teilchen sowie der Verlust von kinetischer Energie und elektrischer Ladung durch Kollisionen mit dem Restgas führten zum Erhalt parabolischer Banden. Anhand der Lage und Form dieser Banden konnte das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis der korrespondierenden Ionen ermittelt und eine Unterscheidung zwischen atomaren und molekularen sowie einzel- und mehrfachgeladenen Ionen getroffen werden. So konnten bereits erste Hinweise auf die Existenz des Isotops ^{22}Ne neben ^{20}Ne sowie ^3T erhalten werden. Moderne Sektorfeld-Massenspektrometer, wie das im Rahmen dieser Arbeit verwendete Element 2 (Thermo Scientific), basieren auf den in dieser Arbeit beschriebenen physikalischen Wirkungen und Erkenntnissen (Vergleich Kapitel III.3.5.1).

Die Massenspektrometrie hat sich für verschiedenste Einsatzmöglichkeiten mit unterschiedlichen Probenezuführungssystemen, Ionenquellen und Massenanalysatoren stark differenziert. Das Einsatzspektrum reicht von der Analyse einzelner atomarer Ionen bis zu geladenen Proteinen oder Proteinfragmenten mit Massen von mehreren hundert Kilodalton. Hierbei lassen sich, abhängig vom instrumentellen Aufbau, neben einer Quantifizierung der Analytkonzentration auch Strukturinformationen ableiten.

Für die quantitative Elementmassenspektrometrie hat sich hierbei die Verwendung eines über Induktion erzeugten Argonplasmas (ICP - inductively coupled plasma) als Ionenquelle etabliert. In diesem Plasma werden Temperaturen bis ca. 10000 K erreicht, so dass bei geeignetem Probeneintrag eine Verdampfung und Atomisierung der eingetragenen Substanzen erfolgt, an die sich die Ionisierung der einzelnen Atome anschließen kann. Aufgrund seiner hohen Temperatur und Elektronendichte ist das induktiv gekoppelte Plasma in der Atomspektrometrie eine sehr verbreitete

Anregungsquelle für die optische Emissionsspektrometrie (OES) und die Massenspektrometrie (MS). In einem ICP-MS werden die im Plasma entstehenden Ionen über ein sogenanntes Interface in ein Hochvakuum extrahiert und zu einem Ionenstrahl fokussiert. Dieser Ionenstrahl wird im nachgeschalteten Massenanalysator abhängig vom Massen-zu-Ladungsverhältnis der einzelnen Ionen auf räumlich oder zeitlich unterscheidbare Flugbahnen aufgeteilt, wobei anschließend die Intensität der einzelnen Ionenströme detektiert wird.

Die hohe Empfindlichkeit, das hohe Nachweisvermögen und die Robustheit der ICP-OES und ICP-MS führten beispielweise dazu, dass aktuell diese beiden Analysetechniken als instrumentelle Methoden für die Bestimmung von Metallverunreinigungen in der amerikanischen und europäischen Pharmakopöe verankert werden.^{38,39} Bei der Analyse des Absatzmarktes für Instrumente zur Elementspurenanalyse ist in den vergangenen Jahren ein Rückgang des Absatzes von Geräten für AAS und eine Stagnation für ICP-OES zu beobachten, während der Markt für die ICP-MS Geräte weiter wächst.⁴⁰ Es ist daher zu erwarten, dass die ICP-MS ihre Bedeutung als nahezu universelle Methode für die anorganische Elementspurenanalytik weiter ausbaut.

III.3.2. Das induktiv gekoppelte Plasma

Ein Plasma ist ein Zustand, der aus einem Gas heraus durch eine Ladungstrennung entsteht, so dass das Vorliegen freier Ionen und freier Elektronen ein wesentliches Merkmal des Plasmazustands ist. Da diese Ladungstrennung ein instabiler Zustand ist, muss für eine dauerhafte Aufrechterhaltung eines Plasmazustands ein kontinuierlicher Energieeintrag erfolgen. Der Plasmazustand kann unter anderem z.B. durch Strahlungseintrag von Lasern oder ionisierender Strahlung, durch magnetische Induktion, thermisch oder auf chemischen Weg erzeugt werden. In diesem Kapitel steht die Plasmaerzeugung durch Induktion mit Hilfe eines elektromagnetischen Wechselfeld im Mittelpunkt.

Auf Grundlage des induktiv gekoppelten Plasmas wurde in der analytischen Chemie eine bei Atmosphärendruck betriebene, flammenähnliche Anregungsquelle für die optische Emissionsspektrometrie sowie die Massenspektrometrie etabliert. Der grundlegende Aufbau dieser Anregungsquelle wurde von Greenfield⁴¹ und Fassel⁴² entwickelt und hat sich seither nicht fundamental geändert. Das Gas aus dem das Plasma erzeugt wird, und der Gasstrom, über das die Probenzuführung erfolgt, werden in einer sogenannten Plasmafackel zusammengeführt. Die Fackel ist von einer Induktionsspule umgeben, an welcher durch einen Hochfrequenzgenerator eine elektrische Wechselspannung angelegt wird. Das elektrische Feld induziert im Inneren der Fackel ein oszillierendes magnetisches Feld, welches dort wiederum mit elektrisch geladenen Teilchen wechselwirken kann. Damit sich in diesem Feld ein Plasma ausbilden kann, ist eine initiierende Ladungstrennung, typischerweise durch Funkenentladung, notwendig, bei der freie Elektronen und

Kationen erzeugt werden. Nach dieser Zündung werden vor allem die leichten und daher beweglichen Elektronen im elektrischen Wechselfelds beschleunigt, nehmen dabei Energie auf und stoßen mit den Gasteilchen zusammen. Die hierbei auf die Gasteilchen übertragene Energie wird unter anderem in thermische Energie umgewandelt, in Form von Strahlung emittiert, führt zur Ionisierung und damit zur Bildung neuer Elektronen. Infolge dieser Prozesse stellen sich lokale Gleichgewichte zwischen Elektronenfreisetzung und Rekombination sowie lokale Temperaturgleichgewichte ein und ein stabiles Plasma wird gebildet. Chemische und physikalische Gleichgewichte über das gesamte Plasma stellen sich aber nicht ein.⁴³ Zu den wichtigsten Parametern, die ein Plasma charakterisieren, gehören somit die Temperatur und die Elektronendichte. Die Tatsache, dass sich im Plasma kein stabiler thermodynamischer Gleichgewichtszustand ausbildet, führt allerdings dazu, dass das sich im Plasma auch kein Temperaturgleichgewicht ausbildet, und das Plasma somit mit verschiedenen Temperaturen beschrieben werden muss, deren Interaktion über lokale Gleichgewichtseinstellungen erfolgen kann. Die Anregungstemperatur T^* beschreibt den Besetzungsgrad der verschiedenen Energiezustände und kann über die Boltzmann Verteilung eines Atoms im Grundzustand N_0 und angeregten Zustand N^* , den zugehörigen Entartungsgraden g_0 und g^* , sowie der Energiedifferenz ΔE zwischen Grund- und angeregtem Zustand und der Boltzmann-Konstante k_B berechnet werden:⁴⁴

$$\frac{N^*}{N_0} = \frac{g^*}{g_0} \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T^*}\right) \quad \text{Gleichung 17}$$

Die Bestimmung kann mit Hilfe der Intensitäten geeigneter zugehöriger Linienpaare einer emittierenden Spezies erfolgen.

Die Elektronentemperatur T_e ist über die Maxwell-Boltzmann-Verteilung aus der kinetischen Energie der Elektronen E_e bzw. deren Masse m_e und Geschwindigkeit v_e zugänglich:⁴⁴

$$E_e = \frac{m_e v_e^2}{2} = \frac{3}{2} k_B T_e \quad \text{Gleichung 18}$$

Analog zu Gleichung 18 lässt sich auch aus der kinetische Gastemperatur T_g die kinetischen Energie der Gasteilchen E_g bzw. deren Masse m_g und Geschwindigkeit v_g berechnen.⁴⁴ Eine Bestimmung ist

z.B. theoretisch aus der Linienbreite möglich, wird jedoch durch die Überlagerung von Dopplerverbreiterung und Stoßverbreiterung, die sich nur schwer separat bestimmen lassen, stark erschwert. Alternativ ist eine Berechnung über das Wien'sche Verschiebungsgesetz aus der Wellenlänge am Maximum des Hintergrundkontinuums λ_{max} möglich:

$$T_g = \frac{2,9 \cdot 10^6 \text{ nm K}}{\lambda_{max}} \quad \text{Gleichung 19}$$

Der Zusammenhang aus Ionisationstemperatur T_i , Elektronendichte n_e und der Besetzung der verschiedenen Ionisationsstufen k und $k+1$ mit den zugehörigen Teilchendichten n_k und n_{k+1} wird durch die Saha-Gleichung beschrieben. Z ist hierbei die jeweilige Zustandssumme aller möglichen Energiezustände bei T_i , χ der Energieunterschied zwischen den Ionisationsenergien von k und $k+1$ sowie $\Delta\chi$ eine Korrekturgröße zur Berücksichtigung störender Teilchendichte im Plasma:⁴⁴

$$\frac{n_e n_{k+1}}{n_k} = 2 \frac{Z_{k+1}}{Z_k} \left(\frac{\sqrt[3]{2 \pi m_e k T_i}}{h^3} \right) \exp\left(\frac{\chi - \Delta\chi}{k_B T_i}\right) \quad \text{Gleichung 20}$$

Daneben können sich auch noch andere Temperaturen wie Vibrations- oder Rotationstemperaturen aus spektrometrischen Daten bestimmen lassen.

Da die verschiedenen Temperaturen lokal miteinander interagieren, kann z.B. für das lokale Ionisations-/Rekombinationsgleichgewicht für die Einfachionisierung (Formel 1) eines Teilchens M der Ionisationsgrad $\frac{[M^+]}{[M]}$ näherungsweise mit Hilfe des Ionisierungspotentials IP und der elektronischen Zustandssummen Q_0 und Q^+ in Abhängigkeit von T_i und T_e berechnet werden:⁴³:

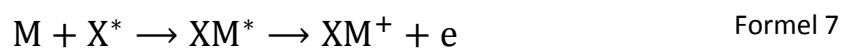
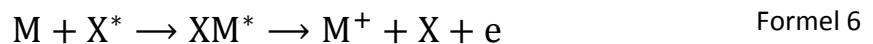


$$\frac{[M^+]}{[M]} = 2 \frac{2}{n_e} \left(\frac{2 \pi m_e k T_e}{h^2} \right)^{\frac{3}{2}} \frac{Q^+}{Q_0} \exp\left(-\frac{IP}{k_B T_i}\right) \quad \text{Gleichung 21}$$

Neben den zuvor diskutierten thermischen Vorgängen können für die Anregung (M^*) bzw. Ionisation (M^+) eines in ein ICP eingetragenen Analyten M auch stoßbasierte oder chemische Prozesse relevant sein. Zu den relevanten Prozessen gehören Stöße mit Elektronen (Formel 2 & Formel 3), sowie Stöße mit im Plasma vorliegenden angeregten Teilchen (X^*) (Formel 4) oder Ionen (X^+) (Formel 5).



Darüber hinaus können über den Mechanismus der Penning-Ionisierung Stöße mit angeregte Teilchen, deren Anregungsenergie die Ionisationsenergie des Analyten übersteigt, den Analyten ionisieren (Formel 6) oder zu einer ionisierten Verbindung beider Teilchen führen (Formel 7).



Zudem können Teilchen aus einem angeregten Zustand, welcher auch angeregte ionische Zustände beinhaltet, Energie in Form von Strahlung emittiert. Es ist auch die Bildung von metastabilen Zuständen möglich, die wiederum z.B. durch weitere äußere Einflüsse oder spontan nach Erreichen der statistisch verteilten Lebensdauer verfallen können. So wird im ICP ein Teil der in das Plasma eingetragenen Energie auch in metastabile Zustände des Argons gebunden. Neben der Aufrechterhaltung der Entladung können Ionen durch Rekombination mit Elektronen in einen ungeladen aber zumeist angeregten Zustand übergehen und dabei ebenfalls Strahlung emittieren. Bei hohen anliegenden elektrischen Potentialen kann es zu einer spontanen Ladungstrennung analog Formel 1 kommen, sowie zu einer räumlichen Trennung von Elektronen und Kationen im Plasma.

Außer der gewünschten Bildung von einfach positiv geladenen atomaren Ionen, kann es im ICP zur Bildung mehrfach geladener Ionen sowie polyatomarer Ionen kommen. Diese können bei der

Detektion mit bestimmten Analytionen interferieren, z.B. $^{150}\text{Sm}^{2+}$ mit $^{75}\text{As}^+$ (beides $m/z=75$) oder $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ mit $^{56}\text{Fe}^+$ (beides $m/z=56$). Die Bildung von mehrfach geladenen Ionen wird vor allem durch die Plasmatemperatur und der zugehörigen Ionisationsenergie des Analyten bestimmt und wird im Folgenden im Zusammenhang im Abschnitt *Gas zur Plasmaerzeugung* diskutiert. Zur Bildung von polyatomaren Ionen führen chemische Reaktionen, die im Plasma zwischen Ar, Analyt und Atomen aus der eingetragenen Matrix auftreten können z.B. mit Sauerstoff, der beim Eintrag wässriger Lösungen gebildet werden kann. Zusammenhänge und Auswirkungen werden in Kapitel III.3.7 diskutiert.

Gas zur Plasmaerzeugung

Da das analytisch genutzte induktiv gekoppelte Plasma als robuste Ionisationsquelle entwickelt und daher so optimiert wurde, dass die eingetragene Probe einen möglichst geringen Einfluss auf die Plasmabedingungen haben soll, dominiert typischerweise das der Plasmaerzeugung zugrundeliegende Gas die Plasmaeigenschaften. Kann in einer vereinfachten Betrachtung der Probeneintrag vernachlässigt werden, lässt sich näherungsweise ableiten, dass neben dem Energieeintrag vor allem das Ionisierungspotential des zugrunde liegenden Gases den Ionisationsgrad, die Elektronendichte und die Temperaturen vorgibt. Auch der Ladungsaustausch bei Kollision von Analytteilchen und Plasmagasen hängt dabei mit der Differenz der jeweiligen Ionisationspotentiale zusammen. Folglich hat das Ionisationspotential des Plasmagases auch einen entscheidenden Einfluss auf den Ionisationsgrad des eingetragenen Analyten.

Generell eignen sich viele Gase zur Erzeugung eines ICPs. Vor dem Hintergrund der analytischen Fragestellung in der OES und MS sowie technischer und teilweise wirtschaftlicher Überlegungen haben sich in der Praxis nur wenige Varianten durchgesetzt. Da die Probenezuführung zumeist über den Eintrag von flüssigem oder festem Aerosol erfolgt (Vergleich Kapitel III.3.3), muss vor der eigentlichen Anregung bzw. Ionisierung der interessierenden Elementatome eine Verdampfung und Atomisierung erfolgen. Dies erfolgt überwiegend thermisch, so dass eine möglichst hohe kinetische Gastemperatur im Inneren des Plasmas wünschenswert ist. Anhand dieser Überlegung und den zuvor diskutierten Zusammenhängen zwischen Ionisationspotential des Plasmagases, den Plasmatemperaturen und dem Ionisationsgrad des Analyten ist somit die Verwendung eines Plasmagases mit hohem Ionisationspotential von Interesse. Um Emissions- oder Massenspektren der Analyten aufnehmen zu können, die möglichst nicht von verschiedenen chemischen Reaktionen im Plasmaminneren von Gas und eingetragener Probe überlagert werden, z.B. Emissionen aus gebildeten angeregten Molekülen oder polyatomaren Ionen, liegt die Verwendung eines möglichst inerten Gases nahe. Wenn das Plasma durch sehr hohe Ionisationspotentiale dominiert wird, z.B. bei

Mehrfachionisation des Plasmagases, kann es zur Störung der Massen- oder Emissionsspektren durch Überlagerung der einfach- und mehrfachionisierten Analytotope kommen. Anhand dieser Überlegungen lässt sich ableiten, dass vor allem Argon mit einem ersten Ionisationspotential (IP) von 15,76 eV für die Anwendung infrage kommt. Der Zugang zu Argon ist über die fraktionierte Destillation von Luft vergleichsweise preiswert gegeben. Bis auf Fluor (1. IP 17,42) Neon (1. IP: 21,56 eV) und He (1. IP 24,49) besitzen alle übrigen stabilen Elemente niedrigere Ionisationspotentiale und können daher zumindest teilweise ionisiert werden. Die Elemente Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff lassen sich allerdings aufgrund der geringen Differenz ihrer Ionisationspotentiale zu dem des Ar nur minimal ionisieren. Da diese Elemente und Kohlenstoff zudem aus der umgebenden Luft ins Plasma gelangen oder beim Probeneintrag aktiv eingetragen werden können, z.B. in Form von Wasser, der Probenmatrix oder anderen Lösungsmitteln, werden sie in der Praxis zusammen mit Chlor, den Edelmetallen Krypton und Xenon zu den nicht mit einem Argon-basierten ICP-MS zugänglichen Elementen gezählt.²¹ Für die meisten Metalle hingegen, also mehr als 50 Elemente, lassen sich in einem Ar-ICP Ionisationsgrade von ca. 90-100 % berechnen.⁴⁵ Bei Elementen mit hohen Ionisationspotentialen von ca. 8-11 eV, wie vor allem bei den übrigen Halogenen und Nichtmetallen, sowie den Halbmetallen, Quecksilber oder einigen Edelmetallen, lassen sich im Ar-ICP eingeschränktere Ionisationsgrade, teilweise nur 14-80 % berechnen.⁴⁵ Im Gegenzug zeigen nur wenige Elemente eine ausgeprägte Tendenz zur Ausbildung von doppelt geladenen Ionen. Zu diesen Elementen gehören vor allem Calcium, Strontium, Barium sowie die Lanthanoide,⁴⁵ mit jeweils einem zweiten Ionisationspotential von ca. 10-14 eV.

Für die Bestimmung der schwer zu ionisierenden Elemente kann durch eine Zumischung von anderen Gasen, vor allem von Helium, Wasserstoff oder Stickstoff eine deutliche Erhöhung der verschiedenen Plasmatemperaturen, sowie der Elektronendichte erreicht werden und hierdurch der Ionisierungsgrad steigen.^{46,47} Häufig erfolgt eine solche Zumischung zusammen mit der Probenzuführung. Da diese Gase auch eine höhere Wärmeleitfähigkeit besitzen, kann deren Zumischung auch zu einer schnelleren Verdampfung und Atomisierung, z.B. beim Eintrag von festen Aerosol durch Laserablation (Vergleich Kapitel III.4) beitragen.⁴⁷ Beim Eintrag von größeren Mengen kohlenstoffhaltiger Lösungsmittel kann der Zusatz von Sauerstoff ein Abscheiden von Ruß im Interface und Massenspektrometer verhindern.⁵⁴ Durch die Zumischung reaktiver Gase kann die Bildung von polyatomaren Ionen mit Matrixionen z.B. $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$, aber vor allem auch mit Argon, z.B. $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ oder $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$ (Vergleich Kapitel III.3.7), allerdings stark erhöht werden. Die Verwendung eines reinen Helium ICP-MS ermöglicht hingegen die Aufnahme von Massenspektren, die weitestgehend ungestört von Argon-basierten polyatomaren Ionen sind. Durch die hohe Wärmeleitfähigkeit von Helium werden He-ICPs überwiegend mit geringen Gastemperaturen und

damit auch Elektronendichten betrieben, um Fackel und Interface nicht thermisch zu überlasten.⁴⁷ Zudem haben auch die höheren Gaskosten für Helium im Vergleich mit Argon dazu beigetragen, dass sich das Ar-ICP bei kommerziell vertriebenen Geräten als Standard etabliert hat.

Energieeintrag zur Plasmaerzeugung

Der Energieeintrag zur Aufrechterhaltung des Plasmazustands erfolgt durch magnetische Induktion aus einem Hochfrequenzfeld über eine Spule in das Plasma. In diesem magnetischen Feld können nach Zünden eines initialen Plasmas, z.B. durch Funkenentladung, vorliegende Elektronen und Kationen beschleunigt werden und hierbei Energie aufnehmen. Gemäß der zu Beginn dieses Kapitels im Detail beschriebene Prozesse (Vergleich Formel 1 bis Formel 7), entstehen zunächst vor allem durch Stöße der beschleunigten Elektronen mit den Gasteilchen weitere Elektronen und Kationen, die wiederum eine Beschleunigung erfahren. Infolge der Stöße wird die induzierte, gerichtete Bewegung in thermische Bewegung der Teilchen umgewandelt, so dass es zu einer starken Erhitzung des Plasmas kommt. In Abhängigkeit von der eingetragenen Energie kann es so bereits zur nach dem Zünden zur Ausbildung eines kontinuierlichen Plasmas kommen.

Zum Betrieb eines ICPs eignen sich Frequenzen zwischen 5-50 MHz.⁴⁸ Der Einsatz dieser Frequenzen unterliegt allerdings vor dem Hintergrund der Telekommunikation und des Rundfunks gesetzlichen Regelungen, so dass für industrielle, wissenschaftliche und medizinische Anwendungen nur wenige Frequenzen in diesem Bereich genutzt werden können.⁴⁹ In der Praxis werden daher fast ausschließlich Frequenzen im Bereich von 26,96 - 27,28 MHz und 40,66 - 40,70 MHz verwendet.^{48,49} Eine höhere Anregungsfrequenz kann dazu führen, dass die Elektronen überwiegend an der Außenfläche des Plasmas fließen. Dieser auch als „skin-effect“ bezeichnete Vorgang führt dazu, dass im Inneren des Plasmas bei hoher Anregungsfrequenz tendenziell eine geringere Temperatur und Elektronendichte vorliegt als bei einer niedrigeren Frequenz. Eine systematische Untersuchung ist allerdings nur an wenigen Prototyp-ICP Geräten möglich, so dass im Rahmen eines Literaturvergleichs neben verschiedenen Anregungsfrequenzen häufig auch ein unterschiedlicher Geräteaufbau berücksichtigt werden muss. Die Auswirkungen eines Frequenzwechsels von ca. 27 MHz auf ca. 41 MHz haben zudem nur einen sehr geringen Einfluss auf die Nachweisgrenzen einzelner Elemente in der ICP-MS,^{50,51} so dass für die Anwendung kommerzieller ICP-MS Systeme von einer geringen praktischen Bedeutung dieses Effekts ausgegangen werden kann.⁵²

Grundsätzlich liegen mit der Induktionsspule und dem Plasma bereits wesentliche Teile eines elektrischen Resonators vor. Zusammen mit mindestens einer Kapazität und dem Hochfrequenzgenerator ergibt sich ein Gesamtschwingkreis. Üblicherweise unterteilt sich der Generator noch in eine Verstärkerstufe und einen Anregungsschwingkreis. Da die Impedanz der

Induktionsspule auch von den Plasmaeigenschaften (z.B. Leitfähigkeit oder Dichte) abhängen kann, die sich allerdings vor allem beim Zünden des Plasmas oder beim Eintrag verschiedener Probenmatrices auch schlagartig ändern können, muss sich auch der Gesamtschwingkreis in einem gewissen Rahmen an die Plasmaeigenschaften anpassen können. Eine Möglichkeit dies zu gewährleisten wird im sogenannten freilaufenden Generator umgesetzt. Freilaufende Generatoren werden üblicherweise von einem elektronischen Schwingkreis angetrieben, der meistens aus mindestens einer Spule und einer Kapazität besteht.⁴⁸ Die Leistung kann durch eine Verstärkerstufe erhöht werden, solange die Impedanz der Induktionsspule weiterhin eine Rückkopplung mit der Frequenz des Generators besitzt. Bei einem freilaufenden Generator kann sich damit die Anregungsfrequenz innerhalb einiger hundert KHz an die Plasmaeigenschaften anpassen. Eine technische Alternative ist die Verwendung eines Generators mit einer festen Anregungsfrequenz in Kombination mit einer variablen Kapazität, der sogenannten Matching Unit, im Resonatorschwingkreis. Feste Anregungsfrequenzen werden üblicherweise über einen piezoelektrischen Oszillator erzeugt, die in der Regel aber nur bei einer Eigenfrequenz von maximal 13,56 MHz betrieben werden können. Die Frequenzen 27,12 MHz und 40,68 MHz lassen sich aus dieser Grundfrequenz durch Frequenzverdopplung bzw. -verdreifachung erzeugen.⁴⁸ Sind Matching Unit und Resonator nicht abgestimmt, kann ein Teil der vorgesehenen Leistung nicht in das Plasma eingekoppelt werden. Dies hat einerseits Einfluss auf die Plasmabedingungen, andererseits kann auch der Generator Schaden durch diese sogenannte reflektierte Leistung erleiden. Bei zu hohen reflektierten Leistungen stoppen kommerzielle Instrumente daher häufig die Energieversorgung des Plasmas. Bei beiden Generatortypen werden in ein Argonplasma typischerweise Leistungen von 700-1600 W eingekoppelt. Eine Erhöhung der eingekoppelten Leistung führt zu höheren Temperaturen und Elektronendichten im Plasma. Hierdurch erhöht sich z.B. der Ionisationsgrad von Analyten mit hohem Ionisierungspotential. Da für die Verdampfung, Atomisierung und Ionisierung der eingetragenen Probe mehr Energie bereitgestellt wird, ist das Plasma zudem robuster gegenüber Änderungen der eingetragenen Probenmatrix. Bei niedrigen eingekoppelten Leistungen werden hingegen die Bildung von doppelt geladenen Ionen sowie die Bildung von polyatomaren Ionenspezies wie z.B. $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ oder $^{40}\text{Ar}_2^+$ minimiert.⁴³ Diese Aspekte werden in Kapitel III.3.7 weiterführend diskutiert.

Infolge der eingekoppelten elektrischen Leistung muss die Induktionsspule gekühlt werden. Da die Elektronen bei Hochfrequenzwechselfspannungen überwiegend an der Oberfläche des Leiters transportiert werden, besteht die Spule meist aus einer gewickelten Kupferkapillare, die zur Kühlung mit Wasser oder Gas durchströmt wird. Einige Hersteller beschichten ihre Spulen zur Erhöhung der Leitfähigkeit zusätzlich z.B. mit Silber. Damit die im Schwingkreis anliegende Energie einkoppeln und das Plasma zünden kann, ist eine erste Ionisierung im Gas notwendig. Diese wird durch einen Hochspannungs- oder Teslafunken erzeugt.

Ein weiterer Effekt, der in Zusammenhang mit der Plasmaerzeugung diskutiert werden muss, ist die Bildung von sekundären Entladungen. Diese können zwischen Plasma und Einlasssystem des Massenspektrometers auftreten, wenn sich durch die elektrischen Felder der Spule eine ausgeprägte Ladungstrennung zwischen Elektronen und Ionen im Plasma ausbilden kann. Grundlegenden Einfluss hat hierbei eine einseitige Erdung der Induktionsspule.⁵³ Die praktischen Auswirkungen dieses Effekts werden in Kapitel III.3.7 diskutiert. Eine Minimierung kann z.B. durch Optimierung der Gasströme und Hochfrequenzleistung erfolgen. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung eines geerdeten Metallblechs zur Abschirmung des elektrischen Felds zwischen Plasmaregion und Induktionsspule. Dieses sogenannte Schild (engl. shield) umschließt die Fackel bis auf einen kleinen Spalt, der induzierte Ringströme verhindert. Eine Zündung des Plasmas ist allerdings bei geerdetem Schild nicht möglich.⁵³

Plasmafackel

Typischerweise besteht die Fackel aus drei konzentrischen Quarzrohren (Abbildung 2). Durch diese Geometrie können drei verschiedene Gasströme zusammengeführt werden.

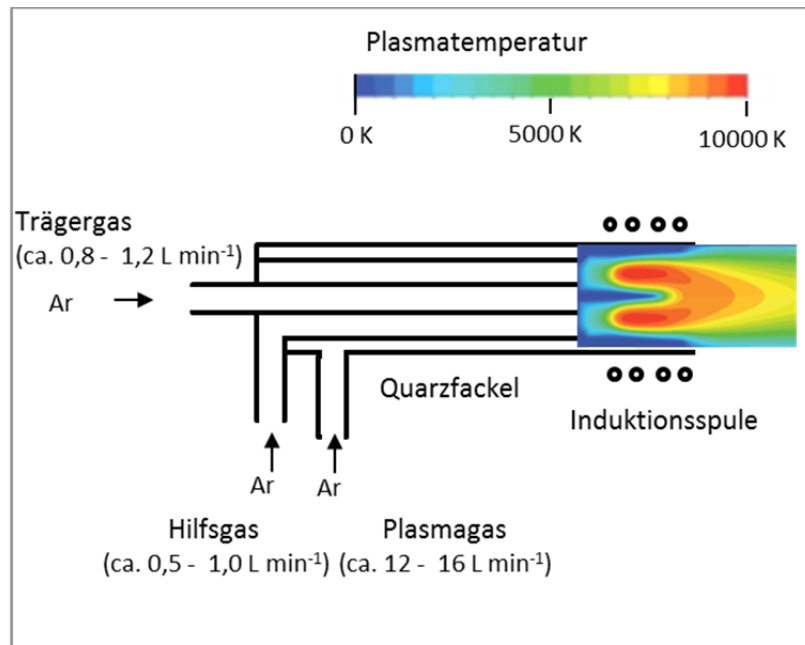


Abbildung 2: Schematischer Aufbau einer ICP-Anregungsquelle, simulierte Plasmatemperaturen, modifiziert nach Aghaei et al.⁵⁵

Der äußere Gasstrom wird üblicherweise als Plasmagas bezeichnet und dient überwiegend zur Kühlung der Quarzwand und schirmt das Plasma vor dem Eindringen der umgebenden Luft ab. Typische Gasflussraten liegen bei ca. 12-16 mL min⁻¹. Der mittlere Gasstrom wird als Hilfsgas bezeichnet und besitzt typische Gasflussraten von 0,5-1 L min⁻¹. Er drückt das Plasma vom zentralen Injektorrohr weg, verhindert damit ein Schmelzen der inneren Rohre und kann zur Verschiebung der Plasmaposition genutzt werden. Gleichzeitig dient das Hilfsgas zur Führung des Plasmagases. Der Probeneintrag (Vergleich Kapitel III.3.3) erfolgt mit dem Trägergas über das zentrierte Injektorrohr in das Zentrum des Plasmas. Diese Gasströme können als überwiegend laminar beschrieben werden.⁵⁵

Die Fackel ist so aufgebaut, dass das äußere Rohr am offenen Ende gegenüber den anderen beiden einige Zentimeter übersteht. Dieser vordere Raum wird von einer Spule umgeben, wo das Plasma entsteht (Abbildung 2). In diesem Innenraum erreicht das Plasma die höchsten kinetischen Gastemperaturen von ca. 4000-8000 K bzw. elektronische Temperaturen von 8000-10000 K.^{56,48} In dieser Zone nimmt die Viskosität des Plasmas stark zu und eingetragenes Gas erfährt infolge der hohen Temperaturen eine starke Expansion.⁵⁷ Um die Plasmaregion zu durchstoßen, muss ein über das Injektorrohr in das Plasma eingetragener Gasstrom den Expansionsdruck durch eine genügend

hohe Gasgeschwindigkeit überwinden.⁵⁷ Geschieht dies nicht, strömt der Gasstrom um die zentrale Plasmaregion herum und die hiermit eingetragene Probe kann nicht effektiv in Richtung Interface zum Massenspektrometer geleitet werden.⁵⁸

Ist die Gasgeschwindigkeit hoch genug, bildet sich dort ein zunächst deutlich kühlerer zentraler Kanal aus. Infolge des Wärmetransfers aus der umgebenden Plasmaregion erwärmt sich der eingetragene Gasstrom jedoch beim tieferen Eindringen in das Plasma. Eingetragener Analyt und Matrix erreichen daher erst hinter der Spule den Ort, an dem sie auf ihrem Weg durch das Plasma der höchsten Temperatur und höchsten Elektronendichte ausgesetzt sind. Je nach Art der eingetragenen Probe (Gas, festes oder flüssiges Aerosol) findet im zentralen Kanal ggf. zunächst eine Trocknung statt, an die sich die Verdampfung anschließt. In der heißen Region hinter der Spule kommt es nun zur Atomisierung, elektrischen Anregung und Ionisierung der einzelnen Isotope, so dass sich ca. 4-12 mm hinter der Spule eine Ionenwolke ausbildet.

Das ICP kann sowohl als Anregungsquelle für die OES als auch als Ionenquelle für die MS verwendet werden. Infolge der elektrischen Anregung von Atomen oder Ionen können Elektronenübergänge aus angeregten in energetisch niedrigere Zustände erfolgen, bei denen Photonen emittiert werden, die, bedingt durch die elektronische Struktur des Emitters eine elementspezifische Energie und somit Wellenlängen besitzen (Vergleich Kapitel III.1). Da die messbaren Intensitäten, abhängig von Element und beobachteter Wellenlänge, einen großen linearen Bereich über eine Analytkonzentration von einigen ng L^{-1} bis einigen mg L^{-1} aufweisen, hat sich das ICP in der instrumentellen Elementspurenanalytik als Anregungsquelle für die OES etabliert.

In der ICP-MS erfolgt die Extraktion der gebildeten Ionen in ein Hochvakuumssystem gefolgt von einer Trennung nach Masse-zu-Ladung-Verhältnis und anschließender Detektion. Mit dieser hochempfindlichen Technik ist eine quantitative Analyse im Ultraspurenbereich möglich. Limitierungen in der ICP-MS ergeben sich vor allem durch Matrixeffekte und Interferenzen (Vergleich Kapitel III.3.7).

III.3.3. Probeneinführung

Das induktiv gekoppelte Plasma ist eine vergleichsweise robuste Anregungs- und Ionenquelle, die den Eintrag von flüssigem oder festem Aerosol ermöglicht. Der Aufschluss von Analysesubstanzen in oxidierenden Säuremischungen gefolgt vom Eintrag der wässrigen Aufschlusslösungen als Aerosol in das Plasma zählt zu den am häufigsten angewendeten Wegen des Probeneintrags. Etabliert hat sich hierfür der Einsatz von pneumatischen Zerstäubern, bei der die wässrige Probe direkt mit dem Trägergasstrom zu einem Aerosol versprüht wird.⁵⁹ Die Flüssigkeit trifft dabei auf einen schnellen

Gasstrom und wird mitgerissen. Dieser Prozess wird durch den Venturi Effekt unterstützt: die Beschleunigung des Gases in der Düse führt zu einem Druckabfall, so dass der entstehende Unterdruck umgebende Flüssigkeit oder Gase aktiv in den Gasstrom zieht. Durch die hohe Strömungsgeschwindigkeit sowie das Auftreten von Turbulenzen reißen hierbei kleinste Tröpfchen von einem angesaugten Flüssigkeitsstrom ab. Abhängig vom Aufbau des Zerstäubers kann die Zufuhr der Flüssigkeit ggf. ohne weiteres Pumpen direkt an die Düse erfolgen. Selbstansaugende Zerstäuber, wie einige konzentrische Zerstäuber basieren auf diesem Prinzip. Auch einige Kniestock- bzw. Cross-Flow Zerstäuber können, abhängig von der geometrischen Anordnung der Probenzuführungskapillare im Trägergasstrom, selbstansaugend betrieben werden.^{60,61} Bei nicht selbstansaugenden Zerstäubertypen, zu denen z.B. der Babington-Zerstäuber oder der Parallelpfadzzerstäuber gehören, muss die Flüssigkeit aktiv bis an die Düse gepumpt werden (Abbildung 3).

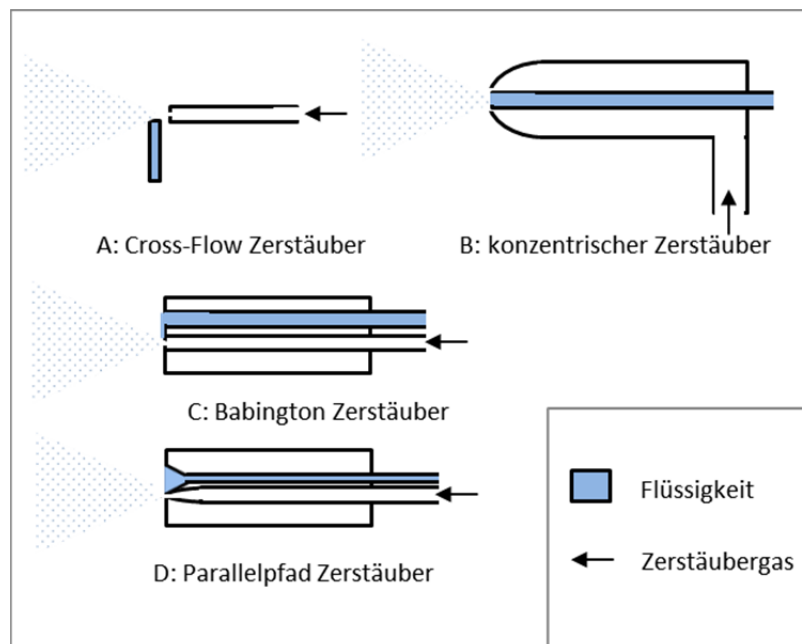


Abbildung 3: Schematischer Aufbau verschiedener Zerstäubertypen.

Die häufigste Verwendung finden konzentrische Zerstäuber bei denen die Probenlösung in einer Kapillare, die von dem gasführendem Gasrohr umgeben ist, an die Düse geführt wird. Die zerstäubte Flüssigkeitsmenge hängt stark von der Geometrie bzw. dem Modell ab. Beispielsweise benötigen verschiedene Meinhard Zerstäubertypen ca. $0,5 - 3 \text{ mL min}^{-1}$ Probenlösung.⁶² Aufgrund ihrer hohen Beliebtheit werden diese Zerstäuber in der Literatur häufig auch als konventionelle Zerstäuber bezeichnet.^{63,64} Für die Zerstäubung kleinerer Probemengen wurden zudem spezialisierte Mikroflusszerstäuber entwickelt, wie z.B. der Meinhard HEN (HEN - **high efficiency nebulizer**) oder verschiedene MicroMist™ Modelle von Glas Expansion. Durch eine effizientere Zerstäubung bei einem Flüssigkeitsverbrauch von $0,05 - 0,2 \text{ mL min}^{-1}$ können mit spezialisierten

Mikroflusszerstäubern vergleichbare Nachweisgrenzen erreicht werden wie beim Einsatz von konventionellen Zerstäubern.^{63,64} Für hochviskose Flüssigkeiten eignen sich die sogenannten Babington-Zerstäuber,⁶⁵ zu denen auch der V-Spalt Zerstäuber zählt.⁶⁶ Bei diesen läuft die Flüssigkeit als Film an einer Oberfläche herab, in der auch die Düse eingelassen ist und wird durch die Schwerkraft der Düse zugeführt. Da in miniaturisierten Kanälen zur Probenezuführung durch Kapillareffekte vergleichbare Gegendrucke wie bei Verwendung viskoser Flüssigkeiten vorliegen, liegt auch ein ähnliches Prinzip der Zerstäubung bei Parallelpfadzerstäubern zugrunde.^{64,67} Ein solcher Zerstäuber besteht aus zwei parallel liegenden Kapillaren. Die gasführende Kapillare verjüngt sich am Ende zu einer Düse. Die Kapillare, durch die die Flüssigkeit aktiv gepumpt wird, weitet sich auf. Die am Ende der Kapillare entstehende Oberfläche der Flüssigkeit liegt so nahe an der Düse, dass die Flüssigkeit angesaugt und zerstäubt wird. Je nach Modell können mit diesem Zerstäubertyp 0,0002 - 2,5 mL min⁻¹ Flüssigkeit zerstäubt werden. Auch Parallelpfadzerstäuber sind gut geeignet zur Zerstäubung von Lösungen mit erhöhter Salzfracht oder Viskosität.

Das primär gebildete Aerosol besitzt zumeist eine breite Tropfengrößenverteilung und enthält viele größere Tropfen. Zur Optimierung der Ionenausbeute im ICP-MS ist jedoch ein möglichst monodisperses Aerosol mit geringer Tropfengröße wünschenswert, da vor der Ionisierung die vorgelagerten Prozesse Verdampfung und Atomisierung erfolgen müssen. Beim Eintrag von flüssigen Proben findet die Verdampfung der Hauptmatrixkomponenten Wasser sowie der zugesetzten Säuren in der Regel bei deutlich niedrigeren Temperaturen statt als die Verdampfung der meist als gelöste Salze vorliegenden Analyten, so dass die Verdampfungsphase zusätzlich in Trocknung und Verdampfung der eigentlichen Analytkomponenten unterteilt wird. Kleine Tropfen werden in kürzerer Zeit getrocknet als große, daher werden sie auch nach kürzerer Zeit verdampft atomisiert und ionisiert. Da dieser zeitliche Ablauf beim Eindringen der Tropfen in das Plasma stattfindet, hat die Tropfengröße auch einen direkten Einfluss auf die räumliche Lage der Ionenwolke im Plasma. Bei einer sehr heterogenen Tropfengrößenverteilung findet die Ionisierung der Analyten somit an verschiedenen Orten im Plasma statt, so dass eine Optimierung des Messsignals z.B. auf maximale Intensität für verschieden Analyten, die mit dem gleichen Geräteparametern gemessen werden müssen, erschwert wird. Zudem führt der Eintrag größerer Tropfen zur lokalen Abkühlung des Plasmas in ihrer Umgebung, wodurch Signalfluktuationen bzw. Signal-Rauschen entstehen können.⁶⁸ Mit Hilfe von Sprühkammern lassen sich große Tropfen abtrennen, die Tropfengrößenverteilung vereinheitlichen und die Plasmabeladung minimieren. Unabhängig vom Sprühkammertyp wird in diesen die Richtung des Gasstroms geändert. Die kleineren Tröpfchen können den Stromlinien folgen, während die großen Tröpfchen aufgrund ihrer höheren Masse und der damit verbundenen Massenträgheit an der Sprühkammerwand impaktieren und in den Ablauf gelangen. Häufigste

Verwendung finden die sogenannten Scott- oder Double-Pass-Sprühkammern⁶⁹ und die Zyklonsprühkammern, daneben existieren auch Bautypen wie beispielsweise die Prallkugel-Sprühkammern (Abbildung 4).

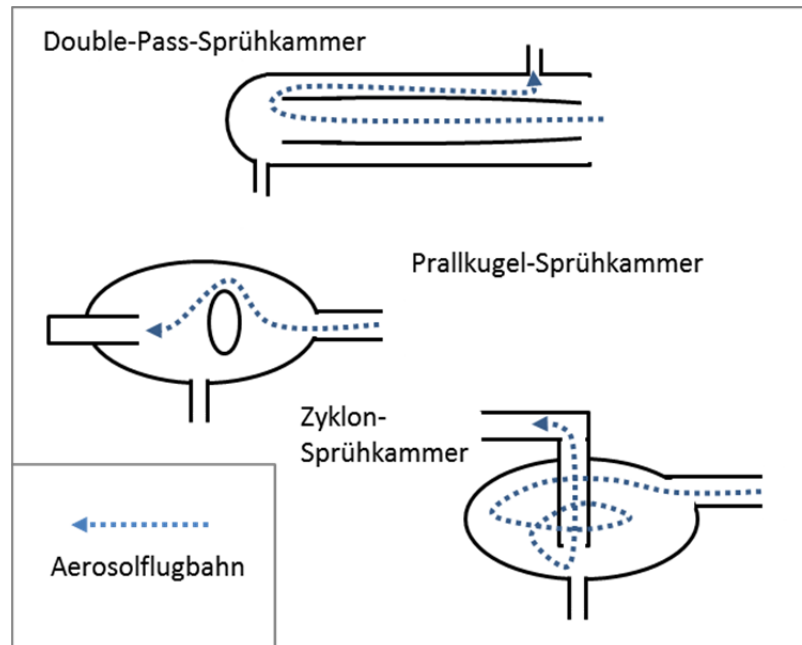


Abbildung 4: Schematischer Aufbau verschiedener Sprühkammertypen zum Eintrag flüssiger Proben mittels Zerstäuber in ein ICP.

Eine geeignete Kombination von Zerstäuber und Sprühkammer sowie optimierte Gasflussraten ist eine wichtige Voraussetzung für niedrige Nachweisgrenzen und hohe Signalstabilität. Ebenso lassen sich Matrixeffekte und Interferenzen (Vergleich Kapitel III.3.7) durch einen optimierten Probeneintrag minimieren. Diese Optimierung fand in der ICP-Analytik zumeist empirisch statt,^{70,71} wurde in der letzten Dekade jedoch verstärkt und durch die Möglichkeit der computergestützten Simulation basierend auf numerischer Strömungsmechanik erweitert.^{72,73}

Neben dem Eintrag von flüssigen Proben können gasförmige Analyten in geringen Mengen direkt mit dem Trägergas ins Plasma überführt werden, wie beispielsweise bei der Kopplung mit der Gaschromatographie.⁷⁴ Feststoffe können durch spezielle Behandlung wie der elektrothermischen Verdampfung^{75,76} oder Laserablation (detaillierte Beschreibung siehe Kapitel III.4.4 & III.4.5) ebenfalls in ein Aerosol überführt und in das Plasma eingebracht werden.

III.3.4. Interface und Ionenoptik

Die Extraktion der im Plasma gebildeten Ionen und deren Überführung von Atmosphärendruck in das Hochvakuum des Massenspektrometers erfolgt über das Interface. Üblicherweise geschieht die Extraktion über ein zweistufiges Lochblendensystem. Eine repräsentative Beprobung des Plasmas ist hierbei eine der wichtigsten Anforderungen an das Interface. Zudem muss sichergestellt werden, dass die einzelnen extrahierten Ionenspezies stabilisiert werden, also möglichst kein unbeabsichtigter Verlust an Ionen bis zum Erreichen des Detektors auftritt. Beim Eintritt in den Hochvakuumbereich werden die Ionen mit elektrischen Feldern, der sogenannten Ionenoptik, beschleunigt und zu einem Ionenstrahl gebündelt. Um eine anschließende Auftrennung des Ionenstrahls in die verschiedenen hierin vorliegenden Ionenspezies im Massenanalysator mit hoher Auflösung sowie eine hohe Transmission in Richtung Detektor gewährleisten zu können (Vergleich Kapitel III.3.5), ist in der Regel ein möglichst paralleler Ionenstrahl mit schmaler Geschwindigkeitsverteilung innerhalb der einzelnen Ionenspezies anzustreben.

Über die erste Blende, dem sogenannten Sampler, gelangen die Ionen aus dem Plasma zunächst in ein Vorvakuum (ca. 10-100 Pa). Zum Schutz vor den hohen Temperaturen im Inneren des Plasmas wird der Sampler in der Regel mit Wasser gekühlt. Um eine hohe chemische Resistenz zu gewährleisten besteht diese Lochblende meist aus Nickel oder Platin. Von Aghaei et al.⁵⁵ konnte durch Simulationen gezeigt werden, dass allein durch den Druckunterschied zwischen Plasma und Vorvakuum der Großteil des Trägergases und die mit ihm ins Plasma eingetragene Analyten durch den Sampler extrahiert werden (siehe Abbildung 5).

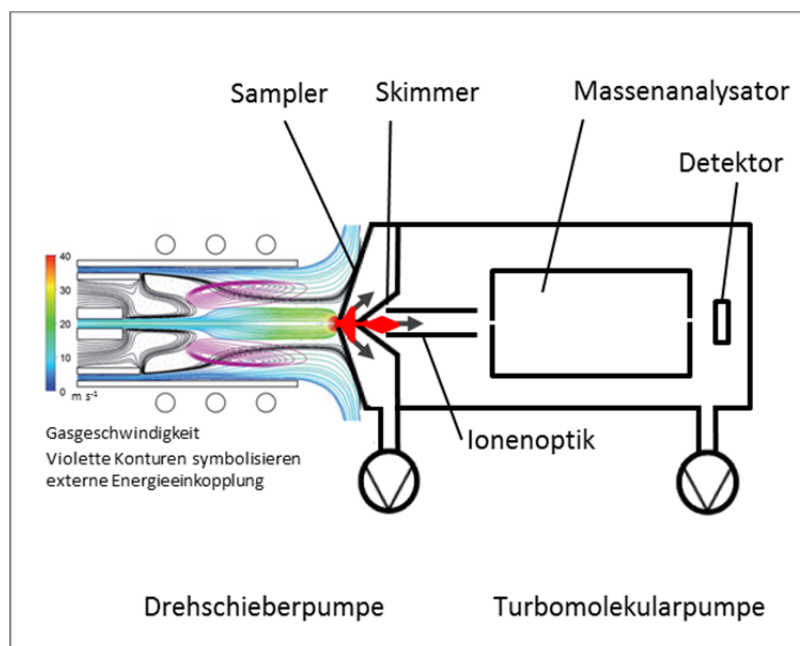


Abbildung 5: Schematischer Aufbau eines ICP-MS, simulierte Gasgeschwindigkeiten vor dem Sampler, modifiziert nach Aghaei et al.⁵⁵

Bei Übertritt in das Vorvakuum kommt es hinter dem Sampler infolge des Druckunterschieds zu einer schlagartigen Expansion des Gases und gleichzeitig zu einer Beschleunigung entlang des sich bildenden Druckgradienten und die Dichte bzw. Ionenkonzentration pro Raumsegment nimmt stark ab. Hierdurch wird die Möglichkeit zur Interaktion der extrahierten Teilchen stark reduziert. Hierbei bildet sich eine kegelförmige Expansionswolke aus. Gleichzeitig verlieren Teilchen durch den Joule-Thomson-Effekt einen Großteil ihrer ursprünglichen thermischen Bewegungsenergie. Aus Berechnungen zu freier, strahlenförmiger Expansion von Gasen müsste die kinetische Energie der Teilchen hierbei von 5000 K im ICP auf 100 K sinken.⁷⁷ Diese Überlegung deckt sich zunächst mit der Beobachtung, dass unmittelbar hinter dem Sampler keine Emissionen von angeregten Teilchen beobachtet werden können. Allerdings schließt sich an diese sogenannte „zone of silence“ eine als Mach-Disk oder Schockwelle bezeichnete Region an, in der Temperaturen von 2200 K ermittelt werden konnten.^{77,78} Als Ursache dieser Erwärmung werden Kollisionen, sowie Elektron-Ion-Rekombination während der schlagartigen Expansion diskutiert.^{79,80} In einer solchen Ionenwolke können sich aus verschiedenen Teilchenspezies polyatomare Ionen bilden, die sogenannte polyatomare Interferenzen hervorrufen.⁸¹⁻⁸³ Der Abstand x_m zwischen Sampler und Ausbildung dieser stehenden Schockwellen kann in Abhängigkeit der Sampleröffnung D_0 , des Außendrucks p_0 und des Drucks im Vorvakuum p_1 wie folgt berechnet werden:⁴³

$$x_m = 0,67 D_0 \left(\frac{p_0}{p_1} \right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Gleichung 22}$$

Konventionelle Interfaces sind daher so aufgebaut, dass die Ionen möglichst vor der Ausbildung dieser Schockwelle über eine zweite Lochblende in den Hochvakuumbereich ($< 0,1$ Pa) des Massenspektrometers extrahiert werden. Durch den geometrischen Aufbau entstammen die Teilchen, die diesem Extraktionsschritt folgen können einem schmalen Raumsegment der Expansionswolke hinter dem Skimmer und besitzen so eine relativ ähnliche kinetische Energie. Der Skimmer-Durchmesser ist mit 0,4 - 0,8 mm deutlich größer als die – auch als Debye-Länge bekannte – Reichweite der elektrostatischen Abstoßung von ca. $10^{-3} - 10^{-4}$ mm. Da hinter dem Sampler bereits eine deutliche Verdünnung des Ionenstrahls aufgetreten ist, finden elektronische Abstoßungsprozesse bei moderater Matrixbelastung z.B. der Analyse verdünnter wässriger Proben nur im geringen Ausmaß statt (Vergleich Kapitel III.3.7), so dass die eingebrachten Ionen in der Regel repräsentativ in das Hochvakuum extrahiert werden.²¹ Da beim Passieren des Skimmers ähnliche Expansionsprozesse ablaufen wie beim Passieren des Samplers,⁸⁴ kommt es auch bei diesem Übergang zu einer Expansion und Ausbildung einer Ionenwolke. Daher müssen die Ionen anschließend durch die Ionenoptik zu einem Ionenstrahl gebündelt werden. Zudem werden die Ionen

häufig einer zusätzlichen Beschleunigungsspannung ausgesetzt. Die technische Umsetzung der Ionenlinse ist dabei sehr stark von dem anschließenden Massenanalysator und der Geometrie des Massenspektrometers abhängig, so dass eine detaillierte Beschreibung nur für den Einzelfall möglich ist. Eine weitere Anforderung an die Ionenoptik ergibt sich aus der großen Anzahl an Neutralteilchen, die aus dem Plasma extrahiert werden, aber auch im Bereich des Interfaces entstehen können. Können diese den Analysator ungehindert passieren und mit dem Detektor interagieren, werden die Neutralteilchen meist in der Ionenoptik vom Ionenstrahl abgetrennt. Hierfür wird der Ionenstrahl durch elektrische Felder vom linearen Verlauf abgelenkt und anschließend refokussiert. Die Flugbahnen der Neutralteilchen hingegen bleiben von den elektrischen Feldern unbeeinflusst, so dass diese Neutralteilchen ungehindert weiter fliegen, bis sie in der Peripherie des Massenspektrometers oder an einem dafür vorgesehenen Bauteil impaktieren. Eine Überlagerung des Ionenstrahls durch Neutralteilchen ist daher im anschließenden Verlauf nicht mehr gegeben. Je nach Bauart und patentrechtlicher Situation haben verschiedene Hersteller unterschiedliche technische Lösungen hierfür entwickelt, z.B. wird bei vielen Agilent Systemen eine Verschiebung des Ionenstrahls in der sogenannten Omega Linse erreicht,⁸⁴ während im Perkin Elmer Nexion der Ionenstrahl vor Erreichen des Massenfilters an einem senkrechtstehenden Quadrupol umgelenkt,⁸⁵ oder im Analytik Jena Plasmaquant durch einen Ionenspiegel in den Massenfilter reflektiert wird.⁸⁶ Matrixeffekte, die auch ihren Ursprung im Interface und der Ionenoptik besitzen, werden im Kapitel III.3.7 diskutiert.

III.3.5. Massenanalysatoren

Da das erhaltene elektrische Signal bei der Detektion der Ionen am Detektor in der Regel keinen Aufschluss über die Masse der Analyten zulässt, erfolgt im Massenanalysator eine Separation der Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladung- (m/z) Verhältnis. Die Separation kann dabei nach verschiedenen Prinzipien erfolgen, über die im Folgenden ein kurzer Überblick gegeben wird, welcher sich am aktuellen Lehrbuchstand orientiert.^{21,87} Die Funktionsweise der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Sektorfeld-Massenspektrometer (SFMS) und Quadrupol-Massenspektrometer (QMS) Geräte werden in den folgenden Kapiteln III.3.5.1 und III.3.5.2 ausführlicher beschrieben.

Vergleichbar mit der Beugung oder Brechung von elektromagnetischer Strahlung in Monochromatoren wird der Ionenstrahl im SFMS durch Interaktion mit magnetischen und elektrischen Feldern auf unterschiedliche Flugbahnen aufgeteilt. Je nach Messmodus liefern diese eine hohe Empfindlichkeit bei geringer m/z Auflösung oder eine sehr hohe Auflösung bei reduzierter Empfindlichkeit, die jedoch eine Unterscheidung zwischen Analytsignalen und Störungen ermöglichen kann (Vergleich Kapitel III.3.5.1, III.3.7).⁸⁸ Aufgrund der hohen Kosten solcher

Instrumente kommen SFMS überwiegend für spezielle Anwendungen zum Einsatz. Ausgerüstet mit mehreren Detektoren oder einer Mehrkanaldetektorplatte ermöglichen SFMS Geräte zudem eine simultane Detektion von verschiedenen m/z -Verhältnissen - auch für kurze transiente also zeitlich abhängige Signale - und eignen sich daher besonders für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen. In Kapitel III.3.5.1 findet sich ein detaillierter Überblick über Sektorfeld- Massenanalysatoren.

In einem QMS überlagern sich im Massenanalysator zwei elektrische Felder zwischen vier Elektroden, und bilden entlang der Quadrupolachse einen Hoch- und einen Tiefpassfilter (Vergleich Kapitel III.3.5.2), der aus dem einfallenden Ionenstrahl nur Ionen eines ausgewählten konstanten Masse-zu-Ladung-Verhältnisses die Transmission erlauben. Da die resultierende stabile Flugbahnen der ausgewählten Ionen immer entlang einer gedachten zentralen Achse durch die Mitte des Quadrupols verläuft, kann der Austrittspunkt des Ionenstrahls vereinfacht als unabhängig von den jeweiligen ausgewählten m/z -Verhältnissen betrachtet werden. Der Einsatz mehrerer Detektoren kann in einem Massenspektrometer, welches ausschließlich mit einem einzigen Quadrupol als Massenanalysator arbeitet, somit nicht dazu führen, dass verschiedene m/z Verhältnisse simultan detektiert werden können. Ein Massenspektrum kann mit einem Quadrupol somit nur sequentiell aufgenommen werden. Der Quadrupol-Massenanalysator wird überwiegend bei niedriger Massenauflösung betrieben, bei der eine Masse m in der atomaren Masseneinheit u häufig nur als ganzzahliger Wert bestimmt wird. Dagegen zeichnet sich der Quadrupol vor allem durch seine Robustheit sowie die geringen Anschaffungs- und Instandhaltungskosten aus und ist daher der meist verwendete Massenanalysator in der ICP-MS. Auch dieser Massenanalysator wird in einem separaten Abschnitt (Kapitel III.3.5.2) detailliert diskutiert.

Eine Weiterentwicklung des Quadrupol-Massenanalysators stellt die Ionenfalle dar. In dieser können die Ionen in stabilen Bahnen in einem "dreidimensionalen Quadrupol" gespeichert und nach m/z -Verhältnissen wieder freigesetzt werden. Zusätzlich kann durch Zugabe eines Hilfsgases z.B. durch Kollision mit zugesetztem Helium (Vergleich Kapitel III.3.7) eine Fragmentierung der eingefangenen Ionen ausgelöst werden und die verschiedenen entstehenden Fragmente anschließend seriell freigesetzt werden. Die Ionenfalle wird vor allem in der organischen Massenspektrometrie häufig eingesetzt und wurde in der ICP-MS bisher nur im Rahmen von Prototypen beschrieben oder simuliert.^{89,90}

Eine weitere Klasse der Massenanalysatoren erzielt eine räumliche Trennung der Ionen, indem diese in einem gepulsten elektrischen Feld beschleunigt werden: eine Separation der m/z -Verhältnisse kann bei konstanter Flugstrecke über die benötigte Zeit (TOF – **t**ime **o**f **f**light)⁹¹ oder bei konstanter Flugzeit über die zurückgelegte Distanz der Ionen (DOF – **d**istance **o**f **f**light)⁹² erfolgen. Da hierbei jedoch nur

ein geringer Teil der generierten Ionen in das Massenspektrometer überführt wird, besitzen die zugehörigen Instrumente eine geringere Empfindlichkeit als bei der Verwendung der übrigen hier aufgezählten Analysatoren. Aufgrund ihrer hohen Messfrequenz lassen sich beide Instrumente vor allem für die quasi-simultane Bestimmung z.B. bei der Erfassung kurzer transienter Signale oder zur Isotopenverhältnisbestimmung einsetzen. Bei entsprechend langer Flugstrecke, die zusätzlich durch Ionen reflektierende elektrische Felder (Reflektron) verlängert werden kann, verfügen ICP-TOF-MS Instrumente zudem über eine Auflösung, die hoch genug ist, die Massen der Analytionen von den meisten störenden polyatomaren Ionen zu unterscheiden. Im Vergleich mit ICP-QMS- und ICP-SFMS- werden die ICP-TOFMS-Geräte bisher nur in sehr geringer Anzahl verwendet.

Zu den wenigen Ausnahmen der räumlichen bzw. funktionalen Trennung zwischen Massenanalysator und Detektor gehören das sogenannte Fourier-Transformation-Ionen-Zyklotron-Resonanz (FT-ICR) Massenspektrometer^{93,87} und die Orbitrap⁹⁴. In beiden Fällen erfolgt die Separation der Ionen im Detektorraum. Die Ionen werden durch Magnetfelder bzw. elektrische Felder auf unterschiedliche geschlossene Bahnen gezwungen. Durch ihre Ladung induzieren sie bei ihren Umläufen messbare Ströme, aus deren Frequenz sich mit Hilfe der Fourier Transformation die m/z-Verhältnisse mit sehr hoher m/z-Auflösung bestimmen lassen. Die in Vergleich mit der FT-ICR kostengünstigere Orbitrap findet hierbei vermehrt Anwendung im Bereich der hochauflösenden Organischen Massenspektrometrie. Während es der Gruppe um Koppelaar et al. gelang, ein Orbitrap-MS mit Glimmentladungsquelle zu betreiben,⁹⁵ konnte aufgrund der hohen kinetischen Energie der Ionen nach Extraktion aus dem ICP (Vergleich Sharp et al.⁹⁰) ein Einsatz in der ICP-MS bisher nicht realisiert werden.

Massenauflösung

Da in der ICP-MS überwiegend ionisierte Atome oder polyatomare Ionen aus typischerweise 2-4 Atomen betrachtet werden, ist eine Massenunterscheidbarkeit (Vergleich Kapitel III.1) im Bereich der Protonen- oder Neutronenmassen – also $\Delta m \leq 1 \text{ u}$ – eine grundlegende Anforderung an einen Massenanalysator. Je nach betrachteter Masse entspricht dies einer Auflösung R von ca. 10-500 und wird in der Regel als niedrige Massenauflösung bezeichnet. Um die Signale vieler polyatomarer Ionen von atomaren Ionen unterscheiden zu können, z.B. $^{51}\text{V}^+$ von $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ oder $^{75}\text{As}^+$ von $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, werden hingegen Auflösungen von 3000-10 000 benötigt.¹⁹ Eine solche Massenauflösung wird nicht von allen etablierten Massenanalysatoren erreicht und daher häufig als hochauflösend bezeichnet (Vergleich Kapitel III.3.7).

III.3.5.1. Sektorfeld Massenanalysator

Wie bereits in der allgemeinen Einleitung in Kapitel III.3.1 beschrieben, ist die Auftrennung eines Ionenstrahls durch statische elektrische oder magnetische Felder eine seit langer Zeit verwendete Technik, um einen Ionenstrahl in seine verschiedenen einzelnen Ionenspezies aufzuteilen. Ein umfassender Überblick über Grundlagen und Aufbau dieser Klasse von Massenspektrometern in Zusammenhang mit plasmabasierten Ionenquellen ist in einem Übersichtsartikel von Jakubowski et al. zusammengestellt worden.²²

Physikalische Grundlagen

Sowohl von einem elektrischen als auch von einem magnetischen Feld resultiert eine Kraftwirkung auf einen Ionenstrahl, der in eines dieser Felder eindringt. Während im elektrischen Feld diese Kraftwirkung \vec{F}_E aufgrund der elektrischen Abstoßung aus der elektrischen Feldstärke \vec{E} und der Ladung q des einzelnen Ions gemäß Gleichung 23 bestimmt werden kann,⁹⁶

$$\vec{F}_E = q \cdot \vec{E} \quad \text{Gleichung 23}$$

ist die Kraftwirkung in einem magnetischen Feld \vec{B} zudem abhängig von der Geschwindigkeit v der bewegten Ladung q :⁹⁶

$$\vec{F}_B = q \cdot \vec{v} \times \vec{B} \quad \text{Gleichung 24}$$

Die Stärken beider Kräfte F können verwendet werden, um Ionen abhängig von ihrer Masse m und v auf definierte Kreisbahnen mit Radius r abzulenken:

$$r = \frac{mv^2}{F} \quad \text{Gleichung 25}$$

Die Geschwindigkeit der einzelnen Ionenspezies lässt sich aus der kinetischen Energie E_{kin} der jeweiligen Teilchen bestimmen. Liegen in der Ionenoptik hohe Beschleunigungsspannungen U vor, können Geschwindigkeitskomponenten infolge von Wechselwirkungen im Plasma und der Extraktion in das Hochvakuum näherungsweise vernachlässigt werden, so dass sich die kinetische Energie eines Teilchens direkt aus seiner Ladung und Beschleunigungsspannung U ergibt:²²

$$E_{kin} = \frac{1}{2}mv^2 \approx qU \quad \text{Gleichung 26}$$

Mit Hilfe von Gleichung 24, Gleichung 25 und Gleichung 26 lässt sich der Radius r_b der Kreisbahn

berechnen, der sich durch Ablenkung in einem magnetischen Feld mit Stärke B für ein Ion abhängig von m und der Anzahl seiner Elementarladungen $z=q/e$ ergibt:

$$r_B = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2U}{e} \left(\frac{m}{z}\right)} \quad \text{Gleichung 27}$$

Durch Umformung ergibt sich das m/z Verhältnis eines Ions, das ein solches magnetische Sektorfeld auf einer festgelegten Kreisbahn mit Radius r_B passieren kann:

$$\left(\frac{m}{z}\right) = \frac{e r_B^2 B^2}{2U} \quad \text{Gleichung 28}$$

Aus Gleichung 23, Gleichung 25 und Gleichung 26 lässt sich der Radius r_E einer Kreisbahn berechnen, auf die ein Ion in einem elektrischen Feld mit der Stärke E abgelenkt wird, wobei eine Abhängigkeit von der kinetischen Energie des Ions bzw. näherungsweise der Beschleunigungsspannung U besteht:

$$r_E = \frac{2E_{kin}}{qE} = \left(\frac{m}{z}\right) \frac{v^2}{eE} \approx \frac{U}{E} \quad \text{Gleichung 29}$$

Aus diesen Betrachtungen der zugrundeliegenden physikalischen Zusammenhänge lässt sich erkennen, dass im magnetischen Sektorfeld eine Trennung der verschiedenen Ionenspezies nach ihren m/z Verhältnissen in Abhängigkeit der Geometrie des Feldes, der Feldstärke und der Beschleunigungsspannung möglich ist (Gleichung 28). Dennoch ist am Austrittspunkt des Feldes eine Überschneidung der Flugbahnen von Ionen mit unterschiedlichen Massen und verschiedenen Eintrittspunkten in das magnetische Feld möglich. Die Massenauflösung des magnetischen Sektorfelds wird somit vor allem durch die Breite des einfallenden Ionenstrahls sowie der Größe des betrachteten Ausschnitts des magnetisch gebeugten Ionenstrahls bestimmt. Beide Größen können durch mechanische Eintritts- und Austrittsspalte eingestellt werden.¹⁹

Da im Ionenstrahl keine einheitlichen Geschwindigkeiten für alle verschiedenen Ionen vorliegen, eignet sich ein elektrostatisches Sektorfeld hingegen nur sehr bedingt als Massenanalysator, kann aber als kinetischer Analysator verwendet werden (Gleichung 29). Die in Gleichung 26 beschriebene Näherung stößt zudem im Bereich hoher Massenaufösungen an die Grenzen ihrer Anwendbarkeit, was bedeutet, dass die kinetische Energieverteilung des aus der Ionenoptik austretenden Ionenstrahls die erreichbare Massenauflösung in einem magnetischen Massenanalysator begrenzt. Um diese Limitierung zu umgehen, kann ein magnetischer Massenanalysator mit einem elektrostatischen Analysator (ESA) kombiniert werden. Diese Anordnung wird auch als doppeltfokussierendes Sektorfeld bezeichnet.¹⁹

Aufbau und Eigenschaften von doppelt fokussierenden Sektorfeld Massenspektrometern

Für die technische Umsetzung eines doppelt fokussierenden Sektorfelds haben sich abhängig von der Zielsetzung der Konstruktion verschiedene Geometrien etabliert. Hierbei lassen sich zwei Klassen von Instrumenten unterscheiden: Es gibt Geräte, die mit "einem einzelnen Detektor" oder sogenannten Detektor-Array ein komplettes Massenspektrum simultan aufnehmen können und solche bei denen ein Massenspektrum sequentiell durch Veränderung des magnetischen Felds aufgenommen wird.

Sequentiell arbeitende SF-Massenanalysatoren besitzen verglichen mit den ebenfalls sequentiell arbeitenden Quadrupol-Massenanalysatoren (Vergleich Kapitel III.3.5.2) eine höhere Ionen­transmission, so dass mit dieser Technologie eine höhere Empfindlichkeit erreicht werden kann.²² Da Neutralteilchen der Ablenkung des Ionenstrahls im Massenanalysator nicht folgen können, kann auch die Ionenoptik für die Extraktion und Fokussierung des Ionenstrahls effektiver gestaltet werden.^{97,98} Ein intensiver Ionenstrahl ermöglicht es auch, einen Großteil des Ionenstrahls vor dem Eintritt und beim Austritt in das Sektorfeld durch Spaltblenden auszublenden und so neben den Analyten vor allem Störkomponenten am Erreichen des Detektors zu hindern. Daher kann auf diesem Weg, bei reduzierter Empfindlichkeit und gleicher Dispersion des Ionenstrahls, eine deutliche Erhöhung der Massenauf­lösung erreicht werden. Dieser Zusammenhang wird am Ende dieses Kapitels am Beispiel des im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendeten Element II detailliert diskutiert.

Darüber hinaus gibt es doppelt fokussierende Massenspektrometer, die über mehrere Detektoren verfügen und daher als Multikollektor-MS (MC - multi collector) bezeichnet werden. Zu dieser Klasse gehören sowohl Geräte, bei denen verschiedene Ionen - soweit sie sich auf unterscheidbare Flugbahnen separieren lassen - durch mehreren individuelle Detektoren simultan erfasst werden, als auch solche, bei denen ein Massenspektrum mit Hilfe eines Bauteils - einem Detektor mit mehreren individuell auslesbaren Detektion­spunkten - erfasst werden kann. Daher können mit MC-SFMS mehrere Ionenspezies und ggf. das gesamte Massenspektrum simultan erfasst werden. Die Entwicklung von MC-Instrumenten wurde durch das Bedürfnis nach präziser Bestimmung von Isotopen­verhältnissen vorangetrieben.²² Eine solche Bestimmung wird durch zeitliche Signal­fluktuationen limitiert, deren Ursache zum Großteil in Schwankungen beim Probeneintrag,⁹⁹ sowie in Fluktuationen der Plasma­eigenschaften liegt.^{22,19} Durch die sequentielle Bestimmung der Signalintensitäten zweier Ionenspezies in einem Einzelkollektor-ICP-MS System, ist die Bestimmung ihrer Signal­verhältnisse daher auf eine minimal erreichbare Präzision von ca. $\pm 0,05$ - $0,5$ % limitiert, während mit MC-Instrumenten eine Präzision von $\pm 0,003$ % und niedriger erreicht werden kann.¹⁹ Die Fähigkeit zur Erfassung mehrerer Analyten ist zudem bei der Untersuchung von zeitlich sehr

variablen oder transienten Signalen von hohem Interesse, wie z.B. für die Erfassung von mehreren Analytsignalen bei der Kopplung mit vorgeschalteten Trenntechniken oder beim Eintrag sehr begrenzter Probenmengen (und damit auch einem zeitlich begrenztem Probeneintrag), wie er in der Laserablation auftreten kann. Neben der Unterteilung in Einzeldetektor- und Multikollektor-SFMS, werden SF-Massenanalytoren anhand ihrer Geometrie, also der Anordnung der einzelnen Felder und den jeweils zugehörigen Dispersionswinkel des Ionenstrahls, unterschieden. Der Einfluss der Geometrie des SFMS wird im Folgenden an zwei Beispielen diskutiert, die im Zusammenhang mit ICP-MS häufig verwendet werden.

Eine ursprünglich für die Massenspektrographie entwickelte Anordnung aus elektrischen und magnetischen Analysatoren wurde von Mattauch und Herzog bereits 1934 entwickelt. Um ein Massenspektrum auf einer photographischen Platte abbilden zu können, wurde ein elektrisches Sektorfeld mit einer Ablenkung von $31,8^\circ$ mit einem magnetischen Massenanalysator mit einer 90° Ablenkung kombiniert, wobei die Ablenkungsrichtungen entgegengesetzt zueinander liegen.²² Die Fokuspunkte der einzelnen Komponenten eines einfallenden Ionenstrahls fallen bei dieser Geometrie alle in eine gemeinsame Ebene. Daher ist mit einer solchen Anordnung die simultane Aufnahme eines Massenspektrums auf einer Mehrkanal-Detektorplatte möglich und wurde 1996 für die ICP-MS von Cromwell und Arrowsmith erstmals verwendet.¹⁰⁰ In verschiedenen Arbeiten von einer Forschergruppe um Hieftje wurde diese Geometrie im Zusammenhang mit der Entwicklung von „Multiarray Faraday Cup Detektoren“ umfangreich untersucht.¹⁰¹⁻¹⁰³ Ein kommerzielles Gerät dieser Bauart wird seit einigen Jahren von der Firma Spectro vertrieben.^{22,104} Der Vorteil eines solchen Instruments liegt darin, dass ein ganzes Massenspektrum bzw. ein größerer Ausschnitt davon simultan erfasst werden kann. Nachteilig wirkt sich allerdings die geringe Dispersion im elektrostatischen Analysator auf die Massenauflösung aus. Es resultiert sowohl ein geringerer Abstand zwischen den Fokuspunkten der verschiedenen Ionenspezies auf der Detektorplatte, als auch eine erhöhte Verteilungsbreite dieser Einzelkomponenten bedingt durch eine erhöhte kinetische Energieverteilung innerhalb einer Ionenspezies des Ionenstrahls, so dass bei bisherigen Instrumenten nur eine niedrige Massenauflösung realisiert werden konnte.

Um eine hohe Massenauflösung zu erreichen, wurde von Johnson und Nier ein Massenspektrometer entwickelt, in dem der Ionenstrahl zuerst ein elektrostatisches Sektorfeld passiert und hierbei eine Ablenkung von ca. 90° erfährt und anschließend in einem magnetischen Feld um ca. 60° abgelenkt wird. Dieser Aufbau wird daher als Nier-Johnson Geometrie bezeichnet.¹⁰⁵ Als inverse Nier-Johnson Geometrie bezeichnet man einen Aufbau, bei der im Vergleich zur Nier-Johnson Geometrie die Anordnung des elektrostatischen und magnetischen Analysators vertauscht wurden und somit der

Ionenstrahl erst den magnetischen Sektor und anschließend den elektrostatischen Analysator passiert. Beide Geometrien haben sich in der ICP-MS für die Konstruktion hochauflösender Einzel- und Multikollektoren etabliert.²²

Exemplarisch für diese Klasse der doppeltfokussierenden Sektorfeld Massenspektrometern wird im Folgenden das im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendete Element 2 ICP-MS (Thermo Scientific) beschrieben, das eine inverse Nier-Johnson Geometrie besitzt (Abbildung 6).

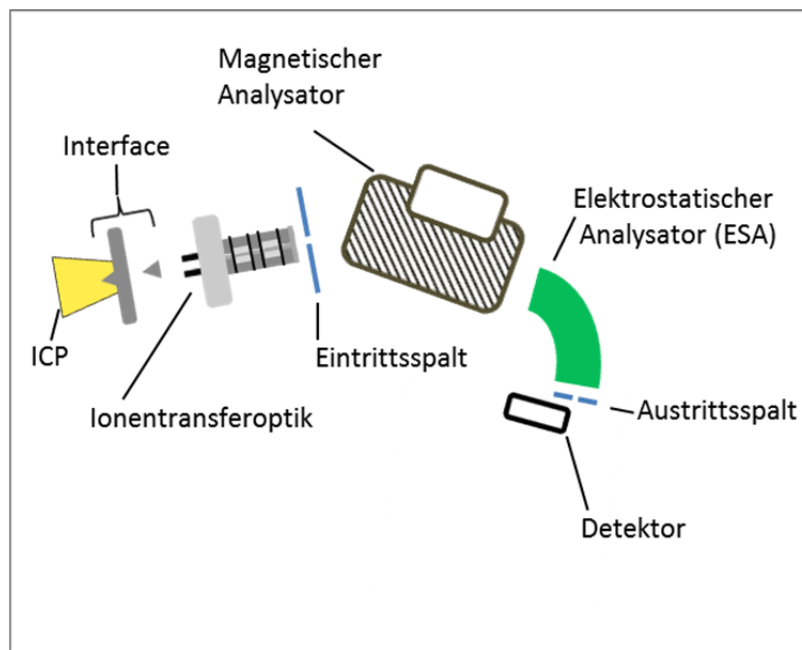


Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines doppeltfokussierenden Sektorfeld ICP-MS.

