



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 Patentschrift  
10 DE 40 17 804 C 2

51 Int. Cl.<sup>5</sup>:  
G 01 N 1/28  
G 01 N 30/00  
B 01 D 15/08

21 Aktenzeichen: P 40 17 804.8-52  
22 Anmeldetag: 1. 6. 90  
43 Offenlegungstag: 14. 3. 91  
45 Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 24. 11. 94

DE 40 17 804 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

30 Innere Priorität: 32 33 31  
22.08.89 DE 39 27 602.3 22.08.89 DE 39 27 603.1  
20.09.89 DE 39 31 288.7 08.11.89 DE 39 37 165.4

73 Patentinhaber:  
Finnigan MAT GmbH, 28197 Bremen, DE

74 Vertreter:  
Bolte, E., Dipl.-Ing.; Möller, F., Dipl.-Ing., 28209  
Bremen; Popp, E.,  
Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing. Dr. rer. pol.; Sajda, W.,  
Dipl.-Phys.; Bohnenberger, J., Dipl.-Ing. Dr. phil. nat.;  
Reinländer, C., Dipl.-Ing. Dr.-Ing., Pat.-Anwälte,  
80538 München; Böckmann, C., Dr., Rechtsanw.,  
28209 Bremen

72 Erfinder:  
Hillenkamp, Franz, Prof. Dr., 48147 Münster, DE;  
Karas, Michael, Dr., 48161 Münster, DE; Gießmann,  
Ulrich-Peter, Dr., 28209 Bremen, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit  
in Betracht gezogene Druckschriften:  
DE-AS 21 41 387  
DE-OS 36 29 394  
DE-OS 28 19 711  
US 42 59 572  
US 40 91 256  
US-Z.: International Journal of Mass Spektrometry  
and Ion Processes, 78 (1987) 53 bis 68, M. Karas, et al,  
»Matrix-assisted ultraviolet Laser Desorp- tion of  
non-volatile compounds«;  
US-Z.: Analytical Chemistry, 1985, 57, 2935, M. Karas  
et al, »Influence of the Wavelength in  
High-Irradiance Ultraviolet Laser Desorption-Mass  
Spectrometry of Organic Molecules«;  
US-Z.: Biomedical mass spectrometry, Vol. 12, No. 4,  
1985;  
L. G. Wright et al., »Matrix Enhanced Laser  
Desorption in Mass Spectrometry and Tandem Mass  
Spectrometry«;  
US-Z.: Anal. Chem. 1983, 55, 1302 bis 1305, D.V. Davis  
et al, »Identification of Naturally Occuring  
Quaternary Compounds by Combined Laser  
Desorption and Tandem Mass Spectrometry«;

54 Verfahren und Verwendung einer Vorrichtung zur matrix-unterstützten Laserdesorption von Analytmolekülen,  
insbesondere Biomolekülen

DE 40 17 804 C 2

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur matrix-unterstützten Laserdesorption von Analytmolekülen, insbesondere Biomolekülen, aus einem Präparat, welches das Analyt und eine Laserlicht absorbierende Matrix  
5 beinhaltet, für Moleküle in einem Bereich von 10 000 bis mehreren 100 000 Dalton. Weiter betrifft die Erfindung die Verwendung einer Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.

Die matrix-unterstützte Laserdesorption ist als solche an sich bekannt, und zwar im UV-Bereich, insbesondere bei einer Wellenlänge von 266 nm.

Bisherige Erfahrungen mit der Ultraviolett-Laserdesorption haben aber gezeigt, daß intakte Molekülonen,  
10 insbesondere von Biomolekülen, nur sehr schwierig oder gar nicht aus einem Präparat desorbiert werden können, weil auch die Analytmoleküle Laserlicht absorbieren, was zu ihrer Beschädigung führen kann. Bisher werden für die Laserdesorption zumeist Nd-YAG-Laser mit einer Wellenlänge von etwa 266 nm verwendet, da insbesondere für diese Wellenlänge eine große Anzahl von Matrices zur Verfügung steht, die diese Wellenlänge absorbieren können. Gerade Biomoleküle sind aber ebenfalls in diesem Wellenlängenbereich absorptionsfähig,  
15 so daß intakte Biomoleküle mit einem derartigen Laser häufig nicht desorbiert werden können.

