



TECHNISCHE UNIVERSITÄT
BERGAKADEMIE FREIBERG

Die Ressourcenuniversität. Seit 1765.

Entwicklung und Optimierung von Referenzmaterialien, Mess- und Auswertemethoden für die orts aufgelöste Analyse von biologischen Proben

Von der Fakultät für Chemie und Physik
der Technischen Universität Bergakademie Freiberg

genehmigte

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von **M. Sc. Anika Rogoll**

geboren am 07.08.1995 in Meißen

Gutachter: Prof. Dr. Carla Vogt, TU Bergakademie Freiberg
Prof. Dr. Thomas Prohaska, Montanuniversität Leoben

Tag der Verleihung: Freiberg, den 29.06.2023

Versicherung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Hilfe eines Promotionsberaters habe ich nicht in Anspruch genommen. Weitere Personen haben von mir keine geldwerten Leistungen für Arbeiten erhalten, die nicht als solche kenntlich gemacht worden sind. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

29.06.2023

M. Sc. Anika Rogoll

Danksagung

An dieser Stelle danke ich allen, die mich in den letzten Jahren unterstützt haben.

Mein Dank gilt Frau Prof. Dr. Carla Vogt für die Möglichkeit dieses sehr interessante Thema am Institut für Analytische Chemie zu bearbeiten sowie für die Begutachtung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Thomas Prohaska vom Lehrstuhl für Allgemeine und Analytische Chemie der Montanuniversität Leoben möchte ich für die Übernahme der Zweitgutachtertätigkeit danken.

Bei Dr. Jan Zuber bedanke ich mich für die Unterstützung bei den LDI-FTICR-MS-Messungen und die Diskussionsbereitschaft über die Auswertung dieser.

Für die NMR-Messungen und die Diskussionsbereitschaft möchte ich mich bei Dr. Erica Brendler bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei Dina Friebel für die Aufnahme der LIBS-Messungen bedanken und bei dem Helmholtz-Institut Freiberg für Ressourcentechnologie für die Möglichkeit, die portable LIBS zu verwenden.

Bei Korbinian Heimler möchte ich mich für die Unterstützung bei den C_μRFA-Messungen und den fachlichen Austausch bedanken.

Alexandra Becker und Kira Herrmann danke ich für die Messdatensätze aus ihren Abschlussarbeiten, die in dieser Arbeit mit ausgewertet werden.

Angelina Jaeger und Thomas Winbolt danke ich für die im Rahmen ihres DAAD RISE Praktikums geleistete Arbeit sowie die angenehme Zusammenarbeit.

Außerdem gilt mein Dank der Arbeitsgruppe für Siliciumchemie und Chemische Materialwissenschaft für die Möglichkeit, den Rohofen zu verwenden und die Bereitstellung einer Edelstahlplatte.

Dem Institut für Physikalische Chemie danke ich für die Leihgabe des Kühlfingers.

Mein Dank gilt allen Mitgliedern des Institutes für Analytische Chemie für ihre Unterstützung und die vielen hilfreichen Ratschläge. Bei den Studierenden, Mareike Weigel, Alexandra Be-

cker und Celine Bitterlich, deren Abschlussarbeiten ich betreut habe, möchte ich mich für alles bedanken, was auch ich dabei gelernt habe.

Für die gemeinsamen Mittagessen, Spieleabende und das angenehme Miteinander möchte ich mich bei den Analytikdoktoranden bedanken.

Besonders herzlich bedanken möchte ich mich bei allen Mitbewohnern des Büros 65, Dr. Christine Viehweger, Lara Dütsch, Anne Micke und Wiebke Hadwich, für die schöne gemeinsame Zeit und die interessanten bis lustigen Gespräche.

Bei meinen Freunden, meiner Familie und besonders bei meinem Freund Marcus bedanke ich mich für die Unterstützung, das Verständnis und die Aufmunterungen während der Anfertigung dieser Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis	11
2	Einleitung	13
3	Stand der Forschung	15
3.1	LA-ICP-MS	15
3.1.1	Allgemeiner Aufbau	15
3.1.2	Einflüsse auf das Messergebnis	18
3.2	Röntgenfluoreszenzanalyse	29
3.2.1	Allgemeines Prinzip	29
3.2.2	Besonderheiten der Mikro- und konfokalen Röntgenfluoreszenzanalyse	32
3.3	Referenzmaterialien	33
3.3.1	Allgemeiner Zweck	34
3.3.2	Kalibrierstrategien	35
3.3.3	Etablierte Materialien für matrixangepasste Standards	39
3.3.4	Referenzmaterialien auf Basis polymerer Kunststoffe	44
3.3.5	Zusammenfassung	49
4	Herstellung von Referenzmaterialien auf Basis strahlenhärtender Lacke	51
4.1	Hinführung zum Thema	51
4.2	Herstellung der Acetylacetonat-Komplexe	53
4.3	Einbringen der Komplexe in die Lackschichten und Bestimmung der Homogenität	55
4.3.1	Präparation der Lackschichten	56
4.3.2	Probensysteme	58
4.3.3	Homogenitätsbestimmung	60
4.3.4	Analyse mit NMR	63
4.4	Kalibrierreihe	64
4.4.1	μ RFA	64
4.4.2	LA-ICP-MS	66
4.4.3	Handheld LIBS	68
4.4.4	Tiefenprofile	69
4.5	Multischichtsysteme	72
4.5.1	Tiefenprofilmessungen gestapelter Lackschichten	73
4.5.2	Anwendbarkeit für die Tiefenkalibrierung	77
4.5.3	Temperatureinflüsse auf gestapelte Proben	79
4.6	Zusammenfassung	84

5	Einfluss verschiedener Messparameter auf das Ergebnis der LA-ICP-MS-Analysen	87
5.1	Hinführung zum Thema	87
5.2	Einfluss auf die Gesamtintensität	88
5.2.1	Gasflussgeschwindigkeiten	88
5.2.2	Beurteilung der Schussrate	90
5.3	Einfluss auf das Austragsverhalten	92
5.3.1	Skript zur Auswertung der Peakform	93
5.3.2	Auswertung der Peakform	94
5.4	Ablagerung von Material auf der Probenoberfläche	101
5.4.1	Analyse der geklebten Proben	101
5.4.2	Analyse der gestapelten Proben	104
5.5	Zusammenfassung	108
6	Etablierung einer Auswerteroutine	109
6.1	LA-ICP-MS-Mapping	109
6.1.1	Einlesen der Daten	110
6.1.2	Offset-Korrektur	112
6.1.3	Auswerten von Linienmessungen	113
6.1.4	Auswertung und Darstellung von Mappings	115
6.1.5	Clusteranalyse	119
6.2	Datenkombination verschiedener Analysemethoden	121
6.2.1	Daten der ultrahochauflösenden Molekülmassenspektrometrie	123
6.2.2	Probenpräparation	126
6.2.3	Zusammenfügen der Einzeldaten	127
6.3	C _μ RFA-Datenverarbeitung	128
6.3.1	Einlesen der Daten	130
6.3.2	Subtraktion und Addition	130
6.3.3	Darstellung der dreidimensionalen Elementverteilung mit MayaVi	131
6.3.4	Anpassung des dargestellten Volumens	131
6.3.5	Datenkorrektur mittels Gaußfit	133
6.4	Zusammenfassung	135
7	Zusammenfassung und Ausblick	137
8	Anhang	I
8.1	Literatur	I
8.2	zusätzliche Graphiken und Tabellen	IX
8.3	Pythonskripte	XXI
8.4	Geräte und Chemikalien	LXXIII
8.4.1	Chemikalienliste	LXXIII
8.4.2	Geräte und Parameter	LXXIV
8.5	Publikationsliste	LXXVII
8.5.1	Artikel in Fachzeitschriften	LXXVII

8.5.2 Patenteinreichung	LXXVII
8.5.3 Konferenzbeiträge	LXXVII
8.6 Lebenslauf	LXXIX

1 Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (<i>attenuated total reflection</i>)
BG	Bestimmungsgrenze
C μ RFA	Konfokale Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse
cps	Zählimpulse pro Sekunde (<i>counts per second</i>)
fs-LA	Femtosekundenlaser
FT-ICR-MS	Fourier-Transformations Ionenzyklotronresonanz Massenspektrometrie
FWHM	Halbwertsbreite (<i>full width at half maximum</i>)
ICP-MS	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (<i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i>)
ICP-OES	Optische Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IR	Infrarotspektroskopie
LA-ICP-MS	Laserablation mit Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
LDI	Laserdesorption/Ionisation
LIBS	Laserinduzierte Plasmaspektroskopie
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation
MAS	<i>Magic Angle Spinning</i>
m/z	Masse-zu-Ladungsverhältnis
μ RFA	Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse
NG	Nachweisgrenze
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
ns-LA	Nanosekundenlaser
rel. Stw.	Relative Standardabweichung

REM-EDX	Rasterelektronenmikroskopie gekoppelt mit Energiedispersiver Röntgenspektroskopie
RFA	Röntgenfluoreszenzanalyse
SDD	Siliciumdriftdetektor
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
SIMS	Sekundärionen-Massenspektrometrie
SRFA	Synchrotron-Röntgenfluoreszenzanalyse
TOF-SIMS	Flugzeit-Sekundärionenmassenspektrometrie

2 Einleitung

Die Analyse von Spurenelementen hat eine hohe Bedeutung in vielen Bereichen z. B. der Geologie oder den Lebenswissenschaften. Viele biologische Prozesse lassen sich anhand von Spurenelementgehalten nachvollziehen und verstehen. Wohingegen früher das Aufschließen der Proben im Vordergrund stand, gewinnt die direkte Analyse der festen Proben immer mehr an Bedeutung. Im Gegensatz zur Flüssiganalytik ist der Aufwand der Probenvorbereitung in vielen Fällen begrenzt. Zudem ist es möglich, orts aufgelöst die Verteilung der Analyten zu bestimmen, woraus zusätzliche Informationen über die Probe abgeleitet werden können. Diese würden beim Auflösen der Proben nicht mehr erhalten werden können. Weiterhin gibt es eine Reihe von Methoden, die zerstörungsfrei oder mit nur geringer Veränderung der Probe durchgeführt werden können. In diesem Fall steht die gleiche Probe anschließend noch für weitere Untersuchungen zur Verfügung. [1, 2]

Die direkte Analyse von festen Proben bietet allerdings nicht nur Vorteile. Festkörperanalytische Messmethoden, wie z. B. Laserablation mit Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (LA-ICP-MS) und Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse (μ RFA), die für diese Arbeit verwendet wurden, sind in der Regel sehr empfindlich hinsichtlich Materialunterschieden der Proben. Hierbei spielt sowohl die Oberflächenbeschaffenheit der Probe als auch die Materialzusammensetzung eine große Rolle. Besonders letzteres Problem wird durch die große Vielfalt an möglichen Probenmatrices zusätzlich verschärft. In dieser Arbeit lag der Fokus auf biologischen Matrices.

Da die Analysemethoden für die Festkörperanalytik sehr stark matrixabhängig sind, müssen jeweils an die Fragestellung bzw. das Probenmaterial angepasste Referenzmaterialien für die Spurenelementanalytik verwendet werden. Je ähnlicher sich das für die Kalibrierung des Gerätes verwendete Referenzmaterial und die Probe sind, desto genauere Ergebnisse können erzielt werden. Allerdings stehen nicht genügend zertifizierte Referenzmaterialien zur Verfügung, damit für jede Analyse das zur Probe passende Material ausgewählt werden kann. Außerdem unterliegen die analytischen Methoden einer ständigen Weiterentwicklung, um neuen Fragestellungen und analytischen Herausforderungen angemessen begegnen zu können. Dies führt allerdings auch dazu, dass an die Referenzmaterialien immer neue Anforderungen gestellt und diese deshalb ebenfalls stetig weiter entwickelt werden müssen. [3]

Mit steigender Ortsauflösung der analytischen Methoden ist besonders die Homogenität der Referenzmaterialien ein wichtiger Aspekt. Bis heute werden die Gehalte der meisten Materialien durch Aufschluss und Analyse der resultierenden Lösung bestimmt. Dabei wird jedoch

lediglich ein Durchschnittswert für den Gehalt des Materials erhalten. Damit steigt die zu analysierende Fläche der Probe, die notwendig ist, um den zum durchschnittlichen Gehalt der Probe passenden Intensitätswert zu bestimmen.

Neben den Referenzmaterialien spielen auch die Geräteparameter eine wichtige Rolle für die Genauigkeit der Analyse. Diese müssen in der Regel materialabhängig eingestellt werden und können sowohl die gemessene Intensität, als auch die erreichbare Ortsauflösung beeinflussen. Außerdem können suboptimale Messbedingungen auch zur Verschleppung von Probenmaterial und somit zu fehlerhaften Ergebnissen führen. [4]

Weiterhin muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass die von modernen Analysengeräten produzierte Datenmenge sehr groß sein kann und sich nicht mehr in jedem Fall problemlos mit Standardsoftware verarbeiten lässt. Zudem werden in der Forschung oftmals Prototypen bzw. Spezialanfertigungen eingesetzt. Diese weisen in den meisten Fällen lediglich rudimentäre Softwareanpassungen auf, sodass eine umfassende Auswertung der mit solchen Geräten erzeugten Analysedaten mit der Gerätesoftware ausgeschlossen ist.

In vorangegangenen Arbeiten wurden häufig Referenzmaterialien auf Basis strahlenhärtender Lacke für die Analyse von Spurenelementen in leichten Matrices verwendet. Dabei wurden die gewünschten Elementgehalte durch Extraktion aus Öl-Elementstandards in die flüssige Lackmischung eingebracht. Diese Vorgehensweise führt allerdings besonders bei der Verwendung von mehreren Elementen in einer Probe zu Inhomogenitäten. Zudem ist das Herstellen von Proben, welche aus mehreren Schichten bestehen, kaum möglich. Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit eine Verbesserung dieses Referenzmaterial im Hinblick auf Homogenität und Stapelbarkeit erreicht werden.

Am Beispiel der Analysen mit LA-ICP-MS soll der Einfluss der Geräteparameter auf das Messergebnis untersucht werden. Insbesondere soll hierbei auf die Laserablation und das Verhalten der nach der verbesserten Vorgehensweise hergestellten Lackschichten eingegangen werden, weil diese Informationen für die Anwendung der Lackschichten als Referenzmaterial von hoher Bedeutung sind. Außerdem sind diese Informationen relevant, um die Verschleppung von Probenmaterial und die Kontamination weiter Bereiche der Probenoberfläche durch die Messung ausschließen zu können.

Weiterhin soll eine Auswerteroutine für die Verarbeitung der bei den LA-ICP-MS-Messungen erhaltenen Daten sowie deren Visualisierung erarbeitet werden. Im zweiten Schritt soll hierbei auch die Möglichkeit geschaffen werden, die Daten der Elementverteilung mit den Ergebnissen der Molekülspektrometrie zu kombinieren. Durch die Korrelation der beiden Methoden können bessere Informationen zur Nachvollziehbarkeit von biologischen Prozessen erhalten werden.

