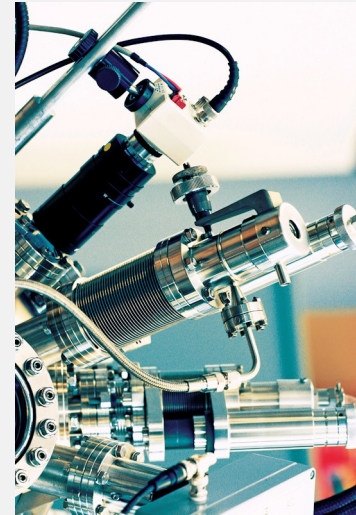




► Application Note

## Moderne Digitizer in der Massenspektrometrie

Vor über 100 Jahren haben Wissenschaftler entdeckt, dass geladene Teilchen mit Hilfe von elektromagnetischen Feldern nach ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis voneinander separiert werden können. Seit jener Zeit wird das wissenschaftliche Gebiet der Massenspektrometrie (MS) ständig weiterentwickelt. Obwohl Spektrometrysysteme heutzutage in verschiedenen Konfigurationen erhältlich sind, hängt ihre Leistung von einigen wenigen grundlegenden Elementen ab. In einem modernen Massenspektrometer sind dies üblicherweise die Ionenquelle (zum Erzeugen der Ionen des zu untersuchenden Materials), der Massenanalysator, der Partikel-Detektor und die dazugehörige Elektronik. Bild 1 zeigt ein Blockdiagramm, wie diese grundsätzlichen Baugruppen zusammenwirken.



## Ionenquellen

In der Massenspektrometrie gibt es eine Vielzahl von Ionenquellen, wobei jede ihre Vor- und Nachteile bei der Analyse von verschiedenen Feststoffen, Flüssigkeiten und Gasen aufweist. Die Ionisierungsmethode ist mit entscheidend dafür, welche Probentypen analysiert werden können. Beispielsweise werden bei festen oder flüssigen biologischen Proben häufig Techniken wie Elektrospray (ES) oder Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisierung (MALDI, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization) eingesetzt, wohingegen bei chemischen Verbindungen mit hoher Molekülmasse ein chemischer Ionisationsprozess besser geeignet ist.

## Massenanalysatoren

Sobald eine Probe ionisiert wurde, werden die Ionen durch elektrische oder magnetische Felder zu einem Massenanalysator geleitet. Die Felder üben auf die geladenen Teilchen Kräfte aus, so dass Ionen mit unterschiedlichen Massen und Ladungen unterschiedlich stark beschleunigt werden. Auf diese Weise kann man die Ionen voneinander trennen. Auch bei den Massenanalysatoren gibt es verschiedene Typen, die ihre Vor- und Nachteile haben. Bei manchen weitverbreiteten Massenanalysatoren kommt das Laufzeit- oder Time-of-Flight-Verfahren (TOF) zum Einsatz. Hierbei werden alle Ionen im selben elektrischen Feld beschleunigt. Der Analysator misst dann die Laufzeit (time of flight), die die einzelnen Ionen benötigen, um zum Detektor zu gelangen. Bei Ionen mit derselben Ladung hängt die Beschleunigung und

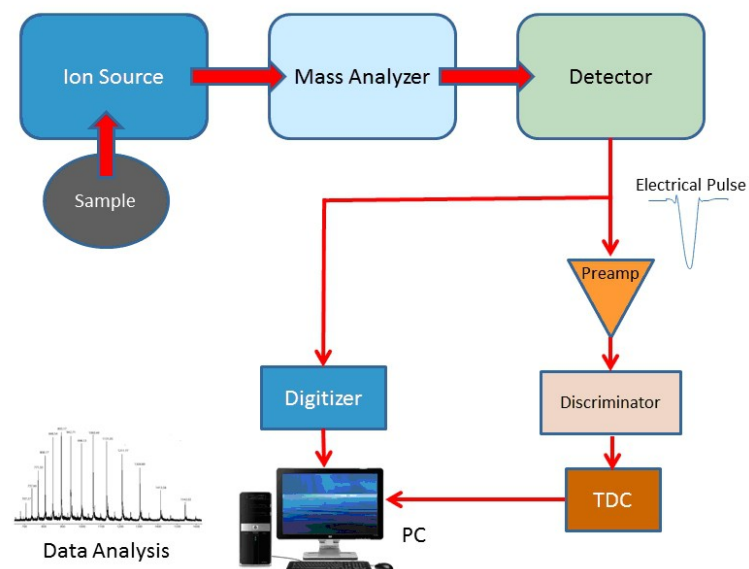


Figure 1: The three main elements of a mass spectrometer are the ion source, mass analyzer and detector. Following that is electronics that is used for acquiring and analyzing the generated electrical pulses.