Die Ionen werden durch das Interface in den Hochvakuumbereich des Spektrometers extrahiert und erreichen eine Ionenoptik. Diese besteht im vorderen Bereich aus einer Extraktionslinse, gefolgt von fokussierenden Linsen und einer Beschleunigungsstrecke. Hierdurch wird der Ionenstrahl auf den Eintrittsspalt fokussiert und die Ionen über eine Spannung von 8 kV beschleunigt. Die Notwendigkeit des Vorliegens einer hohen Beschleunigungsspannung führte dazu, dass zwischen Plasma und Beschleunigungseinheit eine elektrische Trennung entwickelt werden musste, und es so verglichen mit der ICP-QMS zu einer späten Realisierung der ICP-SFMS kam.²² Vor dem magnetischen Analysator befindet sich der Eintrittsspalt. Dieser ist ein mechanisches Bauteil, das einen von drei verschiedenen Spalten in den Ionenstrahl positionieren kann.¹⁰⁶ Während für niedrige Massenauflösung der Ionenstrahl durch den vergleichsweise breiten Spalt nur geringfügig beschnitten wird und die Ionentransmission daher nahe 100 % liegt, sinkt die Ionentransmission bei einer Spaltbreite von 15 μm auf ca. 10 % und bei 5 μm Spaltbreite für den hochauflösenden Messmodus auf nur ca. 1-2 %.^{22,107} Ein ähnlich aufgebautes Spaltsystem bildet den Austrittsspalt vor

dem Detektor. Durch parallele Veränderung des Eintritts- und Austrittspalts kann eine niedrige Auflösung mit $R \approx 300$, eine mittlere mit $R \approx 4000$ und eine hohe Massenauflösung mit $R \approx 10\,000$ erreicht werden. Die eingestellten Spaltbreiten haben zudem Einfluss auf die Form der zu den jeweiligen Massen gehörenden Signalverläufe. Während bei mittlerer und hoher Massenauflösung dreieckige bis gaußkurvenförmige Signale erhalten werden, liegen bei niedriger Massenauflösung Signale mit der Form eines Pyramidenstumpfes vor, die auch als „flat top peak“ bezeichnet werden.^{19,98,109} Da bei abgeflachten Signalen am Signalmaximum eine höhere Anzahl von Einzeldatenpunkten vorliegt, als bei spitzzulaufenden Signalen, ist auf Signalplateaus eine präzisere Bestimmung der Signalthöhe möglich.

Die eigentliche Massenseparation findet gemäß der zu Beginn dieses Kapitels beschriebenen physikalischen Grundlagen in einem Magnetfeld statt, welches von einem regulierbaren Elektromagneten aufgebaut wird. Die Stärke des Magnetfeldes kann zur Detektion verschiedener m/z Verhältnisse kontinuierlich oder sprunghaft verändert werden. Im nachgeschalteten ESA werden Ionen mit zu niedriger oder zu hoher kinetischer Energie abgeschieden. Hierdurch können Überlagerungen, die noch nach dem magnetischen Analysator bestehen, reduziert werden. Die Stärken des Instruments liegen in der sehr hohen Empfindlichkeit bei niedriger Auflösung für die Analyse von ungestörten Massen. Bei mittlerer Auflösung kann bereits der Großteil der polyatomaren Interferenzen vom Analytsignal getrennt werden. Mit Hilfe der Hochauflösung kann nahezu frei von allen wichtigen polyatomaren Interferenzen gemessen werden.

Vor- und Nachteile sowie Anwendungen von Sektorfeldmassenspektrometern

SF-Massenspektrometer besitzen je nach Geometrie, Betriebsmodus und Anzahl oder Art der Detektoren sehr unterschiedliche Stärken und Schwächen. Einen umfassenden Überblick über verschiedene aktuelle Anwendungsgebiete der ICP-SFMS vermittelt ein Übersichtsartikel von Jakubowski et al.¹¹⁰ Das im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendete doppeltfokussierende ICP-SFMS mit inverser Nier-Johnson Geometrie besitzt die Option, die Massenauflösung in drei Stufen anzupassen, und so je nach analytischer Fragestellung wahlweise eine maximale Empfindlichkeit bei geringer Selektivität, eine maximale Selektivität bei geringer Empfindlichkeit sowie einen Kompromiss aus beidem zu verwenden. Können durch eine Erhöhung der Massenauflösung die Signale von Analyt isotopen und isobaren oder polyatomaren Interferenzen aufgelöst werden, kann es trotz verringerter Empfindlichkeit zu einer deutlichen Verringerung der Nachweisgrenze kommen. Daher lassen sich mit solch einem Instrument je nach Element Nachweisgrenzen von wenigen ng L^{-1} bis einstelligen pg L^{-1} erreichen.¹¹⁰ Die Nachweisgrenzen eines hochauflösenden ICP-SFMS liegen damit, verglichen mit ICP-QMS-Instrumenten, meist ca. einen Faktor 100-1000 niedriger.¹¹¹

Besonders Elemente, die im hohen Ausmaß von im ICP ubiquitären Interferenzen betroffen sind, wie z.B. Si, Ca, K, P und S,^{112,113} oder die Nebengruppenelemente der 4. Periode des Periodensystems der Elemente (PSE) in Gegenwart konzentrierter Säuren oder Salzmischungen, lassen sich mit der hochauflösenden ICP-SFMS in deutlich niedrigeren Konzentrationen bestimmen als mit der ICP-QMS.^{110,114} Auch in biologischen Matrices, in denen häufig polyatomare Interferenzen von P, S, oder Na dominieren, können hiervon interferierte Elemente wie z.B. Ti, V, Fe, Cu und Zn zuverlässig im Ultraspurenbereich bestimmt werden.¹¹⁵⁻¹¹⁷ Bei der Analyse von unbekanntem Proben mit stark veränderlicher Matrixzusammensetzung und damit verbundenen unerwartet auftretenden Interferenzen, erhöht sich somit auch die Robustheit einer hochauflösenden ICP-SFMS Methode gegenüber einer niedriger auflösenden.

Multikollektor ICP-SFM erlauben die simultane Erfassung verschiedener Isotopen. Da im Rahmen geologischer Fragestellungen häufig präzise Messungen von Isotopenverhältnissen für die geochronologische Datierung benötigt werden, ist der Einsatz der MC-ICP-MS in diesem Forschungsgebiet weit verbreitet.¹¹⁸ In diesem Zusammenhang ermöglicht die MC-ICP-SFMS in Kombination mit der Laserablation zudem eine direkte Bestimmung von Isotopenverhältnissen zur Datierung kleinster Einschlüsse.¹¹⁹ Die MS-ICP-SFMS kommen darüber hinaus auch bei der Konzentrationsbestimmung mittels Isotopenverdünnungsanalyse¹²⁰ oder Konvenienzbestimmung in der Archäologie oder Forensik zum Einsatz.^{121,122} Ein weiteres Anwendungsgebiet liegt im Bereich der Nukleartechnik. So kann die LA-MC-ICP-SFMS auch auf diesem Themengebiet einen wertvollen Beitrag beispielweise zur Bestimmung von Isotopenverhältnissen in einzelnen Partikeln leisten.¹²³ Die MC-SF-Massenspektrometer vom Mattauch-Herzog Typ erlauben bei niedriger Massenauflösung die simultane Erfassung aller mittels ICP-MS erfassbarer Isotope und eignen sich daher besonders zur Multielementerfassung in zeitlich kurzen transienten Signalen, wie sie in der LA-ICP-MS oder bei Kopplungen mit Chromatographiesystemen auftreten.^{124,125}

Zu den Nachteilen der ICP-SFMS gehört vor allem der hohe Preis dieser Instrumente. Verglichen mit ICP-QMS Instrumenten, besitzen die Ionen in ICP-SFMS meist eine längere Flugstrecke, so dass höhere Anforderungen an die Vakuumpumpen erforderlich sind. Auch der benötigte Elektromagnet hat erhöhte Anschaffungskosten zur Folge. Ein weiterer Faktor, der zu höheren Kosten führt, sind sicherlich die geringeren Absatzzahlen von ICP-SFMS Systemen. Dies hat auch zur Folge, dass bei kommerziellen Geräten weniger Wettbewerbsdruck entsteht und daher die Frequenz der Einführung neuer Geräte und Technologien geringer ist als bei ICP-QMS Instrumenten. Zudem gibt es im Gegensatz zu den ICP-QMS Geräten vor allem für die Gewährleistung der Hochauflösung ein höheres

Bedarf an Instandsetzungs- und Wartungsarbeiten, bedingt durch z.B. den Verschleiß der mechanischen Spaltblenden oder durch alterungsbedingte Veränderung des Elektromagneten.

III.3.5.2. Quadrupol Massenanalysator

In der ICP-MS wurde der Quadrupol bereits bei den ersten experimentellen Aufbauten^{126,127} sowie bei kommerziellen Geräten^{128,129} als Massenfilter verwendet und ist heutzutage in den meisten kommerziellen Geräten, wie dem im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Agilent 4500 und 7500, enthalten.

Aufbau und Funktionsweise

Aufbau und Funktionsweise wurden 1953 von Paul und Steinwedel beschrieben.¹³⁰ Ein linearer Quadrupol besteht aus einem zentralen Ionenkanal mit Radius r_0 um den vier hyperbolische Stäbe als Elektroden konzentrisch und symmetrisch angeordnet sind (Abbildung 7).

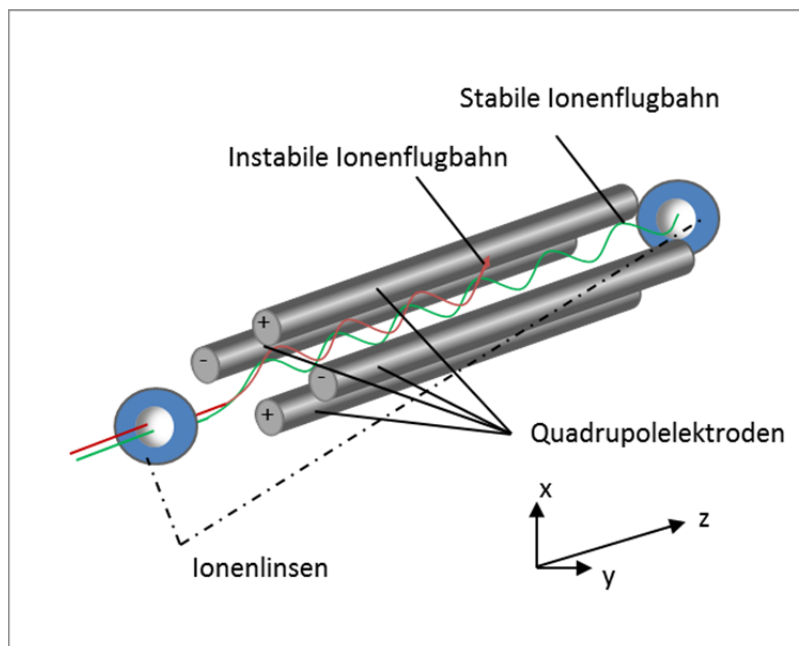


Abbildung 7: Schematischer Aufbau eines Quadrupol Massenfilters.

Die jeweils gegenüberliegenden Elektroden sind dabei elektrisch verbunden. Über beide Elektrodenpaare wird ein elektrisches Feld aufgebaut, das jeweils aus der Überlagerung einer Gleichspannung U und einer Wechselfspannung V entsteht und die Flugbahnen der einfallenden Ionen in Abhängigkeit von ihrem m/z -Verhältnis beeinflusst. Die statischen elektrischen Felder, die durch die Gleichspannungskomponenten aufgebaut werden, haben durch ihre unterschiedliche Polung jeweils eine entgegengesetzte Wirkung auf den einfallenden Ionenstrahl: Das Elektrodenpaar, von dem eine elektrostatische Abstoßung auf die Ionen ausgeht, fokussiert den Ionenstrahl in Richtung zentraler Achse, das andere Elektrodenpaar destabilisiert die Flugbahnen der Ionen. Die

Wechselspannung lässt die Ionen senkrecht zur y -Achse zunächst abhängig von ihrer Frequenz oszillieren. Hierdurch werden auf die Ionen gleich große Impulsänderungen übertragen, die für kleine m/z -Verhältnisse zu höheren Geschwindigkeiten führen als für große m/z -Verhältnisse. Hierdurch dringen die verschiedenen m/z -Verhältnisse unterschiedlich weit in die Gleichspannungsfelder ein und werden daher von diesen verschieden stark re- oder defokussiert. Abhängig von der anliegenden Gleichspannung und Wechselspannung kommt es für verschiedene m/z -Verhältnisse zur Ausbildung von unterschiedlichen spiralförmigen Flugbahnen der Ionen um die Quadrupolachse (Abbildung 8).

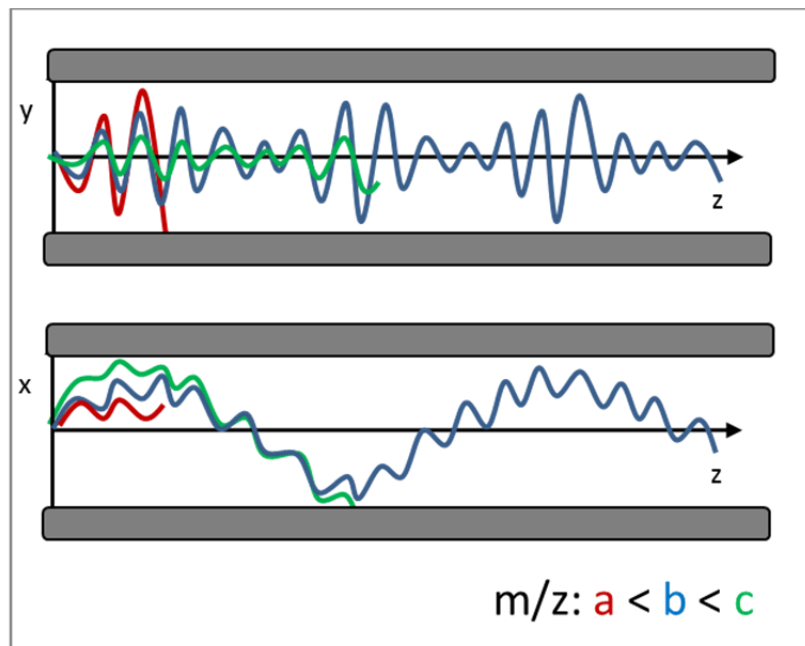


Abbildung 8: Flugbahnen verschiedener Ionenstrahlkomponenten in Abhängigkeit ihrer Masse a , b , und c in x - z bzw. y - z Richtung durch einen Quadrupol, skizziert nach Turner et al.²⁰

Anhand der in Abbildung 8 skizzierten Flugbahnen wird deutlich, dass der Quadrupol als Bandpassfilter beschrieben werden kann. In der y - z -Ebene, in dem die Wechselspannung V mit ihrer Frequenz ω die Ionen zur Resonanz anregt, zeigt sich, bezogen auf die Masse der Ionen, der Charakter eines Hochpassfilters. Da leichte Massen dieser Oszillation schneller folgen können, besitzen diese in der y - z -Ebene eine größere Amplitude und impaktieren an der zugehörigen Elektrode, so dass erst Ionen ab einem minimalen m/z -Verhältnisse in dieser Ebene den Quadrupol auf einer stabilen Bahn durchqueren können. In der x - z -Ebene hingegen zeigt sich das Verhalten eines Tiefpassfilters. Neben der Anregungsfrequenz ω bildet sich durch die Überlagerung von U und V eine zweite langwelligere Oszillation der Ionen um die Quadrupolachse aus. Die Amplitude dieser Oszillation wird durch die Stärke der Gleichspannung U bestimmt. Ionen mit hoher Masse können dem Hochfrequenzfeld nicht mehr schnell genug folgen und werden von dem defokussierenden

Elektrodenpaar auf instabile Flugbahnen abgelenkt, so dass in dieser Ebene nur eine Transmission bis zu einem maximalen m/z-Verhältnis möglich ist.

Mathematisch lässt sich die Bewegungsgleichung eines Ions in Abhängigkeit von der Zeit t durch Differenzialgleichungen beschreiben, die mittels Substitution auf die Parameter a, q und ξ (Gleichung 30 bis Gleichung 32) auf die Mathieu-Gleichung (Gleichung 33) zurückgeführt werden können.²⁰ Hierbei wird die Bewegungsrichtung in x oder y Richtung mit u bezeichnet.

$$\xi = \omega t \tag{Gleichung 30}$$

$$a = \frac{8eU}{m r_0^2 \omega^2} \tag{Gleichung 31}$$

$$q = \frac{4eV}{m r_0^2 \omega^2} \tag{Gleichung 32}$$

$$\frac{d^2u}{d\xi^2} + (a - 2q \cos(2\xi))u = 0 \tag{Gleichung 33}$$

Durch Lösung dieser Gleichung ergeben sich Betriebsparameter, die eine Transmission des Ions entlang der Quadrupolachse erlauben. Drei dieser zugehörigen Bereiche sind in Abbildung 9 (links) dargestellt. In der praktischen Anwendung wird der Quadrupol zumeist in dem als I gekennzeichneten ersten Stabilitätsbereich betrieben. Im Bereich der Grundlagenforschung wurden zudem Untersuchungen im zweiten,¹³¹ dritten und vierten Stabilitätsbereich durchgeführt.¹³²

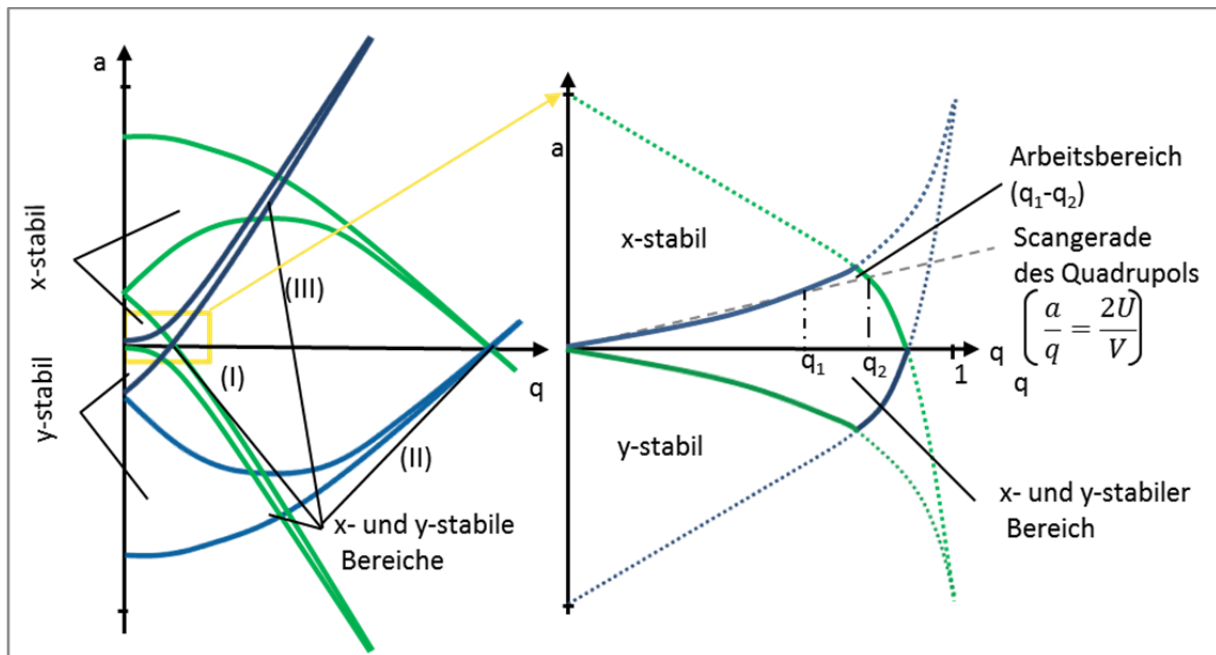


Abbildung 9: Ausschnitte aus den Stabilitätsdiagrammen zur Veranschaulichung von Lösungen der Mathieu-Gleichung: Übersicht über die drei Stabilitätsbereiche I-III (links), Ausschnitt des stabilen Bereichs I, der zu Massenseparation in allen kommerziellen Geräten Verwendung findet (rechts), skizziert nach Turner et al.²⁰ und Ying et. al.¹³¹

Da sich die Größe von a und q der Masse der Ionen verändert, verschieben sich die Stabilitätsbereiche für verschiedene Massen bezogen auf die angelegten Gleich- und Wechselspannungen (Abbildung 10). Hierbei zeigt sich ein Maximum an Unterscheidbarkeit der Signale an den jeweiligen Spitzen der stabilen Bereiche. Für den ersten Stabilitätsbereich liegt diese Spitze bei ca. $a=0,203$ und $q=0,705$, für den zweiten Stabilitätsbereich bei $a=0,295/q=7,547$ und für den dritten bei $a=3,1/q=3,2$.¹³¹ Um aus einem Ionenstrahl nur einem gewünschten m/z -Verhältnis das Passieren des Quadrupols zu erlauben, müssen daher die Parameter U , V und ω so gewählt werden, dass der Quadrupol während der Analyse in einer Spitze des jeweiligen stabilen Bereiches betrieben wird. Der Quadrupol ist daher ein streng sequentiell arbeitender Massenseparator. Durch diese sequentielle Bandpassfunktion sowie durch Betrachtung zugehöriger Flugbahnen der einzelnen Ionen, wird auch deutlich, dass eine Fokussierung des Ionenstrahls in den Eintrittsbereich und beim Verlassen des Quadrupols zur Erhöhung der Ionentransmission zum Detektor beitragen kann. Darüber hinaus können jedoch keine Überlagerungen von Flugbahnen verschiedener Ionenspezies auftreten, die durch Einbau von Spaltblenden entfernt werden können. Neutralteilchen können hingegen einen linearen Quadrupol ungehindert passieren, so dass diese in der vorgelagerten Ionenoptik abgetrennt werden müssen (Vergleich Kapitel III.3.4).

Zur Aufnahme eines Massenspektrums hat es sich in der Praxis bewährt, ein festes Verhältnis von U und V sowie eine konstante Frequenz ω zu wählen. Durch Veränderung der Feldstärken entlang dieser sogenannten Arbeitsgerade wird nur Ionen eines jeweils engdefinierten m/z -Bereiches, z.B. in Abbildung 9 solche die zwischen q_1 - q_2 einen stabilen Bereich besitzen, die Transmission entlang der Quadrupolachse erlaubt (Vergleich Abbildung 10). Das maximale Verhältnis von a und q wird hierbei durch die Spitze des stabilen Bereichs bestimmt, z.B. $a/q < 0,3357$ für den ersten Stabilitätsbereich.¹⁹ Je flacher diese Arbeitsgerade ausfällt, desto höher ist die Transmission der jeweiligen Ionen, jedoch sinkt auch die Massenauflösung (Abbildung 10). Da die Fläche des Stabilitätsbereichs oberhalb der Arbeitsgeraden proportional zur Ionentransmission des Quadrupols ist, lässt sich eine hohe Massenauflösung nur mit einem sehr starken Verlust der Empfindlichkeit erreichen. Zudem ergeben sich hieraus immer spitz zulaufende Signale.

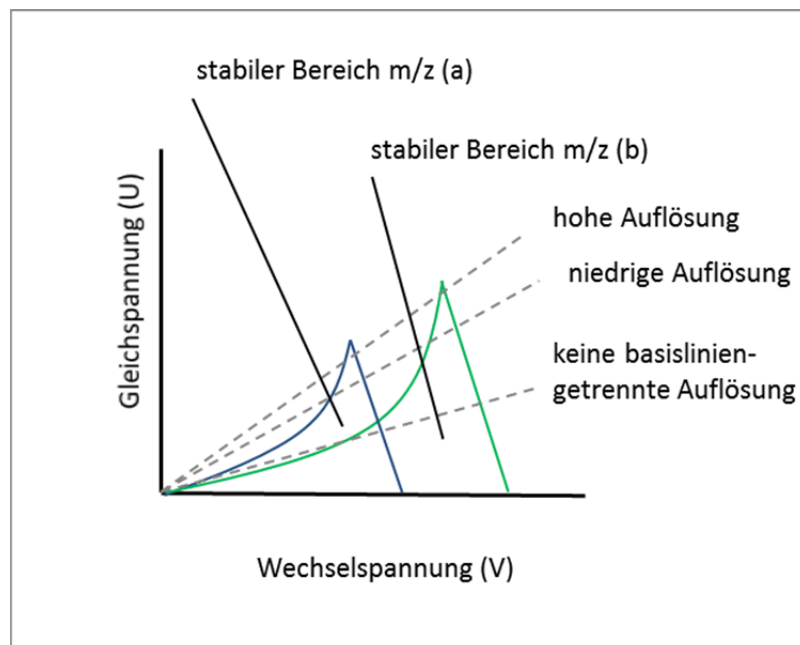


Abbildung 10: Vereinfachte Stabilitätsbereiche von zwei verschiedenen m/z -Verhältnissen (a) und (b) in Abhängigkeit der angelegten Gleich- und Wechselspannung sowie verschiedenen Arbeitsgeraden zur m/z -Separation, skizziert nach Thomas.²¹

In der Praxis wird der Quadrupol daher überwiegend mit einer niedrigen Massenauflösung von ca. 300 betrieben. Die Scangeschwindigkeit kann dabei mehr als 3000 u s^{-1} betragen, so dass ein Massenspektrum über den Bereich aller stabilen Isotope in weniger als 0,1 s aufgenommen werden kann.¹⁹

Nur mit einer konstanten Gleichspannung betrieben, kann der Quadrupol auf einen passierenden Ionenstrahl eine fokussierende Wirkung haben. Durch die Erhöhung der Anzahl der Elektroden kann die fokussierende Wirkung verbessert werden, allerdings können mit solchen Multipolen keine

Bandpassfilter realisiert werden. Oktopole finden beispielweise Verwendung bei der Konstruktion von Kollisionszellen (Vergleich Kapitel III.3.7).

Vor- und Nachteile des Quadrupolmassenspektrometers

Der Quadrupol Massenfilter ist aufgrund seines einfachen Aufbaus und damit geringen Preises der verbreitetste Massenanalysator in der Massenspektrometrie. Zudem sind die Abmessungen der QMS verglichen mit anderen Massenanalysatoren wie dem TOFMS oder dem SFMS deutlich kompakter, so dass durch das geringere Volumen des Analysatorraums und die kürzeren Flugstrecken der Ionen geringere Anforderungen für das Vakuumsystem erforderlich sind und zu den geringeren Kosten eines ICP-QMS Gerätes beitragen. Ein weiterer Vorteil liegt darin, dass Massenseparation allein durch Einstellung von elektrischen Parametern erfolgt, die sich durch hohe Standardisierung und Fertigungspräzision in der Elektronik mit hoher Reproduzierbarkeit einstellen lassen, so dass eine Massenkalisierung in der Praxis nur in Ausnahmefällen notwendig ist. Der Quadrupol gilt daher als sehr robuster Massenanalysator. Im Zusammenhang mit einem nahezu wartungsfreien Betrieb ist auch das Fehlen von mechanischen Bauteilen, z.B. Ein- und Austrittsspalten, zu nennen. Abgesehen von elektronischen Defekten, kann lediglich eine Belegung oder Veränderung der Elektrodenoberflächen durch Verschmutzung beim Öffnen, durch Belüften des Analysatorraums sowie durch längeren Betrieb und Eintrag von Proben mit hohen Matrixkonzentrationen auftreten und die Leistungsfähigkeit eines Quadrupols einschränken. In diesem Fall können die Elektroden verhältnismäßig günstig ausgetauscht werden.

Aufgrund der hohen Verbreitung umfasst das Anwendungsspektrum der ICP-QMS auch mit wenigen Einschränkungen das gesamte Spektrum der ICP-MS. Die Nachweisgrenzen liegen typischerweise im ng L^{-1} -Bereich.¹¹¹ Limitierungen ergeben sich aus der geringen Massenauflösung und der sequentiellen Aufnahme von Massenspektren. In einem mit einem Quadrupol aufgenommenen Massenspektrum muss vor allem bis einschließlich in den Massenbereich der 4. Periode des PSEs mit dem Auftreten von polyatomaren Interferenzen - z.B. $^{14}\text{N}_2^+$, $^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}^{32}\text{S}^+$, $^{40}\text{Ar}_2^+$ - gerechnet werden,²¹ die aus dem Plasmagas und der eingetragenen Probenmatrix entstehen. Werden feste Proben mit konzentrierten Säuren, z.B. Salpetersäure, Salzsäure oder Schwefelsäure, aufgeschlossen oder gelöst, erfolgt eine erste Reduzierung dieser Interferenzen typischerweise durch Verdünnung der Lösung mit Reinstwasser.¹¹¹ Darüber hinaus werden Interferenzen in der ICP-QMS, wie in Kapitel III.3.7 erwähnt, meist mittels zusätzlicher Kollisions- oder Reaktionszellen reduziert.

Der Nachteil der sequentiellen Funktionsweise kann durch immer empfindlichere Detektoren und rauschärmere Elektronik in modernen ICP-QMS Instrumenten durch sehr schnelle Scanraten und

kurze Messzeiten für viele Anwendungen relativiert werden. Im Routinebetrieb kann die Aufnahme eines Massenspektrums über den kompletten Bereich des PSEs auch bei mehreren Wiederholungsdurchläufen in nur einigen Sekunden erfolgen. In vielen Anwendungsgebieten kann diese Analysezeit durch ausreichende Probenmenge und ggf. den Einsatz spezieller Probeneinführungssysteme wie Niedrigflusszerstäuber oder Laserablation gewährleistet werden. Für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen gelten prinzipiell die gleichen Limitierungen, wie sie zuvor beim Vergleich sequentieller ICP-SFMS und MC-ICP-SFMS diskutiert wurden (Vergleich Kapitel III.3.5.1), so dass bei konstanten Probeneintrag Standardabweichungen im einstelligen %-Bereich zu erwarten sind. Die sequentielle Arbeitsweise der ICP-QMS führt daher hauptsächlich bei der Bestimmung einer Vielzahl von Analyten in zeitlich kurzen, transienten Signalen zu Limitationen. So ist beispielsweise die Erfassung eines $^{197}\text{Au}^+$ -Signals eines in das ICP-MS eingetragenen Nanopartikels mit einer Frequenz von 100 kHz möglich,¹³³ während bei der Erfassung mehrerer Analyten in einzelne Zellen Limitierungen beobachtet werden können.¹³⁴

III.3.6. Detektoren

Die Aufgabe des Detektors besteht darin, den einfallenden Ionenstrom in ein zu dessen Stärke proportionales elektrisches Signal umzuwandeln. Bei niedrigen Ionenströmen ist es häufig möglich, einzelne Detektionsvorgänge zu zählen (Einheit: cts – **counts**). Zur besseren Vergleichbarkeit wird das Signal üblicherweise als Zählrate - also detektierten Ereignissen pro Zeiteinheit angegeben (Einheit: cps - **counts per second**). Abhängig von der Stärke des Ionenstroms, den Anforderungen an die Empfindlichkeit oder das zeitliche Auflösungsvermögen des Systems kommen verschiedene Bauarten von Detektoren in der Massenspektrometrie zum Einsatz. TOFMS benötigen beispielsweise einen sehr schnellen Detektor, während MC-SFMS Systeme Detektoren benötigen, die sich mit geringem Abstand nebeneinander positionieren lassen. Um eine Erfassung vom Ultraspurenbereich bis hin zu Hauptkomponenten zu gewährleisten, ist ein dynamischer Bereich von der Erfassung einzelner Ereignisse bis 10^{10} cps wünschenswert. Der zugehörige Ionenstrom, der in der ICP-MS den Detektor erreicht, liegt im Bereich von 10^{-20} - 10^{-9} A.²⁰ Im unteren Bereich bei $< 10^6$ Ionen pro Sekunde bzw. $< 10^{-12}$ A - werden die einfallenden Ionen üblicherweise nach Verstärkung als Einzelereignis erfasst. Dieser Messmodus wird als „pulse counting mode“ bezeichnet. Bei höheren Ionenströmen kann die zugehörige Stromstärke direkt gemessen werden. Dies wird in der englischen Literatur als „analogue collection“ - also analoges sammeln - bzw. der zugehörige Betriebsmodus als „analogue mode“ bezeichnet.²⁰

Ein prinzipiell sehr einfach aufgebauter Detektor ist der Faraday- Detektor. Dieser besteht aus einem Metallkörper, auf den die Ionen impaktieren und dabei ihre Ladung übertragen. Über den

Spannungsabfall an einem angeschlossenen hochohmigen Widerstand kann nun die elektrische Ladung ausgelesen werden. Zu den Vorteilen dieses Detektortyps zählen geringe Kosten und die hohe Lebensdauer sowie eine kompakte Bauform. Darüber hinaus ist das gemessene Signal unabhängig von der Masse der einfallenden Ionen und besitzt auch bei hohen Ionenströmen hierzu ein lineares Responseverhalten.²⁰ Ein linearer Arbeitsbereich kann bis ca. 10^{12} cps erreicht werden.¹¹⁰ Zudem ist es möglich, vor dem Auslesen des Detektors Ladungen über einen definierten Zeitraum auf einem Faraday-Detektor zu sammeln, um damit höhere Gesamtladungen nachweisen zu können und so die Empfindlichkeit zu steigern. Insgesamt ist der Nachweis von Ionen ab einer Anzahl von ca. 10^4 möglich.¹³⁵ Da allerdings keine Verstärkung einzelner Ionenaufschlagsereignisse auftritt, kann dieser Detektor nur analog betrieben werden und ist damit deutlich unempfindlicher als Detektoren, bei denen Elektronenvervielfachung auftritt und benötigt zudem längere Messzeiten. Hierdurch besitzen sie jedoch ein geringes Eigenrauschen und ermöglichen daher hochpräzise Messungen. Anwendung finden Faraday-Detektoren überwiegend in der MC-ICP-SFMS zur Bestimmung von Isotopenverhältnissen oder werden zur Erweiterung des linearen Bereichs zusammen mit Sekundärelektronen-vervielfachern betrieben.²² In kommerziellen Multikollektorsystemen werden bis zu 12 verschiedene, konventionell gefertigte Faraday-Detektoren eingesetzt.¹³⁵ Durch hohe Miniaturisierung lassen sich allerdings Faraday-Detektoren mit Durchmessern von wenigen μm realisieren und sich zu Arrays mit einigen tausend Einzeldetektoren kombinieren. Da sich die einzelnen Detektoren weiterhin individuell auslesen lassen, eignet sich dieser Aufbau vor allem für MC-ICP-SFMS, insbesondere solche mit Mattauch-Herzog Geometrie.¹³⁶

Analog zu der Funktionsweise eines Photomultipliers, in dem durch den Photoeffekt entstehende Elektronen vervielfältigt werden, können auch beim Einschlagen positiver Ionen Elektronen aus einem unter negativem Potential stehenden Körper geschlagen werden und durch anschließende Vervielfältigung einzelne Einschlagereignisse nachgewiesen werden. Die Energie, die für das Herausschlagen eines Elektrons aus dieser Oberfläche minimal notwendig ist, wird als Austrittsarbeit bezeichnet. Sowohl Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) als auch Kanalelektronenvervielfältiger (CEM - channel electron multiplier) basieren auf diesem Prinzip. Bei einem SEV impaktieren die Ionen auf einer Konversionsdynode. An diese schließt sich eine über hochohmige Widerstände verbundene Dynodenkaskade an. Die beiden Dynodentypen unterscheiden sich im verwendeten Material, da für die Konversionsdynode eine hohe Elektronenausbeute beim Auftreffen der Ionen und für die Dynoden eine hohe Ausbeute von sekundären Elektronen relevant sind. Für die Konversionsdynode eignen sich reine Metalle, für die Dynoden z.B. CuBe-Legierungen oder Dynoden mit komplexen mehrschichtigen Strukturen.^{135,137, 138} Über die Widerstände nimmt ein an die Konversionsdynode angelegtes negatives Potential diskret von Dynode zu Dynode zu (siehe Abbildung 11).

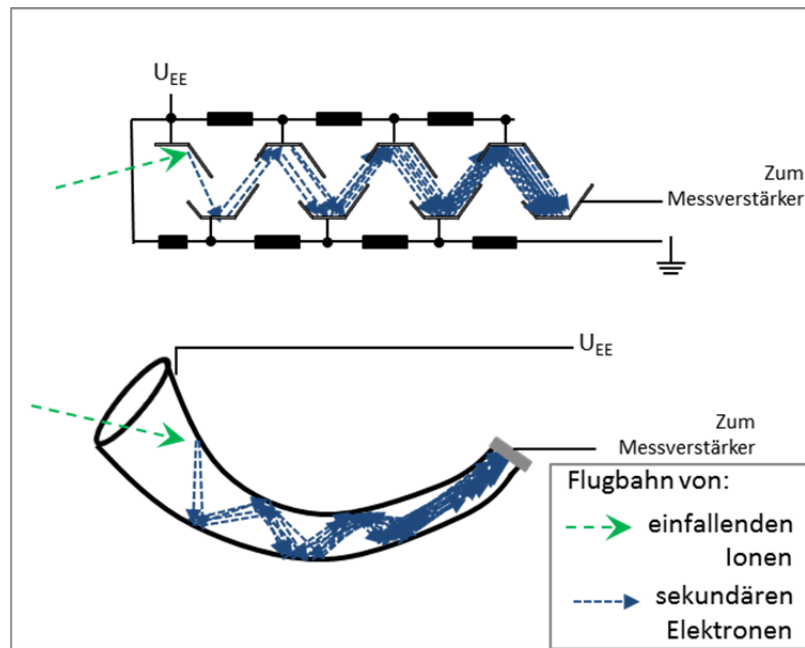


Abbildung 11: Schematischer Aufbau eines Sekundärelektronenvervielfältigers (oben) und eines Kanalelektronenvervielfältigers (unten).

Bei der Impaktion schlagen die Ionen Elektronen aus der Konversionsdynode. Diese werden auf die benachbarte Dynode beschleunigt und schlagen beim Auftreffen aus dieser mehrere Sekundärelektronen heraus, die wiederum auf die benachbarte Dynode beschleunigt werden. Durch Wiederholung dieses Prozesses wird eine Elektronenlawine ausgebildet. Im Unterschied zu dem SEV besteht der CEM aus einer kontinuierlichen Dynode. Diese besteht typischerweise aus einem hornförmigen Glaskörper, der auf der Innenseite mit einer Halbleiterschicht überzogen ist, z.B. dotiertem Siliciumoxid.^{135,140,141} Bei der Wahl des Materials muss nicht nur eine hohe Sekundärelektronenausbeute gewährleistet werden, sondern entlang des Kanals des CEM ein elektrischer Widerstand vorliegen, der hoch genug ist, einen starken Spannungsgradienten zu erzeugen ohne dabei durch zu starken Stromfluss zu überhitzen.

Im pulse counting mode triggern die ausgelösten Elektronenkaskaden bei CEM und SEV einen elektrischen Vorverstärker, der ab dem Erreichen eines Schwellenwerts einen eigenen Signalimpuls generiert. Trifft während dieses Impulses ein weiteres Ion auf, kann dieses nicht erfasst werden. Eine solche Zeitspanne zwischen einer Detektion und der nächsten möglichen Detektion wird als Totzeit bezeichnet und besitzt typischerweise eine Dauer im einstelligen ns-Bereich.²⁰ Diese konstante Totzeit führt mit zunehmender Zählrate zu einem immer größeren Fehler, z.B. führt dies dazu, dass bei einer Totzeit von 5 ns, eine Zählrate von $2 \cdot 10^6$ cps um ca. 1 % nach oben korrigiert werden muss und ab einer Zählrate von $2 \cdot 10^8$ cps der Vorverstärker keine weiteren Signale mehr erfassen kann. In der Praxis wird der Puls-zählende Messmodus je nach Detektortyp bis zu einer Zählrate von 10^5 bis

10^6 cps verwendet. Neben dieser durch die Ausleseelektronik bedingten Totzeit kann es zu einer zusätzlichen detektorbedingten Totzeit kommen.¹⁴² Dies liegt zum Teil daran, dass sich das elektrische Potential nach dem Herausschlagen von Elektronen erhöht und hierdurch bei nachfolgenden Ereignissen keine oder weniger Elektronen herausgeschlagen werden können. Dies wirkt sich auf CEMs stärker aus als auf SEVs. Zusätzlich wurde bei CEMs beobachtet, dass die Totzeit mit der Masse der Ionen zunehmen kann.¹⁴³ Dies liegt daran, dass Ionen bei gleicher Geschwindigkeit mit höherer Masse eine höhere Anzahl an Elektronen aus der Dynode herausgeschlagen als mit geringerer Massen. Zur Herstellung der Ausgangsspannung muss daher eine höhere Anzahl an Elektronen nachfließen. Die Höhe des zugehörigen Stromflusses wird allerdings über den elektrischen Widerstand begrenzt, der in einem CEM durch die Verwendung einer kontinuierlichen Dynode relativ hoch ist. Wird dieser Effekt bei der Auswertung der Signalintensitäten nicht adäquat kompensiert, kann dies zu einer massenabhängigen Signaldiskriminierung und zu unterschiedlich ausgedehnten linearen Bereichen für verschiedene Massen führen. Bei einem SEV hingegen schließen sich die für den Potentialaufbau verwendeten, diskreten Widerstände erst an die Konversionsdynode, so dass die Spannung an der Konversionsdynode nahezu augenblicklich wieder aufgebaut werden kann und der zugehörige Beitrag zur Totzeit daher minimal ist.

Kontinuierliche Dynoden lassen sich leicht miniaturisieren sowie zu Multi-Kanal-Arrays zusammenfassen.⁸⁷ In einem solchen Array besitzt jeder einzelne Kanal seine individuelle Totzeit. Treffen die Ionen allerdings über das gesamte Array verteilt auf, ist die Totzeit des gesamten Detektors um ein Vielfaches geringer als bei CEM oder SEV. Daher eignet sich dieser Detektortyp vor allem für ein TOFMS.

Können CEM und SEV nicht mehr zuverlässig im zählenden Modus betrieben werden, ist es auch mit diesen Detektoren möglich, die erzeugten Elektronen als analogen Strom zu messen. Wie bei den Faraday-Detektoren kann dieser ab ca. 10^4 cps ausgelesen werden,²¹ allerdings treten hier noch deutlich erhöhte Signalfluktuations auf. Da die Anzahl der primär herausgeschlagenen Elektronen einen direkten Einfluss auf den analog messbaren Strom hat, wirkt sich die kinetische Energie der Ionen, und damit auch die Masse, auf das Responseverhalten des Detektors aus. Der lineare Bereich dieses Messmodus endet bei ca. 10^8 - 10^{10} cps,²⁰ da hier die lokal anliegenden Potentiale nicht mehr aufrechterhalten werden können. Da die anliegenden negativen Potentiale mit erhöhtem Ionenstrom kontinuierlich ansteigen, ergibt sich ein stetiger Abfall der Empfindlichkeit, der als Sättigung bezeichnet wird. Auch hierfür zeigen sich diskrete Dynoden weniger anfällig als kontinuierliche. Eine hohe Anzahl impaktierender Ionen und Elektronen können zudem die Oberfläche der Dynode beschädigen. Am Ort des Auftreffens der Ionen kann sich darüber hinaus ein

Belag mit den zugehörigen Neutralteilchen bilden, der dazu führen kann, dass die Austrittsarbeit der Dynoden zunimmt und so der analog messbare Strom abnimmt. Dieser Vorgang wird als Alterung bezeichnet. Um dem entgegenzuwirken, kann die angelegte negative Spannung mit zunehmender Betriebsdauer erhöht werden. Bei SEVs besteht zudem die Möglichkeit das analoge Signal an einer Dynode in der Mitte des Detektors zu messen und so, bedingt durch die geringe Verstärkung, die im analogen Modus auftretenden Sättigungseffekte zusätzlich zu minimieren. Bei sogenannten „dual mode“ Detektoren wird in beiden Modi gleichzeitig gemessen und je nach Signalintensität ein Modus ausgewertet.

Um beim Überschreiten der Bereichsgrenze zwischen analogen und zählendem Modus eine einzige Kalibriergerade verwenden zu können, wird das analoge Signal in Pulsäquivalente umgerechnet und zur Berücksichtigung der unterschiedlichen Empfindlichkeit beider Modi mit einem Faktor (üblicherweise P/A-Faktor genannt; P/A – Puls /Analog) korrigiert. Dieser Faktor ist abhängig von den angelegten Spannungen an den Dynoden, der Alterung der Konversationsdynode und der folgenden Dynoden sowie der Masse der einfallenden Ionen. Neben dieser mathematischen Kompensation kann eine P/A-Übereinstimmung auch direkt über die Anpassung der anliegenden Spannungen erfolgen.

Darüber hinaus weisen SEV gegenüber CEM eine 50-100% höhere Empfindlichkeit auf.²¹ Daher werden in modernen Instrumenten überwiegend SEVs als Detektoren eingesetzt. In den im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendeten ICP-MS Instrumenten erfolgt die Detektion ebenfalls ausschließlich über Detektoren des SEV –Typs.

III.3.7. Interferenzen und Limitierungen in der ICP-MS

Obwohl die ICP-MS eine sehr robuste und zugleich empfindliche Technik für die Element-Spurenanalytik ist, können im Laufe des Analyseprozesses von der Probenvorbereitung bis zur Detektion Limitierungen auftreten. Wie bei der Verwendung der meisten Analysetechniken, ergeben sich bei der Probenvorbereitung schon in vielen Fällen Einschränkungen auf das Nachweisvermögen z.B. durch die Reinheit der verwendeten Säuren und Lösungsmittel ebenso wie durch die Reinheit der Arbeitsumgebung. Auch wenn ein Signaluntergrund durch Abzug des Blindwertes der verwendeten Chemikalien korrigiert werden kann, erhöht sich hierdurch dennoch die Nachweis- und Bestimmungsgrenze (Vergleich III.1). Um die untergrund- bzw. kontaminationsbedingten Limitierungen zu reduzieren, werden speziell aufgereinigte hochreine Säuren und Lösemittel verwendet und die Probenvorbereitung in speziellen Arbeitsumgebungen durchgeführt. Zum Schutz vor partikulären Verunreinigungen durch Staub (z.B. Hausstaub, Gebäudeabrieb oder Hautschuppen) wird in der Regel unter einem laminaren Strom aus gefilterter Luft gearbeitet – für höhere Ansprüche

werden Reinnräume mit spezieller Arbeitskleidung und Luftfiltersystemen verwendet. Neben Kontaminationen bei der Probenvorbereitung können auch spektroskopische Interferenzen und sogenannte Matrixeffekte eine Limitierung für eine Quantifizierung darstellen.

Beim Auftreten von spektroskopischen Interferenzen in der ICP-MS werden die m/z Verhältnisse der Analytionen von anderen Matrixbestandteilen überlagert. Spektroskopische Interferenzen werden in isobare Interferenzen (z.B. $^{40}\text{Ar}^+$ und $^{40}\text{Ca}^+$), Interferenzen von doppelt geladenen Ionen (z.B. $^{150}\text{Sm}^{2+}$ und $^{75}\text{As}^+$) und polyatomare Interferenzen (z.B. ^{56}Fe und $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$) unterteilt. Beim Auftreten von Interferenzen kann zunächst versucht werden, auf ein ungestörtes Isotop auszuweichen oder das Signal mit Hilfe einer mathematischen Interferenzkorrektur um den Anteil der Interferenzen zu kompensieren. Beispielsweise kann ^{115}In (relative Häufigkeit 96,7 %) - das Hauptisotop des Indiums - das häufig als interner Standard verwendet wird, in Gegenwart hoher Zinnkonzentrationen durch das Isotop ^{115}Sn (relative Häufigkeit 0,34 %) überlagert werden. Die Intensität des ^{115}Sn kann durch die Bestimmung von z.B. ^{118}Sn berechnet und vom Summensignal abgezogen werden. In der praktischen Anwendung erfolgt diese mathematische Korrektur anhand der theoretischen Isotopenverteilungen, alternativ kann auch eine experimentelle Ermittlung eines Korrekturfaktors mit Hilfe von Standardlösungen ermittelt werden, z.B. einer Messlösung, die Zinn, aber kein Indium enthält. Diese mathematische Interferenzkorrektur eignet sich gut für isobare Überlagerungen verschiedener einfach positiv geladener Ionen. Interferenzen von polyatomaren und doppelt geladenen Ionen zeigen, verglichen mit isobaren Interferenzen, deutlich höhere Signalfuktuationen, da ihr Auftreten stark von Plasmaeigenschaften abhängig ist. Eine mathematische Korrektur dieser Interferenzen ist daher störungsanfälliger und setzt somit sehr stabile Plasmabedingungen voraus.

In Fällen, in denen ein Ausweichen auf ungestörte Isotope nicht möglich ist, z.B. wenn ein Element wie As oder Mn monoisotopisch ist, oder mehrere Isotope gleichzeitig von verschiedenen Interferenzen betroffen sind, können spektroskopische Interferenzen mit Hilfe erhöhter Massenauflösung minimiert werden. Mit einem hochauflösenden Sektorfeld ICP-MS kann beispielsweise eine Massenseparation zwischen $^{75}\text{As}^+$ und $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ erreicht werden.¹⁴⁴ Eine weitere Möglichkeit zur Reduktion von polyatomaren Interferenzen bietet die Anwendung eines Kollisions- oder Reaktionsmodus. Da diese Technologie im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht verwendet wurde, wird im Folgenden die Funktionsweise nur allgemein und nicht vertiefend dargestellt. Zur Reduktion polyatomarer Interferenzen muss der aus dem Plasma extrahierte Ionenstrom bei reduziertem Druck einen zugesetzten Gasstrom passieren, bevor er in den Massenfilter gelangt. Hierzu ist bei den meisten modernen Quadrupol-Instrumenten nach dem Interface eine zusätzliche Kammer integriert, in der der zusätzliche Gasstrom zugegeben werden kann. Um ein Defokussieren

des Ionenstroms zu verhindern, ist in diese Kammer ein Quadrupol oder Oktopol zur Strahlfokussierung integriert. Je nach verwendetem Gas werden zwischen kollisions- und reaktionsbasierten Mechanismen unterschieden. Bei Verwendung eines Kollisionsgases (z.B. Helium) verlieren polyatomare Ionen aufgrund ihres größeren Stoßquerschnitts durch Kollisionen mit Gasteilchen mehr Energie als atomare Ionen und können daher durch Potentialbarrieren vor dem Massenfilter zurückgehalten werden. Wird ein reaktionsfähiges Gas zugesetzt (z.B. Ammoniak) kann die Anzahl der polyatomaren Ionen gezielt verringert werden (z.B. $\text{ArO}^+ + \text{NH}_3 \rightarrow \text{Ar} + \text{O} + \text{NH}_3^+$) oder der Analyt durch Reaktion auf einem anderen m/z-Verhältnis detektiert werden (z.B. $^{32}\text{S}^+ + ^{16}\text{O}_2 \rightarrow ^{32}\text{S}^{16}\text{O} + ^{16}\text{O}$).¹⁴⁵

Beim Auftreten von Matrixeffekten werden in Fällen gleicher Analytkonzentration in matrixfreien Kalibrierstandards und der Probe unterschiedliche Analytsignale gemessen. Die Ursachen hierfür können im gesamten Analyseprozess von der Probenzuführung bis zur Detektion liegen und sind daher oftmals schwierig zu identifizieren. Eine detaillierte Zusammenstellung der unterschiedlichen Ursachen bietet ein Übersichtsartikel von Agatemor et al.¹⁴⁶ Beim Eintrag flüssiger Proben kann eine unterschiedliche Viskosität der verschiedenen Lösungen zu einer Veränderung des eingetragenen Volumens bzw. der Aerosolcharakteristik bewirken. Bei der Anregung im ICP findet auch ein Energieübertrag auf die Matrix statt, so dass es bei hoher Matrixbeladung zu einem Absinken der Temperatur im Plasma kommen kann.¹⁴⁷ Zudem ist es möglich, dass eine Matrixbeladung Auswirkungen auf das elektronische Gleichgewicht im Plasma hat. So führt beispielweise ein Zusatz von 100-200 mg L⁻¹ Natrium lediglich zu geringen Veränderungen der Plasmatemperatur und der Elektronendichte im Plasma. Obwohl dieses Element eine sehr geringe Ionisierungsenergie besitzt, kann die Anwesenheit von Natrium über Gleichgewichtsprozesse, vor allem Rekombinationen, Elektronen aufnehmen und auf diese Weise aufgenommene Energie z.B. in Form von Photonen abgeben. Bei der erneuten Ionisierung kann daher ein Elektron mit geringerer Energie als das ursprünglich aufgenommene entstehen. Diese können wiederum mit Elementen mit hohem Ionisationspotential rekombinieren, wobei durch das gesunkene elektrische Potential im Plasma keine vollständige Ionisation dieses Elements mehr erfolgen kann. Elemente mit niedrigem Ionisationspotential können daher als Ionisationspuffer wirken. In Gegenwart von Na sinkt die Empfindlichkeit für Elemente mit niedrigem Ionisationspotential wie Ga und In weniger stark als für Analyten mit hohem Ionisationspotential wie Cd und Zn.¹⁴⁸ Zudem ist es möglich, dass sehr große eingetragene Partikel oder Tröpfchen im Plasma nicht vollständig verdampft werden.¹⁴⁹ Im Bereich des Interfaces und der Ionenoptik können weitere matrixbedingte Effekte wie z.B. Space-Charge-Effekte auftreten.¹⁵⁰ Da sich die Ionen innerhalb des extrahierten Ionenstrahls gegenseitig abstoßen, werden leichtere und damit mobilere Ionen stärker defokussiert. Besonders in Gegenwart einer

hohen Konzentration an schweren Ionen aus der Matrix kann dies zu signifikantem Verlust an Empfindlichkeit für leichte Analyten und in dessen Folge zu einer massenabhängigen Diskriminierung führen. Ein Großteil der Matrixeffekte lässt sich durch Verdünnung, Abtrennung oder Beseitigung der störenden Matrixkomponenten, interne Standardisierung, Wahl eines geeigneten Probeneintragssystems oder Matrix-angepasste Kalibrierung kompensieren. Somit ist im jeweiligen Einzelfall neben einer gründlichen Optimierung des Gerätes vor allem die Erfahrung des Analytikers gefordert.

III.3.8. Kalibriertechniken in der ICP-MS

Für den Eintrag verdünnter wässriger Lösungen als Kalibrierstandards und Probe ist es im Allgemeinen ohne weitere Maßnahmen möglich, mittels linearer Regression aus den bekannten Konzentrationen in den Standardlösungen und zugehörigen Signalintensitäten Kalibrierfunktionen zu berechnen und diese für eine quantitative Analyse der Probe zu verwenden. Dieses Verfahren wird als externe Kalibrierung bezeichnet. Um Schwankungen beim Probeneintrag oder Effekte zu kompensieren, die zu einem Gerätedrift führen können, wird meist ein interner Standard zugesetzt und das Analytsignal relativ zum Signal eines Isotops des zugesetzten Elements ausgewertet.

Eine Schwierigkeit liegt allerdings darin, Analyten aus einer nicht wässrigen Matrix, z.B. aus einem Feststoff, in eine in Wasser oder verdünnten Säuren gelöste Form zu überführen und dort zu stabilisieren. Da einige Analyten schon in neutraler Lösung als Hydroxide ausfallen können, während andere besser im basischen stabilisiert werden können, ist die Wahl des richtigen pH-Werts essentiell. Da der Großteil der Elemente, die mit der ICP-MS bestimmt werden können, zu den Metallen gehört, welche sich besonders in hohen Oxidationsstufen gut lösen lassen, ist eine häufig verwendete Strategie die Überführung der Analyten und Matrix durch Auflösung oder Aufschließen mit verschiedenen Säuren in wässriger Lösung. Hierbei können oxidierende Säuren wie Salpetersäure oder Schwefelsäure in Kombination mit Wasserstoffperoxid oder Perchlorsäure verwendet werden, sowie komplexierende Säuren wie z.B. Salzsäure. Mit letzteren lassen sich z.B. auch Adsorptionseffekte an Oberflächen z.B. Gefäßwänden oder in der Probenezuführung minimieren. Um die Analyten auch nach einem Aufschluss in Lösung zu halten, ist es ratsam Messlösungen oder Verdünnungen in typischerweise 1-3 %igen, verdünnten Säure zu stabilisieren.

Der Zusatz von Säuren wirkt sich jedoch z.B. auch auf die Zerstäubungs- und Transporteffizienz in der Sprühkammer aus.¹⁵¹ Ändert sich die Menge an eingetragenen Probenvolumen, kann dies zu systematischen Fehlern bei einer Quantifizierung mittels externer Kalibrierung führen. Solche Effekte können auch zeitlich transient beim Wechsel von konzentrierten auf weniger konzentrierte Säurelösungen auftreten, und so zu einem Signaldrift führen.¹⁵² Daneben können zugesetzte Säuren

zur Erhöhung des Untergrundes durch polyatomare Interferenzen führen und die Plasmatemperatur beeinflussen. Ähnliche Effekte sind auch für organische Matrices bekannt.¹⁵³ Die meisten dieser Effekte lassen sich durch Matrix-angepasste Kalibrierung kompensieren. Dazu gehört im einfachsten Fall bereits die Stabilisierung von Prüflösung und Kalibrierlösung z.B. mithilfe 1-3 %iger Salpetersäure.

Ist die Matrix unbekannt, sehr komplex oder als Zusatz für die Kalibrierstandards nicht erhältlich, kann auf die Methode der Standardaddition zurückgegriffen werden. Hierbei werden der Probe bekannte Mengen an Standardlösungen zugegeben und die Steigung bzw. Empfindlichkeit direkt in Gegenwart der Matrix ermittelt. Aus den bekannten Zusätzen an Analyt und den erhaltenen Signalen bei Analyse von Aliquoten der Probe und dotierten Aliquoten kann die Analytkonzentration der undotierten Probe extrapoliert werden. Dieses Kalibrierverfahren eignet sich besonders für Proben bei denen sehr starke Matrixeffekte erwartet werden. Diese Kalibriertechnik wurde auch bei einem gemeinsamen Projekt mit Michael Kundel zur Brom- und Jodbestimmung in Algenproben angewendet,¹⁵⁴ die im Rahmen des Graduiertenkollegs 826: „Spurenanalytik von Elementspezies: Methodenentwicklung und Anwendungen“ parallel zu dieser Arbeit durchgeführt wurden. Bei der Analyse basischer Extrakte verschiedener gefriergetrockneter Algenarten konnten dabei deutliche Empfindlichkeitsunterschiede für die beiden Halogene in den unterschiedlichen Extraktionslösungen beobachtet werden.

Zur quantitativen Bestimmung von Analyten, die während der Probenvorbereitung möglicherweise teilweise verloren gehen können, z.B. bei konzentrationsabhängigen oder nicht vollständig bekannten Gleichgewichtslagen bei Extraktionen oder Anreicherungen, empfiehlt sich die Methode der Isotopenverdünnung (ID - isotope dilution). Der Probe wird vor den kritischen Schritten der Probenvorbereitung das zu bestimmende Element in einer bekannten Konzentration und mit einer bekannten Isotopenverteilung zugesetzt, welches zudem von dem in der Probe vorliegenden Isotopenverhältnis abweicht. Eine solche Lösung wird als Isotopenstandard bezeichnet. Während einige Elemente, je nach Herkunft bzw. Entstehungsgeschichte mit unterschiedlichen Isotopenverhältnissen gewonnen werden können, müssen zur Herstellung der meisten Isotopenstandards An- oder Anreicherungsprozesse durchgeführt werden. Isotopenstandards sind daher kommerziell nicht für alle Elemente erhältlich und der Erwerb ist teilweise mit hohen Kosten verbunden. Für einige Probenvorbereitungsschritte z.B. Extraktion oder Anreicherung, sowie für Einsatz von Trenntechniken kann zudem eine Verwendung eines speziesspezifischen Isotopenstandards notwendig sein, damit der Zusatz die gleichen physikalischen und chemischen Eigenschaften besitzt wie der Analyt. Für die Quantifizierung wird jeweils das Isotopenverhältnis in der dotierten und ursprünglichen Probe ermittelt. Durch den Zusatz des Isotopenstandards

verschiebt sich das Isotopenverhältnis in der dotieren Probe. Eine Berechnung der Analytkonzentration c_p kann nach Gleichung 34 erfolgen.¹⁵⁶ Hierbei steht der Index I für den Isotopenzusatz und p für die Probe. V sind die jeweiligen Volumina oder ggf. auch Massen, c die jeweilige Konzentration, h die relativen Häufigkeiten der betrachteten Isotope 1 und 2 und R das ermittelte Isotopenverhältnis.

$$c_p = c_I \frac{V_I}{V_p} \left(\frac{h_I^2 - R \cdot h_I^1}{(R \cdot h_p^1 - h_p^2)} \right) \quad \text{Gleichung 34}$$

Einen umfassenden Überblick über die verschiedenen Anwendungsbeispiele dieser Quantifizierungsstrategie kann einem Übersichtsartikel von Heumann entnommen werden.¹⁵⁵

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die externe Kalibrierung und die Standardaddition verwendet. Ein detaillierter Überblick zu weiteren verschiedenen Quantifizierungsstrategien findet sich beispielsweise in einem Übersichtsartikel von Präfrock und Prange.¹⁵⁶

III.4. Laserablation

Allgemeiner Überblick: Laser in Wissenschaft und Technik

Der Laser gehört zu den bedeutendsten Erfindungen des 20. Jahrhunderts. Der Begriff Laser ist ein Akronym für "light amplification by stimulated emission of radiation", was übersetzt *Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung* bedeutet und das Funktionsprinzip beschreibt. Ein Laser emittiert elektromagnetische Strahlung mit hoher Parallelität und Kohärenz in einem jeweils sehr engen Wellenlängenbereich. Im diesem Kapitel wird eine allgemeine Einführung in diese Thematik gegeben. Die Funktionsweise eines Lasers wird in Kapitel III.4.1 diskutiert und in den Folgekapiteln III.4.3-III.4.6 die Laserablation in Verbindung mit der ICP-MS detailliert beschrieben.

Das Prinzip der strahlungsstimulierten und in Stimulationsrichtung gerichteten Strahlungsemission wurde bereits 1916 von Einstein postuliert.¹⁵⁷ Der erste Laser konnte jedoch erst 1960 von Maiman konstruiert werden.¹⁵⁸ Seitdem konnten bereits Laser für einen Großteil des Spektralbereichs - von Mikrowellen - bis zu Röntgenstrahlung konstruiert werden. Die Laser-Technik hat sich in den letzten Jahrzehnten so stark verbreitet, dass sich ihre Verwendung aus unserem Alltag kaum wegdenken lässt. Laser sind in Alltagsgegenständen wie beispielsweise Laserpointern, Laserdruckern oder DVD-Laufwerken (DVD - **d**igital **v**ersatile **d**isc) integriert. Sie können zum Schneiden, Bohren, Fräsen oder Schweißen bei hochautomatisierten industriellen Fertigungen oder medizinischen Eingriffen

eingesetzt werden. Im Bereich der Forschung und Entwicklung hat der Einsatz der Lasertechnik tiefere Einblicke in die Natur ermöglicht.

In der analytischen Chemie werden Laser wegen ihrer intensiven, monochromen Strahlung häufig in der Spektroskopie verwendet. Ein prominentes Beispiel hierfür ist die Raman-Spektroskopie, in der Laser schon sehr kurz nach ihrer Erfindung eingesetzt wurden.¹⁵⁹ In einigen spektroskopischen Anwendungen, z.B. solchen, die im Zusammenhang mit Absorptionsprozessen wie bei der Bestimmung von Verbrennungsprodukten in der Gasphase stehen,¹⁶⁰ werden zudem häufig durchstimmbare Laser verwendet, ohne zusätzliche Monochromatoren wie sie in klassischen Anwendungen notwendig sind. Hierbei handelt es sich um Laser, bei denen aus einem breiten Resonanzbereich ein variabler auswählbarer laseraktiver Übergang verstärkt und ausgekoppelt werden kann. Da sich Laser über Optiken bis in den Submikrometerbereich fokussieren lassen, eignen sie sich ebenfalls zur orts aufgelösten Mikroanalyse. Aufgrund der hohen Strahlungsdichte, die besonders bei gepulsten Lasern realisierbar ist, können Laser zur direkten Ionisierung verwendet werden (LIMS - **L**aser **I**onization **M**ass **S**pectrometry).¹⁶¹ Ebenso ist eine Matrix unterstützte Laserdesorption mit anschließender Ionisierung möglich (MALDI - **M**atrix **A**ssisted **L**aser **D**esorption and **I**onization).¹⁶² Bei diesem Verfahren werden die Matrix und der darin eingebettete Analyt durch den Laser verdampft. Bei der Ionisation, deren Mechanismus noch nicht vollständig bekannt ist,⁸⁷ kommt es vor allem zum Übertrag von Protonen und Na^+ auf einen Analyten, der als Lewis-Base reagiert. Durch entsprechende Fokussierung solcher Laser können in geeigneten Medien auch Plasmen erzeugt werden. In der laserinduzierten Plasmaspektroskopie (LIBS - **L**aser **I**nduced **B**reakdown **S**pectroscopy)¹⁶³ werden die Analyten in solchen Plasmen angeregt und können über ihre optische Emission (siehe auch: Kapitel III.3.2) detektiert werden.

Von großer Bedeutung für die vorliegende Arbeit ist vor allem die Möglichkeit zur Überführung der zu untersuchenden festen oder flüssigen Probe mittels Laserstrahlung in die Gas- bzw. gasgetragene flüssige oder feste Partikelphase (Aerosol), um diese einem angeschlossenen analytischen Instrument zuzuführen. Die Laserablation (LA) konnte z.B. erfolgreich mit der ICP-OES,¹⁶⁴ der ICP-MS,¹⁶⁵ LIBS,¹⁶⁶ der Elektrospray MS (ESI - **E**lectrospray **I**onization) oder der Glimmentladungs-Massenspektrometrie bei Atmosphärendruck¹⁶⁷ gekoppelt werden. In der Praxis hat sich die Laserablation (LA) in Kombination mit dem ICP-MS als eine besonders leistungsstarke Analysetechnik für die direkte und orts aufgelöste Spurenanalyse der meisten chemischen Elemente etabliert. Ein hoher Energieeintrag mittels stark fokussierten Laserstrahlen auf eine Probe führt dazu, dass über unterschiedliche Prozesse (siehe auch Kapitel III.4.3) Probenmaterial, auch aus mechanisch und thermisch sehr stabilen Matrices, abgetragen wird und dabei in Form eines Aerosols

abtransportiert werden kann. Bei der LA wird typischerweise eine Fläche mit einem Durchmesser von einem bis mehreren hundert μm beprobt. Da der Probenabtrag pro Laserpuls auf einer Fläche je nach Energie von wenigen hundert Nanometern bis einigen Mikrometern liegt, wird aus der Probe nur eine Masse im Piko- bis Nanogrammbereich in die Gasphase überführt. In Verbindung mit einer minimalen Probenvorbereitung- z.B. Reinigung der Probenoberfläche – wird die LA daher häufig als quasi zerstörungsfreie Probenzuführungsmethode bezeichnet. Um bei solch geringen Substanzmengen quantitative Analytik im Spuren- und Ultraspurenbereich zu betreiben, ist der Einsatz von nachweisstarken und hochempfindlichen Detektionssystemen notwendig. Diese Anforderungen erfüllt die ICP-MS (Vergleich Kapitel III.3), da bereits wenige Femtogramm der meisten Elemente als Analyt detektiert werden können. Diese instrumentelle Technik ermöglicht sogar die Detektion von Analytsignalen, die mit einzelnen Laserpulsen abgetragen wurden. Die ICP-OES als alternatives Detektionssystem in diesem Zusammenhang spielt zunehmend eine geringere Rolle. Ein Grund ist ihr geringeres Nachweisvermögen. Zudem besteht neben der Quantifizierung unterschiedlicher Elemente auch in einigen Anwendungen, wie der Altersbestimmung verschiedener Gesteine, Provenienzbestimmungen in Forensik oder Archäologie sowie in der Nukleartechnik, Interesse an der präzisen Bestimmung verschiedener Isotopenverhältnisse, welche mittels ICP-OES nur zugänglich sind, wenn sich die elektrische Konfiguration der Isotope und damit die erlaubten Übergänge im messbaren Energie- bzw. Wellenlängenbereich unterscheidet. Die Möglichkeit, feste und flüssige Proben ohne aufwendige Probenvorbereitungsschritte wie Aufschlüsse oder Extraktionen zu analysieren, hat die LA-ICP-MS zu einer beliebten Technik zur direkten und orts aufgelösten Elementanalytik werden lassen. Einschränkungen für die quantitative Analytik ergeben sich jedoch durch verschiedene Matrixeffekte in LA und ICP-MS (siehe auch Kapitel III.3.7, Kapitel III.4.3)

III.4.1. Physikalische Grundlagen und Funktionsweise von Lasern

Zu den physikalischen Grundlagen, die die Konstruktion eines optischen Lasers ermöglichen, gehören verschiedene Elektron-Photon-Wechselwirkungen sowie strahlungslose Energieübergänge von Elektronen (Abbildung 12). Elektronen, die z.B. in Atomen, Ionen, Molekülen oder den Bandstrukturen von Festkörpern gebunden sind, können durch Absorption eines Photons Energie aufnehmen und hierdurch in einen energetisch höheren Zustand übergehen. Dieser Prozess ist auch umkehrbar, so dass ein angeregtes Elektron Energie in Form eines Photons emittieren kann. Die Emission kann als spontane oder als stimulierte Emission erfolgen. Letztere kann auftreten, wenn ein Photon mit gleichgroßer Energie wie die Differenz zwischen beiden beteiligten Energieniveaus mit dem System durch seine elektromagnetische Schwingung wechselwirkt und das System in der Folge ein zusätzliches Photon mit gleicher Phase und Ausbreitungsrichtung wie das stimulierende emittiert.

Während die Energiedifferenz der beteiligten Energieniveaus die Wellenlänge der absorbierten oder emittierten elektromagnetischen Strahlung definiert, wird die Übergangswahrscheinlichkeit durch die Symmetrie der jeweiligen quantenmechanischen Zustände bestimmt. Gemäß Fermis goldener Regel ist diese Übergangswahrscheinlichkeit proportional zum Überlappungsintegral der beiden Wellenfunktionen. In einem System mit zwei Zuständen besitzen Emission und Absorption somit die gleiche Übergangswahrscheinlichkeit. Es kommt daher zur Einstellung eines Verteilungsgleichgewichts, bei dem sich bei moderaten Temperaturen mehr Elektronen im Grundzustand befinden, als im angeregten Zustand und so die Absorption gegenüber der Emission überwiegt.

Bei einem Laser soll dagegen eine verstärkte stimulierte Emission erfolgen. Damit die Absorption in einem geringeren Maß auftritt als die Emission muss eine Besetzungsinversion erzeugt werden, also ein Zustand bei dem sich mehr Elektronen im angeregten Zustand befinden als in dem Zustand, in den die Elektronen nach Emission des Photons übergehen. Um einen solchen Zustand durch elektromagnetische Absorptionsprozesse zu erzeugen, ist ein elektronisches System mit mindestens drei Energieniveaus notwendig (Abbildung 12). Die Elektronen können in einem solchen System durch Absorptionsprozesse aus dem Grundzustand in das oberste Energieniveau gepumpt werden, aus dem sie über strahlungslose Übergänge in das energetisch niedrigere mittlere Niveau übergehen. Während die strahlungslosen Übergänge in der Regel mit höheren Transferraten als Anregungsrate ablaufen, müssen die Elektronen - um eine Besetzungsinversion zu erreichen - im Niveau aus dem die Emission erfolgt, für eine Zeitspanne, die größer ist als die Verweildauer im Grundzustand unter Anregungsbedingungen, metastabil sein.

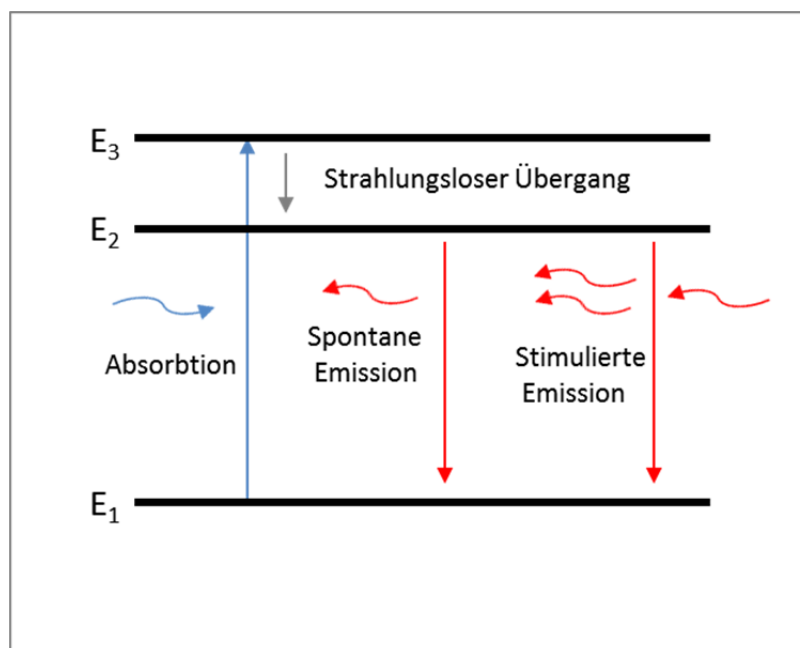


Abbildung 12: Elektronische Energieübergänge in einem Drei-Niveau-System.

Beispielweise sind Elektronen im emittierenden Energieniveau eines Rubinlasers, bei dem die Emission aus in Korund eingelagerten angeregten Cr^{+3} Ionen erfolgt, für im Mittel etwa 5 ms metastabil.¹⁶⁸ Aus diesem metastabilen angeregten Zustand kann es nun konkurrierend zu spontaner oder stimulierter Emission kommen. Da die Photonen bei spontaner Emission eine zufällige Richtung und Phase annehmen, ist es für die Konstruktion eines Lasers essentiell, die spontane Emission zu minimieren und möglichst nur kohärente Photonen aus stimulierter Emission in die vorgesehene Richtung auszukoppeln. Dies kann durch Reflektions- und Beugungsprozesse erreicht werden. In Abbildung 13 ist ein allgemeiner Aufbau eines Lasers dargestellt.

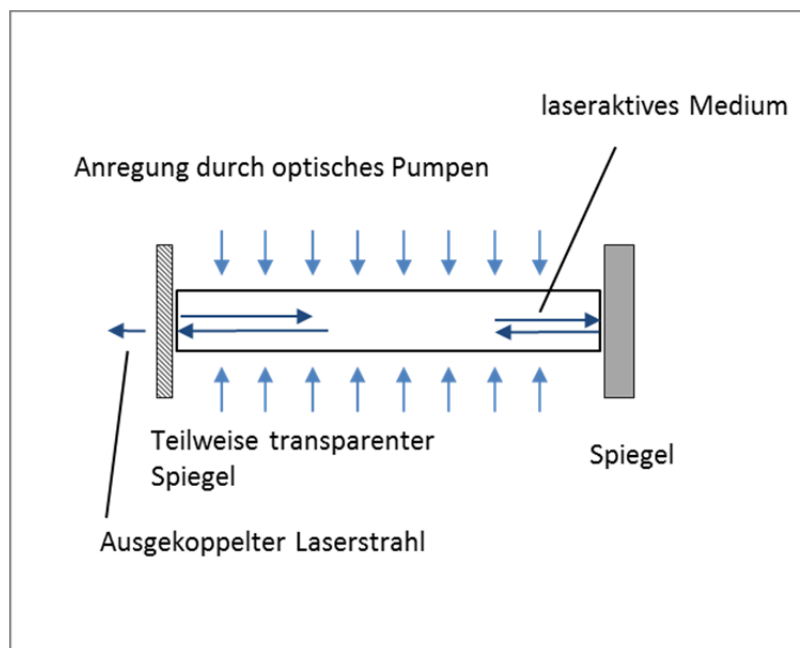


Abbildung 13: Schematischer Aufbau eines Stablasers.

Bei einem Stablasers (Abbildung 13), wie dem ersten von Mainman konstruierten Rubin-Laser,¹⁵⁸ wird ein zylinderförmiges, laseraktives Medium an der einen Zylinderfläche komplett verspiegelt, und an der anderen, der Austrittsseite, teilweise verspiegelt. Das laseraktive Medium kann hierbei aus Gasen, Flüssigkeiten, Feststoffen oder Plasmen bestehen, in denen eine Besetzungsinversion erzeugt und anschließend eine stimulierte Emission verstärkt werden kann (siehe Kapitel III.4.2). Die Anregung erfolgt häufig durch Lichteinstrahlung über den Mantel. Durch diese Geometrie wird der Anteil der spontanen Emission, der nicht parallel zur Zylinderachse erfolgt, über die Mantelfläche aus dem Medium abgegeben. Der Teil der spontanen Emission, der sich in Richtung der Zylinderflächen ausbreitet, kann zwischen den beiden Spiegeln oszillieren und auf dem Weg durch das Medium die Emission weiterer Photonen mit gleicher Phase und Ausbreitungsrichtung stimulieren. Daher wird der Bereich zwischen den beiden Spiegeln auch als Resonatorraum bezeichnet. Damit der Laser startet, muss nun die sogenannte Laserschwelle überwunden werden, was bedeutet, dass die

Verstärkung der oszillierenden Strahlung größer sein muss als die Verluste durch Absorption und Streuung im laseraktiven Medium sowie Auskopplung der Laserstrahlung. Hierfür muss eine ausreichend hohe Besetzungsinversion vorliegen. Ist diese Schwelle überschritten, kommt es in einem solchen System zu einer Verstärkung der Emission, bis sich entweder ein Gleichgewicht einstellt, oder sich zu wenige Elektronen im angeregten und emittierenden Energieniveau befinden und der Laser stoppt. Hieraus ergeben sich zwei unterschiedliche Lasertypen: der kontinuierlich emittierende Dauerstrichlaser und der gepulste Laser. Um für den Betrieb eines Dauerstrichlasers eine kontinuierliche Besetzungsinversion aufrecht zu erhalten, ist in der Regel ein laseraktives Medium mit mindestens vier Energieniveaus notwendig. Zu den bereits diskutierten drei Energieniveaus kommt ein zusätzliches Energieniveau zwischen Grundzustand und emittierendem Niveau hinzu, das das Elektron nach der Photonenemission zunächst aufnimmt und von dem es über schnelle strahlungslose Übergänge in das Ausgangsniveau zurückkehren kann.¹⁷⁰ Hierdurch ist das aufnehmende Energieniveau nur in geringem Masse besetzt und eine Besetzungsinversion lässt sich durch optisches Pumpen permanent aufrechterhalten. Die Strahlungsleistung ist somit proportional zur Pumpleistung. Da allerdings ein Teil der Pumpleistung in Wärme umgewandelt wird, die zu einer thermischen Zerstörung des Lasermediums führen kann, ist die erreichbare Strahlungsleistung auch durch die erreichbare kontinuierliche Kühlungsleistung limitiert. Dauerstrichlaser besitzen meist deutlich geringere maximale Strahlungsleistungen als gepulste Laser, bei denen zunächst Energie im angeregten Zustand gesammelt und schlagartig in einem kurzen Zeitraum abgegeben werden kann.