Aus einer Veröffentlichung von M. Karas et al, "Matrix-Assisted Ultraviolet Laser Desorption of Non-Volatile Compounds" in International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, 78 (1987) Seiten 53—86, ist es bekannt, die matrix-gestützte Laserdesorption unter Verwendung eines gepulsten UV-Lasers für kleinere Moleküle zu verwenden. Angesprochen sind Moleküle von 400 bis 900 Dalton, maximal 2 843 Dalton.

Die matrix-gestützte Laserdesorption mit Triptophan als absorbierender Matrix für die Ionisierung von Alanin ist bekannt aus einer weiteren Veröffentlichung von M. Karas et al, "Influence of the Wavelength in High-Irradiance Ultraviolet Laser Desorption Mass Spectrometry of Organic Molecules" in Analytical Chemistry, 1985, 57, Seiten 2935 ff. Auch dort ist ein Laser mit einer Wellenlänge von 266 nm angegeben. Größere Moleküle sind nicht angesprochen.

Der Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde, das obengenannte Verfahren dahingehend zu verbessern, daß auch Biomolekülonen, vorzugsweise mit Molekülmassen größer als 10 000 Dalton, mit Hilfe von Laserdesorption  
25 intakt aus einem Präparat desorbiert werden können.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß Laserlicht mit einer Wellenlänge von 300 nm oder mehr und eine in dem gewählten Wellenlängenbereich absorptionsfähige Matrix verwendet werden, etwa  
30 Laserlicht des langwelligeren UV-Bereichs oder des IR-Bereichs.

In dem vorgeschlagenen Wellenlängenbereich größer/gleich 300 nm absorbieren die meisten Biomoleküle das Laserlicht nicht mehr, so daß mit einer geeigneten Matrix, die in diesem Wellenlängenbereich absorptionsfähig ist, mit Vorteil die Desorption intakter Biomoleküle möglich ist. Es gibt nur sehr wenige Biomoleküle, die Wellenlängen über 300 nm absorbieren, beispielsweise Blutfarbstoff. Diese Biomoleküle sind aber eher Ausnahmen.  
35

Geeignete Matrices für die genannten Wellenlängenbereiche ergeben sich aus den Tabellen 1 und 2.

40

45

50

55

60

65

Tabelle 1

## Ausgewählte Matrizes für UV-Laser Desorption/Ionisierung

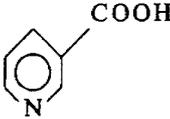
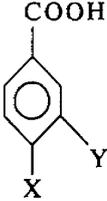
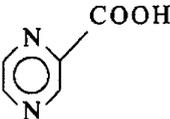
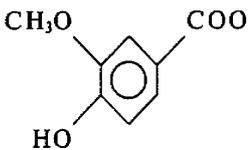
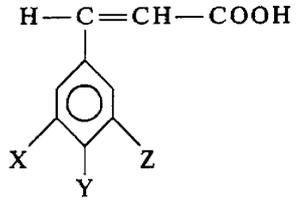
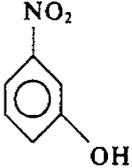
Matrix	Wellenlänge	Strukturformel	
Nikotinsäure	266–290 nm		10
Benzoessäurederivate (2,5-Dihydroxybenzoessäure, Aminobenzoessäure)	266, 337, 355 nm		15 20
Pyrazincarboxylsäure 3-Amino-2-Carboxypyrazin	266 nm 337 nm		25
Vanillinsäure	266 nm		30 35
Zimtsäurederivate (Ferulasäure, Sinapinsäure, Kaffeensäure)	266, 337, 355 nm		40 45
3-Nitrobenzylalkohol	266 nm		50