3 Stand der Forschung

3.1 LA-ICP-MS

Die von Alan Gray erstmals 1985 durchgeführte Methode der Laserablation mit Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (LA-ICP-MS) ermöglicht heute, ohne oder nur mit geringer Probenpräparation, die Analyse von Festkörpern bis in den Ultraspurenbereich [5–7]. Im Gegensatz zur Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (*inductively coupled plasma mass spectrometry*) (ICP-MS) können mittels LA-ICP-MS orts aufgelöste Analysen durchgeführt werden, weil die Probe nicht aufgeschlossen und homogenisiert werden muss [8]. Somit wurde eine kostengünstigere und leichter anzuwendende Alternative zu den komplexen Methoden Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS) und Synchrotron-Röntgenfluoreszenzanalyse (SRFA) etabliert [6, 8]. Aufgrund des großen dynamischen Messbereichs können Bestandteile unterschiedlicher Gehalte gleichzeitig erfasst werden und durch einen fokussierten Laserstrahl wird die orts aufgelöste Detektion mehrerer Elemente bzw. Isotope quasi simultan im Mikrometerbereich ermöglicht [8–10]. Diese Vorteile haben dazu geführt, dass die LA-ICP-MS heute eine verbreitete Methode in den Bereichen der Lebens- und Geowissenschaften ist [6].

3.1.1 Allgemeiner Aufbau

Der Geräteaufbau für die LA-ICP-MS ist in Abb. 3.1 dargestellt, in diesem Kapitel wird besonders auf den Aufbau des für diese Arbeit verwendeten Gerätes eingegangen. Für die Laserablation befindet sich die Probe in einer luftdichten Kammer (vgl. Abb. 3.2) auf einem Tisch, welcher in x-, y- und z-Richtung steuerbar ist. Die Kammer wird von einem Transportgas durchspült und verhindert sowohl den Verlust von ablatiertem Material nach außen, als auch das Eindringen der Umgebungsatmosphäre in die Kammer [4, 6, 11]. Über der Probe befindet sich der Laser, welcher durch ein transparentes Fenster Material von der Probenoberfläche abträgt [6, 12].

Für die Laserablation wird heute vorwiegend ein Nd:YAG-Festkörperlaser (mit Neodym dotiertes Yttrium-Aluminium-Granat) eingesetzt. Eine andere Möglichkeit ist die Verwendung von Gaslasern, wie z. B. ArF Excimer. Durch optisches Pumpen wird bei Nd:YAG-Lasern die Anregung der meisten Ionen auf ein Energieniveau oberhalb des späteren Anregungsniveaus gewährleistet. Von diesem relaxieren sie strahlungslos auf einen metastabilen angeregten Zustand, sodass Besetzungsinversion im Kristall vorliegt, das heißt, es befinden sich mehr Ionen im angeregten Zustand als im Grundzustand. Durch stimulierte Emission kann der Übergang in den Grundzustand erfolgen, wobei Strahlung einer bestimmten Wellenlänge abgegeben wird. Diese kann im Resonator, z. B. bestehend aus zwei Spiegeln, zur Stimulation weiterer

Emission verwendet werden oder durch einen teildurchlässigen Spiegel den Resonator verlassen. Die häufig verwendete Wellenlänge 213 nm entsteht durch Frequenzverfünffachung der Originalwellenlänge eines Nd:YAG-Lasers von 1064 nm mittels eines optisch nicht linearen Materials. [12–14]

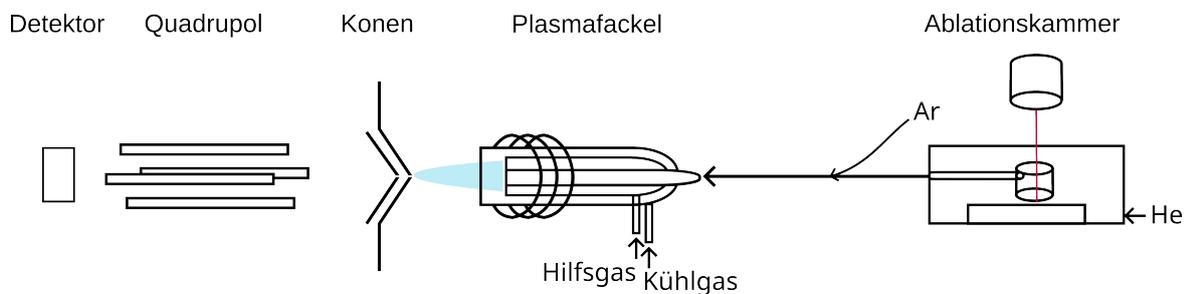


Abb. 3.1: Aufbau für die LA-ICP-MS-Messung. Der Analyt wird dabei von der Ablationskammer (rechts) nach links durch das Gerät transportiert.

Für die Laserablation wird gepulste Laserstrahlung mit Pulsweiten im Nanosekunden- (Nanosekundenlaser (ns-LA)) oder Femtosekundenbereich (Femtosekundenlaser (fs-LA)) verwendet. Das ablatierte Material, Nanopartikel und größere Aggregate, wird durch den sogenannten Cup, einen hohlen Glaszylinder, über der Ablationsstelle aufgefangen und mithilfe des Gasstroms in Richtung Plasma transportiert [6, 11, 15]. Ziel ist es, die Ablation vorwiegend durch fotophysikalische Prozesse durchzuführen und ein Aerosol zu erhalten, welches die Zusammensetzung der Probe gut widerspiegelt. Das Aerosol sollte aus möglichst kleinen Partikeln bestehen und vollständig zum Plasma transportiert werden [6].

Das Plasma dient dazu, die Probe zu ionisieren, wobei in der Regel Argon als Plasmagas verwendet wird. Als Plasma wird ein elektrisch leitfähiges Gas verstanden, welches aus Kationen, Elektronen und Neutralteilchen besteht. Das Plasma wird in einer Torch aus drei konzentrischen Quarzglasröhren, die alle von Gas durchströmt werden, erzeugt. Durch die innerste Glasröhre wird der Probenstrom in das Plasma eingetragen, in der mittleren strömt das Hilfsgas, welches das Plasma in Strömungsrichtung vom Glas wegdrückt und daher verhindert, dass das Glas schmilzt. In der äußeren Röhre befindet sich das Kühlgas, welches das Plasma orthogonal zur Strömungsrichtung vom Glas wegdrückt. [16–18]

Die Glastorch befindet sich in einer Induktionsspule, diese wird mit Wechselspannung und einer Radiofrequenzleistung zwischen 750 und 1750 W betrieben. Durch die Spule wird ein elektrisches und magnetisches Feld aufgebaut, anschließend wird mittels eines Teslafunkens das Plasma gezündet. Dabei werden aus einigen Atomen Elektronen herausgerissen, im zuvor aufgebauten Feld gefangen und in einer Kreisbahn beschleunigt. Hierbei werden weitere Elektronen aus anderen Atomen herausgeschlagen. Durch die Kollision und die ohmsche Aufheizung durch den Widerstand gegen die Kreisbewegung werden Plasmatemperaturen von bis zu 10 000 K erreicht. [16, 18, 19]

Die Analyten werden im Plasma verdampft, atomisiert und ionisiert, wobei die Ionisierungsausbeute der Probe vom ersten Ionisierungspotential des jeweiligen Elements im Verhältnis zu dem des Argons (15.76 eV) abhängt und Elemente mit einem Ionisierungspotential unter 8 eV

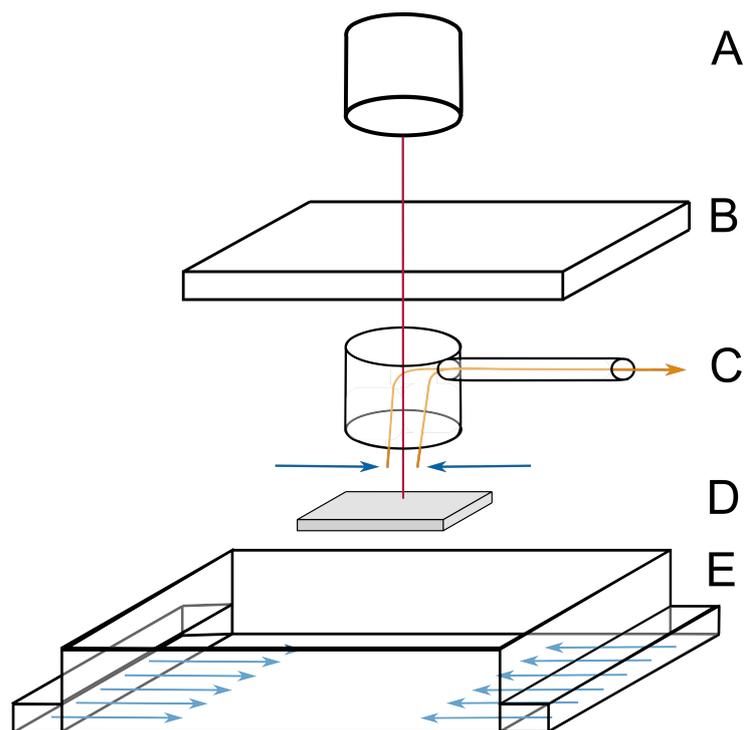


Abb. 3.2: Explosionsdarstellung des schematischen Aufbaus der verwendeten Laserablationskammer. Für die Übersichtlichkeit der Darstellung wurden die einzelnen Teile räumlich getrennt dargestellt. Von oben: Laser (A), transparenter Kammerdeckel (B), Cup (C), Probe (grau, D), Kammerboden mit Gaseinlass auf beiden Seiten (E). Der Gasfluss durch die Kammer ist farbig gekennzeichnet, wobei einströmendes Gas blau und Gas mit Aerosol orange dargestellt ist. Die Laserstrahlung ist rot dargestellt.

bei einer Plasmatemperatur von 8000 K annähernd vollständig angeregt werden. Die Ionisierung kann z. B. durch Ladungstransfer (Gleichung 3.1), Penning-Ionisation (Gleichung 3.2), Zusammenstoß mit Elektronen (Gleichung 3.3) oder angeregten Teilchen (Gleichung 3.4) stattfinden. In den Gleichungen wurden A und B für die Teilchen verwendet, weil theoretisch Argon und/oder Analyt daran beteiligt sein könnte, jedoch liegen im Plasma wesentlich mehr Argonatome vor, sodass deren Beteiligung an den Ionisierungsprozessen sehr wahrscheinlich ist. [16, 18]

Bei der Ionisierung werden nicht nur einfach positiv geladene Ionen erzeugt, sondern es können auch negativ geladene Ionen und 1–3 % doppelt geladene Ionen gebildet werden. Dies ist jedoch stark von der Plasmatemperatur und den Ionisierungspotentialen der Analyten abhängig. In einem kalten Plasma bei einer Leistung von 750 W kann die Bildung von doppelt geladenen Ionen vermieden werden, aber auch die Ionisierung von Ionen mit hohem Ionisierungspotential unterdrückt werden. [18]



Anschließend gelangen die Ionen in ein Interface, welches die Ionen zum Massenspektrometer transportiert und den Wechsel der Bedingungen von mehreren tausend Kelvin auf Raumtemperatur und von Umgebungsdruck auf Vakuum gewährleisten soll. [16]

Das Interface besteht aus zwei Konen, die meist aus Nickel gefertigt und mit einer Wasserkühlung versehen sind, um deren Schmelzen zu verhindern. Der dem Plasma Nähere (*sampler cone*) hat eine größere Öffnung als der Folgende (*skimmer cone*). Zwischen den beiden Konen ist die erste Vakuumpumpe angeschlossen, sodass der erste druckreduzierende Schritt (auf ca. 2–5 mbar) hier erfolgt. Ein Großteil der Neutralteilchen aus dem Plasma, vorwiegend Argon, da dieses oft nur zu 0,1 % ionisiert wird, wird bei der zwischen den Konen stattfindenden Überschallexpansion bereits entfernt. Durch die Beschleunigung in Richtung des Vakuums, wird Energie verbraucht, sodass auch eine signifikante Abkühlung auftritt. [16, 17]

Im Interface auftretende Raumladungseffekte können zur Massendiskriminierung der Analyten führen, weil Ionen höherer Massen eine größere kinetische Energie aufweisen und somit weniger leicht abgelenkt werden können als leichtere Ionen [16, 18]. Hinter dem zweiten Konus wird eine Turbomolekularpumpe verwendet, um die Bedingungen für das Quadrupolmassenspektrometer zu gewährleisten. Durch eine Ionenlinse werden die positiv geladenen Ionen aus dem Gasstrom auf das Massenspektrometer fokussiert und beschleunigt, dies erfolgt durch ein elektrisches Feld. Neutralteilchen werden hingegen nicht durch die Ionenlinse umgelenkt und auf diese Weise entfernt. [16, 18, 19]

Am häufigsten wird ein Quadrupol als Massenseparator verwendet, dieser ist kostengünstig, robust und kann unter vergleichsweise hohem Druck arbeiten. Ein Quadrupolmassenfilter besteht aus vier Stäben und einem variablen elektrischen Feld. Durch eine Gleichspannung sind die beiden gegenüberliegenden Stäbe gleich und nebeneinanderliegende Stäbe entgegengesetzt geladen. Außerdem wird eine Wechselspannung überlagert, die um 180° phasenverschoben zwischen den Stäben ist. Durch Einstellen der Gleich- und Wechselspannung können Bedingungen geschaffen werden, unter welchen genau eine Ionenmasse passieren kann, während alle übrigen Massen abgelenkt werden. Ionen, welche den Quadrupol passieren, oszillieren im elektrischen Feld und bewegen sich daher in einer Spiralbahn. [11, 16–19]

Als Detektor kann beispielsweise ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) verwendet werden. Die Ionen, die nach dem Quadrupol erneut durch ein elektrisches Feld beschleunigt werden, treffen auf eine Diode. Dabei werden sekundäre Elektronen herausgeschlagen. Diese werden durch ein Potential auf die nächste Diode beschleunigt, wobei jedes Elektron beim Auftreffen mehrere weitere Elektronen auslöst. Auf diese Weise wird eine Kaskade zwischen mehreren Dioden erzeugt und die Anzahl der Elektronen bis zum Auftreffen auf die Anode stark erhöht. Der am Ende resultierende Strom wird gemessen und als Signal an die Software weitergeleitet. [16, 19]

3.1.2 Einflüsse auf das Messergebnis

Viele physikalische oder chemische Einflüsse können die Analyse und infolgedessen das Messergebnis beeinträchtigen. Zudem gibt es zahlreiche Geräteparameter, deren Einstellung einen großen Einfluss auf den Verlauf der Messung und die Interpretierbarkeit des Ergebnisses hat.

Diese Parameter sollen in den folgenden Abschnitten vorgestellt werden.

3.1.2.1 Ablation

Durch die Wahl des Lasers und der Bedingungen bei der Ablation kann bereits sehr stark Einfluss auf den Ablauf der Messung genommen werden. Allerdings besteht besonders hinsichtlich der Geräteauswahl kaum Flexibilität, da diese jeweils mit dem Kauf zusätzlichen Equipments oder neuer Geräte verbunden wäre. Trotzdem ist es wichtig, die Vor- und Nachteile des jeweiligen Aufbaus zu kennen, um einschätzen zu können, welche Probleme bei der zu bearbeitenden Fragestellung auftreten können.