Gepulste Laser

Für den Betrieb eines gepulsten Lasers wird das laseraktive Niveau – ähnlich wie ein elektrischer Kondensator - über das optische Pumpen aufgeladen. Wird die Laserschwelle erreicht, werden die angeregten Elektronen in kurzer Zeit zur Photonenemission stimuliert und dadurch die Besetzungsinversion aufgehoben. Es entsteht ein kurzer Laserpuls. Die Anregung kann kontinuierlich oder ebenfalls gepulst erfolgen. Eine gepulste Anregung bietet den Vorteil, dass die Zeit zwischen den Anregungspulsen zur Kühlung des laseraktiven Mediums verwendet werden kann. Um hohe maximale Strahlungsdichten zu erreichen, werden daher in der Regel gepulste Anregungsquellen wie Blitzlampen oder ebenfalls Laser verwendet. Sind die Elektronen im angeregten Zustand hinreichend lange stabil, können für die Erzeugung eines Laserpulses auch mehrere Anregungspulse in das Medium eingetragen werden. Um die Laserschwelle während der Anregungszeit zu erhöhen, wurde von McClung und Hellwarth schon 1962 die Entwicklung einer Güteschaltung vorgestellt.¹⁶⁹

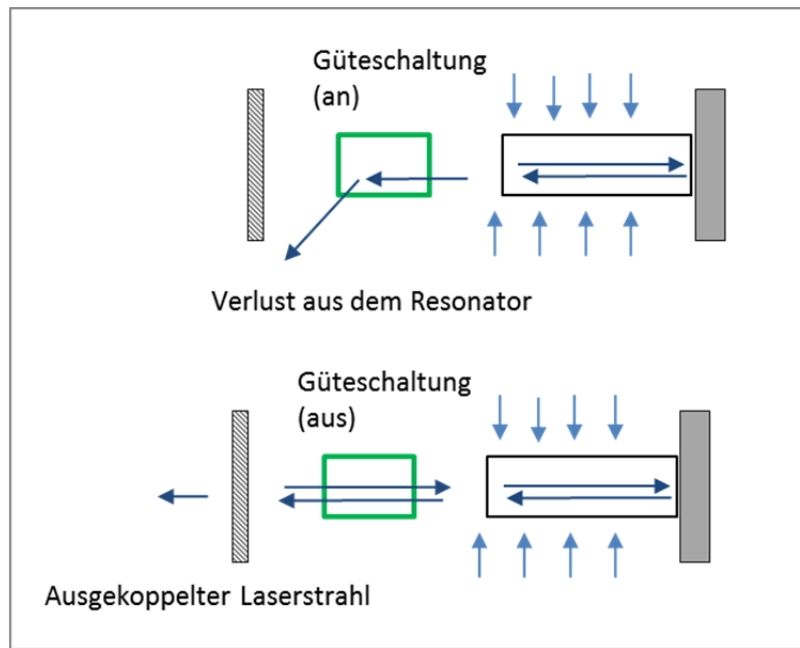


Abbildung 14: Schematischer Aufbau eines Stablasers mit Güteschaltung.

Bei einem solchen Aufbau wird während der Anregungsphase der Verlust der spontanen Emission aus dem Resonatorraum erhöht (Abbildung 14). Hierdurch wird die Laserschwelle erhöht und es lässt sich ein höherer Grad der Besetzungsinversion erreichen, aus dem ein intensiverer Laserpuls resultiert. Nach dem Pumpvorgang wird die Verlustmodulation beendet und damit die Rückkopplung in das Lasermedium wieder hergestellt. Güteschaltungen können passive z.B. mit Hilfe von sättigbaren oder aktiv schaltbaren Absorbern realisiert werden. Eine ältere Methode für aktive Güteschaltung basiert auf beweglichen Spiegeln. Alternativ können auch akustooptische Modulatoren eingesetzt werden. Bei diesen erzeugt ein Ultraschallemitter Schallwellen im Inneren eines transparenten Mediums z.B. Quarz und es kommt durch den photoelastischen Effekt zum Verlust der einfallenden Strahlung durch Beugungsprozesse.¹⁷¹ Für polarisierte elektromagnetische Strahlung bieten elektrooptische Modulatoren eine weitere Möglichkeit zur Realisierung einer Güteschaltung. Bei diesen erzeugt eine angelegte Spannung durch den elektrooptischen Effekt eine Veränderung der Polarisierungsrichtung. Je nach Polarisationsrichtung kann durch einen anschließenden Polarisationsfilter die Strahlung aus dem Resonatorraum absorbiert werden. Darüber hinaus kann in KH_2PO_4 (KPD) oder KD_2PO_4 (DKPD) Kristallen durch den Pockels-Effekt eine elektrisch modulierbare Doppelbrechung induziert werden.¹⁷¹ Mit Hilfe einer auf diesem Prinzip basierenden, sogenannten Pockel-Zelle lässt sich eine Güteschaltung für die häufig verwendeten Lasertypen wie den Neodym dotieren Yttrium-Aluminium-Granat-Laser (Nd:YAG) und ArF-Excimerlaser realisieren (Vergleich Kapitel III.4.2).

Mit einer Güteschaltung lässt sich die Pulsbreite eines Lasers minimieren und gleichzeitig die Spitzenleistung erhöhen. Bei kontinuierlich angeregten Lasern hängen beide Größen zusätzlich von der modulierten Betriebsfrequenz des Lasers ab. Die minimal realisierbare Pulsbreite liegt in der Größenordnung der Resonatorlebensdauer und liegen somit im Bereich von einigen Nano – bis Mikrosekunden.¹⁷¹

fs-Laser

Kürzere Pulse lassen sich durch eine sogenannte Modenkopplung erzeugen. Mit Moden bezeichnet man die verschiedenen stehenden Wellen, die sich im Resonatorraum ausbilden können. Abhängig von der Länge des Resonatorraums und der Frequenzbreite des Lasers können mehrere Lasermoden existieren und gleichzeitig ohne feste Phasenbeziehung anschwingen. Diese können durch einen resonanzinternen Frequenzmodulator in eine feste Phasenbeziehung zueinander gekoppelt werden. Hierbei wird eine Frequenzverschiebung im Oszillatorraum erzeugt, die ein Einkoppeln der Strahlung aus einer Mode in eine benachbarte bewirkt. Die verschobene Mode kann hierbei ebenfalls durch stimulierte Emission verstärkt werden. Bei der Kopplung mehrerer Moden bildet sich eine zeitliche Interferenz aus, bei der – analog zur räumlichen Interferenz – zu bestimmten Zeiten Verstärkung und Abschwächung auftritt. Die resultierende Pulsbreite wird dabei vor allem durch die Anzahl der gekoppelten Moden (m) und dem Abstand der Longitudinalmoden ($\Delta\nu_{\text{FDR}}$) gemäß Gleichung 35 bestimmt.¹⁷¹

$$\tau_P \simeq \frac{1}{(2m+1)\Delta\nu_{\text{FSR}}} \quad \text{Gleichung 35}$$

Mit Hilfe einer Modenkopplung lassen sich Pulsbreiten von wenigen Femto- bis Pikosekunden realisieren. In der Praxis werden aufgrund seiner großen spektralen Bandbreite und damit verbundenen Modenanzahl häufig Saphir-Laser eingesetzt.

Frequenzvervielfältigung

In optisch nichtlinearen Kristallen oder Medien lassen sich optische Frequenzen mischen bzw. überlagern und hierdurch eine Vervielfältigung der Ausgangsfrequenz erreichen.¹⁷² Die Bezeichnung nichtlinear bezieht sich hierbei auf den Zusammenhang zwischen einfallendem elektrischem Feld und resultierender Polarisation in einem Kristall. Damit eine nichtlineare Beziehung resultiert, ist eine besondere elektronische Struktur des Mediums erforderlich. Durch repulsive elektrische Potentiale wird die Amplitude der Schwingung in diesen Systemen eingeschränkt und es kommt zu einer Abweichung von einer sinusförmigen Schwingung der durch die einfallende Strahlung zur Oszillation angeregten Dipole. Bei hohem Energieeintrag können diese Dipole in harmonische

Oberschwingungen der Anregungsfrequenzen geraten und die elektromagnetische Strahlung mit der zugehörigen Frequenz abstrahlen. Die Intensität (I) der abgestrahlten summierten Frequenz (ω_{1+2}) ist hierbei proportional zum Produkt der Anregungsfrequenzen (ω_1 und ω_2) bzw. im Fall von nur einer Anregungsfrequenz zur entsprechenden Potenz (Gleichung 36):¹⁷²

$$I_{\omega_1+\omega_2} \propto I_{\omega_1} I_{\omega_2} \text{ bzw. } I_{\omega_1+\omega_1} \propto I_{\omega_1}^2 \quad \text{Gleichung 36}$$

Um nicht zu hohe Umwandlungsverluste in Kauf nehmen zu müssen, wird die Frequenzvervielfachung über nichtlineare Optiken daher meist bei gepulsten Lasern mit hohen Spitzenintensitäten verwendet. Da die Vervielfachung jedoch nur anteilig abläuft, steht auch bei diesen Lasertypen nur ein Bruchteil der Strahlungsleistung in der erhöhten Frequenz zur Verfügung. Die Energie der einzelnen Photonen wird hingegen erhöht.

Von technischer Relevanz sind hierbei vor allem die Frequenzverdopplung und die Frequenzaddition. Beides lässt sich mit nichtlinearen Kristallen wie KDP, LiNbO₃ oder β -BaB₂O₄ erreichen. Hierbei sind alle bisher bekannten Materialien allerdings auf eine Grenzwellenlänge von ca. 190 nm beschränkt, da bei kleineren Wellenlängen die Absorption zu groß wird und infolgedessen die Transmission gegen Null tendiert.

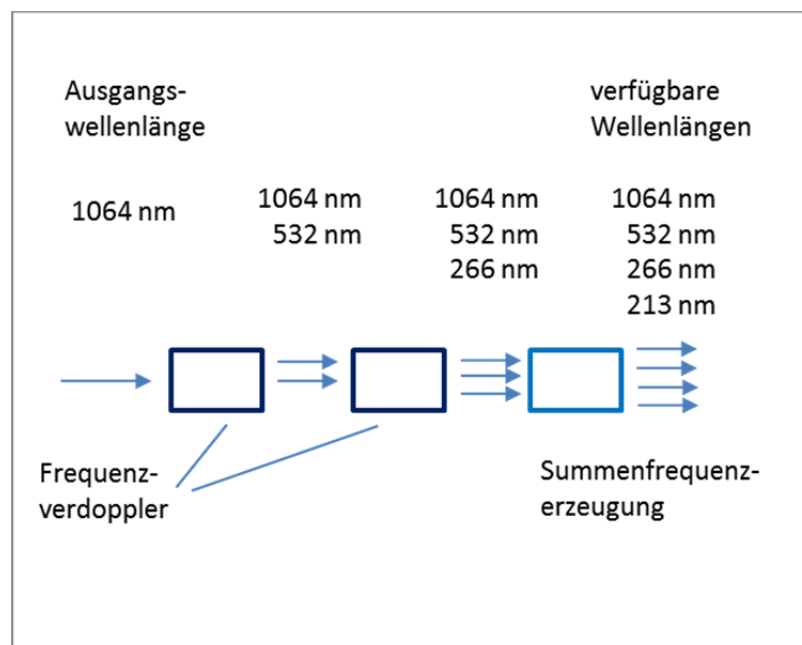


Abbildung 15: Schematischer Aufbau eines Frequenzvervielfachers am Beispiel der Verfünfachung der Ausgangsfrequenz eines Nd:YAG Lasers.

Höhere Vervielfältigungsgrade werden meist über mehrfache Verdopplung und Mischung der verfügbaren Wellenlängen erreicht. Eine Frequenzverfünfachung (Abbildung 15) kann z.B. über eine

Überlagerung aus der Grundfrequenz mit der vierten Harmonischen oder aus der dritten mit der zweiten erreicht werden.

III.4.2. Übersicht über verschiedene Lasermedien.

Während im vorigen Kapitel vor allem die physikalischen Grundlagen von Lasern diskutiert wurden, wird in diesem Abschnitt ein Überblick über die verschiedenen Lasermedien und die Eigenschaften der zugehörigen Laserstrahlung gegeben.

Festkörperlaser

Festkörperlaser gehören zu den heute meist verbreiteten Lasern. Bei diesen besteht das Medium aus einem transparenten Kristall oder Glas, in dem laseraktive Ionen eingebettet sind. Diese Ionen gehören meist zu den Übergangsmetallen oder Seltenen Erden (SE). Zu den für die Laserkonstruktion verwendeten Gläsern gehört vor allem das Fluoridglas $ZrF_4-BF_2-LaF_3-AlF_3-NaF$ (ZBLAN) und Quarzglas (SiO_2), bei den Wirtskristallen werden häufig Al_2O_3 in Form von Korund bzw. Saphirglas und Yttrium-Aluminium-Granat (YAG) verwendet. Daneben finden sich viele weitere Yttrium enthaltende Kristalle wie $YLiF_4$ (YLF), YVO_4 und $YAlO_3$ (YALO).¹⁷³ Zu den wichtigsten Ionen gehören Ti^{3+} , Cr^{3+} , Nd^{3+} und Tm^{3+} . Der bereits in Kapitel III.4.1 beschriebene Rubin- oder $Cr:Al_2O_3$ -Laser besitzt zwei Absorptionsmaxima bei 400 und 550 nm, über die beiden zugehörigen Anregungsvorgänge können Elektronen in einen metastabilen Zustand mit mittlerer Lebensdauer (τ) von 5 ms gelangen, aus dem eine Emission mit 694 nm stattfindet.¹⁶⁸ Der weitverbreitete Nd:YAG Laser besitzt Absorptionsmaxima bei 808 und 875 nm, eine τ von 250 μs und Emissionslinien bei 946 nm (25 %), 1064 (60 %), 1430 nm (14 %) sowie einen geringen breiten Emissionsbereich von 1700-2100 nm (1 %). Bei Verwendung von Nd:YALO verschieben sich die Absorptionslinien minimal zu 813 und 876 nm, jedoch findet eine Emission nur noch bei 930 nm statt und die τ verringert sich auf 160 μs . Nd:VO₄ absorbiert bei 809 und 880 nm, emittiert bei 915 nm und besitzt eine τ von 100 μs .¹⁷³ An dieser Gegenüberstellung lässt sich gut erkennen, dass die Absorption primär über das jeweilige Ion definiert wird, während der Wirtskristall vor allem Einfluss auf die Lebensdauer und das Emissionsprofil besitzt. Der Ti:Al₂O₃ oder Saphir-Laser besitzt ein breites Absorptionsspektrum bei ca. 450-600 nm und eine Fluoreszenz bei ca. 700-900 nm. Die mittlere Lebensdauer des angeregten Zustands liegt mit 3,1 μs deutlich geringer als bei SE-Lasern. Ti:Al₂O₃ eignet sich daher als Medium für durchstimmbare Laser sowie zur Erzeugung ultrakurzer Pulse.

Als Anregungsquellen für Festkörperlaser werden häufig Blitzröhren verwendet. Hierbei handelt es sich um mit Xe oder Kr gefüllte Glasröhren in denen durch Anlegen eines hohen Spannungsimpulses eine Plasmaentladung gezündet wird. Aufgrund der hohen thermischen Beanspruchung besitzen Blitzlampen eine beschränkte Lebenszeit von einigen Millionen Blitzzyklen. Daneben kann die

Betriebsfrequenz der Blitzröhren eine Limitation für den Laser darstellen. Vermehrt werden auch Hochleistungsdioden oder die im folgenden Abschnitt beschriebenen Halbleiterlaser zur Anregung verwendet. Der $\text{Ti:Al}_2\text{O}_3$ Laser wird häufig mit frequenzverdoppelten Nd:YAG oder anderen Nd dotierten Festkörperlasern angeregt. Tm^{3+} ist ein laseraktives Ion, das sehr effektiv mit Halbleiterlasern bei 792 nm angeregt werden kann und eine Laseremission bei ca. 2000 nm zeigt.¹⁷³

Halbleiterlaser

In dotierten Halbleitern lassen sich durch Anlegen einer Spannung Elektron-Loch-Paare erzeugen, die in der Grenzschicht zwischen den dotierten Bereichen kombinieren und die Rekombinationsenergie in Form von elektromagnetischer Strahlung abgeben. Auf diesem Prinzip können nicht nur Leuchtdioden realisiert werden, bei denen die Erzeugung von spontaner Emission erwünscht ist. Bei entsprechender Dotierung kann ab einer Schwellwertstromstärke auch die stimulierte Emission durch Vielfachreflektion zwischen den Kristallflächen dominieren und damit ein Laser konstruiert werden. Daher werden Halbleiterlaser auch häufig als Diodenlaser bezeichnet. Die Erzeugung der Besetzungsinversion erfolgt bei diesem Lasertyp über das Anlegen der entsprechenden Spannung. Halbleiterlaser sind daher meist Dauerstrichlaser mit einer Leistung im Milliwattbereich, sie können aber auch mit Spannungsimpulsen betrieben werden um ein Überhitzen zu vermeiden. Je nach Halbleiter und Dotierungsgrad lassen sich Laser mit Emission im Infrarotbereich bis in den blauen Farbbereich des sichtbaren Spektrums herstellen.¹⁷⁵

Gaslaser

Bei dieser Laserbauart ist der Resonatorraum mit einem Gas gefüllt und durch verschiedene Anregungen kann eine Besetzungsinversion erzeugt werden. Gaslaser werden meist mit DC- oder HF-Glimmentladungen im laseraktiven Medium angeregt. Neben verschiedenen Gasen wie CO, CO₂, N₂ oder H₂ können auch Metaldämpfe, z.B. Au, Cu oder Pb als laseraktive Medien verwendet werden. Ein prominentes Beispiel dieser Laserbauart ist der He-Ne-Laser, der als erster Dauerstrichlaser 1960 von Javan et al.¹⁷⁴ vorgestellt wurde. Die Strahlung wird in diesem Laser von angeregten Ne-Atomen emittiert. He wird für den Pumpvorgang benötigt, der in einem zweistufigen Prozess abläuft.¹⁷³ Im ersten Schritt findet eine Anregung von He-Atomen in der Gasladung statt, wobei Elektronen vom 1^1S Niveau in Zustände 2^3S und 2^1S angeregt werden. Da die angeregten Niveaus energetisch nahezu mit den 3s bzw. 2s Niveaus des Ne übereinstimmen können, kann die Energie durch Stöße auf Ne-Atome übertragen werden. Von diesen Zuständen sind stimulierte Emissionen in die 3p und 2p Niveaus möglich, aus welchen die Elektronen über einen schnellen spontanen Emissionsschritt in das 1 s Niveau sowie durch strahlungslose Stoßprozesse mit der Resonatorwand in den Grundzustand zurückkehren. Es liegen daher verschiedene 4 Energieniveau-Systeme vor, die die Voraussetzung für

einen Dauerstrichlaser erfüllen (Vergleich Kapitel III.4.1). Da die Lebensdauer der entstehenden Besetzungsinversion bei nur 10 ns liegt, ist ein gepulster Betrieb hingegen nicht möglich. Durch die verschiedenen möglichen Übergänge kann der He-Ne Laser vom sichtbaren Bereich bis in den fernen Infrarot-Bereich eingesetzt werden. Im sichtbaren Bereich wird meist die Wellenlänge 633 nm verwendet, weitere Emissionslinien liegen bei 543, 594 und 612 nm. Im nahen Infrarotbereich liegen zudem die Emissionslinien bei 1152 und 1523 nm und im fernen Infrarot bei 3394 nm. Zur Optimierung der Laserausbeute müssen die Partialdrücke von He und Ne auf die jeweilige Wellenlänge angepasst werden.

Ein Beispiel für gepulste Gaslaser ist der N₂-Laser. Im Stickstoff wird über eine Funkenstrecke eine gepulste Gasentladung mit einer Lebenszeit von wenigen ns erzeugt, die zu einer Anregung und damit zum Lasern führt. Die Tatsache, dass die Besetzungsinversion nur für einen extrem kurzen Zeitraum aufrechterhalten werden kann, führt dazu, dass dieser Laser nicht durch einen Resonatoraufbau verstärkt werden kann, da eine Reflektion im Resonatorraum bereits auf ein Medium mit aufgehobener Besetzungsinversion treffen würde. Die Verstärkung durch stimulierte Emission ist jedoch auf einer kurzen linearen Wegstrecke groß genug, um einen gepulsten Laser konstruieren zu können. Die Hauptwellenlänge liegt bei 337 nm. Ein weiterer häufig in der metallverarbeitenden Industrie zum Schneiden und Schweißen verwendeter Gaslaser ist der CO₂-Laser. Neben CO₂ wird zur Unterstützung des Energietransfers Stickstoff in den Resonatorraum gegeben. Der Laser kann sowohl gepulst als auch im Dauerstrichmodus betrieben werden. Er besitzt eine hohe Effektivität bezogen auf das Verhältnis von elektrischer zu optischer Leistung mit einem Wirkungsgrad von bis zu 30 %. Der Laser emittiert bei einer Wellenlängen von 10,6 μm.¹⁷³

Excimerlaser

Excimerlaser besitzen einen ähnlichen Aufbau wie Gaslaser und werden meist über Elektronenstrahlen angeregt. Bei diesem Lasertyp findet eine elektrochemische Anregung statt, es kommt zur Bildung von zweiatomigen metastabilen Molekülen in der Gasphase, die unter Abgabe von Photonen wieder zerfallen. Dieser Prozess kann durch stimulierte Emission kaskadenartig verstärkt werden, wobei sich ein Laserimpuls bildet. Besonders die eher unreaktiven Edelgase bilden eine Reihe von Excimeren - z.B. He₂^{*}, Ar₂^{*}, ArF^{*} oder XeCl^{*} - die sich als laseraktives Medium einsetzen lassen. Ein häufig verwendeter Excimerlaser ist der ArF-Laser. Das optische Pumpen erfolgt hierbei durch Bildung von ArF-Excimeren aus Ar und F₂ bei erhöhtem Druck und Elektronenstößen aus schnellen gepulsten transversalen Gasentladungen.¹⁷⁵ Die emittierte Wellenlänge liegt bei diesem Laser bei 193 nm. Somit ist mit diesem Laser bereits ohne Frequenzvervielfältigung und die damit verbundenen Intensitätsverluste eine Emission im UV-Bereich möglich.

Ionenlaser

Dieser Lasertyp besitzt im Aufbau Ähnlichkeiten mit einem Gaslaser. Auch hier wird ein Gas über eine elektrische Entladung angeregt, jedoch findet die stimulierte Emission aus einem angeregten ionisierten Zustand statt. Die Plasmabildung wird daher nicht nur zur Anregung des Lasers verwendet, vielmehr ist das Plasma selbst das laseraktive Medium. Um ein stabiles Plasma aufrechtzuerhalten und hohe Ionendichte zu erzeugen, werden daher hohe Stromstärken angelegt. Hierdurch ist eine effektive Kühlung des Resonatorraums notwendig. Ein Beispiel dieses Lasertyps ist der Ar⁺-Laser. Durch die hohe thermische Energie weist die Emission der Ar-Ionen eine deutliche Dopplerverbreiterung auf, so dass dieser Laser eine große Bandbreite aufweist, in deren Folge eine erhöhte Modenanzahl vorliegt.¹⁷⁷ Der Laser besitzt zudem ein linienreiches Emissionsspektrum mit 9 Linien zwischen 455 und 515 nm.¹⁷⁶ Plasmafluktuationen in Verbindung mit diesem breiten Resonanzbereich führen dazu, dass ein freilaufender Ar⁺-Laser eine geringe Frequenzstabilität aufweist, was jedoch durch aktive Stabilisierung z.B. Anpassung der elektrischen Spannung kompensiert werden kann. Der Ar⁺-Laser besitzt eine hohe Strahlungsleistung im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums. Daher eignet er sich auch gut als Pumpquelle für Farbstofflaser.¹⁷⁶

Farbstofflaser

Auch einige Farbstoffe besitzen eine geeignete elektronische Struktur, um eine Laseremission hervorrufen zu können. Durch verschiedene Farbstoffe und Lösungsmittel kann ein Einsatz dieses Lasertyps im Spektralgebiet von ca. 300-1200 nm realisiert werden.¹⁷⁵ Den Resonatorraum bildet z.B. eine entsprechend verspiegelte Küvette. Als Farbstoffe werden z.B. Rhodamine verwendet. Farbstofflaser können gepulst und als Dauerstrichlaser betrieben werden, allerdings zeigen organische Farbstoffe in Gegenwart hoher Strahlungsdichten nur eine begrenzte Stabilität. Häufig werden daher kontinuierlich mit frischem Farbstoff durchströmte Resonatorkonstruktionen verwendet. Farbstofflaser besitzen eine breite Absorption und Emission und eignen sich daher zur Konstruktion von durchstimmbaren oder fs-Lasern.¹⁷⁵ Durch die Weiterentwicklung von Saphir und Diodenlasern verliert dieser Lasertyp allerdings zunehmend an Bedeutung.

III.4.3. Aerosolbildungsprozesse in der Laserablation

Aufgrund der hohen Leistungsdichte werden für die Laserablation in der Regel gepulste Laser verwendet. Die Aerosolbildung in der Laserablation ist ein komplexer Vorgang, bei der sich unterschiedliche Effekte überlagern. Je nach eingestrahelter Wellenlänge und Pulsdauer überwiegen verschiedene Mechanismen. Als relevante Effekte werden insbesondere die Absorption der

Strahlung, das Schmelzen und Verdampfen der Probe sowie möglicher Siedeverzug und Plasmabildung über der Probenoberfläche diskutiert (Abbildung 16).

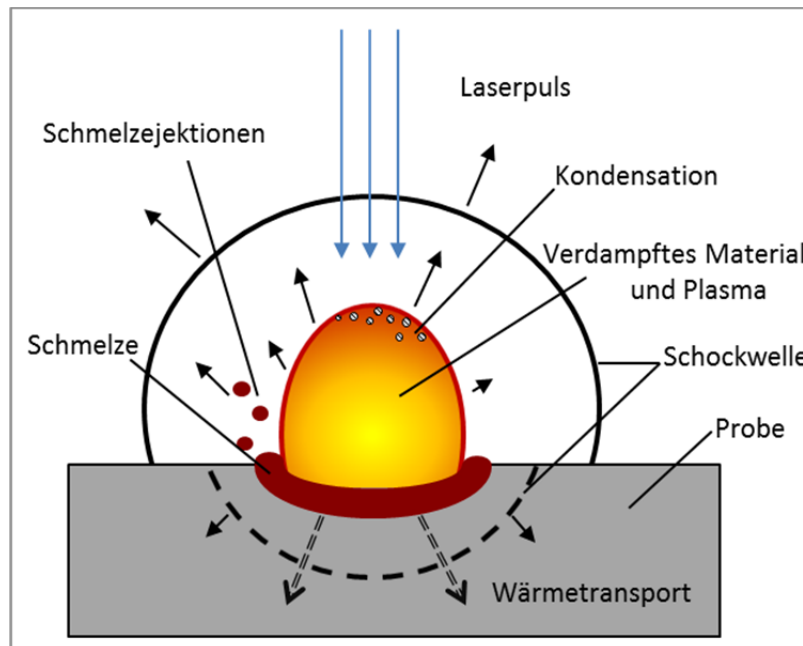


Abbildung 16: Übersicht über verschiedene Prozesse bei der LA, die zur einer Aerosolbildung beitragen. (Zur Veranschaulichung unabhängig des zeitlichen Ablaufs dargestellt).

Die Absorption der Laserstrahlung erfolgt in der elektronischen Struktur der Probe.¹⁷⁸ Während Metalle durch frei bewegliche Elektronen in einem weiten Bereich absorbieren, ist in Halbleitern und Isolatoren eine direkte Absorption nur möglich, wenn Elektronen über die Bandlücke zwischen Valenzband und Leitungsband angeregt werden. Dies ermöglichen Laser mit kurzer Wellenlänge. Mit kürzerer Wellenlänge dringt die Strahlung auch weniger tief in die Probe ein, wodurch die Energiedichte im bestrahlten Volumen wächst. Abhängig von der elektronischen Struktur der Probe sind auch Mehrfach-Photonen-Anregungen möglich. Hieraus resultieren eine Vielzahl verschiedener angeregter elektronischer Zustände bis hin zur Bildung von Ionen und freien Elektronen. Die elektrische Energie wird nun zum Großteil in Vibrationsenergie konvertiert. Hierdurch kommt es zu einer starken thermischen Erhitzung, zur direkten Desorption von Atomen oder Molekülen oder zur Spaltung von chemischen Bindungen. Infolge der Erhitzung kann das Probenmaterial schmelzen und verdampfen. Aus der Schmelze können durch Siedeverzug Tröpfchen herausgeschleudert werden.¹⁷⁹ Des Weiteren findet eine Übertragung der thermischen Energie an das umgebende Probenmaterial statt. Um dies zu minimieren, ist der Einsatz von fs-Laserpulsen hilfreich, da der Anregungspuls hierbei kürzer ist als die Dauer, die für die Übertragung der elektronischen in die vibronische Energie nötig ist. Somit kann während des fs-Laserpulses kein Energietransport in das umgebende Material erfolgen. Dies minimiert das Volumen, in dem geschmolzenes Probenmaterial vorliegt und erhöht

gleichzeitig die Ejektion von Materialpartikeln durch direkte Spaltung von Bindungen bzw. Verdampfung und Siedeverzug in lokalen Schmelzen. Bereiche, in denen Schmelzen vorliegen, sind vor allem deshalb zu vermeiden, da es in ihnen durch Schmelz- und Siedeprozesse zur Fraktionierung kommen kann. Darüber hinaus gehen in diesen Bereichen räumliche Informationen verloren.

Durch die hohe thermische Energie und der daraus resultierenden Expansion von verdampftem Probenmaterial und umgebenden Gas bildet sich eine Schockwelle aus,¹⁸⁰ die sich sowohl in der Probe als auch in dem Transportgas ausbreitet. Nach anfänglich mehrfacher Überschallgeschwindigkeit wird diese nach kurzer Wegstrecke bereits auf Schallgeschwindigkeit abgebremst. Die Schockwelle kann den Transport von Aerosol beeinflussen und geschmolzenes oder festes Material aus der Probe herausreißen und somit in die Aerosolphase überführen. Hinter der Schockwelle formt sich eine Blase aus desorbiertem und verdampftem Material. Durch Ionisierung und Kopplung der Laserenergie in die freien Elektronen kann zudem die Bildung eines laserinduzierten Plasmas begünstigt werden (Vergleich: Kapitel III.3.2). Das Plasma kann weiter Laserstrahlung absorbieren und damit die Probenoberfläche abschirmen. Da in diesem Plasma Analytatom- oder -ionen zur Emission angeregt werden können, bildet dies die Grundlage für die LIBS (Vergleich Kapitel: III.3.2.). Um einen maximalen Energieeintrag in die Probe zu gewährleisten und zu verhindern, dass sich bereits über der Probenoberfläche das umgebende Gas ionisiert und ebenfalls ein abschirmendes Plasma ausbildet, wird der Laserstrahl zunächst ausgeweitet und auf der Probenoberfläche refokussiert. Eine weitere Möglichkeit das Auftreten eines abschirmenden Plasmas über der Probe zu minimieren, ist die Verwendung von schwer zu ionisierenden Gasen. Bei einem Vergleich der Ablation in einer Helium- und Argonatmosphäre zeigt sich in Argon aufgrund dessen niedrigerer Ionisierungsenergie ein signifikanter Anstieg dieses Effekts.¹⁸¹ Beim Abkühlen der Dampf- und Plasmawolke kommt es durch Kondensation zu weiterer Partikelbildung. Auch bei diesem Schritt ist eine Fraktionierung von Elementen in unterschiedlichen Partikelphasen möglich. Zur schnellen Abkühlung ist die Verwendung von Helium durch dessen hohe thermische Leitfähigkeit vorteilhaft. Verglichen mit Ar führt die Verwendung von He zu einer deutlichen Verschiebung der Größenverteilung der entstehenden Partikel zu kleineren mittleren Durchmessern. Da bei der Ablation in Ar große Partikel bereits unmittelbar neben den Ablationskratern sedimentieren, führt die Verwendung von He zu einem deutlich effektiveren Probentransport.¹⁸² Auch beim anschließenden Aerosoltransport zum Spektrometer können weiterhin zusätzliche Fraktionierungen durch Sedimentation grober Partikel und Agglomeration feinsten Partikel auftreten. An jedem Phasenübergang kann eine Ab- oder Anreicherung bestimmter Elemente in der Partikelphase bzw. in einzelne Partikelfractionen auftreten. Zudem können neben diesen Prozessen während der Ablation zusätzliche Fraktionierungen durch Transportvorgänge auftreten. Ferner ist eine Diskriminierung

einzelner Elemente bei der Ionisierung im ICP-MS möglich (Vergleich Kapitel: III.3.3). Eine Kalibrierung für die quantitative Analyse in der LA-ICP-MS muss diese Effekte daher berücksichtigen (Vergleich III.4.6).

III.4.4. Allgemeiner Aufbau eines Laserablationssystems

Ein Laserablationssystem dient zum Eintrag des bei der Laserablation abgetragenen Probenmaterials in das Spektrometer. Aufgrund des, verglichen mit dem Laserstrahldurchmesser, langen Transportwegs zum Spektrometer kühlt das abgetragene Material auf dem Weg auf Umgebungstemperatur ab und wird, wie im vorangegangenen Kapitel beschrieben, überwiegend in Form von festem Aerosol transportiert. In bestimmten Fällen ist auch die Bildung von flüssigem Aerosol oder der Transport gasförmiger Komponenten möglich (Vergleich Kapitel III.4.6).

Da das ICP beim Eintrag von Luft zur Instabilität und Bildung von erhöhten polyatomaren Interferenzen neigt, bestehen kommerzielle Laserablationssysteme (Abbildung 17) aus geschlossenen Ablationszellen, die typischerweise mit Argon oder Helium gespült werden. Für eine effektive Ablation und die Entstehung kleinster Aerosolpartikel ist hierbei die Verwendung von Helium vorteilhaft (Vergleich Kapitel III.4.3). Darüber hinaus erhöht sich durch die Zumischung von Helium die Plasmatemperatur im ICP und damit die Möglichkeit auch eingetragene Partikel vollständig verdampfen zu können (Vergleich Kapitel III.3.2).

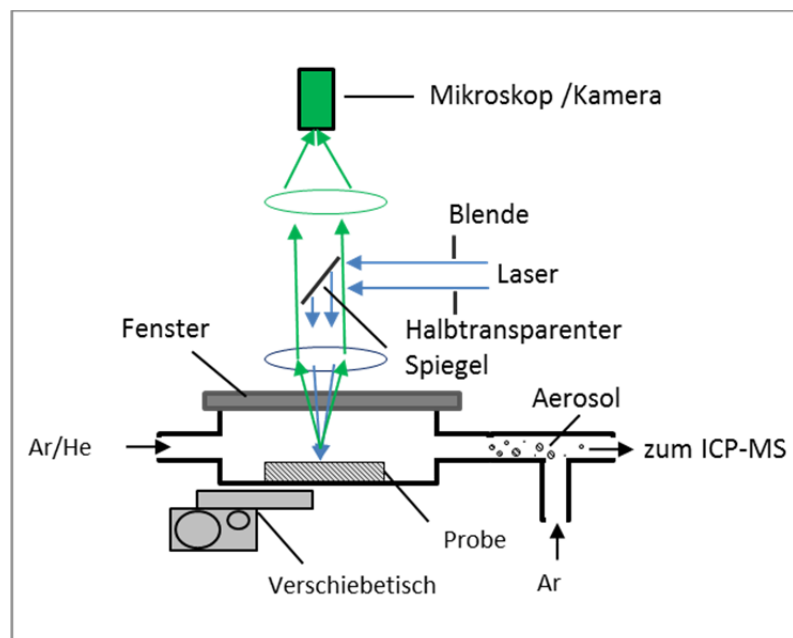


Abbildung 17: Schematischer Aufbau eines Laserablationssystems für die Analyse mittels ICP-MS.

Durch ein für die verwendete Wellenlänge transparentes Fenster wird der Laserstrahl auf die Probenoberfläche fokussiert. Die Auswahl der Beprobungsstelle erfolgt über mikroskopische

Beobachtung und Positionierung der Probe bzw. Ablationszelle unter dem Laser mittels eines Verschiebetischs. Der Laserstrahldurchmesser kann durch eine Blende vor der Fokussierung eingestellt werden. Bei den kommerziell vertriebenen ns-LA-Systemen wurden in der Vergangenheit überwiegend Nd:YAG- und ArF-Excimer-Laser eingesetzt. Inzwischen sind auch einige fs-LA-Systeme kommerziell verfügbar. Daneben existieren eine Vielzahl von Experimentell- oder Prototypaufbauten im Bereich der Forschung und Entwicklung.

Das bei der LA gebildete Aerosol wird anschließend mit dem Trägergas zum Massenspektrometer transportiert. Nach der Zelle kann ein zusätzliches Hilfsgas, z.B. Argon zugesetzt werden, um den Transport zu verbessern oder eine Optimierung der verschiedenen Gasflüsse des ICP-MS unabhängig von der Ablationskammer zu gewährleisten.

III.4.5. Funktionen und Design der Ablationszelle

In der Ablationskammer findet die Überführung der festen oder flüssigen Probe ins Aerosol statt. Die wichtigste Anforderung an die Ablationskammer ist vor allem, dass das gebildete Aerosol möglichst quantitativ bei minimaler Fraktionierung dem anschließenden Massenspektrometer zugeführt werden kann. Da im Zuge dieser Arbeit keine eigene Ablationskammer entwickelt wurde, wird im Folgenden hierzu nur ein kurzer Überblick gegeben.

Vor allem die Größe und Geometrie der Ablationszelle ist für die Laserablation ein wichtiger Aspekt. Zum einen sollte die Zelle groß genug sein um die Probe, oder gleich mehrere Proben, fassen zu können. Verteilt sich das gebildete Aerosol allerdings in einem großen Volumen, führt die daraus entstehende Verdünnung der Partikelkonzentration in der Gasphase vor allem bei der Aufnahme zeitlich transientser Signale zu niedrigen Signalen, einer höheren Signalfuktuation und so zu einem geringen Nachweisvermögen. Zudem dauert die vollständige Auswaschung des Aerosols aus der Zelle länger und erhöht dadurch die Analysezeit durch zusätzlich notwendige Spülzeiten. Hohe Strömungsgeschwindigkeiten führen zwar zu einem verbesserten Transport größerer Aerosolpartikel, können aber auch sehr schnell zur Ausbildung von turbulenten Strömungen führen.¹⁸³ Auch durch eine ungünstige Geometrie kann ein turbulentes Strömungsbild mit stabiler Gasstrudelbildung zusätzlich verstärkt werden, was zu einer Verlängerung der Auswaschverhalte führen kann. Bei der Aufnahme zeitlicher Intensitätsverläufe, die bei der bildgebenden- oder Tiefenanalyse in einen räumlichen Signalverlauf übertragen werden, verringert sich durch große Totvolumina über eine durch Vermischung mit dem kontinuierlichen Gasstrom hierdurch auch die räumliche Auflösung der LA-ICP-MS-Analyse. Um eine solche Vermischungen zu minimieren besteht für orts aufgelöste¹⁸⁴ oder Einzelschuss-¹⁸⁵ LA-ICP-MS Analytik daher ein großes Interesse an Kammern mit kurzen Auswaschzeiten und geringen Turbulenzen. Dies wird meist dadurch erreicht, dass das Trägergas vor

dem Erreichen der Beprobungsstelle möglichst laminare Strömungsbedingungen annimmt, wobei der Querschnitt des Gasstromes die Ausbreitung des primär entstehenden Aerosols deutlich übersteigen sollte (Abbildung 18, Kammer 1). Die gebildete Aerosolwolke wird dann ohne zusätzlich induzierte Ausbreitung vom Trägergas in Richtung Kammerausgang befördert.^{186,187} Da jedoch während dieses Transports eine Ausbreitung der Aerosolwolke durch den ursprünglichen Impuls aus der Laserablation sowie durch Diffusion auftreten kann, sollte der Kammerausgang mögliche nahe an der Ablationsstelle liegen.

Für eine Isotopenanalyse kann ein großes Kammervolumen jedoch auch positive Effekte haben, da es bei vorhandenen Turbulenzen zu einer guten Aerosoldurchmischung und somit zu stabileren Signalverläufen kommt.¹⁸⁶ Eine große Kammer bietet zudem die Möglichkeit, mehrere Proben gleichzeitig einzuschleusen. Dies kann zu einer Verringerung der Analysezeit beitragen, da zu jedem Probenwechsel ein Öffnen der Kammer notwendig ist und die Kammer vor einer neuen Analyse gründlich mit dem Trägergas gespült werden muss. Darüber hinaus ist die Analyse von größeren Proben möglich.

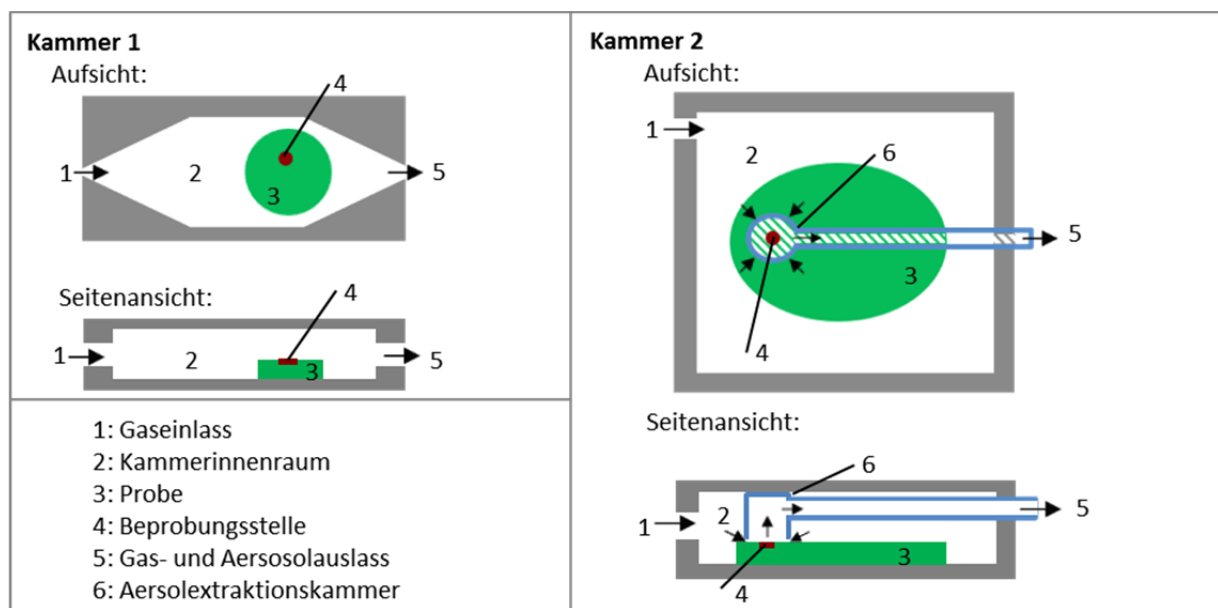


Abbildung 18: Schematischer Aufbau der Laserablationskammern, die im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden. Links: kompakter Kammernaufbau, mit Beprobungsstelle nahe des Gas- und Aerosolauslasses, ähnlich des von Gerevich et al.¹⁸⁵ vorgeschlagenen Aufbau; rechts: Kammernaufbau mit separater Aerosolextraktionskammer, ähnlich der von Arrowsmith et al.¹⁸⁷ untersuchten Kammern.

Um dennoch geringere Auswaschzeiten zu erreichen, wurden Ablationskammern entwickelt, in denen deutlich kleinere Extraktionskammern integriert sind (Abbildung 18, Kammer 2).¹⁸⁷ Diese Kammer ist gegenüber dem Kammerinnenraum verschiebbar und kann so jeweils zentriert über der Beprobungsstelle positioniert werden. Hierdurch kann nahezu unabhängig von der Position der

Extraktionskammer ein konstanter Abstand zwischen Beprobungsstelle und Kammerauslass sichergestellt werden. Auch die Strömungsdynamik im Inneren bleibt bei ebener Probenoberfläche konstant. Das Trägergas strömt von allen Seiten zwischen Extraktionszelle und Probenoberfläche in den Innenraum, vermischt sich mit dem gebildeten Aerosol und wird zum Zellausgang geleitet. Unter diesen Bedingungen ist die Transportzeit und die Aerosolverdünnung daher unabhängig von der Position der Probe innerhalb der Ablationszelle und eine ortsabhängige Empfindlichkeit der LA-ICP-MS Messung bezogen auf den Ort der Ablation in der Kammer wird minimiert.¹⁸⁶

Eine kommerziell erhältliche großvolumige Ablationskammer mit integrierter Aerosolextraktionskammer, ähnlich der von Arrowsmith et al.¹⁸⁷ untersuchten Kammer (Abbildung 18, Kammer 2) wurde im Rahmen dieser Arbeit bei den Messungen im Institut für Geowissenschaften an der *Johannes Gutenberg-Universität Mainz (JGU)* verwendet, während bei den Messungen am *Nuclear Security Department der Hungarian Academy of Sciences* in Budapest eine kompakte Kammer mit ähnlicher Geometrie, wie von Gurevich et al. vorgestellt¹⁸⁵, zur Verfügung stand (Abbildung 18, Kammer 1).

III.4.6. Kalibriertechniken in der LA-ICP-MS

Matrixeffekte sind in der LA-ICP-MS ein regelmäßig beobachtetes Phänomen. Sie treten sowohl in der Laserablation als auch bei der Ionisierung und Detektion im ICP-MS auf. Bezogen auf die Laserablation sind vor allem die physikalischen Eigenschaften der Probe (z.B. Dichte, Härte, Schmelz- und Siedepunkt), die Interaktion zwischen Laserstrahlung¹⁸⁸ und Probe sowie das Kammerdesign und die Eigenschaften des zum ICP-MS transportierten Aerosols für die hierbei entstehenden Matrixeffekte verantwortlich. Im ICP-MS können zusätzliche Matrixeffekte auftreten, beispielsweise durch räumlich analytabhängige Auftrennung der Ionenwolke im ICP,¹⁸⁹ unvollständige Verdampfung und Ionisierung,¹⁹⁰ Veränderung der Plasmatemperatur oder Elektronendichte¹⁹¹ im Plasma oder Space-Charge Effekte¹⁵⁰ im Verlauf der Ionenstrahlführung im Spektrometer. Bei einer solch hohen Anzahl und Komplexität der verschiedenen Einflussfaktoren ist eine Kalibrierung mit Standards identische Matrix bzw. eine matrixangepasste Kalibrierung zu empfehlen. Stehen solche Kalibrierstandards nicht zur Verfügung oder können nicht hergestellt werden, gibt es verschiedene Möglichkeiten einzelne oder mehrere der obengenannten Effekte zu korrigieren.

Eine Möglichkeit zur Kompensierung von plasmabasierten oder instrumentellen Effekten bietet die kontinuierliche Zumischung eines zusätzlichen internen Standards durch pneumatische Zerstäubung von Standardlösungen.^{192,193} Zu den größten Schwierigkeiten bei der Quantifizierung mittels LA-ICP-MS gehört jedoch, dass ohne weitere Untersuchungen die ablatierte und zum ICP transportierte Masse nicht bekannt ist. Bei näherer Kenntnis der Probe lassen sich Signalschwankungen z.B. aus der

Verschiebung der Probe aus der Fokussierebene des Laserstrahls oder veränderter Effektivität des Aerosoltransports an den Rändern der Ablationskammer kompensieren, indem ein in der Probe homogen verteiltes Element als interner Standard verwendet wird. Hierbei muss jedoch sichergestellt sein, dass dieser interne Standard sich über alle involvierten Prozesse - von der Ablation bis zur Detektion - ähnlich verhält wie der Analyt. In diesem Zusammenhang wird beispielweise für die Analyse organischer Matrices die Standardisierung über Kohlenstoffisotope kontrovers diskutiert: während Zority et al.¹⁹⁴ bei der Analyse von Rattenhirndünnschnitten zur internen Standardisierung und Kompensierung von unterschiedlichen Wassergehalten ¹³C verwendeten, wurde von Jackson et al.¹⁹⁵ ein deutlich unterschiedliches Verhalten der Signalverläufe von Analyten und Kohlenstoff beobachtet. Darüber hinaus konnte von Frick und Günther gezeigt werden, dass bei Laserablation von organischen Proben die Kohlenstoffspezies fast ausschließlich in der Gasphase vorliegen, während die anorganischen Analyten mit der Partikelphase in das Plasma gelangen, so dass eine kohlenstoffbasierte Standardisierung nicht alle Matrixeffekte kompensieren kann.¹⁹⁶

Bei einer alternativen Strategie, die von Leach und Hieftje¹⁹⁷ für die Kalibrierung der Einzelschuss LA-ICP-MS vorgeschlagen wurde, werden Isotope aller zu erwartenden Elemente detektiert und die Analytkonzentration unter Berücksichtigung der jeweiligen Isotopenhäufigkeit durch Normierung auf 100 % berechnet. Die Signalintensitäten bei kurzen, transienten Signalen werden über Integration der einzelnen Signalverläufe ermittelt. Um massendiskriminierende Effekte und Ionisierungseffekte zu kompensieren, müssen aus den erhaltenen Signalen jedoch instrumentspezifische Korrekturfaktoren für jede Masse und mögliche Interferenzen ermittelt werden. Diese Parameter lassen sich über die Analyse von Standardreferenzmaterialien ermitteln, die in ihrer Matrix nicht mit der zu analysierenden Probe übereinstimmen müssen. Die Summe der gemessenen Signale wird somit als interner Standard verwendet. Da sich Störungen unterschiedlich stark auf die einzelnen Summanden auswirken, ist zu erwarten, dass diese Standardisierung robustere Ergebnisse liefert als die Verwendung eines einzelnen Standards. Bezogen auf die Quantifizierung von Einzelschuss LA-ICP-MS eignet sich die obengenannte Kalibrierstrategie bedingt durch die kurzen, transienten Signale vor allem bei Verwendung von simultan oder quasi-simultan arbeitenden Massenspektrometern wie dem von Leach und Hieftje verwendeten ICP-TOFMS oder einem ICP-SFMS mit Mattauch-Herzog Geometrie.¹⁹⁸ Zudem ergeben sich Limitierungen für die Anwendung dieser Kalibrierstrategie auf Proben, die zu einem signifikanten Anteil aus nicht mittels ICP-MS erfassbaren Elementen bestehen. Für sequentiell arbeitende ICP-QMS muss für eine Kalibrierstrategie auf der Basis von Signalnormierung jedoch eine kontinuierliche Ablation in Verbindung mit einer längeren Integrationszeit gewählt werden. Hier wird in der Literatur

beispielsweise von 50 s Integrationszeit für einen Ablationspunkt mit 32 µm Durchmesser berichtet.²⁰⁰ Die unterschiedlichen Strategien zur Kompensation von Matrixeffekten lassen sich jedoch häufig nur auf ein enges Anwendungsspektrum nach umfangreichen Untersuchungen anwenden. Bei der Ablation von geringen Mengen an Probenmaterial, wie beispielsweise bei der Analyse einzelner Zellen, die in Kontakt mit Nanopartikeln standen,¹⁹⁹ lassen sich wie bei Leach und Hieftje¹⁹⁷ nur kurze transiente Signale beobachten, so dass für solche Proben ein konventioneller Kalibrieransatz nicht anwendbar ist, bei dem eine Quantifizierung erst nach Einstellung eines Signalplateaus erfolgt.

Die bevorzugte Strategie zur Kalibrierung in der LA-ICP-MS besteht darin, zertifizierte Standardreferenzmaterialien (CRM – **C**ertified **R**eference **M**aterial) für eine Matrixanpassung zu verwenden. Dies stellt jedoch hohe Ansprüche an die CRMs: Zum einen muss die Matrix des CRMs mit der der zu analysierenden Proben möglichst genau übereinstimmen. Des Weiteren sollte der Analyt im Kalibrierstandard in einem ähnlichen Konzentrationsbereich wie in der Probe vorliegen. Idealerweise sollte ein Kalibrierbereich zur Verfügung stehen, der den gesamten Konzentrationsbereich der Proben umfasst.

Darüber hinaus muss im Kalibrierstandard eine hohe Homogenität gewährleistet sein. Da bei der LA-ICP-MS eine Analyse von sehr geringen Mengen an abgetragenem Probenmaterial möglich ist, verringert sich die Auswahl an verschiedenen Analysetechniken, die bei der Zertifizierung entsprechender CRMs zum Einsatz kommen können, und damit erhöht sich das Risiko von methodenabhängigen systematischen Fehlern.

Kommerzielle Referenzmaterialien, die diese Anforderungen erfüllen, sind daher nur sehr eingeschränkt verfügbar. Hierbei zählen in unterschiedlichen Konzentrationen dotierte Gläser (vor allem NIST 610 bis 617) zu den am häufigsten verwendeten CRMs. Die NIST 610 - 617 Gläser wurden ursprünglich nicht für die orts aufgelöste Mikroanalyse entwickelt und zertifiziert, so dass gemäß ISO-Richtlinien die Verwendung der so zertifizierten Werte für Mikroanalyse nicht empfohlen wird.²⁰¹ In der Praxis haben sich die NIST Gläser jedoch zur täglichen Optimierung des Laserablationssystems und des angeschlossenen Spektrometers durchgesetzt und werden, soweit möglich, auch zur Kalibrierung verwendet. Die hohe homogene Verteilung der Analyten wurde daher über die Jahre weltweit in verschiedenen Laboren bestätigt. In 2011 wurde die Homogenität der NIST 610 - 617 Gläser in einer systematischen Studie untersucht, wobei Daten von Messungen in sieben Laboren und Instituten unter Verwendung der orts aufgelösten Techniken LA-ICP-MS, Elektronenstrahlmikroanalyse (EPMA- **e**lectron **p**robe **m**icroanalysis) sowie dem Aufschluss von Probenmaterial und

der Analyse mittels Isotopenverdünnungs-ICP-MS verglichen wurden.²⁰² Ziel dieser Analysen war es, Referenzwerte vorzuschlagen, die die Anforderungen der ISO-Richtlinien erfüllen.

Neben Gläsern lassen sich sehr homogene Referenzmaterialien für metallische Proben herstellen. So untersuchten Wiltse und Günther in einer systematischen Arbeit zu einer Methodvalidierung 34 CRMs aus verschiedenen Stahllegierungen mittels fs-LA-ICP-MS.²⁰³ Allerdings betonten die Autoren, dass die meisten der verwendeten Referenzmaterialien nicht für die Mikroanalyse zertifiziert sind. Die Mehrzahl der Analyseresultate stimmte gut mit den zertifizierten Konzentrationen überein, für wenige Elemente wie Pb und Bi konnten Hinweise auf Inhomogenität beobachtet werden, so dass ähnlich wie bei den oben genannten NIST Gläsern weiterführende Charakterisierungen der Materialien vor einem routinemäßigem Einsatz dieser Referenzmaterialien für das Kalibrieren in der Mikroanalyse erfolgen müssen.

Die geringe Verfügbarkeit von Standardreferenzmaterialien hat in der Vergangenheit viele Forschungsarbeiten motiviert und wird regelmäßig in Übersichtsartikeln als Limitierung hervorgehoben.^{10,11,12}

Viele kommerziell erhältlichen Referenzmaterialien werden bei der Herstellung zur Homogenisierung gemahlen und liegen daher als Pulver vor. Die zertifizierten Analytkonzentrationen dieser CRMs werden jedoch meist nur für konventionelle Analysen z.B. nach Aufschluss oder Extraktion bestimmt, bei der üblicherweise wägbare Mengen von einigen Milligramm eingesetzt werden, so dass die Homogenität auf mikroskopischer Ebene wenig untersucht ist. Da über diese Materialien allerdings eine breite Auswahl an Matrices zur Verfügung steht, besteht eine häufige Kalibrierstrategie für die Laserablation in der Herstellung von Festkörpern z.B. durch Tablettierung aus pulverförmigen Referenzmaterialien. Solche Kalibrierverfahren wurden beispielweise in der aktuellen Literatur für die Analyse von Basalt und Schiefer,²⁰⁴ Flugasche,²⁰⁵ Gewebeschnitte von Ratten¹⁹⁵ oder Eichenblätter²⁰⁶ beschrieben.

Ein alternatives Vorgehen ist die Herstellung eigener Kalibrierstandards aus möglichst reinen Matrices und Analytzusätzen. Hierbei ist jedoch die sorgfältige Charakterisierung des Materials und Erfahrung bei der Herstellung notwendig. So beschrieben beispielweise Simons et al.²⁰⁷, dass die Dotierung von Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymerisat (ABS) mit organischen Analytverbindungen zu einer homogenen Analytverteilung führt, während mit anorganischen Verbindungen deutlich inhomogenere Verteilungen erreicht werden. Ebenso wurde über die Herstellung von Kalibriermaterialien für die Kupferanalyse berichtet, dass sich aus mit wässrigen Standards dotierten Reinstkupferpulver homogene Presslinge herstellen lassen, während Dotierungen aus Reinstkupfer

mit pulverförmigen Metall oder Metallverbindungen eine ungenügende Homogenität aufweisen.²⁰⁸ Für die Analyse von SiC Pulvern zeigten Kiera et al.²⁰⁹, dass tablettenförmige Kalibrierstandards aus SiC, Zusätzen von wässrigen Standardlösungen und Cu als Bindemitteln hergestellt werden können.

Wässrige Standardlösungen werden aufgrund der guten Verfügbarkeit für die Dotierung von Kalibrierstandards für viele Matrices verwendet, die sich über verschiedene Prozesse homogen in diesen verteilen lassen. So lassen sich hygroskopische Substanzen wie Cellulose und Holzfasern²¹⁰ durch Absorptions- und Diffusionsprozesse hinreichend homogen mit flüssigen Standards dotieren. Andere Matrices müssen nach der Dotierung mit flüssigen Standards zusätzlich in eine feste Form überführt werden. Becker et al.²¹¹ dotierten beispielsweise aufgetaute menschliche Hirngewebeschnitte mit Standardlösungen, homogenisierten diese und brachten die Masse durch erneutes Gefrieren wieder in feste Form. Mittels Gefriermikrotom wurden Dünnschnitte zur Verwendung als matrixangepasste Kalibrierstandards gewonnen. Ebenso wurde in der Literatur die Herstellung von dünnen Schichten dotierter Agarosegele als Kalibrierstandards für die Analyse von Zell-Monoschichten beschrieben.²¹²

Eine Alternative zur Erzeugung von homogenen makroskopischen Kalibrierstandards kann die Erzeugung von mikroskopischen Kalibrierstandards darstellen. Besitzen diese Größen, die innerhalb des zur Ablation verwendeten Laserdurchmessers liegen, können inhomogene Verteilungen nicht mehr erfasst werden und sich daher auch nicht auf eine Kalibrierung auswirken. Hierzu ist jedoch ein präziser Dosiervorgang der flüssigen Standardlösungen notwendig, die im nachfolgenden Kapitel diskutiert wird.

III.5. Flüssigkeitsdosierung und Tropfenerzeugung

Für die Dosierung von kleinsten Flüssigkeitsmengen gibt es je nach dosierter Menge unterschiedliche Techniken, über die im Folgenden ein Überblick zusammengestellt ist. Die Diskussion dieser Techniken im Zusammenhang mit der Herstellung von Kalibrierstandards für die LA-ICP-MS ist Kapitel III.5.2 zu entnehmen.

Im Laboralltag haben sich Luftpolsterpipetten für die Dosierung von μL -Volumina fest etabliert. Eine weitere Möglichkeit bieten Mikroliterspritzen mit Kapillarkolben. Diese werden z.B. für die Injektion in der Gaschromatographie (GC) oder in der Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie (HPLC- **H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography) verwendet. Für den Ausstoß von Tropfen aus unter Druck stehenden Flüssigkeiten eignen sich ebenfalls verschiedene elektrisch schaltbare Ventile. Diese Techniken werden jedoch bei der Miniaturisierung im Mikro- bis Nanoliterbereich durch die in solchen Systemen auftretenden starken Kapillarkräfte für die diskrete Tropfenabscheidung limitiert. So lassen sich beispielsweise mit Luftpolsterpipetten typischerweise Volumen unter $10 \mu\text{L}$ präzise aus der Spitze drücken, aber der Tropfenabriss bleibt aus, so dass die Flüssigkeitsabgabe über Abstreifen erfolgen muss. Der limitierende physikalische Zusammenhang wurde experimentell von Plateau untersucht und 1873 beschrieben.²¹³ Bildet sich ein Flüssigkeitszylinder - beispielsweise dadurch, dass Wasser durch eine Kapillare gedrückt wird oder weil ein an der Unterseite an einem Gegenstand anhaftender Tropfen durch die Gravitation in die Länge gezogen wird – bilden sich durch die Oberflächenspannung nach kurzer Zeit Einschnürungen und es kommt zum Abreißen eines oder mehrerer Tropfen. Die kritische Länge, bei der es zu einer Einschnürung kommt, ist dabei abhängig vom Durchmesser des Flüssigkeitszylinders und der Oberflächenspannung. Eine detaillierte theoretische Herleitung und Beschreibung dieses Phänomens wurde 1879 von Lord Rayleigh veröffentlicht,²¹⁴ so dass dieses Phänomen heute als Rayleigh-Plateau-Instabilität bekannt ist.

Die Erzeugung einzelner kleiner Tröpfchen wurde in der Atomspektrometrie erstmals von Hieftje et al. zur Untersuchung von analytischen Flammen verwendet.²¹⁵ Der verwendete Generator erzeugt einen kontinuierlichen Strom einzelner Tropfen, wobei der kontrollierte Tropfenabriss durch eine vibrierende Düse stimuliert wird. Durch elektrische Aufladung der einzelnen Tropfen war es zudem möglich, die Flugbahnen einzelner Tropfen gezielt zu manipulieren und sie abzuscheiden oder dem Spektrometer zuzuführen. Durch den Eintrag von monodispersen Tropfen untersuchten Hieftje et al. Prozesse wie die Desolvatisierung,²¹⁶ Verdampfung²¹⁷ und Ionisierung,²¹⁸ die von der initialen Tropfengröße und der Verweildauer in der Flamme abhängig sind. Bei kontrollierter Erzeugungsfrequenz und definierter monodisperser Tropfengröße überlagern sich diese Prozesse

nicht und können so ungestört beobachtet werden. Das Interesse an der Erzeugung von individuellen Tropfen war so groß, dass die Tropfengeneratoren in der Hieftje Gruppe über einen längeren Zeitraum weiterentwickelt wurden.^{219,220} Da diese Systeme jedoch größere Probenmengen benötigen und zudem sehr anfällig für Störungen im Kapillarsystem sind, wurde darüber hinaus ein Tropfengenerator entwickelt, bei dem die Tropfenerzeugung über eine oszillierende Nadel erreicht wird.^{221,222} Diese Tropfengeneratoren fanden beispielsweise Anwendung für die Titration²²³, der Entwicklung einer frequenzbasierten Quantifizierungstechnik für die Flammenspektrometrie²²⁴ und für die Laserfluoreszenz.²²⁵ Diese wegweisenden Studien und Untersuchungen motivierten bis zur heutigen Zeit zur Verwendung von Tropfengeneratoren in verschiedenen Arbeiten. So wurde ein ähnlich aufgebauter, programmierbarer Tropfengenerator von Wiegand und Crouch vorgestellt²²⁶ und als Probeneinführungssystem zur Kopplung von HPLC und FIA für die LIBS verwendet.²²⁷ French et al. stellten einen Generatortyp vor, bei dem der Tropfenausstoß aus einer Düse durch piezoelektrische Kontraktion einer Kammer gesteuert wird.²²⁸ Diese Funktionsweise ist in Abbildung 19 skizziert.

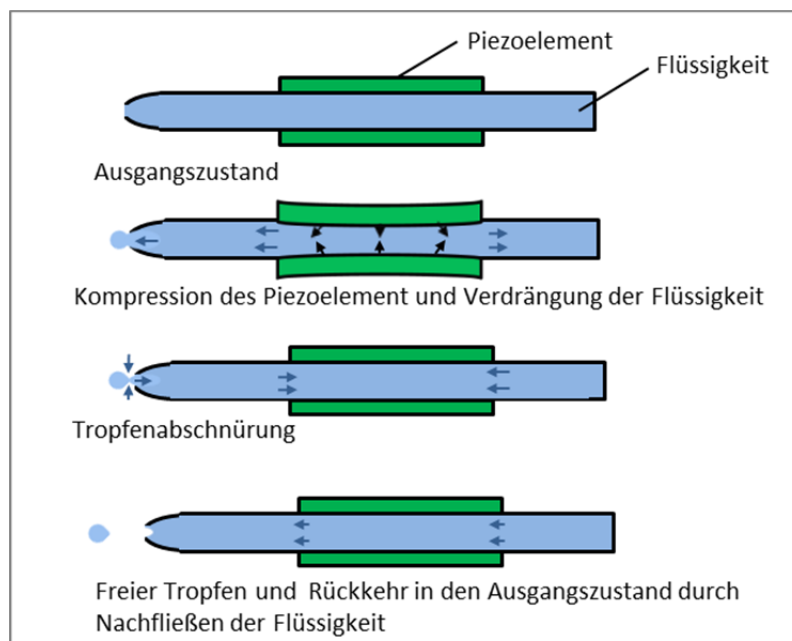


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines piezobasierten Tropfengenerators.

Mit diesem Generator lassen sich Tropfen mit einem Durchmesser von 48-64 μm erzeugen, was ungefähr einem Volumen von 0,5-1 nL entspricht.²²⁸ Für eine Zuführung der Tropfen in eine ICP-Anregungsquelle ist daher eine Trocknung notwendig, weshalb das vorgestellte System in dieser und in späteren Arbeiten als MDMI (**M**onodisperse **D**ried **M**icroparticulate **I**njector) bezeichnet wird. Weitere Limitierungen dieses Systems liegen in einer starken Anfälligkeit gegenüber eingetragener

Luft und, bedingt durch ein großes Totvolumen des Systems, einem großen benötigten Volumen der zu dosierenden Flüssigkeit.

Das von French entwickelte System wurde in weiteren Studien von den Gruppen von Olesik²²⁹ und Farnsworth²³⁰ verwendet. Trotz oben genannter Einschränkungen wird dieser Generatortyp in vielen Arbeiten bis heute eingesetzt. Der wichtigste Grund hierfür liegt höchstwahrscheinlich in der kommerziellen Verfügbarkeit der Komponenten. So erwarb French et al. bereits eine piezoelektrische Mikropumpe der Firma Microdrop (Norderstedt), von welcher beispielsweise auch Englmann et al.²³¹, Litborn et al.²³² sowie die Gruppen von Niemax²³³ und Günther²³⁴ ihre piezo-basierten Tropfengeneratoren bezogen. Auch die Hieftje Gruppe setzte das System von Microdrop in einer aktuellen Studie ein.²³⁵ Piezoelektrische Dispenser lassen sich auch zur Dosierung auf feste Oberflächen verwenden. So werden beispielweise von den Herstellern Brother, Epson und Siemens piezo-basierte Tintenstrahldrucker für Büroanwendungen angeboten. In der Elementspurenanalytik wurden kürzlich über piezo-basierte pL-Dosiersysteme berichtet.^{236,237} Diese bestehen aus einer Dispensereinheit, die über einen elektronisch einstellbaren Verschiebetisch montiert ist. Mit diesem System ließen sich Tropfen mit festen Volumina von ca. 16 bzw. 65 pL in rechteckigen Arrays ablegen.

Ein alternatives Tropfenerzeugungsprinzip basiert auf der Zusammenführung eines geringen Volumenstroms einer wässrigen Phase mit einem hohen Hilfsfluss einer hochflüchtigen unpolaren Phase in einen mikrofluidischen Chip.²³⁸ Bei geeigneter Zusammenführung beider Phasen kommt es zur kontinuierlichen Abschnürung einzelner wässriger Tropfen mit Durchmessern von ca. 40-60 µm. Dieser Pfropfenströmung wird dann mit einem zusätzlichen Fluss einer unpolaren Phase durch eine Düse in die Gasphase beschleunigt, in der die flüchtige organische Phase verdunstet und die eingeschlossenen wässrigen Tropfen in Aerosol überführt werden. Ähnlich wie das MDMI System eignet sich dieses System für die Einzelpartikelanalyse, was am Beispiel der Bestimmung des Eisengehalts einzelner Zellen demonstriert werden konnte.

Gegenstand der bisher in diesem Kapitel diskutierten Arbeiten war der direkte Eintrag von Einzeltropfen oder hieraus entstehenden Partikeln in analytische Instrumente. Ein weiteres Anwendungsgebiet von Tropfengeneratoren ist die präzise Dosierung von Flüssigkeit auf feste Oberflächen und Analyse der getrockneten Rückstände. Die zugehörigen Arbeiten werden in diesem Kapitel mit Fokus auf die Tropfenerzeugung und in Kapitel III.5.2 hinsichtlich der Anwendung zur Kalibrierung von analytischen Instrumenten diskutiert.

Eine Methode aus diesem Anwendungsgebiet wurde für die TRFA von Rückständen aus nL-Tropfen von Miller et al.^{239,240} vorgestellt. Hierbei erzeugten sie 2-50 nL Tropfen mittels einer an eine

Spritzenpumpe angeschlossenen Kapillare, die dann auf das Substrat abgelegt wurden. Es konnte gezeigt werden, dass Rückstände von nL-Tropfen für die Kalibrierung der TRFA geeignet sind und deutlich kürzere Trocknungszeiten als bisher pipettierte μL -Tropfen benötigen. Der Nachteil der manuellen Tropfenablage wurde in einer späteren Arbeit durch die Verwendung eines automatisierten Nanoliterdispensersystems überwunden.²⁴¹ Zur Verbesserung und weiteren Minimierung des Tropfenvolumens schlugen die Autoren daher die Verwendung von Tintenstrahldruckern vor,²⁴⁰ da in der Drucktechnik bereits ein hohes Maß an Optimierung für die präzise Dosierung von kleinsten Flüssigkeitsmengen geleistet wurde. Dieses Konzept wurde von Fittschen et al. unter Verwendung eines modifizierten Tintenstrahldruckers realisiert, für die TRFA detailliert untersucht und zudem eine prinzipielle Eignung für eine Kalibrierung der LA-ICP-MS demonstriert.^{13,14} Im Zeitraum der Entwicklung und Charakterisierung des im Rahmen der vorliegenden Dissertation vorgestellten Systems wurden zudem TRFA Untersuchungen an Rückständen von pL-Tropfen²⁴⁴ und Tropfenanordnungen^{245,246} durchgeführt, die mit einem von Hewlett-Packard (HP) entwickelten, nicht kommerziell verfügbaren pL-Dosiersystem (TIPS - Thermal Inkjet Picofluidic System) erzeugt wurden. Dieses System besteht aus einem Druckkopf mit verschiedenen Düsendurchmessern und besitzt eine Computersteuerung. Hierdurch sind eine direkte Steuerung des Dosiervorgangs sowie der Ausstoß verschiedener Flüssigkeitsvolumen (1-250 pL) möglich. In Kombination mit einem x,y,z-Verschiebetisch überwindet dieses System viele Limitationen, die bei dem Einsatz von modifizierten Tintenstrahldruckern durch die indirekte Steuerung vorhanden sind.

Für die Anwendung im Bereich der Biowissenschaften wurde von HP ein digitaler Dispenser auf Basis des thermischen Tintenstrahldruckverfahrens mit miniaturisiertem freifüllbaren Patronen bzw. Dosierkassetten entwickelt und seit 2011 vertrieben.²⁴⁷⁻²⁵⁰ Ähnlich wie das TIPS-System, besitzt es einen unbeweglichen Dosierkopf. Dieser ist jedoch über einem Autosampler für Mikrotitrierplatten, die 12-1536 Nöpfchen besitzen können, angebracht. Der Druckkopf kann mit Kassetten, die 4 oder 8 einzelne Düsenchips fassen, bestückt werden. Jeder dieser Chips besitzt ein miniaturisiertes eigenes Flüssigkeitsreservoir, das je nach Kassette ein Mindestvolumen von 2 μL (für 8 Düsenchips) oder 50 μL (für 4 Düsenchips) der zu dosierenden Flüssigkeit benötigt. Für die Dosierung von Dimethylsulfoxid werden 13 pL als minimal mögliches Volumen, sowie eine Dosierpräzision < 8 % angegeben.²⁴⁹ Die Software erlaubt die Programmierung komplexer Dosierungsabfolgen in die verschiedenen Nöpfchen der vorgesehenen Mikrotitrierplatten. Das System eignet sich vor allem für das Hochdurchsatz-Screening im Rahmen der pharmazeutischen Wirkstoffforschung.²⁵⁰ Über einen Einsatz dieses Systems in der Elementspurenanalytik wurde bisher, nach bestem Wissen des Autors der vorliegenden Arbeit, bisher in Fachzeitschriften nicht berichtet.

III.5.1. Tintenstrahldruckverfahren

Für die Dosierung kleinster Flüssigkeitstropfen haben sich in kommerziellen Tintenstrahldruckern zwei Techniken etabliert: das piezoelektrische und das thermische Tintenstrahldruckverfahren. Beide Verfahren eignen sich für die gezielte Dosierung von Flüssigkeitstropfen mit Volumina im unteren Pikoliterbereich auf feste Oberflächen. In beiden Techniken wird das Flüssigkeitsvolumen durch Kapillarkräfte in einer miniaturisierten Struktur über einer Düsenöffnung gehalten. Durch das Anlegen eines elektrischen Pulses wird sich dieses Volumen herausdrücken.

Beim piezoelektrischen Druckverfahren, das auch bei den zuvor beschriebenen Tropfengeneratoren angewendet wurde und in Abbildung 20 skizziert ist, wird die notwendige Druckerhöhung mittels des inversen Piezoeffekts direkt erzeugt. Die Anlegung einer Spannung an eine geeignete keramische oder kristalline Struktur induziert eine Änderung des internen Dipolmoments und kann dadurch zu einer Ausdehnung oder Kompression des piezoaktiven Bauteils führen. Durch eine gezielte Ausdehnung des Bauteils wird so der notwendige Impuls auf die Flüssigkeit übertragen, um diese durch die Düse zu drücken und so die Tropfenerzeugung zu initiieren. Obwohl der erste bereits 1977 kommerziell vertriebene Tintendrucker, der Siemens PT 80 auf dieser Technologie basierte und zur Zeit noch von Herstellern wie Epson oder Brother verwendet wird, wird der Markt heute überwiegend durch das von Herstellern wie Hewlett-Packard, Lexmark oder Canon entwickelte thermische Tintenstrahlverfahren dominiert.²⁵¹

Das Funktionsprinzip des thermischen Tintenstrahldruckverfahrens (thermal ink jet) ist in Abbildung 20 (1-4) schematisch dargestellt.

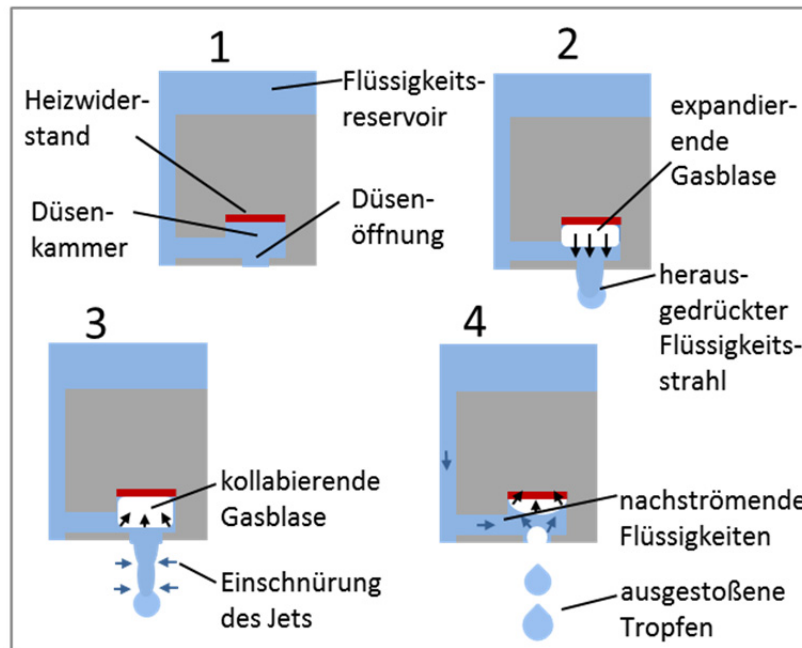


Abbildung 20: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines thermischen Tintenstrahldruckes. Die Reihenfolge der Nummerierung entspricht hierbei der Abfolge im Dosierzyklus.