### ► Application Note

Geschwindigkeit lediglich von der Masse ab. Leichte Teilchen erreichen den Detektor vor den schwereren Teilchen.

Andere Massenanalysatoren ermöglichen die selektive Massenfilterung durch magnetische Felder oder oszillierende elektrische Felder (beispielsweise ein Radiofrequenz-Quadrupolfeld, das mit vier Stäben erzeugt wird). Diese Techniken erhöhen zwar die Komplexität der Instrumente, aber sie ermöglichen dadurch eine höhere Messauflösung und Messempfindlichkeit.

## Detektoren

Das Massenspektrometer besitzt natürlich auch einen Detektor. Er besteht für gewöhnlich aus einem Elektronen-Multiplier, der die Ankunft eines geladenen Teilchens erfasst und in ein elektrisches Signal umwandelt. Bei dem Verfahren kommen meist einige elektrisch geladene Platten zum Einsatz, die eine Elektronenlawine erzeugen, nachdem ein geladenes Teilchen die erste Elektrode getroffen hat. Elektronen-Multiplier sind in verschiedenen Ausführungen und Materialien verfügbar. Zu den gängigsten Multipliern gehören Geräte mit diskreten Dynoden, bei denen mithilfe von sequenziellen Vervielfältigungselektroden mit unterschiedlichem Spannungspotenzial Elektronenkaskaden ausgelöst werden. Üblich sind auch Multiplier mit kontinuierlichen Dynoden, bei denen Halbleitermaterialien und eine gebogene Konstruktion zum Einsatz kommen, um einen Trichtereffekt zu erzeugen. Das Ergebnis sind elektrische Pulse, die zur weiteren Messung und Analyse an die Elektronik weitergeleitet werden.

## Pulsanalyse

Bei den einfachsten Massenspektrometern werden Ladungs- oder Spannungswandler genutzt, um eine analoge Messung zu ermöglichen. Bei ausgefeilteren Systemen kommen Puls- oder Ionenzählmethoden mit Vorverstärkern, Impulsunterscheidern, Zählern, Time-to-Digital-Convertern (TDC), digitalen Oszilloskopen und Digitizern zum Einsatz (Bild 1). Bei den meisten modernen TOF-Massenspektrometern wird entweder die Time-to-Digital-Converter- oder Digitizer-Technologie genutzt.

## Einsatz von TDC

TDCs stellen eine sehr kosteneffiziente Möglichkeit dar, die Ankunftszeit für jedes TOF-Ereignis zu messen. Zudem kann ein Histogramm für das Massenspektrum erzeugt werden, das veranschaulicht, wie häufig ein Puls mit einer bestimmten Ankunftszeit auftritt. Sie eignen sich für Ionenzählsysteme wie bei ESI oder LCMs, wo im Idealfall jeden Moment einzelne Ionen auf dem Detektor einschlagen.

TDCs bieten eine große Bandbreite an Zeitauflösungen (in Größenordnungen von einigen Dutzend Nanosekunden bis wenige Picosekunden), wodurch eine sehr genaue TOF-Messung möglich ist. Allerdings bieten TDCs nur Zeitinformationen, während einige andere Eigenschaften wie Pulsbreiten und -höhen für gewöhnlich verloren gehen. Zusätzlich können TDCs Mehrfachpulse, die von Ionen erzeugt werden, die gleichzeitig oder annähernd gleichzeitig am Detektor eintreffen, nur schwer auflösen. Der TDC fasst diese Mehrfachpulse zu einem einzigen Ereignis zusammen. So gestaltet sich der Einsatz von TDCs in Systemen, bei denen mehrere Ionen pro Peak auf dem Detektor einschlagen (wie etwa MALDI-TOF), sehr problematisch.