Allgemeine Einflussfaktoren Wichtige Kriterien bei der Laserablation sind die Wellenlänge des verwendeten Lasers, die Energiedichte, die Stabilität bzw. Reproduzierbarkeit der einzelnen Laserpulse, die Ablationsfrequenz, die Dauer und das Profil der Pulse, sowie die Größe des auf die Probe treffenden Laserspots. Ziel der Ablation ist es, den Energieeintrag durch den Laser möglichst effizient in die Ablationsprozesse umzusetzen und dabei Partikel zu erhalten, welche die Zusammensetzung der Probe repräsentativ widerspiegeln. Zudem sollten diese Partikel möglichst klein sein und eine geringe Varianz der Partikelgröße aufweisen. Abweichungen der Partikelzusammensetzung von der Stöchiometrie der Probe werden als Fraktionierungseffekte bezeichnet. [16, 20]

In den letzten Jahren kommen verstärkt Laser mit kurzen Wellenlängen im UV-Bereich zum Einsatz, weil Minerale und Gläser für größere Wellenlängen transparent sein können. In diesem Fall ist die Ablation mit kürzeren Wellenlängen wesentlich effizienter und es werden kleinere Partikel erhalten, was zur Vermeidung von Fraktionierungseffekten im Verlauf der Analyse hilfreich ist. Zudem können größere Wellenlängen leichter zum Schmelzen der Probe führen, weil mit diesen die Molekülschwingungen angeregt werden. In diesem Fall ist der Übergang in die Gasphase dann stark von den Siedepunkten der enthaltenen Elemente bzw. Verbindungen abhängig, wodurch es zu Fraktionierungseffekten kommt. [6, 16, 21, 22]

Ein weiteres wichtiges Merkmal ist die Pulsdauer des verwendeten Lasers. Diese liegt typischerweise entweder im Nanosekundenbereich (ns-LA), oder im Femtosekundenbereich (fs-LA). Ein ns-LA ist die deutlich kostengünstigere Variante, durch die vergleichsweise langen Pulse (etwa 5 ns) ist besonders die Analyse von Metallen und Halbleitern schwieriger. Hierbei wird dem Material Zeit gegeben, die Energie im Gitter zu verteilen, was zu vorwiegend thermischer Ablation führt. Das bedeutet, dass die Probe durch die Wärmediffusion zunächst schmilzt und anschließend verdampft wird, dadurch treten verstärkt Fraktionierungseffekte, aufgrund verschiedener Dampfdrücke der Verbindungen, auf. Außerdem kann hierbei die Ortsauflösung der Messung verfälscht werden. [11, 16, 23, 24]

Im Gegensatz dazu führen fs-LA zu weniger thermischen Effekten, weil die Wärmerelaxationszeit der Probe oftmals unterschritten werden kann, während die Absorption von Photonen ein wesentlich schnellerer Prozess ist. Die Wärmerelaxationszeit liegt bei Metallen im Femtosekundenbereich und für Halbleiter bei etwa einer Picosekunde. Dadurch werden kleinere Partikel (5 nm bis 3 μm) und eine bessere Partikelgrößenverteilung erhalten, welche kaum

Abweichungen von der Probenzusammensetzung aufweisen. Daher kann mit fs-LA teilweise matrixunabhängig gemessen werden. Zudem wird auch das umliegende Probenmaterial weniger thermisch beeinträchtigt („*heat-affect-zone*“), als es bei der Verwendung von ns-LA der Fall wäre. Ursache hierfür ist, dass alle durch den Energieeintrag des Lasers begonnenen Prozesse abgeschlossen sind, bevor die Energie aus dem bestrahlten Bereich heraus diffundieren kann. Zudem wird bei gleicher Fluenz mit fs-LA ein intensiveres, stabileres Signal erhalten und somit werden auch bessere Nachweisgrenzen erreicht. Eine Interaktion mit dem bereits ablatierten Material oder einem eventuell vorhandenen Oberflächenplasma treten bei der Verwendung von fs-LA ebenso kaum auf. [11, 21, 24–26]

Für nichtleitende Materialien treten die meisten der genannten Vorteile der fs-LA jedoch weniger stark hervor. Daher wird davon ausgegangen, dass ähnliche Ergebnisse nur mit einem größeren Fehlerbereich auch mit ns-LA erzielbar sind, weshalb für derartige Fragestellungen in der Literatur nicht zwingend die Verwendung eines fs-LA empfohlen wird. [11]

Neben der Dauer des Laserpulses ist auch das Ablationsprofil durch die Wahl des Gerätes bestimmt. Hierbei ist ein sogenanntes „*flat-top*“-Profil wünschenswert, welches eine gleichmäßige Energieverteilung auf der Ablationsfläche anstelle einer gaußförmigen Verteilung gewährleistet. [16]

Einstellbare Laserparameter Im Gegensatz zu den Parametern, welche durch die Auswahl des Gerätetyps festgelegt sind, gibt es auch eine Vielzahl von Parametern, die während der Messung flexibel anpassbar sind. So können beispielsweise die Ablationsparameter, wie die Laserenergie, die Korngrößenverteilung und Aerosolzusammensetzung beeinflussen. Diese sind zudem aber auch stark vom Probenmaterial abhängig und können sich auch gegenseitig stark beeinflussen. Daher ist es nicht sinnvoll für diese Parameter Richtwerte zu tabellieren, sondern diese müssen individuell für die jeweilige Fragestellung optimiert werden. Insgesamt lässt sich jedoch sagen, dass der Einfluss der Ablationsparameter bei fs-LA geringer ausfällt. [24]

Zudem kann das Ausmaß der Fraktionierungseffekte auch von Faktoren wie Laserenergie, der Form und Tiefe des Ablationskraters sowie der Matrixzusammensetzung beeinflusst werden. Beispielsweise wird abhängig vom Energieeintrag in das Material eine sogenannte „*heat-affect-zone*“ um die Ablationsstelle gebildet, die sich durch die thermische Einwirkung des Plasmas verändern kann. [20, 27, 28]

Für die Ablation der meisten Materialien ist ein Energieeintrag von mindestens 4 mJ nötig. Allerdings ist die Ablationsschwelle bei biologischen Proben in der Regel geringer als bei Metallen und Mineralen. Bei zu hohem Energieeintrag kann es zu einer Phasenexplosion kommen. Durch den schnellen Energietransfer in das Material entsteht zunächst eine überhitzte metastabile Phase, diese zersetzt sich durch explosionsartiges Sieden. Dabei kann Material millimeterweit über die Probenoberfläche verteilt werden. [15, 16]

Neben der Energie der Laserpulse kann auch deren Frequenz (Pulsrate) eingestellt werden. Bei sehr niedrigen Pulsraten (z. B. 1 Hz) kann das ablatierte Material jedes Laserpulses unabhängig von den anderen detektiert werden, bei höheren Pulsraten (z. B. 20 Hz) wird hingegen ein kontinuierlicher Aerosolstrom gewährleistet, wobei auch die gemessene Intensität höher

ist. Allerdings kann es bei höheren Pulsraten auch zum sogenannten „*plasma shielding*“-Effekt kommen. Dabei wird die Energie des Laserpulses an dem zuvor an der Probenoberfläche gebildeten Plasma reflektiert oder von diesem absorbiert. Dieser Effekt tritt typischerweise bei der Laserinduzierten Plasmaspektroskopie (LIBS) auf, wenn die Fluenz bei ca. $100 \frac{\text{J}}{\text{cm}^2}$ liegt. Bei Laserablationsmessungen kann dies ebenfalls der Fall sein und daran erkannt werden, dass die ablatierte Masse nicht mit der Laserenergie ansteigt. [16, 29–31]

Die Größe des Laserspots beeinflusst die erreichbare Auflösung, wobei für eine gute Ortsauflösung der pro Laserpuls ablatierte Bereich möglichst klein sein sollte. Außerdem wird auch die Intensität des Signals beeinflusst, da bei der Ablation einer größeren Fläche prinzipiell auch mehr Probe ablatiert wird. Von Diwakar *et al.* wurde berichtet, dass die Intensität bei steigender Spotgröße nicht so stark ansteigt wie erwartet, Liu *et al.* hingegen stellten einen exponentiellen Anstieg der Empfindlichkeit mit der Spotgröße fest. Der Grund für diese Unterschiede ist vermutlich, dass jeweils andere Messbedingungen verwendet wurden. Vorteilhaft ist, dass mit steigenden Spotgrößen durch das bessere Verhältnis aus ablatierter Fläche und Tiefe weniger Fraktionierungseffekte durch die Ablation auftreten. Allerdings kann eine zu große Spotgröße zu einer zu hohen Aerosolmenge im Plasma führen, wodurch ebenfalls Fraktionierungseffekte auftreten können. [16, 21, 30]

Im Zusammenhang mit der Wahl der Spotgröße sollte auch das Ablationsmuster berücksichtigt werden. Neben Punktmessungen, die an genau einer Stelle der Probe durchgeführt werden, gibt es unter anderem auch die Möglichkeit Linien auf der Probe zu ablatieren. Soll ein Mapping erstellt werden, werden in der Regel viele nah beieinander liegende Linien gemessen und die erhaltenen Daten zu einem Bild zusammengefügt. Der Abstand der Linien kann zwischen null und einigen hundert Mikrometern liegen. Beim Messen von Linien spielt auch die Fahrgeschwindigkeit des Probentisches eine große Rolle, welche bestimmt, wie viel neue Probe pro Laserschuss ablatiert wird. Im Vergleich zu Punktmessungen wird bei Linienmessungen ein größerer und damit repräsentativerer Teil der Probe untersucht, zudem kann dabei oftmals ein stabileres Signal erhalten werden. Allerdings können bei Linienmessungen leichter Abweichungen in der Elementzusammensetzung erhalten werden, weil Oberflächeneffekte die Messung beeinflussen und leichter größere Partikel ablatiert werden können. Die Ursache hierfür ist vermutlich die Überlappung der Ablationssspots bei Linienmessungen. Durch große Partikel können einzelne sehr hohe Signale im Massenspektrum verursacht werden. Von Bian *et al.* wurde zudem festgestellt, dass die Zusammensetzung der ablatierten Partikel bei Blech, Zirkon und Glas stark von der Partikelgröße abhängig ist. [9, 21, 29, 32, 33]

Während der Ablation kann es zur Abscheidung eines Teils des ablatierten Materials in der Nähe der Ablationsstelle kommen. Dies wird als „*sample redeposition*“ oder „*surface resampling*“ bezeichnet. Soll nahe der ersten Ablationsstelle erneut gemessen werden, kann durch dahin eingetragenes Material das Ergebnis beeinträchtigt werden. Hierbei kann es sich sowohl um direkten Partikelwurf, als auch um Kondensate aus der Gasphase der Ablation handeln. Dieser Effekt wird von vielen Parametern beeinflusst. Besonders für Mappings ist dessen Einschätzung wichtig, um die Abstände zwischen den Messungen so wählen zu können, dass diese nicht von der vorherigen Messung beeinträchtigt werden. [29, 34]

Von Woodhead *et al.* wurden dazu Experimente mithilfe der NIST Glasstandards 610 und 616 durchgeführt (vgl. Abb. 3.3). Es wurde angenommen, dass die Elementgehalte im NIST Glasstandard 616 im Vergleich zum NIST Glasstandard 610 annähernd null sind. Durch das Aneinanderlegen beider Proben konnte zum einen in beide Richtungen über den Übergangsbereich gemessen werden (vgl. Abb. 3.3 Experiment 1), um das Abscheiden von Probenmaterial auf der Oberfläche in Messrichtung zu beurteilen. Dieses wurde als sehr gering eingestuft, da in dieser Richtung bei fortlaufender Messung kaum Abkühlung stattfindet. Zum anderen wurde ein zweites Experiment durchgeführt (vgl. Abb. 3.3 Experiment 2), bei welchem zunächst eine Messung auf dem Glas mit den hohen Elementgehalten direkt entlang der Kante durchgeführt wurde. Die dabei erfolgte Kontamination der Probe mit dem geringen Gehalt wurde durch eine zweite Messung orthogonal zur ersten ermittelt. Es wurde festgestellt, dass in der direkten Umgebung bis zu 10 % des Gehaltes des NIST 610 gemessen werden konnten, zudem erstreckte sich der kontaminierte Bereich bis etwa 400 μm von der Ablationsstelle entfernt, wobei sich in der Umgebung der Ablationsstelle vorwiegend leichter flüchtige Elemente anreicherten. Das deckt sich auch mit Angaben aus anderen Quellen. [29, 34]

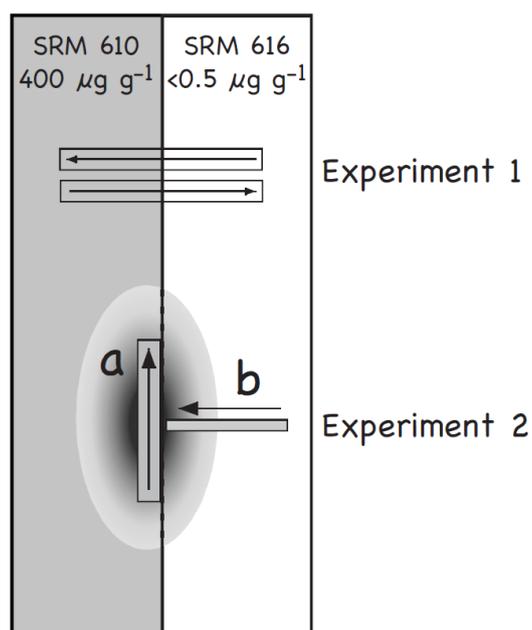


Abb. 3.3: Vorgehensweise zur Ermittlung des Einflusses der „*sample redeposition*“ durch die Laserablation aus Woodhead *et al.* [29]. Experiment 1 dient der Untersuchung in Messrichtung und Experiment 2 für die Untersuchung der Kontamination orthogonal zur Messrichtung.

Insgesamt wurden allerdings bisher fast alle Experimente zu Fraktionierungseffekten, Matrixeffekten oder den Auswirkungen der Laserparameter an geologischen Proben durchgeführt, wobei die Absorption der Laserenergie durch das Kristallgitter ein zusätzliches Problem darstellte [4]. Daher gibt es hierzu für biologische Proben kaum Erkenntnisse. Von Feldmann *et al.* wurde eine Parameteroptimierung der Messung einer Leberprobe veröffentlicht, allerdings war das Ziel der Optimierung eine möglichst gute Signalform zu erhalten [35]. Von Pessoa *et al.* wurden die Laserparameter Laserenergie, Laserfrequenz, Spotgröße und die

Gasströme von Hilfs- und Zerstäubergas anhand einer 30 μm dicken gefrorenen Gewebeprobe optimiert. Untersucht wurden die Isotope $^{12}\text{C}^+$, $^{13}\text{C}^+$, $^{31}\text{P}^+$ und $^{28}\text{Si}^+$, wobei das Silicium aus dem Objektträger stammte. Als ideale Bedingungen wurden 50 % Laserleistung, 20 Hz und eine Spotgröße von 65 μm ermittelt, die Scangeschwindigkeit von 60 $\frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$ wurde festgelegt. Entscheidend war bei allen Experimenten die Schichtdicke der Probe, weil für ein optimales Ergebnis sowohl diese als auch ein Teil des Probenträgers ablatiert werden sollten. [36]

Gasströme in der Ablationszelle Der durch die Ablationszelle strömende Gasfluss hat neben den Laserparametern einen starken Einfluss auf die Messung. Dabei beeinflusst die Wahl des Gases und dessen Strömungsgeschwindigkeit sowohl den Ablationsvorgang direkt, als auch den Transport der ablatierten Partikel und die Ionisierung im Plasma. An dieser Stelle wird zunächst nur auf den Einfluss auf die Ablation eingegangen, während in Abschnitt 3.1.2.2 und Abschnitt 3.1.2.3 die anderen beiden Aspekte beleuchtet werden.