Tabelle 2

Ausgewählte Matrizes für Infrarot (2,94 µm) Laser-Desorption/Ionisierung

- 5
- Alle Matrizes, die für UV-LDI als geeignet befunden wurden
  - (Mono-, Di-, Tri-)Carboxylsäuren:
- z. B. - Apfelsäure  
 - Malonsäure  
 - Sulzinsäure  
 - Milchsäure
- 10
- R—C

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ // \\ \text{C} \\ \backslash \\ \text{OH} \end{array}$$
- 15
- Glycerin
  - Triäthanolamin
  - Karbamid (Harnstoff)
- flüssige Matrizes

20 Bei diesen geeigneten Matrizes ist zusätzlich zu berücksichtigen, daß die jeweilige Matrix nicht nur für den jeweils ausgewählten Wellenlängenbereich bzw. die ausgewählte Wellenlänge absorptionsfähig sein muß, wobei es prinzipiell mit wachsender Wellenlänge aus Gründen der elektronischen Molekülstruktur immer schwieriger wird, kleine Moleküle mit hoher Absorption zu finden, sondern daß für die Verwendbarkeit einer geeignet absorbierenden Matrix noch andere, in keiner Weise offensichtliche Eigenschaften eine Rolle spielen. Hierzu gehören zum einen die Notwendigkeit, daß Matrixmoleküle auch beim Abdampfen des Lösungsmittels bei

25 Einführen der Probe bzw. des Präparates in das Vakuum mit den Analytmolekülen eine homogene Mischung bilden und nicht seggregieren. Zum anderen dienen die Matrixmoleküle als Protonendonatoren aus dem elektronisch angeregten Zustand und ermöglichen damit erst die Ionisierung der Analytmoleküle. Beide Eigenschaften lassen sich aus üblichen Tabellenwerken nicht entnehmen. Als Beispiel für die Schwierigkeit, geeignete Moleküle zu finden, mag gelten, daß z.B. bei 266 nm die 3-Pyridincarbonsäure (Nikotinsäure) eine exzellente Matrix darstellt, während die 2- oder 4-Pyridincarbonsäuren, bei denen lediglich die COOH-Gruppe um eine Position am Ring versetzt ist, als Matrix völlig unbrauchbar sind.

Die Tatsache, daß die Moleküle nicht nur desorbiert, sondern auch ionisiert werden sollen, macht es überraschend, daß erfindungsgemäß auch Wellenlängen aus dem IR-Bereich für eine derartige Laserdesorption geeignet sind. Für die Ionisierung der Moleküle wird in der Literatur bisher allgemein ein thermischer Prozeß als Ursache angenommen. Die Möglichkeit, mit IR-Wellenlängen eine Desorption großer, thermisch labiler Ionen durchzuführen, mußte auf dieser Grundlage eher als unwahrscheinlich gelten.

Es hat sich gezeigt, daß mit Vorteil auch O—H- und N—H-Gruppen zu besonders starken Absorbieren in dem erfindungsgemäßen Wellenlängenbereich gehören. Diese Gruppen sind aber zugleich die Gruppen, die die chemische Bindung zwischen Analyten und Matrix bilden. Durch präferenzielle Einstrahlung in diese Bindungen kommt es zur besseren Freisetzung der Analytmoleküle, belegt durch die gegenüber bekannter UV-Desorption durchweg höheren Signalstärken. Gleichzeitig kann mit der Lösung dieser Bindungen ein Protonentransfer verbunden sein, der die Ausbeute an geladenen Analytmolekülen erhöht.

Wasser dampft als Matrix leicht in einem Vakuum ab, so daß bei der Verwendung von Wasser dieses unerwünschte Verdampfen nach Möglichkeit unterdrückt werden soll, beispielsweise durch schockartiges Kühlen der Probe und Einbringen der gekühlten, gefrorenen Probe in das Vakuum.

Der Übergang von der bekannten UV-Desorption zur IR-Desorption hat zudem den Vorteil, daß die Auswahl geeigneter, flüssiger Matrizes wesentlich größer ist. Dies führt insbesondere dazu, daß auch eine Kopplung von Flüssigchromatografie und Massenspektrometrie durchgeführt werden kann.