## ► Application Note

Ein weiteres Problem bei Mehrfachpulsen ist der mögliche Zeitversatz (Verschiebung des Massenpeaks). Der TDC erkennt nur eine Flanke des Pulses; diese Flanke kann aber bei Pulsen von Einzelereignissen und Mehrfachereignissen leicht zeitversetzt auftreten. Dies kann besonders in Situationen mit hohen Ionenströmen ein erhebliches Problem darstellen.

Um also ein Spektrum mit einem guten Dynamikbereich zu erzeugen, müssen viele Aufzeichnungen gemacht werden. In der Praxis kann dies zehntausende Aufzeichnungen bedeuten! Zur Herausforderung wird dies, wenn das System eine geringe Wiederholungsrate aufweist. Letzteres ist etwa dann der Fall, wenn ein Laserpuls eingesetzt wird, der nur einige Male pro Sekunde abgegeben wird.

## Digitizer und Mittelwertbildner der ersten Generation

Um die Nachteile des TDC zu vermeiden, kann ein Digitizer eingesetzt werden, der die gesamte Puls-Signalform aufzeichnet. Ein Digitizer, der gut auf den Detektor abgestimmt ist, misst nicht nur die Pulsankunftszeit, sondern auch die Form und die Amplitude. Zudem kann ein Digitizer mit einem ausreichenden Aufzeichnungsspeicher mit einem einzigen Triggerereignis mehrere Pulse in derselben Aufzeichnung erfassen. Als Multihit-Gerät kann der Digitizer daher Zeiträume im Mikrosekunden- bis zum zweistelligen Millisekundenbereich aufzeichnen.

In der Vergangenheit war der Einsatz von Digitizern auf die MS mit relativ niedrigen Ionenquellen-Ereignisraten eingeschränkt. So etwa auf MALDI-TOF-Systeme, bei denen die Wiederholungsrate des Lasers für gewöhnlich weniger als einige hundert Hertz beträgt. Vor der nächsten Aufzeichnung musste der Digitizer die digitalisierten Daten an den Host-Rechner übertragen. Die meisten frühen rechnergestützten Digitizer basierten auf der PCI-Technologie, wodurch nur Übertragungsraten von etwa 100 MB/s möglich waren. Deshalb entwickelten Digitizer-Hersteller Produkte mit zusätzlichem Speicherplatz und On-Board-Additionshardware normalerweise mit einem Field Programmable Gate Array (FPGA), damit mehrere Aufzeichnungen auf dem Digitizer verarbeitet und gespeichert werden können. Die zusätzliche Hardware reduziert wirksam die Datenmengen, die an den Computer übertragen werden müssen. Derartige Produkte werden gelegentlich als Averager oder integrierende Transienten-Recorder bezeichnet.

Dank ihrer schnelleren Trigger- und Aufzeichnungsraten können Averager für die bei Massenspektrometern mit kontinuierlicher Ionenquelle auftretenden schnelleren Wiederholungsraten eingesetzt werden. Diese Wiederholraten, die bis in den zweistelligen kHz-Bereich gehen können, treten bei den meisten Geräten mit orthogonaler Beschleunigung (aoTOF) auf, oder bei Ionen, die durch induktiv gekoppeltes Plasma (ICP) erzeugt werden.

Die Hauptnachteile von Averagern sind die Kosten (für gewöhnlich höher als bei konventionellen Digitizern) und der beschränkte Aufzeichnungsspeicher, wodurch die maximale Single-Shot-Aufzeichnungszeit begrenzt wird.