Kernelement des Druckkopfs ist ein elektrischer Heizwiderstand, der in einer Kammer schlagartig erhitzt wird. Dies führt zum Verdampfen eines Teils der in der Kammer vorliegenden Flüssigkeit und zur Ausbildung einer Dampfblase, welche die vor ihr liegende Flüssigkeit verdrängt und hierdurch den Tropfenausstoß initiiert (2). Hierbei bildet sich zunächst ein Flüssigkeitsstrahl, der auch als Jet bezeichnet wird, aus. Durch Abkühlung oder beim Erreichen der Düse beginnt die Gasblase zu kollabieren. Zudem beginnen sich schon nach kurzer Zeit ein oder mehrere Tropfen aus dem ausgestoßenen Flüssigkeitszylinder abzuschneiden (3). Nach dem Kollaps der Dampfblase wird durch Kapillarkräfte neue Flüssigkeit in die Kammer gezogen (4). Gegenüber dem piezoelektrischen Verfahren hat das thermoelektrische Verfahren vor allem den Vorteil, dass der Druckkopf deutlich günstiger herzustellen ist. Daher integrierte HP den Druckkopf für viele Druckertypen in die auswechselbare Patrone. Dies führte zu einem technisch einfacheren Wechselsystem und minimiert die Auswirkungen von Verschleiß auf die Druckqualität.²⁵² Dies ist auch einer der wichtigsten Gründe, weshalb bei den Untersuchungen im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit ausschließlich HP Patronen verwendet wurden. Hierdurch konnten defekte Dosiereinheiten kostengünstig ersetzt werden.

Zunächst wurden die Tintenpatronen vom Typ HP 29 (bzw. HP 51629a) und HP 49 (bzw. HP 51649) modifiziert, die auch in den Arbeiten von Fitschen et al. mit dem dort beschriebenen modifizierten HP Deskjet 500 Drucker überwiegend zum Einsatz kamen. Für die Dosierung von wässrigen Standardlösungen wurde ein Volumen von 130-180 μL berichtet.^{13,14} Die Patronen vom Typ HP 29

und HP 49 unterscheiden sich dabei hauptsächlich in ihrer Geometrie. Während der Typ HP 29 die einfacher aufgebaute, einfarbige Variante ist, besitzt der Typ HP 49 drei separate Farbkanäle, die zu je einer Doppelreihe mit 2x8 Düsen führen. Die Technologie und verwendete Herstellungstechnik sind daher weitestgehend identisch.²⁵³

Grundkörper für den Druckkopf ist ein Siliziumchip. In diesem sind Vertiefungen für Düsenkammern und Tintenkanäle eingearbeitet. Für die Funktionalisierung werden nun verschiedene dünne Schichten auf die Siliziumoberfläche aufgebracht. Zur Passivierung und elektrischen Isolierung besteht die unterste Schicht aus Siliziumdioxid. Hierauf wird nun eine Tantal-Aluminiumschicht als Heizwiderstand auf die Unterseite der Düsenkammern gesputtert, gefolgt von Leiterbahnen aus Aluminium und einer weiteren Passivierungsschicht aus Siliziumcarbid und Siliziumnitrid. Eine Tantalschicht im Düsenbereich gewährleistet eine defektlose Struktur mit homogenem Wärmetransfer zur kontrollierten Dampfblasenbildung. Unter den Goldleiterbahnen, die zu den Anschlussfeldern des Chips führen, ist eine weitere Tantalschicht zur Vermeidung von Kavitationen angebracht. Über dieser Schichtstruktur befindet sich die Düsenplatte aus einer goldbeschichteten Nickelfolie.²⁵⁴⁻²⁵⁶

Der Vorteil dieses Patronentyps liegt in der einfachen Ansteuerung der Düsen. Ein Schaltplan der direkt adressierbaren Heizwiderstände und eine Übersicht sind in Abbildung 21 dargestellt.

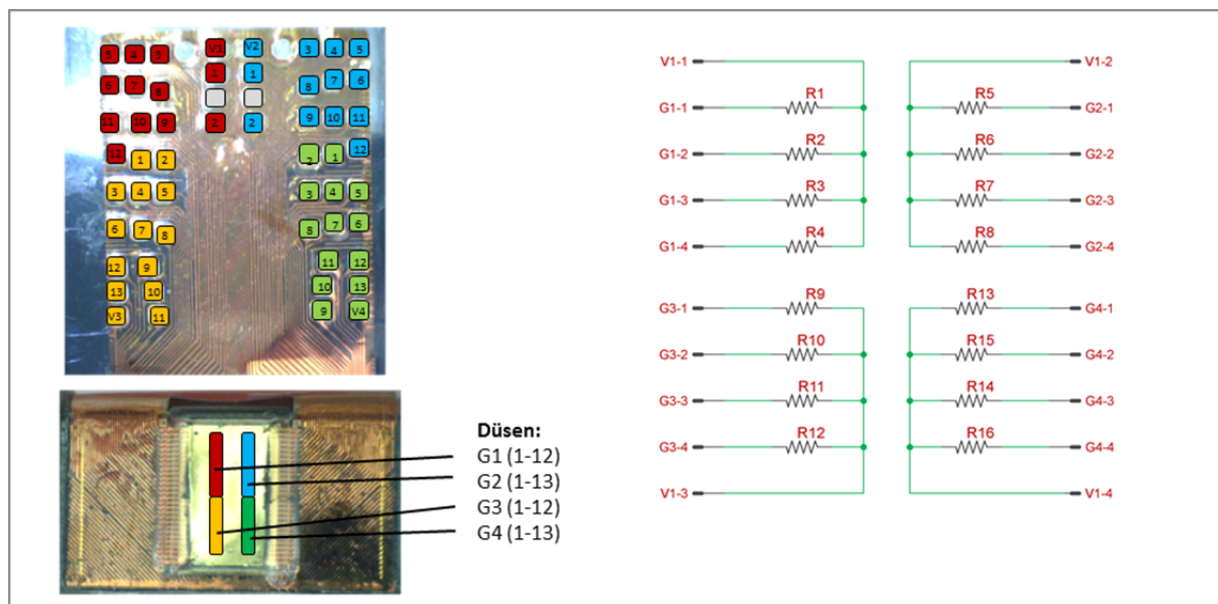


Abbildung 21: Illustration eines HP 29 Druckkopfes. Links: Zuordnung der elektrischen Kontaktfelder zu den entsprechenden Düsen (G1-1 bis G4-13) Rechts: schematischer elektrischer Schaltplan.

Der Druckkopf (Typ HP 29) verfügt über 50 einzelne Düsen, die in zwei Reihen mit je 25 Düsen angeordnet und in vier Gruppen zusammengefasst sind. Jede Gruppe verfügt über einen Kontakt für

die Masse und 12 bzw. 13 Kontakte für die einzelnen Heizwiderstände. Der elektrische Heizimpuls kann daher direkt über das Anschlussfeld (G1-1 bis G4-13) auf der Rückseite und über die der jeweiligen Masse der Gruppe (V1-1 bis V1-4) angelegt werden. Geeignete Impulse werden über integrierte Schaltkreise auf der Steuerungsplatine des Druckers erzeugt, durch die unter anderem auch die Steuerung des Papiervorschubs und der Druckkopfposition gesteuert werden.

Neben der Steuerung der Patronen über einen Drucker ist es möglich, mit Hilfe eines Mikrokontrollers Steuersignale zu erzeugen. Ein Schaltplan für einen Impulsgenerator aus elektrischen Standardbauteilen für die Steuerung der Patronentypen HP 29 und HP 49 wurde in der Elektronik Zeitschrift „Elektor“ beschrieben.²⁵⁷ Die Schaltung besteht aus zwei monostabilen Kippstufen (auch Monoflop). Die erste fungiert über eine RC-Rückkopplung als Frequenzgeber, die zweite monostabile Kippstufe erzeugt das Steuerungssignal für Heizimpulse. Eine Spannung von 12 V wird permanent an den Heizwiderstand auf dem Druckkopf angelegt, ein Stromfluss und damit ein Heizimpuls wird jedoch erst durch eine nachgeschaltete transistorbasierte Verstärkerstufe gesteuert - der sogenannten Darlingtonschaltung - die abhängig vom Steuersignal ein Abfließen der Ladung ermöglicht.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurden Patronen vom Typ HP 45 verwendet. Während die HP 29 1988 auf dem Markt erhältlich war, entwickelte HP seine Technologie weiter und führte ab 1996 Drucker mit Patronen vom Typ HP 45 ein. Diese besitzen 300 Düsen, die jeweils ein Volumen von ca. 35 pL ausstoßen. Aufgrund der stark gestiegenen Anzahl an Düsen war eine direkte Ansteuerung der jeweiligen Heizwiderstände nicht mehr praktikabel, so dass eine matrixbasierte multiplexe Adressierung auf der Basis von Feldeffekttransistoren (FET) entwickelt wurde.²⁵⁸ Durch diese Steuerung können mit 50 Anschlussstellen alle 300 Düsen angesteuert werden. Eine Skizze der Kontaktfeldbelegung und ein Schaltplan sind in Abbildung 22 abgebildet.

Auch für den Druckkopf des Patronentyps HP 45 bildet ein Siliziumchip den Grundkörper. Dies ermöglicht auch die Integration der FETs in den Druckkopf, da über gezielte Oberflächenmodifikation und Auftragung von elektrischen Leiterbahnen direkt auf dem Siliziumchip sogenannte n-dotierte Metall-Isolator-Halbleiter FETs (MISFET -metal isolator semiconductor field effect transistor) erzeugt werden können.²⁵⁹ Der nachfolgende schichtförmige Aufbau der Heizwiderstände auf den Chips ähnelt in verwendeten Materialien und Schichtfolge stark dem Aufbau der zuvor beschriebenen Patronen vom Typ HP 29. Gemäß Patentunterlagen wurden jedoch für den Patronentyp HP 45 mehrere Druckkopftypen entwickelt, die sich leicht in der Schichtstruktur unterscheiden.²⁶⁰ Eine wichtige Veränderung für die Anwendung im Rahmen dieser Arbeit ist das Material für die

Düsenfolie. Für den Patronentyp HP 45 wird eine Polyimidfolie (Kapton™, Upilex™) verwendet, in die durch Laserablationsprozesse die Düsenöffnungen gebohrt werden.²⁶²

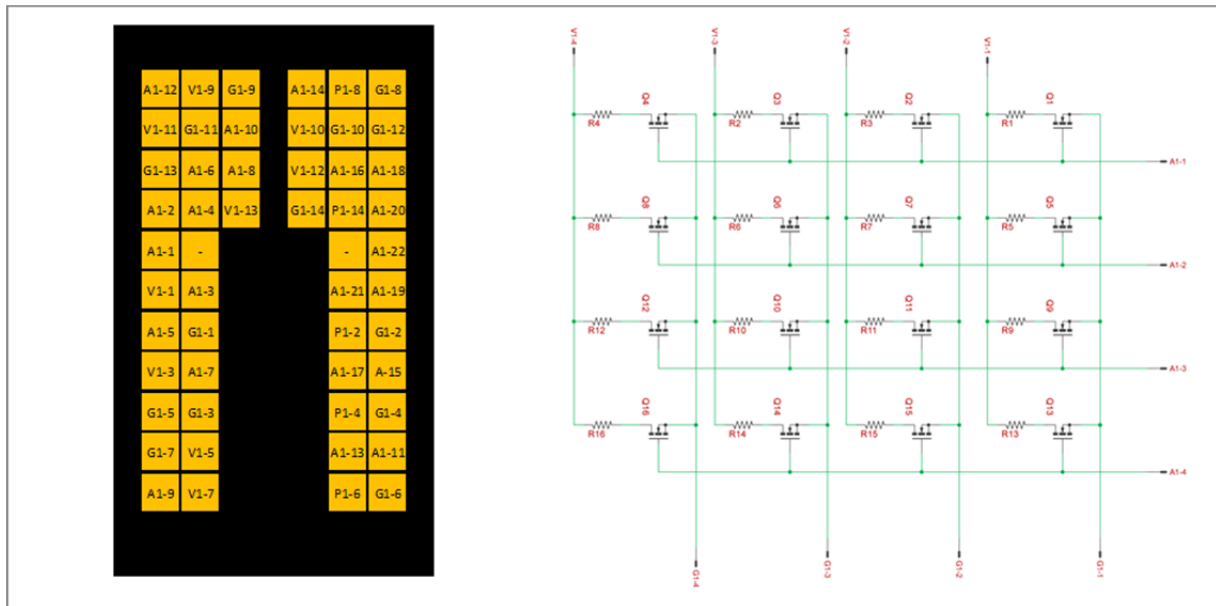


Abbildung 22: Schematische Skizze zu einem HP 45 Druckkopf. Links: Anordnung der elektrischen Ansteuerungskontakte. Rechts: Elektrischer Schaltplan.

Zur Ansteuerung wird an eine Reihe von parallel geschalteten Steuerelektroden (engl. gates) (A1-1 bis A1-22) der zugehörigen FETs eine Spannung von 12 V angelegt, so dass die Transistoren elektrisch leitend werden und die entsprechenden Heizwiderstände mit einem Rechtecksignal von 10 V und $2.5 \mu\text{s}$ angesteuert werden können.²⁶³ Wird nur eine Reihe der parallel geschalteten Heizwiderstandsanschlüsse (G1-1 bis G1-14) ausgewählt, wird hierdurch nur ein Druckvorgang an einer Düse ausgelöst. Die ebenfalls zu Gruppen zusammengelegten Massen spielen für die Adressierung keine Rolle und können elektrisch verbunden werden. Durch diese matrixartige Adressierung ist die Steuerung von 308 (14×22) Düsen möglich, so dass 8 Adressen ungenutzt bleiben. Die genaue Zuordnung der Düsenpositionen ist detailliert in zugehörigen Patenten beschrieben.^{258,264} Für die hier vorliegende Arbeit spielt diese Zuordnung jedoch eine untergeordnete Rolle, da die Düsenauswahl aufgrund von mikroskopischen Beobachtungen erfolgt (siehe Kapitel IV.4).

III.5.2. Kalibrierstrategien auf Basis diskreter Flüssigkeitsvolumina mit Bezug zur LA-ICP-MS

Feste Kalibrierstandards für die LA-ICP-MS sind häufig nur eingeschränkt verfügbar, besitzen für die orts aufgelöste Analyse in vielen Fällen eine unzureichende Homogenität und lassen sich auch zumeist nur sehr eingeschränkt modifizieren (Vergleich Kapitel III.4.6). Im Gegensatz hierzu sind flüssige Kalibrierstandards für nahezu alle Elemente und viele lösliche Elementspezies kommerziell erhältlich und lassen sich durch Verdünnung und Mischung gut auf spezifische Gegebenheiten einstellen. In Kombination mit der Dosierbarkeit dieser Lösungen durch verschiedene Techniken (Vergleich Kapitel III.5.1) lassen sich aus flüssigen Lösungen definierte Referenzproben für Charakterisierung, Kalibrierung und Quantifizierung bei der Analyse von festen Proben in der Elementspurenanalytik herstellen.

III.5.2.1. μL -Pipetten

Analog zu der in Kapitel III.2.2 beschriebenen und auf Rückständen von μL -Volumina basierenden Kalibrierstrategie für die TRFA wurde von Yang et al. eine Kalibriermethode für die Analyse von getrockneten μL -Rückständen aus Standardlösungen für die Quantifizierung von Trinkwasser und getrockneten Fraktionen aus der HPLC-Trennung vorgeschlagen.^{265,266} Hierbei wurde der Großteil des Rückstandes (150-630 μm Durchmesser) mittels Laserablation (Laserstrahldurchmesser 400 μm) abgetragen und die Konzentrationsberechnung erfolgte auf Basis der integrierten transienten Signalverläufe. Eine Kompensation der teilweise unvollständigen Ablation der Rückstände erfolgte über interne Standardisierung. Mit dieser Strategie konnten Kalibrierfunktionen mit hohen Korrelationen ($r^2 > 0,99$) und relativen Standardabweichungen der Einzelmesswerte von 5-23 % bestimmt werden. Zudem war es möglich, die verschiedenen Kalibriertechniken der externen Kalibrierung, Standardaddition sowie der Isotopenverdünnung für die LA-ICP-MS anzuwenden. Die Anwendbarkeit dieser Methoden ist jedoch dadurch eingeschränkt, dass die Analyten in dem Rückstand homogen verteilt vorliegen müssen. Reichern sich z.B. Analyten im Zentrum des Rückstands oder an den Rändern an, ist eine repräsentative Beprobung kaum zu gewährleisten. Diese Problematik wurde auch von Kumtabtim et al. beschrieben.²⁶¹ Bei orts aufgelöster Analyse von Rückständen stammend von 1-10 μL diverser Urinproben auf verschiedenen Oberflächen wurden deutliche Hinweise auf heterogene Verteilung der Analyten im Rückstand erhalten. Bei der Analyse und Kalibrierung wurden relative Standardabweichungen von maximal 20 %, Korrelationskoeffizienten von 0,7852-0,9972 und Nachweisgrenzen von 3- 586 mg kg^{-1} ermittelt.

Diese Einschränkung kann durch eine ähnliche Strategie für die Analyse verschiedener Wasserproben und getrockneten Blutrückständen über die vollständige Ablation des Rückstandes aufgehoben werden.^{267,268} In den zugehörigen Arbeiten konnten 0,5-1 µL Analytlösung auf eine PTFE-Oberfläche eingetrocknet werden und der verbleibende Rückstand (Durchmesser 500-800 µm) durch eine in einem Raster angeordnete Serie von Laserschüssen (Laserstrahldurchmesser 110 µm, der zusätzlich vergrößernd defokussiert wurde) ablatiert werden. Hierüber erfolgte eine vollständige Ablation der Rückstände. Es muss jedoch sichergestellt werden, dass die Schockwelle der ersten Ablationen nicht bereits Material aus dem Zielgebiet der folgenden Laserablationen ablöst und hinausbefördert und dieses Material somit nicht vollständig in die Aerosolphase überführt werden kann. Die für die Quantifizierung verwendeten Signalintensitäten können ebenfalls über Integration der erhaltenen transienten Signalverläufe berechnet werden. Auch für diese Kalibriervariante konnten geringe relative Standardabweichungen (1-7 %) und gute Korrelationen ($r^2 > 0,99$) bestimmt werden. Es konnten externe Kalibrierungen und Standardadditionen mit der vorgestellten Vorgehensweise durchgeführt werden. Bedingt durch die großen Durchmesser der Rückstände von µL-Pipetten wurden von beiden Forschungsgruppen die jeweils größten an ihren Systemen verfügbaren Laserstrahldurchmesser verwendet, die jedoch deutlich kleiner waren als die der jeweiligen Rückstände. Von einer Übertragbarkeit auf Proben, die nicht aus homogenen, flüssigen Proben hergestellt werden können, wurde in diesen Arbeiten nicht berichtet.

Bei einer von Venkatachalam et al.²⁶⁹ berichteten Kalibrierstrategie für die bildgebende LA-ICP-MS Analyse von phosphorylierten Proteinen wurden 5 µL Standardlösung auf eine Nitrozellulosemembran übertragen. Die Membran wurde mittels Laserablation in Form von Linienscans analysiert und die Signale integriert. Hierbei konnten deutliche Unterschiede für das Responseverhalten der verschiedenen Phosphorspezies PO_4 und α -Casein beobachtet werden, welches die Autoren auf unvollständige Ablation zurückführten.

III.5.2.2. nL-Tropfengeneratoren

Für die TRFA wurden Nanolitertropfen, wie bereits in Kapitel III.5 beschrieben, von Miller et al. zunächst über eine Spritzenpumpe am Ende einer Kapillaren erzeugt und manuell abgelegt.^{239,240} Mittels dieser Technik wurden getrocknete Rückstände als Kalibrierstandards erhalten, die reproduzierbarere Signalintensitäten in der TRFA lieferten als solche, die mittels µL Pipette erzeugt werden können (Vergleich Kapitel III.2.2). Es konnten Rückstände nach Einfach- und Mehrfachdosierung erzeugt werden und hierbei lineare Kalibrierfunktionen für die TRFA aufgenommen werden. Für die Analyse mittels Mikro-RFA lagen die Durchmesser der getrockneten Rückstände (10-275 µm) jedoch in einigen Fällen deutlich über dem anregenden

Röntgenstrahldurchmesser von 60 µm. Mittels eines kommerziell verfügbaren, kontaktlosen Nanoliterdispensersystem konnte bei vergleichbarer Form der Rückstände die Dosierfrequenz gegenüber dem manuellen Ablegen der Tropfen deutlich verbessert und somit die Präparationszeit der Kalibrierstandards reduziert werden.²⁴¹ Die hohe Reproduzierbarkeit des dosierten Volumens und der erhaltenen Geometrie der Rückstände der manuellen Methode konnte von diesem automatisierten System jedoch nicht erreicht werden.

Dieses Kalibrierkonzept wurde von Horntrich et al.²⁴² und Wastl et al.²⁴³ übernommen. In beiden Arbeiten wurde ein Dosiersystem beschrieben, das aus einer nL-Pumpe besteht (UltraMicroPump III), die über einen elektrischen Verschiebetisch angebracht ist. Mit diesem System können 300-6000 nL Analytlösungen mit hoher Präzision dosiert werden. Hiermit wurden Analytmassen zwischen 50 pg und 150 ng auf Siliziumträger transferiert und zur Kalibrierung in der TRFA verwendet. Hierbei konnten Standardabweichungen von weniger als 4 % beobachtet werden.

III.5.2.3. Tintenstrahldrucker und pL-Dispenser

Kommerziell vertriebene Tinten, die in Tintenstrahldruckern Verwendung finden, enthalten bereits ubiquitäre Elemente wie S, Ca, Mn, Fe, Co, Cu und Ni. Bei der Charakterisierung von Laserablationskammern konnten von Feldmann et al.¹⁷⁸¹⁸⁴ daher barcodeähnliche Linienmuster ablatiert werden und hierbei die Auswaschzeiten verglichen werden. Bellis und Santamaria-Fernandez²⁷⁰ benutzten kommerzielle Tintenstrahldrucker zur Optimierung und Charakterisierung einer LA-ICP-SFMS Methode. Hierfür wurde die kupferhaltige cyan-farbene Tinte in unterschiedlichen Deckungsgraden auf Papier gedruckt, die dosierte Cu-Masse pro mm² bestimmt und Modelldrucke für Zellschnitte mit unterschiedlichen Konzentrationsmaxima erzeugt. Über ähnliche Studien wurden auch von Bonta et al. berichtet.²⁷¹ Dabei wurde cyan-farbene, Cu-haltige Tinte zur Erzeugung von Kalibrierproben verwendet. Ein Teil dieser Proben wurde durch einen Sputterprozess zusätzlich mit einer Dünnschicht aus Gold überzogen. Das bei der LA-ICP-MS Analyse gemessene Goldsignal konnte zur internen Standardisierung des Cu-Signals verwendet werden.

Unter forensischen Gesichtspunkten wurden atomspektrometrische Methoden zur Identifizierung oder Unterscheidung verschiedener Tinten jedoch bisher nur in wenigen Arbeiten eingesetzt.²⁷²⁻²⁷⁵ In einer aktuellen, umfangreichen Studie untersuchten Trejos et al.²⁷² 48 bedruckte Papierproben von unterschiedlichen Tintenstrahl- und Laserdrucken und verschiedenen Tinten bzw. Tonern. Hierbei wurden auf Längen von 800 µm mit einem Laserstrahldurchmesser von 250 µm kurze Linien abgetragen. Der Laser wurde auf ein maximales Verhältnis aus Analytsignal aus der Tinte bzw. dem Toner und dem ¹³C Signal aus dem Papier optimiert und im weiteren Verlauf wurde ¹³C zur internen

Standardisierung verwendet. Die hierbei gemessenen Signale wurden integriert und semiquantitativ auf Unterscheidbarkeit der verschiedenen Tinten untersucht.

Sind die zu untersuchenden Analyten nicht bereits in Tinten vorhanden, ist es möglich, Tintenpatronen mit Analytlösungen zu füllen und diese auf Papier oder Folien zu drucken. So konnten Shelley et al. Kalibrierstandards für die Analyse von Koffein durch Abtrag mittels Laserablationsionisation durch eine Heliumglimmentladung bei Atmosphärendruck und anschließender massenspektrometrischer Detektion (FAPA - **f**lowing **a**tmospheric-**p**ressure **a**fterglow) herstellen.²⁷⁶ Die Autoren dosierten eine angefärbte koffeinhaltige Tinte mit modifizierten Patronen für einen HP Deskjet 5740 Drucker und konnten so ca. 5 pL-Tropfen einer eingefärbten 2 M Koffeinelösung auf Glasträger dosieren. Die erhaltene Kalibriergerade wies eine hohe Linearität ($R^2=0,992$) sowie eine relative Standardabweichung (RSD) von ca. 5 % auf. Zudem konnte die bildgebende Analyse mittels LA-FAPA-MS an einer gedruckten 2-dimensionalen Struktur demonstriert werden.

In einer Studie zu LA-ICP-MS-Analyse von Western Blot-Membranen von Hoest et al.²⁷⁷ wurden speziell hergestellte Tinten verwendet. Hierbei wurden In-dotierte Tinte zur internen Standardisierung sowie Pr- und Er-dotierte Tinten zur Kalibrierung eingesetzt. Die Dosierung erfolgte hierbei über neu-befüllte Tintenpatronen eines konventionellen Canon PIXMA iP4950 Druckers. Als Kalibrierstandards wurden Quadrate mit einer Kantenlänge von 3 mm mit der Pr- und Er- haltigen Tinte in verschiedenen Deckungsgraden bedruckt, und anschließend die gesamte Membran gleichmäßig mit der In-haltigen Tinte in einem Deckungsgrad von 20 % bedruckt. Die dosierten Elementmassen wurden in ausgeschnittenen Gelstücken nach Aufschluss mittels ICP-MS bestimmt. Für die LA-ICP-MS-Analyse wurden die Membranen vollständig mit einem Laserstrahldurchmesser von 180 μm ablatiert. Die erhaltenen Signale wurden mit Hilfe des Signals des integrierten In-Standards normiert. Für die zugehörigen Kalibriergeraden konnten Korrelationskoeffizienten größer als 0,999 erhalten werden. Die erzielten relativen Standardabweichungen und Nachweisgrenzen liegen bei 1 % bzw. 250-500 fg. Da der Canon PIXMA iP4950 auch eine Bedruckung von compact discs (CD) erlaubt, konnten in Folgearbeiten über eine als Probenhalter modifizierte CD auf Glasplatten immobilisierte Gewebeschnitte homogen mit In- und Ir- haltigen Tinten bedruckt und die jeweiligen Elemente zur internen Standardisierung verwendet werden.^{278,279}

Bei der Charakterisierung einer Kopplung aus einer Dioden-Laser-basierten thermischen Verdampfungseinheit mit einem ICP-MS verwendeten Foltynová et al.²³⁶ Filterpapier als Probenträger, auf das mit einem HP Photosmart C5380 Tintenstrahldrucker Rechtecke von 2,6 x 1,2 mm mit schwarzer Farbe gedruckt wurden. Die schwarze Tinte verstärkte die Absorption der

Laserstrahlung und ermöglichte die Pyrolyse des Papiers. Zudem wurde ein selbstentwickeltes pL-Dosiersystem beschrieben, bei dem ein piezoelektrischer Dispenser über einem elektrischen Verschiebetisch montiert wurde. Dieses erzeugt mit einer Frequenz von 200 Hz Tropfen mit ca. 65 pL Volumen und wurde für die Herstellung von Kalibrierstandards verwendet. Hierbei wurden Kalibrierstandards mit Analytmassen zwischen 2-500 pg für Blei und Cadmium durch Dosierung von Standardlösungen mit 3-770 Tropfen erhalten. Am Beispiel von zertifizierten Blutproben konnte die Verwendung der Quantifizierungsstrategie der Standardaddition für Pb und Cd verifiziert werden. Bedingt durch einen Laserstrahldurchmesser von 800-1200 µm und der anschließenden Pyrolyse des Papiers standen orts aufgelöste Untersuchungen nicht im Fokus dieser Arbeit.

Durch Modifizierung von Tintenstrahldruckern und zugehörigen Patronen konnten Fittschen et al. Kalibrierstandards aus getrockneten Rückständen von Standardlösungen auf frei wählbaren Probenträgern für TRFA und LA-ICP-MS erzeugen.^{13,14} Der Papiervorschub des Druckes wurde deaktiviert bzw. überbrückt und die Probenträger wurden manuell über eine Laborhebebühne unter dem beweglichen Dosierkopf positioniert. Die Patronenaufhängung mit dem Dosierkopf wurde nicht modifiziert und befand sich auf einem eindimensional beweglichen Schlitten. Die Steuerung der Dosierung erfolgte indirekt über eine Bildbearbeitungssoftware und dem Druckertreiber. In der Bildbearbeitungssoftware wurde hierfür ein Muster vorgegeben -z.B. ein einzelnes Pixel- und in den Druckereigenschaften die Qualität und Farbsättigung des Druckes. Mit diesen Informationen erfolgte über den Druckertreiber eine Auswahl der Düsen und Anzahl an Dosierungen sowie Überfahrten der Probe mit dem Patronenschlittens. Hierdurch war es möglich nach visueller Optimierung einzelne Tropfen aus einer Düse zu erzeugen sowie Arrays aus mehreren Düsen zu dosieren. Hierbei definiert die Breite des Druckkopfs die maximale Breite des Arrays, das erzeugt werden kann, ohne dass ein Verschieben der Probe erfolgen muss. Bei diesen Arbeiten konnten mit einem modifizierten HP-500C Drucker die besten Resultate erreicht werden. Durch Einzel- und Mehrfachdosierung auf jeweils eine Position auf dem Probenträger konnten so Rückstände mit Analytmassen im Bereich von wenigen Pikogramm bis einigen Nanogramm erzeugt werden. Der Durchmesser der Rückstände nach Trocknung der Lösungen lag abhängig von der Konzentration der dosierten Lösung für Einzeldosierungen zwischen 5 und 20 µm. Bei Mehrfachdosierung wurden jedoch irreguläre Formen von Rückständen mit bis zu 100 µm Durchmesser beobachtet, die auf eine eingeschränkte räumliche Dosierpräzision bei der Mehrfachdosierung zurückgeführt wurde. Eine Ursache hierfür liegt möglicherweise in dem beweglichen Patronenschlitten, der bei der Mehrfachdosierung mehrere Überfahrten über den Probenträger vollführt. Basierend auf diesen Rückständen konnten für die TRFA-Kalibriergeraden für eine Vielzahl von Elementen mit Korrelationskoeffizienten zwischen 0,9725 und 0,9997, sowie einer Standardabweichung von 2-15 % für Messungen an gleich

hergestellten Kalibrierstandards aufgenommen werden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass das Kalibrierkonzept auf die LA-ICP-MS prinzipiell übertragbar ist, wobei eine umfassende Charakterisierung für Objekte im Größenbereich von wenigen μm bisher noch aussteht. Im Gegensatz zu den in Kapitel III.5.2.1 beschriebenen Methoden konnten Rückstände bis 390 pg Analytmasse vollständig mit einem Laserstrahldurchmesser von 55 μm ablatiert werden ohne Probe oder Laser zu bewegen. Bei Rückständen mit 650 pg Analytmasse wurde jedoch auch bei diesen Experimenten¹⁴ ein Überschreiten des Rückstandsdurchmessers gegenüber dem abtragenden Laserstrahldurchmesser und hierdurch erhöhten Standardabweichungen beobachtet. Die bei der Ablation aufgezeichneten transienten Signale mit einer Länge von ca. 5 s wurden über Integration in Absolutsignale überführt. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnten Kalibrierkurven mit Bestimmtheitsmassen von 0,9748-0,9974 sowie hoher Wiederholpräzision mit Standardabweichungen von 4-20 % aufgenommen werden.

Parallel zu den im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Experimente wurde von Fittschen, Sparks und Havrilla²⁴⁴⁻²⁴⁶ Untersuchungen an einem direkt steuerbarem thermischen Tintenstrahl Dosiersystem durchgeführt. Dieses System wurde von HP für interne Forschung und Entwicklung entworfen und ist daher nicht kommerziell verfügbar. Die direkte Auswahl einzelner Düsen, die einstellbare Dosierfrequenz und die Steuerung der Anzahl der dosierten Tropfen in Kombination mit einem x,y,z-Verschiebetisch erlauben es, Einflüsse auf den Dosiervorgang näher zu untersuchen. Der automatisierte Verschiebetisch erlaubt zudem die Herstellung von Arrays aus mehreren hundert einzelnen Segmenten, also Rückständen eingetrockneter Tropfen (z.B. 30x30 Rückstände), die für die TRFA als Kalibrierstandards für die Analyse von Rückständen nach Dampfphasenabscheidung verwendet werden können.

Die Durchmesser und Höhe der erhaltenen Rückstände liegen in einer ähnlichen Größenordnung wie solche, die mittels eines modifizierten Druckers erzeugt wurden. Für die Dosierung von Einzeltropfen werden relative Standardabweichungen von 4-14 % berichtet. Zur Kalibrierung wurden Dosierungen von Einzeltropfen auf hydrophoben Oberflächen durchgeführt, die aus unterschiedlich großen Düsen stammten und daher verschiedene Volumina besaßen. Nach Trocknung konnten Kalibrierfunktionen im Bereich von 15-280 pg und Korrelationskoeffizienten $>0,9997$ erreicht werden.

In einer aktuellen Arbeit von Wang et al.²³⁷ wurde ein kommerzielles, piezobasiertes pL-Dosiersystem für die Herstellung von Kalibrierstandards für die LA-ICP-MS Analyse von einzelnen Zellen beschrieben. Mit dem verwendeten System wurden jeweils einzelne Dosierungen von ca. 18 pL und von 3 verschiedenen Au-Standardlösungen auf Glasträger dosiert. Mehrfachdosierungen auf eine Stelle wurden nicht untersucht. Nach Trocknung wurden Kalibrierstandards mit Au-Massen von 3,6 –

360 fg und Durchmessern von 40 μm erhalten. Die Kalibrierung wurde gemäß der von Fittschen et al.¹⁴ vorgeschlagenen Strategie durchgeführt. Die ermittelten relativen Standardabweichungen der einzelnen Kalibrierpunkte lagen bei maximal 8 %. Zudem konnte für Au ein Korrelationskoeffizient von 0,999 und eine Bestimmungsgrenze von 1,7 fg ermittelt werden. Diese Kalibrierfunktion wurde bei der Analyse von einzelnen Makrophagen aus der Maus verwendet, die vor der Analyse mit Goldnanopartikeln inkubiert wurden. Hierbei wurden Analytmassen von 15 ± 13 fg Au für die einzelnen Zellen bestimmt, welches einer Menge von 77 ± 67 Nanopartikeln pro Zelle entspricht.

Weiterführende Aspekte der hier genannten Literatur werden in Abschnitt V im Zusammenhang mit den entsprechenden Ergebnissen der vorliegenden Arbeit diskutiert.

III.5.2.4. Schlussfolgerungen

Die Dosierung von Standardlösungen mit definierten Volumina gefolgt von der Eintrocknung der aufgetragenen Tropfen erlaubt es für einige Anwendungen, definierte Flächen oder Rückstände mit bekannter Analyt- und ggf. Matrixzusammensetzung zu erzeugen. Dadurch kann es ermöglicht werden, Limitationen zu überwinden, die aus der zumeist ungenügenden Verfügbarkeit von Kalibrierstandards für die LA-ICP-MS entstehen. Über die Analyse von Objekten im mm- und μm Bereich konnten für die orts aufgelöste Analyse fester Proben Kalibriergeraden für verschiedene RFA-Techniken sowie die LA-ICP-MS Analyse aufgenommen werden. Während mit kommerziell erhältlichen Druckern zumeist Kalibrierstandards mit Größen im mm-Bereich hergestellt wurden, erlauben modifizierte Drucker oder pL-Dosiersysteme die Herstellung von Kalibrierstandards mit wenigen Pikogramm Analytmasse und Durchmessern, die kleiner als 100 μm sind.

Da diese Durchmesser meist kleiner sind als die jeweiligen üblichen Strahldurchmesser in der TRFA und der LA, lassen sich die Kalibrierstandards vollständig mit Röntgenstrahlung anregen oder mittels Laserablation vollständig abtragen. Hierdurch werden auch geringfügige Schwankungen im Trocknungsverhalten der dosierten Lösungen ausgeglichen. Durch die vollständige Ablation und Integration über das gesamte transiente Signal werden zudem Matrixeffekte in der LA-ICP-MS aus fraktionierter Verdampfung und Schwankungen in der Abtragungsgeschwindigkeit des Lasers, welche z.B. aus Leistungsschwankungen oder sich ändernder Fokussierung hervorgerufen werden, prinzipiell ausgeschlossen.

Gegenüber dem piezoelektrischen Dosierverfahren besitzt das thermische Tintenstrahl-Druckverfahren die Vorteile der geringeren Störanfälligkeit gegenüber Lufteinschlüssen und der Tatsache, dass die Dosierkapillare bei frei einstellbaren Dosierfrequenzen verwendet werden kann

und weniger Volumen der zu dosierenden Flüssigkeit benötigt. Die kostengünstigen Druckköpfe lassen sich einfach ersetzen, sind deutlich kompakter als piezoelektrische Dispenser und bieten sich daher für eine Integration in Laserablationssysteme an. Beim praktischen Umgang mit modifizierten, kommerziell verfügbaren Tintenstrahldruckern wurden jedoch Limitationen für das Anwendungspotential dieser pL-Dosiertechnik beobachtet. Bei dieser ist nur eine indirekte Steuerung der Dosierereignisse über eine Bildbearbeitungssoftware in Kombination mit den Einstellungen im zugehörigen Druckertreiber möglich. Die Untersuchung der Auswirkungen von verschiedenen Einstellungsparametern erfolgte bei modifizierten Tintenstrahldruckern daher zumeist empirisch.^{13,280} Durch Überbrückung von Druckerfunktionen - wie dem Papiervorschub oder der Bewegung des Patronenschlittens - lassen sich einige dieser Einschränkungen behelfsmäßig kompensieren, jedoch ist für weiterführende Untersuchungen einer auf Rückständen getrockneter pL-Tropfen basierenden Kalibriertechnik eine direkte Ansteuerung des Dosiersystems wünschenswert. Zudem unterscheiden sich Standardlösungen in ihren physikalischen Eigenschaften, insbesondere in ihrer Viskosität und Oberflächenspannung, deutlich von handelsüblichen Tintenstrahl-tinten, so dass eine Anpassung des Dosiervorgangs über die Dauer und die Spannung des elektrischen Heizpulses eine weitere Möglichkeit zur Optimierung der Dosierung bieten kann. Diese Überlegungen führten zur Entwicklung eines selbstentwickelten, auf dem thermischen Tintenstrahl-Druckverfahren basierenden Dosiersystems. Der Aufbau und die Charakterisierung des Systems werden im Folgenden beschrieben. Des Weiteren wird die Eignung des Systems zur Herstellung von Kalibrierstandards für die LA-ICP-MS und TRFA demonstriert.

Abschnitt IV

Material und Methoden

IV.1. Verwendete Gase, Reagenzien, Geräte, Verbrauchsmaterialien und Software

Alle für die Elementspurenbestimmung verwendeten Substanzen wurden aus analytisch reinem Wasser und entsprechenden Chemikalien hergestellt. Eine Übersicht ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Die verwendeten Geräte sind Tabelle 2 zusammengefasst. Darüber hinaus können Tabelle 3 die in der Tabellenkalkulationssoftware verwendeten Befehle entnommen werden.

Tabelle 1: Verwendete Gase und Reagenzien

Substanz	Qualität	Hersteller bzw. Vertreiber, Ort
Einzel- und Multielementstandardlösungen	Certipur, zertifizierte Standardlösungen (1000 mg L ⁻¹ je Analyt) für die Elementanalytik	Merck, Deutschland
RBS 50	Reinigungschemikalie	Roth, Deutschland
Salzsäure	37 %, zur Analyse	Sigma-Aldrich, Deutschland
Salpetersäure	65 %, zur Analyse	Sigma-Aldrich, Deutschland
Reinstwasser	18 MΩ cm ⁻¹ ,	Millipore, Milli-Q-Systems, USA
Silikonlösung	“Silicone solution for siliconizing glass and metal”	Serva, Deutschland
Stickstoff	Reinheit 4.8	Westphalen-Gas, Deutschland
Argon	Reinheit 5.0	Westphalen-Gas, Deutschland
Agarose	Ultra low melting	Sigma-Aldrich, Deutschland
Quecksilber(II)-chlorid	Ultrapure	Sigma-Aldrich, Deutschland
Matrix zur Stabilisierung von Dünnschnitten	Tissue-Tek®	Leica Microsystems GmbH, Deutschland

Tabelle 2: Verwendete Geräte, Verbrauchsmaterialien und Software

Gerät	Typ	Hersteller, Ort
AFM	Nano Wizard II	JPK, Deutschland
ArF-Eximer Laserablationssystem ($\lambda=193$ nm)	NWR-193	ESI, USA
Bildauswertungssoftware ImageJ	ImageJ v1.45s	National Institute of Health, USA
Elektronische μ l-Pipette	epet	Biohit, Finnland
Gasfeuchte- und Temperaturdatenlogger	TFD 128	ELV Elektronik, Deutschland
Gefriermikrotom	Kryostat CM 3050 S	Leica Microsystems GmbH, Deutschland
ICP-QMS 1	4500	HP bzw. Agilent, Japan
ICP-QMS 2	7500ce	Agilent, Japan
ICP-SFMS	Element 2	ELEMENT2, Thermo Fisher Scientific, Deutschland
Massendurchflussregler	PR 4000	MKS Instruments, Deutschland
monochrome CCD-Kamera	Genie M-1280	Teledyne Dalsa, Kanada
Nd-YAG Laserablationssystem ($\lambda=213$ nm)	UP-213	New Wave, USA
Oszilloskop	UT2042C	Uni-T, Hongkong
Software zur Erstellung virtueller Geräte: LabVIEW	LabVIEW™ 8.2	National Instruments, USA
Software zur Tabellenkalkulation	Excel 2010	Microsoft, USA
TRFA-Spektrometer	S2 PICOFOX	Bruker AXS, Deutschland
USB-Analog-Digitalwandler	LABJACK U12	Meilhaus Electronic GmbH, Alling, Deutschland
USB-Mikroskopkamera	DigiMicro 1.3 MP	dnt Drahtlose Nachrichtentechnik, Deutschland
Zentrifugenröhrchen	CLIKLOK™, Material: Polypropylen	VWR Deutschland

Tabelle 3: Verwendete Funktionen und Befehle in Microsoft Excel

Funktion	Microsoft Excel Befehl
Mittelwert	„=Mittelwert(Zelle 1,Zelle 2,...)“
Standardabweichung	„=Stabw(Zelle 1,Zelle 2,...)“
Steigung	„=Steigung(Zelle Y1;Zelle Y2;...; Zelle X1, Zelle X2 ...)“
Achsenabschnitt	„=Achsenabschnitt(Zelle Y1;Zelle Y2;...; Zelle X1, Zelle X2 ...)“
Korrelationskoeffizienten r	„=Korrel(Zelle Y1;Zelle Y2;...; Zelle X1, Zelle X2 ...)“

IV.2. Allgemeiner Aufbau eines Drop-on-Demand Generators

Im Laufe des experimentellen Abschnitts der vorliegenden Arbeit wurde das entwickelte Dosiersystem zunächst modifiziert und mit Fertigstellung des Dosierinterfaces abschließend komplett überarbeitet. In den folgenden Abschnitten werden diese Aufbauten näher erläutert.

Das pL-Dosiersystem Typ "A" wurde für die direkt adressierbaren Düsen von Dosiereinheiten basierend auf HP 29 oder HP 49 konzipiert und später auf die HP 45 erweitert (pL-Dosiersystem Typ "B"). Das finale pL-Dosiersystem Typ "C" wurde ausschließlich für die Steuerung vom HP 45 basierten Dosiereinheiten optimiert. Alle entwickelten pL-Dosiersysteme folgen dem allgemeinen Aufbau, der in Abbildung 23 skizziert ist.

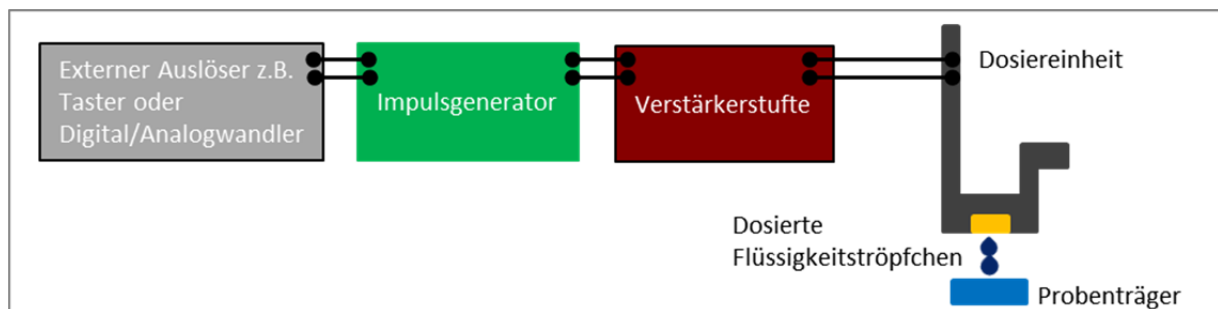


Abbildung 23: Schematische Darstellung des allgemeinen Aufbaus des entwickelten pL-Dosiersystems.

Zentrales Element des Systems ist ein Impulsgenerator, der elektrische Rechtecksignale mit einer Pulslänge von wenigen Mikrosekunden erzeugen kann. Das Auslösen der Signale kann wahlweise kontinuierlich über einen internen Schwingkreis oder diskret über einen externen Eingang - manuell oder computergesteuert - erfolgen. Für das pL-Dosiersystem Typ "A" sowie für Typ "B" wurden die Dosiereinheiten direkt über einer USB-Mikroskopkamera und einem x,y,z-Verschiebetisch angebracht (siehe Abbildung 24). Die Steuerung der Patronen erfolgte über selbstentwickelte Mikrokontroller. Da die Steuersignale des Impulsgenerators eine zu geringe Stromstärke besitzen, um auf der Patrone Dosiervorgänge auszulösen, ist der Einsatz einer zusätzlichen Verstärkerstufe für den Betrieb der

Dosiereinheit notwendig. Zur Einstellung der Pulsbreite und Überwachung wurde ein Oszilloskop parallel zu dem Heizwiderstand der Patrone angeschlossen.

IV.2.1. Herstellung der Dosiereinheit

Zur Herstellung der Dosiereinheit wurden kommerziell erhältliche Druckerpatronen modifiziert. Die Tintentanks der HP Patronen wurden zuerst geöffnet, geleert und mit entionisiertem Wasser ausgespült. Als nächstes wurden alle Strukturelemente entfernt, bis auf die Bodenplatte - in die der Siliziumchip und die Versorgungskanäle für die Flüssigkeit integriert sind - und die hiermit verbundene Rückwand, auf der die Folie mit den Kontaktfeldern fixiert ist. Anschließend wurden die Patronen nacheinander mit Ethanol (technisch), verdünnter RBS-Lösung und Reinstwasser gespült. Zur elektrischen Ansteuerung wurden isolierte Kupferlitzen an die Kontaktfelder angelötet. Abbildung 24 zeigt Fotos der auf diese Weise modifizierten Dosiereinheiten.

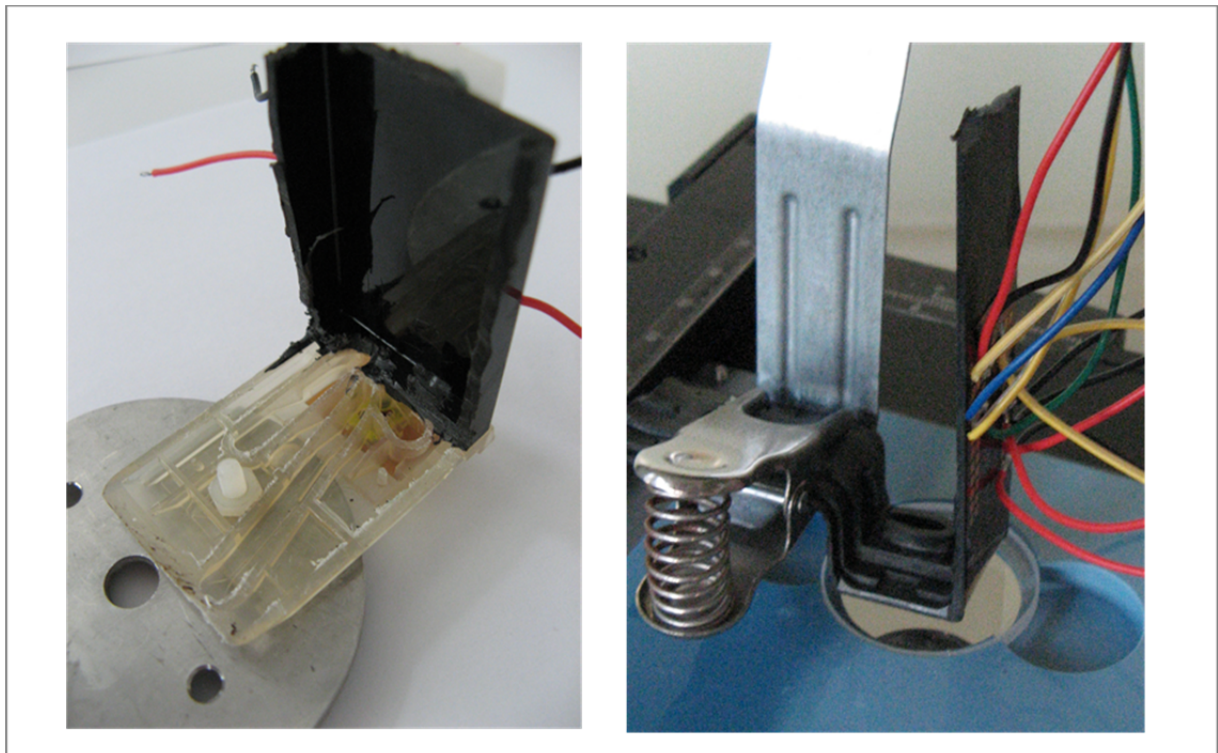


Abbildung 24: Dosiereinheiten, erhalten nach Modifikation der Tintenpatronen. Links: hergestellt aus Druckpatrone Typ "HP 49"; rechts: "Typ HP 45".

IV.2.2. Elektronische Steuerung der pL-Dosiersysteme Typen "A" und "B"

Als Dosiereinheit für das pL-Dosiersystem wurden zunächst direkt adressierbare HP Patronen vom Typ HP 29 und HP 49 verwendet, da sich diese bereits für die Dosierung von Standardlösungen bewährt hatten.^{13,14} Dieser Aufbau wird im Folgenden als pL-Dosiersystem "Typ A" bezeichnet. Für die Entwicklung der elektrischen Steuerung für Patronen vom Typ HP 29 und HP 49 stand die Beschreibung einer Basissteuerung aus Impulsgenerator und Verstärkerstufe zur Verfügung.²⁵⁷ Ähnlich wie in dieser Basissteuerung erfolgte die Verstärkung des Steuerungssignals zunächst über eine Darlington Verstärkerstufe (Verstärkerstufe 1, Abbildung 25).

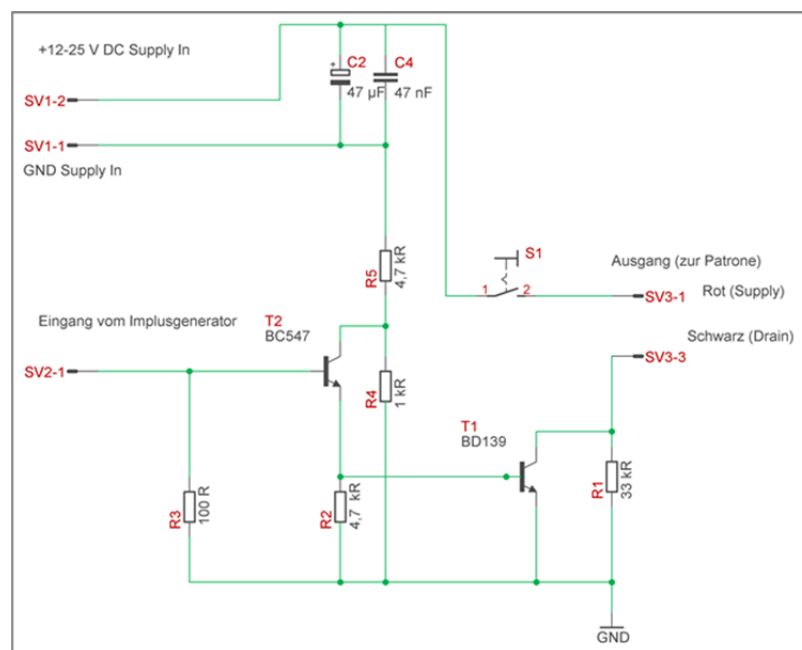


Abbildung 25: Elektrischer Schaltplan der Verstärkerstufe 1 (Darlington Verstärkerstufe) des pL-Dosiersystems Typ "A".

Zur Spannungsstabilisierung wurden in alle elektrische Schaltungen Elektrolyt- und Folienkondensatoren (z.B. Abbildung 25, C2 und C4) integriert. Als Erweiterung der Basisschaltung wurden zusätzliche Widerstände (R1-R5) integriert, um möglichst steile Flanken der Steuerpulse zu erreichen. An den Ausgängen wurden zum flexiblen Anschluss der Dosiereinheit Abgreifklemmen angeschlossen.

Für die Verwendung der matrix-adressierbaren Patronen vom Typ HP 45 wurde ein zusätzlicher Ausgang für das Öffnen der MISFET-Gates auf dem Patronen Chip benötigt. Der zugehörige Aufbau wird im Folgenden als pL-Dosiersystem Typ "B" bezeichnet. Die Verstärkerstufe wurde hierbei auf Metall-Oxid-Halbleiter-Feldeffekttransistorbasis realisiert (MOSFET - metal oxide field effect transistor) (Verstärkerstufe 2, Abbildung 26).

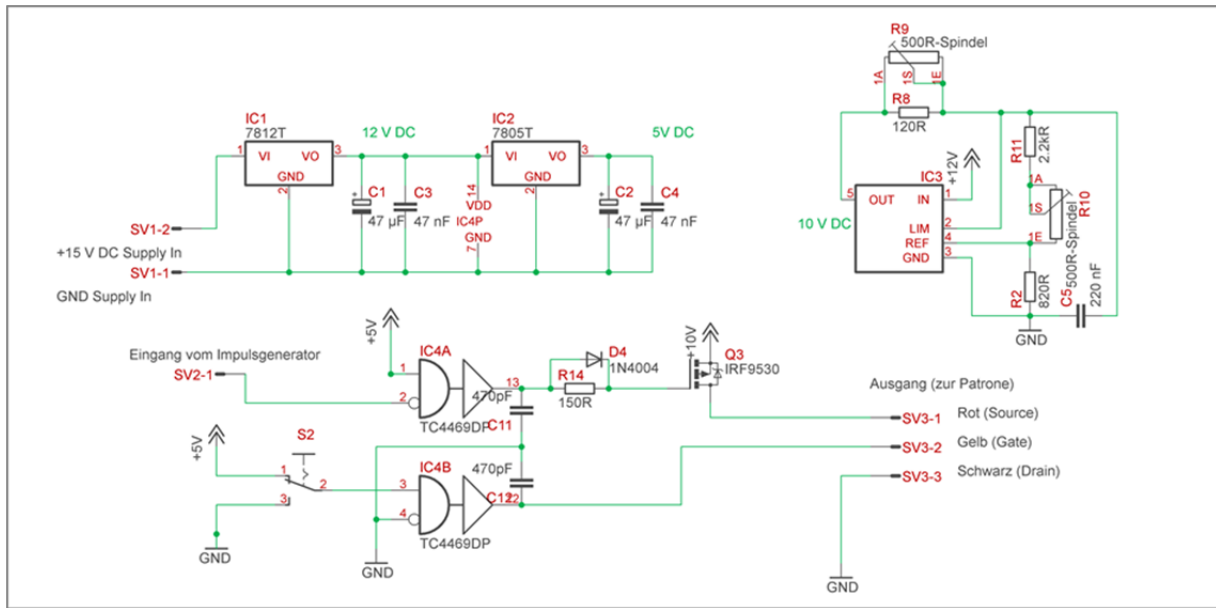


Abbildung 26: Elektrischer Schaltplan der Verstärkerstufe 2 (FET-Verstärkerstufe) des pL-Dosiersystems Typ "B".

Mittels des Schalters S2 ist es mit dieser Schaltung möglich, das auf der Patrone integrierte MISFET-Gate durch eine 12 V Spannung zu öffnen. Mit dem Leistungs-MOSFET (Q3) wird der Stromimpuls für den Heizprozess gesteuert. Zudem können über die Potentiometer R10 und R9 die Heizimpulsspannung eingestellt und der Stromfluss begrenzt werden.

Der mit den beiden Verstärkerstufen 1 und 2 kompatible Impulsgenerator 1 wurde im Vergleich zur Literatur²⁵⁷ und vorangegangenen Untersuchungen²⁸¹ in vielen Bereichen überarbeitet und neuentwickelt. Die Kombination von Impulsgenerator 1 mit Verstärkerstufe 1 wird im Folgenden als Steuerung I bezeichnet, die Kombination mit Verstärkerstufe 2 als Steuerung II. Die Pulsbreiteneinstellung wurde für den Impulsgenerator 1 nicht über einen gesteuerten NE555/NE556 realisiert, sondern über einen integrierten Schaltkreis (IC - integrated circuit) vom Typ 74LS132N. Ein solches NAND-Gatter (**not and**) führt die logische Operation "Nicht Und", also die Invertierung der Operation "Und" durch. Nur wenn an beiden Eingängen ein Signal anliegt, das die Schaltschwelle überschreitet, wird kein Signal ausgegeben. Ein solches NAND-Gatter kann darüber hinaus durch eine RC-Rückkopplung auch als Kippschwinger oder sogenannter Schmitt-Trigger als Frequenzgeber genutzt werden. Eine weitere wesentliche Veränderung war notwendig, um eine definierte Anzahl an Impulsen auszulösen: Ein IC vom Typ TLC556CN wurde eingesetzt, der wahlweise über einen Taster oder einen externen Eingang gesteuert werden kann. Der Schaltplan des Impulsgenerators 1 ist in Abbildung 27 abgebildet.

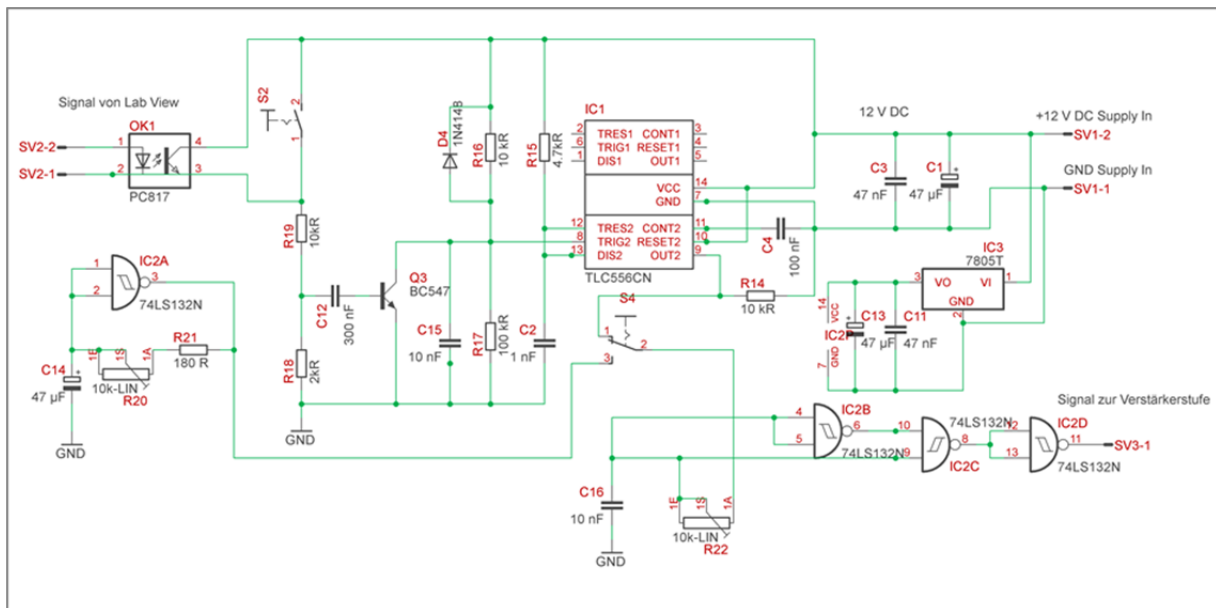


Abbildung 27: Elektrischer Schaltplan des Impulsgenerators (1) der pL-Dosiersysteme Typen "A" und "B".

Das primäre Signal kann aus einem Schmitt-Trigger (IC2A) oder aus der monostabilen Kippstufe (IC1) stammen. Die Frequenz des Schmitt-Triggers lässt sich über das Potentiometer R20 einstellen. Der IC1 wird über einen Transistor angesteuert, vor dessen Eingang ein Kondensator liegt. Wird an den Kondensator eine Spannung angelegt, leitet dieser nur solange ein Signal an den Transistor weiter, bis der Kondensator geladen ist. Durch den Einbau eines Kondensators mit niedriger Kapazität hat die Länge des Eingangssignals damit keinen Einfluss auf den weiteren Signalverlauf und kann über den Taster (S2) oder über den optisch isolierten Eingang (OK1) ausgelöst werden. Die hieraus erzeugten, kurzen Signalspitzen steuern über den Transistor den IC, der einen ca. 10 ms langen Impuls an die NAND-Gatter abgibt. Um eine reproduzierbare Verkürzung eines Signals zu erreichen, sind nun drei solcher NAND-Gatter notwendig. Das Signal wird zunächst auf zwei Laufwege geteilt. Für das eine Teilsignal erfolgt eine Invertierung an IC2B, bei dem zweiten Teilsignal wird über ein RC Glied (R22, C16) das Signal verzögert und die Steigung der Flankensignale reduziert.

Diese beiden Signale werden nun vom mittleren Gatter (IC2C) verglichen. Nur in der Zeit, in der das invertierte Signal bereits abgefallen ist und das über das RC Glied modifizierte Signal die Schaltschwelle noch nicht erreicht hat, gibt dieses NAND-Gatter kein Signal aus. Nach Invertierung dieses Signals am dritten NAND-Gatter (IC2D) wird ein kurzer positiver Impuls ausgegeben, dessen Länge über das Potentiometer R22 eingestellt werden kann.

Eine wesentliche Anforderung an den Tropfengenerator ist die Möglichkeit der direkten Kontrolle der Anzahl der ausgestoßenen Tropfen, sowie der Pausendauer zwischen zwei Tropfenerzeugungsereignissen und das einfache Einstellen dieser Parameter. Dies wurde mit einem LabVIEW-Programm

umgesetzt (Programm V.1). LabVIEW ist eine Plattform zur visuellen Programmierung von sogenannten virtuellen Instrumenten (VI). Die Software weist dabei zwei Ebenen auf: auf der Nutzerebene können durch Bedienelemente wie Eingabefelder oder Schalter Eingaben getätigt oder Signale angezeigt werden, während auf der Ebene des Blockschaltplans die Bedienelemente und Anzeigen mit logischen Operationen und Programmierungen verkettet werden. Die Kommunikation zu externen Messgeräten kann über verschiedene Interfacekarten erfolgen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein USB-Analog/Digitalwandler verwendet, das mit 50 Hz (bzw. 20 ms Reaktionszeit) deutlich längere Schaltzeiten besitzt als der entwickelte Impulsgenerator. Die Reaktionszeit ist ausreichend für das Triggern einzelner Dosierereignisse sowie der Steuerung der Verschlussblende im Dosierinterfaces der pL-Dosiersystem Typ "C", jedoch deutlich zu träge zur Erzeugung der Impulse für Dosiereinheiten. Der Blockschaltplan für den in diesem Abschnitt beschriebenen Tropfengenerators ist in Abbildung 28 abgebildet.

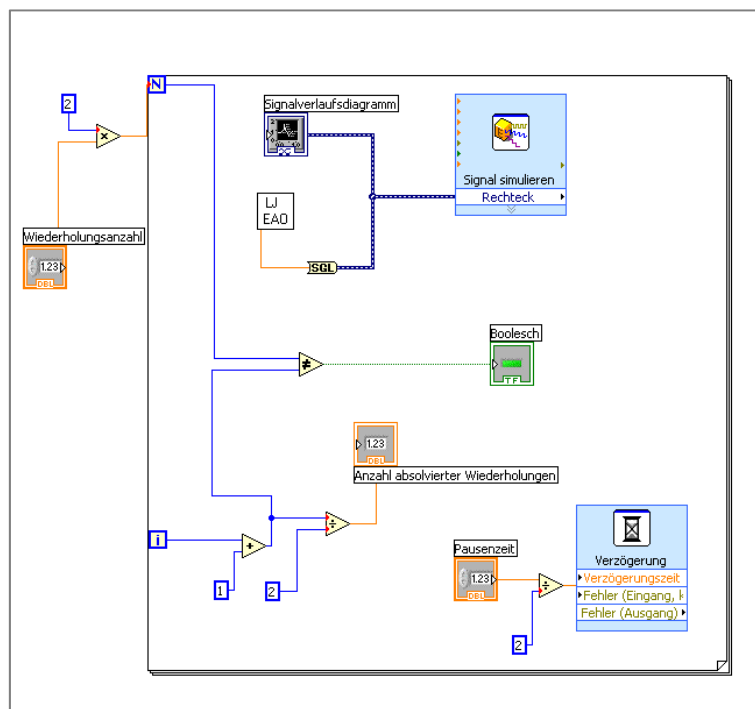


Abbildung 28: Blockschaltplan des LabView-Programms (V.1) zur Steuerung der pL-Dosiersysteme Typ "A" und "B".

Das Programm basiert auf einer Schleifenlogik. Nach jeder Schleife erfolgt eine Pause. Die Anzahl der Wiederholungen und die Pausendauer lassen sich über Bedienelemente eingeben. Im Betrieb werden die bereits erfolgten Dosierungen gezählt. Zudem leuchtet eine virtuelle Diode grün auf, solange das Programm läuft. Bei jedem Schleifendurchlauf wechselt das ausgegebene Signal zwischen 0 und 2.5 V, so dass sich die eingestellte Pausendauer sowohl auf die ausgegebene Pulslänge als auch die Pulspause auswirkt. Um ein komplettes Rechtecksignal auszugeben, müssen

daher zwei Schleifen absolviert werden. Zur benutzerfreundlichen Eingabe wurde daher der Korrekturfaktor 2 für Pausenlänge, die Schleifenanzahl und die Anzeige der absolvierten Dosierereignisse integriert.

IV.3. Aufbau des finalen pL-Dosiersystems Typ "C"

Im Zuge der Charakterisierung der pL-Dosiersysteme Typ "A" und Typ "B" zeigte es sich, dass an der Düsenoberfläche Verdunstungseffekte auftreten, die Einfluss auf die pro Dosiervorgang dotierte Masse haben können (Vergleich V.2). Um deren Einfluss zu minimieren, wurde ein zusätzliches Dosierinterface entwickelt, das es erlaubt, die Gasfeuchte an der Düsenoberfläche sowie eine reproduzierbare Dauer vor jedem Dosierungsvorgang einzustellen.

Dieses Interface verfügt über eine Verschlussblende und ein Kanalsystem, über das die Düsenfolie der Dosiereinheit durch ein Schutzgas von der Umgebungsatmosphäre getrennt wird. Der Aufbau ist schematisch in Abbildung 29 und fotografisch in Abbildung 30 abgebildet.

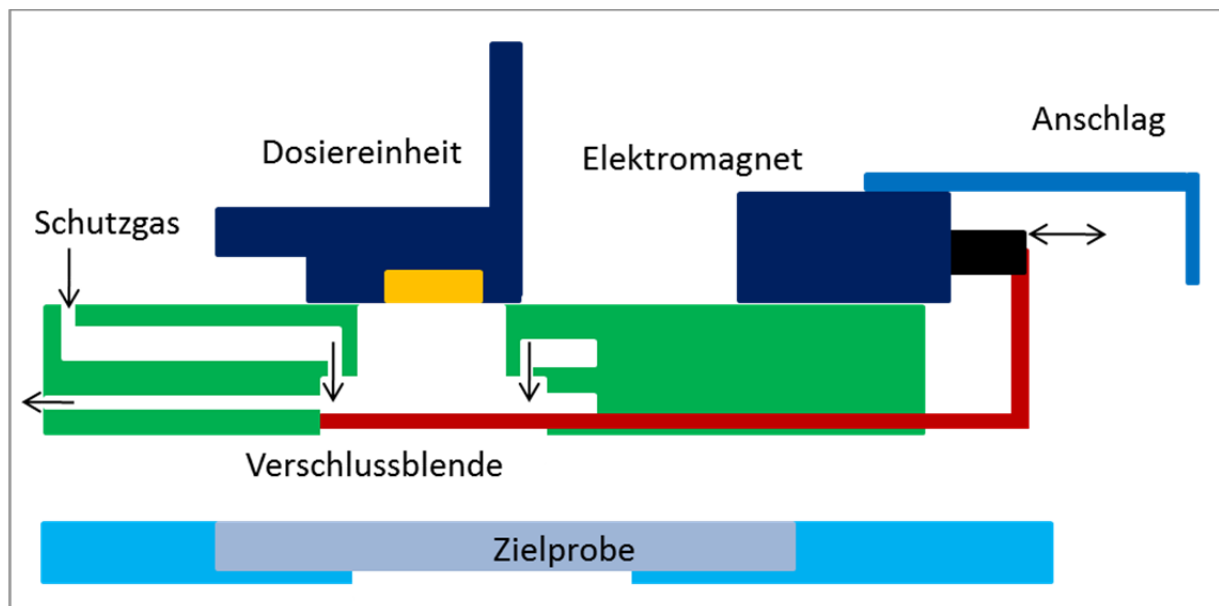


Abbildung 29: Schematischer Aufbau des Dosierinterfaces des pL-Dosiersystems Typ "C".

Als Schutzgas wurde befeuchteter Stickstoff verwendet, dessen Massendurchfluss elektronisch geregelt wurde. Die Befeuchtung erfolgte durch Passieren eines mit ca. 15 mL Reinstwasser gefüllten, auf 30 °C temperierten 100 mL Zweihalskolbens. Die Gasfeuchte (ca. 80 % relative Feuchte, ca. 21 g m⁻³) und Gastemperatur (ca. 28 °C) wurde durch einen Datenlogger überwacht. Entsprechend des Carrier-Diagramms und der Näherung, dass sich Luft (78 % Stickstoff) und Stickstoff gleich verhalten, findet eine vollständige Sättigung (100% relative Feuchte) mit einer absoluten Feuchte von 21 g m⁻³ bei einer Temperatur von 23°C statt.²⁸² Durch Abkühlen des Gases auf Raumtemperatur in

der Zuleitung und dem Kanalsystem kann daher davon ausgegangen werden, dass eine Sättigung des Gases erreicht wird. Das Interface wurde in der mechanischen Feinwerkstatt des *Instituts für Anorganische Chemie und Analytische Chemie* der JGU gefertigt. Die Konstruktion basiert auf vier Schichten verbundener Kunststoffplatten: die Funktionselemente sind in die mittleren Platten gefräst, welche von der außenliegenden Schicht abgedeckt werden. Der Antrieb der Blende erfolgte über einen elektrischen Hubmagneten, dessen ferromagnetischer Kern durch einen permanentmagnetischen ausgetauscht wurde. Hierdurch kann der Kern abhängig von der Polung der Spule in diese gezogen oder bis an den bewegungsbegrenzenden Anschlag gedrückt werden, während mit einem ferromagnetischen Kern lediglich eine Zugbewegung möglich ist. Durch oszilloskopischen Vergleich von Steuerungssignal und Spannungsabfall über eine (anstelle der Dosiereinheit installierten) Photodiode konnte eine Verschlusszeit von max. 30 ms und eine Öffnungszeit max. 20 ms gemessen werden.

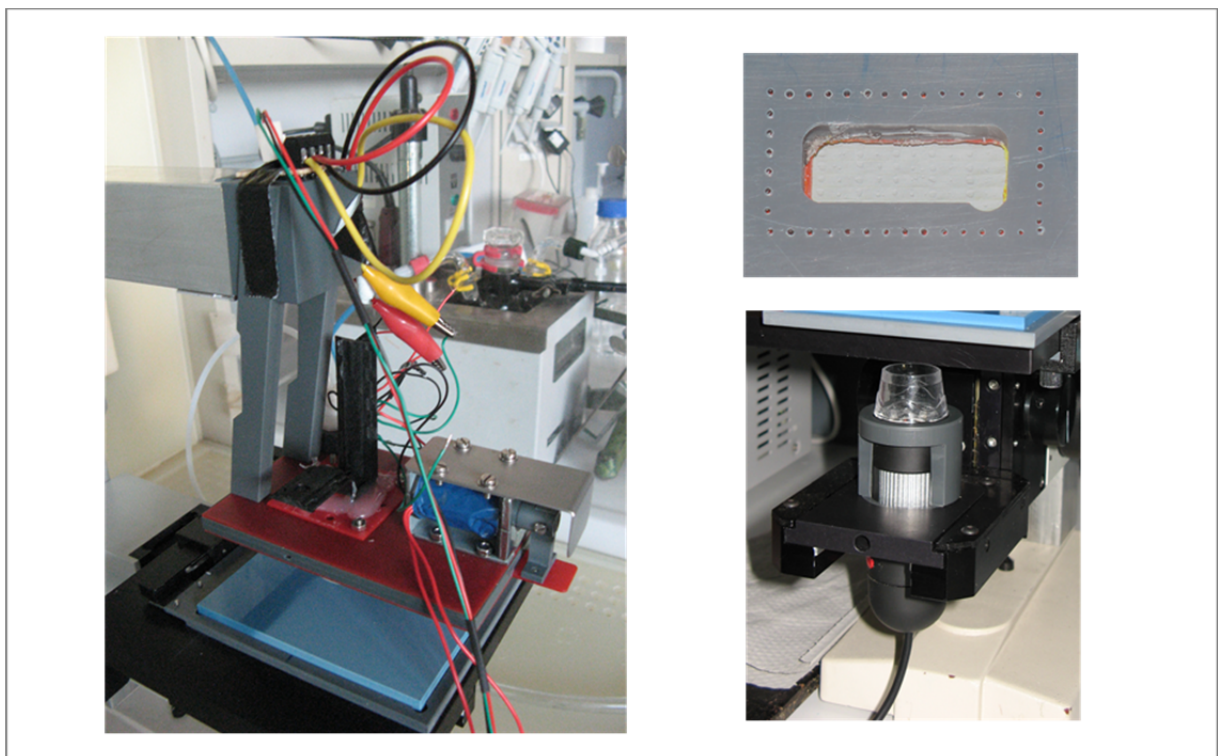


Abbildung 30: Fotografien des pL-Dosiersystems Typ "C". Links: Dosierinterface; rechts oben: Auslassdüsen des Schutzgases aus dem Kanalsystem; rechts unten: integrierte Mikroskopkamera.

Die Dosiereinheit wurden wie in IV.2.1 beschrieben hergestellt, auf einer Halterungsplatte fixiert und mit dem Interface verschraubt.

IV.3.1. Elektronische Steuerung des pL-Dosiersystems Typ "C"

Im Zuge der Erweiterung des Systems mit dem zusätzlichen Dosierinterface wurde auch die elektronische Steuerung - sowohl bei der Hardware als auch bei der Software – überarbeitet und hierbei die zusätzlichen Komponenten in die Steuerung integriert, sowie bestehende optimiert. Den elektrischen Schaltplan der Steuerung zeigt Abbildung 31. Da vom Einsatz von modifizierten Tintenpatronen der Typen HP 29 und HP 49 abgesehen wurde, erfolgte keine Trennung von Impulsgenerator und Verstärkerstufe. Das System wird im Folgenden als Steuerung III bezeichnet. Für die Impulserzeugung wurden an Stelle von NAND-Gattern zwei schnell schaltende, retriggerbare, monostabile Kippstufen (IC4) verwendet. Die erste Kippstufe (IC4B) dient hierbei ähnlich wie zuvor der TLC556 einer ersten Verkürzung des vom USB-Analog-Digitalwandler ausgegebenen Signals.

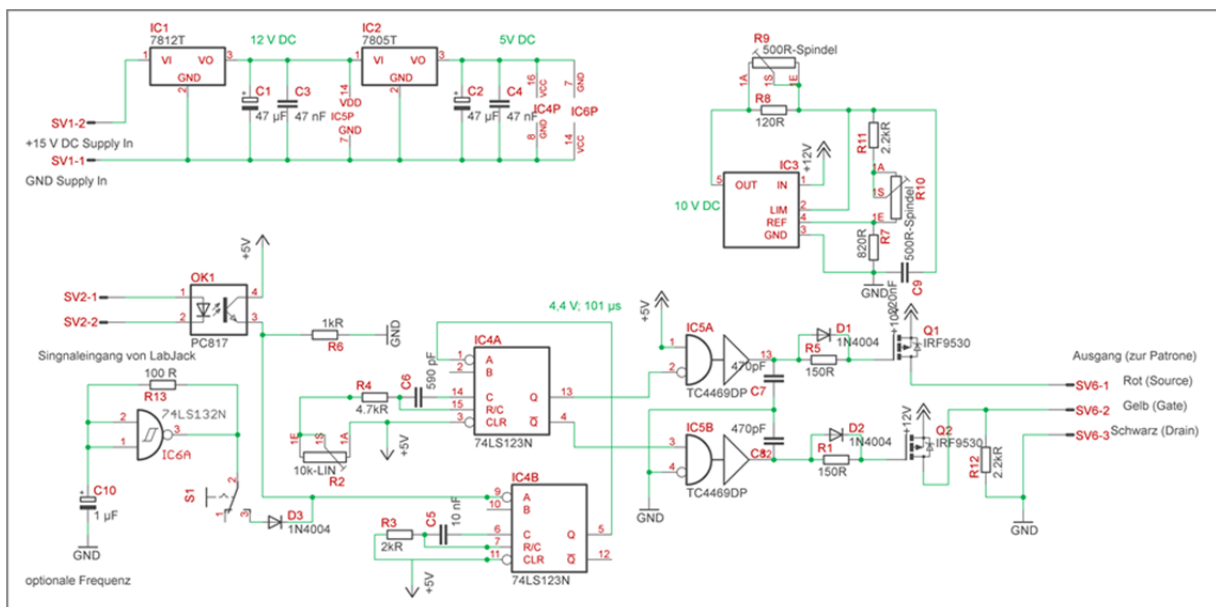


Abbildung 31: Elektrischer Schaltplan der Steuerung III.