Eine andere Weiterbildung des beanspruchten Verfahrens zeichnet sich dadurch aus, daß eine derartige Kombination von Wellenlänge und Matrix gewählt wird, die zu einer höheren Ladungszahl der erzeugten Ionen führt.

Dies hat insbesondere den Vorteil, daß solche Ionen mit vielen Ladungen beispielsweise auch in klassischen Massenspektrometern, also beispielsweise nicht in Flugzeitmassenspektrometern, nachweisbar sind, die aufgrund ihrer Konstruktion eigentlich nur für kleinere Moleküle geeignet sind. Dies ist möglich, weil sich beispielsweise ein Ion der Masse 100 000 Dalton mit zehn Ladungen massenspektrometrisch genauso verhält wie ein Ion der Masse 10 000 Dalton mit nur einer Ladung.

Ionen mit Vielfachladungen lassen sich zudem auch leichter durch Stoß mit anderen Teilchen oder mit Oberflächen oder durch Photonenbeschuß fragmentieren. Dies ist insbesondere für die sogenannte MS-MS-Technik von großer Bedeutung und von großem Vorteil, bei der zwei Massenspektrometer hintereinandergeschaltet werden. Damit kann eine besonders gute Strukturforschung an Molekülen betrieben werden.

Zur gezielten Erzeugung mehrfach geladener Ionen können auch die Impulsdauer, die Bestrahlungsstärke und/oder die Größe des bestrahlten Areals verändert werden.

Eine weitere Weiterbildung des beanspruchten Verfahrens sieht vor, daß das Präparat (von hinten) mit dem Laserlicht durchstrahlt wird, wozu das Substrat bzw. ein Träger des Präparates für die entsprechende Wellenlänge transparent ist. Diese Durchstrahlung (Backillumination) ist insbesondere bei einer Kopplung von Flüssigchromatografie und Massenspektrometrie von besonderem Vorteil.

Eine zu verwendende Vorrichtung, vorzugsweise zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens, zeichnet sich durch einen Laser für Laserlicht einer Wellenlänge größer/gleich 300 nm aus, wobei es sich um

einen UV-Laser oder einen IR-Laser handeln kann.

Beispielsweise können Stickstofflaser, CO<sub>2</sub>-Laser und Er-Laser eingesetzt werden, die jeweils Laserlicht mit einer Wellenlänge von etwa 337 nm, 10 600 nm bzw. 3000 nm aussenden.

Es können Er-Laser mit unterschiedlichen Kristallmaterialien verwendet werden, beispielsweise Er-YAG-Laser oder Er-YLF-Laser. Je nach Kristallmaterial hat dieser Er-Laser eine etwas andere Wellenlänge, so daß hierdurch Er-Laser quasi in einem etwas größeren Wellenlängenbereich fein abgestimmt werden können. 5

Es ist beispielsweise auch die Verwendung von HF-Lasern oder Ho-YAG-Lasern denkbar.

Die Verwendung eines Lasers mit einer Wellenlänge größer/gleich 300 nm erlaubt mit Vorteil zudem die Verwendung eines Lichtleiters, z. B. einer Faseroptik, zur Leitung des Laserlichts vom Laser zum Präparat.

Die Verwendung von Lichtleitern erlaubt mit Vorteil eine besonders einfache Ausbildung und Handhabung der beanspruchten Vorrichtung, insbesondere lassen sich die Lichtleiter in besonders einfacher Weise in ein Vakuum einführen, und es läßt sich mit dem Lichtleiter in einfacher Weise der gewünschte Auftreffwinkel des Lichts auf das Präparat einstellen, insbesondere ohne daß an der Orientierung des Lasers selbst oder des Präparates etwas geändert werden müßte. 10

Ausführungsbeispiele der Erfindung werden nachfolgend anhand von Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen schematisch: 15