In der Literatur wird vorwiegend Argon mit Helium als Ablationsgas verglichen, wobei generell Helium bevorzugt wird. Die Ursache dafür ist, dass bei der Verwendung von Helium Empfindlichkeit, Signalstabilität, Reproduzierbarkeit und Transportfähigkeit besser sind, während weniger Probenmaterial in der Umgebung des Ablationskraters abgeschieden wird. [25, 34]

Prinzipiell kann es durch den Energieeintrag des Lasers bzw. der anschließenden Abkühlung zu verschiedenen Effekten wie Phasenexplosion, Phasentrennung am kritischen Punkt und Kondensation aus der (übersättigten) Gasphase kommen, welche Einfluss auf die Menge ablatierten Materials und die Korngrößenverteilung haben. Zur Phasenexplosion kann es kommen, wenn das Material sehr schnell über den Siedepunkt erhitzt wird. Die Grenzwelle ist dabei sowohl vom Material, als auch von der Laserenergie, der Spotgröße und der Wellenlänge abhängig. Bei einer Phasenexplosion entsteht ein wesentlich größerer Krater, als es sonst der Fall wäre. Zudem wird eine Mischung aus Flüssigkeit und Partikeln abgegeben, welche vermehrt größere Partikel enthält. [11, 37]

Während der Ablation entsteht ein übersättigter Dampf, welcher sich in der Anfangsphase ungehindert ausdehnt, wobei Partikel im Größenbereich von einem Nanometer kondensieren, die in der folgenden Phase der gebremsten Ausbreitung zu größeren Partikeln anwachsen. Helium hat eine höhere Wärmeleitfähigkeit als Argon, wodurch die Energie aus dem laserinduzierten Plasma auf der Probenoberfläche schneller abgeleitet wird. Dies führt zu einer schnelleren Auskühlung und Kondensation gasförmiger Materie. Durch die schnellere Kondensation sind die dabei entstehenden Partikel kleiner, aber es können auch Agglomerate von 50 μm Größe entstehen. Außerdem hat Helium eine geringere Massendichte als Argon, weshalb sich das entstehende Plasma, bei der Verwendung von Helium, eher nach oben als entlang der Probenoberfläche ausbreitet. Dies hilft ebenfalls dabei, die Abscheidung von Probenmaterial auf der Probenoberfläche zu reduzieren und führt auch dazu, dass der Abtransport leichter erfolgen kann, weil die Ausbreitung in Gasflussrichtung in den Cup unterstützt wird. Insgesamt kann somit auch eine höhere Signalintensität und damit auch Empfindlichkeit der Messung erzielt werden, wenn Helium verwendet wird. Hinzu kommt, dass die Partikel-

größenverteilung mehr kleinere Partikel (0,1 bis 0,2 μm) und weniger große (über 2 μm) aufweist, wodurch die Atomisierung im Plasma effizienter stattfinden kann. [11, 33, 38–43] Von Horn *et al.* wurde weiterhin angenommen, dass die Geschwindigkeit des Gasstroms ebenfalls einen Einfluss auf die Partikelgröße hat, da langsamere Gasströme die Energie weniger effizient abtransportieren und sich somit größere Partikel bilden können. Die Theorie konnte jedoch nicht bewiesen werden, weil die Gasströme ebenfalls einen Einfluss auf die Transporteffizienz haben [39].

3.1.2.2 Transport

Der Materialtransport aus der Ablationskammer zum Plasma sollte möglichst schnell und effizient erfolgen, zudem sollte wenig Diffusion während des Transports auftreten, damit die Ortsauflösung gut erhalten bleiben kann. Dabei spielt der Aufbau der Ablationskammer eine wichtige Rolle, aber ebenso die verwendeten Gase und deren Strömungsgeschwindigkeit.

Abtransport aus Kammer Für den Partikeltransport aus der Ablationszelle ist es von Vorteil, wenn diese möglichst klein ist, da in diesem Fall weniger Diffusion auftritt, das Aerosol weniger verdünnt wird und weniger Ablagerung von Partikeln stattfinden kann. Jedoch bieten Ablationskammern, die sehr klein sind, nur Platz für wenige sehr kleine Proben, weshalb für die Flexibilität der Probenauswahl eine größere Ablationskammer bevorzugt wird. Um beiden Aspekten gerecht zu werden und auch um die Gasströmung in der Zelle zu optimieren, wurden viele verschiedene Zelldesigns entwickelt. [44–47]

In dieser Arbeit wurde das in Abb. 3.2 dargestellte Design mit einem beweglichen Cup verwendet. Dies ist eine Variante, um zum einen eine vergleichsweise große Kammer und zum anderen ein kleines effektives Volumen zu ermöglichen. Der Cup kann so bewegt werden, dass er sich immer über der jeweiligen Ablationsstelle befindet, sodass sich das Aerosol vorwiegend im Cup ausbreitet und nicht in der gesamten Zelle. Aus dem Cup wird das Aerosol zum Plasma transportiert, was zudem den Vorteil bietet, dass die Transportstrecke immer gleich weit ist, da die Schlauchlänge am Cup konstant ist. Somit kann unabhängig von der Position in der Zelle gearbeitet werden, was bei älteren Designs nicht der Fall war. Abhängig von der Entfernung zum Auslass hatten bei diesen die Diffusion, die Aerosolzirkulation in der Zelle und die Transportverzögerung einen unterschiedlichen Einfluss. Von Bleiner *et al.* wurde für eine Zelle ohne Cup eine Transporteffizienz von 5–10 % beschrieben. [33, 48]

Außerdem hat auch die Wahl des Ablationsgases einen Einfluss auf die Transporteffizienz des Aerosols aus der Ablationskammer. So wurde von Pisonero *et al.* berichtet, dass die Verwendung von Helium statt Argon zu einem drei- bis fünfmal schnelleren Abtransport der Partikel führt. Auch Bleiner *et al.* konnten einen schnelleren Partikelabtransport, jedoch einer etwas geringeren Transporteffizienz bei der Verwendung von Helium beobachten. Beides lässt sich mit dem bereits in Absatz 3.1.2.1 beschriebenen Verhalten erklären, dass die Partikelgröße bei der Verwendung von Helium kleiner ist und sich somit besser transportieren lässt. Allerdings weist Helium auch eine geringere Dichte als Argon auf, wodurch größere Partikel

schlecht transportiert werden, zurückbleiben und die Transporteffizienz insgesamt etwas sinkt. [27, 43, 48]

Transport zum Plasma Auch nach dem Verlassen der Ablationskammer kann es zum Verlust von Material kommen. Dies ist z. B. durch Reibung an der Schlauchwand, elektrostatische Effekte oder Gravitation möglich. Letzteres trifft besonders für größere Partikel zu, zudem kann das Messergebnis auch durch Diffusionseffekten und Kondensation im Schlauch negativ beeinflusst werden. [11, 15, 33]

Das Strömungsverhalten im Schlauch kann laminar oder turbulent sein. Laminares Verhalten sichert eine bessere Ortsauflösung, verhindert eine starke Signalstreckung und *memory*-Effekte von vorhergehenden Messungen, während bei turbulenter Strömung ein homogeneres Signal erhalten wird. [25, 49]

Aus den vorangegangenen Abschnitten wurde deutlich, dass Helium viele Vorteile gegenüber Argon als Ablationsgas hat. Allerdings weist Argon für den Transport aufgrund seiner höheren Massendichte bessere Eigenschaften auf. Daher wird aktuell oft Helium als Ablationsgas und Argon als Transportgas verwendet. Durch ein Y-Stück gelangt das Argon nach der Ablationskammer in den Gasstrom. Bei diesem Vorgehen kann sich eine turbulente Strömung ausbilden, wobei das Helium an die Schlauchwand gedrückt wird, wo durch Reibung die kleineren Partikel aufgehalten werden, was zu Verschleppung führen kann. [15, 36]

Weiterhin haben auch Länge und Breite des verwendeten Transportschlauchs Einfluss auf die Dispersion des Signals. Insgesamt kann jedoch eine Transporteffizienz von 70–90 % erreicht werden. [11, 44, 50]

Beurteilung des Transportverhaltens Die Beurteilung des Ablations- und Transportverhaltens eines Systems wird in der Literatur anhand der Messung eines einzigen Laserpulses oder einer Reihe von Laserpulsen mit möglichst geringer Frequenz beurteilt. Allerdings gibt es Abweichungen, anhand welcher Kriterien das Ergebnis beurteilt wird. [15]

Generell wird das ablatierte Material abhängig von Gasströmen und Größe der Ablationskammer aus der Zelle ausgetragen. Bei einer hohen Ablationsfrequenz kommt es zur Vermischung des Materials verschiedener Laserpulse. Dies kann zur Verschleppung von Analyt führen, jedoch auch gewollt sein, um ein homogeneres Signal zu erhalten. Teilweise wird hierfür sogar noch ein zusätzliches Bauteil zur Vermischung des Aerosols eingebaut. Wird eine geringe Schussrate, z. B. ein einzelner Laserpuls oder eine sehr geringe Frequenz verwendet, kann das Austragsverhalten zeitaufgelöst gemessen werden. In der Literatur wird dafür teils die Gesamtdauer des Signals, die Halbwertsbreite oder die Differenzierbarkeit aufeinanderfolgender Signal betrachtet. [15, 29]

In der Vergangenheit wurde viel am Aufbau der Zelle optimiert, da festgestellt wurde, dass die Austragszeit aus der Kammer zwischen 100 ms und mehreren Sekunden betragen kann und kürzer ist, je kleiner die Kammer ist. Bei kleineren Ablationskammern können sich Aerosol und Partikel nicht so weit ausbreiten, daher wurde versucht, das Kammervolumen mithilfe von Inserts zu verkleinern. Eine andere Variante ist ein Röhrendesign, bei welchem das Aerosol direkt in das Transportgas expandiert, oder die Verwendung eines hohlen Glaszylinders (Cup,

wie bereits beschrieben, vgl. Abb. 3.2), welcher bewegt und über der jeweiligen Ablationsstelle platziert werden kann. [15, 51, 52]

Es wurde gezeigt, dass die Verwendung des Cup-Systems die Austragszeit wesentlich verkürzen und die Signalintensität erhöhen kann, weil die gleiche Menge Material aus einem kleineren Volumen abgeführt wird. Allerdings darf der Cup nicht zu klein sein, weil sich die Probe sonst an dessen Rändern abscheidet [45]. Auch die Gasströme haben einen hohen Einfluss auf die Austragszeit. So wurde von Feldmann *et al.* gezeigt, dass die Erhöhung von Argon- oder Heliumgasfluss zu kürzeren Halbwertsbreiten und höheren Intensitäten führt. Allerdings können zu große Unterschiede in den Geschwindigkeiten der Gasströme zu Problemen bei der Mischung der Gase führen. Beispielsweise kann ein zweites Signal, bei einem Experiment mit nur einem Laserpuls, darauf hinweisen, dass ein Teil der Partikel zeitweilig in einer turbulenten Strömung gefangen ist. Außerdem kann eine zu hohe Ablationsfrequenz dazu führen, dass das Aerosol eine zu hohe Dichte aufweist und deswegen schlechter transportiert und ionisiert wird. [15, 52]

Einfluss des Transportes auf das Verhalten im Plasma Durch die Ablationsbedingungen, sowie die Wahl der Gase und Gasströme wird auch das Verhalten des Plasmas und dessen Einfluss auf die Probe beeinträchtigt.

Für die Ionisierung im Plasma ist die Partikelgröße sehr wichtig, da kleinere Partikel vollständig verdampft werden können und somit zu einem homogenen Signal führen. Für große Partikel ist dieser Prozess unvollständig, wodurch zum einen flüchtige Elemente bevorzugt verdampft werden und das gemessene Signal deshalb nicht mehr der Probenstöchiometrie entspricht. Zum anderen können diese Partikel zufällig eine Flugbahn in der Achse der Konen besitzen, wodurch diese passiert werden und für kurze Zeit ein sehr hohes Signal erzeugt wird. Falls große Partikel nicht in der Achse der Konen ankommen, tragen diese lediglich teilweise zum vergleichsweise homogenen Signal bei. Helium trägt, wie in den vorigen Abschnitten beschrieben, zur Bildung kleinerer Partikel bei, die die Vermeidung von großen Signalen unterstützen. Allerdings sind einige sehr hohe Signale, welche durch mikroskalige Partikel verursacht werden, typisch bei der Verwendung von ns-LA. [11, 25, 43, 53]

Weiterhin haben die verwendeten Gase auch einen direkten Einfluss auf die Plasmabedingungen, wenn beispielsweise die Plasmazusammensetzung oder die Verweilzeit im Plasma geändert wird. Sogenannte Mischgasplasmen enthalten oft nur wenig Fremdgas, können jedoch z. B. polyatomare Interferenzen stark reduzieren. Allerdings ist das Argonplasma oft empfindlich gegen andere Gase, sodass diese das Plasma leicht zum Erlöschen bringen können. [16, 18]

Wird ausschließlich Argon verwendet, hat dies einen positiven Einfluss auf die Plasmastabilität. Zudem ist Argon günstiger als Helium. Die Verwendung von Helium verbessert hingegen die Energieübertragung im Plasma, da Helium eine höhere erste Ionisierungsenergie (He: 24,59 eV, Ar: 15,76 eV) und eine höhere spezifische Wärmekapazität (He: $5,193 \frac{\text{J}}{\text{g}\cdot\text{K}}$, Ar: $0,520 \frac{\text{J}}{\text{g}\cdot\text{K}}$) als Argon hat. Daher können bei der Zugabe von Helium auch schwer ionisierbare Isotope besser detektiert werden. [18, 25, 40]

Wird Stickstoff als Transportgas verwendet, erhöht dies hauptsächlich die Intensität von schwe-

ren Isotopen. Außerdem werden die Leitfähigkeit und die Energieübertragung im Plasma etwas verbessert. Nachteilig ist jedoch, dass auch das Auftreten von doppelt geladenen Ionen und polyatomaren Interferenzen verstärkt wird. [16, 54]

Außerdem kann die Gasflussgeschwindigkeit die Ionisierungseffizienz beeinträchtigen, weil damit die Verweilzeit im Plasma und die Massenbeladung verändert wird. Von der Massenbeladung sind auch die im Plasma auftretenden Matrixeffekte abhängig, weshalb von Kros-lakova *et al.* empfohlen wurde, Standards und Probe mit den gleichen Ablationsparametern zu messen, um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten. [24, 33, 55]

3.1.2.3 Plasma

Die Bedingungen im Plasma haben einen Einfluss auf die Empfindlichkeit der Messung, können jedoch auch zur zusätzlichen Fraktionierung der Analyten führen.