Zudem wurde in der Verstärkerstufe für die Düsensteuerung auch eine Impuls- und Leistungs-MOSFET-basierte Steuerung für die auf dem Siliziumchip integrierten MISFET-Steurelektroden integriert um deren elektrische Belastung zu reduzieren. Hierdurch wurden die gelegentlich auftretenden Defekte durch elektrische bzw. hieraus entstehender thermischer Überlastung stark minimiert. In dieser Schaltung lässt sich die Impulslänge über das Potentiometer R2 einstellen. Für einen kontinuierlichen, PC unabhängigen Betrieb der Schaltung, wie er z.B. zur Reinigung und Konditionierung der Dosiereinheiten notwendig war, wurde ein Taktgeber auf Basis eines Schmitt-Triggers (C10, IC6A, R13) mit einer fest eingestellten Frequenz von ca. 500 Hz in die Schaltung integriert.

Die Steuerung der elektromagnetisch angetriebenen Verschlussblende wurde ebenfalls über computergestützte Mikrokontroller realisiert. Der Schaltplan ist in Abbildung 32 abgebildet. Das von LabVIEW erzeugte Steuersignal schaltet über eine optische Isolierung ein Relais, das die Polungsrichtung der Stromversorgung umkehren kann. Für eine Änderung der Auslenkung der Elektromagneten sind höhere Stromstärken notwendig als für das Halten einer jeweiligen Endposition. Dauerhaft hohe Ströme führen jedoch zur Überhitzung der Induktionsspule. Daher wurden in die Spannungsversorgungen für Hin- und Rückweg je eine Kombination aus Kondensator und Lastwiderstand integriert. In der Haltephase einer Endposition wird der Stromfluss über den Widerstand (z.B. R5) reduziert, während der zur dieser Zeit nicht angeschlossene Kondensator (z.B. C1) über den zugehörigen Widerstand auflädt. Nach Umschalten des Relais steht damit zunächst eine durch den neu zugeschalteten Kondensator erhöhte Stromstärke zur Verfügung. Ist der Kondensator entladen, wird die Stromstärke wieder über den zugehörigen Widerstand begrenzt.

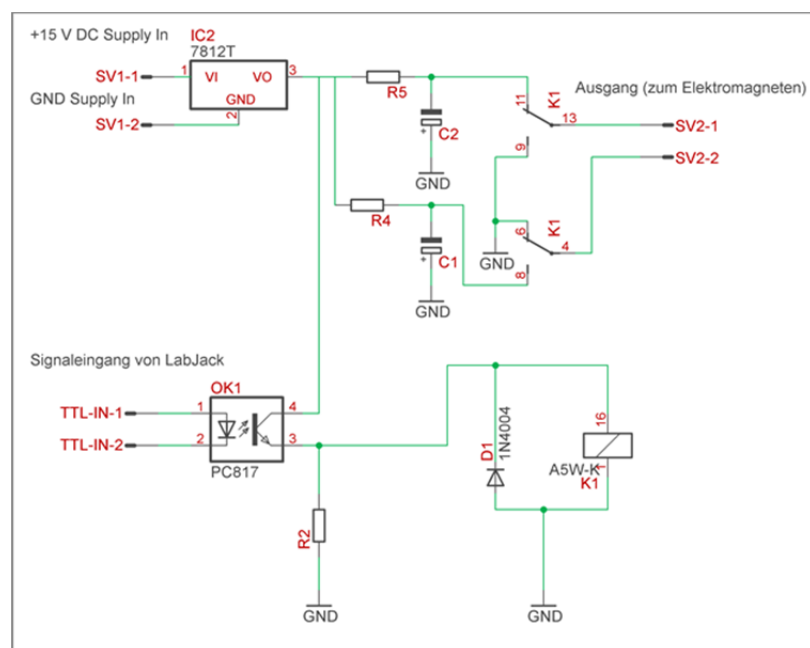


Abbildung 32: Elektrischer Schaltplan der Steuerung des Elektromagneten zur Bewegung der Verschlussblende des Interfaces im pL Dosiersystem Typ "C".

Das LabVIEW-Programm wurde daraufhin überarbeitet, um die Steuerung der Verschlussblende zu integrieren (Programm V.2). Der zugehörige Blockschaltplan ist in Abbildung 33 abgebildet.

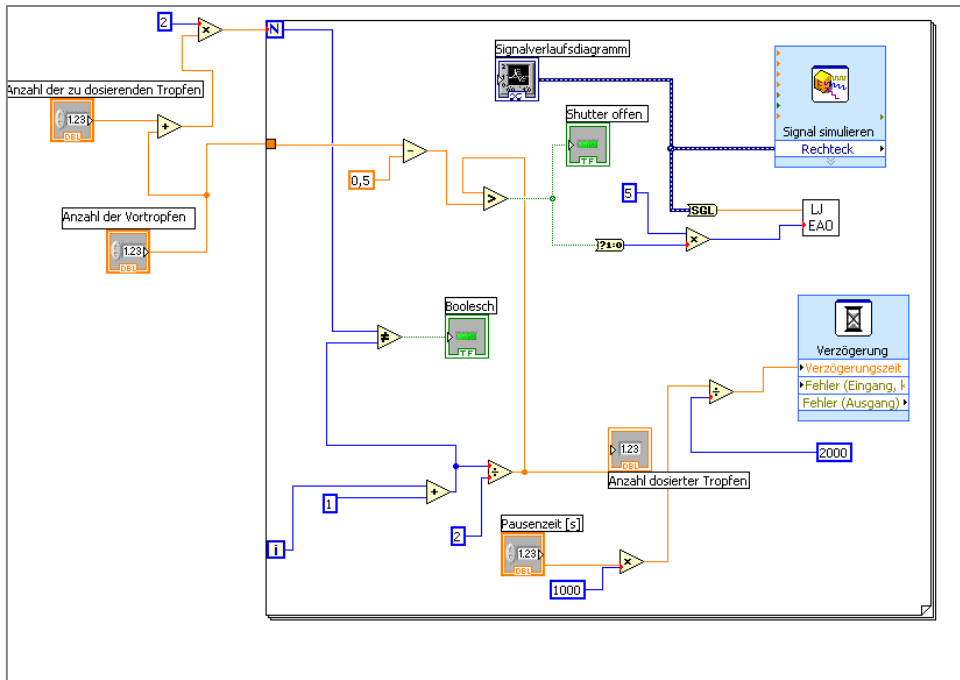


Abbildung 33: Blockschaltplan des LabView-Programms (V.2) zur Steuerung des pL-Dosiersystems Typ "C".

Als neues Eingabefeld wurde eine Wahlmöglichkeit für die Anzahl der abzutrennenden Tropfen vor der eigentlichen Dosierung auf den Probenträger (Vortropfen) eingefügt. Zunächst erfolgt die Konditionierung des Druckkopfes durch Dosierung auf die geschlossene Blende. Diese öffnet nach Erreichen der eingegebenen Anzahl an abzuschneidenden Vortropfen und schließt nach Beendigung des gesamten Druckprozesses wieder.

IV.4. Optimierung des Dosiervorgangs

Bei der Verwendung des Dosiersystems konnte über die USB-Kamera beobachtet werden, dass das Impaktionsmuster der Tropfen abhängig von der verwendeten Patrone, Düse und zu dosierenden Flüssigkeit war. Um das Auftreten ungewollter Satellittropfen zu minimieren (siehe Abbildung 34, links) war daher eine messtägliche Optimierung des Dosiervorgangs notwendig. Das Vorgehen zur Optimierung des Dosiervorgangs war für alle verwendeten Dosiereinheiten identisch und wurde zu Beginn jeder Dosierungssequenz durchgeführt. Vor der Dosierung wurde das verbleibende kleine Reservoir über dem Druckkopf mehrfach mit der zu dosierenden Lösung gespült. Die Auswahl der Düse und Einstellung der Pulslänge erfolgte unter mikroskopischer Beobachtung. Hierbei wurden zunächst kontinuierliche Dosierungsereignissen (ca. 500 Hz) zum Spülen der Kanäle und Düsenkammer ausgelöst. Dies erleichterte auch das Justieren und die Steigerung der Vergrößerung der Mikroskopkamera. Die Pulsbreite wurde bei der Dosierung mit reduzierter Frequenz, üblicherweise 1 Hz, auf einen Makrolon™-Träger optimiert. Optimierungskriterium war dabei die

Bildung eines definierten Flüssigkeitstropfens auf dem Träger ohne die Bildung von Satellitentropfen abseits der Hauptflugbahn. Mikroskopische Aufnahmen von während des Optimierungsprozesses gebildeten Flüssigkeitsrückständen sind in Abbildung 34 abgebildet.

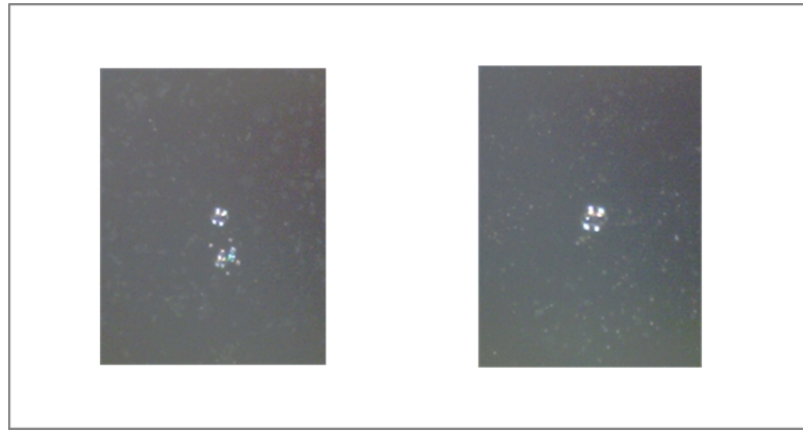


Abbildung 34: Mikroskopische Bilder der gebildeten Flüssigkeitsrückstände nach Mehrfachdosierung während der Optimierung der Pulsbreite (pL-Dosiersystem Typ "C", dosierte Lösung: $1 \text{ g L}^{-1} \text{ Sr}$, Pulsspannung 10 V) Links: Pulsbreite 1,65 μs ; rechts: Pulsbreite: 2,0 μs .

Bei der Optimierung wurde beobachtet, dass das Druckbild stark abhängig ist von der gewählten Düse. Darüber hinaus ist eine geringere Plusbreite für die Dosierung von verdünnten Lösungen (z.B. verdünnte Einzelementstandards) als auch für Lösungen mit erhöhter Gesamtsalzfracht (z.B. Multielementstandard) notwendig. Für die Patrone vom Typ HP 49 wurden Pulse von 12 V und 3-6 μs verwendet, für die Patrone von Typ 45 Pulse von 10 V und 1,5-3,5 μs . Durch die messtägliche Optimierung der elektrischen Dosierparameter musste auch mit einer Änderung der dosierten Analytmasse pro Impuls gerechnet werden. Darüber hinaus ist auch bei dem regelmäßig notwendigen Austausch von Patronen vom selben Typ eine Veränderung der dosierten Masse möglich, weil nicht ausgeschlossen werden kann, dass ein Dosierchip mit unterschiedlicher Mikrostrukturierung verbaut ist (siehe Kapitel III.5.1 sowie die zugehörige Patentschrift²⁶⁰). Daher musste die dosierte Menge messtäglich nach der Optimierung bestimmt werden.

IV.5. Experimentelles Vorgehen

In diesem Kapitel wird das generelle experimentelle Vorgehen bei der Charakterisierung vorgestellt. Die hier aufgeführten Methoden beschreiben das im Laufe der vorliegenden Arbeit optimierte Vorgehen. Änderungen oder Modifikationen der hier ausgeführten Vorgehensweisen werden in Kapitel Abschnitt V in direkten Zusammenhang mit den betroffenen Experimenten angemerkt.

IV.5.1. Bestimmung der dosierten Analytmasse mittels ICP-MS und TRFA

Aufgrund der in Kapitel IV.4 beschriebenen messtäglichen Optimierung des Dosiersystems und damit der sich infolgedessen verändernden, abhängigen Dosiermengen musste auch die dosierte Analytmasse pro Dosierereignis stets neu ermittelt werden. Die Bestimmung dieser Größe erfolgte im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf drei unterschiedliche Arten: mit ICP-MS, TRFA und mikroskopischer Bestimmung der Tropfengröße. Alle analytisch relevanten Arbeitsschritte der Probenvorbereitung für die TRFA- und ICP-MS-Analysen erfolgten unter gefiltertem, laminarem Luftstrom.

Für die Ermittlung der bestimmten dosierten Analytmassen (m_i) in Abhängigkeit der gewählten Pausendauer (d_i) zwischen zwei aufeinanderfolgender Dosierereignisse wurden relative Zuwachsraten (Z_{rel}) von zeitabhängigen Größen $x_i(t_i)$ bzw. $x_j(t_j)$ gemäß Gleichung 37 berechnet (Diskussion siehe Kapitel V.1 und V.2).

$$Z_{rel} = \frac{\frac{m_j(d_j) - m_i(d_i)}{m_i(d_i)}}{d_j - d_i} \quad \text{Gleichung 37}$$

IV.5.1.1. ICP-MS

Mit Hilfe eines Quadrupol ICP-MS (ICP-QMS 1) wurde die mittlere Tropfengröße pro Dosiervorgang nach Analyse von wässrigen Lösungen mittels pneumatischer Zerstäubung und interner Standardisierung bestimmt. Das Sammeln der dosierten Tropfen erfolgt nach Optimierung des μ L-Dosiersystems durch Dosieren auf die Innenseite von Schnappdeckeln von 1,5 mL Zentrifugenröhrchen. Vor der Dosierung wurden die Deckel vom Röhrchen getrennt und die Mitte des Deckels mit einem Folienstift auf der Deckelaußenseite markiert. Diese Markierung diente zur Einstellung der Position während des Dosiervorgangs. Die gesammelte Analytmasse wurde in 1 mL angesäuerter, mit internem Standard versetzter Lösung aufgenommen. Die Deckelinnenseite der Zentrifugenröhrchen wurden hierbei nach Befüllung und Verschließen für mehr als 10 min kopfüber benetzt und der Inhalt vor der Analyse manuell homogenisiert. Da es sich bei den analysierten Lösungen um angesäuerte verdünnte wässrige Lösungen handelt (max. $20 \mu\text{g L}^{-1}$ Analyt und interner Standard) in welchen Matrixeffekte zu vernachlässigen sind, wurde der interne Standard hauptsächlich zur Überwachung und zum Ausgleich möglicher Schwankungen im Probenzufluss zugesetzt. Es wurden interne Standardkonzentrationen von $10 \mu\text{g L}^{-1}$ in einer 3 %igen Salpetersäurelösung eingesetzt. Zur internen Standardisierung wurden die Isotope ^{69}Ga , ^{89}Y , ^{90}Zr , ^{115}In , ^{103}Rh oder ^{205}Bi verwendet. Die Lösungen wurden aus entsprechenden Einzelelementstandards

hergestellt. Die resultierenden Kalibrierfunktionen wurden nach interner Standardisierung mittels linearer Regression ermittelt. Der Kalibrierbereich umspannte den gesamten Messbereich. Der Konzentrationsbereich wurde dabei durch Verdoppeln der Konzentration des höchsten Kalibrierstandards (z.B. 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{g L}^{-1}$) auf die erwartete Konzentration angepasst und ggf. erweitert. Die Analysen wurden an einem Quadrupol ICP-MS Instrument durchgeführt. Das eingesetzte Gerät wurde messtäglich hinsichtlich maximaler Signalintensität für die Ionen des Analyten und des internen Standards bei RSD-Werten $< 3\%$ optimiert. Die Bereiche, in denen die optimierten Betriebsparameter jeweils messtäglich variierten, sind in Tabelle 4 angegeben.

Tabelle 4: Betriebsparameter für das verwendete HP 4500 ICP-MS

Parameter	Einstellung
RF-Leistung	1300 W
Beprobungsabstand	4,5 – 5,5 mm
Zerstäuber	MircroMist, Glas Expansion, Australien
Probenflussrate	Selbstansaugend, ca. 40 $\mu\text{L min}^{-1}$ (nominal 50 $\mu\text{L min}^{-1}$)
Sprühkammer	Zyklonisch mit Zusatzgas
Plasmagasfluss	15-16 L min^{-1}
Hilfsgasfluss	1,0-1,5 L min^{-1}
Zerstäubergasfluss	0,6-0,8 L min^{-1}
Zusatzgasfluss	0,3-0,4 L min^{-1}
Integrationspunkte pro Isotop	3
Anzahl der Wiederholungsmessungen	5
Integrationszeit	0,1 s

IV.5.1.2. TRFA

TRFA-Messungen wurden mit einem Tischgerät durchgeführt, welches zur Anregung eine Molybdänröhre (17,5 keV) verwendet. Die Messungen erfolgten zunächst in den Laboren der *Merck KGaA* in Darmstadt, bevor am *Institut für Anorganische und Analytische Chemie* an der *JGU* ein typgleiches Gerät zur Verfügung stand. Die Messungen erfolgten auf silikonisierten Quarzträgern. Die Träger wurden mittels TRFA vor Verwendung auf Sauberkeit kontrolliert und ggf. erneut gereinigt. Die Integrationszeit lag bei 1000 s, sofern nicht anders angegeben. Die Träger wurden nach Verwendung zunächst mit Aceton (technisch) abgerieben, mit Reinstwasser gespült, dann für je ca. 4 h in 5 %iger Salzsäure und 10 %iger Salpetersäure gereinigt und bei ca. 110 °C getrocknet. Zur Silikonisierung wurden 10 μL Silikonlösung auf das Zentrum der Quarzscheibe pipettiert und der Film unter einer Infrarotlampe getrocknet. Abschließend wurden die Träger nochmals für 4-8 h bei ca. 110 °C getrocknet und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Zur Probenpräparation wurden Standardlösungen via pL-Dosiersystem (und/oder μL -Pipette) auf das Zentrum der Trägerscheibe dosiert und unter Infrarotlicht getrocknet. Zur Erhöhung der Dosierpräzision wurde die Pipette anstelle des Dosierinterfaces über dem x,y,z-Tisch angebracht und elektronisch ausgelöst.

IV.5.1.3. Mikroskopische Untersuchungen des Tropfenausstoßes

Für das pL-Dosiersystem Typ "C" erfolgte die mikroskopische Bestimmung der Tropfengröße in Zusammenarbeit mit Jan O. Orlandini von Niessen. Dieser hatte für seine Studien einen Kameraaufbau entwickelt, der es erlaubt, den Tropfenausstoß in definierten Zeiten nach dem Dosiervorgang zu beobachten. Das System besteht aus einer monochromen CCD-Kamera (CCD - charge-coupled device) mit telezentrischer Vergrößerungslinse (6-fach). Um die Tropfen zu definierten Zeiten nach dem Ausstoß zu beobachten, wurde ein Mikrokontroller entwickelt, bei der der elektrische Impuls den Druckvorgang auslöst und zusätzlich auch die Kamera und das Stroboskop triggert. Durch hierin integrierte Verzögerungsstufen auf der Basis von monostabilen Kippstufen konnte der zeitliche Abstand zwischen Dosierimpuls und Bildaufnahme sowie zwischen Bildaufnahme und Stroboskopauslösung eingestellt werden. Eine detaillierte Beschreibung kann der entsprechenden Dissertation²⁸³ und weiteren Veröffentlichungen^{284,285} entnommen werden. Die Tropfenerzeugung erfolgte kontinuierlich mit der für das Kamerasystem geringstmöglichen Frequenz von 1,25 Hz. Bei weiterer Verringerung konnte kein reproduzierbares Auslösen des Stroboskops erfolgen.

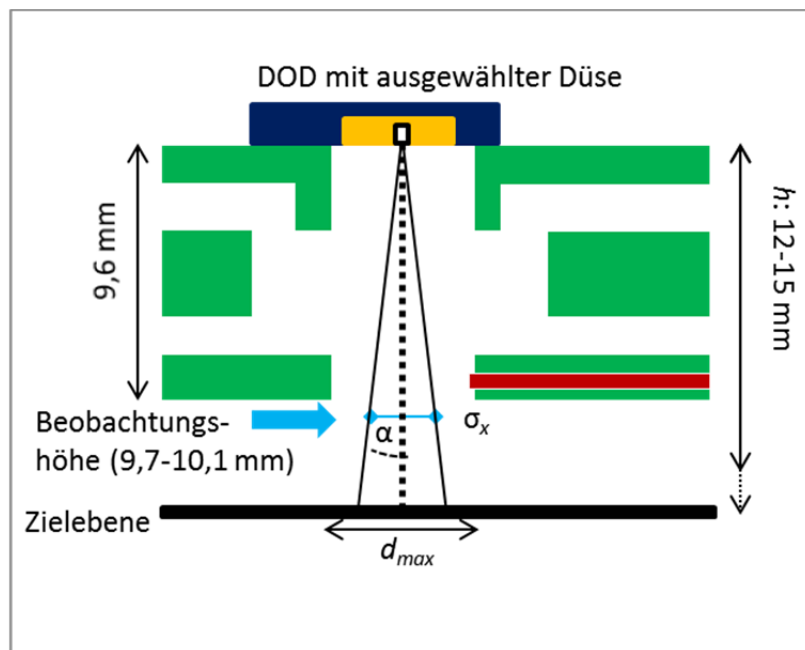


Abbildung 35: Schematische Darstellung des Dosier-Interfaces mit den für die mikroskopische Charakterisierung relevanten Parametern: Abstand von der Zielebene zu Düse (h), laterale Unsicherheit der Tropfenposition (σ_x), maximaler Streuwinkel der Trajektorien (α) und maximaler Durchmesser der vom Tropfeneinschlag betroffenen Fläche (d_{max}).

Die Tropfen wurden 0,1-0,5 mm unterhalb des in Kapitel IV.3 beschriebenen Dosierinterface bei einem Schutzgasfluss von 40 mL min^{-1} beobachtet. Pro beobachtete Tropfenpopulation wurden mehr als 800 Bilder aufgenommen. Die automatisierte Auswertung der Bilder erfolgt hinsichtlich Anzahl,

Durchmesser und Position der Tropfen über die Bildauswertungssoftware. Als laterale Unsicherheit wurde die Breite des Ausschnittes der Beobachtungsebene gewählt, in der 95 % aller Tropfentrajektorien lagen. Der maximale Durchmesser der Einschlagsfläche der Tropfen bei der mikroskopischen Charakterisierung wurde gemäß Gleichung 38 berechnet.

$$d_{\max} = 2 \times \tan \alpha \times h + \bar{d}_{\text{Tropfen}} \quad \text{Gleichung 38}$$

Hierbei entspricht α dem maximalen Streuwinkel der Trajektorien der ausgestoßenen Tropfen, h dem Beobachtungsabstand und \bar{d}_{Tropfen} dem mittleren Tropfenradius. Eine schematische Zeichnung zum Versuchsaufbau ist in Abbildung 35 dargestellt.

IV.5.2. Rasterkraftmikroskopie

Zur Untersuchung der Morphologie der getrockneten Rückstände wurden rasterkraftmikroskopische Aufnahmen im *Institut für Physikalische Chemie* der *JGU* durchgeführt. Treiberfrequenz der Messnadel (Cantilever) wurde messtächlich optimiert. Die Scanrate betrug abhängig von der Topographie der Probe und dem Bildausschnitt zwischen 0,3 und 1 Hz bei einem quadratischen Bildausschnitt mit Kantenlänge zwischen 40 und 75 μm .

IV.5.3. LA-ICP-SFMS

Die Analysen wurden in Budapest am *Institut für Isotope der ungarischen Akademie der Wissenschaften* an einem hochauflösendem Sektorfeld Massenspektrometer durchgeführt. Zur Probeneinführung diente ein Frequenz-verfünffachtes Nd-YAG Laserablationssystem mit einer Wellenlänge von 213 nm. Die vorangestellten Optimierungsparameter wurden messtächlich bei Ablation des NIST 612 CRMs überprüft. Die Parameter sind in Tabelle 5 angegeben. Proben wurden in Mainz auf Makrolon und Kunststoffolie mittels pL-Dosiersystem vorbereitet. Uranpartikel, die ebenfalls als Proben dienten, wurden mit doppelseitigem Klebeband entnommen und auf Objektträgern für die Mikroskopie fixiert. Start und Endpunkt der Integration wurden für jede Analysenserie manuell festgelegt (5-10 s).

Tabelle 5: Betriebsparameter für das verwendete New Wave UP-213 Laserablationssystem in Kombination mit dem Thermo ELEMENT2 ICP-SFMS.

System	Parameter	Einstellung
Laserablation	Wellenlänge	213 nm
	Energie	2,0 J cm ⁻²
	Ablationsfrequenz	5 Hz
	Modus	Burst (25 Ablationen)
	Laserstrahldurchmesser	60 µm
ICP-MS	Modus	Niedrige Auflösung
	RF-Leistung	1,39 kW
	Beprobungsabstand	4,9 mm
	Plasmagasfluss	16,0 L min ⁻¹
	Hilfsgasfluss	1,2 L min ⁻¹
	Trägergasfluss	1,3 L min ⁻¹
	Messpunkt pro Signal	50
	Messmodus	transient
	Integrationszeit pro Isotop und Messzyklus	0,01 s

IV.5.4. LA-ICP-QMS

Die Analysen mittels Quadrupol ICP-MS (ICP-QMS 2) in Verbindung mit einem ArF-Eximer Laserablationssystem mit einer Wellenlänge von 193 nm wurden im *Institut für Geowissenschaften* der *JGU* durchgeführt. Eine Kontrolle der voreingestellten Betriebsparameter erfolgte messtäglich mittels Ablation des NIST 612 CRMs. Die Parameter sind in Tabelle 6 angegeben.

Tabelle 6: Betriebsparameter für das verwendete ESI NWR-193 Laserablationssystem in Kombination mit dem Agilent 7500ce ICP-QMS.

System	Parameter	Einstellung
Laserablation	Wellenlänge	193 nm
	Energie	2,5 J cm ⁻²
	Ablationsfrequenz	10 Hz
	Modus	Burst (25 Ablationen)
	Laserstrahldurchmesser	150/75/50/15 µm
ICP-MS	Modus	deaktivierte Reaktionszelle
	RF-Leistung	1,2 kW
	Beprobungsabstand	3,3 mm
	Plasmagasfluss	15,2 L min ⁻¹
	Hilfsgasfluss	0,9 L min ⁻¹
	Trägergasfluss	0,7 L min ⁻¹ (70 % He)
	Messmodus	transient
	Integrationszeit pro Isotop und Messzyklus	0,1 s

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Untersuchungen zur Anwendbarkeit der untersuchten LA-ICP-MS Kalibrierstrategie auf Realproben durchgeführt. Ein potentielles Anwendungsgebiet ist die Analyse einzelner Partikel. Für Studien zur Untersuchung der Ablation einzelner Partikel wurde eine NIST 610 CMS Glasscheibe vom Applikationslabor der Firma Retsch mit einer MM 400 Schwingmühle (Retsch, Deutschland) und einem Mahlwerk aus Zirkonoxid (Becher und Kugeln mit Durchmesser 12 mm) gemahlen und die zugehörige Partikelgrößenverteilung mittels LA-950 Laser-Streulichtspektrometer (Horiba & Retsch, Deutschland) bestimmt. Zur Analyse wurden diese und andere partikuläre CRMs auf verschiedene Arten auf Probenträger aufgebracht. Zum einen wurden sie direkt auf Makrolonträger aufgebracht, auf doppelseitigem Klebeband (Tesa, Deutschland) fixiert oder zur Immobilisierung auf mit noch feuchtem Nagellack (cosnova GmbH, Deutschland) oder Sekundenkleber (Tesa, Deutschland) beschichteten Glaträgern gestreut. Zur Herstellung von Agarosegelen, die zur Fixierung von Partikeln und Hefezellen (siehe Kapitel IV.5.5) sowie als Modelmatrix dienten, wurden 60 mg Agarose in 10 mL Reinstwasser für 1 h auf ca. 50 °C erhitzt und anschließend durch einen Spritzenfilter (0,2 µm Porengröße) filtriert. Ein Aliquot dieser Lösung wurde nochmals mit der gleichen Menge Reinstwasser verdünnt und anschließend wurde 1 µL dieser Lösung mittels der in Kapitel IV.5.1.2 beschriebenen Pipette und dem zugehörigen Aufbau auf Makrolon-Träger dosiert. Für die Fixierung mittels Kollodium wurde diese in so viel Isopropanol gelöst, dass aus der zähen Paste eine pipettierbare Lösung hergestellt wurde, in der die zu fixierenden Partikel suspendiert wurden. Von dieser Suspension wurden anschließend 1 µL auf Makrolon-Träger dosiert. Die Integration der gemessenen Intensitätsverläufe erfolgte über einen Zeitraum von 10 s mittels der vom Spektrometerhersteller entwickelten Chemstation Software.

IV.5.5. Gewinnung und Dotierung der *Saccharomyces ludwigii* Hefezellen

Hefezellen können Metalle an ihrer Zelloberfläche binden und besitzen Zelldurchmesser von 3-15 µm (siehe Kapitel V.5). Hierdurch eignen sich diese Zellen als Modellproben für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Kalibrierstrategie für die LA-ICP-MS. Der Hefestamm *Saccharomyces ludwigii* wurde aus der Sammlung des Instituts für Mikrobiologie und Weinforschung (JGU) entnommen, kultiviert (74 h, 30 °C, Nährmedium: Universalmedium für Hefen, DSMZ 186, gemäß Empfehlung der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, 3 g Hefeextrakt, 3 g Malzextrakt, 5 g Pepton, 5 g Glukose) und gefriergetrocknet. Adsorptionsexperimente wurden mit 50 mg Hefezellen, 23 mmol Natriumacetat, 0,5 mmol Natriumhydroxid sowie 25-200 µL Hg-, Pb- oder Zn-Standardlösungen (1 bzw. 10 g L⁻¹ in 5 %iger Salpetersäure) in 10 mL Gesamtvolumen durchgeführt. Nach einer Stunde Adsorptionszeit in den gepufferten Standardlösungen wurden die Hefen abzentrifugiert (10 min, 3000 min⁻¹), mit 10 mL 0,09 %iger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, erneut zentrifugiert und wiederum in 10 mL

0,09 %iger Natriumchlorid-Lösung aufgenommen. Die Zellkonzentration wurde über mikroskopische Auszählung in Thoma-Zellen (100 μm Dicke) bestimmt. Die adsorbierte Analytmasse wurde aus den mittels TRFA bestimmten Analytkonzentrationen der erhaltenen Zellsuspension und Filtrate (<0,2 μm) berechnet. Für die Analyse wurden 10 μL Probenlösung auf silanisierte Quarzträger dosiert, eingetrocknet und auf den Rückstand 5 μL einer 10 mg L^{-1} Ga Lösung pipettiert und wiederum eingetrocknet. Für die ICP-MS-Analyse wurden 100 μL Probenlösung mit 1 mL Salpetersäure und 0,5 mL Wasserstoffperoxid aufgeschlossen. Die Aufschlusslösung wurde auf ein Endvolumen von 100 mL verdünnt, wobei 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ Y als interner Standard zugesetzt wurden.

IV.5.6. Gewinnung der Gewebeschnitte des Kompostwurms *Eisenia foetida*

Auch dünne Gewebeschnitte können mittels LA-ICP-MS lokal vollständig abgetragen und analysiert werden. Hierbei können z.B. Anreicherungen von Metallen, denen der Organismus ausgesetzt wurde in bestimmten Gewebetypen untersucht werden (siehe Kapitel V.5).

Die Würmer *Eisenia foetida* aus einer bestehenden Kultur des Instituts für Mikrobiologie und Weinforschung (JGU) wurden 10 Tage in Hg dotierter und nicht-dotierter Erde gehalten. Die dotierte Erde wurde mit HgCl_2 auf eine Konzentration von 6 mg kg^{-1} Hg eingestellt. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Würmer mit Wasser abgespült und 48 h in feuchter Watte aufbewahrt. Hierbei kam es zu einer Entleerung des größten Teils des Darminhalts. Anschließend wurden die Tiere auf Eis gekühlt und hierdurch sediert. Für die Probenvorbereitung erfolgte zunächst ein Tieffrieren der Würmer auf Trockeneis, danach wurden ca. 1,5 cm Wurmstücke aus der mittleren Sektion herausgeschnitten und mit Tissue-Tek bei ca. -70°C zur Immobilisierung eingebettet. Die 18 μm dicken transversalen Dünnschnitte wurden mittels eines Gefriermikrotoms bei -20°C im Institut für Pathobiochemie der Universitätsmedizin Mainz (JGU) gewonnen und auf Objektträgern abgelegt. Die Fixierung wurde durch das den Dünnschnitt umgebende Tissue-Tek gewährleistet. Die LA-ICP-MS erfolgte mit dem in Kapitel IV.5.4 beschriebenen Gerät. Die Laserparameter wurden auf die Probe optimiert (Energie: 3,98 J cm^{-2} , Ablationsfrequenz: 10 Hz, Modus: Burst 75 Ablationen, Laserstrahldurchmesser 50 μm). Es wurden zwei Gewebeschnitte untersucht, hierbei wurden je fünf unterschiedliche Gewebetypen (Gastrodermis interior, Gastrodermis exterior, Bauchmark, Muskelkerngewebe, außenliegendes Muskelgewebe sowie Epidermis) mit je fünf Wiederholmessungen beprobt.

Abschnitt V

Ergebnisse & Diskussion

Im nachfolgenden Kapitel wird die Entwicklung und Charakterisierung des pL-Dosiersystems beschrieben und die Eignung der resultierenden Rückstände dosierter pL-Volumina für die Kalibrierung der TRFA und der LA-ICP-MS untersucht. Des Weiteren werden erste Untersuchungen zu Matrixeffekten und matrixangepasster Kalibrierung vorgestellt sowie Limitierungen der entwickelten Kalibriertechnik diskutiert. Abschließend werden grundlegende Untersuchungen zur prinzipiellen Eignung für verschiedene Anwendungsbereiche präsentiert und diskutiert.

V.1. Charakterisierung des pL-Dosiersystems Typ "A"

Anknüpfend an Arbeiten, die an der Universität Hamburg durchgeführt wurden^{13,14} und parallel zur Entwicklung von Drop-on-Demand-Aerosol-Generatoren für den direkten Eintrag von Aerosolen in analytische Plasmen,²⁸³⁻²⁸⁶ wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit ein pL-Dosiersystem für die Dosierung von pL-Volumina auf feste Oberflächen entwickelt. Hierbei wurde zunächst die in Kapitel IV.2.2 beschriebene elektrische Steuerung (Impulsgenerator 1, Verstärkerstufe 1) entwickelt sowie zu einem computergesteuerten (Programm V.1) und von Mikrocontrollern unterstützten Dosiersystem (pL-Dosiersystem Typ "A") kombiniert. Dieses System erlaubt die kontrollierte Steuerung von Patronen vom Typ HP 26, HP 28 und HP 49. Für die in der Arbeit beschriebenen Experimente wurden jedoch ausschließlich Dosiereinheiten aus modifizierten HP 49 Tintenpatronen verwendet. Im Gegensatz zu den von Fittschen et al.^{13,14} modifizierten Tintenstrahldruckern, bei denen die Patrone nur indirekt über eine Bildbearbeitungssoftware und einen Druckertreiber gesteuert wurde, ist mit dem hier entwickelten System eine direkte Kontrolle der Anzahl der Dosierereignisse und somit der dosierten Tropfen möglich. Zudem lassen sich die für die Dosierung relevanten Parameter elektrische Spannung, Dauer des Heizimpulses sowie die Pausen zwischen zwei Dosierungen einstellen und auf die zu dosierende Lösung optimieren.

Eine weitere Limitierung der modifizierten Drucker besteht darin, dass der Druckkopf auf einem sich bewegenden Schlitten montiert und die Düsenauswahl nicht direkt möglich ist. Mehrfachdosierungen auf einen ausgewählten Punkt auf der Probe sind daher nur über wiederholte Ausführung von Druckaufträgen eines Druckmusters in der Bildbearbeitungssoftware möglich und in der räumlichen Dosierpräzision durch die Bewegung der Patrone limitiert.

Bei dem im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten System ist die Position des Druckkopfes über der Probe fixiert und kann manuell eingestellt werden, so dass eine präzise, mehrfache

Dosierung von Standardlösungen auf einen ausgewählten Zielpunkt möglich ist. Abbildung 36 zeigt rasterkraftmikroskopische Aufnahmen mit einheitlichem Erscheinungsbild der getrockneten Rückstände einer 1 g L^{-1} In-Lösung bezogen deren Höhe, Durchmesser und Querschnittsverläufe. Mit mittleren Durchmessern von $15,5$ bis $22,3 \mu\text{m}$ sind diese Rückstände prinzipiell geeignet für die in Kapitel III.4.6 beschriebene absolute Kalibriertechnik für orts aufgelöste Analyseverfahren ab einem Laserstrahldurchmesser von ca. $25 \mu\text{m}$. Durchmesser und Höhe der Rückstände zeigen sehr ähnliche Dimensionen wie in der Literatur beschrieben. Fittschen et al.¹⁴ berichten für die Einzeldosierung einer 1 g L^{-1} Fe-Lösung und einem dosierten Volumen von 150 pL von Rückständen mit $17 \mu\text{m}$ Durchmesser und $1,7 \mu\text{m}$ Höhe. Wang et al.²³⁷ ermittelten für Rückstände von Tropfen mit ca. 18 pL auf Glasoberflächen Durchmesser von ca. $40 \mu\text{m}$.

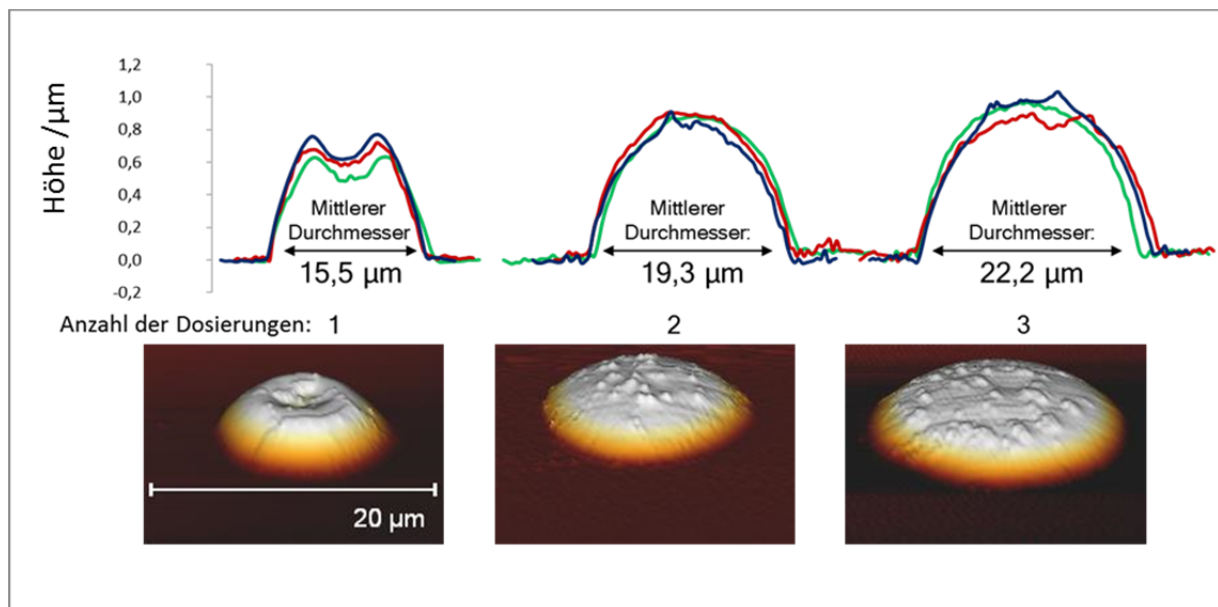


Abbildung 36: Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen von Rückständen nach einfacher und mehrfacher Dosierung eines 1 g L^{-1} In-Einzelementstandards (Träger: Makrolon, pL-Dosiersystem Typ "A", Pulsparameter: $4 \mu\text{s}$, 12 V , 1 Hz); oben: Querschnitte von je drei untersuchten Rückständen, unten: perspektivische Bilder von je einem Rückstand.

Neben Durchmesser und Höhe der Rückstände ist vor allem die transferierte Masse für die Herstellung von Kalibrierstandards die entscheidende Größe. Die mit dem System dosierte Masse muss dabei reproduzierbar sein und linear mit der Tropfenanzahl zunehmen. Zur Charakterisierung der Reproduzierbarkeit des Dosiervorgangs mit einem erwarteten Analytgehalt von einigen hundert Pikogramm bis wenigen ng wurden TRFA-Messungen an Rückständen von Einzel- und Mehrfachdosierungen einer 1 g L^{-1} Ga-Lösung in Abhängigkeit der Anzahl von Dosiervorgängen sowie der Pausendauer zwischen zwei Dosierungen untersucht. Die Ergebnisse sind in **Abbildung 37** dargestellt. Zunächst fällt hierbei auf, dass die Pausendauer einen starken Einfluss auf die gemessene

Signalhöhe und damit auf die transferierte Masse besitzt. Die relativen Signalzuwachsrate bei Pausendauern zwischen 1-60 s liegen in einem Bereich von 1-7 % s^{-1} . Mit modifizierten Dosiereinheiten dieses Patronentyps sind mehrere tausend Dosiervorgänge pro Sekunde möglich,²⁸⁴ so dass zu erwarten ist, dass Nachlauf- und Abkühlungsprozess des Dosiersystems innerhalb von Sekundenbruchteilen vollständig abgelaufen sind, und daher nicht für Massenzunahmen in diesem Umfang der Ursache sein können. Da die Flüssigkeit nur über Kapillarkräfte an der Düsenöffnung in der Düsenkammer gehalten wird, können hier jedoch Verdunstungseffekte auftreten. Dieses Phänomen wird in Kapitel V.3.1 intensiver diskutiert. Die Streuung der Einzelwerte um die jeweiligen Mittelwerte mit einer mittleren relativen Standardabweichung von 8,7 % und einem RSD Bereich von 1-16 % zeigen, dass eine ebenso reproduzierbare Dosierung wie mit einem modifizierten Drucker (RSD Bereich 2-15 %)¹⁴ möglich ist. Für Rückstände die durch Mehrfachdosierung von Standardlösungen auf eine Stelle erzeugt wurden, zeigt sich ein linearer Zusammenhang zwischen gemessenen Signalintensitäten und der Anzahl an Dosiervorgängen.

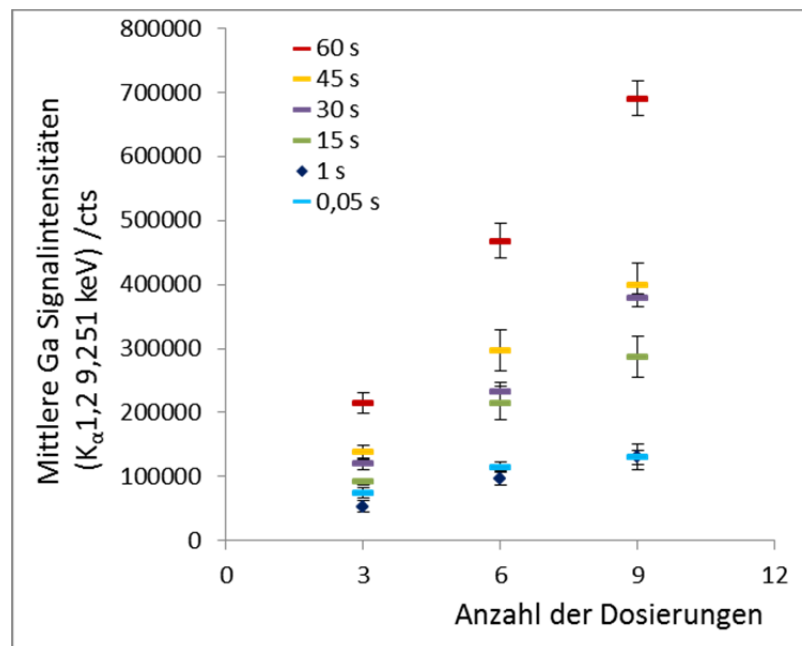


Abbildung 37: Signalverläufe der gemessenen TRFA-Intensitäten von Rückständen (nach 3, 6 und 9-facher Dosierung) nach Dosierung eines 1 g L^{-1} Ga-Einzelelementstandards in Abhängigkeit von der Pause zwischen zwei Dosierereignissen (0,05 – 60 s) und der Anzahl der Dosiervorgänge (pL-Dosiersystem Typ "A", Pulsparameter: 6 μs , 12 V).

Außer bei den Dosierungen mit einer Pausendauer von 0,05 s weisen alle Messreihen mittlere Signalzunahmen pro Dosierungsvorgang in einem Bereich von 90-110 % auf. Die Ausnahme bei der Messreihe mit einer Pausendauer von 0,05 s lässt sich dadurch erklären, dass jeweils vor Beginn des Dosiervorgangs der Druckkopf gespült wurde und dieser danach über dem Probensträger bewegt wurde. Bei 0,05 s Pausendauer erfolgte die erste Dosiervorgang daher mit einer unzureichenden

Vorabscheidung und folglich einer erhöhten transferierten Masse bei dieser Dosierung. Ab einer Pausendauer von einer Sekunde war es hingegen möglich, zunächst einen Tropfen neben den Träger zu dosieren und den Träger in der Pause in Position zu bringen. Zudem erfolgten die Experimente zu den einzelnen Messreihen über einen Zeitraum von mehreren Wochen, so dass Schwankungen in der Luftfeuchtigkeit der Laborluft nicht ausgeschlossen werden können. Daher können Effekte aus geringen Unterschieden bei einer Pausendauer, wie im Fall von 0,05 s und 1 s, durch veränderte Verdunstungsraten der sich im Düsenbereich befindenden Flüssigkeit überlagert werden und sich die Signalverläufe daher angleichen.

Eine weitere Auffälligkeit sind erhöhte Nickelsignale im TRFA-Spektrum der dosierten Rückstände. Diese wurden im Rahmen der Dosierungen mit einer Pausendauer von 60 s detailliert untersucht. Vor Beginn der Experimente wurden die Dosierreihenfolge und Messreihenfolge separat durch eine Zufallszahl festgelegt, so dass die Parameter Dosierreihenfolge, Anzahl an Dosiervorgänge und Messreihenfolge nicht korrelieren. Erhaltene Ga- und Ni-Signale wurden durch die Anzahl an Dosiervorgänge geteilt sowie auf den Mittelwert der Messreihe normiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 38 abgebildet.

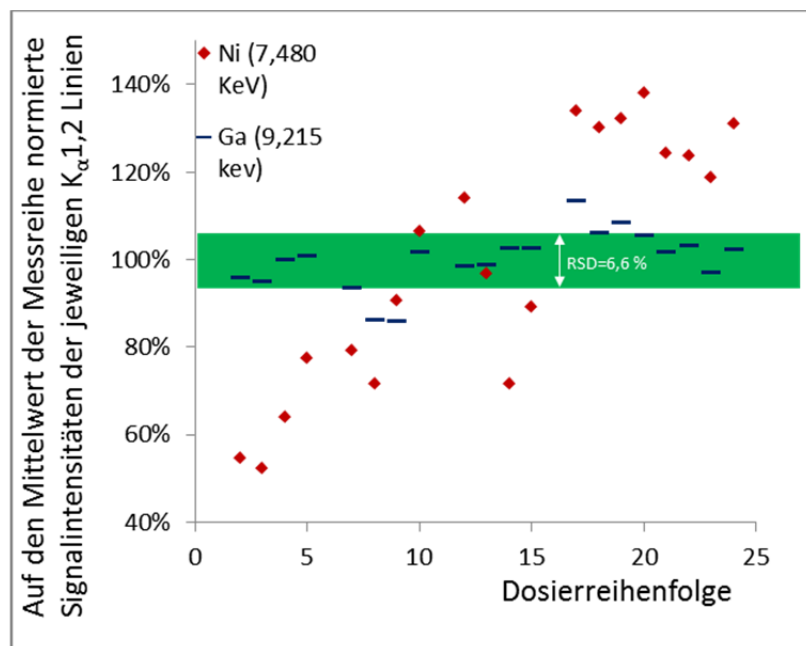


Abbildung 38: Signalverläufe der jeweils auf den Mittelwert normierten Ga- und Ni-TRFA-Intensitäten (absolute Ga-Signale siehe **Abbildung 37**) eines 1 g L^{-1} Ga-Einzelementstandards in Abhängigkeit von der Dosierreihenfolge (pL-Dosiersystem Typ "A", Pulsparameter: $6 \mu\text{s}$, 12 V, Dosierfrequenz: 1 min^{-1}).

Während die Einzelmesswerte des Ga-Signals ohne erkennbaren Trend mit einer relativen Standardabweichung von 6,6 % um den Mittelwert der Messreihe verteilt vorliegen, zeigt das Nickelsignal einen eindeutigen Aufwärtstrend mit einem Anstieg von ca. 250 %. Bei einer Auswertung

mit Gallium als internem Standard entspricht der Anstieg des Nickelgehalts in der zu dosierenden Lösung einer Anreicherung von ca. 120 auf 300 mg L⁻¹. Dies ist ein starker Hinweis darauf, dass die aus Nickel bestehende Düsenfolie durch die in der Dosierlösung enthaltene ca. 3 %ige Salpetersäure und zusätzliche mögliche elektrochemische Prozesse in deutlichem Ausmaß angegriffen wird. Da Elementstandardlösungen zur Stabilisierung der Löslichkeit der meisten Analyten Salpetersäure, Salzsäure oder Flusssäure zugesetzt wird, sind für den beim pL-Dosiersystem Typ "A" zugrundeliegende Tintenpatrontyp starke Einschränkungen für die Verwendung als Ausgangsobjekt für eine Dosiereinheit zu erwarten.

Die in diesem Kapitel diskutierten Ergebnisse zeigen somit eine prinzipielle Eignung des Systems für die Dosierungen von Pikolitervolumina. Die Präzision der Dosierung ist vergleichbar zu der in der Literatur^{13,14} beschriebenen Präzision für die Dosierung mittels modifizierten Tintenstrahldruckern. Der starke Einfluss der Pausendauer zwischen zwei Dosierungen und vor allem die Hinweise auf mangelnde chemische Resistenz führten zu der im nachfolgenden Kapitel beschriebenen Weiterentwicklung des Systems.

V.2. Charakterisierung des pL-Dosiersystems Typ "B"

Die in Kapitel V.1 diskutierten Ergebnisse führten zu mehreren Modifikationen des Systems. Als Alternative zu Dosiereinheiten, die auf HP 49 Tintenpatronen basieren, wurde nun die Eignung von Patronen vom Typ 45 als Basis für die Dosiereinheit untersucht. Diese verfügen über kleinere Düsenöffnungen in einer Polyimid-Folie. Durch das veränderte Material ist eine höhere thermische und chemische Belastbarkeit gegeben. Hierfür wurde das pL-Dosiersystem Typ "B" (Impulsgenerator 1, Programm 1, Verstärkerstufe 1, Dosiereinheit: modifizierte HP 45 Tintenpatrone) entwickelt.

Bei mikroskopischer Beobachtung des Impaktionsmusters der dosierten Tropfen und Variation der Dosierparameter wurde für Dosiereinheiten aus modifizierten HP 45 Patronen ein erhöhter Einfluss der Impulsbreite auf das Auftreten von Satellitentropfen festgestellt. Gemäß dem Rayleigh-Plateau ist dies zu erwarten, da eine schmalere Düsenöffnung eine Abschnürung einzelner Tropfen aus dem ausgestoßenen Jet begünstigt. Nach einer sorgfältigen Optimierung des Systems, die messtäglich bei jeder verwendeten Düse und zu dosierenden Lösung erfolgen muss, eignet sich auch dieses System zur reproduzierbaren Dosierung von Analytlösungen auf ausgewählte Zielpunkte auf feste Oberflächen. Die mit diesem Patronentyp erzeugten Rückstände (Abbildung 39) besitzen Durchmesser zwischen ca. 12-50 µm bei einer Höhe von ca. 1 µm und sind somit ebenso geeignet für

die Kalibrierung orts aufgelöster Analysesysteme wie die zuvor (Abbildung 36) und in der Literatur^{13,14,244,245} beschriebenen Rückstände.

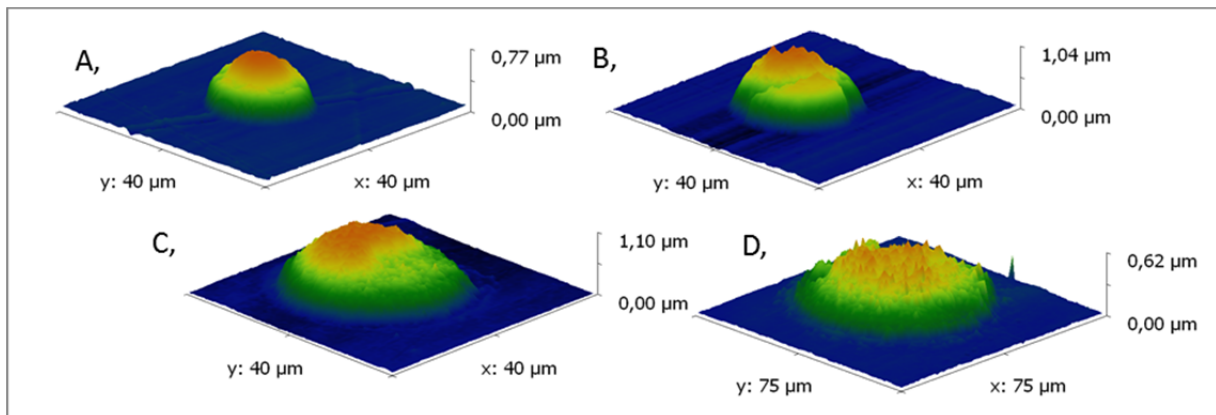


Abbildung 39: Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Rückständen nach mehrfacher Dosierung (A: 2, B: 4, C: 8 und D: 16 Dosiervorgänge) eines 1 g L^{-1} Sr-Einzelementstandards (Träger: Makrolon, pL-Dosiersystem Typ "B", Pulsparameter: $1,64 \mu\text{s}$, 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Die der in Abbildung 39 dargestellten gemessenen Höhe und Breite der Rückstände stimmen gut mit den zuvor in Kapitel V.1 diskutierten Ergebnissen überein. Da sich die dosierten Volumina pro Dosiervorgang von ca. 150 pL bzw. ca. 35 pL deutlich unterscheiden, deutet sich somit an, dass bei auf hydrophobe Oberflächen dosierte Lösungen nicht die initial benetzte Oberfläche, sondern vor allem die absolute Masse der gelösten Feststoffe die Form der Rückstände bestimmen. Eine weiterführende Diskussion von Trocknungs- und Benetzungseffekte wird in Kapitel V.4.2 im Zusammenhang mit dem Einfluss der Dosierung von organischen Matrixkomponenten sowie der Dosierung auf Agarosegele geführt.

Für die anknüpfende Charakterisierung rückte die quantitative Bestimmung der transferierten Masse pro Dosiervorgang in den Fokus. Da die Dosierung für die quantitative Bestimmung unter den gleichen Parametern erfolgen muss wie für die Erzeugung von Rückständen, stellte sich das Sammeln von mehreren tausend Tröpfchen und nachfolgende ICP-MS-Analyse, wie dies bei den Aerosolgeneratoren angewandt wurde,²⁸⁷ als nicht praktikabel heraus. Zum einen würden sich hieraus in vielen Fällen sehr lange Beprobungszeiten ergeben, und zum anderen wurden bei den im vorherigen Kapitel betrachteten Dosiereinheiten (modifizierte HP 49) nach mehr als 15 min des kontinuierlichen Dosierens gelegentliches Aussetzen der Dosierung beobachtet, welches durch kurzzeitiges Erhöhen der Dosierfrequenz behoben werden konnte.

Dieses Aussetzen der Dosierung bei einer großer Anzahl wiederholter Dosiervorgänge wurde bei den auf HP 45 basierenden Dosiereinheiten nur bei ungenügendem elektrischem Kontakt oder elektrischem Defekt beobachtet. Daher war nun das Sammeln von Rückständen gemäß der in Kapitel

IV.5.1.1 beschriebenen Methode und die anschließende quantitative Bestimmung der dosierten Masse mittels ICP-MS möglich. Zur Kontrolle wurde als alternative Messtechnik die TRFA in Kombination mit interner Standardisierung verwendet, bei der die Standardlösung mittels μL -Pipette dosiert wurde. Eine solche Vorgehensweise wurde bereits von Fittschen et al.¹⁴ erfolgreich angewendet. Für die ICP-MS-Analyse wurden Tropfen von 50 Dosiervorgängen gesammelt. Zu diesem Zeitpunkt erfolgte das Sammeln der dosierten Analytmasse noch in 1,5 mL-Gefäßen für GC-Probengeber. Das Einstellen des Fokuspunktes der Kamera und des Druckkopfes erwies sich aufgrund der Höhe der Gefäße jedoch als schwierig, so dass im späteren Verlauf dieser Arbeit die Tropfen, wie in Kapitel IV.5.1.1 beschrieben, auf der Innenseite der Deckel von 1,5 mL-Zentrifugenröhrchen gesammelt wurden. Für die Bestimmung mittels TRFA wurden auf die Träger zuerst 100 pg Se mittels μL -Pipette dosiert (1 μL einer 1 mg L⁻¹ Se Lösung). Nach Trocknung dieser Rückstände erfolgten 5 Dosiervorgängen mittels pL-Dosiersystem Typ "B". Die Ergebnisse beider Methoden sind in Abbildung 40 gegenübergestellt.

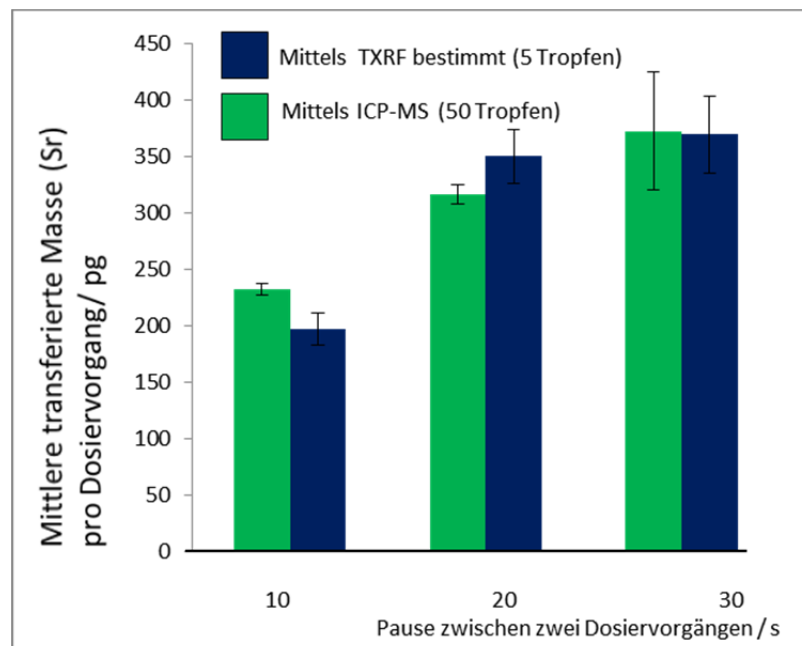


Abbildung 40: Quantitative Bestimmung der mittleren dosierten Tropfengröße mit TRFA und ICP-MS (pL-Dosiersystem Typ "B", Pulsparameter: 2,5 μs 10 V)

Zunächst fällt vor allem auf, dass die transferierte Masse pro Dosiervorgang deutlich über dem Erwartungswert von ca. 33 pg liegt, der sich aus den Herstellerangaben von 33 pL ausgestoßenem Volumen²⁸⁸ und einer Sr-Konzentration der dosierten Lösung von 1 g L⁻¹ ergibt. Ähnlich wie bei der zuvor untersuchten Dosiereinheit aus einer modifizierten HP 49 Tintenpatrone findet auch bei der aus der HP 45 basierenden Dosiereinheit eine Erhöhung der transferierten Masse bei Erhöhung der Pausendauer zwischen zwei Dosiervorgängen statt. Die relativen Zuwachsraten sind mit 1-8 % s⁻¹

vergleichbar mit denen, die für die auf HP 49 basierende Dosiereinheit ermittelt wurden, so dass davon ausgegangen werden kann, dass in beiden Fällen identische Effekte hierfür verantwortlich sind.

Als zweite Beobachtung lässt sich feststellen, dass die mittels TRFA gemessenen Werte der transferierten Massen in sehr guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der ICP-MS-Analyse liegen. Da beide Methoden auf unterschiedlichen physikalischen Effekten basieren und unabhängige Probenvorbereitungsschritte erfordern, konnte hierdurch eine gegenseitige Verifizierung beider Methoden erreicht werden. Aufgrund der anspruchsvollen Reinigung und Präparation der TRFA-Träger erwies sich die entwickelte ICP-MS-Methode als weniger aufwendig als die TRFA-Methode. Nach Weiterentwicklung der ICP-MS-Methode konnte zudem die Präzision gegenüber der TRFA-Methode weiter verbessert werden. Für die Bestimmung mittels ICP-MS stellte sich die Positionierung des Druckkopfes als kritischer Schritt heraus. Dieser Schritt konnte durch die Dosierung in Deckeln von Zentrifugenröhrchen vereinfacht werden. Als limitierenden Faktor für die TRFA-Methode konnte die interne Standardisierung über Dosierung mittels μL -Pipette identifiziert werden. Die Rückstände bildeten keine definierte Form, und die gemessenen Signale wiesen typischerweise relative Standardabweichungen von 5-15 % auf. Bei der Analyse von Rückständen aus einzelnen μL -Dosierungen wurden relative Standardabweichungen von ca. 5-10 % beobachtet, so dass sich bei einer Auswertung mit interner Standardisierung eine relative Standardabweichung der quantitativen Resultate von 7-16 % ergibt, während mit der ICP-MS Methode maximale Standardabweichungen von 10 % für die quantitative Bestimmung erreicht wurden.

Ein Vorteil der TRFA besteht jedoch in der Möglichkeit zur Untersuchungen an Rückständen aus einzelnen Dosiervorgängen. Hierfür wurden jeweils einzelne Dosierereignisse auf fünf TRFA-Träger durchgeführt und jeder dieser Träger fünfmal mittels TRFA gemessen.

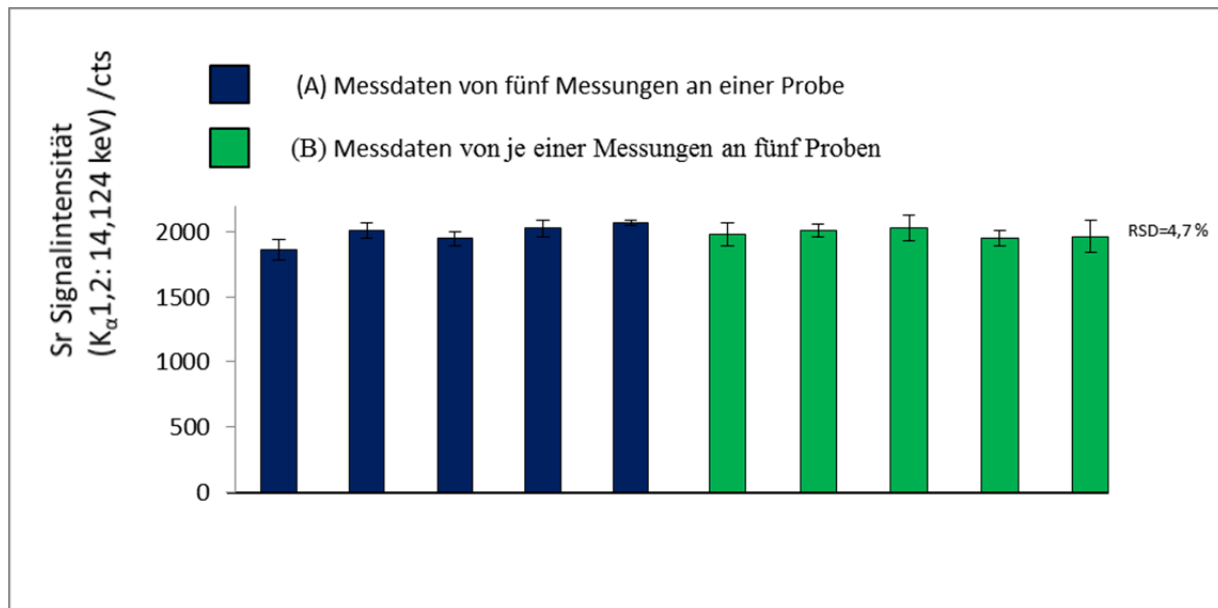


Abbildung 41: Untersuchungen zur Dosierpräzision durch Vergleich von 5 Messungen an je 5 individuellen Rückständen (Dosierte Lösung: $1 \text{ g L}^{-1} \text{ Sr}$, pL-Dosiersystem Typ "B", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$ 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Nach jeder dieser Messungen wurden die Träger um ca. 72° gedreht, um eine Abschätzung der Dosierpräzision des Druckkopfes und der Präzision bei der Messung zu ermöglichen. Die Messdaten sind in Abbildung 41 abgebildet. Der Mittelwert über alle erhaltenen Signalintensitäten der Sr-Signale lag bei 1984 cps mit einer Standardabweichung von 94 cps (4,7 %) und zeigt somit eine hohe Reproduzierbarkeit des Dosiervorgangs und der hohe Präzision der Messung. Bei Auswertung der je fünf Wiederholungsmessungen an jeweils einer Probe wurde eine mittlere relative Standardabweichung von 3,1 % berechnet, die als Maß für Präzision der Messung betrachtet werden kann. Demgegenüber wurde bei der Auswertung der jeweiligen Messzyklen mit je fünf verschiedenen Proben eine mittlere relative Standardabweichung von 4,7 % ermittelt, die mit der relativen Standardabweichung für alle erhaltenen Messdaten übereinstimmt. Hieraus kann mit Hilfe durch Umstellung von Gleichung 6 (siehe Kapitel III.1) eine relative Standardabweichung von 3,5 % für die Erzeugung des Rückstands durch Dosier- und Trocknungsvorgänge berechnet werden. Dieser Wert hat eine vergleichbare Größe wie die relative Standardabweichung der Messung.

Bei der Untersuchung von Rückständen aus je 10 Dosiervorgängen in einem analog aufgebauten Experiment wurde hingegen eine mittlere Signalintensität von 16279 cps mit einer relativen Standardabweichung von 12 % ermittelt. Die mittlere relative Standardabweichung der Messungen an jeweils einer Probe beträgt hierbei 4,2 %. Hieraus kann für die Probenpräparation eine relative Standardabweichung von 9,4 % errechnet werden. Ein Vergleich der beiden Experimente macht zum einen deutlich, dass bei zehnfacher Dosierung die relative Standardabweichung aus der eigentlichen

Messung eine vergleichbare Größe besitzt, während die relative Standardabweichung aus der Probenpräparation deutlich zunimmt. Die hohe Präzision bei Wiederholungsmessungen an einer Probe zeigt, dass die räumliche Orientierung des Trägers einen zu vernachlässigenden Einfluss auf das Messergebnis hat. Diese hat ihren Ursprung darin, dass die Anregungsfläche der einfallenden Röntgenstrahlung im Vergleich zum Durchmesser der getrockneten Rückstände sehr breit ist, so dass Intensität der Fluoreszenz in Detektorrichtung unabhängig von der Orientierung des Trägers bei Drehung in der Trägerebene um den Rückstand ist.

Allerdings besitzt die mittlere gemessene Signalintensität nur ca. 80 % der aus einer Analyse der einzelnen Dosiervorgänge extrapolierten Intensität. Es deutet sich somit an, dass die Form des Rückstands einen Einfluss auf die jeweils gemessene Signalintensität in der TRFA besitzt und dass bei zunehmenden Volumen des Rückstandes die Gesamtstandardabweichung zunimmt. Eine Erklärung für diese Beobachtungen ist eine zu geringe Eindringtiefe der Röntgenstrahlung in die Rückstände sowie mögliche Absorptions- oder Streueffekte im getrockneten Rückstand. Eine Bestimmung einer Standardabweichung, die bei diesen Experimenten nur dem Dosierungsprozess zugeordnet werden kann, ist nicht direkt möglich, da die ohne weitere Untersuchungen unbekannt Form der Rückstände einen starken, aber ebenfalls nicht direkt bestimmbaren Einfluss auf die Gesamtstandardabweichung besitzt. Die Form der Rückstände wird, wie zuvor diskutiert, vom Volumen des Rückstands (Analyt und Matrix), sowie dem Verlauf des Eintrocknens der dosierenden Flüssigkeitstropfen auf der Probenoberfläche bestimmt, sodass vor allem die Benetzung der Probenoberfläche mit der Flüssigkeit sowie die Ablagerung der Feststoffe im Zuge des Trocknungsprozesses einen starken Einfluss auf die Gesamtstandardabweichung besitzen. Ausgehend von der ermittelten Gesamtstandardabweichung für die Einzeldosierungen von 3,5 % und der Annahme, dass es sich hierbei um eine rein zufällige Schwankung handelt und sich somit die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass sich diese Schwankungen bei Wiederholung ausgleichen, lässt sich eine Unsicherheit des dosierten Gesamtvolumens bei 10 Dosiervorgängen gemäß Gleichung 5 von ca. 1,1 % abschätzen, was für eine hohe Reproduzierbarkeit des Analytmassentransfers mit Hilfe des entwickelten Dosiersystems spricht. Die Abnahme der Unsicherheit der transferierten Masse bei der Mehrfachdosierung wird allerdings, wie beobachtet, durch den Einfluss des Trocknungsprozesses mit zunehmender dosierter Analyt- und Matrixmasse durch eine erhöhte Messunsicherheit überlagert. Diese Betrachtung zeigt zudem, dass für Kalibrierungen der TRFA im ng-Bereich die von Sparks et al.^{240,241} vorgeschlagene Erzeugung von Arrays einzelner Rückstände anstelle eines einzelnen großen Rückstandes favorisiert werden sollte, um das Auftreten von Sättigungseffekten, d.h. von zunehmendem Empfindlichkeitsverlust mit zunehmender Analyt- oder Matrixmasse, zu vermeiden. Liegt die zu analysierende Probe jedoch selbst in partikulärer Form vor, könnte durch die Erzeugung

von partikelähnlichen Rückständen durch mehrfache Dosierung auf eine Stelle eine matrixangepasste Kalibrierung erfolgen. Zur Entwicklung einer solchen Kalibrierstrategie sind jedoch zuvor umfangreiche Studien zum Verhalten von Partikeln in der TRFA notwendig. Für eine Kalibrierung in der Laserablation oder der orts aufgelösten Synchrotron-TRFA ist der Array-basierte Ansatz jedoch weniger praktikabel, da dies eine Erhöhung des Ablations- bzw. Anregungsdurchmessers als Konsequenz hätte, und somit die Ortsauflösung limitiert wird. Da die Motivation der vorliegenden Arbeit in der Entwicklung eines pL-Dosiersystems für Kalibrierung hochempfindlicher orts aufgelöster Techniken, im Besonderen der LA-ICP-MS, bestand, wurde im weiteren Verlauf vor allem die Charakterisierung der Dosierung von pg-Analytmengen in den Vordergrund gestellt.

Die in diesem Kapitel diskutierten Ergebnisse zeigen, dass sich eine auf HP 45 basierende Dosiereinheit für die präzise Dosierung sowohl hinsichtlich der transferierten Masse, als auch hinsichtlich der erzielbaren Präzision bei Mehrfachdosierung auf einen Zielpunkt eignet, wie sie für eine Herstellung von jeweils einzelner Rückstände als Kalibrierstandards für orts aufgelöste Analysetechniken notwendig ist. Bei den TRFA-Untersuchungen wurden keine Hinweise auf mangelnde chemische Beständigkeit dieser Dosiereinheit festgestellt. Zudem konnte gezeigt werden, dass eine Bestimmung der mittleren dosierten Masse mittels einer entwickelten ICP-MS-Methode möglich ist. Hierbei wurde deutlich, dass, ebenso wie bei der zuvor untersuchten und auf HP 49 basierenden Dosiereinheit, die Pausendauer zwischen aufeinander folgenden Dosiervorgängen einen großen Einfluss auf die transferierte Analytmasse hat. Dabei führen möglicherweise Verdunstungseffekte durch die Düsenöffnung zur Aufkonzentrierung des Analyten in der Düsenkammer. In diesem Zusammenhang ist für eine reproduzierbare Dosierung eine Kontrolle der Luftfeuchtigkeit in der Umgebung der Düse essentiell. Im Rahmen der Entwicklung von Tintenpatronen werden zwar bereits durch HP Untersuchungen bei verschiedenen Temperaturen und Luftfeuchtigkeiten durchgeführt, jedoch werden hierbei für die Druckqualität relevante Parameter wie Farbsättigung und Auflösung untersucht. Bei solchen Experimenten wurde festgestellt, dass geringe Feuchtigkeitslevel zu einer Verschlechterung der Druckqualität führen.²⁸⁹ Auch Fittschen et al.²⁴⁴ beobachteten Einflüsse der Luftfeuchtigkeit und Pausendauer auf das TRFA Messsignal. Verdunstungseffekte scheinen folglich im thermischen Tintenstrahldosierverfahren verbreitet und bekannt zu sein. Um die Luftfeuchtigkeit in der Umgebung der Düsen zu kontrollieren und hierdurch eine Erhöhung der Reproduzierbarkeit der dosierten Analytmasse zu erreichen, wurden weitere Modifizierungen des Systems vorgenommen, die im folgenden Kapitel diskutiert werden.

V.3. Charakterisierung des pL-Dosiersystems Typ "C"

Als Konsequenz der im vorigen Kapitel beschriebenen Limitierungen durch Verdunstungseffekte am Druckkopf wurde das in IV.3 beschriebene Interface für die Dosiereinheit entwickelt. Diese verfügt die Möglichkeit befeuchteten Stickstoff an die Düsenaußenseite zu leiten und ein Verdunsten zu minimieren. Zudem wurde in dieses Interface eine Verschlussblende integriert, die es erlaubt, Tropfen zu Beginn eines Dosiervorgangs automatisiert zu verwerfen. Als Konsequenz des beobachteten individuellen Optimierungsbedarfs der Dauer des elektrischen Heizimpulses wurde zudem die elektronische Ansteuerung, wie in Kapitel IV.3.1 beschrieben, überarbeitet. Hierdurch konnte der Spannungsverlauf bei Signalanstieg während der Dauer des Impulses und beim Abfall des Signals reproduzierbarer eingestellt werden. Trotz stabilerer elektrischer Betriebsparameter konnte jedoch kein geringerer Optimierungsbedarf für den Dosiervorgang beobachtet werden, so dass eine individuelle Optimierung auf Düse und zu dosierende Lösung weiterhin arbeitstäglich erfolgen musste. Durch die nun ebenfalls impulsbasierte Ansteuerung der Dosiereinheit konnte zudem die Dauer der Verwendung der eingesetzten Düsen verlängert werden. Die Ursache liegt wahrscheinlich in geringerer elektrischer Belastung der auf dem Siliziumchip integrierten MISFETs. Das pL-Dosiersystem Typ "C" bestand somit aus Interface, Steuerung III, Steuerung des Elektromagneten und Programm 2.

V.3.1. Optimierung des Schutzgasflusses des Dosierinterfaces

Zur Optimierung des Schutzgasflusses des Dosierinterfaces wurde die transferierte Masse pro Dosierereignis in Abhängigkeit des befeuchteten Schutzgasflusses untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 42 dargestellt. Die Bestimmung der mittleren transferierten Masse erfolgt mittels der in Kapitel IV.5.1.1 beschriebenen ICP-MS Methode durch Ermittlung der Analytmasse in je fünf Proben nach Sammeln der Tropfenrückstände von jeweils 200 Dosiervorgängen. Die geringen Standardabweichungen von 1-3 % veranschaulichen die Verbesserung der Methode gegenüber dem in Kapitel V.2 beschriebenen Entwicklungsstand. Bereits ohne einen Gasfluss liegt die transferierte Masse bei einem deutlich geringeren Wert als dies aus den vorausgegangen Messungen zu erwarten war. Da die Massendurchflussregler im experimentellen Aufbau jedoch zwischen Gasversorgung und Befeuchtungskammer installiert waren, kann auch ohne zusätzlichen Gasfluss eine Diffusion von Wasserdampf in das Interface erfolgen. Infolge des Abkühlens des Wasserdampfes bei dem Transport ist in diesem Fall jedoch Kondensation in den mikrostrukturierten Kanälen des Systems wahrscheinlich, so dass die ausschließliche Zugabe von Wasserdampf nicht in Erwägung gezogen wurde.

