



Doctoral Thesis

Laser ablation mass spectrometric imaging beyond the diffraction limit

Author(s):

Setz, Patrick D.

Publication Date:

2006

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005279547> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 16836

**Laser Ablation Mass Spectrometric Imaging
beyond the Diffraction Limit**

**A journey through fundamental mechanistic insights and
instrumental developments**

A dissertation submitted to the

**SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
ETH ZURICH**

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

Presented by

Patrick D. Setz

Dipl. Chem. ETH

Born January 19, 1972, Schaffhausen

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Renato Zenobi, ETH Zurich, examiner

Prof. Dr. Akos Vertes, George Washington University, co-examiner

Prof. Dr. Detlef Günther, ETH Zürich, co-examiner

Zurich, September 2006

Summary

The present thesis is based on two topics: we first have investigated mechanistic aspects of ion generation in matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) with emphasis on the primary ionization processes; secondly, the development of a prototype instrument is shown that combines a commercial scanning near-field optical microscopy (SNOM) with a home-built ion-trap/time-of-flight mass spectrometer (IT/TOF-MS). At a first glance, these might be completely independent research topics. However, we have demonstrated that the knowledge and experience gained throughout the MALDI research was indeed useful and could be implemented into the design and development of an ambient sampling interface for the hyphenation of SNOM and IT/TOF-MS, respectively.

In the first part, two principal primary ionization pathways in MALDI were investigated: direct multiphoton ionization and energy pooling. Both are thought to be the origin of overcoming the ionization potential of commonly employed MALDI matrices, such as 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB). We discuss the processes by preparing gas-phase clusters of model-compounds type $(\text{proline})_n\text{DHB}$ which were probed by one- and two-color two photon ionization and subsequent mass analysis. The clusters were shown to exhibit a substantial reduction in ionization energy as compared to free gas-phase DHB. Direct multiphoton ionization was found likely to happen.

In addition, a potential energy pooling process was investigated using fluorescence intensity and time-resolved fluorescence spectroscopy methods on laser excited DHB matrix crystals, in order to probe energy transfer mechanisms by excitation energy migration within such matrices. Single DHB crystals (host) were doped-grown with a strongly fluorescing laser dye (guest). By employing fluorescence quenching, the dependence of host and guest fluorescence on excitation density and guest concentration yielded clear evidence for long-range energy transfer within this specific matrix. Our work has further substantiated energy transfer and thus enhanced exciton pooling probability to be relevant processes which were finally incorporated into a UV-MALDI ionization model.

The second part of the present thesis describes the development of a prototype instrument that combines both the lateral high resolution topographical imaging of SNOM with the chemical information achieved by IT/TOF-MS. Such a hyphenation is relevant, since it gives access to chemical information „per pixel“, i.e., per scanned spot. In our setup, the SNOM probe is used as a highly confined laser ablation source. Pulsed laser ablated material is then transferred via an ambient sampling interface into the high vacuum environment of the mass spectrometer for further mass analysis.

After extended modifications of several parts of the instrument, we present the proof-of-principle of such a combined technique. Peculiar emphasis was put on studies of transport properties of the ambient sampling interface. Eventually, a resolution of 300, and a sensitivity of < 9 ppmv was shown to be achievable with our IT/TOF-MS. Our successful SNOM-IT/TOF-MS experiment uses anthracene with a laser ablation spot size of about 1.5 micrometers, equal to about 400 Mio molecules originally ablated.

In conclusion, we present a fundamental evaluation of two putative primary ionization pathways in MALDI and compare our results with modelling. The development of a prototype instrument combining high lateral resolution imaging with chemical information is chronologically recorded in great detail. To the best of our knowledge, we herein present the first feasibility study of SNOM-IT/TOF-MS.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Schwerpunkte: zuerst werden mechanistische Fragen der Ionen-Bildung in der Matrix-unterstützten Laser Desorption/Ionisierung (MALDI) untersucht unter spezieller Berücksichtigung von primären Ionisierungsprozessen. Anschliessend, als zweites Thema, präsentieren wir die Entwicklung eines Prototyp-Instrumentes, das ein kommerzielles Nahfeldoptisches Mikroskop (SNOM) mit einem selbstgebauten Ionenfallen-Flugzeitmassenspektrometer (IT/TOF-MS) kombiniert. Auf den ersten Blick mögen diese beiden Themen nicht viel gemeinsam haben; wir zeigen jedoch, dass die aus den mechanistischen Untersuchungen des ersten Teils gewonnenen Erkenntnisse wesentlich zum erfolgreichen Aufbau des Instrumentes im zweiten Teil beigetragen haben. Vor allem die Entwicklung des unter Atmosphärendruck arbeitenden Proben-Interfaces wäre ohne die vorgängige Bearbeitung der Ionisierungsprozesse nicht oder nur erschwert möglich gewesen.