► Application Note

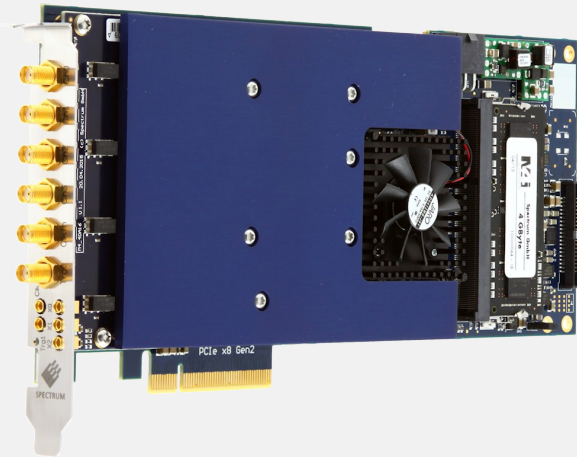
## Moderne Digitizer und Analysatoren

Bei der neuesten Digitizer-Generation wurden die meisten dieser Probleme beseitigt. Durch den Einsatz des PCIe-Busses anstelle des älteren PCI-Busses können die Übertragungsraten ohne weiteres 3 GB/s übersteigen. Zudem gehört bei den meisten schnellen Digitizern die FPGA-Technologie zum Standard. Die ultraschnellen Übertragungsraten und die FPGA-Technologie ermöglichen es den Anwendern, ihren eigenen Signalverarbeitungspfad zu wählen. Aufgezeichnete Signalformen können umgehend an den PC weitergeleitet werden, so dass je nach Bedarf sowohl hardware- als auch softwarebasierte Mittelungsverfahren angewendet werden können. Beispielsweise verfügt die Digitizer-Karte M4i.2230-x8 von Spectrum (Bild 2) über eine Abtastrate von bis zu 5 GS/s, eine Bandbreite von über 1,5 GHz und einen On-Board-Speicher mit 4 GSamples. So kann sie ohne Schwierigkeiten lange Aufzeichnungen machen und schnelle Pulse im Subnanosekunden-Bereich erfassen. Die Einheit verfügt über ein FPGA, das die Addition von 32-kSamples-Aufzeichnungen bei Triggerraten von bis zu 150 kHz oder von 128-kSamples-Aufzeichnungen bei Raten von 38 kHz ermöglicht. Für längere Aufzeichnungen kann die Addition in Software durchgeführt werden wobei in Tests 512 kSamples bei einer Triggerrate von 6 kHz erreicht wurden. Die Fähigkeit, lange Aufzeichnung per Software zu addieren, verdankt die Karte vor allem ihrem PCI-Bus der zweiten Generation mit 8 Lanes, der Übertragungsraten von bis zu 3,4 GB/s unterstützt.

Weitere Details zur Hardware- und Software-Mittelwertbildung der M4i Digitizer sowie die Einrichtung und Testergebnisse sind im Produkthinweis „Using Software Based Fast Block Averaging“ verfügbar:

<http://spectrum-instrumentation.com/en/using-software-based-fast-block-averaging>

Ein weiteres Merkmal moderner Digitizer ist ihr TDC-ähnlicher Betrieb. Mit der geeigneten Firmware (wie z.B. der Blockstatistik-Option von Spectrum) können die Karten für die Ausführung von Peak-Erkennungsfunktionen eingerichtet werden. Dabei werden die Position eines Peaks (im Verhältnis zu einem Triggerpunkt) sowie seine Minimal- und Maximalwerte wirksam erfasst. Dieser Modus kann bei sehr hohen Triggerraten eingesetzt werden. Mit den Ergebnissen lassen sich Histogramme der Peak-Positionen erzeugen.



**Bild 2: Die Digitizer-Karte M4i.2230-x8 von Spectrum eignet sich ideal für die Aufnahme von Pulsen herab bis zu 500 ps und bietet eine On-Board-FPGA-basierte Mittelwertbildung und ultraschnelle Datenübertragung mit 3,4 GByte/s.**

► **Application Note**

## Auswahl eines geeigneten Digitizers

Bei der Vielzahl von Massenspektrometern auf dem Markt gibt es keinen Digitizer, der allein alle möglichen Systeme abdecken kann. Zu beachten sind wichtige Spezifikationen wie die Abtastrate und die Bandbreite, die die schmalsten noch digitalisierbaren Pulse definiert, sowie die vertikale Auflösung und die Empfindlichkeit. Diese definieren den Dynamikbereich und damit die Möglichkeit, gleichzeitig große und kleine Pulse aufzuzeichnen. Spectrum verfügt über eine große Bandbreite an Digitizern mit verschiedenen Leistungsmerkmalen. Die folgende Tabelle führt die Modelle auf, die für die Massenspektrometrie am besten geeignet sind.