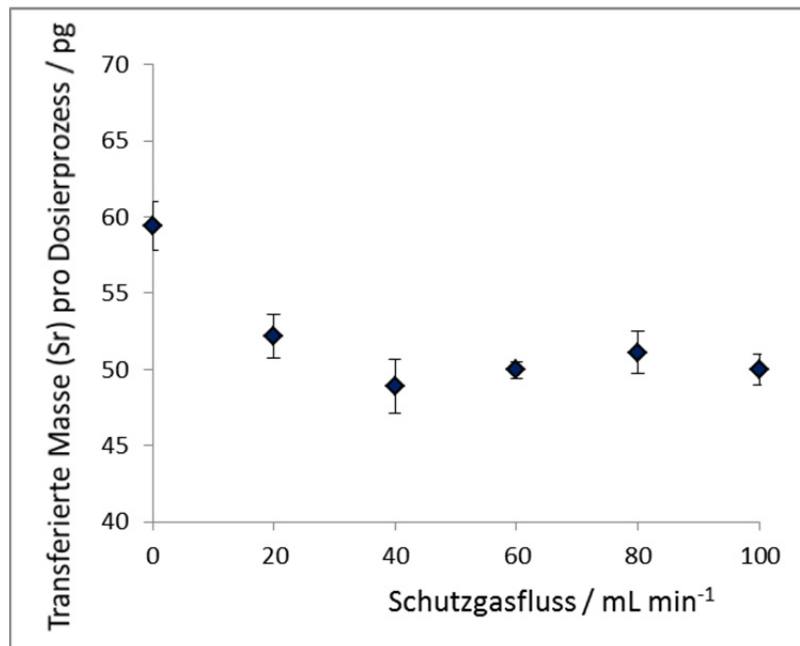


Abbildung 42: Transferierte Masse pro Dosiervorgang in Abhängigkeit vom Schutzgasfluss des Dosierinterfaces (Dosierte Lösung: $1 \text{ g L}^{-1} \text{ Sr}$, μL -Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$ 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Bei Erhöhung des Stickstoffflusses auf 40 mL min^{-1} ist zunächst eine Reduzierung der transferierten Masse von $59 \pm 2 \text{ pg}$ auf $49 \pm 2 \text{ pg}$ zu beobachten. Ab dieser Flussrate wurde bereits eine Stabilisierung auf einen Mittelwert von $50 \pm 1 \text{ pg}$ beobachtet. Die geringen Unterschiede der beobachteten Standardabweichungen zeigen keine systematische Abhängigkeit von der Gasflussrate und können als nicht signifikant betrachtet werden. Bei mikroskopischen Untersuchungen der Dosierung auf feste Träger wurde beobachtet, dass kleine Satellitentropfen vom Gasstrom stark abgelenkt werden und daher in einigen Fällen aus dem Beobachtungsbereich getragen werden. Dies erschwert eine Optimierung und kann leicht zu einer systematischen Diskrepanz zwischen der bestimmten mittleren Gesamtmasse und der in einem Rückstand vorliegenden Analytmasse führen. Um dieses Risiko zu vermindern und dennoch Verdunstungseffekte zu minimieren, wurde für alle folgenden Experimente ein Schutzgasfluss von 40 mL min^{-1} verwendet. Danach wurde untersucht, ob die Dosierfrequenz bzw. Pausendauer zwischen zwei aufeinanderfolgenden Dosiervorgängen weiterhin einen Einfluss auf die transferierte Masse hat. Hierfür wurde die mittlere transferierte Masse pro Dosiervorgang bei befeuchtetem und trockenem Stickstofffluss untersucht. Die in Abbildung 43 aufgetragenen Verläufe verdeutlichen die starken Einflüsse der Luftfeuchtigkeit auf den Dosiervorgang. Durch die entwickelte Verschlussblende war es bei diesen Experimenten im Gegensatz zu den in Abbildung 40 dargestellten quantitativen Bestimmungen möglich, bei Beginn des Dosiervorgangs zunächst einige Tropfen abzutrennen.

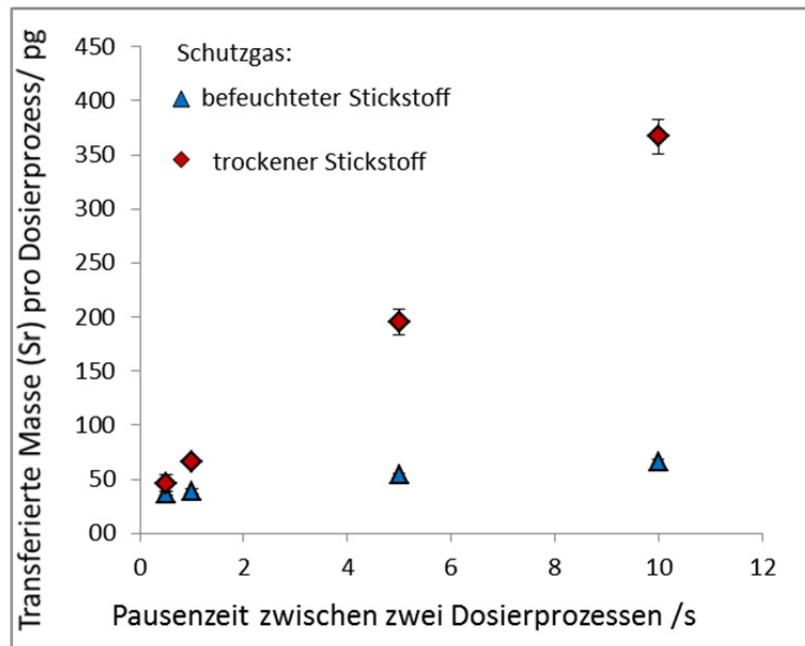


Abbildung 43: Transferierte Masse pro Dosiervorgang in Abhängigkeit von der Pausendauer zwischen zwei aufeinanderfolgenden Dosierereignisse bei Verwendung von trockenem und angefeuchtetem Schutzgas (Dosierte Lösung: $1 \text{ g L}^{-1} \text{ Sr}$, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$ 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Die Messergebnisse zeigen eine nahezu lineare Zunahme der transferierten Masse mit der Pausendauer, die durch Verdunstung erklärt werden können. Dieser Effekt ist bei trockenem Gas erwartungsgemäß wesentlich stärker als bei befeuchtetem Gas. Bei der Verwendung von trockenem Stickstoff stieg die transferierte Masse von 47 pg bei Pausendauern von 0,5 s (2 Hz) zwischen zwei Dosiervorgängen auf 367 pg bei Pausendauern von 10 s (0,1 Hz) und erreichte dabei ungefähr den Wert, wie zuvor bei Pausendauern von 30 s (0,033 Hz) und Laborluft bestimmt (Vergleich Abbildung 40). Bei der Verwendung von befeuchtetem Schutzgas wurde nur ein Anstieg von 37 pg bei 2 Hz auf 66 pg bei Pausendauern von 10 s (0,1 Hz) beobachtet. Die durch lineare Regression ermittelten Achsenabschnitte entsprechen den ausgestoßenen Massen bei sehr kurz aufeinanderfolgenden kontinuierlichen Dosiervorgängen und liegen bei $31 \pm 2 \text{ pg}$ für trockenes Schutzgas und bei $36 \pm 2 \text{ pg}$ für befeuchtetes Schutzgas. Der Unterschied ist gemäß Gleichung 8 als nicht signifikant zu bewerten. Hinzu kommt, dass die geringere ermittelte Masse für das trockene Schutzgas möglicherweise ein Artefakt der Interpolation ist und ihren Ursprung in der höheren Steigung der zugehörigen Gerade besitzt. Durch Interpolation werden zeitabhängige Verdunstungseffekte kompensiert, so dass die ermittelten transferierten Massen den mutmaßlich transferierten Volumina von 29-38 pL entsprechen. Diese interpolierten Werte liegen in guter Übereinstimmung mit den Herstellerangaben zum dosierten Volumen der den Dosiereinheiten zugrunde liegenden Tintenpatrone vom Typ HP 45 mit 33 pL .²⁸⁸ Das ermittelte ausgestoßene Volumen ergibt zudem ein stimmiges Gesamtbild im

Vergleich mit den bestimmten Volumen von auf HP 45 basierenden DOD (DOD – **d**op **o**n **d**emand) Aerosolgeneratoren²⁸⁴⁻²⁸⁷: Mittels des in Kapitel IV.5.1.3 beschriebenen mikroskopischen Verfahrens konnte gezeigt werden, dass das ausgestoßene Volumen bei der kontinuierlichen Dosierung mit 2,0 μ s Pulsbreite bei Frequenzen grösser als 80 Hz (Pausendauer 0,0125 s) bei ca. 19 pL liegt, bei Reduzierung der Frequenz von 80 Hz auf 10 Hz (Pausendauer 0,1 s) wurde ein Anstieg auf ca. 27 pL ermittelt.²⁸⁴ Es deutet sich somit an, dass hohe Dosierfrequenzen einen direkten Einfluss auf das ausgestoßene Volumen pro Dosiervorgang und damit auf die dosierte Massen besitzen, während die transferierten Massen bei sehr geringen Dosierfrequenzen hauptsächlich durch Verdunstungseffekte beeinflusst wird.

V.3.2. Optische Charakterisierung des Dosiervorgangs

Mit Hilfe des in Kapitel IV.5.1.3 beschriebenen Kameraaufbaus wurden die ausgestoßenen Tropfen nach Verlassen des Interfaces in einer Beobachtungshöhe (h_1) von ca. 10 mm unter der jeweils verwendeten Düse beobachtet. der zugehörige Versuchsaufbau ist in Abbildung 35 dargestellt. Hierbei stellte sich heraus, dass das Volumen überwiegend in zwei Tropfen zerfällt. Neben diesen Haupttropfen wurden allerdings weitere kleine "Nebentropfen" beobachtet, deren Größe, Geschwindigkeit und Position relativ zu den Haupttropfen von Düse zu Düse unterschiedlich war. Größenhistogramme der beobachteten Tropfen von fünf verschiedenen Düsen (A-E) sind in Abbildung 44 zu sehen.

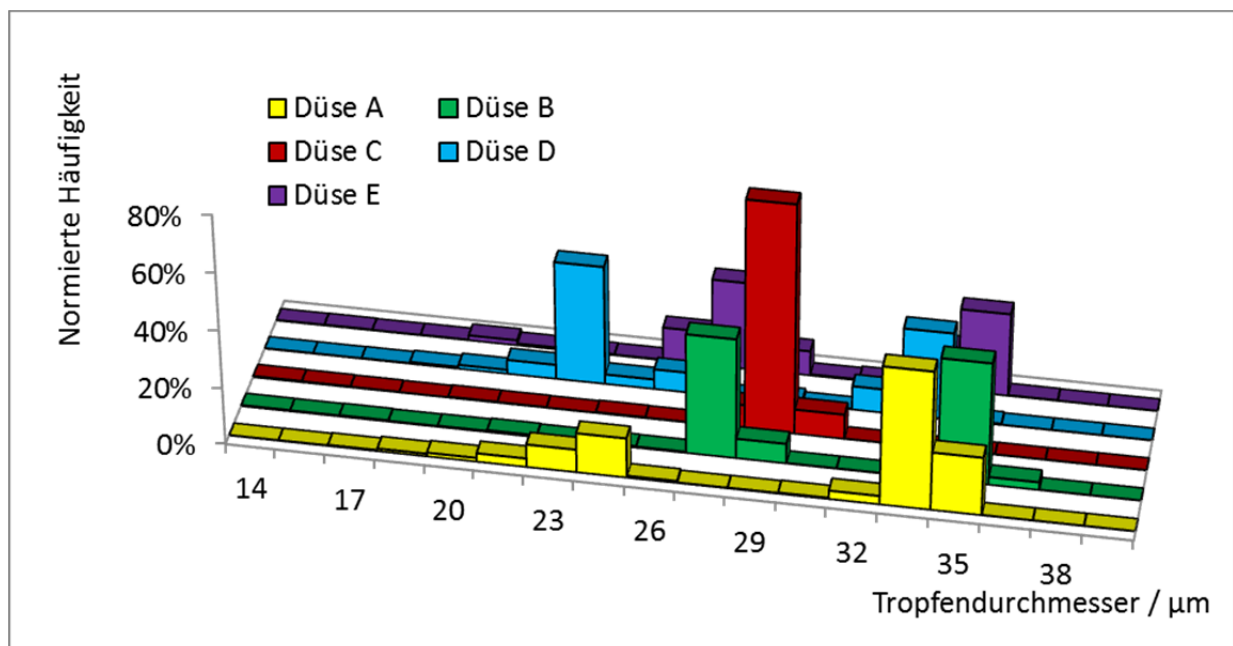


Abbildung 44: Histogramm der Durchmesser der ausgestoßenen Tropfen in Abhängigkeit von der ausgewählten Düse (Dosierte Lösung: 0,2 g L⁻¹ Merck IV Multielementstandard, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: 2,0 μ s 10 V, Dosierfrequenz: 1,25 s⁻¹).

Die Durchmesser der ersten und größten Tropfen liegen bei vier von fünf Düsen in einer Größenkategorie von 30 bis 35 μm . Auch der Durchmesser der zweiten Tropfen lässt sich eindeutig einer definierten Größenverteilung mit ähnlicher Breite zuordnen, deren Maximum jedoch von der verwendeten Düse abhängt. Bei einer der Düsen (Düse C) hingegen wurde eine Haupttropfenpopulation mit einem Durchmesser von 29 μm beobachtet.

Die somit düsenabhängige Tropfengrößenverteilung bestätigt die Erfahrung aus der Optimierung des Dosiervorgangs, bei dem zu beobachten war, dass das Dosierverhalten von Düse zu Düse variieren kann und so eine individuelle Optimierung der jeweiligen Heizpulslängen erforderlich ist. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung der automatisiert ausgemessenen Einzelbilder sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Die kleinen Nebentropfen wurden hierbei nicht berücksichtigt, da diese durch Schwankungen in der Geschwindigkeit - und damit in ihrer Position relativ zu den Haupttropfen - nicht zu einer Größenklasse zusammengefasst werden konnten. Die zwei berücksichtigten Haupttropfen beinhalten jedoch bereits mehr als 99 % des ausgestoßenen Volumens. Auch wenn bei der so ausgewerteten optischen Charakterisierung somit ein systematischer Unterbefund von bis zu 1% auftreten kann, ist dieser Fehler jedoch hinreichend gering, um ihn beim Vergleich mit den zuvor diskutierten mittleren transferierten Massen pro Dosiervorgang, bei denen RSD Werte von 3-5 % bestimmt werden konnten, vernachlässigen zu können.

Tabelle 7: Ergebnisse der statistischen Auswertung von mikroskopischen Aufnahmen der ausgestoßenen Volumen (dosierte Lösung: 0,2 g L⁻¹ Merck IV Multielementstandard, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: 2,0 μs 10 V, Dosierfrequenz: 1,25 s⁻¹).

Parameter	Population	Düse				
		A	B	C	D	E
Anzahl der Tropfenpopulationen		2	2	1	2	2
Mittlere Tropfengeschwindigkeit / m s ⁻¹	1. Tropfen	13,8	11,0	10,1	15,5	11,7
	2. Tropfen	2,7	3,9	-	4,8	3,0
Mittleres ausgestoßenes Volumen/ pL	1. Tropfen	19±3	20±4	11±2	17±4	20±3
	2. Tropfen	6±1	10±1	-	6±1	9±2
	Gesamt	25±4	30±5	11±2	23±4	28±4
Mittlerer Tropfendurchmesser / μm	1. Tropfen	33±3	34±3	27±2	31±5	33±3
	2. Tropfen	22±1	27±2	-	23±1	25±2
Maximale laterale Unsicherheit σ_x / μm ($h_1 = 10 \text{ mm}$)	Gesamt	40	16	24	56	64
Winkel des Streukegels α / °	Gesamt	0,11	0,05	0,07	0,16	0,18
Maximaler Durchmesser der Einschlagsfläche der Tropfen d_{max} / μm ($h_2 = 14 \text{ mm}$)	Gesamt	77	56	61	102	122

Die statistische Auswertung ergibt für vier von fünf Düsen ein ähnliches Verhalten hinsichtlich der jeweiligen ausgestoßenen Volumina, welches im Rahmen der jeweiligen Standardabweichung mit dem Mittelwert von 27 pL übereinstimmt. Die Verteilung des Volumens zwischen dem ersten und dem zweiten Tropfen zeigt jedoch geringfügige Unterschiede. Das ausgestoßene Volumen von 25-30 pL liegt in guter Übereinstimmung mit den in Kapitel V.3.1 interpolierten Volumina von 31-36 pL sowie den bei von Orlandini von Niessen et al.²⁸⁴ bestimmten Volumen von 27 pL bei einer Dosierfrequenz von 10 Hz.

Neben den Volumina der ausgestoßenen Tropfen konnte auch die laterale Position bestimmt werden, aus welcher die maximale laterale Unsicherheit der Tropfen in der Beobachtungsebene auf Höhe von h_1 , sowie die die Flugbahnen der einzelne Tropfen berechnet werden können. Hierbei konnte ermittelt werden, dass sich die Trajektorien von 95 % aller Tropfen in einem Streukegel mit einem Öffnungswinkel von $<0,16^\circ$ befinden. Aus diesem Streukegel lässt sich zudem nach Gleichung 38 der Durchmesser der vom Einschlag der Tropfen direkt betroffenen Fläche berechnen. Bei einem typischen Dosierabstand (h_2) von 14 mm ergibt sich ein Durchmesser der Tropfeneinschlag betroffenen Fläche von 60-120 μm . Dies unterstreicht die Fähigkeit des entwickelten pL-Dosiersystems zur räumlich präzisen Dosierung von kleinsten Analytmengen und liegt in guter Übereinstimmung mit den in Kapitel V.4.2 diskutierten Impaktionsspuren der Tropfen bei der Dosierung auf Agarosegele. Für Probenoberflächen, die von der dosierten Flüssigkeit benetzt werden, ergibt sich allerdings auch, dass ein größerer Laserstrahldurchmesser von 60-150 μm gewählt werden muss, als bei der Analyse von getrockneten Rückständen auf hydrophoben Oberflächen, bei denen sich der unmittelbar nach der Dosierung auf der Oberfläche gebildete Flüssigkeitstropfen beim Trocknen zusammenzieht, so dass sich ein schmalerer Rückstand bildet, der bereits mit Laserstrahldurchmessern von 10-35 μm vollständig erfasst werden kann (Vergleich Abbildung 36 und Abbildung 39).

V.4. Dosierung von pL-Volumina zur Herstellung von Kalibrierstandards für die TRFA und die LA-ICP-MS

Bei der Charakterisierung der pL-Dosiersysteme Typ "B" und Typ "C" (Vergleich Kapitel V.2 und V.3) konnte gezeigt werden, dass die entwickelte Dosiereinheit eine reproduzierbare Dosierung von pL-Volumina mit hoher räumlicher Dosierpräzision erlaubt. In diesem Kapitel wird die Eignung von Rückständen nach Dosierung von Standardlösungen auf hydrophobe Oberflächen und anschließender Trocknung zur Kalibrierung von TRFA und LA-ICP-MS-Systemen untersucht und diskutiert.

Für die Erhöhung der Analytmasse in den erzeugten Rückständen gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: für eine "konzentrationsbasierte Dosierungsstrategie" können Lösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen jeweils mit konstanter Tropfenanzahl dosiert werden. Für eine Dosierungsstrategie, die die Anzahl wiederholter Dosiervorgänge zugrunde legt, kann eine entsprechende Mehrfachdosierung einer einzigen Lösung – tropfenzahlbasiert - erfolgen.

Mit beiden Strategien konnten im Verlauf der vorliegenden Arbeit Kalibrierstandards hergestellt und hiermit Kalibrierungen durchgeführt werden.

Zunächst wurde die tropfenzahlbasierte Kalibrierstrategie untersucht. Als Kalibrierstandards wurden Rückstände nach 2, 4 und 8 Dosierungsvorgängen und Trocknung einer 1 g L^{-1} Sr-Lösung hergestellt. Abbildung 45 zeigt exemplarisch mikroskopische Aufnahmen solcher Rückstände und eines Ablationskraters nach Ablation eines solchen Rückstands unter Verwendung eines Laserstrahldurchmessers von $50 \text{ }\mu\text{m}$. Wie aus diesen Aufnahmen zu erkennen ist, liegen die Durchmesser der Rückstände deutlich unter denen des Ablationskraters und erlauben so einen vollständigen Abtrag durch den Laserstrahl (Durchmesser $50 \text{ }\mu\text{m}$) bzw. Anregung mittels Röntgenstrahlung (Anregungsfläche ca. $7 \times 57 \text{ mm}^2$) (Vergleich Kapitel III.2.1).

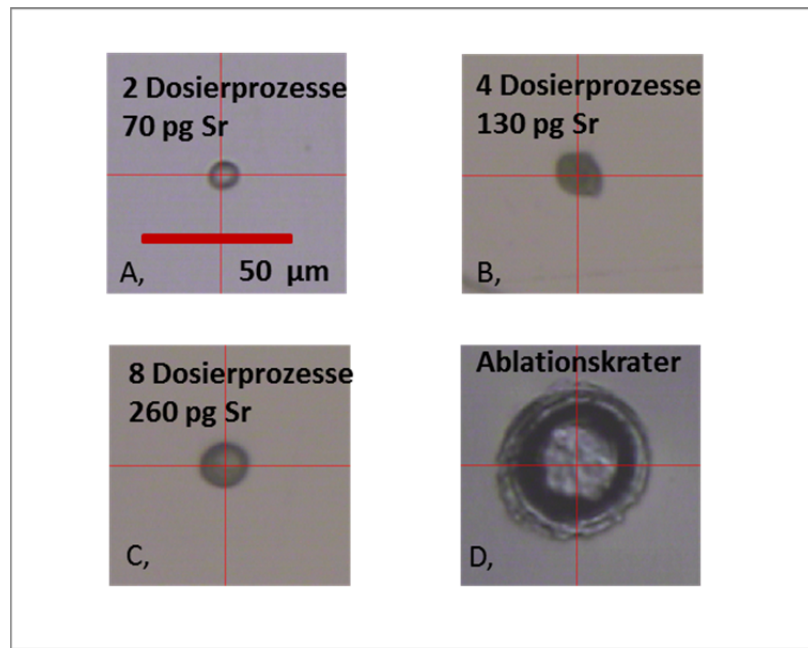


Abbildung 45: Mikroskopische Bilder von Rückständen nach der Trocknung von pL-Volumina einer 1 g L⁻¹ Sr Standardlösung in Abhängigkeit der Anzahl der Dosierungsvorgänge (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: 2,5 µs 10 V, Dosierfrequenz: 1 s⁻¹) (A-C) und eines Ablationskraters (D), aufgenommen mit der Kamera des verwendeten Cetac Laserablationssystems.

Lineare Kalibrierfunktionen, die bei TRFA und LA-ICP-MS-Analysen solcher Rückstände aufgenommen wurden, sind in Abbildung 46 abgebildet. Die bei der Analyse erhaltenen Signalintensitäten zeigen im abgebildeten Bereich für beide Techniken einen hohen linearen Zusammenhang mit der dosierten Analytmasse ($R^2=0,9993$ bzw. $0,9976$). Die mittlere relative Standardabweichung für Sr ohne Berücksichtigung der jeweiligen Leermessungen liegen unter Verwendung der TRFA bei 3,4 % sowie 9,2 % bei LA-ICP-SFMS Analysen.

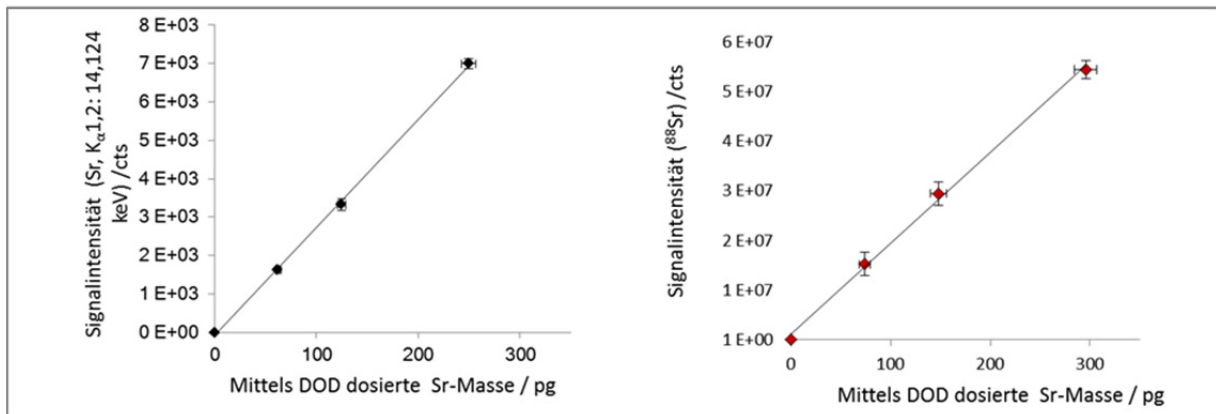


Abbildung 46: Kalibrierfunktion für Sr unter Verwendung der TRFA (links) und LA- ICP- SFMS (rechts) Dosierte Lösung: $1 \text{ g L}^{-1} \text{ Sr}$, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s } 10 \text{ V}$, Dosierfrequenz: 1 s^{-1} .

Der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Kalibrierbereich liegt in einem ähnlichen Analytmassenbereich wie bei den LA-ICP-TOFMS-Untersuchungen von Fittschen et al.¹⁴ Diese ermittelten mit Hilfe von Kalibrierstandards, die durch 1, 3 und 5 Dosierungen von Standardlösungen mit modifizierten Tintenstrahldruckern hergestellt wurden, lineare Kalibrierfunktionen mit Bestimmtheitsmaßen von 0,9748-0,9959 und relativen Standardabweichungen von 4-20 %. Für die höheren relativen Standardabweichungen der Messdaten im Vergleich zu denen, die in der vorliegenden Arbeit beobachtet wurden, sind zwei mögliche Ursachen hervorzuheben. Neben instrumentellen Unterschieden bei den verwendeten LA-ICP-MS-Systemen ist wahrscheinlich die räumlich präzisere Dosierung der Tropfen, die im Verlauf der vorliegenden Arbeit realisiert werden konnte, ausschlaggebend. Das Erscheinungsbild der Rückstände ist bei dem entwickelten pL-Dosierverfahren im Vergleich zu der Dosierung mittels modifizierten Tintenstrahldruckers deutlich reproduzierbarer. Im Falle der Studien unter Verwendung des modifizierten Tintenstrahldruckers ist wahrscheinlich die Bewegung des Druckkopfes verantwortlich dafür, dass bei Mehrfachdosierungen nicht exakt auf den gleichen Punkt dosiert wird und die Rückstände daher eine unregelmäßigere Form und größere Radien besitzen, was sich negativ auf die erzielbare Präzision bei den sich anschließenden Messungen auswirkt.

Die konzentrationsbasierte Dosierungsstrategie bietet eine Möglichkeit, eine solche eingeschränkte Dosierpräzision zu kompensieren. Durch die Verwendung unterschiedlich konzentrierter Lösungen kann die Anzahl an Dosierereignissen minimiert werden, wodurch sich jedoch der präparative Aufwand erhöht, da bei der Dosierung unterschiedlicher Konzentrationen der Druckkopf bei jedem Wechsel der zu dosierenden Flüssigkeit ausgebaut und gespült werden muss. Bei der Verwendung des pL-Dosiersystems muss jedoch nach jedem dieser Schritte eine Optimierung des elektrischen Heizimpulses erfolgen, so dass eine Veränderung des dosierten Volumens nicht ausgeschlossen

werden kann und für jede Lösung eine individuelle Bestimmung der mittleren dosierten Analytmass (siehe Kapitel IV.5.1.1) angeraten ist. Abbildung 47 zeigt einen Vergleich von Sr-Kalibrierfunktionen für die LA-ICP-QMS-Analyse, deren Kalibrierstandards mittels konzentrationsbasierter Dosierungsstrategie (A) sowie der tropfenzahlbasierten Dosierungsstrategie (B) hergestellt wurden.

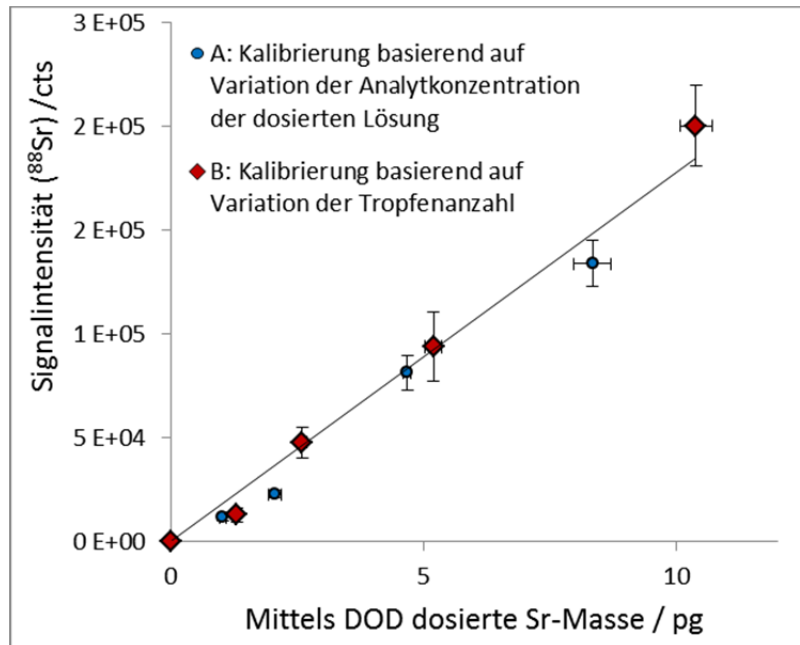


Abbildung 47: Kalibrierfunktionen für Sr unter Verwendung der LA-ICP-QMS. A: konzentrationsbasierte Kalibrierung: je ein Dosierungsvorgang einer 30, 60, 125 und 250 mg L⁻¹ Sr Lösung; B: tropfenzahlbasierte Kalibrierung: 1, 2, 4, 8 Dosierungsvorgänge einer 30 mg L⁻¹ Sr Lösung (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: 2,1 µs 10 V, Dosierfrequenz: 1 s⁻¹).

Für die mit Hilfe beider Dosierungsstrategien erhaltenen Messpunkte lässt sich eine gemeinsame Regressionsgerade ermitteln, mit der beide Messreihen im Rahmen ihrer Messunsicherheit eine hohe Übereinstimmung besitzen. Zudem zeigen beide Messreihen nur ein geringfügig unterschiedliches Verhalten. So liegt die mittlere relative Standardabweichung bei der Kalibrierfunktion B bei 16 % verglichen mit 11 % für Kalibrierung A etwas höher. Diese RSD-Werte liegen auch höher als jene, die bei den in Abbildung 46 dargestellten Messungen beobachtet wurden. Eine mögliche Erklärung ist, dass die gemessenen Intensitäten durch die geringeren Analytmengen in Kombination mit einem weniger empfindlichen instrumentellen Aufbau ($1,8 \cdot 10^4$ cts μg^{-1} für LA-ICP-QMS vs. $1,8 \cdot 10^5$ cts μg^{-1} für LA-ICP-SFMS) in einem höheren Maß von Schwankungen des Signaluntergrunds betroffen sind, jedoch kann auch das Material des Probenträgers einen Einfluss auf die Signalreproduzierbarkeit besitzen. Mit einem ähnlichen instrumentellen Aufbau unter Verwendung eines kommerziellen piezobasierten Dosiersystems ermittelten Wang et al. bei der Ablation von Rückständen einzelner Dosierungsvorgänge von je ca. 18 pL in einem

Analytmassenbereich von 3,6-360 fg für Au relative Standardabweichungen von maximal 8 %. Aus den veröffentlichten Daten lässt sich eine Empfindlichkeit von ca. $6,9 \cdot 10^3$ cts pg^{-1} ermitteln.

Ein weiterer Unterschied zu den zuvor diskutierten LA-ICP-SFMS Ergebnissen liegt in der Wahl des Probenträgermaterials. Eine Fortführung der Diskussion der Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Probenträgermaterialien erfolgt in Kapitel V.4.2. An dieser Stelle sei jedoch darauf hingewiesen, dass für die Herstellung der Kalibrierstandards für LA-ICP-SFMS-Experimente auf eine ebene Kunststoffoberfläche dosiert wurde, während die Dosierung für die in Abbildung 47 abgebildeten LA-ICP-QMS Untersuchungen auf feuchten Nagellack erfolgte. Letztere Strategie zur Herstellung von Kalibrierstandards führt zu einer stärkeren Fixierung der getrockneten Rückstände, da die dosierten Flüssigkeitstropfen vor dem Trocknen in den feuchten Lack leicht einsinken. Die resultierenden, getrockneten Rückstände wiesen unter mikroskopischer Betrachtung allerdings ein uneinheitliches Erscheinungsbild auf. Eine Erklärung hierfür ist, dass je nach Anzahl der dosierten Tropfen und Trocknungsgrad des Lackes die Flüssigkeitstropfen unterschiedlich tief in den Lack einsinken und die resultierende Form der getrockneten Rückstände somit stärkeren Schwankungen unterliegt. Ein weiterer, möglicher Unterschied liegt in der Bestimmung der dosierten Masse: Durch die individuelle Bestimmung der transferierten Analytmenge bei A liegen hier für jeden Messpunkt unterschiedliche bestimmte Massen und individuelle Unsicherheiten vor. Hierdurch kommt es zu statistischen Schwankungen der einzelnen Messpunkte. Daher liegt auch das Bestimmtheitsmaß der jeweils einzelnen Regressionsgeraden für Kalibrierfunktion A mit 0,9899 verglichen mit 0,9963 für B niedriger. Die individuelle Bestimmung der transferierten Analytmasse erhöht somit die Unsicherheit der ermittelten Kalibrierfunktion.

Im Gegenzug ergibt sich hieraus auch der Vorteil der individuellen Bestimmung der dosierten Masse für jeden Kalibrierpunkt, da sich das Ergebnis einer möglichen, fehlerhaften Bestimmung der dosierten Massen nicht auf die gesamte Kalibrierung auswirkt. Diese Gefahr eines systematischen Fehlers bei der Bestimmung der Kalibrierfunktion für die tropfenzahlbasierte Kalibrierung wird durch Mehrfachbestimmung der mittleren dosierten Masse minimiert, bei der jeweils eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (RSD üblicherweise 4-12 %) beobachtet werden konnte.

V.4.1. Dosierung von Multielementlösungen

Parallel zu den Experimenten der vorliegenden Arbeit konnte von J. Niklas Schaper gezeigt werden, dass es mit HP 45 basierten DOD-Aerosolgeneratoren in Verbindung mit einem ICP-MS möglich ist, 52 Elemente im Massenbereich von 7-252 zu detektieren.²⁸⁶ Hierbei konnten keine Hinweise auf eine Beeinträchtigung der Dosierbarkeit bedingt durch Blindwertbelastung oder Memory-Effekte für einzelne Elemente beobachtet werden. Da die Anforderungen an die Aerosolerzeugung jedoch

andere sind, als die für die Dosierung einzelner Tropfen auf feste Probenträger, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit vergleichende Experimente zur Dosierung von Multielementlösungen durchgeführt. Hierfür wurden die mittleren dosierten Massen für verschiedene Elemente über das Sammeln von Tropfen von 200 Dosiervorgängen und anschließender Analyse mittels ICP-QMS bestimmt (Tabelle 8) sowie lineare Kalibrierfunktionen basierend auf 2- bis 16-facher Mehrfachdosierung einer Multielementlösung für die TRFA (Tabelle 9) ermittelt. Die Auswahl der Elemente ist in diesen Experimenten bedingt durch unterschiedliche Limitierungen der verschiedenen Techniken. Als Grenzen sind vor allem eine geringe Empfindlichkeit einiger Röntgenemissionslinien verschiedener Elemente in der TRFA, sowie polyatomare Interferenzen und ein erhöhter Untergrund für einige Elemente in der ICP-QMS-Analyse zu nennen.

Tabelle 8: Bestimmung der mittleren dosierten Masse (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: 1,7 μ s 10 V, Dosierfrequenz: 1 s⁻¹) für ausgewählte Elemente eines Merck IV Multielementstandards (1 g L⁻¹) mittels LA-ICP-QMS.

Element	m/z	Masse pro Dosiervorgang / pg	SD / pg	RSD/ %
Cr	53	28	1,5	5,4
Mn	55	27	1,3	4,8
Co	59	25	1,1	4,4
Cu	63	27	3,0	11
Ga	69	23	1,0	4,3
Sr	88	25	1,4	5,6
Ag	107	23	1,1	4,8
In	115	23	1,4	6,1
Ba	137	25	2,4	9,6
Tl	205	23	1,7	7,4
Pb	208	25	3,0	12
Mittelwert		25	1,9	7,6

Die individuell bestimmten mittleren dosierten Massen zeigen keine Hinweise auf eine Elementabhängigkeit und auch der Mittelwert der Einzelbestimmungen unterscheidet sich im Rahmen der jeweiligen Standardabweichungen nicht vom Mittelwert über alle ausgewählten Massen und der dazugehörigen Standardabweichungen. Die bestimmten mittleren Massen liegen jedoch etwas niedriger, als solche, die für Dosierungen von Einzelementlösungen ermittelt wurden. Ursache hierfür ist wahrscheinlich der Einfluss der erhöhten Salzfracht auf den Dosiervorgang. So wurde beispielsweise bei der messtäglichen Optimierung der Dosieroutine für eine Lösung mit einer Analytkonzentration von 10 g L⁻¹ bei Variation der Heizimpulsdauer in einem weiteren Bereich eine geringere Tendenz zur Ausbildung von Satellitentropfen beobachtet als bei Einzelementstandards mit einer Analytkonzentration von 1 g L⁻¹.

Die für die TRFA erhaltenen Kalibriergeraden, deren Kenngrößen in Tabelle 9 zusammengefasst sind, zeichnen sich - mit Ausnahme von jener für Barium – durch Bestimmtheitsmaße größer als 0,999 aus. Zudem wurden bei den jeweiligen Kalibrierpunkten niedrigere mittlere relative Standardabweichungen ermittelt. Hieraus lässt sich auch für die Dosierung von konzentrierten Multielementlösungen eine hohe Reproduzierbarkeit der transferierten Masse ableiten. Die ermittelten Parameter für die Ba-Kalibriergerade weisen im Vergleich zu den übrigen Elementen eine geringere Empfindlichkeit und damit verbunden eine höhere Messunsicherheit, eine höhere Nachweisgrenze sowie geringere Bestimmtheitsmaße auf.

Tabelle 9: Kenngrößen linearer Kalibrierfunktionen für verschiedene Elemente, bestimmt mittels TRFA unter Einsatz von Rückständen aus pL-Volumina von Multielementstandardlösungen (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: 1,7 μ s 10 V, Dosierfrequenz: 1 s⁻¹, Integrationszeit: 1000 s, LOD Berechnung basierten auf dem in Tabelle 8 bestimmten Mittelwert der mittleren dosierten Masse)

Element	Line	Energie /keV	r ²	RSD (gemittelt) / %	LOD /pg	Empfindlichkeit /cts pg ⁻¹	Übereinstimmung der relativen Empfindlichkeit (bezogen auf Ga K α _{1,2}) mit Herstellerangaben
Cr	K α _{1,2}	5,415	0,9998	6,3	11	6,4	102,8%
Mn	K α _{1,2}	3,314	0,9996	5,6	6	8,0	105,2%
Fe	K α _{1,2}	6,405	0,9997	4,8	9	10,3	107,0%
Co	K α _{1,2}	6,931	0,9996	5,0	3	11,8	105,2%
Ni	K α _{1,2}	7,480	0,9998	4,8	4	14,6	104,7%
Cu	K α _{1,2}	8,046	0,9996	3,8	5	16,2	103,2%
Zn	K α _{1,2}	8,637	0,9999	3,9	11	18,9	103,9%
Ga	K α _{1,2}	9,251	0,9999	3,8	1	20,9	-
Sr	K α _{1,2}	14,165	0,9997	4,0	3	33,7	102,4%
Ba	L α _{1,2}	4,466	0,9954	15,1	52	1,1	65,5%
Tl	L α ₁	10,269	0,9996	5,6	3	13,2	72,3%
Pb	L α ₁	10,551	0,9997	5,7	3	14,0	77,0%
Bi	L α ₁	10,839	0,9998	4,6	1	14,1	74,4%

Die aus den Kalibriergeraden ermittelten Nachweisgrenzen liegen auf einem typischen Niveau für die TRFA: umgerechnet auf ein mittels Pipette auf die Probenräger aufgetragenes Volumen von 10 μ L entsprechen die Nachweisgrenzen Werten zwischen 0,1-5,2 μ g L⁻¹ und liegen damit am unteren Ende des vom Gerätehersteller angegebenen Bereichs.²⁸ Die hohen Übereinstimmungen von 102,8-107,0% für die K α -Linien mit den in der Gerätesoftware hinterlegten zugehörigen relativen Empfindlichkeiten, lässt ebenfalls keine elementabhängige Diskriminierung bei der Dosierung erkennen. Die hiermit verglichene geringere Übereinstimmung von 65,5-77,0% der relativen Empfindlichkeiten für die L α -

Linien erscheint systematisch und nicht elementabhängig und lässt evtl. eine instrumentenseitige Ursache vermuten.

Bei der Analyse von Rückständen getrockneter Multielementlösungen mittels LA-ICP-QMS musste die Elementauswahl, bedingt durch die Limitierung bei Multielementdetektion im Falle kurzer transienter Signale, weiter eingeschränkt werden. Bei der Herstellung der Standards für die in Tabelle 10 dargestellten Kennzahlen ermittelter Kalibrierfunktionen ausgewählter Elemente wurden eine Kombination aus konzentrationsbasierter und tropfenzahlbasierter Dosierungsstrategie verwendet. Durch jeweils 1, 4 und 8 Dosiervorgängen von Lösungen mit Analytkonzentrationen von $0,2 \text{ g L}^{-1}$ bzw. $0,02 \text{ g L}^{-1}$ konnte so mit geringem präparativem Aufwand ein Kalibrierbereich bis 50 pg mit eng aufeinander folgenden Kalibrierpunkten abgedeckt werden. Die Bestimmung der dosierten Masse, welche zur Berechnung der Nachweisgrenzen sowie der angegebenen Empfindlichkeiten verwendet wurden, erfolgt über einen Zusatz von $0,5 \text{ g L}^{-1}$ Yttrium in beiden dosierten Lösungen. Die Bestimmung erfolgte für beide Lösungen mit Hilfe von fünf Sammlungen von je 500 Dosiervorgängen.

Tabelle 10: Kenngrößen für lineare Kalibrierfunktionen für ausgewählte Elements, ermittelt anhand der LA-ICP-QMS für die Analyse von Rückständen aus μL -Volumina von getrockneten Standardlösungen (μL -Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,0 \mu\text{s}$ 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Element	m/z	r^2	LOD / fg	RSD / % (gemittelt)	Empfindlichkeit / cts fg ⁻¹
Cr	53	0,997	33,5	4,1	0,89
Mn	55	0,997	6,8	2,8	9,9
Co	59	0,996	3	3,9	7,2
Ni	60	0,997	27	3,9	1,6
Sr	88	0,998	1	3,6	12
Pb	208	0,997	3	4,2	9,8
U	238	0,998	4	4,6	25

Nicht nur der Abstand der Kalibrierpunkte, sondern auch die geringen relativen Standardabweichungen sowie die hohen Bestimmtheitsmaße liegen in einem für die LA-ICP-MS niedrigen Bereich mit Werten, die nahezu das Niveau bei konventioneller ICP-MS-Analytik erreichen.^{21,287} Die absoluten Empfindlichkeiten liegen ca. einen Faktor 1000 höher und Nachweisgrenzen ca. einen Faktor 1000 niedriger als die für die TRFA bestimmten Werte. Die ermittelten Kenngrößen liegen zudem in guter Übereinstimmung mit den von Wang et al.²³⁷ ermittelten Werten für Gold, für das ein LOQ von $1,7 \text{ fg}$, eine Empfindlichkeit von ca. $6,9 \text{ cts fg}^{-1}$ und relativen Standardabweichungen von maximal 8 % berichtet wurden. Bezogen auf die

Reproduzierbarkeit bei der Analyse von Rückständen aus getrockneten Standardlösungen konnten für beide Techniken relativen Standardabweichungen im mittleren einstelligen Prozentbereich beobachtet werden.

Durch Verwendung empfindlicherer bzw. nachweisstärkerer Instrumente, z.B. die Verwendung eines ICP-SFMS im Falle der LA-ICP-MS oder eines Synchrotrons als Strahlungsquelle für die TRFA, lassen sich die Nachweisgrenze für beide untersuchten Techniken weiter senken. Gegenüber der LA-ICP-QMS zeichnet sich die TRFA als eine zerstörungsfreie Analysetechnik aus, bei der die Möglichkeit besteht, durch Erhöhung der Integrationszeit (t_i) die Empfindlichkeit zu erhöhen und gleichzeitig die Nachweisgrenze zu senken. Um jedoch eine ähnliche Empfindlichkeit mit dem verwendeten TRFA Instrument zu erreichen, wie mit dem verwendeten LA-ICP-QMS System, müsste die Integrationszeit von 1000 s auf 10^6 s pro Probe erhöht werden. Hierdurch sinkt die Anzahl der analysierbaren Proben für einen in der Laborpraxis zur Verfügung stehenden Zeitraum allerdings derart stark ab, dass eine solche Methode nur in sehr eingeschränktem Maße angewendet werden kann. Darüber hinaus steigt jedoch auch der Untergrund an, so dass die Nachweisgrenze, deren Änderung mit der Integrationszeit nach Gleichung 39 abgeschätzt werden kann,²⁸ sich lediglich um einen Faktor von ca. 30 reduziert.

$$\text{LOD} \approx \frac{1}{\sqrt{t_i}} \quad \text{Gleichung 39}$$

Für die Analyse individueller, μm -großer Objekte besitzt die LA-ICP-QMS gegenüber dem verwendeten TRFA Instrument neben der höheren Nachweisstärke zudem weitere Vorteile. Das zu analysierende Objekt kann direkt im Gerät unter mikroskopischer Beobachtung ausgewählt werden und muss sich nicht im Zentrum eines Probenträgers befinden. Darüber hinaus ist die vom Laserstrahl abgetragene Fläche nur wenig größer als der Objektdurchmesser, während die von der Röntgenstrahlung angeregte Fläche einige mm^2 groß ist. Hierdurch ist ein geringerer Aufwand für die Probenpräparation, vor allem bezogen auf Positionierung und Vereinzelung der zu analysierenden Objekte, notwendig.

V.4.2. Studien zur matrixangepassten Kalibrierung und Störanfälligkeit

Neben der Dosierung von Standardlösungen mit wässriger Matrix wurden auch Untersuchungen zum Einfluss von Matrixzusätzen mittels LA-ICP-MS durchgeführt - sowohl durch Matrixzusatz zur dosierenden Lösung als auch als zusätzlicher Matrixbestandteil des Probenträgermaterials.

Für eine Untersuchung von Matrixzusätzen zu der zu dosierenden Lösung wurde die transferierte Analytmasse durch Verdünnung und Dosierung einer 1 mg L^{-1} Sr-Lösung gegenüber den zuvor diskutierten Rückständen aus 1 g L^{-1} Sr-Lösungen deutlich reduziert. Für die nun um einen Faktor von 1000 reduzierte Analytkonzentration konnten die individuellen transferierten Massen nicht bestimmt werden, da bei der Untersuchung der gesammelten Tropfen von jeweils 500 Dosiervorgängen mittels ICP-MS kein sich vom Untergrund abhebendes Signal beobachtet werden konnte. Darüber hinaus wurde von einer Erhöhung der Anzahl der gesammelten Tropfen abgesehen, da die Dauer der jeweiligen Experimente einen Zeitraum von mehreren Stunden überschritten hätte und hierzu keine Erkenntnisse vorlagen, ob sich eine Dosierung mit einer Frequenz von einem Herz über einen solchen Zeitraum reproduzierbar aufrecht erhalten lässt. Eine Abschätzung des ausgestoßenen Volumens erfolgte anhand der für die gleiche Düse und den gleichen Dosierparametern bei Dosierung einer 1 g L^{-1} Sr Lösung bestimmten Analytmasse und wurde mit $37,5 \text{ pg}$ pro Dosiervorgang ermittelt. Die Rückstände der verdünnten Analytlösungen konnten unter dem Mikroskop nur schwierig identifiziert werden. Da für die LA-ICP-SFMS Experimente ein Kamerasystem mit einer eingeschränkten mikroskopischen Auflösung zur Verfügung stand, erfolgte ein Anfärben der Lösungen – und somit auch den hieraus entstehenden Rückständen - mit dem organischen Farbstoff Bismarck Braun Y in einer Konzentration von 1 g L^{-1} . Aus dieser Lösung wurden mittels pL-Dosiersystems getrocknete Rückstände erzeugt. Zu Vergleichszwecken wurden außerdem getrocknete Rückstände einer Lösung hergestellt, welche jeweils gleiche Analyt- und Farbstoff-Konzentrationen und einen zusätzlichen Zusatz von 10 g L^{-1} NaCl enthielten. Bezogen auf die Gesamtmasse der jeweiligen NaCl-haltigen Rückstände lag die Sr-Konzentration somit bei ca. 90 mg kg^{-1} . Die mikroskopischen Aufnahmen der untersuchten Rückstände sind in Abbildung 48 dargestellt. Zunächst fällt auf, dass die Durchmesser der Rückstände auf den Makrolon-Probenträgern deutlich grösser sind als bei den zuvor diskutierten Rückständen wässriger Standardlösungen. Der Farbstoff bildet bei den Rückständen beider dosierten Lösungen einen gut erkennbaren Rand um eine eingefärbte kreisförmige Fläche. Innerhalb dieser trockneten Analyt und Matrix jedoch nicht wie bei den in Kapitel V.1 und V.2 diskutierten Rückstände mittig ein, sondern an mehreren Orten. In der oberen Reihe ist dies für die verdünnte Analytlösung schwieriger zu erkennen und zeigt sich vor allem im linken Bild bei ca. 600 fg Sr . Im Falle der dosierten NaCl-haltigen Lösung sind die quadratischen NaCl-Kristalle hingegen hierbei eindeutig zu erkennen.

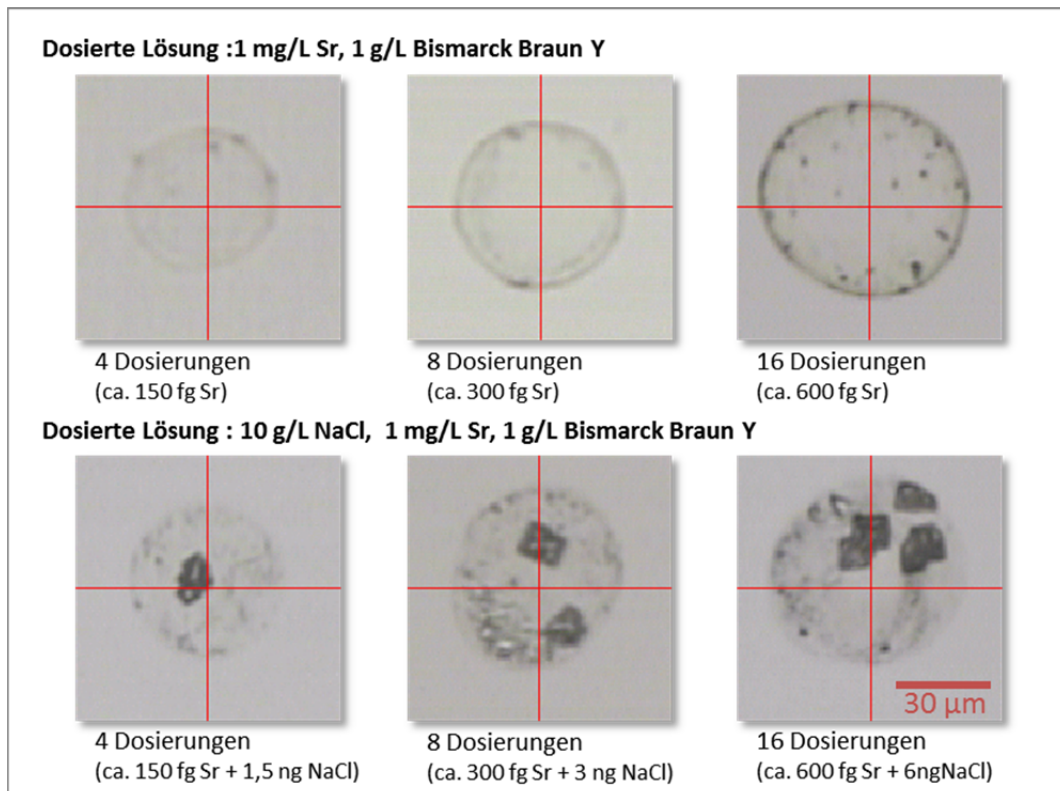


Abbildung 48: Mikroskopische Aufnahmen von farbstoffhaltigen Rückständen. Oben: Rückstände von Analyt und Farbstoff, unten: Rückstände von Analyt, Farbstoff und Natriumchlorid (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $1,8 \mu\text{s}$ 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Die durch den Farbstoff eingefärbten Flächen sind in beiden Fällen von vergleichbarer Größe mit Durchmessern von ca. $50\text{-}80 \mu\text{m}$. Diese liegen innerhalb der Größenordnung, die bei der Dosierung von Einzelementstandardlösungen mit Analytkonzentrationen von jeweils 1 g L^{-1} beobachtet wurden (siehe Kapitel V.2, insbesondere Abbildung 39) sowie den in Kapitel V.3.2 bestimmten maximalen Durchmesser der Einschlagsfläche der Tropfen. Während bei den Rückständen aus eingefärbten, verdünnten Analytlösungen deutlichere dunkle Ringe an der Außenseite der Kreisfläche erkennbar sind, erscheinen bei den NaCl-haltigen Rückständen die Kreisflächen gleichmäßiger eingefärbt.

Bei der Analyse dieser Rückstände mittels LA-ICP-SFMS konnten für beide Kalibrierstandards lineare Kalibrierfunktionen ermittelt werden, bei denen die jeweiligen Empfindlichkeiten von $2100 \pm 60 \text{ cts pro Dosierung}$ (ca. $56 \pm 2 \text{ cts fg}^{-1}$) für angefärbte Rückstände und $2100 \pm 150 \text{ cts pro Dosierung}$ (ca. $56 \pm 4 \text{ cts fg}^{-1}$) für NaCl-haltige und angefärbte Rückstände keinen signifikanten Unterschied aufweisen. Diese gleichgroßen Empfindlichkeiten können zudem als Bestätigung für die Annahme betrachtet werden, dass das ausgestoßene Volumen und damit die transferierte Analytmasse für beide Lösungen gleich groß ist. Basierend auf einer mittleren Standardabweichung des Gasblindwerts von 1981 cts lassen sich für beide Kalibrierfunktionen gemäß Gleichung 14

Nachweisgrenzen von ca. 150 fg berechnen. Der Zusatz von NaCl zur Matrix der zu dosierenden Flüssigkeit hat demnach keinen messbaren Einfluss auf die Nachweisgrenze. Bei diesen Experimenten konnte somit vor allem gezeigt werden, dass sich das entwickelte pL-Dosiersystem zur reproduzierbaren Dosierung von konzentrierten Lösungen eignet und hierdurch die Herstellung von matrixangepassten Kalibrierstandards erlaubt.

Eine weitere Matrix, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit zur Untersuchung von matrixangepassten Kalibrierungen verwendet wurde, war Agarose. Durch Zusatz von Wasser können aus Agarose Gele hergestellt werden, die sich z.B. für die elektrophoretische Auftrennung von Proteinen und Nukleinsäuren eignen. Darüber hinaus wurden dotierte Agarosegele bereits von Stärk et. al mittels LA-ICP-MS untersucht und als Kalibrierstandards für Mono- und Dünnschichten von Zellkulturen vorgeschlagen.²¹² Zur Herstellung kleiner Gelrückstände wurde eine wässrige Lösung mit einem Gehalt von 3 g L^{-1} Agarose mit Volumina von jeweils $1 \mu\text{L}$ auf Makrolon-Träger pipettiert und anschließend bis zum Erstarren getrocknet. Hierbei bilden sich Agarosegel-Rückstände mit Durchmessern von typischerweise $1200 \mu\text{m}$. Bei der Dosierung der Standardlösungen auf diese Gelrückstände bildeten sich Vertiefungen am Auftreffort der Tropfen, die - abhängig von der Anzahl der Dosiervorgänge - Durchmesser von $50\text{-}100 \mu\text{m}$ besitzen und damit in guter Übereinstimmung mit den in V.3.1 bestimmten maximalen Durchmessern der vom Tropfeneinschlag getroffenen Flächen liegen. Diese charakteristischen Veränderungen der Geloberfläche (Gelverformung) sind durch mikroskopische Beobachtung (siehe Abbildung 49) erkennbar. Bei der Fokussierung dieser Veränderungen ließen sich ringartige Strukturen erkennen, deren Durchmesser abhängig von der Bildebene waren, so dass auf eine Eindellung in der Oberfläche geschlossen werden kann. Die Strukturen waren darüber hinaus so charakteristisch, dass ein Zusatz von Farbstoffen zur Positionsfindung nicht notwendig war.

Aufgrund der Dimensionen der sichtbaren Abdrücke im Gel und der Möglichkeit, dass ein Teil der Analytmasse durch Diffusionsprozesse auch außerhalb des erkennbaren Rings migriert, wurde bei den LA- ICP-QMS Messungen ein Laserstrahldurchmesser von $150 \mu\text{m}$ verwendet. Diese Experimente wurden parallel mit Messungen von Rückständen getrockneter Standardlösungen auf Kunststoffoberflächen durchgeführt, deren Ergebnisse in Tabelle 10 zusammengefasst sind und sich daher bezüglich der erhaltenen Empfindlichkeiten und Nachweisgrenzen direkt mit diesen vergleichen lassen. Eine Zusammenfassung der relevanten Daten für Kalibrierfunktionen durch Ablation der Analytrückstände auf Agarosegel ist in Tabelle 11 angegeben.

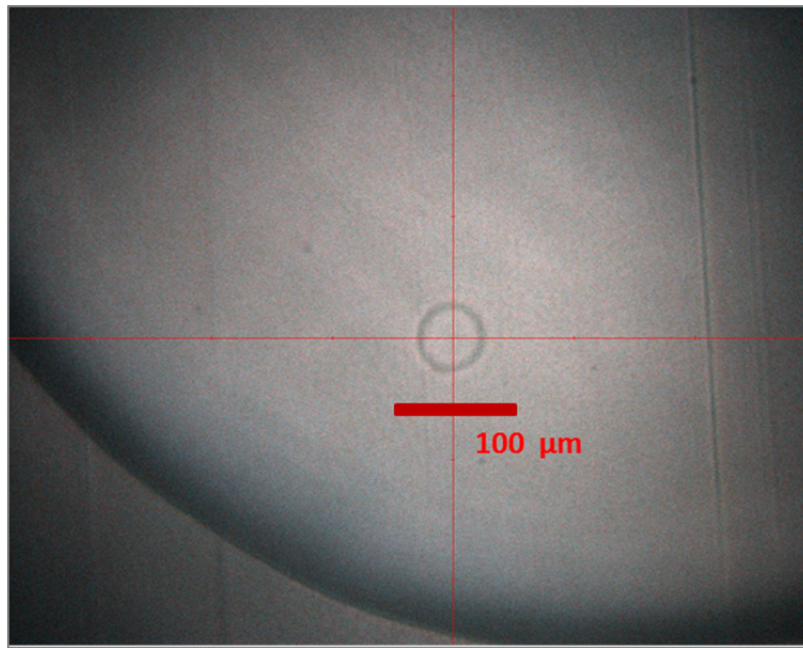


Abbildung 49: Aufnahme eines Rückstandes nach der Dosierung auf ein Agarosegel. Sicht durch die Optik des Laserablationssystems (4 Dosiervorgänge einer 100 mg L^{-1} Multielement Lösung; pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,1 \mu\text{s } 10 \text{ V}$, Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Tabelle 11: Kenngrößen für lineare Kalibrierfunktionen für ausgewählte Elemente, ermittelt anhand der LA-ICP-QMS Analyse von punktuell dotierten Agarosegelen (dosierte Lösung (je 2, 4, 8 Dosiervorgänge) : Analytkonzentration $0,2 \text{ g L}^{-1}$ sowie $0,02 \text{ g L}^{-1}$ [Merck IV und U] sowie jeweils $0,5 \text{ g L}^{-1}$ Y zur Bestimmung der dosierten Masse , pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,0 \mu\text{s } 10 \text{ V}$, Dosierfrequenz: 1 s^{-1})

Element	m/z	LOQ / fg	r^2	RSD (gemittelt) /%	Empfindlichkeit /cts fg ⁻¹	Mittlere Übereinstimmung der Signalintensitäten* / %
Cr	53	72	0,987	9,2	0,9	98
Mn	55	19	0,995	8,9	9,6	95
Co	59	6	0,992	7,7	6,8	92
Ni	60	17	0,994	7,9	1,5	94
Sr	88	42	0,992	20,9	12	101
Pb	208	7	0,993	8,2	9,0	84
U	238	2	0,994	8,3	23	91

*von Analytlösungen, die auf Agarosegele und unbehandelte Makrolon-Träger dosiert wurden (Daten aus Tabelle 10)

Die mittlere Übereinstimmung der gemessenen Bruttosignalintensitäten bei der Ablation von dotierten Gelrückständen und von Rückständen, die auf einer hydrophoben Kunststoffoberfläche eingetrocknet wurden, liegen zwischen 84-101 %, während die ermittelten Empfindlichkeiten Übereinstimmungen zwischen 92-100 % aufweisen. Ein Unterschied ist bei den ermittelten Standardabweichungen zu erkennen: Für die auf Kunststoffoberflächen eingetrockneten Rückstände von Standardlösungen wurden relative Standardabweichungen von 2,8-4,6 % ermittelt, während diese bei den dotierten Gelrückständen bei 7,7-20,9 % lagen. Auch wenn kein signifikanter

Unterschied des Untergrundsignals beobachtet wurde, sind ebenfalls die Standardabweichungen des Signaluntergrunds von gelbasierten Kalibrierstandards gegenüber solchen, die auf Kunststoffoberflächen erzeugt wurden, erhöht, so dass die Nachweisgrenzen von 1-34 fg auf 2-72 fg ansteigen.

Erklären lassen sich diese Beobachtungen durch Unterschiede bei der vollständigen Laserablation. Die hohen Übereinstimmungen der integrierten Bruttosignalintensitäten und der Empfindlichkeiten belegen, dass der Analyt bei der Ablation beider Kalibrierstandards nahezu vollständig abgetragen und dem ICP-MS zugeführt werden kann. Die Verläufe der transienten Signale (Abbildung 50) von getrockneten Rückständen und dotierten Gelrückständen deuten auf ein sehr ähnliches verändertes Ablationsverhalten: Sowohl Signalhöhe, -breite sowie Anstiegs- und Abklingverhalten zeigen große Ähnlichkeiten.

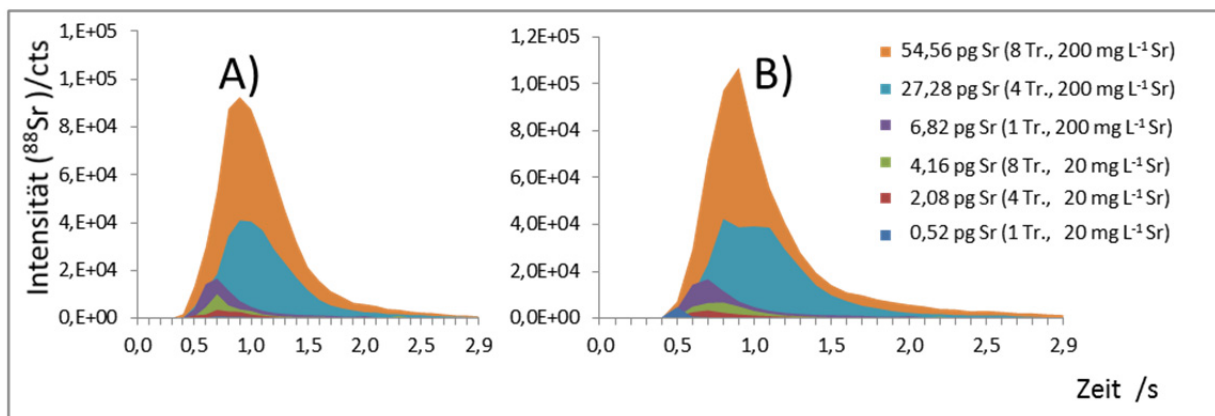


Abbildung 50: Zeitlicher Verlauf der transienten Signale bei der Analyse von A) auf Kunststoffoberflächen erzeugten Rückständen und B) in Agarosegel erzeugten Rückständen mittels LA-ICP-QMS.

Bei Betrachtung der mittleren Übereinstimmungen der Signalintensitäten aus den Analysen von auf Agarosegelen und auf Makrolon-Oberflächen (Tabelle 11) erzeugten Kalibrierstandards zeigt sich allerdings, dass der Mittelwert aller in Tabelle 11 erhaltenen Verhältnisse bei 94 % liegen, und somit eine leichte Tendenz zu geringeren Signalintensitäten für die Analyse von dotierten Agarosegelen mittels LA-ICP-MS erkennbar ist. Beim Vergleich der in Tabelle 10 und Tabelle 11 zusammengestellten Kenngrößen der linearen Kalibrierfunktion, welche auf Kalibrierstandards basieren, die direkt auf Makrolon-Oberflächen bzw. Agarosegelen erzeugt wurden, zeigt sich zudem eine geringere Standardabweichung für die Kalibrierstandards auf den Kunststoffoberflächen, die sich damit erklären lässt, dass hierbei die Rückstände vollständig vom Laserstrahl umschlossen werden. Der konzentrierte Analytrückstand, der sich im Zentrum des Laserstrahls befindet, wird räumlich getrennt vom Trägermaterial ablatiert. Letzteres kann zunächst nur an den nicht vom Rückstand bedeckten Randbereich mit der Laserstrahlung interagieren. Diese Überlegung führt zur Ausbildung einer enger verteilten Analytaerosolwolke, als für gelbasierte Kalibrierstandards, bei welchen dieser Analyt in die

Matrix eindringt und sich unter einer größeren Fläche verteilt. Auch wenn die Analytverteilung in den gelbasierten Kalibrierstandards nicht näher untersucht werden konnte, ist es plausibel, dass je nach Analytverteilung unter dem Einschlagort der Tropfen die äußersten Ränder der dotierten Gelregionen außerhalb des Durchmessers des Laserstrahls liegen, was die Tendenz zu geringeren Empfindlichkeiten erklärt. Darüber hinaus ist der Analyt über ein größeres Probenvolumen verteilt und wird zwingend zusammen mit der Gelmatrix ablatiert. Dies lässt darauf schließen, dass die Analytkonzentration im Zentrum der sich bildenden Aerosolwolke geringer ist, als bei den auf Kunststoffoberflächen erzeugten Kalibrierstandards, und sich die Analytmasse gleichmäßiger über die Wolke verteilt. Eine diffusere Aerosolwolke kann durch Strömungsveränderungen - z.B. entstehende Wirbel in der Kammer - stärker beeinflusst werden, so dass die erhöhten RSD-Werte ihren Ursprung auch in der Probenzuführung besitzen können.

Bei den mikroskopischen Beobachtungen des Ablationsvorgangs der getrockneten Rückstände konnte jedoch eine Limitierung durch unvollständige Ablation wiederholt beobachtet werden. Typischerweise war zu Beginn der Ablation sichtbar, dass während der ersten 1-3 Laserschüsse mit jedem Puls eine Schicht der getrockneten Rückstände abgetragen wurde. Bei großen Rückständen hingegen wurde vereinzelt schon nach dem ersten Beschuss beobachtet, dass sich kein Rückstand mehr im Zentrum des Laserstrahls befand. Die zugehörigen, deutlich niedrigeren Signalintensitäten im Falle dieser beobachtbaren Ereignisse bei der Ablation (Abbildung 51) legen den Schluss nahe, dass die Schockwelle bei der Ablation den Rückstand vom Untergrund ablösen und aus dem Zielbereich schleudern kann und es so zu einer unvollständigen Ablation mit stark eingeschränkter Überführung des Analyten in die Aerosolphase kommt. Während für die unteren 4 Kalibrierpunkte (n=6-7) die relativen Standardabweichungen der aufgenommenen Signalintensitäten aller gemessenen Analyten bei 1-10 % liegen und sich auch 8 von 10 Messungen bei 27,3 pg Pb sowie 10 von 15 Messungen bei 54,6 pg Pb in einer schmalen Verteilung mit relativen Standardabweichungen von 1-6 % befinden, lagen insgesamt 7 von 25 Messergebnisse der zwei obersten Kalibrierpunkte 30-94 % unterhalb der jeweiligen Mittelwerte der zugehörigen Kalibrierlevel.

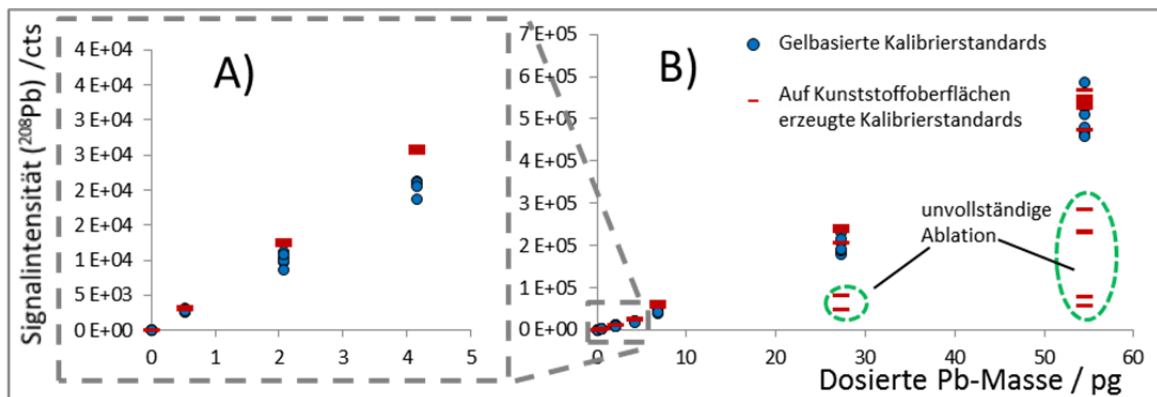


Abbildung 51: Vergleich von Einzelmesswerten für die Ablation von gelbasierten sowie auf Kunststoffoberflächen erzeugten Kalibrierstandards: A) Detailausschnitt 0-5 pg, B) Übersicht aller Messpunkte.

Da bei Untersuchungen mit aus Einzelelementstandards hergestellten Kalibrierstandards keine Hinweise auf die zuvor beschriebene unvollständige Ablation beobachtet wurde (Vergleich V.4), obwohl hier Kalibrierbereiche bis 300 pg Analyt untersucht wurden (siehe Abbildung 46), deutet sich an, dass die Tendenz für dieses Verhalten mit der Gesamtmasse der Rückstände korreliert. Aufgrund nicht näher bekannter anionischer Anteile der Salze (z.B. NO_3^- , Cl^- , OH^- oder O^{2-}) in den Rückständen, die durch die Dosierung einer 24 Elemente enthaltenden Lösung mit je 200 mg L^{-1} sowie Y mit 500 mg L^{-1} hergestellt wurden, konnte keine zugehörige Gesamtmasse der Kalibrierstandards ermittelt werden. Jedoch beträgt allein die Masse der bekannten 25 Elemente in diesen Rückständen 723 pg bzw. 1446 pg .

Auch für gelbasierte Kalibrierstandards konnte eine elementspezifische Limitierung festgestellt werden. Der Mittelwert über alle erhaltenen relativen Standardabweichungen der integrierten Signalintensitäten lag bei 10 % ohne Berücksichtigung der Gel-Leermessungen. Während für die Mehrzahl der Kalibrierpunkte relative Standardabweichungen von 2-13 % ermittelt werden konnten, wurden bei den Sr-Signalen auffällig hohe Werte von 28-42 % für Kalibrierstandards mit weniger als 5 pg Analytmasse ermittelt. Maßgeblich für diese Werte waren jeweils 1-2 Messungen, deren integrierte Signalintensitäten bei 140-230 % des Mittelwerts der übrigen Messungen bei der jeweiligen dosierten Masse lagen und daher auf eine inhomogen verteilte Sr-Konzentration oder eine punktförmige Kontamination des Agarosegels schließen lassen.

Hinweise auf unvollständige Ablation mit steigender Analytmenge konnten bei der Analyse der dotierten Gelrückstände nicht beobachtet werden. Eine plausible Erklärung hierfür ist, dass der Analyt in den Gelen über eine größere Fläche verteilt und durch das Gel besser fixiert ist, als in den

nur auf der Oberfläche anhaftenden getrockneten Rückständen, so dass die Gelrückstände auch bei hohen Analytkonzentrationen vollständig ablatiert werden können. Dieses Erkenntnis motivierte dazu, Rückstände durch Nagellack zu fixieren, indem die Standardlösungen in noch feuchten Nagellack dosiert wurden, wodurch die Lösungstropfen zunächst einsinken und anschließend trocknen. Bei der Probenvorbereitung im Rahmen des bereits diskutierten Vergleichs von Kalibrierungen basierend auf Variation der Analytkonzentration bzw. Tropfenanzahl (Vergleich V.4; insbesondere Abbildung 47), wurde diese Art der Fixierung verwendet und eine mittlere Standardabweichung von 11 % bzw. 16 % erhalten, während die mittlere Standardabweichungen bei der Analyse von nicht fixierten Rückständen typischerweise bei 3-5 % (siehe Tabelle 10) lagen. Hinweise auf unvollständige Ablation wurden bei den Experimenten mit Nagellack als Fixierungsmittel nicht beobachtet. Die Fixierung mit Nagellack führt somit - wie die Fixierung mittels Agarosegel, bei welcher mittleren Standardabweichung von 7-21 % (Tabelle 11) beobachtet wurden - zu einer Erhöhung der Robustheit der Kalibrierung bei gleichzeitiger Verringerung der Präzision.

Eine geeignete Fixierung des Probenmaterials ist somit auch für die Analyse von Realproben und Referenzmaterialien von Bedeutung, so dass diese Diskussion im nachfolgenden Kapitel weitergeführt wird.

V.5. Untersuchungen von Modell- und Realproben: Anwendung und Limitierungen der entwickelten Kalibrierstrategie

Hefezellen

Mit der ausgearbeiteten und vorgestellten Methode zur Erstellung von Kalibrierfunktionen für die LA-ICP-MS und vor dem Hintergrund der eingeschränkten Verfügbarkeit geeigneter homogener und partikelförmiger Referenzmaterialien wurden Untersuchungen an Hefezellen vom Stamm *Saccharomyces ludwigii* durchgeführt. Diese Hefe lässt sich aufgrund ihrer großen Zellen mit einer Länge von 7-15 μm besser als beispielweise die Backhefe *Saccharomyces cerevisiae* mit einer Länge 5-10 μm mit optischen Mikroskopen bei Dosierung und Laserablation identifizieren. Für die untersuchten Zellen lässt sich mit Hilfe einer zylindrischen Näherung der Zellform eine Zellmasse von ca. 50-300 pg abschätzen (Radius: 1,5-2,5 μm , Länge: 7-15 μm , Dichte: ca. 1 g cm⁻³). An die Zelloberflächen dieser Zellen können Metallionen über Biosorption gebunden werden, so dass Zellsuspensionen beispielweise auch zur Festphasenextraktion verwendet werden können.²⁹⁰ Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden für die quantitative Analyse Hefezellen über die Biosorption von Schwermetallen an der Zelloberfläche dotiert. Die hierbei erhaltenen Zusammenhänge zwischen an der Zellwand gebundener Analytmasse und Ausgangskonzentration der Lösung sind in Abbildung 52 dargestellt. Die dargestellten Ergebnisse wurden unmittelbar nach der Biosorption über direkte TRF-Analyse aus je einer Einfachbestimmung von Zellsuspension und Filtrat (max. Partikelgröße < 0,2 μm) ermittelt. Anschließend wurden die Lösungen zunächst bei -20 °C eingefroren. Weitere experimentelle Parameter können Kapitel IV.5.5 entnommen werden.

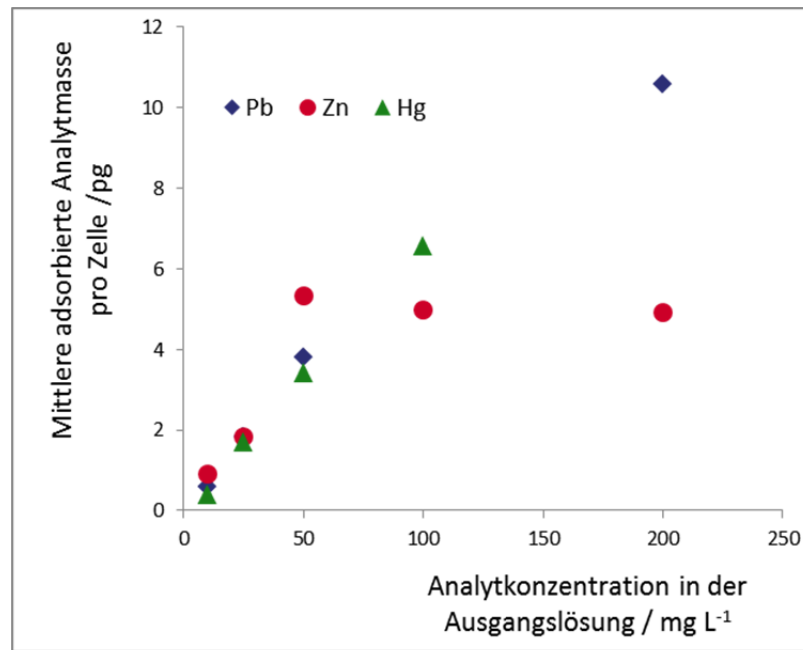


Abbildung 52: Mittels TRFA und Zellzählung ermittelte Biosorption von Zn, Pb und Hg an Hefezellen in Abhängigkeit der Elementkonzentration in der Ausgangslösung.