Wie bereits in den vorherigen Abschnitten erläutert, hat die Partikelgröße einen großen Einfluss darauf, ob die Verdampfung und Ionisierung vollständig abläuft. Von Koch *et al.* wurde angegeben, dass Partikel kleiner als 200 nm in der Regel problemlos verdampft und ionisiert werden können. Allerdings hängt die maximal ionisierbare Partikelgröße auch von der Verweildauer der jeweiligen Partikel im Plasma ab. Eine unvollständige Verdampfung und Ionisierung führt zu Fraktionierungseffekten, da bei diesen Prozessen immer Elemente bevorzugt werden, die flüchtig bzw. leicht ionisierbar sind. Aus diesem Grund ist es sehr wichtig matrixangepasst zu kalibrieren, um dennoch korrekte Ergebnisse zu erhalten. [11, 16, 33, 56]

Neben der Partikelgröße gibt es noch eine Reihe weiterer Einflüsse, beispielsweise sind die Diffusionsraten der Ionen raus aus der Hauptachse des Plasmas massenabhängig und führen somit zu nicht stöchiometrischem Analytverlust. Außerdem kann eine große Menge leicht ionisierbarer Elemente die Elektronendichte in einem Bereich des Plasmas deutlich erhöhen, wohingegen eine zu große Massenbeladung die Ionisierungseffizienz beeinträchtigen kann. [11, 33, 57]

Bei hohen Plasmatemperaturen können Raumladungseffekte verstärkt auftreten, welche besonders auf Ionen mit niedrigem Masse-zu-Ladungsverhältnis einen negativen Einfluss haben und ebenso wie gasförmige Überschallausbreitungen zwischen den Konen die Detektion schwerer Isotope begünstigen. Allerdings kann eine niedrige Plasmaenergie und damit geringere Plasmatemperatur zur Verstärkung von Matrixeffekten führen. [28, 57, 58]

Weiterhin können durch zusätzliches Einbringen von Wasser mittels eines Zerstäubers sogenannte feuchte Plasmabedingungen erhalten werden, welche den Bedingungen bei der typischen ICP-MS-Analyse ähneln. Mit diesem Vorgehen kann die Empfindlichkeit der Messung etwas erhöht werden, allerdings treten bei trockenen Plasmabedingungen weniger Interferenzen auf. Außerdem wurde festgestellt, dass die Erhöhung des Kohlenstoffanteils im Plasma zu einer besseren Sensitivität von Elementen mit einem Ionisierungspotential zwischen 9 und 11 eV führt. [8, 9, 57, 59]

Durch Schwankungen in der Plasmastabilität kann die Ionisierungseffizienz sich zeitweilig oder durch Drift kontinuierlich ändern, was zu Änderungen in den Messwerten führt. Deshalb wurde empfohlen eine ausreichende Plasmastabilisierungszeit einzuhalten, da sonst ein

Pseudoanstieg bzw. Abfall in der Intensität gemessen werden kann. [36, 60]

3.1.2.4 Massenseparator

Nach der Ionisierung im Plasma können Analytverluste während des Übergangs in den Massenseparator auftreten. Typische Probleme im Massenseparator sind vorwiegend spektrale Interferenzen, bei denen verschiedene Ionen auf dem gleichen Masse-zu-Ladungsverhältnis nicht voneinander getrennt werden können.

Die bereits in vorherigen Kapiteln beschriebenen matrixabhängigen Effekte werden teilweise auch als nicht spektrale Interferenzen bezeichnet. Dazu gehört auch, dass die Effizienz des Extraktionsprozesses in den Vakuumbereich von der kinetischen Energie der Ionen abhängig ist. Zudem können sich Teile der Probe an den Konen und der Ionenoptik absetzen, wodurch diese für die Detektion verloren sind. Weiterhin kann sich im Verlauf einer längeren Messung die Sensitivität des Detektors langsam verändern, wodurch die Ergebnisse ebenfalls beeinträchtigt werden. [21, 25, 57, 58, 60]

Die sogenannten spektralen Interferenzen können in drei verschiedene Gruppen eingeteilt werden: polyatomare Interferenzen, isobare Interferenzen und mehrfach geladene Ionen. Alle drei führen zur fälschlichen Detektion eines Masse-zu-Ladungsverhältnisses. Polyatomare Interferenzen bestehen aus mehreren Atomen, sodass diese auf der Masse der Summe der einzelnen Atome detektiert werden. Beispielsweise kann $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ auf der Masse von $^{56}\text{Fe}^+$, oder $^{54}\text{Fe}^{16}\text{O}^+$ auf der Masse von $^{70}\text{Zn}^+$ detektiert werden. Als isobare Interferenzen werden Störungen eines Isotops durch ein Isotop gleicher Masse eines anderen Elements, z. B. $^{70}\text{Zn}^+$ durch $^{70}\text{Ge}^+$, bezeichnet. Doppelt geladene Ionen, wie z. B. $^{140}\text{Ce}^{++}$ werden hingegen, auf dem halben Masse-zu-Ladungsverhältnis wie erwartet, detektiert und können die Messung von Isotopen, die eigentlich auf dieser Masse erwartet werden, beeinträchtigen, in diesem Fall $^{70}\text{Zn}^+$. [18, 25, 61]

Die Bildung dieser Interferenzen hängt stark von den Bedingungen im Plasma und der Zusammensetzung der Probe ab. Prinzipiell können interferierte Isotope auch auf der Masse einer polyatomaren Interferenz bestimmt werden, z. B. Schwefel als $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ statt $^{32}\text{S}^+$, welches durch die Interferenz $^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$ beeinträchtigt wird. Wie problematisch diese für die Messung sind, kommt jeweils auf das Auflösungsvermögen des verwendeten Massenspektrometers an. Bei ausreichender Massenauflösung können diese Interferenzen von den gewünschten Isotopen unterschieden werden, daher werden für die Isotopenverhältnisbestimmung hauptsächlich Multikollektormassenspektrometer eingesetzt. Die Verwendung eines Quadrupolmassenspektrometers ist wesentlich kostengünstiger, robust und stabil genug, um Mapping-Messungen über mehrere Stunden durchführen zu können. Jedoch kann es hierbei zum Datenverlust kommen, falls die Signaländerungen kürzer als die Aufnahmezeit für das jeweilige Masse-zu-Ladungsverhältnis sind. [6, 7, 9]

Störungen durch Interferenzen können teilweise durch Reaktionszellen bzw. Kollisionzellen verhindert werden, da dabei Molekülonen beseitigt werden. Zudem kann hierbei Einfluss auf die kinetische Energie der Ionen genommen werden. [7, 62]

Insgesamt kann gesagt werden, dass die LA-ICP-MS viele Möglichkeiten für die Festkörper-

analytik mit oft nur geringer Probenvorbereitung bietet. Dabei sind sowohl qualitative als auch quantitative Mappings möglich, wobei eine geringere Bildauflösung als bei der Rasterelektronenmikroskopie gekoppelt mit Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (REM-EDX) erreicht werden kann, jedoch ist die Methode empfindlicher. Der größte Nachteil der Methode ist die starke Matrixabhängigkeit, wodurch die Verwendung von möglichst gut matrixangepassten Referenzmaterialien und für die Fragestellung optimierten Geräteparametern nötig wird. [4, 6, 11, 20, 63]

3.2 Röntgenfluoreszenzanalyse

3.2.1 Allgemeines Prinzip

Die Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA) ist eine Methode, die für die Elementanalytik von Festkörpern benutzt werden kann. Es handelt sich um eine Oberflächenmethode mit einer Analysentiefe von wenigen Mikrometern für die meisten Anwendungen. Durch die Anregung der Probe werden elementspezifische Fluoreszenzlinien erzeugt, dabei ist es möglich Ergebnisse mit einer hohen Präzision über einen weiten Konzentrationsbereich von Hauptbestandteilen bis Spurenelementen ohne die Zerstörung der Probe zu erhalten. [64, 65]

Für die Erzeugung von Röntgenfluoreszenzstrahlung wird ein kernnahes Elektron eines Atoms entfernt. Für diesen Prozess ist eine größere Energiemenge als die Bindungsenergie des jeweiligen Elektrons (Ionisierungsenergie) erforderlich. Durch die Einstrahlung von energiereicher Röntgenstrahlung kann ein kernnahes Elektron entfernt werden. Die hierbei entstandene Vakanz wird durch ein Elektron aus einer höheren Schale aufgefüllt (vgl. Abb. 3.4). Die dabei frei werdende Energie kann in Form von zwei verschiedenen Prozessen abgegeben werden, welche in Konkurrenz zueinander stehen. Zum einen kann es zu einem strahlungslosen Übergang kommen, dessen Energie zur Emission eines Auger-Elektrons führt. Zum anderen kann es sich um einen Strahlungsprozess handeln, bei welchem die freigewordene Energie als Röntgenstrahlung abgegeben wird. Die Augerelektronenemission ist bei niedrigen Ordnungszahlen bevorzugt, bei der Ordnungszahl 32 ist die Wahrscheinlichkeit für beide Prozesse etwa gleich groß und verschiebt sich mit steigender Ordnungszahl zugunsten der Röntgenfluoreszenz. Aus diesem Grund ist die RFA erst ab einer Ordnungszahl > 10 mit ausreichender Empfindlichkeit möglich, da andernfalls die Fluoreszenzausbeute zu gering ist. Es ist nicht möglich, die Art des Relaxationsprozesses durch die Anregungsstrahlung zu steuern. [19, 64, 66]

Die emittierte Röntgenstrahlung ist charakteristisch für das jeweilige Element. Die Bezeichnung erfolgt nach der Schale der primären Vakanz z. B. als K bzw. L-Linie (Siegbahn-Nomenklatur). Die Energie der jeweils emittierten Fluoreszenzstrahlung ist abhängig von der Protonenzahl des Elements und wird durch das Moseleysche Gesetz beschrieben (Gleichung 3.5). Wobei die Frequenz (f) der Fluoreszenzstrahlung sich aus der Rydbergfrequenz ($R_{\infty}c$), der Kernmasse (M), der Elektronenmasse (m), die effektive Kernladungszahl (Z_{eff}), sowie den Hauptquantenzahlen der initialen (n_i) und der resultierenden Besetzung (n_f) berechnen lässt. [64, 66]

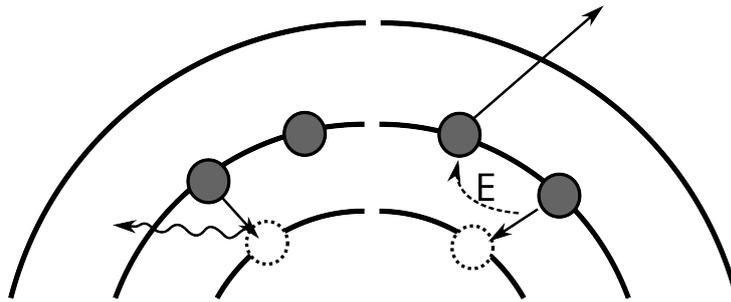


Abb. 3.4: Vergleich Entstehung von charakteristischer Strahlung (links) und Emission eines Augerelektrons(rechts) bei der Auffüllung einer Vakanz einer inneren Schale nach [19].

$$f = R_{\infty} \left(\frac{M}{M+m} \right) Z_{\text{eff}}^2 \left(\frac{1}{n_f^2} - \frac{1}{n_i^2} \right) \quad (3.5)$$

Neben dem bereits beschriebenen Prozess der Entfernung eines kernnahen Elektrons durch die Röntgenstrahlung, kann es bei der Wechselwirkung der Strahlung mit Materie auch zur Absorption oder Streuung dieser kommen. Die Streuung kann wiederum in elastische und nicht elastische unterschieden werden. Elastische Streuung wird als Rayleigh-Streuung bezeichnet und ist nicht spezifisch für die jeweilige Probe. Durch die Rayleigh-Streuung treten im gemessenen Spektrum die charakteristischen Linien des Anodenmaterials auf, auch wenn dieses nicht in der Probe enthalten ist. Zudem kann die Streuung am Material auch nicht elastisch erfolgen, was als Compton-Streuung bezeichnet wird. Compton-Streuung tritt in Abhängigkeit vom Probenmaterial auf und ist umso intensiver, je leichter die Matrix der Probe ist. Bei diesem Prozess wird ein Teil der Energie auf das streuende Teilchen abgegeben, wodurch eine Energieverschiebung auftritt. Diese ist vom Streuwinkel und der Strahlungsenergie abhängig. [64]

Im Folgenden soll der allgemeine Geräteaufbau bei der Röntgenfluoreszenzanalyse beschrieben werden. Insgesamt besteht das Gerät aus einer Röntgenröhre zur Erzeugung der Anregungsstrahlung, einer anschließenden Optik, einem Probenhalter und einem Detektor. In der Röntgenröhre herrscht Vakuum und es wird eine Hochspannung an eine Kathode angelegt. Die Kathode, welche in der Regel ein beheiztes Wolframfilament ist, emittiert Elektronen, die aufgrund der Hochspannung zu einer Anode aus Metall beschleunigt werden. Durch Wechselwirkung der Elektronen mit dem Anodenmaterial wird charakteristische Röntgenstrahlung erzeugt, weil durch die Elektronen kernnahe Elektronen des Anodenmaterials herausgeschlagen werden, wodurch die Vakanz, wie bereits beschrieben, aufgefüllt wird. Zum größten Teil entsteht jedoch kontinuierliche Bremsstrahlung, da die Elektronen am Atomkern des Anodenmaterials gestreut und abgebremst werden. Zudem können die Elektronen auch äußere Elektronen aus dem Anodenmaterial herausschlagen, wobei dann nur eine kleinere Menge Energie abgegeben wird. Insgesamt besteht das in der Röntgenröhre erzeugte Spektrum aus charakteristischer Strahlung und Bremsstrahlung, wobei die Anregungseffizienz eher gering ist und 0,1–1 % beträgt. Die erhaltene Intensität hängt von der verwendeten Röhrenspannung

ab. Ein Fenster aus Berylliumglas ermöglicht den Austritt der Röntgenstrahlung ohne hohe Absorptionsverluste der niedrigeren Energien. [64, 65]

Zwischen Röntgenröhre und Probe kann sich eine Optik, wie z. B. ein Kollimator oder eine Kapillaroptik, zur Fokussierung der Strahlung auf die Probe befinden. Anschließend trifft die Röntgenstrahlung auf die Probe und regt dort die Emission von Fluoreszenzstrahlung an. Die Detektion kann energiedispersiv oder wellenlängendispersiv erfolgen, bei wellenlängendispersiver Detektion wird das Spektrometer zunächst nur auf eine Wellenlänge eingestellt. Soll ein Spektrum erhalten werden, müssen die verschiedenen Wellenlängen separat gemessen werden. Dadurch wird mehr Zeit für die Detektion benötigt, das Ergebnis ist jedoch aufgrund der höheren Auflösung des Spektrums auch präziser. Hier soll jedoch vorwiegend auf die energiedispersive Detektion eingegangen werden, welche simultan für alle Wellenlängen erfolgt. Dabei wird die polychromatische Strahlung der Probe in ein energieproportionales elektrisches Signal umgewandelt. Aktuell wird dafür häufig ein Siliciumdriftdetektor (SDD) verwendet. Dieser besteht aus einem n^- -dotiertem Wafer, dessen Ober- und Unterseite von einem p^+ -dotiertem Bereich bedeckt ist. Eine Verarmung des mittleren Bereiches wird durch Anlegen einer Spannung und das dadurch verursachte Berühren der beiden Raumladungszonen erreicht. Die Elektronen aus dem Potentialminimum werden mittels eines weiteren elektrischen Feldes zur n^+ -Anode gesteuert. Ein SDD besteht aus vielen p^+ -Bereichen auf der Ober- und Unterseite eines Wafers, durch ionisierende Strahlung werden Elektronen-Lochpaare erzeugt. Durch einen Potentialgradienten werden die Elektronen Richtung Anode getrieben, während die Löcher durch den verarmten Bereich zur nächstgelegenen p^+ -Elektrode wandern. Die an der Anode ankommenden Elektronen lösen einen Impuls aus, wodurch die Energie des Strahlungsereignisses ermittelt werden kann, weil die Energie des Photons proportional zur Anzahl der erzeugten Elektronen-Loch-Paare ist. [64, 65, 67]