Modell	Kanäle	Abtastrate	Auflösung	Bandbreite	Speicher pro Kanal	Hardware Block Averaging	Hardware Block Statistics	Daten-Übertragung
M4i.2230-x8	1	5 GS/s	8 Bit	1.5 GHz	4 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.2220-x8	1	2.5 GS/s	8 Bit	1.5 GHz	4 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.2221-x8	2	2.5 GS/s	8 Bit	1.5 GHz	2 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.2210-x8	1	1.25 GS/s	8 Bit	500 MHz	4 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.2211-x8	2	1.25 GS/s	8 Bit	500 MHz	2 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.2212-x8	4	1.25 GS/s	8 Bit	500 MHz	1 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.4450-x8	2	500 MS/s	14 Bit	250 MHz	1 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.4451-x8	4	500 MS/s	14 Bit	250 MHz	512 MSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.4420-x8	2	250 MS/s	16 Bit	125 MHz	1 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.4421-x8	4	250 MS/s	16 Bit	125 MHz	512 MSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.4410-x8	2	130 MS/s	16 Bit	65 MHz	1 GSample	Optional	Optional	3.4 GB/s
M4i.4411-x8	4	130 MS/s	16 Bit	65 MHz	512 MSample	Optional	Optional	3.4 GB/s

Tabelle 1. Spectrum bietet eine umfangreiche Palette an Digitizer-Produkten mit A/D-Auflösungen von 8, 12, 14 und 16 Bit und Abtastraten von bis zu 5 GS/s.

## Vorverstärkung von kleinen Amplituden

Für Pulse mit niedrigen Amplituden, die möglicherweise vor der Einspeisung in den Digitizer vorverstärkt werden müssen, bietet Spectrum ebenfalls eine Reihe an kleinen und kompakten Vorverstärkern (Bild 3), die mit den oben genannten Digitizer kombiniert werden können. Diese rauscharmen Vorverstärker sind mit AC- und DC-Kopplung, 50  $\Omega$  bis 1 M $\Omega$  Impedanz, 10- bis 100-facher Verstärkung und Bandbreiten von bis zu 2 GHz verfügbar.

Weitere Informationen zu m vollständigen Spectrum-Angebot an Vorverstärkern sind verfügbar unter:

<http://spectrum-instrumentation.com/en/external-pre-amplifier>



Bild 3. Die Verstärker der SPA-Baureihe eignen sich ideal, um Niederpegel-Detektorsignale vor der Einspeisung in einen Digitizer zu verstärken.

► Application Note

## Fallstudie

Wie oben erwähnt, hat die Ionenquelle entscheidenden Einfluss darauf, welcher Proben typ von einem bestimmten Spektrometer analysiert werden kann. Eine Methode, die der Pharmaindustrie ein großes Potenzial bietet, ist die resonanzverstärkte Mehrphotonenionisation (REMPI, resonance-enhanced multi-photon ionization). REMPI ist eine laserbasierte Gasphasen-Spektroskopie mit ab-initio-Berechnungen, die präzise Informationen zur Struktur von Molekülen wie etwa Neurotransmittern liefert. Das Ergebnis ist eine sichere Grundlage für das Verständnis des Molekülverhaltens und erlaubt letztendlich die Rationalisierung des Wirkstoffdesigns. Die resonante Zweiphotonenionisierungstechnik ermöglicht die Messung der elektronischen und Infrarot-Spektren von Molekülen, die auf wenige Grad Kelvin herabgekühlt wurden. Das Ergebnis sind schöne, vereinfachte Spektren, die im Hinblick auf die möglichen Konformer eines Moleküls interpretiert werden können.