Für Zn(II) wurde ab 50 mg L^{-1} ($0,79 \text{ mmol L}^{-1}$) eine Stagnation der Biosorption beobachtet, das auf eine Sättigung der Oberfläche hindeutet. Der Verlauf ähnelt den Ergebnissen von Volesky und May-Phillips²⁹¹ für die Biosorption von Zn(II) an Zellen der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*. Bei den Experimenten der hier vorliegenden Arbeit konnten im Falle von Hg(II) bei 200 mg L^{-1} ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) sowie bei Pb(II) bei 100 mg L^{-1} ($0,48 \text{ mmol L}^{-1}$) eine Agglomeration und Ausflockung der Zellen beobachtet werden, welche auch durch mehrstündiges Schütteln nicht redispersiert werden konnten. Für alle drei untersuchten Elemente konnte eine deutliche Analytanreicherung beobachtet werden. Die zugehörigen Konzentrationen bezogen auf die abgeschätzte Zellmasse liegen im Bereich von einigen Massenprozent. Die bestimmten absoluten Analytmassen pro Zelle liegen hierbei im Bereich von einigen Pikogramm und damit in dem bisher diskutierten Arbeitsbereich der entwickelten Kalibrierstrategie für die LA-ICP-MS.

Für LA-ICP-QMS-Experimente wurde die Hefesuspension mit dem höchsten Bleigehalt aufgetaut und redispersiert. Die Zelldichte der eingesetzten Suspension wurde mit $4,6 \cdot 10^9$ Zellen pro Liter bestimmt. Die in Tabelle 12 zusammengestellten Ergebnisse wurden nach dem Auftauen durch weitere direkte TRF- sowie ICP-MS Analysen nach Aufschluss durch Mehrfachbestimmung an Zellsuspension und Filtrat ($<0,2 \mu\text{m}$) ermittelt. Da die nach Auftauen mittels ICP-MS und TRFA ermittelten Analytmassen von 13 ± 2 bzw. $14 \pm 2 \text{ pg Pb}$ pro Zelle (Tabelle 12) und die direkt nach Herstellung mittels TRFA gemessene Analytmassen von 11 pg Pb pro Zelle (Abbildung 52), im Rahmen der Messfehler übereinstimmen, konnte die Stabilität der Suspensionen über die

Aufbewahrungszeit von drei 3 Monaten bei -20°C demonstriert und darüber hinaus die Pb-Konzentration durch zwei unabhängigen Verfahren verifiziert werden.

Tabelle 12: Mittels ICP-MS und TRFA bestimmte Bleikonzentrationen in der für LA-ICP-MS verwendeten Zellsuspension

	Pb-Konzentration in der Zellsuspension / mg L^{-1}	Pb-Konzentration im Filtrat / mg L^{-1}	Errechnete* mittlere Pb-Masse pro Zelle / pg
ICP-MS (n=6)	67 ± 5	$7,7 \pm 0,4$	13 ± 2
TRFA (n=5)	69 ± 5	$4,3 \pm 0,6$	14 ± 2

* Differenz der Pb-Konzentration von Zellsuspension und Filtrat dividiert durch die Zelldichte von $4,6 \cdot 10^9$ Zellen

Bedingt durch die hohe Zelldichte war für die Analyse einzelner Zellen mittels LA-ICP-MS eine Verdünnung der Suspension nötig, die zusammen mit der Immobilisierung erfolgte: $5 \mu\text{L}$ der Zellsuspension wurden mit $800 \mu\text{L}$ Agaroselösung (3 g L^{-1}) gemischt und, analog wie bei den zuvor diskutierten Agarosegel-Rückständen, je $1 \mu\text{L}$ dieser Lösung auf Makrolon-Träger aufgetragen. Die Kalibrierung erfolgte über gelbasierte Kalibrierstandards, bei der Ablation wurde ein Laserstrahldurchmesser von $150 \mu\text{m}$ verwendet. Die Kalibrierstandards wurden durch 1, 4 und 8 DOD-Dosierungen von Standardlösungen mit einer Pb-Konzentration von jeweils 20, 100 und 200 mg/L hergestellt. Je Kalibrierstandard wurden 10-14 Kalibrierpunkte aufgenommen (Kalibrierbereich von $0,6 - 50 \text{ pg Pb}$). Inklusive Blindwert des Agarosegels wurden insgesamt 76 Kalibrierpunkte für die Ermittlung der Kalibrierfunktion verwendet. Die Kalibriergerade und alle Kalibrierpunkte sind in Abbildung 53 dargestellt.

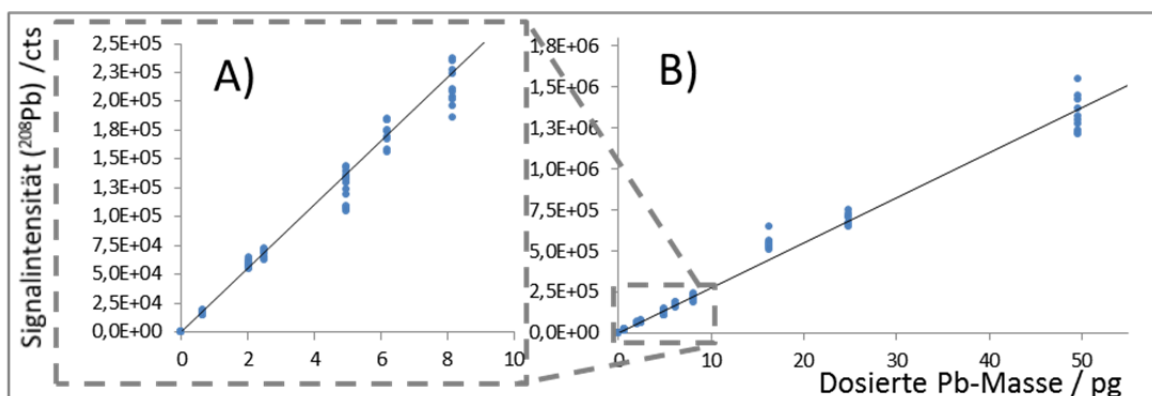


Abbildung 53: Kalibrierfunktion für die LA-ICP-MS-Analyse von einzelnen Hefezelle basierend auf der Ablation von auf Agarosegelen erzeugten Kalibrierstandards: A) Detailausschnitt 0-10 pg, B) Übersicht aller Messpunkte.

Neben der Kalibrierung für die folgenden Ablationen einzelner dotierter Hefezellen diene diese Messreihe auch zur Verifizierung der in Abschnitt V.4 diskutierten Experimente (insbesondere

Abbildung 47 und Abbildung 51). Auch bei dieser Kalibrierreihe konnte eine lineare Korrelation ($r^2=0,9996$ für Regressionsanalyse der mittleren Intensitäten der jeweiligen dosierten Massen) und die Gleichwertigkeit von konzentrationsbasierten und tropfenzahlbasierten Dosierungsstrategie bestätigt werden. Zudem lag die mittlere relative Standardabweichung (RSD=7 %) im erwarteten Bereich.

Mit Hilfe dieser Kalibrierfunktion wurden für die LA-ICP-MS Analyse einzelner Hefezellen die Ergebnisse, die in Tabelle 13 zusammengestellt sind, erhalten. Sie zeigen eine relativ große Spanne zwischen kleinstem und größtem Wert. Die relative Streuung der einzelnen Messwerte liegt hierbei allerdings in einem vergleichbaren Bereich wie bei den LA-ICP-MS Messungen von einzelnen Zellen, die mit Au Nanopartikeln inkubiert wurden.²³⁷ Individuelle Unterschiede der einzelnen Zellen können die Ursache für das Auftreten dieser starken Streuung von absorbierten oder adsorbierten Analytmassen sein. Die tendenziell heterogen erscheinende Analytverteilung ist damit auf eine natürliche Varianz der einzelnen Zellen zurückzuführen.

Tabelle 13: Untersuchung einzelner dotierten Hefezellen mittels LA- ICP-QMS

		Pb Masse /pg				Standard- abweichung
		bestimmt durch Analyse einzelner Zellen				
		Minimaler Wert	Median	Mittelwert	Maximaler Wert	
Laserstrahldurchmesser: 150 µm	Geluntergrund (n=10)	1,1	1,9	2,4	4,9	1,3
	Hefezelle (n=16)	1,3	3,3	6,1	19	5,2
	Nettoanalytmasse (Differenz)	< 0	1,7	3,6	17	-
Laserstrahldurchmesser: 15 µm	Geluntergrund (n=5)	0,02	0,03	0,03	0,05	0,01
	Hefezelle (n=11)	0,34	2,1	3,1	12	3,3
	Nettoanalytmasse (Differenz)	0,29	2,1	3,1	12	-

Die Ergebnisse der LA-ICP-MS Analysen bei Verwendung eines Laserstrahldurchmessers von 150 µm zeigen eine erhöhte Analytmasse in der Gelmatrix abseits der Hefezellen mit durchschnittlich 2,4 pg pro Ablation. Zudem liegen die ermittelten Nettoanalytmassen mit 3,6 pg Pb pro Hefezelle für die einzeln untersuchten Zellen deutlich niedriger als die zuvor ermittelten mittleren Referenzwerte von ca. 13 pg Pb pro Zelle für die Zellsuspension. Dies deutet darauf hin, dass bei der Verdünnung der Hefesuspension eine partielle Resorption der an den Zellen gebundenen Analytmassen stattgefunden hat. Gleichzeitig zeigt sich, dass die Biosorption bei Verdünnung nicht als vollständig reversibler Gleichgewichtsprozess abläuft: Bei den LA-ICP-MS Experimenten wurde eine mittlere Analytmasse von 3,6 pg Pb pro Hefezelle ermittelt, welche gemäß der in Abbildung 52 abgebildeten

Biosorptionskurve bei Konzentration von ca. $50 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}$, verteilt auf Zellen und Agarosematrix, zu erwarten ist. Die durchgeführte Verdünnung von 1:161 führt allerdings zu einer Gesamtkonzentration von ca. $1,2 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}$, verteilt auf Zellen und Agarosematrix. Der an die Zellen gebundene Pb-Gehalt ist nach dem Resorptionsprozess somit höher als es gemäß des charakterisierten Biosorptionsprozesses zu erwarten ist.

Ein weiteres Ergebnis bei der Ablation mit einem Laserstrahldurchmesser von $150 \mu\text{m}$ ist, dass auch wenn die Mittelwerte der bestimmten Analytmassen der Hefezellen gemäß Gleichung 5 und Gleichung 8 signifikant unterscheidbar sind ($k_{\text{max.}}=2,69$), es dennoch eine Überschneidung der bestimmten Konzentrationsbereiche von $1\text{-}5 \text{ pg Pb}$ für den Gelblindwert sowie $1\text{-}19 \text{ pg Pb}$ für die Hefezellen gibt. Von den 16 einzelnen ablatierten Zellen lag hierbei nur für 6 Zellen die bestimmte Pb-Masse oberhalb des maximalen bestimmten Einzelwertes für den Gelblindwert. Allein anhand der bestimmten Pb-Masse besteht jedoch für die übrigen 10 Ablationen einzelner Zellen keine eindeutige Zuordnungsmöglichkeit, ob fixierendes Agarosegels oder eine einzelne fixierte Zellen erfasst und analysiert wurde.

Um eine deutliche Unterscheidbarkeit von dotierten Zellen und umgebenden Gel zu erreichen, ist eine Reduzierung des Blindwertsignals notwendig, welches durch eine Verringerung des ablatierten Gelvolumens und damit des Laserstrahldurchmessers erreicht werden kann. Durch die Reduzierung des Laserstrahldurchmessers auf $15 \mu\text{m}$ konnte der zugehörige Blindwert auf ein vernachlässigbares Maß verringert werden, so dass nun allein anhand der bestimmten Pb-Masse eine eindeutige Unterscheidung zwischen ablatierten Zellen und fixierendem Agarosegel möglich ist. Hierbei stimmen die Signalintensitäten des Gelblindwertes bezogen auf die ablatierte Fläche für beide Laserstrahldurchmesser mit $2\text{-}8 \text{ cts } \mu\text{m}^{-2}$ bei $150 \mu\text{m}$ bzw. $4\text{-}8 \text{ cts } \mu\text{m}^{-2}$ bei $15 \mu\text{m}$ sehr gut überein. Allerdings ist der Laserstrahldurchmesser von $15 \mu\text{m}$ zu gering, um die getrockneten Rückstände der gelbasierten Kalibrierstandards komplett zu erfassen. Daher wurde für die Quantifizierung der gemessenen Signalintensitäten ebenfalls die Kalibrierung verwendet, die bei der Ablation mit einem Laserstrahldurchmesser von $150 \mu\text{m}$ aufgenommen wurde. Die gute Übereinstimmung zwischen den mit einem Laserstrahldurchmesser von $150 \mu\text{m}$ und $15 \mu\text{m}$ bestimmten biosorbierten Nettoanalytmassen zeigt an, dass eine Übertragung der Kalibrierfunktion prinzipiell möglich ist, jedoch zwischen Analysen mit verschiedenen Laserablationsradien bei der Ablation von Agarosegelen weiterführender Untersuchungen bedarf. Falls die Übertragbarkeit in einem breiten Bereich möglich ist, könnte sich ein alternativer Kalibrieransatz ergeben, der auf der vollständigen Ablation von homogen dotierten Gelen mit definierter Schichtdicke bei Verwendung verschiedener Laserstrahldurchmessern basiert. Zudem zeigt es sich, dass die Erzeugung kleinerer Rückstände, die

sich mit einem 15 μm breiten Laserstrahl erfassen lassen für zukünftige Untersuchung von Interesse ist. Alternativ könnte auch - analog zu dem Vorgehen von Do et al.²⁶⁷ - die Komplettablation eines Rückstandes in einem Gel über mehrere Ablationsprozesse entlang eines den gesamten Rückstand abdeckenden Rasters erfolgen und die Integration über das gesamte Analytsignal vorgenommen werden.

Wie in Abbildung 54 zu erkennen ist, ist es mit dem entwickelten pL-Dosiersystem möglich, Lösungen auch gezielt auf die Zellen (Länge 7-15 μm) zu dosieren. Deshalb wurde in einem weiteren Experiment die zur Kalibrierung verwendete Standardlösung auch auf einzelne Hefezellen dosiert. Bei diesen Dosierungen lagen die Hefezellen gut erkennbar innerhalb des Impaktionsabdrucks der dosierten Flüssigkeit im Gel (Durchmesser ca. 50 μm). Die im Gel fixierten Hefezellen konnten zusammen mit den Analytrückständen mit einem Laserstrahldurchmesser von 150 μm ablatiert und der Analyt so einem ICP-MS zugeführt werden.

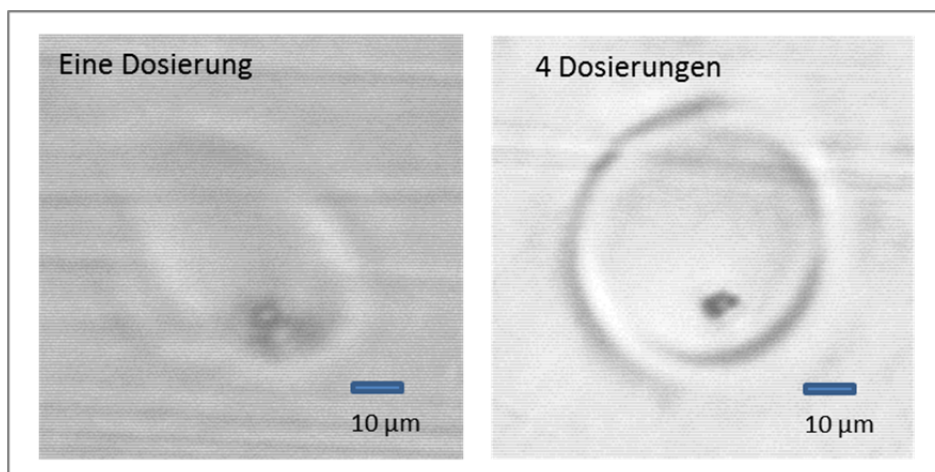


Abbildung 54: Aufnahme eines Rückstands nach der Dosierung auf eine in Agarosegel fixierte Hefezelle (links: 1 Dosiervorgang, rechts: 4 Dosiervorgänge, 200 mg L^{-1} Multielement Lösung; pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: 2,0 μs 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1}).

Wie in Abbildung 55 dargestellt, können die erhaltenen mittleren Signalintensitäten aus der LA-ICP-MS Analyse von mittels DOD-dotierten Hefezellen einer Gerade zugeordnet werden, die oberhalb und nahezu parallel zu der Kalibriergerade verläuft, welche für die mittels DOD-dotierten Agarosegelen bestimmt wurde. Die gemessenen Signaldifferenzen entsprechen hierbei Konzentrationen von ca. 3-7 pg Pb pro Zelle. Dies ermöglicht die orts aufgelöste Bestimmung der Analytmasse über das Verfahren der Standardaddition. Die zugehörige Auswertung liefert ein Resultat von 3,2 pg Pb pro Zelle. Dieses Ergebnis stimmt mit den zuvor ermittelten Nettoanalytmassen (Tabelle 13) überein.

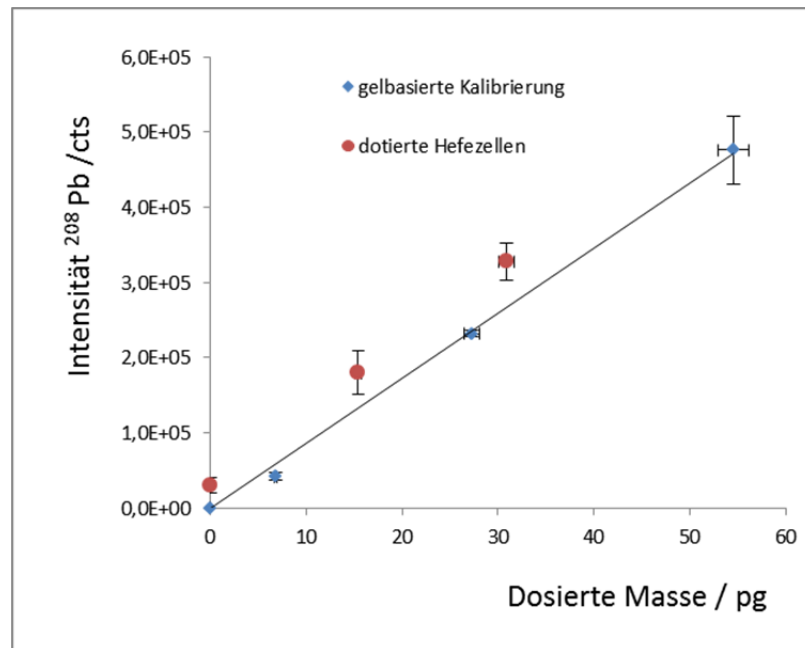


Abbildung 55: Vergleich der Kalibrierfunktion für ²⁰⁸Pb bei der Ablation von gelbasierten Kalibrierstandards und den Intensitäten bei der Standardaddition auf dotierten Hefezellen.

*Gewebeschnitte des Kompostwurms *Eisenia foetida**

Im Rahmen einer Zusammenarbeit innerhalb des Graduiertenkollegs 826: "SPURENANALYTIK VON ELEMENTSPEZIES: METHODENENTWICKLUNG UND ANWENDUNGEN" wurden LA-ICP-QMS-Untersuchungen an Gewebeschnitte des Kompostwurms *Eisenia foetida* durchgeführt,²⁹² deren Ergebnisse im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit diskutiert werden können. Im Fokus stand hierbei eine Untersuchung der qualitativen Quecksilberverteilung. Es ist bekannt, dass Quecksilber überwiegend in Form von Methylquecksilber von *Eisenia foetida* aufgenommen wird und sich im Gewebe im Konzentrationsbereich von 6-86 ng g⁻¹ anreichert.²⁹²⁻²⁹⁴ Im Boden enthaltene anorganische Quecksilberverbindungen werden hierbei durch Mikroorganismen in Methylquecksilber umgewandelt, deren höchste Aktivität im Wurmdarm vermutet wurde. Anstelle einer zeitaufwändigen rasterbasierten Beprobung der Dünnschnitte wurden unterschiedliche Gewebetypen in verschiedenen Abständen vom zentralen Darmtrakt gezielt mittels Laserablation mit einem Laserstrahldurchmesser von 50 µm beprobt. Aufgrund der geringen Schichtdicken der Dünnschnitte von 18 µm konnte an diesen ausgewählten Stellen das Gewebe vollständig abgetragen werden. Bei der Ablation der Gewebeschnitte von Würmern, die in Hg-dotierter Erde inkubiert wurden, wurden transiente LA-ICP-MS Signale des Isotops ²⁰²Hg aufgenommen (Abbildung 56), die einen ähnlichen Verlauf aufweisen, wie solche die bei der Analyse von getrockneten Rückständen aus Standardlösungen erhalten wurden (Abbildung 50).

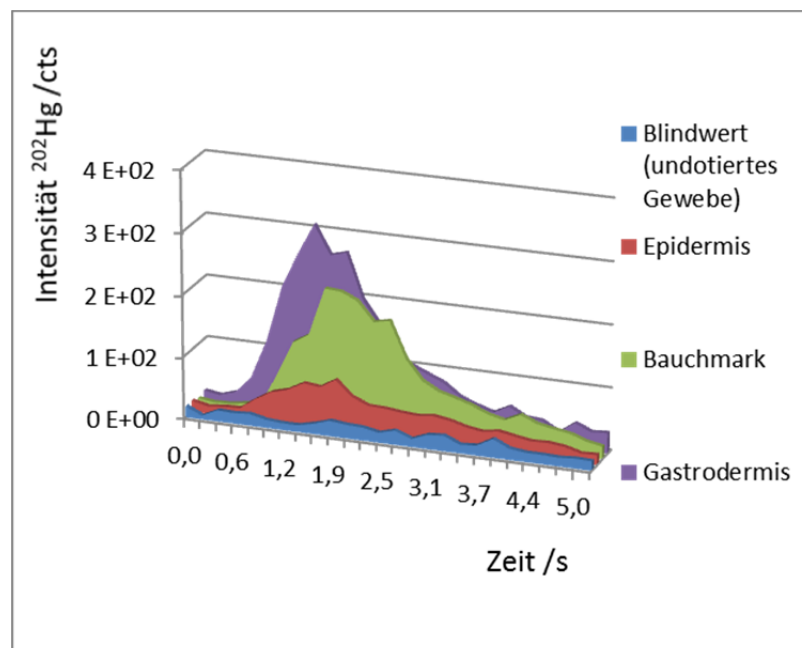


Abbildung 56: Verlauf der transienten Signale für ²⁰²Hg bei der LA-ICP-QMS Analyse von Gewebeschnitten des Wurms *Eisenia foetida*.

Demgegenüber konnten bei der Ablation von Wurmdünnschnitten, die keiner erhöhten Hg-Konzentration ausgesetzt waren, lediglich transiente Signale beobachtet werden, die sich nicht vom Gasblindwert unterscheiden lassen. Des Weiteren ergeben sich bei wiederholter Analyse für die jeweiligen Gewebetypen - im Rahmen der Erwartungen an biologische Proben - sehr reproduzierbare integrierte Signalintensitäten mit einer mittleren relativen Standardabweichung von 21 % (Abbildung 57).

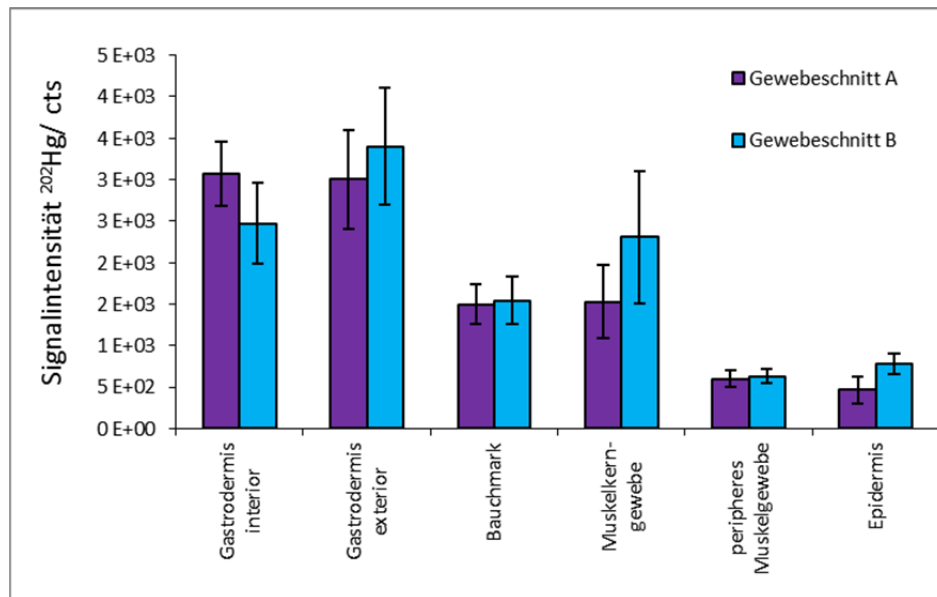


Abbildung 57: Mittlere Nettointensitäten für ^{202}Hg bei LA-ICP-QMS-Messungen an verschiedenen Kompartimente in zwei Gewebeschnitten des Wurms *Eisenia foetida*

Da bei der Ablation das Gewebe vollständig bis auf das Trägermaterial abgetragen wurde, ergibt sich unter der Annahme einer gleichmäßigen Dicke der Dünnschnitte ein konstantes abgetragenes Volumen und bei Vernachlässigung von Dichteunterschieden der verschiedenen Zellgewebe somit eine konstante ablatierte Masse. Unter diesen Annahmen sind die ermittelten Signalintensitäten für ^{202}Hg proportional zur zugehörigen Quecksilberkonzentration am jeweiligen Beprobungsort. Die Gewebetypen lassen sich so in drei Gruppen unterschiedlicher Hg-Belastungen einteilen: Die höchsten Hg-Konzentration ist für die beiden Gastrodermisgewebe zu erwarten, während das Bauchmark und das Muskelkerngewebe eine geringere Hg-Anreicherung aufweisen und die Epidermis und das periphere Muskelgewebe nur schwach belastet sind. Die Berücksichtigung der räumlichen Lage der verschiedenen Gewebearten (Abbildung 58) lässt auf einen Hg-Konzentrationsgradient vom zentralen Darmgewebe zur Peripherie schließen. Diese Messergebnisse unterstützen die Theorie, dass Methylquecksilber im Darm gebildet und von dort in das Wurmgewebe aufgenommen wird, während eine Aufnahme über die Epidermis als eine zu vernachlässigende Route erscheint.

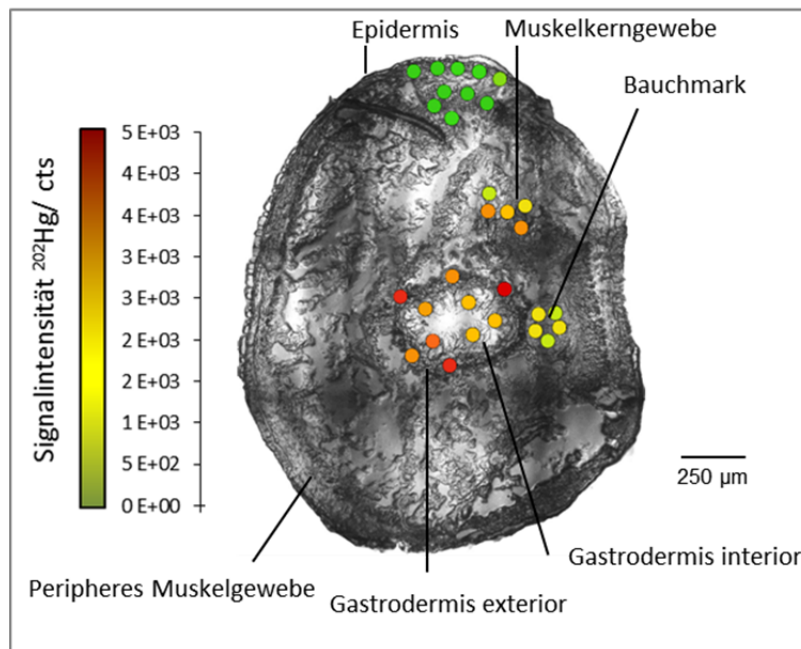


Abbildung 58: Histologischer Querschnitt von *Eisenia foetida* mit entsprechend der gemessenen Signalintensität eingefärbten Ablationspositionen.

Die Messdaten lassen sich mit den zuvor diskutierten Ergebnissen bei LA-ICP-MS-Untersuchungen an getrockneten Rückständen von Standardlösungen vergleichen, und zwar sowohl hinsichtlich des Verlaufs der transienten Signale als auch der für biologische Proben sehr reproduzierbaren integrierten Signalintensitäten. Dies deutet darauf hin, dass auch eine quantitative Analyse von Gewebedünnschnitten über den vollständigen Abtrag von Gewebe an ausgewählten Punkten mit der in den Kapiteln V.3 und V.4 diskutierten Kalibrierstrategie realisiert werden könnte. Weiterführende Untersuchungen zur Verifizierung dieser Überlegung können z.B. durch die Analyse von Dünnschnitten mit homogener Elementverteilung erfolgen, die zuvor durch eine unabhängige Methode ermittelt werden muss. Als mögliche Modellsubstanz könnten zudem dotierte Gele verwendet werden.

NIST 610 und MACS-1 Partikel

Da NIST-Gläser als äußerst homogene Standardreferenzmaterialien bekannt sind und für die Kalibrierung in der LA-ICP-MS häufig verwendet werden,²⁰² wurden auch im Rahmen dieser Arbeit Untersuchungen mit einem solchen Referenzmaterial durchgeführt. Zur weiteren Untersuchung wurde eine NIST 610-Glas Scheibe gemahlen. Gemäß Partikelgrößenbestimmung mittels Laserstreuung wurden Partikel mit einem Durchmesser zwischen ca. 2 und 200 µm erhalten (geometrischer Mittelwert 26,5 µm). Insgesamt 30 Partikel wurden nach Immobilisierung durch Aufstreuung auf doppelseitiges Klebeband (7 Partikel), Sekundenkleber (10 Partikel) sowie Einbettung in Agarosegele (8 Partikel) oder Kollodium (5 Partikel) ablatiert. Hierbei wurden unter mikroskopischer Beobachtung ellipsoide Partikel mit Durchmessern von ca. 5-50 µm ausgewählt. Aus der bestimmten langen und kurzen Halbachsen wurden unter der Annahme, dass die kurze Halbachse auch die nicht beobachtbare Tiefe der Partikel repräsentiert, das Partikelvolumen näherungsweise berechnet. Unter Verwendung einer Dichte von $2,65 \text{ g cm}^{-3}$,²⁹⁵ wurden Gesamtmassen mit ca. zwischen 1 und 50 ng pro Partikel berechnet und hieraus mit Hilfe der jeweiligen zertifizierten Elementkonzentrationen Massen von ca. 1 bis 25 pg Analyt pro Partikel (u.a. für Cr, Co, Mn, Ni, Pb und U). Zudem wurden getrocknete Rückstände von mittels DOD dosierten Standardlösungen mit Analytmassen von ca. 7, 27 und 55 pg pro Analyt mit LA-ICP-MS untersucht.

Für die Fixierungen durch Agarosegel und Kollodium konnte beobachtet werden, dass das umgebende Material innerhalb von 1-2 Schüssen vollständig abgetragen wurde und die resistenteren Glaspartikel anschließend von der Schockwelle aus dem Sichtfeld transportiert wurden. Doppelseitiges Klebeband erschien stärker zu fixieren, allerdings wurde auch hier eine unvollständige Ablation beobachtet. Von der Beobachtung des Ablationsvorgangs erschien die Immobilisierung durch Sekundenkleber am vielversprechendsten, da die Partikel offenbar während des gesamten Ablationsprozesses fixiert wurden. Allerdings konnten bei der Analyse für keine Immobilisierungsart von NIST 610-Partikeln transiente Signale mit vergleichbarer Form erhalten werden, wie sie für die getrockneten Rückstände von Standardlösungen oder dotierten Gelen beobachtet wurden. Vielmehr wurden vom ICP-MS überwiegend vereinzelte Signale erfasst (Abbildung 59).

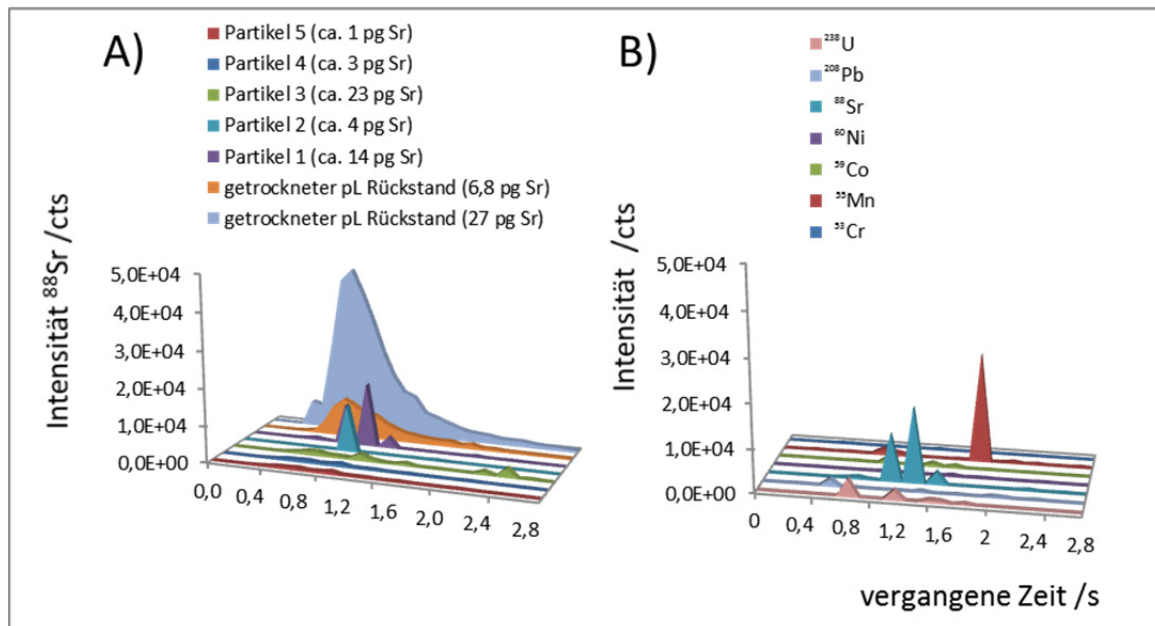


Abbildung 59: Verlauf der transienten Signale bei der LA-ICP-QMS Analyse von NIST 610-Partikeln:

A) ^{88}Sr -Signale für fünf verschiedene Partikel und mittels DOD hergestellte Kalibrierstandards; in Klammern: die berechnete Analytmasse, B) Signale ausgewählter Isotope für Partikel 1.

Aus Darstellungsgründen werden die vereinzelt Signale in Abbildung 59 als lineare Interpolationen zwischen Basis und Spitze dargestellt, von denen jedoch nur für die Werte an der Spitze und der Basis tatsächliche Messpunkte real gemessen wurden. Die Länge und Form dieser vereinzelt Signale ist unbekannt, da diese mit der verwendeten Messfrequenz (10 Hz) nicht zeitlich detailliert aufgelöst werden können. Sowohl bei dem in Abbildung 59 A dargestellten Vergleich der ^{88}Sr -Signale bei der Ablation verschiedener Partikel als auch für die in Abbildung 59 B abgebildeten Signale ausgewählter Isotope (^{53}Cr bis ^{238}U) bei der Ablation einzelner Partikel, sind keine charakteristischen transienten Profile, wie bei der Analyse von aus Standardlösungen erzeugten Kalibrierstandards, erkennbar. Dennoch erscheinen die einzelnen Messsignale in einem ähnlichen Zeitintervall (ca. 2 s), wie im Falle der Analyse der aus Standardlösungen hergestellten Kalibrierstandards. Auch wenn die Analytmassen der bei der Ablation vollständig abgetragenen Partikel in einem ähnlichen Bereich liegen wie die der hergestellten Kalibrierstandards, liegen die beobachteten maximalen Signalintensitäten zum Großteil deutlich unterhalb des erwarteten Bereichs. Die erhaltenen Signale zeigen in der Signalthöhe zudem keine erkennbare Abhängigkeit von der berechneten Analytmasse. Dies deutet darauf hin, dass nur sehr wenige Partikel bei der Ablation erzeugt werden, welche das Plasma einzeln erreichen. Die geringen Intensitäten lassen darauf schließen, dass bei der Ablation der Partikel überwiegend große Aerosolpartikel gebildet werden, welche durch Sedimentation in der Kammer oder auf dem Transportweg nicht dem Spektrometer zugeführt werden können oder beim vereinzelt Eintrag eine unvollständige Verdampfung, Atomisierung und Ionisierung im Plasma erfahren. Bedingt durch

die geringe Messfrequenz kann pro in das ICP eingetragenen Partikel nur das Isotop detektiert werden, das zum Zeitpunkt des Ereignisses im Messzyklus erfasst wird. Aus diesen Gründen ist eine weiterführende Auswertung der erhaltenen Daten – und insbesondere eine Verwendung von getrockneten pL-Rückständen als Kalibrierstandards – nicht zweckmäßig.

Auch für die Ablation eines synthetischen Calciumcarbonat Referenzmaterials (USGS MACS-1, Pulver) wurden ähnliche nicht adäquat quantifizierbare Signalverläufe für ^{88}Sr und ^{208}Pb erhalten. Die Partikel wurden für diese Messungen wie die NIST 610 Partikel mit Sekundenkleber und Nagellack immobilisiert (18 Partikel, Durchmesser ca. 5-100 μm). Die Beobachtungen bei der Analyse dieser beiden Referenzmaterialien lassen darauf schließen, dass glasartige bzw. mineralische, anorganische Materialien, wie sie in geologischen Proben häufig vorliegen, ohne eine grundlegende Weiterentwicklung der Probenvorbereitung und Anpassung der Ablationsbedingungen nicht mit der entwickelten Kalibrierstrategie quantifiziert werden können. Um dies zu ermöglichen müsste daher zunächst ein Verfahren entwickelt werden, dass eine vollständige bzw. vergleichbare Überführung der ablatierten Partikelmasse in ein Aerosol sicherstellt, wie es bei den getrockneten Rückständen der Fall ist. Eine zentrale Rolle sollte daher die Charakterisierung der Größenverteilung des bei Laserablation gebildeten Aerosols einnehmen.

BCR 723 Partikel

Ein weiteres zertifiziertes Referenzmaterial welches in einer weiteren Studie untersucht wurde ist "Straßenstaub" BCR 723 (IRMM, Belgien). Im Gegensatz zu den zuvor diskutierten Referenzmaterialien ist dieses Material - sei es Rahmen der Zertifizierung oder im Rahmen publizierter wissenschaftlicher Studien - für die Mikroanalyse nicht ausreichend charakterisiert. Die Immobilisierung der BCR 723-Partikel erfolgte ebenfalls durch Nagellack. Auch die Kalibrierstandards wurden durch pL-Dosierung von Standardlösung in frischen Nagellack dosiert hergestellt (1, 2, 3, 5, 8 und 10 pg Analyt pro Rückstand, insgesamt 45 Kalibrierpunkte). Die erhaltenen Signalintensitäten sind für Sr in Abbildung 47 dargestellt und werden in Kapitel V.4 im Zusammenhang mit dem Vergleich von konzentrations- und tropfenzahlbasierter Dosierungsstrategie diskutiert. Die bei der LA-ICP-MS Analyse dieser Partikel mit einem Laserstrahldurchmesser von 75 µm gemessenen Intensitäten wiesen einen Signalverlauf auf, der den in Abbildung 50 gezeigten transienten Signalen entspricht. Von jedem Partikel wurde vor der Ablation eine mikroskopische Aufnahme gemacht, die manuell ausgemessen wurde. Aufgrund einer fehlerhaften Längskalibrierung der Kamera des Ablationssystems wurde bei der Auswertung ein Laserablationskrater zur Rekalibrierung verwendet. Das Volumen der Partikel wurde als Ellipsoidvolumen aus der gemessenen großen und kleinen Halbachse der beobachteten Partikelprojektion berechnet. Hierbei wurde anstelle der aus den Bildern nicht zugänglichen Tiefeninformation näherungsweise die ermittelte kleine Halbachse des Ellipsoids verwendet. Die Dichte von $2,338 \text{ g cm}^{-3}$ für die Massenberechnung wurde dem Zertifizierungsbericht entnommen.²⁹⁶ Insgesamt wurden 35 Partikel untersucht. Die Achsen der Partikel lagen zwischen 3,6 µm und 57,3 µm, der mittlere Durchmesser aller Partikel bei 15,5 µm. Der ermittelte Durchmesser liegt damit in guter Übereinstimmung mit den für die Zertifizierung²⁹⁶ mittels Laserdiffraktometrie ermittelten Werten von 15,7 µm (Ethanol) bzw. 18,6 µm (Wasser).

Die ermittelten Analytmassen und Partikelmassen, die in Abbildung 60 gegeneinander aufgetragen wurden, zeigen jedoch keine signifikante Korrelation zueinander (m_{ges} vs. m_{pb} : $R^2=0,0009$, m_{ges} vs. m_{sr} : $R^2=0,0006$). Hieraus lässt sich schließen, dass die Analyten in den Partikeln sehr heterogen verteilt vorliegen. Daher ist auch eine direkte Vergleichbarkeit der individuellen berechneten Analytkonzentration der einzelnen Partikel mit denen auf der zertifizierten mittleren Konzentration in einer Mindestprobenmenge von 100 mg des CRMs nicht aussagekräftig.

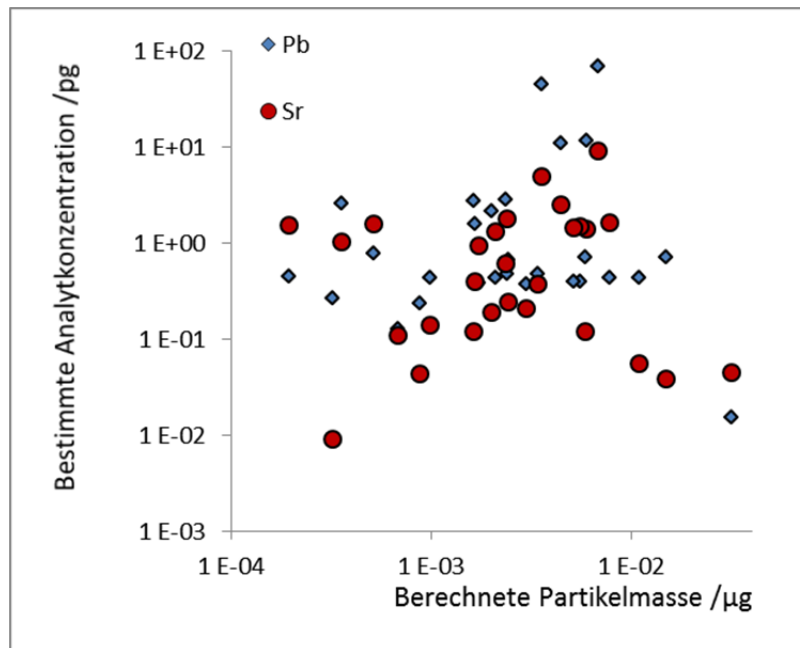


Abbildung 60: Darstellung der ermittelten Analytkonzentration in Abhängigkeit von der berechneten Partikelmasse für 35 BCR-723 Partikel.

Aus dem Quotienten der jeweils aufsummierten 35 Analyt- und 35 Partikelmassen lässt sich für beide Elemente jeweils eine Konzentration ermitteln, die den angegebenen Werten recht nahekommen. Da die auf diese Weise berechneten Konzentrationen für Sr und Pb jeweils alle verfügbaren Messdaten beinhalten, ist allerdings keine Ermittlung der Standardabweichung und somit keine statistische Fehlerabschätzung möglich. Für Strontium wurde eine Konzentration von 259 mg kg^{-1} ermittelt, was gegenüber dem Referenzwert von $254 \pm 19 \text{ mg kg}^{-1}$ einer Wiederfindung von 102 % entspricht und somit eine ausgezeichnete Übereinstimmung darstellt. Für Blei wurde eine Konzentration von 1216 mg kg^{-1} ermittelt, die bei 140 % des Referenzwertes von $866 \pm 16 \text{ mg kg}^{-1}$ liegt. Der maximal mögliche Fehler dieser Messungen lässt sich aufgrund der Näherung zur Berechnung des Partikelvolumens, Unsicherheiten bei der Längskalibrierung der Kamera sowie der hohen Streuung der Einzelmesswerte schwer abschätzen. Allein bei der Berechnung des Partikelvolumens zeigte sich beispielweise eine Diskrepanz von 56 % zwischen der verwendeten ellipsoiden Näherung und einer alternativen Berechnung unter der Annahme einer Kugel, deren Radius über einen flächenäquivalenten Kreis aus der beobachteten Fläche der Partikel berechnet wurde.

Die diskutierten Ergebnisse deuten eine prinzipielle Eignung der entwickelten Kalibrierstrategie für die Analyse von Einzelpartikeln an, verdeutlichen aber auch eine der größten Problematiken bei der Verwendung der Laserablation: die geringe Mikrohomogenität vieler Referenzmaterialien. Das untersuchte Material BCR 723 wurde für eine minimal eingesetzte Probenmenge von 100 mg nur für

Pd, Pt, Rh regulär zertifiziert. Die Konzentrationen dieser Elemente liegen allerdings weit unterhalb des im Rahmen der vorliegenden Arbeit mittels LA-ICP-MS untersuchten Analytbereichs. Die Konzentrationen der untersuchten Elemente Sr und Pb werden im Zertifikat informativ angegeben. Da bei der Ablation von 35 Partikeln insgesamt lediglich ca. 130 ng des CRMs ablatiert wurden, ist eine statistische Belastbarkeit der ermittelten Wiederfindungen zusätzlich eingeschränkt. Eine Erhöhung der dem Analyseresultat zugrundeliegenden Partikelmasse auf die im Zertifikat geforderten 100 mg Einwaage lässt sich in der Praxis jedoch nicht realisieren. Für das untersuchte Material wäre eine Analyse von ca. $8 \cdot 10^5$ Partikeln erforderlich, wofür eine reine Analysezeit von etwa 6000 Stunden erforderlich ist.

Abschnitt VI Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte ein auf dem thermischen Tintenstrahldruckverfahren basierendes neuartiges pL-Dosiersystem entwickelt werden, mit dem Lösungen gezielt auf ausgewählte Positionen auf verschiedene Oberflächen dosiert werden können. Die Dosiereinheit dieses Systems kann mit geringem Aufwand und wenigen technischen Hilfsmitteln aus einer kommerziell erhältlichen Tintenstrahldruckerpatrone (Typ HP 45) hergestellt werden. Die zu dosierende Flüssigkeit lässt sich direkt mit einer Pipette in diese Dosiereinheit einbringen. Einen selbstentwickelten Mikrokontroller in Verbindung mit einer Computerschnittstelle steuert den Dosiervorgang und erlaubt es, die Dauer des elektrischen Heizimpulses, die Pausendauer zwischen zwei Dosiervorgängen sowie die elektrische Spannung einzustellen.

Die Dosierung erfolgt auf feste Trägermaterialien, die auf einem x,y,z-Verschiebetisch positioniert werden können, während der Dosiervorgang mittels einer Mikroskopkamera beobachtet werden kann. Nach der Dosierung von Standardlösungen auf hydrophobe Oberflächen konnten getrocknete Analytrückstände mit Durchmessern von wenigen μm erhalten werden. Diese Dosiereinheit erlaubt einen reproduzierbaren Analytmassentransfer mit einer relativen Standardabweichung von maximal 3,5 %. Dabei wurde festgestellt, dass Verdunstungseffekte an den Düsenöffnungen zu einer starken Aufkonzentrierung der zu dosierenden Lösung führen. Flüchtige Komponenten verdunsten durch die Düsenöffnungen vor Beginn und zwischen den Dosierereignissen gefolgt von einem Nachfluss der zu dosierenden Lösung in die Düsenkammer. Hierdurch ergibt sich eine Abhängigkeit der transferierten Masse von der umgebenden Luftfeuchtigkeit und der Zeitdauer zwischen zwei Dosierereignissen. Um diesen Effekt zu kontrollieren und zu minimieren, wurde ein Dosierinterface entwickelt, welches unterhalb der Düsen der Dosiereinheit angebracht wurde und eine Kontrolle der Gasfeuchtigkeit ermöglicht. In diesem Interface ist eine Verschlussblende integriert, die zu Beginn des Dosiervorgangs geschlossen werden kann, um eine vereinfachte Abscheidung der ersten ausgestoßenen Tropfen vor der Dosierung auf die geschlossene Blende zu ermöglichen und damit eine reproduzierbare Einstellung des Verdunstungsgleichgewichts zu erlauben.

Abhängig von der dosierten Lösung und den verwendeten elektrischen Dosierparametern konnten ausgestoßene Gesamtvolumen von 30-40 pL pro Dosiervorgang bestimmt werden. Dieses Ergebnis wurde sowohl durch Interpolation von transferierten Massen bei verschiedenen Pausendauern zwischen zwei Dosierereignissen mit unterschiedlichen Gasfeuchtigkeiten (trocken und feuchtigkeitsgesättigt) als auch mittels mikroskopischer Untersuchung ermittelt. Dieses

Gesamtvolumen verteilt sich auf einen Tropfenstrahl mit ca. 2 bis 5 Tropfen, wobei sich 99 % des ausgestoßenen Volumens auf zwei Tropfen verteilt. Durch Berechnung der Flugbahnen dieser Tropfen konnte gezeigt werden, dass deren mittlerer Einschlagsradius nach einer Flugdistanz von vorhandenen 14 mm bei 56-122 μm liegt.

Mit dem entwickelten pL-Dosiersystem konnten durch Dosierung von Standardlösungen auf hydrophobe Oberflächen und anschließender Trocknung Kalibrierstandards mit Durchmessern von 12-50 μm und einer Höhe von ca. 1 μm für die TRFA und die orts aufgelöste LA-ICP-MS-Analyse hergestellt werden. Bei der Laserablation lassen sich die Rückstände mit Laserstrahldurchmessern von 50-200 μm vollständig abtragen und ermöglichen Untersuchungen auf minimaler Fläche. Mittels eines an die Laserablation gekoppelten ICP-MS konnten kurze transiente Signalverläufe detektiert und zu Gesamtsignalintensitäten integriert werden. Sowohl für die TRFA als auch für die ICP-MS-Analyse konnten lineare Kalibrierfunktionen mit mittleren relativen Standardabweichungen von 2-15 % ermittelt werden. Bei Untersuchungen von Kalibrierfunktionen von 13 verschiedenen Elementen für die TRFA und 7 für die LA-ICP-MS konnten keine Hinweise auf elementabhängige Limitierungen des Dosiersystems beobachtet werden.

Zudem konnte gezeigt werden, dass sich Intensitäten von Kalibrierstandards, die durch einzelne Dosiervorgänge von Standardlösungen unterschiedlicher Konzentration sowie Kalibrierstandards, die durch Variation der Anzahl der Dosiervorgänge aus einer einzelnen Lösung hergestellt wurden, einer gemeinsamen Kalibrierfunktion zuordnen lassen. Am Beispiel der Dosierung einer Sr-dotierten 1 %igen NaCl-Lösung konnte demonstriert werden, dass sich das System darüber hinaus zur Herstellung von matrixangepassten Kalibrierstandards eignet. Außerdem kann eine Herstellung von Kalibrierstandards auch auf Materialien erfolgen, die keine hydrophoben Oberflächen aufweisen. Durch die Dosierung von Standardlösungen auf Agarosegele wurden diese Gele auf einer kreisförmigen Fläche mit Durchmessern von 50-100 μm mit einer bekannten Analytmasse dotiert, wobei das darunterliegende Volumen mittels Laserablation vollständig abgetragen werden konnte. Hierbei konnten transiente Signalverläufe mittels ICP-MS erfasst werden, die einen sehr ähnlichen Verlauf aufweisen wie bei Kalibrierstandards, die aus eingetrockneten Rückständen von Standardlösungen bestehen, die in pL-Volumina auf hydrophobe Oberflächen dosiert wurden. Die Übereinstimmung der ermittelten Signalintensitäten von parallel hergestellten Kalibrierstandards auf Agarosegelen und Makrolon-Oberflächen liegen bei 84-101 %. Die mittlere relative Standardabweichung liegt mit 3,9 % bei Analyse von Analytmassen auf der Kunststoffoberfläche deutlich geringer als die ermittelten 10 % bei gelbasierten Kalibrierstandards. Für beide Arten von Kalibrierstandards konnten lineare Kalibrierfunktionen für LA-ICP-MS mit vergleichbarer

Empfindlichkeit und Nachweisgrenzen von 1-34 fg für Kalibrierstandards auf Makrolon und 2-72 fg auf Agarosegelen ermittelt werden. Diese Unterschiede sind möglicherweise auf eine Verteilung der Analytmasse in den Agarosegelen auf ein größeres Probenvolumen zurückzuführen. Hierbei nimmt das Verhältnis aus der Fläche, unter der sich die Analytmasse befindet, und dem Laserstrahldurchmesser zu. Darüber hinaus ist es möglich, dass im Falle der Gele ein geringer Teil des Analyten in einem Bereich außerhalb des bei der Ablation abgetragenen Probenvolumens diffundiert. Zudem kann bei der Ablation eine Vermischung von Aerosol aus Matrix und dosierter Analytmasse auftreten, wodurch möglicherweise bei der Ablation eine bezogen auf den Analyten diffusere Aerosolwolke entsteht.

Bei der Untersuchung von Kalibrierstandards, die auf Kunststoffoberflächen erzeugt wurden, konnte eine Limitierung für die Anwendbarkeit der hiermit verknüpften Kalibrierstrategie beobachtet werden. Rückstände mit Gesamtanalytmassen von mehreren hundert pg können durch die Schockwelle bei der Ablation schon nach dem ersten Laserbeschuss von hydrophoben Oberflächen abgelöst und aus dem Beprobungsbereich geschleudert werden, so dass eine unvollständige Ablation mit signifikant niedrigeren Signalintensitäten erfolgt. Dieses Problem kann jedoch durch eine Fixierung mittels Dosierung der Standardlösungen auf eine fixierende Matrix, z.B. Agarosegele oder noch nicht getrockneten Nagellack, kompensiert werden. Die Ablation der untersuchten fixierten Kalibrierstandards führt jedoch zu einer Erhöhung der ermittelten Standardabweichungen und birgt zudem ein Risiko zu erhöhten Untergrundsignalen oder inhomogener Kontamination aus dem fixierenden Material.

Auch Modell-, Realproben und Referenzmaterialien ließen sich in Agarosegelen oder Nagellack fixieren und mittels LA-ICP-MS untersuchen. Hefezellen von *Saccharomyces ludwigii* wurden über Biosorption mit verschiedenen Analyten dotiert und dienten als Modellprobe zur Untersuchung von einzelnen μm -großen Objekten. Bei der Analyse von einzelnen Zellen mittels LA-ICP-MS konnten transiente Signale erhalten werden, deren Signalverlauf dem der Kalibrierstandards stark ähnelt. Bei diesem Probenotyp konnte festgestellt werden, dass diese Zellen durch Agarosegele zwar ausreichend fixiert wurden, jedoch die Gleichgewichtsverteilung von biosorbiertem Analyt auf der Zelloberfläche und Analyt im Gel zur Erhöhung des Untergrundsignals führt und so eine Unterscheidbarkeit zwischen Signalintensitäten hervorgerufen durch die Gelmatrix und die Zellen limitieren. Diese Einschränkung kann jedoch durch Verringerung des Laserstrahldurchmessers reduziert werden. Neben der Herstellung von Kalibrierstandards für die externe Kalibrierung konnte mit dem entwickelten pL-Dosiersystem durch direkte Dosierung von Analytlösungen auf Hefezellen eine Quantifizierung durch Standardaddition mittels LA-ICP-MS durchgeführt werden, deren Ergebnis mit

dem Mittelwert aus den Bestimmungen externer Kalibrierung gut übereinstimmt. Zudem konnten Beobachtungen gemacht werden, die darauf schließen lassen, dass sich mittels pL-Dosiersystem hergestellte Kalibrierstandards für die Quantifizierung von histologischen Dünnschnitten eignen.

Für mineralische μm -Partikel konnte dagegen am Beispiel der Referenzmaterialien NIST 610 und MACS-1 gezeigt werden, dass für thermisch stabile Materialien wie Glas oder synthetisches Calciumcarbonat eine Quantifizierung durch vollständige Ablation der Objekte stark limitiert sein kann. Die erhaltenen Intensitäten zeigten nicht reproduzierbare Verläufe aus nur vereinzelt detektierten Signalen, deren Intensität zudem deutlich unterhalb der Erwartungswerte liegt.

Demgegenüber konnten transiente Signalverläufe bei der LA-ICP-MS-Analyse nichtmineralischer Partikel bei der Ablation einzelner Partikel des Straßenstaubs BCR 723 beobachtet werden. In diesem Fall war es möglich, die auf der Dosierung von pL-Volumina basierende Kalibrierstrategie auf Anwendbarkeit zu untersuchen. Die hierbei erhaltenen absoluten Analytmassen der jeweiligen einzelnen Partikel zeigten eine sehr hohe Streuung ohne erkennbare Korrelation mit der Partikelmasse, welche mit Hilfe mikroskopischer Untersuchungen ermittelt wurde. Dies lässt auf eine hohe Inhomogenität des untersuchten Referenzmaterials auf partikulärer Ebene schließen, welches jedoch nicht für die Mikroanalytik zertifiziert wurde (Mindestprobenmenge 100 mg). Die ermittelten Konzentrationen der einzelnen Partikel eignen sich somit nicht zum Vergleich mit den Angaben auf dem Zertifikat des Materials. Die ermittelten Gesamtkonzentrationen hingegen, berechnet aus den jeweiligen Summen der bestimmten Analytmassen der Einzelpartikel und der Gesamtmassen der ablatierten Partikel, lagen bei $259 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Sr}$ und $1216 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Pb}$. Aus diesen Werten ergibt sich bezogen auf die - als informative Angaben auf dem Zertifikat dieses CRMs ausgewiesenen - Referenzwerte eine Wiederfindung von 102 % für Sr und 140 % für Pb. Da diese Bestimmungen jedoch nur als Einzelmessungen betrachtet werden kann, dessen Messunsicherheiten sich nur schwer abschätzen lassen, ist eine Beurteilung der Signifikanz dieser Ergebnisse nicht möglich. Dennoch handelt es sich bei diesen Ergebnissen um einen vielversprechenden Schritt in Richtung einer Verifizierung der charakterisierten Kalibrierstrategie.

Mit dem im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten neuartigen Dosiersystem konnte somit die von Fittschen et al.¹³ vorgeschlagene absolute Kalibrierstrategie für die LA-ICP-MS umfangreich charakterisiert und Anwendungen für verschiedene Analyten und Modell- bzw. Realproben untersucht werden, die über das von Wang et al.²³⁷ untersuchte Anwendungsspektrum hinausreichen.

Ausblick

Bei der Charakterisierung des pL-Dosiersystems konnten verschiedene Beobachtungen gemacht werden, die durch umfangreiche Untersuchung zu einer zukünftigen Weiterentwicklung dieses Systems führen oder bei der Verwendung ähnlicher Systeme berücksichtigt werden können.

Die Optimierung der elektrischen Heizimpulse für den Dosiervorgang erfolgte im Rahmen der vorliegenden Arbeit messtäglich und indirekt anhand mikroskopischer Beobachtungen der Tropfeneinschläge auf den Probenträgern. Um dies gewährleisten zu können, wurde eine Dosierfrequenz von 1 Hz für die Herstellung von Kalibrierstandards verwendet. Eine pseudokinematische Charakterisierung der ausgestoßenen Tropfen, wie sie in der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurde, könnte bei umfangreicher Weiterführung durch ein besseres Verständnis des Dosiervorgangs zu einer Verringerung des Optimierungsbedarfs beitragen. Hiermit ließen sich beispielweise der Einfluss verschiedener Lösungszusammensetzungen und veränderter Dosierparametern systematisch untersuchen. Durch hierbei gewonnene Erkenntnisse könnte die Reproduzierbarkeit des Dosiervorgangs verbessert werden, so dass eine messtägliche visuelle Optimierung und eine arbeitsintensive individuelle Bestimmung der mittleren transferierten Analytmasse pro Dosiervorgang entfallen können. Da diese messtägliche visuelle Optimierung die Dosierfrequenz limitiert, könnte die Dosierfrequenz möglicherweise erhöht werden, was mit dem in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Aufbau bis ca. 30 Hz möglich ist und sich aus der Bewegung der Verschlussblende ergibt. Verdunstungseffekte, die zurzeit mittels befeuchteten Schutzgases minimiert und kontrolliert werden, können durch Erhöhung der Dosierfrequenz zusätzlich verringert werden. Weiterhin können Untersuchungen der Dosierbarkeit von Lösungen mit einem hohen Anteil von gelösten festen Bestandteilen ausgeweitet und das Anwendungsgebiet für die Herstellung von miniaturisierten matrixangepassten Kalibrierstandards umfassend untersucht werden.

Neben dem Verbesserungspotential auf instrumenteller Seite wurde vor allem eine Weiterentwicklung der Probenfixierung als Aufgabe für zukünftige Arbeiten identifiziert. Neben weiterführenden Untersuchungen an verschiedenen Lacken und Gelen, könnten sich beispielsweise auch gesputterte Metalle- oder Kohlenstofffilme zur Fixierung eignen. Eine weitere Möglichkeit ist das Fixieren der Rückstände in einer Eismatrix. Um das Auftauen des Eises zwischen der Herstellung des Kalibrierstandards und der Analyse zu vermeiden, bietet sich z.B. die Integrierung der Dosiereinheit in eine Cryo-Laserablationskammer an. Zur Miniaturisierung einer Dosiereinheit, die in eine Laserablationskammer integriert werden kann, kann eine zusätzliche Modifizierung der Tintenpatronen untersucht werden, bei der auf weitere Strukturelemente verzichtet wird. Alternativ bietet sich zudem eine Überprüfung der Verwendung der Dosierkassetten des HP D 300 Dispensers

an.²⁴⁷⁻²⁵⁰ Diese austauschbaren Druckköpfe besitzen bereits ein miniaturisiertes Flüssigkeitsreservoir und reduzierte elektrische Anschlussfelder.

Durch Biosorption von Metallionen auf *Saccharomyces ludwigii* Zellen konnte ein Material entwickelt werden, das das Potential hat, eine akkurate Verifizierung der verwendeten Kalibrierstrategie für die LA-ICP-MS zu erlauben. Weiterführende Experimente mit verdünnten Suspensionen oder zur Resorption der Metalle von der Oberfläche, die die Bestimmung des Analytgehalts der bei den LA-ICP-MS-Analysen vorliegenden Hefezellen ermöglichen bzw. der biosorbierten Analytmasse in der fixierten Zellsuspension, können zur Ermittlung von Referenzwerten führen und dadurch eine unabhängige Verifizierung ermöglichen. Agarosegele mit einer hohen Dichte an dotierten Hefezellen bieten zudem die Möglichkeit, Kalibrierstandards oder Referenzmaterialien für histologische Dünnschnitte herzustellen. Für solche Dünnschnitte konnten ebenfalls Hinweise auf die Anwendbarkeit der untersuchten absoluten Kalibrierstrategie gefunden werden. Auch für dieses potentielle Einsatzgebiet können sich weiterführende Untersuchungen anschließen. Zur Methodenverifizierung in diesem Anwendungsgebiet könnte die Herstellung von homogen dotierten Dünnschnitten mit bekannter Analytkonzentration z.B. aus Gelen oder Polymeren einen Beitrag leisten.

Die demonstrierte Eignung des entwickelten Systems zur Quantifizierung mit Hilfe des Verfahrens der Standardaddition sollte zudem weitergehend untersucht und charakterisiert werden. Zudem ist es denkbar, analog zu dem Vorgehen der Standardaddition auch definierte Volumina von Isotopenstandards zuzusetzen und somit eine auf der Dosierung von pL-Volumina basierte Quantifizierungsstrategie mittels Isotopenverdünnung zu entwickeln. Während in der vorliegenden Arbeit absolute Signalintensitäten bestimmt und zur Kalibrierung verwendet wurden, müsste für die Entwicklung einer auf Isotopenverdünnung in Kombination mit einer auf DOD-Dosierung basierenden LA-ICP-MS Methode zunächst eine detaillierte Charakterisierung von relativen Signalintensitäten erfolgen. Um Isotopenverhältnisse in den bei der LA-ICP-MS auftretenden transienten Signalen möglichst präzise bestimmen zu können, ist zudem die Verwendung von simultan detektierenden ICP-MS Geräten erfolgsversprechend. Allerdings ist zu erwarten, dass die erreichbare Präzision bei der Bestimmung der Isotopenverhältnisse die Anwendbarkeit der Isotopenverdünnungsanalyse dahingehend einschränkt, dass der Zusatz einer bekannten Menge einer isotopenangereicherten Standardlösung zu einer deutlichen Verschiebung des Isotopenverhältnis, z.B. von mehreren Prozent, führen muss, so dass für eine erfolgreiche Quantifizierung mittels Isotopenverdünnungsanalyse Vorkenntnisse des zu erwartenden Konzentrationsbereichs des natürlichen Isotopenverhältnisses in der Probe sowie die Verfügbarkeit einer mittels DOD dosierbaren Standardlösung mit einem hohen

und bekannten Anreicherungsgrad des zur Dotierung dienenden Isotops und bekannter Elementkonzentration erforderlich sind. Unter diesen Einschränkungen könnte sich mit der Isotopenverdünnungsanalyse aus einer einzelnen Messung einer Analytmasse und ggf. bei Kenntnis der ablatierten Masse auch eine Analytkonzentration mit vergleichbarer Präzision und Richtigkeit bestimmen lassen, wie es bei Verwendung von externen Kalibrierungen oder Standardadditionen aus einer deutlich höheren Anzahl von Messungen möglich ist. Ein mögliches Anwendungsgebiet für pL-DOD-ID-LA-ICP-MS ist die Analyse von auf μm -Ebene stark heterogenen Proben wie z.B. histologische Dünnschnitte, bei denen die Anwendung einer externen Kalibrierung durch Matrixeffekte eingeschränkt sein könnte und das Standardadditionsverfahren durch die Heterogenität der Probe nicht anwendbar ist.

Die zentrale Motivation der vorliegenden Arbeit – die geringe Verfügbarkeit von Referenzmaterialien für die Mikroanalytik – limitierte vor allem im Bereich der Überprüfung und Verifizierung eine mögliche Weiterentwicklung der Methoden. Da solche Referenzmaterialien nur bei Verfügbarkeit von geeigneten Methoden für die Mikroanalytik zertifiziert werden können, kann die Entwicklung von Referenzmaterialien und von Analysemethoden nicht unabhängig voneinander sondern nur in wechselseitiger Abfolge erfolgen. An diesem iterativen Prozess kann die hier vorgestellte Kalibriertechnik für die LA-ICP-MS bei der Messung von vergleichbaren Modellproben mit verschiedenen Analysetechniken, z.B. im Rahmen von Ringversuchen verschiedener Forschungseinrichtungen, eingesetzt und hierbei weiterführend verifiziert werden.

Abschnitt VII Verzeichnisse

VII.1. Literaturverzeichnis

1. B. Fairman, M.W. Hinds, S.M. Nelms, D.M. Penny, P. Goodall, Industrial analysis: metals, chemicals and advanced materials, *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 1606-1631.
2. T. Walczyk, The potential of inorganic mass spectrometry in mineral and trace element nutrition research, *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 444–453.
3. H. Becker, K.P. Jochum, R.W. Carlson, Trace element fractionation during dehydration of eclogites from high-pressure terranes and the implications for element fluxes in subduction zones, *Chem. Geol.* 163 (2000) 65–99.
4. C.A. Wilson, D.A. Davidson, M.S. Cresser, Multi-element soil analysis: an assessment of its potential as an aid to archaeological interpretation, *J. Archaeol. Sci.* 35 (2008) 412-424.
5. Deconinck, C. Latkoczy, D. Günther, F. Govaert, F. Vanhaecke, Capabilities of laser ablation—inductively coupled plasma mass spectrometry for (trace) element analysis of car paints for forensic purposes, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 279–287.
6. R.E. Russo, X. Mao, H. Liu, J. Gonzalez, S.S. Mao, Laser ablation in analytical chemistry—a review, *Talanta* 57 (2002) 425–451.
7. J.H. Seo, M. Guillong, M. Aerts, Z. Zajacz and C.A. Heinrich, Microanalysis of S, Cl, and Br in fluid inclusions by LA–ICP–MS, *Chem. Geol.*, 248 (2011) 35-44.
8. E. Elish, Z. Karper, A. Lorber, Determination of uranium concentration in a single hair strand by LA-ICP-MS applying continuous and single pulse ablation, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 540-546.
9. F. Pointurier, A.C. Pottin, A. Hubert, Application of nanosecond-UV laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry for the isotopic analysis of single submicrometer-size Uranium particles, *Anal. Chem.* 83 (2011) 7841-7848.
10. D. Beauchemin, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 82 (2010) 4786-4810.
11. D. Hare, C. Austin, P. Doble, Quantification strategies for elemental imaging of biological samples using laser ablation – inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Analyst* 137 (2012) 1527-1537.
12. N.H. Bings, A. Bogaerts, J.A.C. Broekaert, Atomic Spectroscopy, *Anal. Chem.* 85 (2013) 670-704.

13. U.E.A. Fittschen, S. Hauschild, M.A. Amberger, G. Lammel, C. Strelt, S. Förster, P. Wobrauschek, C. Jokubonis, G. Pepponi, G. Falkenberg, J.A.C. Broekaert, A new technique for the deposition of standard solutions in total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF) using pico-droplets generated by inkjet printers and its applicability for aerosol analysis with SR-TXRF, *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 1098–1104.
14. U.E.A. Fittschen, N.H. Bings, S. Hauschild, S. Förster, A.F. Kiera, E. Karavani, A. Frömsdorf, J. Thiele, Characteristics of picoliter droplet dried residues as standards for direct analysis techniques, *Anal. Chem.* 80 (2008) 1967-1977.
15. K. Camman, *Instrumentelle Analytische Chemie*, 1. Auflage (2001), Nachdruck, Kapitel 6, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg(2010) [6-1]– [6-107]
16. K. Camman, *Instrumentelle Analytische Chemie*, 1. Auflage (2001), Nachdruck, Anhang, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg(2010) [A-1]– [A-14]
17. S. Trapman, M. Burn, H. Broll, R. Macarthur, R. Wood, J. Zel, Guidance document on measurement uncertainty for GMO testing laboratories, JRC-IRMM (2009) DOI 10.2787/18988
18. J.M. Mermet, Limit of quantitation in atomic spectrometry: An unambiguous concept?, *Spectrochim. Acta Part B* 63 (2008) 1666-182
19. H. Kaiser, Zum Problem der Nachweisgrenze, *Fresen. Z. Analyt. Chem.* 209 (1965) 1-18.
20. I.L. Turner, D.J. Mills, E. Schröder, G. Lapitajs, G. Jung, L.A. Iacone, D.A. Haydar, A. Montaser, in: *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Hrsg. von A. Montaser, Kap. 6, VCH, New York (1998) 421-588.
21. R. Thomas, *Practical guide to ICP-MS*, 2nd ed, Kap. 1, CRC Press, Boca Raton (2008) 1-5.
22. N. Jakubowski, T. Prohaska, L. Rottmann, F. Vanhaecke, *Inductively coupled plasma- and glow discharge plasma-sector field mass spectrometry*, Part I. Tutorial: Fundamentals and instrumentation, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 693-726.
23. C.G. Barkla, Characteristic röntgen radiation, Nobel Lecture, June 3, 1920.
Quelle: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1917/barkla-lecture.pdf
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
24. M.E.A. Robertson, C.E. Feather, Determination of gold, platinum and uranium in South African ores by high-energy XRF spectrometry, *X-Ray Spectrom.* 33 (2004) 164–173.
25. M.K. Tiwari, A.K. Singh, K.J.S Sawhney, Analysis of stainless steel samples by energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) spectrometry, *Bull. Mater. Sci.* 24 (2001) 633–638.

26. M. Alfeld, W. De Nolf, S. Cagno, K. Appel, D.P. Siddons, A. Kuczewski, K. Janssens, J. Dik, K. Trentelman, M. Walton, A. Sartoriu, Revealing hidden paint layers in oil paintings by means of scanning macro-XRF: a mock-up study based on Rembrandt's "An old man in military costume", *J. Anal. At. Spectrom.* 28 (2013) 40-51.
27. G. Buzanich, M. Radtke, U. Reinholz, H. Riesemeier, A.F. Thunemann, C. Strelt, Impurities in multicrystalline silicon wafers for solar cells detected by synchrotron micro-beam X-ray fluorescence analysis, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 1875-1881.
28. Gerätehandbuch S2 PICOFOX™, DOC-M81-DXX001 V1, Bruker AXS Microanalysis GmbH (2008).
29. U. Waldschläger, Recent and future developments in low power total reflection X-ray fluorescence spectroscopy, *Spectrochim. Acta, Part B* 61 (2006) 1115–1118.
30. O. Butler, H. Evans, A. Fisher, S. Hill, C. Harrington, A. Taylor, M. West, A. Ellis, Atomic Spectrometry Update: A 25-year retrospective, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 1546-1566.
31. R. M. Rousseau, Corrections for matrix effects in X-ray fluorescence analysis—A tutorial, *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 759–777.
32. R. Klockenkämper, A. von Bohlen, Elemental analysis of environmental samples by total reflection X-ray fluorescence : A Review, *X-Ray Spectrom.* 25 (1996) 156-162.
33. M. Mertens, Schwefel-Bestimmung in Proteinen und Enzymen mit der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TXRF), Dissertation (2001) Johann Wolfgang Goethe – Universität Frankfurt am Main.
34. A. Danel, N. Cabuil, T. Lardina, D. Despois, M. Veillerot, C. Geoffroy, M. Yamagami, H. Kohno, Comparison of direct-total-reflection X-ray fluorescence, sweeping-total-reflection X-ray fluorescence and vapor phase decomposition-total-reflection X-ray fluorescence applied to the characterization of metallic contamination on semiconductor wafers, *Spectrochim. Acta Part B* 63 (2008) 1375–1381.
35. P. Wobrauschek, Total reflection x-ray fluorescence analysis – a review, *X-Ray Spectrom.* 36 (2007) 289–300.
36. I. De La Calle, N. Cabaleiro, V. Romero, I. Lavilla, C. Bendicho, Sample pretreatment strategies for total reflection X-ray fluorescence analysis: A tutorial review, *Spectrochim. Acta Part B* 90 (2013) 23–54.
37. J.J. Thomson, Rays of positive electricity, *Proc. R. Soc. Lond. A.* 89 (1913) 1–20.
38. USP 37–NF 32, <233>" Elemental Impurities—Procedures / Chemical Tests "

39. Pharm. Eur. 2.4.20, Metal catalysts or metal reagents, *Pharma Europa* 23 (2011) 337-340.
40. D. Potter, A commercial perspective on the growth and development of the quadrupole ICP-MS market, *J. Anal. Chem.* 23 (2008) 690-693.
41. S. Greenfield, I. LL. Jones, C. T. Berry, High-pressure plasmas as spectroscopic emission sources, *Analyst* 89 (1964) 713-720.
42. R. H. Wendt, V. A. Fassel, Induction-coupled plasma spectrometric excitation source, *Anal. Chem.* 37 (1965) 920-923.
43. D.J. Douglas, A.D. Tanner, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Hrsg. von A. Montaser, A., Kap. 6 (1998) VCH, New York, 615-680.
44. K. Camman, *Instrumentelle Analytische Chemie*, 1. Auflage (2001), Nachdruck, Kap. 4, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg(2010) [4-1]– [4-102].
45. R.S. Houk, Mass spectrometry of inductively coupled plasmas, *Anal. Chem.* 58 (1986) 97A-105A.
46. A. Montaser, R.L. Vanhoven, R.M Barnes, Mixed-gas, molecular-gas and helium inductively coupled plasmas for analytical spectrometry – a critical review, *CRC Cr Rev Anal. Chem.* 18 (1987) 45-103.
47. A. Montaser, H. Zhang in: *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Hrsg. von A. Montaser, Kap. 10, VCH, New York (1998) 810-890.
48. A. Montaser, in: *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Hrsg. von A. Montaser, Kap. 1, VCH, New York (1998) 1-31.
49. http://www.bundesnetzagentur.de/SharedDocs/Downloads/DE/Sachgebiete/Telekommunikation/Unternehmen_Institutionen/Frequenzen/Allgemeinzuteilungen/2003_76_ISM_pdf.pdf;jsessionid=E0A99A889E9F6352A48C1239012A5AE5?__blob=publicationFile&v=5
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
50. H. Uchide, T. Ito, Comparative study of 27.12 and 40.68 MHz inductively coupled argon plasmas for mass spectrometry on the basis of analytical characteristic distributions, *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (1994) 1001-1006.
51. D.M McClenathan, W.C. Wetzel, S.E. Lorge, G.M. Hieftje, Effect of the plasma operating frequency on the figures of merit of an inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometer, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 1001-1006.
52. G. Horlick, A. Montaser, in: *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Hrsg. von A. Montaser, Kap. 7, VCH, New York (1998) 503-588.