Die Vorteile der Verwendung des SDD im Vergleich zu anderen Detektoren bestehen darin, dass eine Kühlung mit flüssigem Stickstoff nicht erforderlich und das elektrische Rauschen geringer ist. Allerdings können trotzdem verschiedene Detektorartefakte auftreten, welche in der Regel von der Messsoftware korrigiert werden. Beispielsweise können sogenannte Escape-Peaks entstehen, indem durch den Einfall der Röntgenfluoreszenzstrahlung in den Detektor dieser auf bereits beschriebene Weise angeregt wird. Auch hier können die genannten Prozesse wie Emission eines Photons oder Auger-Elektrons auftreten. Dadurch wird allerdings Energie aus dem Detektor abgegeben, was dazu führt, dass ein zusätzliches Signal im Spektrum entsteht, welches um den Betrag der abgegebenen Energie (z. B. für Si 1,74 keV) vor dem eigentlichen Signal liegt. Außerdem können sogenannte Summenpeaks durch das gleichzeitige Auftreffen von zwei Photonen auf den Detektor entstehen. Zur Vermeidung der Aufsummierung mehrerer auftreffender Photonen wird der Messkanal bei der Detektion eines Ereignisses kurz geschlossen. Allerdings muss dafür ein Mindestzeitabstand zwischen den Ereignissen vorliegen. Falls dies nicht der Fall ist, entsteht im Spektrum ein Signal bei der Summe der beiden Energien. [64, 65]

Die Quantifizierung kann bei RFA-Messungen auf zwei verschiedene Arten erfolgen. Zum einen kann eine standardbasierte Quantifizierung erfolgen, indem verschiedene Referenzproben gemessen und aus den Ergebnissen eine Kalibrierung erstellt wird. Hierbei ist es jedoch

sehr wichtig, dass die Matrix der Referenzmaterialien sehr gut mit der Probe übereinstimmt, weil sehr viele Parameter der Probe das resultierende Spektrum beeinflussen. Beispielsweise haben die Elementzusammensetzung, Dichte und Struktur der Probe einen Einfluss auf die Streuung, Absorption von Strahlung im Material und auch auf das Auftreten von sekundärer Fluoreszenz (Anregung der Probe durch Fluoreszenzstrahlung). Zum anderen ist es auch möglich standardfrei zu quantifizieren, weil theoretisch alle stattfindenden physikalischen Prozesse ausreichend gut bekannt sind, sodass deren jeweiliger Einfluss auf das Spektrum berechnet werden kann. Dies erfolgt über Fundamentalparametergleichungen wie z. B. die Sherman-Gleichung. Es können der Einfluss von Stromstärke und Spannung sowie gerätespezifische Parameter wie Anregungsquelle und Geometrie einbezogen werden. Nachteilig ist an dieser Methode, dass es nicht möglich ist, aus einem gemessenen Spektrum die Zusammensetzung der Probe zu berechnen, sondern dass lediglich das Spektrum aus einer vorgegebenen Zusammensetzung berechnet werden kann. Daher ist es notwendig, sich iterativ dem gemessenen Spektrum zu nähern. Die besten Ergebnisse werden dabei erhalten, wenn das gesamte Spektrum für diese Berechnungen verwendet wird, da in diesem Fall auch der Untergrund ebenfalls genauer berechnet werden kann, sodass Spurenelemente besser bestimmt werden können. Die standardfreie Quantifizierung ist weniger präzise als die Variante mittels Referenzmaterialien und besonders bei hohen Anteilen leichter, nicht messbarer Elemente ungenau. Allerdings ist die Anwendung der standardfreien Quantifizierung flexibler möglich, was besonders dann sinnvoll ist, wenn sich die Zusammensetzung stark ändert oder kein passendes Referenzmaterial verfügbar ist. [64, 65, 68]

3.2.2 Besonderheiten der Mikro- und konfokalen Röntgenfluoreszenzanalyse

3.2.2.1 Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse

Bei der μ RFA wird die Anregungsstrahlung auf einen sehr kleinen Probenbereich beschränkt, um eine orts aufgelöste Messung zu ermöglichen. Theoretisch kann dies mittels eines Kollimators oder einer Kapillaroptik erreicht werden, wobei heute der Kapillaroptik oft der Vorzug gegeben wird, weil dabei wesentlich mehr Intensität die Probe erreicht. Die Kapillaroptik besteht aus vielen Einzelkapillaren aus Glasfaser und ermöglicht sowohl eine parallele Ausrichtung der Strahlung als auch die Fokussierung auf einen Spot im Mikrometerbereich. Während bei gewöhnlichen RFA-Geräten eine Anregungsfläche von 20 - 30 mm Durchmesser verwendet wird, kann mit diesem Aufbau ein Bereich von 20 - 50 μ m angeregt werden. Ursprünglich war die μ RFA nur als Synchrotron-Methode verfügbar, aufgrund der Verwendung von leistungsstärkeren Röntgenröhren und der Verwendung von Kapillaroptiken konnte die Empfindlichkeit soweit verbessert werden, dass auch Tischgeräte verfügbar wurden. Für die Analyse von leichten Elementen ist es sinnvoll den Probenraum zu evakuieren. Auch die Anpassung der Messzeit sollte in Erwägung gezogen werden, da bei längerer Messzeit die aufgenommene Impulszahl steigt und sowohl Präzision als auch Empfindlichkeit verbessert werden können. Aktuell ist die Methode besonders in den Geo- und Lebenswissenschaften zur Bildgebung der Elementverteilung sehr etabliert, weil im Vergleich zur REM-EDX mit weniger Aufwand zerstörungsfrei größere Probenbereiche untersucht werden können. Außerdem ist die Analysentiefe bei der

RFA matrix- und elementabhängig, jedoch ist diese insgesamt größer als die bei REM-EDX erzielte Analysentiefe. [64, 65, 68–71]

3.2.2.2 Konfokale Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse

Wird der im vorherigen Abschnitt beschriebene Aufbau um eine zusätzliche Optik vor dem Detektor erweitert, so kann ein mikroskaliges Untersuchungsvolumen erhalten werden. Diese Methode wird als Konfokale Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse (C_{μ} RFA) bezeichnet. Eine zusätzliche Polykapillarhalblinse im Detektionskanal ist auf den gleichen Bereich wie die Optik im Anregungskanal fokussiert, wodurch aus diesen beiden Foki ein Untersuchungsvolumen definiert wird und mit diesem Aufbau tiefensensitiv gemessen werden kann. Durch die Bewegung des Probestisches kann dieses Untersuchungsvolumen durch die Probe gesteuert werden, womit prinzipiell die zerstörungsfreie dreidimensionale Analyse von Proben möglich ist. Allerdings ist das Probenvolumen sehr klein im Vergleich zum Anregungsvolumen der μ RFA, wodurch die Intensität der emittierten Fluoreszenzstrahlung gering ist. Zudem spielt neben der möglichen Eindringtiefe der Anregungsstrahlung auch die Absorption der Fluoreszenzstrahlung durch die Probe eine große Rolle. Daher ist die Analysentiefe bei schweren Matrices auf wenige Mikrometer begrenzt, während diese bei leichten Matrices in einem Bereich von mehreren Hundert Mikrometern liegen kann. Zudem werden vor allem niedrig energetische Röntgenlinien stark durch diese Absorptionseffekte beeinflusst. Daher ist es sinnvoll die Messzeit pro Punkt zu verlängern, um durch die höhere Pulszahl die Präzision und Empfindlichkeit zu verbessern. Ein Vergleich von μ RFA und C_{μ} RFA ist in Abb. 3.5 dargestellt. [64, 65, 72]

Die Quantifizierung kann nun nicht mehr mittels der zuvor verwendeten Fundamentalparametermethode durchgeführt werden, weil die Absorption je nach Analysentiefe, Matrix der Probe und Energie der jeweiligen Fluoreszenzlinien verschieden stark absorbiert wird. Daher ist es sinnvoll Referenzmaterialien zum Vergleich heranzuziehen, bei denen die Elementzusammensetzung tiefenabhängig bekannt ist, wodurch die Kalibrierung der Geräteparameter und eine Quantifizierung der erhaltenen tiefenabhängigen Elementsignale ermöglicht wird. [72–74]

3.3 Referenzmaterialien

In der Analytischen Chemie haben Standards eine sehr große Bedeutung, da diese zur Kalibrierung fast aller Messverfahren benötigt werden. Sowohl die Zuweisung bestimmter Signale zu den entsprechenden Analyten, als auch die Übersetzung der Signalintensität eines Messsignals in einen Gehalt erfordert in der Regel die Messung von Vergleichsproben. In diesem Kapitel soll auf die dafür nötigen Anforderungen bei der Festkörperanalytik, sowie verschiedene Kalibriermöglichkeiten und bisher verwendete Materialien eingegangen werden. [19, 76]

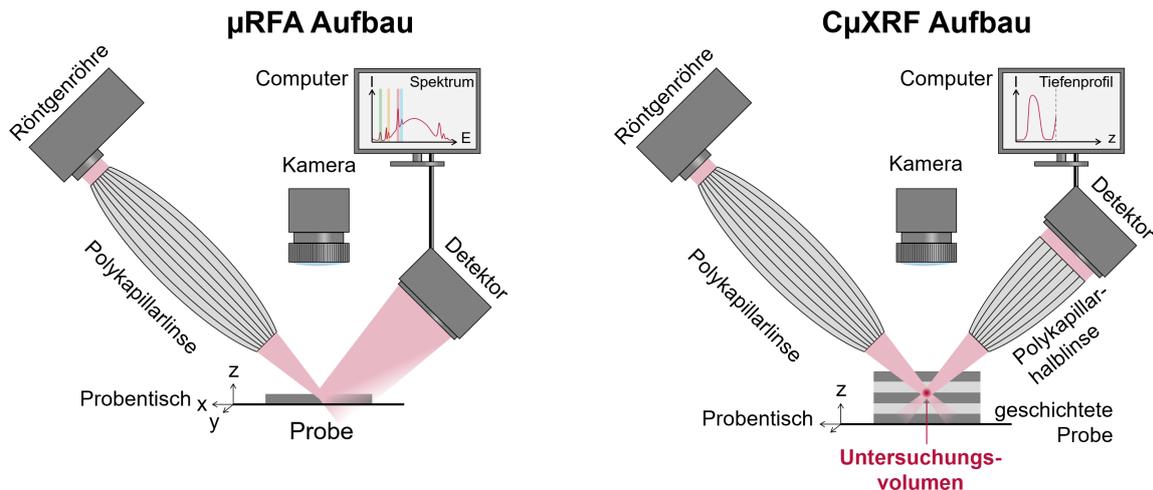


Abb. 3.5: Vergleich der Anordnungen und erzielbaren Resultate von μ RFA und $C\mu$ RFA nach [75] erstellt von Korbinian Heimler. Bei der μ RFA (links) wird die Strahlung der Röntgenröhre durch eine Polykapillarlinsen auf einen Probenbereich von ca. 20 μ m fokussiert. Bei dem Aufbau der $C\mu$ RFA (rechts) ist zusätzlich eine weitere Linse vor dem Detektor angebracht, welche zur Fokussierung auf ein mikroskaliges Probenvolumen führt.

3.3.1 Allgemeiner Zweck

Im Goldbuch der IUPAC (*IUPAC Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*) wird ein Referenzmaterial als Substanz oder Mischung aus Substanzen beschrieben, deren Zusammensetzung innerhalb definierter Grenzen bekannt ist. Zudem muss mindestens eine Eigenschaft ausreichend gut bekannt sein, damit das Material für die Gerätekalibrierung, die Validierung einer Messmethode oder die Wertezuweisung zu Materialien geeignet ist. [77]

Derartige Materialien können von einigen Organisationen wie z. B. dem *National Institute for Standards and Technology* (NIST, USA), der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM, GER) oder dem *Community Bureau of Reference* (UK) bezogen werden. In diesem Fall wird zum Material ein Zertifikat beigefügt, aus welchem alle bekannten Eigenschaften und deren zugehörige Unsicherheit entnommen werden können. [3, 77]

Im ISO/Guide 30:2015 wird definiert, dass ein Referenzmaterial ausreichend homogen und stabil hinsichtlich der für den vorgesehenen Zweck nötigen Eigenschaften sein muss. Ein zertifiziertes Referenzmaterial (CRM) wird zudem mit einem Zertifikat verkauft, in welchem die Eigenschaften, deren Unsicherheit und die jeweilige Messtechnik aufgeführt sind. [78]

Wie in Abschnitt 3.1 und Abschnitt 3.2 beschrieben, ist es für eine präzise Analyse notwendig an die Matrix der Probe angepasste Standards zu verwenden, weil die Zusammensetzung der Probe hinsichtlich der Hauptbestandteile, aber oft auch deren physikalische Eigenschaften, einen sehr starken Einfluss auf das Messergebnis haben. Idealerweise sind zudem möglichst viele Eigenschaften gut charakterisiert und die Analyten sind in entsprechender Menge enthalten, um den erwarteten Konzentrationsbereich abzudecken. Standards für die Flüssiganalytik sind in der Regel leicht erhältlich, zudem können Anpassungen an die jeweilige Fragestellung durch Verdünnen und Mischen verschiedener Lösungen problemlos vorgenommen werden. Im Gegensatz dazu sind Festkörperstandards oft sehr teuer und nicht für alle Probenmatrices erhältlich. Zudem sind oft nur bestimmte Elementkombinationen und wenige Konzentrations-

stufen verfügbar. [20, 76]

Da sich das Interesse der Forschung z. B. in den Lebenswissenschaften immer komplizierteren Fragestellungen zuwendet und dafür immer präzisere analytische Methoden entwickelt werden, müssen auch die Referenzmaterialien für diese Analysen weiterentwickelt werden. Für die Festkörperanalytik ist zudem die Homogenität des Materials ein weiterer wichtiger Punkt, weil viele Methoden in der Lage sind orts aufgelöste Messungen durchzuführen. Daher ist die Homogenität nicht nur für die Reproduzierbarkeit wichtig, sondern auch um bei jeder Messung eine repräsentative Menge des Materials zu untersuchen. Allerdings stehen für viele Fragestellungen nicht genügend Referenzmaterialien zur Verfügung, weshalb vor allem in der Forschung auf Alternativen wie die Herstellung von eigenen, angepassten Standards zurückgegriffen werden muss. Dies ist jedoch oft sehr zeitaufwendig und die resultierende Homogenität ist oft unbekannt. Außerdem gibt es auch viele Ansätze, die durch methodische Anpassungen ohne matrixangepasste Standards, jedoch mit rechnerischer Korrektur der Messwerte, gute Ergebnisse zu erzielen. [3, 9, 20, 79]