**Fig. 1** ein erstes Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption in der Draufsicht,

**Fig. 2** ein zweites Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption in der Draufsicht,

**Fig. 3** ein drittes Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption in der Draufsicht, und

**Fig. 4** ein viertes Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption. 20

**Fig. 1** zeigt ein erstes Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption von Analytmolekülen bzw. von deren Ionen aus einem Präparat. Das Präparat befindet sich auf einem Präparatträger **10**, welcher in der Vakuumkammer einer Ionenquelle **11** angeordnet ist. Der Präparatträger **10** dient als Target für einen Laserstrahl **12**, der von einem Laser **13** ausgesandt wird. Der Laserstrahl **12** besteht aus Laserlicht, z.B. ultraviolettem Laserlicht, einer Wellenlänge größer/gleich 300 nm. Der Laser **13** kann beispielsweise ein Stickstofflaser mit Laserlicht der Wellenlänge 337 nm sein. Es können beispielsweise auch Kohlendioxidlaser mit Laserlicht der Wellenlänge 10 600 nm oder Er-YAG-Laser mit Laserlicht der Wellenlänge 3000 nm verwendet werden. 25

Der Laserstrahl **12** wird bei diesem ersten Ausführungsbeispiel mittels eines Umlenkspiegels **14** etwa rechtwinklig umgelenkt, um den Laserstrahl **12** zu justieren, und wird dann mittels einer Linse **15** fokussiert. Nach Eintritt des Laserstrahls **12** in die Vakuumkammer der Ionenquelle **11** wird der Laserstrahl **12** mit einem zweiten Umlenkspiegel **16** ein zweites Mal derart umgelenkt, daß er mit einem Winkel von etwa 25° bis 45° zur Flächennormalen auf den Präparatträger **10**, und damit auf das Präparat, auftrifft. 30

Am Ort des Präparates werden durch den Laserstrahl **12** Analytionen desorbiert, die mittels einer Ionenoptik **17** extrahiert und zu einem Ionenstrahl **18** fokussiert werden.

Der Ionenstrahl **18** tritt in die Vakuumkammer **19** eines Analysators ein, die sich an die Vakuumkammer der Ionenquelle **11** anschließt. Bei dem Analysator kann es sich beispielsweise um ein Massenspektrometer handeln. 35

**Fig. 2** zeigt ein zweites Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption von Analytmolekülen.

Gleiche Bauelemente sind in den **Fig. 2** und **3** mit den gleichen Bezugszahlen bezeichnet wie in **Fig. 1**.

In diesem Ausführungsbeispiel wird der Laserstrahl **12** des Lasers **13** nicht mit Umlenkspiegeln umgelenkt, sondern an den Laser **13** ist optisch durch eine Strahleinkopplung **20** ein Lichtleiter **21** (eine Faseroptik) angeschlossen, mit dem der Laserstrahl geleitet wird. Am Ende des Lichtleiters **21** bildet eine Strahlauskopplung eine Fokussierlinse **15**. 40

Damit das Laserlicht des Lasers **13** möglichst gut von dem Lichtleiter **21** geleitet werden kann, sollte vorzugsweise Laserlicht mit einer Wellenlänge größer/gleich 300 nm verwendet werden.

Der Lichtleiter **21** kann in besonders einfacher Weise in das Vakuum der Ionenquelle **11** eingeführt werden, er ist in seiner Handhabung besonders bequem, und es kann in einfacher Weise, insbesondere ohne Umlenkspiegel **14**, **16**, der gewünschte Strahlwinkel des Laserlichts bezüglich der Flächennormalen des Präparatträgers **10** eingestellt werden, da der Lichtleiter **21** flexibel ist. 45

In **Fig. 3** ist ein drittes Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption von Analytmolekülen dargestellt. 50