53. I.L. Turner A. Montaser, in: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Hrsg. von A. Montaser, Kap. 4, VCH, New York (1998) 265-334.
54. M. Edlund, H. Visser, P. Heitland, Analysis of biodiesel by argon–oxygen mixed-gas inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 232–235.
55. M. Aghaei, H. Lindner, A. Bogaerts, Effect of a mass spectrometer interface on inductively coupled plasma characteristics: a computational study, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 604-610.
56. R. Thomas, Practical guide to ICP-MS, 2nd ed, Kap. 4, CRC Press, Boca Raton (2008) 23-29.
57. H. Lindner, A. Murtazin, S. Groh, K. Niemax, A. Bogaerts, Simulation and experimental studies on plasma temperature, flow velocity, and injector diameter effects for an inductively coupled plasma, *Anal. Chem.* 83 (2011) 9260-9266.
58. M. Aghaei, H. Lindner, A. Bogaerts, Optimization of operating parameters for inductively coupled plasma mass spectrometry: A computational study, *Spectrochim. Acta Part B* 76 (2012) 56–64.
59. Barry L. Sharp, Pneumatic nebulisers and spray chambers for inductively coupled plasma spectrometry. A review. Part 1. Nebulisers, *J. Anal. At. Spectrom.* 3 (1988) 613-652.
60. J. Nölte, ICP Emissionsspektrometrie für Praktiker: Grundlagen, Methodenentwicklung, Anwendungsbeispiele (2002) Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 45.
61. F.J.M.J. Maessen, P. Coevert, J. Blanke, Comparison of pneumatic nebulizers in current use for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Anal. Chem.* 56 (1984) 899-903.
62. A. Meinhard, D. K. Brown, J. E. Meinhard, The effect of nebulizer structure on flame emission, *Appl. Spectrosc.*, 46 (1992) 1134–1139.
63. J.-L. Todolí, V. Hernandis, A. Canals, J.-M. Mermet, Comparison of characteristics and limits of detection of pneumatic micronebulizers and a conventional nebulizer operating at low uptake rates in ICP-AES, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1289–1295.
64. J.-L. Todolí, J.M. Mermet, Sample introduction systems for the analysis of liquid microsamples by ICP-AES and ICP-MS, *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2006) 239-283.
65. R.S. Babington W.R. Slivika, A.A. Yetman, Method of atomizing liquids in mono-dispersed spray, US Patent 3421692 (1969).
66. R.F. Suddendorf, K.W. Boyer, Nebulizer for analysis of high salt content samples with inductively coupled plasma emission spectrometry, *Anal. Chem.* 50 (1978) 1769-1771.
67. J.A. Burgener, Parallel path induction pneumatic nebulizer, US Patent 5411208 (1995).

68. S.E. Hobbs, J.W. Olesik, Inductively coupled plasma mass spectrometry signal fluctuations due to individual aerosol droplets and vaporizing, *Anal. Chem.* 64 (1992) 274-2133.
69. R.H. Scott, V.A. Fassel, R.N. Kniseley, D.E. Nixon, Inductively coupled plasma-optical emission analytical spectrometry, *Anal. Chem.* 46 (1974) 75-80.
70. S. Maestre, J. Mora, J.-L. Todolí, A. Canals, Evaluation of several commercially available spray chambers for use in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 61-67.
71. J.W. Olesik, L.C. Bates, Characterization of aerosols produced by pneumatic nebulizers for inductively coupled plasma sample introduction: effect of liquid and gas flow rates on volume based drop size distributions, *Spectrochim. Acta Part B* 50 (1995) 285-303.
72. G. Schaldach, L. Berger, I. Rrazilov, H. Berndt, Optimization of the geometry of a double-path spray chamber for inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry by computer simulation and an evolutionary strategy, *Spectrochim. Acta Part B* 58 (2003) 1807–1819.
73. G. Schaldach, H. Berndt, B.L. Sharp, An application of computational fluid dynamics (CFD) to the characterisation and optimisation of a cyclonic spray chamber for ICP-AES, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 742-750.
74. M. Popp, S. Hann, G. Koellensperger, Environmental application of elemental speciation analysis based on liquid or gaschromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry—A review, *Anal. Chim. Acta* 668 (2010) 114-129.
75. M. Aramendía, M. Resano, F. Vanhaecke, Electrothermal vaporization–inductively coupled plasma-mass spectrometry: A versatile tool for tackling challenging samples: A critical review, *Anal. Chim. Acta* 648 (2009) 23-44.
76. W.L. Shen, J.A. Caruso, F.L. Fricke, R.D. Satzger, Electrothermal vaporisation interface for sample introduction in inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 451-455.
77. H.B. Lim, R.S. Houk, M.C. Edelson K. P. Carney, Some fundamental characteristics of a reduced-pressure plasma extracted from an inductively coupled plasma, *J. Anal. Chem.* 4 (1989) 365-370.
78. J.E. Patterson, B.S. Duersch, P.B. Farnsworth, Optically determined velocity distributions of metastable argon in the second stage of an inductively coupled plasma mass spectrometer, *Spectrochim. Acta, Part B*, 54 (1999) 537–544.

79. J. H. Macedone, P. B. Farnsworth, Changes in plasma composition during the expansion into the first vacuum stage of an inductively coupled plasma mass spectrometer, *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 1031–1038.
80. A.A. Mills, J.H. Macedone, R.B. Farnsworth, High resolution imaging of barium ions and atoms near the sampling cone of an inductively coupled plasma mass spectrometer, *Spectrochim. Acta Part B*, 61 (2006) 1039–1049.
81. D.J. Douglas, J.B. French, An improved interface for inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS), *Spectrochim. Acta Part B* 41 (1986) 197–204.
82. D. Beauchemin, J.W. McLaren, S.S. Herman, Study of the effects of concomitant elements in inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 42 (1987) 467–490.
83. R.S. Houk, N. Praphairaksit, Dissociation of polyatomic ions in the inductively coupled plasma, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1069–1096.
84. <http://www.agilent.com/en-us/products/mass-spectrometry/3-1-familiarization-en>
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
85. <http://www.perkinelmer.com/Catalog/Family/ID/NexION-350-ICP-MS-Spectrometers>
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
86. <https://www.analytik-jena.de/en/analytical-instrumentation/products/mass-spectrometry/plasmaquant-ms.html>
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
87. K. Camman, *Instrumentelle Analytische Chemie*, 1. Auflage (2001), Nachdruck, Kap. 5, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg(2010) [5-1]– [5-82].
88. U. Gießmann, U. Greb, High resolution ICP-MS – a new concept for mass spectrometry, *Fresenius J. Anal. Chem.* 350 (1994) 186-193.
89. D. W. Koppenaal, C. J. Barinaga, M. R. Smith, Performance of an inductively coupled plasma source ion trap mass spectrometer, *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (1994) 1053-1058.
90. B.L. Sharp, L. M. Ignjatovic, P.S. Goodall, Inductively coupled plasma mass spectrometry, coincidence laser spectroscopy (ICP-MS-CLS), simulation of the transmission efficiency of a 3D quadrupole ion trap for cooling energetic ions from the ICP prior to optical detection, *J. Anal. At. Spectrom.* 23 (2008) 985-991.
91. I.V. Chernushevich, A.V. Loboda, B. A. Thomson, An introduction to quadrupole–time-of-flight mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* 36 (2001) 849–865.

92. A.W. Graham, S.J. Ray, C.G. Enke, C.J. Barinaga, D.W. Koppenaal, G.M. Hieftje, First distance-of-flight instrument: opening a new paradigm in mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 22 (2011) 110-117.
93. C.H. Watson, J. Wronka, F.H. Laukien, C.M. Barshick, J.R. Eyler, Ultrahigh mass resolution glow discharge mass spectrometry: direct analysis of heavy isotope mixtures, *Spectrochim. Acta Part B*, 48 (1993) 1445-1448.
94. Q. Hu, R.J. Noll, H. Li, A. Makarov, M. Hardman, R. G. Cooks, The Orbitrap: a new mass spectrometer, *J. Mass Spectrom.* 40 (2005) 430-443.
95. A.J. Carado, C. D. Quarles, Jr., A.M. Duffin, C.J. Barinaga, R.E. Russo, R. K. Marcus, G. C. Eiden, D. W. Koppenaal, Femtosecond laser ablation particle introduction to a liquid sampling-atmospheric pressure glow discharge ionization source, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 385-389.
96. P. A. Tipler, G. Monsca, *Physik für Naturwissenschaftler und Ingenieure*, 6. Auflage, Kapitel 21-26, Spektrum Akademische Verlag, Heidelberg (2009) 803-1189.
97. U. Giessmann, G. Jung, C. Brunnee, Mass spectrometer having an ICP source, US Patent 5552599 (1996).
98. N. Jakubowski, L. Moens, F. Vanhaecke, Sector field mass spectrometers in ICP-MS, *Spectrochim. Acta Part B* 53 (1998) 1739-1763.
99. W. Doherty, Non-linear signal response functions and their effects on the statistical and noise cancellation properties of isotope ratio measurements by multi-collector plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 85 (2013) 78-92.
100. E.F. Cromwell, P. Arrowsmith, Novel multichannel plasma-source mass spectrometer, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7 (1996) 458-466.
101. D.A. Solyom, O.A. Gron, J.H. Barnes, G.M. Hieftje, Analytical capabilities of an inductively coupled plasma Mattauch-Herzog mass spectrometer, *Spectrochim. Acta Part B*, 56 (2001) 1717-1729.
102. J.H. Barnes, G.D. Schilling, G.M. Hieftje, R.P. Sperline, M.B. Denton, C.J. Barinaga, D.W. Koppenaal, Use of a novel array detector for the direct analysis of solid samples by laser ablation inductively coupled plasma sector-field mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 15 (2004) 769-776.
103. G.D. Schilling, S.J. Ray, A.A. Rubinshtein, J.A. Felton, R.P. Sperline, M.B. Denton, C.J. Barinaga, D.W. Koppenaal, G.M. Hieftje, Evaluation of a 512-channel faraday-strip array detector coupled to an inductively coupled plasma Mattauch-Herzog mass spectrograph, *Anal. Chem.* 81 (2009) 5467-5473.

104. http://www.spectro.com/~media/ametekspectro/documents/brochure/spectro_ms_en_2011_08.a.shx
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
105. E.G. Johnson, A.O Nier, Angular aberrations in sector shaped electromagnetic lenses for focusing beams of charged particles, Phys. Rev. , 91 (1953) 10-17.
106. B. Laser, Device for setting slit widths in beam path of spectrometers, US Patent 5451780 (1994).
107. R. Thomas, Practical guide to ICP-MS, 2nd ed, Kap. 8, CRC Press, Boca Raton (2008) 57-92.
108. <http://www.thermoscientific.de/content/dam/tfs/ATG/CMD/CMD%20Documents/Application%20&%20Technical%20Notes/D14394~.pdf>
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
109. <http://www.thermoscientific.de/content/dam/tfs/ATG/CMD/CMD%20Documents/BR-30027-Element-2-Element-XR.pdf>
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
110. N. Jakubowski, T. Prohaska, L. Rottmann, F. Vanhaecke, Inductively coupled plasma- and glow discharge plasma-sector field mass spectrometry, Part II. Applications , J. Anal. At. Spectrom. 26 (2011) 727-757.
111. K.L. Linge, K.E. Jarvis, Quadrupole ICP-MS: Introduction to instrumentation, measurement techniques and analytical capabilities, Geostand. Geoanal. Res. 33 (2009) 445-467.
112. V.M. Golik, S.V. Golik, S.A. Trepachev, N.V. Kuz'mina, Determination of B, Si, P, S, Cl, and Br in uranium materials by inductively coupled plasma mass spectrometry, J. Anal. At. Spectrom. 65 (2010) 1511-1516.
113. Yu, L.L. Yu, W.C. Davis, Y.N. Ordonez, S.E. Long, Fast and accurate determination of K, Ca, and Mg in human serum by sector field ICP-MS, Anal. Bioanal. Chem. 405 (2013) 8761–8768.
114. I. Rodushkin, T. Ruth, Determination of trace metals in estuarine and sea-water reference materials by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry, J. Anal. At. Spectrom. 12 (1997) 1181-1185.
115. A. Sarmiento-González, J. Encinar, J.M. Marchante-Gayón, A. Sanz-Medel, Titanium levels in the organs and blood of rats with a titanium implant, in the absence of wear, as determined by double-focusing ICP-MS, Anal. Bioanal. Chem. 393 (2009) 335–343.
116. A. Stenberg, H. Andrén, D. Malinovsky, E. Engstroem, I. Rodushkin, D.C. Baxter, Isotopic variations of Zn in biological materials, Anal. Chem. 76 (2004) 3971-3978.

117. L. Moens, P. Verrept, R. Dams, U. Grob, G. Jung, B. Laser, New high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry technology applied for the determination of V, Fe, Cu, Zn and Ag in human serum, *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (1994) 1075-1078.
118. J. Hellstrom, Rapid and accurate U/Th dating using parallel ion-counting multi-collector ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 1346-1351.
119. A. Simonetti, L.M. Heaman, R.P. Hartlaub, R. A. Creaser, T. G. MacHattie, C. Böhm, U-Pb zircon dating by laser ablation-MC-ICP-MS using a new multiple ion counting Faraday collector array, *J. Anal. At. Spectrom.* 20 (2005) 677-686.
120. L. Fischer, M. Brunner, T. Prohaska, S. Hann, Accurate quantification of mercury in river water by isotope dilution MC-ICP-SFMS and ICP-QMS detection after cold vapour generation, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 1983-1991.
121. V. Devulder, P. Degryse, F. Vanhaecke, Development of a novel method for unraveling the origin of natron flux used in roman glass production based on B isotopic analysis via multicollector inductively coupled plasma mass spectrometry, *Anal. Chem.* 85 (2013) 12077-12084.
122. G.A. Buttigieg, M.E. Baker, J. Ruiz, M.B. Denton, Lead isotope ratio determination for the forensic analysis of military small arms projectiles, *Anal. Chem.* 75 (2003) 5022-5029.
123. S. Yongyang, W. Wei, L. Zhiming, D. Hu, Z. Guoqing, X. Jianga, R. Xiangjuna, Direct detection and isotope analysis of individual particles in suspension by single particle mode MC-ICP-MS for nuclear safety, *J. Anal. At. Spectrom.* 30 (2015), 1184-1190.
124. M. Resano, K.S. McIntosh, F. Vanhaecke, Laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry using a double-focusing sector field mass spectrometer of Mattauch-Herzog geometry and an array detector for the determination of platinum group metals and gold in NiS buttons obtained by fire assay of platiniferous ores, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012), 165-173.
125. J.H. Barnes, IV, G.D. Schilling, R.P. Sperline, M. Bonner Denton, E.T. Young, C.J. Barinaga, D.W. Koppenaar, G.M. Hieftje, Coupling of a gas chromatograph to a simultaneous-detection inductively coupled plasma mass spectrograph for speciation of organohalide and organometallic compounds, *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004), 751-756.
126. R.S. Houk, V.A. Fassel, G.D. Flesch, H.J. Svec, A.L. Gray, C.E. Taylor, Inductively coupled argon plasma as an ion source for mass spectrometric determination of trace elements, *Anal. Chem.* 52 (1980) 2283-2289.
127. A.R. Date, A.L. Gray, Plasma source mass spectrometry using an inductively coupled plasma and a high resolution quadrupole mass filter, *Analyst* 106 (1981) 1255-1267.

128. T.H. Maugh, The 1983 Pittsburgh conference: a special instrumentation report: quadrupoles appears in new instruments, *Science* 220 (1983) 178-179.
129. VG Instrumente Debut ICP/MS, *Anal. Chem.* 65 (1984) 801A-802A.
130. W. Paul, H. Steinwedel, Ein neuer Massenspektrometer ohne Magnetfeld, *Z. Naturforsch. A* 8 (1953) 448-450.
131. J.F. Ying, D.J. Douglas, High resolution inductively coupled plasma mass spectra with quadrupole mass filter, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 10 (1996), 649-652.
132. D.J. Douglas, Linear quadrupoles in mass spectrometry, *Mass Spectrom. Rev.* 28 (2009) 937– 960.
133. A. Hineman, C. Stephan, Effect of dwell time on single particle inductively coupled plasma mass spectrometry data acquisition quality, *J. Anal. At. Spectrom.* 29 (2014) 1252-1257.
134. H. Wang, B. Wang, M. Wang, L. Zheng, H. Chen, Z. Chai, Y. Zhao, W. Feng, Time-resolved ICP-MS analysis of mineral element contents and distribution patterns in single cells, *Analyst* 140 (2015) 523-531.
135. J.H. Barnes IV, G.M. Hieftje, Recent advances in detector-array technology of mass spectrometry, *Int. J. Mass. Spectrom.* 238 (2004) 33-46.
136. J.A. Felton, G.D. Schilling, S.J. Ray, R.P. Sperline, M.B. Denton, C.J. Barinaga, D.W. Koppelaar, G.M. Hieftje, Evaluation of a fourth-generation focal plane camera for use in plasma-source, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 300–304.
137. K. Hunter, Ion detection in ICP-MS using active film multipliers, *Atom. Spectrosc.* 15 (1994) 17-20.
138. W.E. Baumgartner, W.K. Huber, Secondary electron emission multipliers as particle detector, *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 9 (1976) 321-329.
139. M. Guilhaus, Essential elements of time-of-flight mass spectrometry in combination with the inductively coupled plasma ion source, *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 1511–1525.
140. R. Thomas, *Practical guide to ICP-MS*, 2nd ed, Kap. 11, CRC Press, Boca Raton (2008) 93-100.
141. *Electron Multiplier Handbook for Mass Spectrometry*, Galileo-Optic Corp. (1991)
142. A. Held, P.D.P. Taylor, A calculation method based on isotope ratios for the determination of dead time and its uncertainty in ICP-MS and application of the method to investigating some features of a continuous dynode multiplier, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1075-1079.

143. F. Vanhaecke , G. de Wannemacker , L. Moens , R. Dams , C. Latkoczy , T. Prohaska, G. Stingeder, Dependence of detector dead time on analyte mass number in inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 13(1998) 567-571.
144. A.T. Townsend, The determination of arsenic and selenium in standard reference materials using sector field ICP-MS in high resolution mode, *Fresenius J. Anal. Chem.* 364 (1999) 521-526.
145. D.R. Bandura, V. I. Baranov, S.D. Tanner, Determination of ultratrace phosphorus and sulfur by quadrupole ICPMS with dynamic reaction cell, *Anal. Chem.* 74 (2002) 1497-1502.
146. C. Agatemor, B. Beauchemin, Matrix effects in inductively coupled mass spectrometry: A review, *Anal. Chim. Acta* 706 (2011) 66-83.
147. I.I. Stewart, J.W. Olesik, Steady state acid effects in ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1313–1320.
148. R.S. Houk, Y. Zhai, Comparison of mass spectrometric and optical measurements of temperature and electron density in the inductively coupled plasma during mass spectrometric sampling, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1055–1067.
149. J.W. Olesik, J.C. Fister III, Incompletely desolvated droplets in argon inductively coupled plasmas: their number, original size and effect on emission intensities, *Spectrochim. Acta Part B* 46 (1991) 851–868.
150. S.D Tanner, Space charge in ICP-MS: calculation and implications, *Spectrochim. Acta Part B* 47 (1991) 809–828.
151. I.I. Stewart, JW. Olesik, The effect of nitric acid concentration and nebulizer gas flow rates on aerosol properties and transport rates in inductively coupled plasma sample introduction, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1249–1256.
152. I.I. Stewart, JW. Olesik, Transient acid effects in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 843-854.
153. S. Liu, D. Beauchemin, Effect of methanol and sodium dodecylsulfate on radial profiles of ion abundance in inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 319–325.
154. M. Kundel, U.R. Thorenz, J.H. Petersen, R.J. Huang, N.H. Bings, T. Hoffmann, Application of mass spectrometric techniques for the trace analysis of short-lived iodine-containing volatiles emitted by seaweed, *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 3345-3357.

155. K.G. Heumann, Isotope-dilution ICP-MS for trace element determination and speciation: from a reference method to a routine method?, *Anal. Bioanal. Chem.* 378 (2004) 318–329.
156. D. Pröfrock, A. Prange, Inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP-MS) for quantitative analysis in environmental and life sciences: A review of challenges, solutions, and trends, *Appl. Spectrosc.* 66 (2012) 843-868.
157. A. Einstein, Zur Quantentheorie der Strahlung, *Mitteilungen der Physikalischen Gesellschaft Zürich*, 18 (1916) 47-62.
158. T.H. Maiman, Stimulated optical radiation in ruby, *Nature*, 187 (1960) 493-494.
159. P.J. Hendra, P.M. Stratton, Laser-Raman spectroscopy, *Chem. Rev.* 69 (1969) 325-344.
160. M.A. Bolshov , Yu.A. Kuritsyn, Yu.V. Romanovskii, Tunable diode laser spectroscopy as a technique for combustion diagnostics *Spectrochim. Acta Part B* 106 (2015) 45–66.
161. J.S. Becker, H.-J. Dietze, Laser ionization mass spectrometry in inorganic trace analysis, *Fresenius J. Anal. Chem.* 344 (1992) 69-86.
162. M. Karas, U. Bahr, U. Gießmann, Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, *Mass Spectrom. Rev.*, 10 (1991) 337-357.
163. D.W. Hahn, N. Omenetto, Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part I: review of basic diagnostics and plasma-particle interactions: Still-challenging issues within the analytical plasma community, *Appl. Spectrosc.* 64 (2010) 335A-366A.
164. M. Thompson, J. E. Goulter, F. Sieper, Laser ablation for the introduction of solid samples into an inductively coupled plasma for atomic-emission spectrometry, *Analyst* 106 (1981) 32-39.
165. A.L. Gray, Solid sample introduction by laser ablation for inductively coupled plasma source mass spectrometry, *Analyst* 110 (1985), 551-556.
166. B.C. Windom, D.W. Hahn, Laser ablation laser induced breakdown spectroscopy (LA LIBS): A means for overcoming matrix effects leading to improved analyte response, *J. Anal. At. Spectrom.* 24 (2009) 1589-1688.
167. J. Carado, C. D. Quarles, Jr., A.M. Duffin, C.J. Barinaga, R.E. Russo, R. K. Marcus, G.C. Eiden, D. W. Koppelaar, Femtosecond laser ablation particle introduction to a liquid sampling-atmospheric pressure glow discharge ionization source, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 385-389.
168. P.A. Tipler, G. Mosca, *Physik*, 6. Auflage, Kap. 31, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2009) 1193-1231.

169. F.J. McClung, R.W. Hellwarth, Giant optical pulsations from ruby, *J. Appl. Phys.* 33 (1962) 828–829.
170. M. Eichhorn, *Laserphysik*, Kap. 2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2013) 23-48.
171. M. Eichhorn, *Laserphysik*, Kap. 4, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2013) 77-109.
172. W. Demtröder, *Laserspektroskopie I*, 6. Edition, Kap. 5.7 Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2011) 248-270.
173. M. Eichhorn, *Laserphysik*, Kap. 5, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2013) 110-179.
174. A. Javan, W. Bennett, Jr, D.R. Herriott, Population inversion and continuous optical maser oscillation in a gas discharge containing a He-Ne mixture, *Phys. Rev. Lett.* 6 (1961) 106-110.
175. W. Demtröder, *Laserspektroskopie I*, 6. Edition, Kap. 5.6 Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2011) 218-243.
176. W. Demtröder, *Laserspektroskopie I*, 6. Edition, Kap. 5.4 Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2011) 188-214.
177. W. Demtröder, *Laserspektroskopie I*, 6. Edition, Kap. 5.3 Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2011) 179-188.
178. J.C. Miller, *Laser ablation: Principles and applications*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1994).
179. J.H. Yoo, S.H. Jeong, X.L. Mao, R. Greif, R.E. Russo, Evidence for phase-explosion and generation of large particles during high power nanosecond laser ablation of silicon, *Appl. Phys. Lett.* 76 (2000) 783-785.
180. S.H. Jeong, R. Greif, R.E. Russo, Shock wave and material vapor plume propagation during excimer laser ablation of aluminum samples, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 32 (1999) 2578-2585.
181. X.L. Mao, W.T. Chan, M.A. Shannon, R.E. Russo, Plasma shielding during picosecond laser sampling of solid materials by ablation in He versus Ar atmosphere, *J. Appl. Phys.* 74 (1993) 4915-4922.
182. I. Horn, D. Günther, The influence of ablation carrier gasses Ar, He and Ne on the particle size distribution and transport efficiencies of laser ablation-induced aerosols: implications for LA-ICP-MS, *Appl. Surf. Sci.* 207 (2003) 144–157.
183. D. Autrique, A. Bogaerts, H. Lindner, C.C. Garcia, K. Niemax, Design analysis of a laser ablation cell for inductively coupled plasma mass spectrometry by numerical simulation, *Spectrochim. Acta Part B* 63 (2008) 257–270.

184. I. Feldmann, C.U. Koehler, P.H. Roos, N. Jakubowski, Optimisation of a laser ablation cell for detection of hetero-elements in proteins blotted onto membranes by use of inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 1006–1015.
185. E.L. Gurevich, R. Hergenröder, A simple laser ICP-MS ablation cell with wash-out time less than 100 ms, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 1043-1050.
186. C.C. Garcia, H. Lindner, K. Niemax, Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry-current shortcomings, practical suggestions for improving performance, and experiments to guide future development, *J. Anal. At. Spectrom.* 24 (2009) 14–26.
187. P. Arrowsmith, S.K. Hughes, Entrainment and transport of laser ablated plumes for subsequent elemental analysis, *Appl. Spectrosc.* 42 (1988) 1231-1239.
188. J. Koch, A. von Bohlen, R. Hergenröder, K. Niemax, Particle size distributions and compositions of aerosols produced by near-IR femto- and nanosecond laser ablation of brass, *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004) 267-272.
189. Z. Wang, B. Hattendorf, D. Günther, Vaporization and ionization of laser ablation generated aerosols in an inductively coupled plasma mass spectrometer—implications from ion distribution maps, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 1143–1151.
190. H.-R. Kuhn, M. Guillon, D. Günther, *Anal. Bioanal. Chem.*, Size-related vaporisation and ionisation of Laser-induced glass particles in the inductively coupled plasma 378 (2004) 1069-1074.
191. M. Gäckle, D. Merten, Study of plasma parameters influencing fractionation in laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 65 (2010) 991-1001.
192. C. O`Connor, B.L. Sharp, P. Evans, On-line addition of aqueous standards for calibration of laser ablation inductively plasma mass spectrometry: theory and comparison of wet and dry plasma conditions, *J. Anal. At. Spectrom.* 21 (2006) 556–565.
193. I. Krosiakova, D. Günther, Elemental fractionation in laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry: evidence for mass load induced matrix effects in the ICP during ablation of a silicate glass, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 51–62.
194. M.V. Zoriy , M. Dehnhardt, A. Matusch, J. S. Becker, Comparative imaging of P, S, Fe, Cu, Zn and C in thin sections of rat brain tumor as well as control tissues by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 63 (2008) 375–382.
195. B. Jackson, S. Harper, L Smith, J. Flinn, Elemental mapping and quantitative analysis of Cu, Zn and Fe in rat brain sections by laser ablation ICP-MS, *Anal. Bioanal Chem* 384 (2006) 9451-957.

196. D.A. Frick, D. Günther, Fundamental studies on the ablation behaviour of carbon in LA-ICP-MS with respect to the suitability as internal standard, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 1294–1303.
197. A.M. Leach, G.M. Hieftje, Standardless semiquantitative analysis of metals using single-shot laser ablation inductively coupled plasma Time-of-Flight Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 73 (2001) 2959–2967.
198. J. B. Barnes, IV, G.D. Schilling, G.M. Hieftje, R.P. Sperline, M.B. Denton, C. J. Barinaga, D. Koppelaar, Use of a novel array detector for the direct analysis of solid samples by laser ablation inductively coupled plasma sector-field mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom* 15 (2004) 769 –776.
199. D. Drescher, C. Giesen, H. Traub, U. Panne, J. Kneipp, N. Jakubowski, Quantitative imaging of gold and silver nanoparticles in single eukaryotic cells by laser ablation ICP-MS, *Anal. Chem.* 84 (2012) 9684–9688.
200. Y.S. Liu, Z.C. Hu, S. Gao, D. Günther, J. Xu, C.G. Gao, H.H. Chen, In situ analysis of major and trace elements of anhydrous minerals by LA–ICP-MS without applying an internal standard, *Chem. Geol.* 257 (2008) 34–43.
201. J.S. Kane, A history of the development and certification of NIST glass SRMs 610-617, *Geostandard Newslett.* 22 (1998) 7-13.
202. K.P. Jochum, U. Weis, W. Stoll, D. Kuzmin, Q. Yan, I. Raczek, D.E. Jacob, A. Stracke, K. Birbaum, D.A. Frick, D. Günther, J. Enzweiler, Determination of reference values for NIST SRM 610—617 glasses following ISO guidelines, *Geostand. Geoanal. Res.* 35 (2011) 297-429.
203. H. Wiltsche, D. Günther, Capabilities of femtosecond laser ablation ICP-MS for the major, minor, and trace element analysis of high alloyed steels and super alloys, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 2167–2174.
204. T.D.F. Leite, R. Escalfoni Jr. , T.C.O. da Fonseca , N. Miekeley, Determination of major, minor and trace elements in rock samples by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: Progress in the utilization of borate glasses as targets, *Spectrochim. Acta Part B* 66 (2011) 314-320.
205. A. Stankova, N. Gilon, L. Dutruch, V. Kanicky, Comparison of LA-ICP-MS and LA-ICP-OES for the analysis of some elements in fly ashes, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 443–449.
206. E. Hoffmann, C. Lüdke, J. Skole, H. Stephanowitz, E. Ullrich, D. Colditz, Spatial determination of elements in green leaves of oak trees (*Quercus robur*) by laser ablation-ICP-MS, *Fresenius J Anal Chem* 367 (2000) 579–585.

207. Simons, S. Hanning, A. Wegner, C. Mans, A. Janßen, M. Kreyenschmidt, J.A.C. Broekaert, Comparative study on the homogeneity of polymeric calibration materials using LA-ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 23 (2008) 1038–1041.
208. H. Traub, M. Czerwensky, R. Matschat, H. Kipphardt, U. Panne, Different calibration strategies for the analysis of pure copper metal by nanosecond laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 690–696.
209. A.F. Kiera, S. Schmidt-Lehr, M. Song, N.H. Bings, J.A.C. Broekaert, Direct multielement trace analyses of silicon carbide powders by spark ablation simultaneous inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 63 (2008) 287-292.
210. P. Su, P. Ek, A. Ivaska, Determination of metal ions in single wood fiber by LA-ICP-MS, *Holzforschung*, 66 (2012) 833–840.
211. J. S. Becker, M. V. Zoriy, C. Pickhardt, N. Palomero-Gallagher, K. Zilles, Imaging of copper, zinc, and other elements in thin section of human brain samples (hippocampus) by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Anal. Chem.* 77 (2005) 3208-3216.
212. H.-J. Stärk, R. Wennrich, A new approach for calibration of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry using thin layers of spiked agarose gels as references, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 2211–2217.
213. J.A.F. Plateau, *Statique experimentale et theorique des liquides soumis aux seules forces moleculaires*, Gauthier-Villar, Paris (1873).
214. S.J.W Lord Rayleigh, On the instability of jets, *Proc. Lond. Math. Soc.* 10 (1878) 4-13.
215. G.M. Hieftje, HV. Malmstadt, A unique system for studying flame spectrometric processes, *Anal. Chem.* 40 (1968) 1860-1867.
216. N.C. Clampitt and G.M. Hieftje, Investigation into the mechanism of desolvation of sample droplets in flame spectrometry, *Anal. Chem.* 44 (1972) 1211-1218.
217. G.J. Bastiaans, G.M. Hieftje, Investigation into the vaporation of individual solute particles in flame spectrometry, *Anal. Chem.* 46 (1974) 901-910.
218. D. Bleasdel, E. P. Wittig, G. M. Hieftje, An approximate model for the liberation and ionization of atoms from individual solute particles in flame spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 36 (1981) 205-213.
219. R.E. Russo, R. Withnell, G.M. Hieftje, Simple and inexpensive design for an isolated droplet generator useful in studies of atomization in flames, *Appl. Spectrosc.* 35 (1981) 531-536.

220. A.G. Childers, G.M. Hieftje, An improved uniform-size-droplet generator, *Appl. Spectrosc.* 40 (1986) 688-691.
221. J.G. Shabushing, G.M. Hieftje, A novel device for the accurate dispensing of small volumes of liquid samples, *Anal. Chim. Acta* 126 (1981) 167-174.
222. J.G. Shabushing, G.M. Hieftje, Device for the accurate dispensing of small volumes of liquid samples, US Patent 4492322 (1985).
223. G.M. Hieftje, B.M. Mandarano, New, directly digital automatic titration apparatus, *Anal. Chem.* 44 (1972) 1616-1621.
224. G.J. Bastiaans, G.M. Hieftje, Evaluation and application of a new high precision "Null Point" analytical technique in flame spectrometry, *Anal. Chem.* 45 (1973) 1994-2001.
225. P.P. Mahoney, G.M. Hieftje, Fluorimetric analysis on individual nanoliter sample droplets, *Appl. Spectrosc.* 48 (1994) 956-958.
226. P. M. Wiegand, S. R. Crouch, Evaluation of a programmable, hardware-driven, isolated-droplet generator, *Appl. Spectrosc.* 42 (1988) 567-571.
227. H.A. Archontaki, S.R. Crouch, Evaluation of an isolated droplet sample introduction system for laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Spectrosc.* 42 (1988) 741-658.
228. J. B. French, B. Etkin, R. Jong, Monodisperse dried microparticulate injector for analytical instrumentation, *Anal. Chem.* 66 (1994) 685-691.
229. J.W. Olesik, S.E. Hobbs, Monodisperse dried microparticulate injector: A new tool for studying fundamental processes in inductively coupled plasmas, *Anal. Chem.* 66 (1994) 3371-3378.
230. A.C. Lazar, P.B. Farnsworth, Investigation of the analytical performance of an MDMI-ICP-AES system, *Appl. Spectrosc.* 51 (1997) 617-624.
231. M. Englmann, A. Fekete, I. Gebefügi, P. Schmitt-Kopplin, The dosage of small volumes for chromatographic quantifications using a drop-on-demand dispenser system, *Anal. Bioanal. Chem.* 388 (2007) 1109–1116.
232. Litborn, M. Stjernström, J. Roeraade, Nanoliter titration based on piezoelectric drop-on-demand technology and laser-induced fluorescence detection, *Anal. Chem.* 70 (1998) 4847-4852.
233. S. Groh, C.C. Garcia, A. Murtazin, V. Horvatic, Kay Niemax, Local effects of atomizing analyte droplets on the plasma parameters of the inductively coupled plasma, *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 247–254.

234. S. Gschwind, L. Flamigni, J. Koch, O. Borovinskaya, S. Groh, K. Niemax, D. Günther, Capabilities of inductively coupled plasma mass spectrometry for the detection of nanoparticles carried by monodisperse microdroplets, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 1166-1174.
235. G.C.-Y. Chan, Z. Zhu, G. M. Hieftje, Operating parameters and observation modes for individual droplet analysis by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 76 (2012) 77–86.
236. P. Foltynová, A. Bednařík, V. Kanický, J. Preisler, Diode laser thermal vaporization ICP MS with a simple tubular cell for determination of lead and cadmium in whole blood, *J. Anal. At. Spectrom.* 29 (2014) 1585-1590.
237. M. Wang, L.N. Zheng, B. Wang, H.Q. Chen, Y.L. Zhao, Z.F. Chai, H.J. Reid, B. L. Sharp, W.Y. Feng, Quantitative analysis of gold nanoparticles in single cells by laser ablation inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Anal. Chem.* 86 (2014) 10252–10256.
238. P.E. Verboket, O. Borovinskaya, N. Meyer, D. Günther, P.S. Dittrich, A new microfluidics-based droplet dispenser for ICPMS, *Anal. Chem.* 86 (2014) 6012–6018.
239. T.C. Miller, G. J. Havrilla, Nanodroplets: a new method for dried spot preparation and analysis, *X-Ray Spectrom.* 33 (2004) 101–106.
240. T.C. Miller, C.M. Sparks, G.J. Havrilla, M.R. Beebe, Semiconductor applications of nanoliter droplet methodology with total reflection X-ray fluorescence analysis, *Spectrochim. Acta Part B* 59 (2004) 1117–1124.
241. T.C. Miller, E.P. Hasting, G. J. Havrilla, Automated printing technology as a new tool for liquid sample preparation for micro x-ray fluorescence (MXRF), *X-Ray Spectrom.* 35 (2006) 101–106.
242. C. Horntrich, P. Kregsamer, J. Prost, F. Stadlbauer, P. Wobrauschek, C. Strelí, Production of the ideal sample shape for Total Reflection X-ray Fluorescence analysis, *Spectrochim. Acta Part B* 77 (2012) 31–34.
243. A. Wastl, F. Stadlbauer, J. Prost, C. Horntrich, P. Kregsamer, P. Wobrauschek, C. Strelí, Nanoliter deposition unit for pipetting droplets of small volumes for Total Reflection X-ray Fluorescence applications, *Spectrochim. Acta Part B* 82 (2013) 71–75.
244. U.E.A. Fittschen, G.J. Havrilla, Picoliter droplet deposition using a prototype picoliter pipette: control parameters and application in micro X-ray fluorescence, *Anal. Chem.* 82 (2010) 297-306.
245. C.M. Sparks, U.E.A. Fittschen, G.J. Havrilla, Picoliter solution deposition for total reflection X-ray fluorescence analysis of semiconductor samples, *Spectrochim. Acta Part B* 65 (2010) 805–811

246. C.M. Sparks, U.E.A. Fittschen, G.J. Havrilla, Investigation of total reflection X-ray fluorescence calibration with picoliter deposition arrays, *Microelectro. Eng.* 102 (2013) 98–102.
247. Produktinformation HP: <http://www8.hp.com/de/de/commercial-printers/thermal-inkjet/d300.html> zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
248. Presse Mitteilung „Tecan Brings HP Direct Digital Titration to Drug Discovery Biologists“
<http://www.life-sciences-germany.com/product/d300-digital-dispenser-tecan-group-ltd-swx-tecn-2001-21685.html> zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
249. Produktinformation HP :
<http://www8.hp.com/h20195/v2/GetDocument.aspx?docname=4AA5-9729ENW>
zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
250. R.E. Jones, W. Zheng, J.C. McKew, C.Z. Chen, An alternative direct compound dispensing method using the HP D300 Digital Dispenser, *J. Lab. Autom.* 18 (2014) 367-374.
251. H.P Le, J. Progress and trends in ink-jet printing technology, *Imaging. Sci. Techn.* 42 (1998) 49-62.
252. N.J. Nielsen, History of ThinkJet printhead development, *Hewlett-Packard J.* 36 no. 05 (1985) 4-10.
253. A. Kearl, M.S. Ard, Low-cost plain-paper color inkjet printing, *Hewlett-Packard J.* 43 no.4 (1992) 64-66.
254. W.A. Buskirk, D.E. Hackleman. S.T. Hall, P.H. Kanarek, R.N. Low, Kenneth, E. Trueba, R.R. Van de Poll, Development of a high-resolution thermal inkjet printhead, *Hewlett-Packard* 36 ,no. 5 (1988) 55-61.
255. J.S. Aden, J.H. Bohórquez, D.M. Collins, M.D. Crook, A. García, U.E. Hess, The third-generation HP thermal inkjet printhead, *Hewlett-Packard J.* 45 no. 01 (1994) 41-45.
256. E.V. Bhaskar, J S. Aden, Development of the thin-film structure for the ThinkJet printhead, thermodynamics and hydrodynamics of thermal ink jets, *Hewlett-Packard J.* 36 no. 05 (1985) 27-33.
257. M. Schwingen, Tintenstrahl digital, *Elektor*, 4 (1992) 132-33.
258. J.C. Kenneth, J.L. Stoffel, R.A. Sader, K.A. Prasad, S.L. Webb, D.H. Donovan, J.G. Moritz, III, B.g. Keefe, S.W. Steinfield, W.D. Childers, Reliable high performance drop generator for an inkjet printhead, US Patent 5946012 (1999).
259. D.A. Fasen, J.E. Beckmann, J.H Stanback, U.E. Hess, J.R. Hulings, L.S. Metz, C.E. Moore, Thermal inkjet printhead structure and method for making the same, US Patent 5159353(1992).
260. N.W Meyer, D.L Micheal, L.V. Nice, G.E. Heppel, K.Baughman, Printhead for an inkjet cartridge and method for producing the same US Patent 6062679 (2000).

261. U. Kumtabtim, A. Siripinyanond, C. Auray-Blais, A. Ntwari, J. S. Becker, Analysis of trace metals in single droplet of urine by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Int. J. Mass Spectrom.* 307 (2011) 174–181.
262. W.D. Childers, Method for aligning a substrate with respect to orifices in an inkjet printhead, US Patent 527331 (1994).
263. H.W. Rice, Next-generation inkjet printhead drive electronics, *Hewlett-Packard J.* 48 no. 3 (1997) 38-39.
264. B.J. Keefe, J. M.F. Ho, K.J. Courian, S.W. Steinfield, W.D. Childers, E.R. Tappon, K.E. Trueba, T.I. Chapman, W. R. Knight, J. G. Moritz, Inkjet printhead architecture for high frequency operation ,US Patent 5604519 (1997).
265. L. Yang, R.E. Sturgeon, Z. Mester, Quantitation of trace metals in liquid samples by dried-droplet laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Anal. Chem.* 77 (2005) 2971-2977.
266. L. Yang, R.E. Sturgeon, Z. Mester, Dried-droplet laser ablation ICP-MS of HPLC fractions for the determination of selenomethionine in yeast, *J. Anal. At. Spectrom.* 20 (2005) 431-435.
267. T.M. Do, H.F. Hsieh, W.C. Chang, E.E. Chang, C.F. Wang, Analysis of liquid samples using dried-droplet laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2011) 610-618.
268. H.F. Hsieh, W.S. Chang, Y.K. Hsieh, C.F. Wang, Using dried-droplet laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry to quantify multiple elements in whole blood, *Anal. Chim. Acta* 699 (2011) 6-10.
269. A. Venkatachalam, C.U. Koehler, I. Feldmann, P. Lampen, A. Manz, P.H. Roos, N. Jakubowski, Detection of phosphorylated proteins blotted onto membranes using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 1023-1032.
270. D.J. Bellis, R. Santamaria-Fernandez, Ink jet patterns as model samples for the development of LA-ICP-SFMS methodology for mapping of elemental distribution with reference to biological samples, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 957-963.
271. M. Bonta, H. Lohninger, M. Marchetti-Deschmann, A. Limbeck, Application of gold thin-films for internal standardization in LA-ICP-MS imaging experiments, *Analyst* 139 (2014) 1521-1531.
272. T. Trejos, R. Corzo, K. Subedi, J. Almirall, Characterization of toners and inkjets by laser ablation spectrochemical methods and Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray Spectroscopy, *Spectrochim, Acta Part B* 92 (2014) 9–22.

273. K. Melessanaki, V. Papadakis, C. Balas, D. Anglos, Laser induced breakdown spectroscopy and hyper-spectral imaging analysis of pigments on an illuminated manuscript, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 2337–2346.
274. M. Oujja, A. Vila, E. Rebollar, J.F. Garcia, M. Castillejo, Identification of inks and structural characterization of contemporary artistic prints by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 1140–1148.
275. A.E. Attard, B.C. Giessen, D.E. Polk, Forensic characterization of papers. II: determination of batch differences by SEM elemental analysis of the inorganic components, *J. Forensic Sci.* 22 (1977) 524–533.
276. J.T. Shelley, S.J. Ray, G.M. Hieftje, Laser ablation coupled to a flowing atmospheric pressure afterglow for ambient mass spectral imaging, *Anal. Chem.* 80 (2008) 8308–8313.
277. S. Hoesl, B. Neumann, S. Techritz, M. Linscheid, F. Theuring, C. Scheler, N. Jakubowski, L. Mueller, Development of a calibration and standardization procedure for LA-ICP-MS using a conventional ink-jet printer for quantification of proteins in electro- and Western-blot assays, *J. Anal. At. Spectrom.* 29 (2014) 1282–1291.
278. S. Hoesl, B. Neumann, S. Techritz, G. Sauter, R. Simon, H. Schluter, M.W. Linscheid, F. Theuring, N. Jakubowski, L. Mueller, Internal standardization of LA-ICP-MS immuno imaging via printing of universal metal spiked inks onto tissue sections, *J. Anal. At. Spectrom.* 31 (2016) 801-808.
279. I. Moraleja, D- Esteban-Fernández, A. Lázaro, B. Humanes, B. Neumann, A. Tejedor, M.L. Mena, N. Jakubowski, M.M. Gómez-Gómez, Printing metal-spiked inks for LA-ICP-MS bioimaging internal standardization: comparison of the different nephrotoxic behavior of cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin, *Anal Bioanal Chem* 408 (2016), 2309–2318.
280. R.N. Udey, D. Jones, G. R. Farquar, Aerosol and microparticle generation using a commercial inkjet printer, *Aerosol Sci. Technol.* 47(2013) 361–372.
281. J.O. Maßmann, Entwicklung und Charakterisierung eines drop-on-demand-Zerstäubers für die Probenzuführung kleinster Volumina in der Plasma-Spektrometrie, Diplomarbeit (2009) Universität Hamburg.
282. H.M. Fischer, R. Jenisch, M. Stohrer, M. Homann, H. Freymuth, E. Richter, P. Häupl, *Lehrbuch der Bauphysik: Schall - Wärme - Feuchte - Licht - Brand - Klima*, Auflage 6 (2008) Vieweg+Teubner Verlag/ GWV Fachverlage GmbH, Wiesbaden; 342.

283. J.O. Orlandini v. Niessen, Entwicklung und Charakterisierung eines drop-on-demand Aerosolgenerators für die Probenzuführung kleinster Flüssigkeitsmengen in der analytischen Atomspektroskopie, Dissertation D77 (2013) Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
284. J.O. Orlandini v. Niessen, J.H. Petersen, J.N. Schaper, N.H. Bings, Comparison of novel and conventional calibration techniques for the analysis of urine samples using plasma source mass spectrometry combined with a new dual-drop-on-demand aerosol generator, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 1234-1244.
285. J.O. Orlandini v. Niessen, K.M. Krone, N.H. Bings, Effect of operation conditions of the drop-on-demand aerosol generator on aerosol characteristics: Pseudo-cinematographic and plasma mass spectrometric studies, *Spectrochim. Acta Part B* 92 (2014) 51–59.
286. J.N. Schaper, Entwicklung eines Pikoliter-Tropfengenerators für die Massenspektrometrische Spuren- und Speziesanalytik, Dissertation (2013) Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
287. J.O. Orlandini v. Niessen, J.N. Schaper, J.H. Petersen, N.H. Bings, Development and characterization of a thermal inkjet-based aerosol generator for micro-volume sample introduction in analytical atomic spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 26 (2011) 1781-1789.
288. Produktinformation HP Store:
<http://store.hp.com/germanyStore/Merch/Product.aspx?id=51645AE&opt=&sel=SUP> zuletzt abgerufen am 08.04.2017.
289. C. Maze, L.E. Johnson, D.A. Kearl, J.P. Shield, Ink and print cartridge development for the HP DeskJet 500C/DeskWriter C printer family, *Hewlett-Packard j.* 43 no.4 (1992) 69-74.
290. P.H. Pacheco, R.A. Gil, S.E. Cerutti, P. Smichowski, L.D. Martinez, Biosorption: A new rise for elemental solid phase extraction methods, *Talanta* 85 (2011) 2290-2300.
291. B. Volesky, H. A. May-Phillips, Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 42 (1995) 797-806.
292. E. Kaschak, B. Knopf, J.H. Petersen, N.H. Bings, H. König, Biotic methylation of mercury by intestinal and sulfate-reducing bacteria and their potential role in mercury accumulation in the tissue of the soil-living *Eisenia foetida*, *Soil Biol. Biochem.* 69 (2014) 202-211.
293. W.N. Beyer, E. Cromartie, G.B. Moment, Accumulation of methylmercury in the earthworm *Eisenia foetida*, and its effects on regeneration, *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 35 (1985) 989-1005.
294. B. Knopf, Methylierung von anorganischem Quecksilber im Intestinaltrakt des Kompostwurms *Eisenia foetida*. Dissertation (2010) Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

295. B.K. Kuhn, K. Birbaum, Y. Luo, D. Günther, Fundamental studies on the ablation behaviour of Pb/U in NIST 610 and zircon 91500 using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry with respect to geochronology *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 21-27.
296. M. Zischka, P. Schramel, H. Muntau, A. Rhenert, M. Gomez Gomez, G. Wannemaker, R. Dams, Ph. Quevanviller, E.A. Maier, The certification of the contents (mass fractions of Palladium and rhodium in road dust, EUR 20307 EN (2002).

VII.2. Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines TRFA-Instruments.	8
Abbildung 2: Schematischer Aufbau einer ICP-Anregungsquelle, simulierte Plasmatemperaturen, modifiziert nach Aghaei et al. ⁵⁵	21
Abbildung 3: Schematischer Aufbau verschiedener Zerstäubertypen.	23
Abbildung 4: Schematischer Aufbau verschiedener Sprühkammertypen zum Eintrag flüssiger Proben mittels Zerstäuber in ein ICP.	25
Abbildung 5: Schematischer Aufbau eines ICP-MS, simulierte Gasgeschwindigkeiten vor dem Sampler, modifiziert nach Aghaei et al. ⁵⁵	26
Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines doppeltfokussierenden Sektorfeld ICP-MS.	35
Abbildung 7: Schematischer Aufbau eines Quadrupol Massenfilters.	38
Abbildung 8: Flugbahnen verschiedener Ionenstrahlkomponenten in Abhängigkeit ihrer Masse a , b , und c in x - z bzw. y - z Richtung durch einen Quadrupol, skizziert nach Turner et al. ²⁰	39
Abbildung 9: Ausschnitte aus den Stabilitätsdiagrammen zur Veranschaulichung von Lösungen der Mathieu-Gleichung: Übersicht über die drei Stabilitätsbereiche I-III (links), Ausschnitt des stabilen Bereichs I, der zu Massenseparation in allen kommerziellen Geräten Verwendung findet (rechts), skizziert nach Turner et al. ²⁰ und Ying et. al. ¹³¹	41
Abbildung 10: Vereinfachte Stabilitätsbereiche von zwei verschiedenen m/z -Verhältnissen (a) und (b) in Abhängigkeit der angelegten Gleich- und Wechselspannung sowie verschiedenen Arbeitsgeraden zur m/z -Separation, skizziert nach Thomas. ²¹	42
Abbildung 11: Schematischer Aufbau eines Sekundärelektronenvervielfältigers (oben) und eines Kanalelektronenvervielfältigers (unten).	46
Abbildung 12: Elektronische Energieübergänge in einem Drei-Niveau-System.	56
Abbildung 13: Schematischer Aufbau eines Stablaser.	57
Abbildung 14: Schematischer Aufbau eines Stablaser mit Güteschaltung.	59
Abbildung 15: Schematischer Aufbau eines Frequenzvervielfachers am Beispiel der Verfünfachung der Ausgangsfrequenz eines Nd:YAG Lasers.	61
Abbildung 16: Übersicht über verschiedene Prozesse bei der LA, die zur einer Aerosolbildung beitragen. (Zur Veranschaulichung unabhängig des zeitlichen Ablaufs dargestellt).	66
Abbildung 17: Schematischer Aufbau eines Laserablationssystems für die Analyse mittels ICP-MS. .	68
Abbildung 18: Schematischer Aufbau der Laserablationskammern, die im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden. Links: kompakter Kammeraufbau, mit Beprobungsstelle nahe des Gas- und	

Aerosolauslasses, ähnlich des von Gerevich et al. ¹⁸⁵ vorgeschlagenen Aufbau; rechts: Kammeraufbau mit separater Aerosolextraktions-kammer, ähnlich der von Arrowsmith et al. ¹⁸⁷ untersuchten Kammern.....	70
Abbildung 19: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines piezobasierten Tropfengenerators.....	77
Abbildung 20: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines thermischen Tintenstrahldruckes. Die Reihenfolge der Nummerierung entspricht hierbei der Abfolge im Dosierzyklus.....	81
Abbildung 21: Illustration eines HP 29 Druckkopfes. Links: Zuordnung der elektrischen Kontaktfelder zu den entsprechenden Düsen (G1-1 bis G4-13) Rechts: schematischer elektrischer Schaltplan.....	82
Abbildung 22: Schematische Skizze zu einem HP 45 Druckkopf. Links: Anordnung der elektrischen Ansteuerungskontakte. Rechts: Elektrischer Schaltplan.....	84
Abbildung 23: Schematische Darstellung des allgemeinen Aufbaus des entwickelten pL-Dosiersystems.	95
Abbildung 24: Dosiereinheiten, erhalten nach Modifikation der Tintenpatronen. Links: hergestellt aus Druckpatrone Typ "HP 49"; rechts: "Typ HP 45".	96
Abbildung 25: Elektrischer Schaltplan der Verstärkerstufe 1 (Darlington Verstärkerstufe) des pL-Dosiersystems Typ "A".	97
Abbildung 26: Elektrischer Schaltplan der Verstärkerstufe 2 (FET-Verstärkerstufe) des pL-Dosiersystems Typ "B".	98
Abbildung 27: Elektrischer Schaltplan des Impulsgenerators (1) der pL-Dosiersysteme Typen "A" und "B".	99
Abbildung 28: Blockschaltplan des LabView-Programms (V.1) zur Steuerung der pL-Dosiersysteme Typ "A" und "B".....	100
Abbildung 29: Schematischer Aufbau des Dosierinterfaces des pL-Dosiersystems Typ "C"......	101
Abbildung 30: Fotografien des pL-Dosiersystems Typ "C". Links: Dosierinterface; rechts oben: Auslassdüsen des Schutzgases aus dem Kanalsystem; rechts unten: integrierte Mikroskopkamera.	102
Abbildung 31: Elektrischer Schaltplan der Steuerung III.	103
Abbildung 32: Elektrischer Schaltplan der Steuerung des Elektromagneten zur Bewegung der Verschlussblende des Interfaces im pL Dosiersystem Typ "C".	104
Abbildung 33: Blockschaltplan des LabView-Programms (V.2) zur Steuerung des pL-Dosiersystems Typ "C".....	105
Abbildung 34: Mikroskopische Bilder der gebildeten Flüssigkeitsrückstände nach Mehrfachdosierung während der Optimierung der Pulsbreite (pL-Dosiersystem Typ "C", dosierte Lösung: 1 g L ⁻¹ Sr, Pulsspannung 10 V) Links: Pulsbreite 1,65 µs; rechts: Pulsbreite: 2,0 µs.	106

Abbildung 35: Schematische Darstellung des Dosier-Interfaces mit den für die mikroskopische Charakterisierung relevanten Parametern: Abstand von der Zielebene zu Düse (h), laterale Unsicherheit der Tropfenposition (σx), maximaler Streuwinkel der Trajektorien (α) und maximaler Durchmesser der vom Tropfeneinschlag betroffenen Fläche (d_{\max}). 109

Abbildung 36: Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen von Rückständen nach einfacher und mehrfacher Dosierung eines 1 g L^{-1} In Einzelelementstandards (Träger: Makrolon, pL-Dosiersystem Typ "A", Pulsparameter: $4 \mu\text{s}$, 12 V , 1 Hz); oben: Querschnitte von je drei untersuchten Rückständen, unten: perspektivische Bilder von je einem Rückstand. 115

Abbildung 37: Signalverläufe der gemessenen TRFA-Intensitäten von Rückständen (nach 3, 6 und 9-facher Dosierung) nach Dosierung eines 1 g L^{-1} Ga-Einzelelementstandards in Abhängigkeit von der Pause zwischen zwei Dosierereignissen ($0,05 - 60 \text{ s}$) und der Anzahl der Dosiervorgänge (pL-Dosiersystem Typ "A", Pulsparameter: $6 \mu\text{s}$, 12 V). 116

Abbildung 38: Signalverläufe der jeweils auf den Mittelwert normierten Ga- und Ni-TRFA-Intensitäten (absolute Ga-Signale siehe Abbildung 37) eines 1 g L^{-1} Ga-Einzelelementstandards in Abhängigkeit von der Dosierreihenfolge (pL-Dosiersystem Typ "A", Pulsparameter: $6 \mu\text{s}$, 12 V , Dosierfrequenz: 1 min^{-1}). 117

Abbildung 39: Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Rückständen nach mehrfacher Dosierung (A: 2, B: 4, C: 8 und D: 16 Dosiervorgänge) eines 1 g L^{-1} Sr-Einzelelementstandards (Träger: Makrolon, pL-Dosiersystem Typ "B", Pulsparameter: $1,64 \mu\text{s}$, 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}). 119

Abbildung 40: Quantitative Bestimmung der mittleren dosierten Tropfengröße mit TRFA und ICP-MS (pL-Dosiersystem Typ "B", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$, 10 V) 120

Abbildung 41: Untersuchungen zur Dosierpräzision durch Vergleich von 5 Messungen an je 5 individuellen Rückständen (Dosierte Lösung: 1 g L^{-1} Sr, pL-Dosiersystem Typ "B", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$, 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}). 122

Abbildung 42: Transferierte Masse pro Dosiervorgang in Abhängigkeit vom Schutzgasfluss des Dosierinterfaces (Dosierte Lösung: 1 g L^{-1} Sr, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$, 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}). 126

Abbildung 43: Transferierte Masse pro Dosiervorgang in Abhängigkeit von der Pausendauer zwischen zwei aufeinanderfolgenden Dosierereignisse bei Verwendung von trockenen und angefeuchtetem Schutzgas (Dosierte Lösung: 1 g L^{-1} Sr, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$, 10 V , Dosierfrequenz: 1 s^{-1}). 127

Abbildung 44: Histogramm der Durchmesser der ausgestoßenen Tropfen in Abhängigkeit von der ausgewählten Düse (Dosierte Lösung: $0,2 \text{ g L}^{-1}$ Merck IV Multielementstandard, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,0 \mu\text{s}$, 10 V , Dosierfrequenz: $1,25 \text{ s}^{-1}$). 128

Abbildung 45: Mikroskopische Bilder von Rückständen nach der Trocknung von pL-Volumina einer 1 g L^{-1} Sr Standardlösung in Abhängigkeit der Anzahl der Dosierungsvorgänge (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$ 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1}) (A-C) und eines Ablationskraters (D), aufgenommen mit der Kamera des verwendeten Cetac Laserablationssystems. 132

Abbildung 46: Kalibrierfunktion für Sr unter Verwendung der TRFA (links) und LA- ICP- SFMS (rechts) Dosierte Lösung: 1 g L^{-1} Sr, pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,5 \mu\text{s}$ 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1} 133

Abbildung 47: Kalibrierfunktionen für Sr unter Verwendung der LA-ICP-QMS. A: konzentrationsbasierte Kalibrierung: je ein Dosierungsvorgang einer 30, 60, 125 und 250 mg L^{-1} Sr Lösung; B: tropfenzahlbasierte Kalibrierung: 1, 2, 4, 8 Dosierungsvorgänge einer 30 mg L^{-1} Sr Lösung (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,1 \mu\text{s}$ 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1})..... 134

Abbildung 48: Mikroskopische Aufnahmen von farbstoffhaltigen Rückständen. Oben: Rückstände von Analyt und Farbstoff, unten: Rückstände von Analyt, Farbstoff und Natriumchlorid (pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $1,8 \mu\text{s}$ 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1}). 141

Abbildung 49: Aufnahme eines Rückstandes nach der Dosierung auf ein Agarosegel. Sicht durch die Optik des Laserablationssystems (4 Dosiervorgänge einer 100 mg L^{-1} Multielement Lösung; pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,1 \mu\text{s}$ 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1}). 143

Abbildung 50: Zeitlicher Verlauf der transienten Signale bei der Analyse von A) auf Kunststoffoberflächen erzeugten Rückständen und B) in Agarosegel erzeugten Rückständen mittels LA-ICP-QMS. 144

Abbildung 51: Vergleich von Einzelmesswerten für die Ablation von gelbasierten sowie auf Kunststoffoberflächen erzeugten Kalibrierstandards: A) Detailausschnitt 0-5 pg, B) Übersicht aller Messpunkte..... 146

Abbildung 52: Mittels TRFA und Zellzählung ermittelte Biosorption von Zn, Pb und Hg an Hefezellen in Abhängigkeit der Elementkonzentration in der Ausgangslösung. 149

Abbildung 53: Kalibrierfunktion für die LA-ICP-MS-Analyse von einzelnen Hefezelle basierend auf der Ablation von auf Agarosegelen erzeugten Kalibrierstandards: A) Detailausschnitt 0-10 pg, B) Übersicht aller Messpunkte. 150

Abbildung 54: Aufnahme eines Rückstands nach der Dosierung auf eine in Agarosegel fixierte Hefezelle (links: 1 Dosiervorgang, rechts: 4 Dosiervorgänge, 200 mg L^{-1} Multielement Lösung; pL-Dosiersystem Typ "C", Pulsparameter: $2,0 \mu\text{s}$ 10 V, Dosierfrequenz: 1 s^{-1}). 153

Abbildung 55: Vergleich der Kalibrierfunktion für ^{208}Pb bei der Ablation von gelbasierten Kalibrierstandards und den Intensitäten bei der Standardaddition auf dotierten Hefezellen. 154

Abbildung 56: Verlauf der transienten Signale für ^{202}Hg bei der LA-ICP-QMS Analyse von Gewebeschnitten des Wurms *Eisenia foetida*. 155

Abbildung 57: Mittlere Nettointensitäten für ^{202}Hg bei LA-ICP-QMS-Messungen an verschiedenen Kompartimente in zwei Gewebeschnitten des Wurms *Eisenia foetida* 156

Abbildung 58: Histologischer Querschnitt von *Eisenia foetida* mit entsprechend der gemessenen Signalintensität eingefärbten Ablationspositionen. 157

Abbildung 59: Verlauf der transienten Signale bei der LA-ICP-QMS Analyse von NIST 610-Partikeln: A) ^{88}Sr -Signale für fünf verschiedene Partikel und mittels DOD hergestellte Kalibrierstandards; in Klammern: die berechnete Analytmasse, B) Signale ausgewählter Isotope für Partikel 1. 159

Abbildung 60: Darstellung der ermittelten Analytkonzentration in Abhängigkeit von der berechneten Partikelmasse für 35 BCR-723 Partikel. 162

VII.3. Formel- und Gleichungsverzeichnis

Kategorie und Nummer		Seite
Formel 1	$M \rightleftharpoons M^+ + e$	14
Formel 2	$M + e^* \rightarrow M^* + e$	15
Formel 3	$M + e^* \rightarrow M^+ + 2e$	15
Formel 4	$M + X^* \rightarrow M^* + X$	15
Formel 5	$M + X^+ \rightarrow M^+ + X$	15
Formel 6	$M + X^* \rightarrow XM^* \rightarrow M^+ + X + e$	15
Formel 7	$M + X^* \rightarrow XM^* \rightarrow XM^+ + e$	15

Kategorie und Nummer		Seite
Gleichung 1	$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$	1
Gleichung 2	$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}}$	1
Gleichung 3	$RSD = \frac{\sigma}{\bar{x}}$	1
Gleichung 4	$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}(x-\mu)}$	2
Gleichung 5	$u = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	2
Gleichung 6	$u = \sqrt{\sum_i u_i^2} \text{ bzw. } \sigma = \sqrt{\sum_i \sigma_i^2}$	2
Gleichung 7	$\Delta y = \sum_i \left \frac{\partial y}{\partial x_i} \right \Delta x_i$	3
Gleichung 8	$\Delta_m = c_m - c_{CRM} \leq U = k \sqrt{u_m^2 + u_{CRM}^2}$	3
Gleichung 9	$m = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum (x_i - \bar{x})^2}$	3
Gleichung 10	$b = \bar{y} - b\bar{x}$	4
Gleichung 11	$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}}$	4
Gleichung 12		4

	$BEC = \frac{y_0}{m}$	
Gleichung 13	$LOD = \frac{k_D \sigma_{y_0}}{m}$	4
Gleichung 14	$LOD = \frac{3\sqrt{2}\sigma_{y_0}}{m}$	5
Gleichung 15	$LOQ = \frac{10\sigma_{y_0}}{m}$	5
Gleichung 16	$R = \frac{m}{\Delta m}$	5
Gleichung 17	$\frac{N^*}{N_0} = \frac{g^*}{g_0} \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T^*}\right)$	13
Gleichung 18	$E_e = \frac{m_e v_e^2}{2} = \frac{3}{2} k_B T_e$	13
Gleichung 19	$T_g = \frac{2,9 \cdot 10^6 \text{ nm K}}{\lambda_{\max}}$	14
Gleichung 20	$\frac{n_e n_{k+1}}{n_k} = 2 \frac{Z_{k+1}}{Z_k} \left(\frac{\sqrt[3]{2 \pi m_e k T_i}}{h^3}\right) \exp\left(\frac{\chi - \Delta\chi}{k_B T_i}\right)$	14
Gleichung 21	$\frac{[M^+]}{[M]} = 2 \frac{2}{n_e} \left(\frac{2 \pi m_e k T_e}{h^2}\right)^{\frac{3}{2}} \frac{Q^+}{Q_0} \exp\left(-\frac{IP}{k_B T_i}\right)$	14
Gleichung 22	$x_m = 0,67 D_0 \left(\frac{p_0}{p_1}\right)^{\frac{1}{2}}$	27
Gleichung 23	$\vec{F}_E = q \cdot \vec{E}$	31
Gleichung 24	$\vec{F}_B = q \cdot \vec{v} \times \vec{B}$	31
Gleichung 25	$r = \frac{mv^2}{F}$	31
Gleichung 26	$E_{kin} = \frac{1}{2} mv^2 \approx qU$	31
Gleichung 27	$r_B = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2U}{e}} \left(\frac{m}{z}\right)$	32
Gleichung 28	$\left(\frac{m}{z}\right) = \frac{e r_B^2 B^2}{2U}$	32
Gleichung 29	$r_E = \frac{E_{kin}}{qE} = \left(\frac{m}{z}\right) \frac{v^2}{2eE} \approx \frac{U}{E}$	32
Gleichung 30	$\xi = \omega t$	40
Gleichung 31	$a = \frac{8eU}{m r_0^2 \omega^2}$	40

Gleichung 32	$q = \frac{4eV}{m r_o^2 \omega^2}$	40
Gleichung 33	$\frac{d^2u}{d\xi^2} + (a - 2q \cos(2\xi))u = 0$	40
Gleichung 34	$c_P = c_1 \frac{V_I}{V_P} \left(\frac{h_I^2 - R \cdot h_I^1}{(R \cdot h_P^1 - h_P^2)} \right)$	53
Gleichung 35	$\tau_P \simeq \frac{1}{(2m + 1)\Delta v_{FSR}}$	60
Gleichung 36	$I_{\omega_1+\omega_2} \propto I_{\omega_1} I_{\omega_2} \text{ bzw. } I_{\omega_1+\omega_1} \propto I_{\omega_1}^2$	61
Gleichung 37	$z_{\text{rel}} = \frac{\frac{m_j(d_j) - m_i(d_i)}{m_i(d_i)}}{d_j - d_i}$	107
Gleichung 38	$d_{\text{max}} = 2 \times \tan \alpha \times h + \bar{d}_{\text{Tropfen}}$	110
Gleichung 39	$\text{LOD} \approx \frac{1}{\sqrt{t_i}}$	139

VII.4. Abkürzungsverzeichnis

ABS	Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymerisat
BCR	Community Bureau of Reference
BEC	Background equivalent level (Untergrund-Äquivalentkonzentration)
CCD	Charge-coupled device
CD	Compact disc
CEM	Sekundärelektronenvervielfacher
cps	Counts per second
CRM	Certified reference material
cts	Counts
DOD	Drop-on-demand
DOF	Distance of flight
DVD	Digital versatile disc
EPMA	Electron probe microanalysis
ESA	Elektrostatistischer Analysator
ESI	Electrospray ionization
ESI	Electro Scientific Industries
FAPA	Flowing atmospheric-pressure afterglow
FET	Feldeffekttransistoren
GC	Gaschromatographie
HEN	High efficiency nebulizer
HP	Hewlett-Packard
HPLC	High performance liquid chromatography
IC	Integrated circuit
ICP	Inductively coupled plasma
ID	Isotope dilution
IRMM	Institute for Reference Materials and Measurements
ISO	International organization for standardization
JGU	Johannes Gutenberg-Universität Mainz
JRC-IRMM	Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (European Commission)
LA	Laserablation
LIBS	Laser induced breakdown spectroscopy
LIMS	Laser ionization mass spectrometry
LOD	Limit of detection (Nachweisgrenze)
LOQ	Limit of quantification (Bestimmungsgrenze)
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MALDI	Matrix-assisted laser desorption and ionization
MC	Multi collector
MDMI	Monodisperse dried microparticulate injector
MISFET	Metal isolator semiconductor field effect transistor
MOSFET	Metal oxide semiconductor field effect transistor

MS	Massenspektrometrie bzw. Massenspektrometer
NIST	National Institute of Standards and Technology
OES	Optische Emissionsspektrometrie
P/A	Puls / Analog
PSE	Periodensystem der Elemente
Q	Quadrupol
RF	Hochfrequenz
RFA	Röntgenfluoreszenzanalyse
RSD	Relative Standardabweichung
SD	Standardabweichung
SEV	Kanalelektronenvervielfältiger
SF	Sektorfeld
TIPS	Thermal inkjet picofluidic system
TOF	Time of flight
TRFA	Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse
USGS	U.S. geological survey

Lebenslauf

Jan Hauke Petersen

Persönliche Angaben

Geburtsdatum: (Persönliche Angabe gelöscht)

Geburtsort: Braunschweig

Studium und Schule

10/2008-05/2012 Studien zur Promotion in Analytischer Chemie an der JGU (Mainz)

3/2003-7/2008 Chemiestudium an der JGU (Mainz)

8/1993-3/2002 Leininger Gymnasium Grünstadt

Beruflicher Werdegang:

Seit 08/2012 wissenschaftlicher Mitarbeiter, Solvias AG (CH-Kaiseraugst)

10/2008-05/2012 wissenschaftlicher Mitarbeiter, JGU (Mainz)

Zivildienst:

06/2002-03/2003 Rettungssanitäter, ASB (Grünstadt)

Veröffentlichungen:

1. E. Kaschak, B. Knopf, J.H. Petersen, N.H. Bings, H. König; Biotic methylation of mercury by intestinal and sulfate-reducing bacteria and their potential role in mercury accumulation in the tissue of the soil-living *Eisenia foetida*. Soil Biol. Biochem. 69 (2014) 202-211.
2. J.O. Orlandini v. Niessen, J.H. Petersen, J.N. Schaper, N.H. Bings, Comparison of novel and conventional calibration techniques for the analysis of urine samples using plasma source mass spectrometry combined with a new dual-drop-on-demand aerosol generator, J. Anal. At. Spectrom. 27 (2012) 1234-1244.
3. M. Kundel, U.R. Thorenz, J.H. Petersen, R.J. Huang, N.H. Bings, T Hoffmann, Application of mass spectrometric techniques for the trace analysis of short-lived iodine-containing volatiles emitted by seaweed, Anal. Bioanal. Chem. 402 (2012) 3345-3357.
4. J.O. Orlandini v. Niessen, J.N. Schaper, J.H. Petersen, N.H. Bings, Development and characterization of a thermal inkjet-based aerosol generator for micro-volume sample introduction in analytical atomic spectrometry, J. Anal. At. Spectrom., 26 (2011) 1781-1789.

5. S. Huebschmann, D. Kralisch, H. Loewe, D. Breuch, J.H. Petersen, T. Dietrich, R. Scholz, Decision support towards agile eco-design of microreaction processes by accompanying (simplified) life cycle assessment; *Green Chem.* 13 (2011) 1694-1707.
6. H. Löwe, R. D. Axinte, D. Breuch, C. Hofmann, J. H. Petersen, R. Pommersheim, A. Wang; Flow chemistry: Imidazole-based ionic liquid syntheses in micro-scale; *Chem. Eng. J* 163 (2010) 429-437.

Aktive Konferenzbeiträge:

7. J. H. Petersen, Jan O. Orlandini v. Niessen, J. Niklas Schaper, Nicolas H. Bings; Neuentwicklungen auf dem Gebiet des Probeneintrags: Erzeugung von Pikoliter Tröpfchen mittels thermischem Tintenstrahl-Druckverfahren. Herbsttagung der Schweizerischen Arbeitsgemeinschaft für Spektrometrie (SASP), Kaiseraugst (Schweiz), 2012 (Vortrag).
8. J. H. Petersen, É. Széles, K. Fél, E. Kaschak, J. O. Orlandini v. Niessen, J. N. Schaper, Zs. Stéfanka, H. König, N. H. Bings; Development of a Novel Calibration Strategy for Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Based on the Ablation of Dried Residues of Standard Solutions Generated by a pL Drop-on-Demand Generator. Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Tucson (USA), 2012. (Poster) (Posterpreis).
9. Nicolas H. Bings, J. Orlandini v. Niessen, J. Niklas Schaper, Jan H. Petersen, Tobias J. Fiedler; Recent Developments in Sample Introduction: Thermal Inkjet Principle for the Generation of Picoliter Volumes. Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Tucson (USA), 2012. (Vortragsvertretung, invited).
10. Jan H. Petersen, J. Niklas Schaper, Jan O. Orlandini v. Niessen, Karin M. Krone, Nicolas H. Bings; Development of a pL Dosing Method Based on Thermal Ink Jet Technology for Precise Mass Transfer onto Solid Samples. Johannes Gutenberg Universität Mainz, Annual Meeting of the Interdisciplinary Research Training Group Program (DFG GRK 826), Castle Ebernburg, Bad Münster an der Nahe (Germany), 2011. (Vortrag).
11. Jan H. Petersen, Michael Kundel, Ute R. Thorenz, J. Niklas Schaper, Ru-Jin Huang, Nicolas H. Bings, Thorsten Hoffmann; Total Iodine Determination in Collected Aerosol and Algae Samples. Johannes Gutenberg Universität Mainz, Annual Meeting of the Interdisciplinary Research Training Group Program (DFG GRK 826), Castle Ebernburg, Bad Münster an der Nahe (Germany), 2011. (Vortrag).
12. Jan H. Petersen, Jan Maßmann, J. Niklas Schaper, Nicolas H. Bings; Development and Characterization of a Picoliter Dosing Method for a Novel Calibration Strategy in LA-ICP-MS Based in Residues of Dried Droplets. Colloquium Analytische Atomspektroskopie, Leipzig (Germany), 2011. (Vortrag).
13. J. H. Petersen, J. N. Schaper, J. Maßmann, N. H. Bings; Development and Characterization of a Drop on Demand (DOD) Generator for a Novel Calibration Strategy for LA-ICP-MS Based on the Ablation of Dried Residues of Individual Picoliter Droplets, European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Zaragoza (Spain), 2011. (Poster).
14. Jan H. Petersen, Jan Maßmann, J. Niklas Schaper, Nicolas H. Bings; Development and Characterization of a Micro Controlled *Drop-on-Demand* (DOD) Generator for Precise Mass Transfer of Standard Solutions on Solid Samples and its Potential for a Novel Calibration Strategy for LA-ICP-MS, Seminar des Graduiertenkollegs, castle Schönburg (Germany), 2010. (Vortrag).

15. J. H. Petersen, J. N. Schaper, J. Maßmann, N. H. Bings; Proposal of a new calibration strategy for LA-ICP-MS based on residues of individual picoliter droplets, 11th Rio Symposium on Atomic Spectrometry, Mar del Plata (Argentina), 2010. (Poster).
16. Jan H. Petersen, Jan Maßmann, J. Niklas Schaper, Nicolas H. Bings; Proposal of a New Calibration Strategy for LA-ICP-MS Based on Dried Residues of Individual Picoliter Droplets, 37th FACSS Conference, Raleigh (USA), 2010. (Poster).
17. Jan H. Petersen, Jan Maßmann, J. Niklas Schaper, Nicolas H. Bings; Entwicklung einer neuartigen Kalibriermethode für die LA-ICP-MS basierend auf Rückständen eingetrockneter Pikoliter-Einzeltröpfchen, 9. Symposium Massenspektrometrische Verfahren der Elementspurenanalyse, Berlin (Deutschland), 2010. (Poster).
18. Jan H. Petersen, Jan Maßmann, J. Niklas Schaper, Anna Schilmann, Nicolas H. Bings; Development and Characterization of a Micro Controlled *Drop-on-Demand* (DOD) Generator for Precise Mass Transfer of Standard Solutions on Solid Samples and its Potential for a Novel Calibration Strategy of LA-ICP-MS. Doktorandenseminar Deutscher Arbeitskreis für Angewandte Spektroskopie der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Zürich (Schweiz), 2010. (Vortrag).
19. Jan H. Petersen, J. Maßmann, J.N. Schaper, T. Fiedler, N.H. Bings; Towards a new calibration method for LA-ICP-MS based on dried residues of individual picolitre droplets. Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Fort Myers (USA), 2010. (Poster).
20. Jan H. Petersen, J. Maßmann, J.N. Schaper, N.H. Bings; Fundamental characterization of a new *drop-on-demand* aerosol generator: introduction of single droplets into plasma excitation and ionization sources. TraceSpec 2009, Mainz (Germany), 2009. (Poster).

Danksagung:

Am Ende angekommen möchte ich mich bei einer ganzen Reihe an Mitmenschen, Firmen und Vereinigungen bedanken, ohne die diese Arbeit nicht in dieser Form möglich gewesen.

- Gelöscht / Anonymisiert-

Herzlichen Dank.

- Gelöscht / Anonymisiert-