3.3.2 Kalibrierstrategien

Als Idealfall wird angesehen, wenn für die Kalibrierung eine Kombination von internem und externem Standard verwendet wird. Dabei dient die externe Kalibrierung der Übersetzung der Signalintensität in einen Gehalt, der interne Standard wird verwendet, um gerätebedingte Schwankungen während der Messung ausgleichen zu können. Diese Schwankungen können z. B. durch die Laserablationsrate, *memory*-Effekte, Detektordrift, Plasmainstabilitäten oder auch Fraktionierungseffekte verursacht werden. [4, 11, 28, 51, 76]

Voraussetzung für die Verwendung eines Elements oder Isotops als interner Standard ist, dass dieses homogen in der Probe und im Referenzmaterial verteilt vorliegt und jederzeit gut messbar ist. Des Weiteren sollten alle systematischen Fehler damit korrigierbar sein, also muss der interne Standard ein ähnliches Verhalten wie die Analyten während der Messung aufweisen. Bei der LA-ICP-MS ist z. B. das Verhalten während des Transportes und der Ionisierung im Plasma besonders wichtig, da hierbei leicht Fraktionierungseffekte auftreten können. Generell werden dafür vor allem Matrixbestandteile in Betracht gezogen, weil diese öfter homogen verteilt in der Probe vorliegen, für geologische Proben kann z. B. in manchen Fällen $^{43}\text{Ca}^+$ verwendet werden. In biologischer Matrix werden häufig Kohlenstoff- und Schwefelisotope in Erwägung gezogen. [20, 28, 76, 80]

Allerdings sind Einflüsse wie die Gerätedrift oder Fraktionierungseffekte masseabhängig, so dass theoretisch mehrere interne Standards mit verschiedenen Massen und mit bekannten Gehalten für eine ideale Korrektur notwendig wären, was bei Realproben normalerweise nicht umsetzbar ist. [21]

Außerdem ist zu beachten, dass z. B. morphologische Effekte der Probe durch einen internen Standard korrigiert werden können. Jedoch muss dafür eine messpunktweise (pixelweise) Korrektur (bei orts aufgelösten Messungen) durchgeführt werden. [81]

3.3.2.1 $^{13}\text{C}^+$ -Normierung

Für die Verwendung von $^{13}\text{C}^+$ als interner Standard bei Gewebeproben spricht, dass Kohlenstoff ein Hauptbestandteil jeder biologischen Matrix ist. Von Becker *et al.* wurde gezeigt, dass eine $^{13}\text{C}^+$ -Normierung sinnvoll für die Spurenanalyse von Tabakpflanzen mit unbekanntem Wassergehalt ist. Dafür wurden getrocknete und gemahlene Tabakblätter verwendet, welche mit unterschiedlichem Wassergehalt und Standardlösungen zum Einbringen verschiedener Metalle versetzt wurden. Es wurde gezeigt, dass mit steigendem Wassergehalt der Proben das Signal der Matrixbestandteile $^{13}\text{C}^+$, $^{33}\text{S}^+$ und $^{34}\text{S}^+$ abnahm. Als Bestimmtheitsmaß für die Korrelation Wassergehalt zu Matrixion wurde 0,96 bis 0,97 angegeben und das Verhältnis $^{55}\text{Mn}^+ / ^{13}\text{C}^+$ wurde über verschiedene Wassergehalte als konstant beschrieben. Von den Autoren wird empfohlen $^{13}\text{C}^+$ als internen Standard bei der Analyse von biologischen Proben zu verwenden, weil diese in der Regel einen unbekanntem Wassergehalt aufweisen, welcher einen internen Standard nötig macht und das Signal von $^{13}\text{C}^+$ intensiver ist, als die Signale der Schwefelisotope. Allerdings muss dafür angenommen werden, dass $^{13}\text{C}^+$ homogen über den Messbereich verteilt ist. [82]

Auch von Austin *et al.* wurde $^{13}\text{C}^+$ als interner Standard untersucht. Für Dünnschnitte von Hühnerbrust wurde eine Korrelation von steigender Schichtdicke von 10 - 90 μm mit dem gemessenen $^{13}\text{C}^+$ -Signal beobachtet. Das Bestimmtheitsmaß wurde mit $>0,97$ angegeben, bei der Durchführung einer Untergrundkorrektur sogar $>0,99$. Zudem wurde ebenfalls auf den Zusammenhang zwischen gemessenem $^{13}\text{C}^+$ -Signal und Wassergehalt der Probe verwiesen. Insgesamt empfehlen die Autoren die Verwendung von $^{13}\text{C}^+$ als internen Standard für die beschriebenen Zusammenhänge, sowie zur Korrektur von auftretenden Transportverlusten, falls die von der Probe verursachte $^{13}\text{C}^+$ -Signalintensität mindestens 6 % des Rohsignals (Gesamtintensität auf dem m/z-Verhältnis 13) ausmacht. Es wird jedoch auch darauf hingewiesen, dass $^{13}\text{C}^+$ weniger empfindlich für die ablatierte Masse ist, als andere mögliche interne Standards. Für die Korrektur einer Massendiskriminierung wäre eher ein Isotop zu empfehlen, welches ein möglichst ähnliches m/z-Verhältnis und erstes Ionisierungspotential wie der Analyt aufweist. [83]

Auch von anderen Autoren wird die $^{13}\text{C}^+$ -Normierung kritisch beurteilt, weil auch die Isotope, die in jeder biologischen Matrix vorkommen, nicht immer in dieser homogen verteilt sind, dies ist jedoch eine notwendige Annahme. Außerdem ist das erste Ionisierungspotential von Kohlenstoff und Schwefel vergleichsweise hoch. Daher haben Plasmaschwankungen einen stärkeren Einfluss auf die Ionisierung dieser Isotope als z. B. auf Metalle. Bonta *et al.* konnten daher durch $^{13}\text{C}^+$ -Normierung den Einfluss der Gerätedrift auf das Messergebnis verringern, jedoch nicht vollständig beseitigen. [4, 84]

Frick *et al.* untersuchten das Verhalten von Kohlenstoff während der Laserablation. Dabei konnte gezeigt werden, dass Kohlenstoff zum einen in Form von Partikeln ablatiert werden kann, zum anderen aber auch gasförmig und in Form ultrafeiner Partikel ($<0,3 \mu\text{m}$). Der Anteil an Kohlenstoff in der Gasphase ist abhängig von der Menge an Sauerstoff im Material. Je mehr Sauerstoff vorhanden ist, desto mehr Kohlenstoff befindet sich in der Gasphase und desto weniger wird als Partikel transportiert. Der Anteil an der Gasphase kann dabei bis zu 80 %

betragen. Beide Phasen wurden in je einem Experiment abgefangen. Die Partikel wurden mittels eines Membranfilters aus dem Gasstrom entfernt, was zur Abnahme des Rauschens des $^{13}\text{C}^+$ führte. Zudem wurden die in der Probe enthaltenen Elemente jedoch ebenfalls deutlich weniger nachgewiesen. Durch die Absorption der Gasphase in einer NaOH-Lösung wurde das in der Gasphase enthaltene CO_2 entfernt und das $^{13}\text{C}^+$ -Signal nahm ab. Das Gleiche wurde beim Austausch der Gasphase gezeigt, wobei die gemessene Intensität der zusätzlich enthaltenen Metallionen nicht beeinträchtigt wurde. Daraus wurde geschlussfolgert, dass die in der Probe enthaltenen Elemente vorwiegend mit der Partikelphase des Kohlenstoffs und nicht mit der Gasphase transportiert werden. [80]

Deiting *et al.* untersuchten wie geeignet $^{13}\text{C}^+$ als interner Standard für die Analyse von verschiedenen Polymeren ist. Diese Polymere haben den Vorteil, dass Kohlenstoff ein Hauptbestandteil und homogen verteilt ist. Die verwendeten Polymere wiesen aufgrund unterschiedlicher UV-Absorption ein ungleiches Ablationsverhalten auf. Dieses wurde anhand verschieden geformter Ablationskrater und unterschiedlich starker Abscheidung von Material auf der Probenoberfläche festgestellt. Außerdem wurde die Kratertiefe nach der Ablation gemessen und verwendet, um die Menge ablatierten Materials zu bestimmen. Bei der Vermessung der Krater wurde festgestellt, dass geringe UV-Absorption zu einem tieferen Eindringen der Strahlung in das Material führt. Dieses heizt sich dabei stärker auf und es wird mehr Probenmaterial ausgeworfen, was zu einem größeren Krater und einem unregelmäßigerem Kraterboden als bei starker Absorption führte. Es wurde darauf hingewiesen, dass bei starker Absorption gasförmige Zersetzungsprodukte abgegeben und gemessen werden können. Weiterhin hat auch die Glasübergangstemperatur der Polymere einen Einfluss auf die Ablation. Je niedriger diese Temperatur ist, desto flexibler sind die Ketten im Polymer und desto leichter können diese aufgebrochen werden. Für 21 verschiedene Polymere wurden 100 Laserablationsschüsse auf der gleichen Stelle mit einer Spotgröße von 200 μm durchgeführt. Nach dem Abzug des Untergrunds wurde über das gemessene Signal integriert und die Korrelation mit der Kratergröße ermittelt ($R^2=0,885$). Dieser Zusammenhang wurde als annehmbar bewertet, jedoch wurde empfohlen, falls möglich, auf matrixangepasste Standards zurückzugreifen. [85]

3.3.2.2 Normierung auf andere Signale

Neben der Verwendung von ohnehin in der biologischen Matrix vorhandenen Isotopen gibt es auch Ansätze bestimmte Elemente, extra für die Verwendung als interner Standard, zur Probe hinzuzufügen. Dabei kommt besonders ^{89}Y in Betracht, weil es selten natürlich im Gewebe vorkommt und eine mittlere Masse besitzt. Somit kann die Ähnlichkeit des m/z -Verhältnisses zu vielen anderen Isotopen vergleichsweise gut gewährleistet werden. Jedoch besteht immer das Problem, dass ein künstlich zugesetzter interner Standard bekannter Konzentration überall in der Probe, möglichst homogen vorliegen muss. Besonders wenn die Messung orts aufgelöst durchgeführt werden soll, kann die Probe nicht einfach homogenisiert werden, weil dabei diese Information verloren gehen würde. Von Konz *et al.* wurde daher vorgeschlagen, die Probe mit Gold zu besputtern. Ein Glasstandard (NIST 612) wurde auf diese Weise mit Gold beschichtet, wobei die mittels LA-ICP-MS aufgenommenen Messwerte mit einer Standardabweichung von etwa 20 % als stabil angesehen wurden. Bei Tests an Gewebeschnitten wurde

die Verwendung von $^{197}\text{Au}^+$ zur Normierung im Vergleich mit $^{13}\text{C}^+$ als besser angesehen, weil das Goldsignal die Ablationsrate besser repräsentiert. Hohe Goldsignale wurden nicht als goldreiche Probenbereiche, sondern als stärker ablatierte Stellen identifiziert. Weitere Angaben zur Homogenität der Goldschicht wurden nicht gemacht. [20, 86]

Neben der Normierung auf $^{13}\text{C}^+$ kann auch eine Isotopenverdünnung angewendet werden, um Schwankungen aller Art während der Messung zu korrigieren. Das ist jedoch schwierig umzusetzen und sehr aufwendig. Voraussetzung ist das Vorhandensein oder das Einbringen von zwei nicht interferierten Isotopen, welche zudem möglichst im Verhältnis eins zu zehn und homogen verteilt vorliegen müssen. Diese Vorgaben sind besonders für die orts aufgelöste Analyse schwer umsetzbar. Von Pozebon *et al.* wurde beschrieben, dass der Isotopenstandard meist auf die Oberfläche der Probe aufgebracht wird. Thieleke *et al.* beschreiben hingegen eine Methode, bei der die Probe auf verschiedene Schichten eines Polymers aufgebracht wird. Die unterste Schicht enthält Lithium und dient als Sicherheitsmarker, dass die komplette notwendige Tiefe ablatiert wurde. Auf der Lithiumschicht befindet sich eine Schicht, welche sowohl Bismut enthält als auch mit ^{204}Pb angereichert ist. Auf diese Schicht wurde ein Dünnschnitt der Probe aufgebracht, in der der Bleigehalt ermittelt werden sollte. Es ist bei diesem Vorgehen sehr wichtig, dass die Polymerschichten eine konstante Schichtdicke aufweisen, da andernfalls dadurch Fehler im Resultat entstehen. Das Bismutsignal wurde zur Korrektur der Ablationsrate sowie der Gerätedrift verwendet, während das geänderte Isotopenverhältnis zur Quantifizierung des Bleis in der Probe verwendet wurde. Auf diese Weise könnten Ergebnisse mit etwa einem Prozent Abweichung von den zertifizierten Werten erhalten werden. [4, 11, 87]

Ein anderer Ansatz ist das Einbeziehen von zusätzlichen Daten über die Probe. So wurde z. B. von Becker *et al.* die Zelldichte in der Probe mit Autoradiographie bestimmt und die LA-ICP-MS-Ergebnisse auf die Dichte normiert, weil bekannt ist, dass die Dichte im Bereich von Tumoren deutlich höher ist als im übrigen Gewebe. Die Gesamtprobe kann auch einbezogen werden, indem die Normierung über die Summenintensität durchgeführt wird. Hierfür ist es notwendig alle Bestandteile der Probe zu detektieren, weil diese die ablatierte Probenmasse repräsentieren. Abhängig von der Art der Probe ist das jedoch nicht leicht durchführbar, daher wurde auch vorgeschlagen, die Probe vor und nach der Messung zu wiegen sowie einen optischen Partikelzähler zu verwenden, um die ablatierte Masse der Probe bestimmen zu können. [11, 20]

3.3.2.3 Kalibrierung mittels Lösungen

Von Thompson *et al.* wurde vorgeschlagen, die Kalibrierung für LA-ICP-OES-Messungen mithilfe von Flüssigkeiten durchzuführen, die wie bei der Optischen Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) üblich über einen Zerstäuber in das Gerät eingebracht wurden. Auf diese Weise sollte die Kalibrierung ohne matrixangepasste Standards erfolgen können und die Untersuchung der auftretenden Interferenzen ermöglicht werden. Von Günther *et al.* wurde dieses Vorgehen für die LA-ICP-MS adaptiert, wobei die zerstäubte Lösung und die Gase von der Laserablation vor dem Plasma gemischt wurden. Pickhardt

et al. veränderten diesen Aufbau, indem der (Ultraschall)-Zerstäuber vor der Ablationskammer eingebaut wurde, sodass es nur noch einen Gasstrom gab und keine Mischung mehr stattfinden musste. Auf diese Weise konnten Ergebnisse mit weniger als 10 % Abweichung von der Referenz erhalten werden. Es ist jedoch erforderlich, in der Lösung einen internen Standard zu verwenden und während der Messung der Kalibrierlösungen die Ablation auf einem matrixangepassten Blank durchzuführen. Während der Ablation der Probe wurde verdünnte Salpetersäure für die Zerstäubung verwendet. Vorteilhaft ist bei diesem Vorgehen, dass die Lösungsstandards oftmals viel leichter erhältlich sind, allerdings ist oft auch kein passendes Material für die Leerwertmessungen verfügbar. Es ist zudem notwendig, einen Korrekturfaktor einzuberechnen, welcher die verschiedenen Sensitivitäten der Flüssig- und Festkörpermessung ausgleicht. [18, 88–91]