Die Vorrichtung gemäß **Fig. 3** weist, ähnlich wie die Vorrichtung gemäß **Fig. 1**, wieder einen Umlenkspiegel **14** zur Umlenkung des Laserstrahls **12** auf. Bei dem Ausführungsbeispiel gemäß **Fig. 3** ist jedoch der Präparatträger **10** in der Ionenquelle **11** so orientiert angeordnet, daß der Laserstrahl **12** nach der Umlenkung durch den Umlenkspiegel **14** senkrecht (entlang der Flächennormalen) auf den Präparatträger **10** auftrifft, nachdem der durch eine Fokussierlinse **15** fokussiert worden ist. Diese Fokussierlinse **15** befindet sich im Gegensatz zum Ausführungsbeispiel der **Fig. 1**, ähnlich wie beim Ausführungsbeispiel gemäß der **Fig. 2**, beim Ausführungsbeispiel gemäß **Fig. 3** innerhalb der Vakuumkammer der Ionenquelle **11**. 55

Da der Präparatträger **10** im Ausführungsbeispiel gemäß **Fig. 3** anders in der Ionenquelle **11** orientiert ist als in den vorhergehenden Ausführungsbeispielen, weist die Ionenquelle **11** zusätzlich zu der Ionenoptik **17** eine Ablenkeinheit **22** auf, die den erzeugten Ionenstrahl **18** in die gewünschte Strahlrichtung durch die Ionenoptik **17** ablenkt. Die Ablenkeinheit funktioniert vorzugsweise elektrostatisch. Beispielsweise kann die Ablenkeinheit **22** ein einfacher Umlenkkondensator sein. 60

In allen Ausführungsbeispielen wird ein Laser **13** verwendet, der Laserlicht mit einer Wellenlänge größer/gleich 300 nm aussendet. Ein solcher Laser **13** hat über den Vorteil bezüglich der intakten Desorption von Biomolekülen hinaus den weiteren Vorteil, daß er kostengünstiger ist, als beispielsweise ein sonst zumeist verwendeter Nd-YAG-Laser mit Laserlicht der Wellenlänge 266 nm. 65

Die **Fig. 4** zeigt ein viertes Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur Laserdesorption. In dieser **Fig. 4** sind die gleichen Bauelemente mit den gleichen Bezugszahlen bezeichnet wie in den vorhergehenden Figuren.

Der Fig. 4 ist insbesondere ein transparenter Probenträger 23 für die Probe 10 bzw. Präparatsträger 10 entnehmbar. Die Probe wird bei diesem Ausführungsbeispiel also von hinten durchstrahlt. Der transparente Probenträger 23 kann dabei als Vakuumträger dienen.