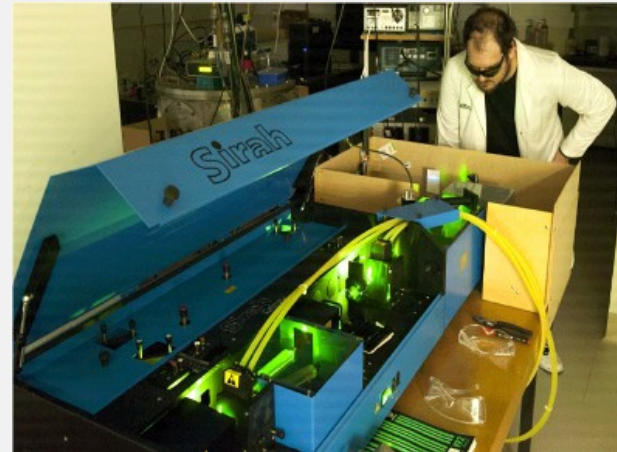


Bild 4. Lasersystem (Vordergrund), das bei einem REMPI-basierten Massenspektrometer (linke hintere Ecke) der Latrobe University zum Einsatz kommt

Die Technik basiert auf einem Time-of-Flight-Massenspektrometer, bei dem bestimmte Ionen auf Grundlage ihrer Ankunftszeit ausgewählt werden. Bild 4 zeigt ein REMPI-MS-System, das an der Latrobe University in Melbourne (Australien) entwickelt wurde.

Das Instrument verwendet einen PCIe-Digitizer von Spectrum (Modell M3i.4121-exp) mit 250 MS/s und 14 Bit für Datenaufzeichnung, -anzeige und -analyse. Bild 5 zeigt Screenshots des Einrichtungsfensters des Systems und die Ergebnisse beim Erfassen von Spektren. Die Digitizer-Steuerung und Datenanalyse erfolgt mit einem individuell angepassten Programm, das mit LabVIEW entwickelt wurde.

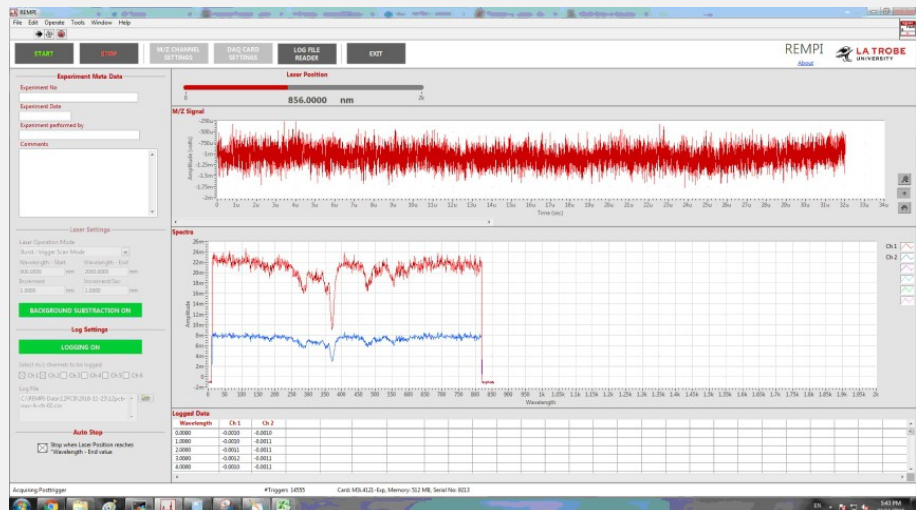


Bild 5. LabVIEW-basierte Instrumenteneinrichtung mit Screenshots der laufenden Spektren



► Application Note

## Zusammenfassung

Der Bereich der Massenspektrometrie entwickelt sich durch den Bau von Geräten mit immer höheren Auflösungen und Messempfindlichkeiten stetig weiter. Da moderne Digitizer die Möglichkeit bieten, elektronische Signale mit einer höheren Zeitauflösung (höhere Abtastrate) und einem verbesserten vertikalen Dynamikbereich (höhere Auflösung) aufzuzeichnen, spielen sie eine wichtige Rolle bei diesem Wandel. Zusätzlich können moderne Digitizer Daten etwa 30-mal schneller als ältere Modelle übertragen. So wird eine größere Datenverarbeitungsrate durch den Rechner ermöglicht. Diese neue Fähigkeit erlaubt den Einsatz von Digitizern in einer größeren Zahl von MS-Anwendungen, da so die Beschränkungen bei der Aufzeichnungszeit verringert, die Produkte vereinfacht und ihre Kosten reduziert werden.