Im ersten Teil diskutieren wir die zwei primären Ionisierungsprozesse der MALDI Technik: die "Direkte Multiphoton Ionisierung", und das sogenannte "Energy Pooling". Beide werden in der Literatur als mögliche Prozesse zur Überwindung des Ionisationspotentials gängiger MALDI Matrices, z.B. Dihydrobenzoesäure (DHB), genannt. Wir erörtern diese Prozesse, indem wir Cluster aus Prolin und DHB in der Gasphase erzeugen. Die Cluster des Typs (proline)_nDHB werden dann mittels 2-Photonen Ionisierung bei verschiedenen Laserwellenlängen und anschliessender massenspektrometrischer Analyse untersucht. Im Gegensatz zu üblichem freiem DHB in der Gasphase haben die Cluster im Ergebnis eine signifikant reduzierte Ionisierungsenergie gezeigt, was für einen Mechanismus gemäss direkter Multiphoton Ionisierung spricht.

Ausserdem gehen wir der Frage nach einem möglichen "Energy Pooling" Mechanismus nach. Indem wir (zeitaufgelöste) Fluoreszenz-Spektroskopie an angeregten DHB Matrix-Kristallen anwenden, können wir Energietransfer Phänomene beobachten. Einzelne DHB Kristalle (Wirt) haben wir hierzu mit starken Fluoreszenzfarbstoffen (Gast) co-kristallisiert. Mittels Fluoreszenz-Unterdrückung haben wir dann eine deut-

lich erkennbare Abhängigkeit von Wirt- und Gast-Fluoreszenz von der Anregungsdichte und der Gastkonzentration nachweisen können, was im Ergebnis den vermuteten Energietransfer in DHB über grosse Distanz beweist. Somit sind Energietransfer Phänomene und die Zusammenlegung von Energien ("Pooling") für ein Verständnis von MALDI Mechanismen explizit zu berücksichtigen, womit wir unser seit längerem postuliertes Modell der UV-MALDI Ionisierung untermauert haben.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit beschreiben wir die chronologische Entwicklung eines Prototyp Instrumentes, das die hohe räumliche Auflösung von SNOM mit der chemischen Informationsdichte von IT/TOF-MS kombiniert. Diese Zusammenführung hat hohe wissenschaftliche Bedeutung, da sie die Chemie der untersuchten Probe quasi pro abgerastertem Bildpunkt erfasst. In unserem Aufbau definiert eine lateral hochauflösende Laserablations-Quelle diesen Bildpunkt. Laserabgetragenes Material wird via Proben-Interface unter Atmosphärendruck in das Vakuum eines Massenspektrometers transferiert und dort analysiert.

Vielfache Modifizierung und Umbauten des Prototypen haben dazu beigetragen, dass wir in der vorliegenden Arbeit den Beweis für seine Funktionsfähigkeit, sprich den Beweis für eine erfolgreiche Kopplung von SNOM und IT/TOF-MS, erbringen können. Am Schluss haben wir eine Auflösung von 300 erreicht, bei einer Empfindlichkeit von weniger als 9 ppmv; als Probe haben wir Anthracen abgetragen, der Bildpunkt hatte einen Durchmesser von ca. 1,5 Mikrometern, was in etwa 400 Mio Molekülen Anthracen entspricht.

Zusammenfassend beschreibt diese Arbeit einige grundlegende laserspektroskopische Experimente, um die zwei derzeit diskutierten primären Ionisierungsprozesse von MALDI zu beurteilen. Die gewonnenen Erkenntnisse haben wesentlich zum Bau eines Prototypen beigetragen, der hochauflösendes Imaging mit der Massenspektrometrie verbindet. Unseres Wissens nach ist dies die erste erfolgreiche Studie zur Kopplung von SNOM-IT/TOF-MS.