Eine solche erfindungsgemäße Durchstrahlung, auch Backillumination genannt, ist insbesondere dann vorteilhaft, wenn die Massenspektrometrie mit einer Flüssigchromatografie gekoppelt ist, insbesondere dann, wenn ein Flüssigchromatografiepräparat massenspektrometrisch analysiert werden soll.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur matrix-unterstützten Laserdesorption von Analytmolekülen, insbesondere Biomoleküle, die aus einem Präparat, welches das Analyt und eine Laserlicht absorbierende Matrix beinhaltet, wobei
  - für Moleküle in einem Bereich von 10 000 bis mehreren 100 000 Dalton,
  - Laserlicht mit einer Wellenlänge von 300 nm oder mehr
  - und eine in dem gewählten Wellenlängenbereich absorptionsfähige Matrix verwendet werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Laserlicht mit einer Wellenlänge im infraroten Spektralbereich verwendet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Laser ein CO<sub>2</sub>-Laser eingesetzt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Laser ein Er-Laser eingesetzt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Er-YAG-Laser eingesetzt wird.
6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Er-YILF-Laser eingesetzt wird.
7. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Laser ein Stickstofflaser eingesetzt wird.
8. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix ein Benzoesäurederivat, beispielsweise Aminobenzoesäure oder 2,5-Dihydroxybenzoesäure, verwendet wird.
9. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix ein Nikotinsäurederivat, vorzugsweise Hydroxy-Amino-Nikotinsäure, verwendet wird.
10. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix ein Pyrazinsäurederivat, vorzugsweise 3-Aminopyrazin-2-Carbonsäure, verwendet wird.
11. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix Wasser, vorzugsweise in der festen Phase, verwendet wird.
12. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix eine Carboxylsäure bzw. ein Carboxylsäurederivat verwendet wird.
13. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix Glycerin bzw. Glycerol verwendet wird.
14. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix Harnstoff verwendet wird.
15. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Matrix Triethanolamin verwendet wird.
16. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß eine flüssige Matrix verwendet wird.
17. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen, nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Laserdesorption mit einer Flüssigchromatografie gekoppelt wird.
18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß eine unmittelbare Aufeinanderfolge (on-line-Kopplung) durchgeführt wird.
19. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen, nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Laserlichtbestrahlung des Präparates durch ein für das jeweils gewählte Licht transparentes Substrat bzw. transparenten Träger erfolgt.
20. Verfahren zur Laserdesorption von Analytmolekülen nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine Laserwellenlänge und eine Matrix ausgewählt und einander zugeordnet werden bzw. miteinander kombiniert werden, die in ihrer Zusammenwirkung zu einer Laserdesorption von Ionen einer höheren Ladungszahl (größer 1) führen.
21. Verfahren nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß Ionen mit mehr als einer Ladung in größerer Zahl erzeugt werden als solche, mit nur einer Ladung.
22. Verfahren nach Anspruch 20 oder 21, dadurch gekennzeichnet, daß Ionen mit mehr als einer Ladung je 10 000 Dalton Molekülmasse erzeugt werden.
23. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß eine Kombination von Kaffee- oder Bernsteinsäure als Matrix und eine Wellenlänge im Infrarotbereich benutzt wird, vorzugsweise die Wellenlänge eines Er- oder eines CO<sub>2</sub>-Lasers.
24. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß bei der Erzeugung der mehrfach geladenen Ionen die Impulsdauer, Bestrahlungsstärke auf dem Präparat und/oder die Größe des bestrahlten Areal auf dem Präparat als veränderbare Parameter eingesetzt bzw. genutzt werden.
25. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß die mehrfach geladenen Ionen in einem Massenspektrometer nachgewiesen werden, dessen obere Grenze nachweisbarer, einfach geladener Ionen unter der Masse der nachzuweisenden Moleküle liegt.
26. Verfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß die mehrfach geladenen

Ionen in einem Massenspektrometer direkt oder nach Massentrennung in einem ersten Massenspektrometer durch Stoß mit anderen Teilchen (CID), mit einer Oberfläche (SID) oder durch Photonenbestrahlung fragmentiert und in einem weiteren Massenspektrometer analysiert werden (MS-MS).

27. Verwendung einer Vorrichtung zur Laserdesorption von Analytmolekülonen, insbesondere von Biomolekülen, vorzugsweise mit einer Molekülmasse im Bereich von 10 000 bis mehreren 100 000 Dalton, aus einem Präparat, welches das Analyt und eine Laserlicht absorbierende Matrix beinhaltet, welche einen Laser umfaßt, vorzugsweise zur Durchführung des Verfahrens nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Laser (13) ein Laser für Laserlicht einer Wellenlänge von etwa 300 nm oder größer als 300 nm ist. 5

28. Verwendung nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, daß der Laser (13) ein UV-Laser ist. 10

29. Verwendung nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß der Laser (13) ein Stickstofflaser mit Laserlicht einer Wellenlänge von etwa 337 nm ist.

30. Verwendung nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, daß der Laser (13) ein IR-Laser ist.

31. Verwendung nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, daß der Laser (13) ein CO<sub>2</sub>-Laser mit Laserlicht einer Wellenlänge von etwa 10 600 nm ist. 15

32. Verwendung nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, daß der Laser (13) ein Er-Laser ist.

33. Verwendung nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß der Laser (13) ein Er-YAG-Laser mit Laserlicht einer Wellenlänge von etwa 3000 nm oder ein Er-YILF-Laser bzw. Er-Laser mit einem anderen Kristallmaterial ist.

34. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 33, gekennzeichnet durch einen am Laser (13) optisch angeschlossenen Lichtleiter (21) zur Leitung des Laserlichts. 20

---

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

---

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