Von Fittschen *et al.* wurde eine Art Standardaddition für Festkörpermessungen beschrieben. Dafür wurde eine Lösung mittels Drucker auf ein Basismaterial gedruckt und trocken gelassen. Es wurde festgestellt, dass das Drucken der Lösung präziser als händisches Pipettieren ist. Die Tropfen haben einen Durchmesser von 5 - 20 μm , der jedoch vom verwendeten Basismaterial abhängig ist. Aufgrund der teils unregelmäßigen Form des Rückstandes ist es nötig diesen vollständig zu analysieren, wobei Kalibrierreihen mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,97 und besser erhalten wurden. Kuczelinis *et al.* etablierten darauf aufbauend ein sogenanntes *dried droplet on demand* Verfahren, welches eingesetzt werden kann, falls das Probenmaterial sehr limitiert ist. Dies wurde anhand von Technovit (Poly-2-hydroxyethylmethacrylat) gezeigt, welcher mit Flüssigstandards präpariert wurde. Die Gehalte der angefertigten Dünnschnitte wurden mittels NIST 612 Glasstandard ermittelt. Zudem wurden Picolitertropfen verschiedener Lösungen auf die Dünnschnitte gegeben. Nach dem Trocknen wurden sowohl die Probenbereiche, auf welchen sich der Rückstand befand, gemeinsam mit dem darunter befindlichen Probenmaterial ablatiert, als auch ein Bereich der Probe ohne zusätzliches Material. Anhand der bekannten Schichtdicke konnte die ablatierte Probenmenge berechnet werden und somit auch die Konzentration in dieser bestimmt werden. Nachteil dieser Methode ist, dass ausschließlich Dünnschnitte quantifiziert werden können. [92, 93]

3.3.3 Etablierte Materialien für matrixangepasste Standards

Die im Abschnitt 3.3.2 beschriebenen Vorgehensweisen, wie die Normierung auf bestimmte Signale, werden in der Regel durch eine externe Kalibrierung ergänzt. Dafür wird die Verwendung von möglichst gut an die Probenmatrix angepassten Materialien angestrebt, weil bekannt ist, dass bei vielen Methoden die Probenmatrix einen großen Einfluss auf das Ergebnis hat. Durch die Verwendung der gleichen Matrix für die Standards soll deren Einfluss minimiert werden. Beispielsweise ist bei der LA-ICP-MS das Auftreten von Fraktionierungseffekten, die Transporteffizienz und die Ionisierungseffizienz im Plasma matrixabhängig. Bei der RFA hat die Matrix einen Einfluss auf Absorptionseffekte und die Anregung sekundärer Fluoreszenzstrahlung.

Es gibt jedoch wenige Informationen, wie stark der Einfluss bei abweichender Matrix ist. Von Sounders *et al.* wurde für die Isotopenverhältnismessung von Blei in Feldspat die Kalibrierung mit NIST-Gläsern durchgeführt. Es wurde angegeben, dass präzise Ergebnisse trotz abwei-

chender Matrix erhalten wurden. [6, 21, 68, 94, 95]

In den folgenden Abschnitten soll auf die verschiedenen Möglichkeiten für den Bezug und die Herstellung von Standards für die externe Festkörperkalibrierung sowie deren Vor- und Nachteile eingegangen werden.

3.3.3.1 Homogenität des Materials

Für die Kalibrierung von orts aufgelösten Messungen ist es von besonderer Bedeutung, dass das Referenzmaterial homogen vorliegt. Abhängig von der Auflösung, die mit der jeweiligen Methode erreicht werden kann, werden die Anforderungen an das Material definiert. Ist der Messfleck, welcher auf einmal analysiert wird, groß, dann wird mit jeder Messung über in diesem Bereich vorhandene kleinere Inhomogenitäten gemittelt. Ist der Messfleck jedoch sehr klein, dann können diese differenziert werden. Somit ist in der Regel nicht mehr sichergestellt, dass jeweils ein für diese Probe repräsentativer Bereich gemessen wurde. Für Referenzmaterialien ist zudem nur der mittlere Gehalt bekannt, sodass es notwendig ist, einen Bereich zu analysieren, der für diesen Gehalt repräsentativ ist.

Umgekehrt kann die Mikrohomogenität einer Probe durch die Masse angegeben werden, welche mindestens analysiert werden muss, um ein bestimmtes Homogenitätsmaß zu erzielen. Dafür ist es notwendig, die analysierte Masse präzise zu bestimmen. [96, 97]

Bei der Herstellung von Referenzmaterialien ist es schwierig im Bereich einer Auflösung von 10 bis 50 μm und besser Homogenität zu erzielen. Die Ursache dafür ist, dass Partikel sich durch mechanische Krafteinwirkung wie (z. B. mahlen) nur bis ca. einem Mikrometer Größe gut beeinflussen lassen. Bei kleineren Partikeln nimmt zudem die spezifische Oberfläche stark zu, wodurch auch die Wechselwirkungen zwischen den Partikeln steigen. Dies führt zu Effekten wie Wandhaftung oder Agglomeration. Die Materialhomogenität kann bestimmt werden, indem Messungen an verschiedenen Stellen des Materials durchgeführt werden und anschließend die Abweichung zwischen den Messstellen berechnet wird. Hierbei kann jedoch nur die Gesamtmessunsicherheit ermittelt werden, weil auch Abweichungen im Messergebnis durch das Geräterauschen u. ä. erzeugt werden können. Für die Abschätzung, wie hoch der Einfluss der Analysemethode ist, können mit zerstörungsfreien Analysemethoden Mehrfachmessungen an exakt der gleichen Probestelle durchgeführt werden. Falls die Methode nicht zerstörungsfrei ist, kann dieses Vorgehen nicht verwendet werden, weil der Probenbereich nach einer Messung verbraucht ist und nicht erneut gemessen werden kann. Es können jedoch Parallelmessungen am gleichen Material durchgeführt werden, wobei immer das Risiko besteht, dass die Materialinhomogenität das Ergebnis mit beeinflusst. Von Zoriy *et al.* wurde beispielsweise bei mehreren LA-ICP-MS-Messungen von Gewebeschnitten eine relative Standardabweichung von fünf bis zehn Prozent zwischen den Linienmessungen ermittelt. [2, 96–99]

3.3.3.2 Zertifizierte Referenzmaterialien

Zertifizierte Referenzmaterialien können von verschiedenen Instituten gekauft werden. Diese werden zusammen mit einem Zertifikat ausgeliefert, in welchem Angaben über den Gehalt der zertifizierten Elemente festgehalten sind. Am bekanntesten sind die vom *National Institute*

of Standards & Technology (NIST, USA) hergestellten Gläser. Diese enthalten eine sehr große Zahl an Spurenelementen, von denen 15 zertifiziert wurden und viele weitere als informative Werte angegeben sind. Diese Materialien galten lange als ideale Referenzmaterialien, z. B. für LA-ICP-MS-Messungen. Heute werden diese vorwiegend noch für geologische Proben eingesetzt, teilweise jedoch auch für Messungen von Gewebeproben verwendet. Vorteilhaft ist, dass diese sehr viele Elemente enthalten und in mehreren Gehaltsabstufungen erhältlich sind. Allerdings ist die Glasmatrix zu beispielsweise Gewebeproben deutlich verschieden, aber auch zu geologischen Proben wie Sulfidmineralen. Weiterhin ist die laut Zertifikat zu verwendende Mindestanalysemenge mit 250 mg für die Mikroanalytik zu hoch und es wurde von Eggins *et al.* gezeigt, dass viele Elemente nicht mikrohomogen verteilt vorliegen. Trotzdem sind diese Gläser besonders für Mineralanalysen ein guter Ansatzpunkt, da ein breites Spektrum an Elementen und vergleichsweise hohen Gehalten abgedeckt werden. [20, 21, 100, 101]

Problematisch für die orts aufgelöste Mikroanalytik und deren Anforderungen ist, dass viele zertifizierte Materialien ursprünglich für Methoden wie ICP-OES, ICP-MS oder Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) vorgesehen waren. Dabei handelt es sich um Methoden für die Lösungsanalytik. Als Feststoff verfügbare Referenzmaterialien werden äquivalent zur Probe aufgeschlossen, um die Messroutine zu validieren. Für diese Anwendung ist es vorteilhaft, wenn das Referenzmaterial als Pulver bereitgestellt wird. Für die Verwendung als Referenzmaterial für die Festkörperanalytik ergibt sich in diesem Fall die Notwendigkeit einen homogenen Feststoff aus dem Pulver zu präparieren. Dafür wurden in der Literatur verschiedene Möglichkeiten vorgeschlagen, wobei die Homogenität des Materials immer ein problematischer Punkt ist. Von Monk *et al.* wurde vorgeschlagen, pulverförmige Referenzmaterialien mit einer hydraulischen Presse zu Tabletten zu pressen. Ein anderer Ansatz ist das Herstellen einer Suspension und deren Eintrocknen auf einem Träger. [9, 76, 102, 103]

Bei der Verwendung von zertifizierten Referenzmaterialien ist die Auswahl der Matrix, der Elemente und der verfügbare Konzentrationsbereich eingeschränkt. Daher ist oftmals nur eine Einpunktkalibrierung möglich, was sich besonders negativ auf die Qualität der Ergebnisse auswirkt, falls der Gehalt in der Probe in einer anderen Größenordnung als im verwendeten Referenzmaterial vorliegt. Um dieses Problem zu beheben, werden die zertifizierten Referenzmaterialien teilweise mit Flüssigstandards versetzt, um die Konzentration und die Elementauswahl anzupassen. Dabei werden zwar die zertifizierten Gehalte verändert, jedoch kann durch die Verwendung des zertifizierten Materials sichergestellt werden, dass alle in der Matrix vorhandenen Elemente und deren Mindestgehalte bekannt sind. Dieses Vorgehen wurde von Becker *et al.* für Apfelblätter (NIST SRM 1515) beschrieben, wobei besonderer Wert auf die ausreichende Homogenisierung des Materials gelegt werden muss. Deshalb wurde das Pulver zunächst homogenisiert, anschließend mit den flüssigen Standardlösungen in der gewünschten Menge versetzt, abschließend erneut homogenisiert und getrocknet. Der Wassergehalt kann bei zertifizierten Materialien zudem leicht abweichen, sodass ggf. eine Rehydrierung vorgenommen werden soll. [4, 9, 20, 51, 76]

3.3.3.3 Hausinterne Referenzmaterialien

Die (ortsaufgelöste) Analyse von Spurenelementgehalten ist im Bereich der Lebenswissenschaften von großer Bedeutung, um die Mechanismen der Metabolisierung verschiedener Elemente und Verbindungen zu untersuchen. An die jeweilige Matrix angepasste zertifizierte Referenzmaterialien sind jedoch nicht im nötigen Umfang verfügbar. Daher werden oft hausinterne Materialien hergestellt, welche aus der jeweiligen Matrixkomponente bestehen und zusätzlich mit Elementen versetzt werden. [4, 9, 20]

Hausinterne Referenzmaterialien mit probenidentischer Matrix Referenzmaterialien können besonders für destruktive Methoden als Verbrauchsmaterial angesehen werden, zudem ist oft eine Anpassung an die jeweilige analytische Fragestellung notwendig. Deswegen wird fortwährend nach neuen Herstellungsmethoden gesucht. In diesem Abschnitt sollen einige Vorgehensweisen, die zur Herstellung von Referenzmaterialien mit probenidentischer Matrix verwendet werden können, vorgestellt werden. [104]

Für geologische Proben ist beispielsweise eine sulfidische Matrix von Interesse. Von Wilson *et al.* wurde vorgeschlagen, diese durch die Fällung aus einer Lösung der Metallsalze durch Zugabe von Na_2S -Lösung herzustellen. Bei der Untersuchung des Feststoffes mittels LA-ICP-MS und einem Messfleckdurchmesser von 50 μm wurde eine relative Standardabweichung von etwa 10 % erzielt. Bei der Verwendung von 25 μm Spotgröße wurde die Homogenität als wesentlich schlechter eingestuft, weil die relativen Standardabweichungen 20 % und mehr betragen. Eine weitere Methode ist die Herstellung mittels Festkörperreaktion bei hohen Temperaturen aus den Metallen, Schwefel und den Lösungen der Edelmetalle. Es wurde gezeigt, dass die erzielte Homogenität bei dieser Methode hauptsächlich von der Art der Hauptkomponente abhängig ist, im besten Fall wurden 4 % erzielt. Ein noch etwas besser homogenes Material (2–5 %) wurde durch Mahlen eines Nanopulvers aus Gesteinsproben erhalten, die Homogenität wurde als vergleichbar mit den NIST Gläsern eingestuft. Insgesamt wurde jedoch festgestellt, dass es sehr schwer ist Referenzmaterialien herzustellen, welche im Bereich von 10–50 μm homogen vorliegen. [2, 104, 105]

Auch für biologische Proben wird in der Literatur angegeben, dass ein homogenes Material sehr schwer zu erzielen ist. Üblicherweise wird es aus den Analyten und der Matrix bzw. einem Bindemittel hergestellt, dieser Prozess ist jedoch sehr aufwendig. Zudem ist die benötigte Matrix nicht immer leicht erhältlich und es können bereits ungewisse Mengen der Analyten enthalten sein, sodass es nicht mehr möglich ist, einen geringeren Gehalt zu erzielen. [106]

Für die Analyse von Knochengewebe wurde von Gruhl *et al.* zunächst Hydroxylapatit, durch Fällen aus einer Lösung und anschließendes Sintern des Niederschlages, hergestellt. Die Korngrößenfraktion < 80 μm wurde anschließend mit einer Lösung aus Polyvinylalkohol, seltenen Erden und Magnesiumionen versetzt und getrocknet. Auf diese Weise wurde ein Anteil an organischem Material von 5 % erzielt. Die Korngrößenfraktion < 80 μm wurde zu einer Tablette gepresst. Mit einer Laserspotgröße von 80 μm wurde eine relative Standardabweichung von 32 % erzielt. [107]

Ein Referenzmaterial für Pflanzenproben wurde von Boulyga *et al.* hergestellt, indem ein aus

Wasserpflanzen hergestelltes Pulver mit wässrigen Standardlösungen getränkt, anschließend getrocknet und zu Pellets gepresst wurde. Von Becker *et al.* wurde die Verwendung von Pulver von Tabakblättern beschrieben. Dieses Pulver wurde getrocknet, ebenfalls mit Standardlösungen versetzt und der gewünschte Wassergehalt wurde zusätzlich eingestellt. Das auf diese Weise erhaltene Material wurde mittels Glutaraldehyd auf einem Träger befestigt. Für beide Methoden wurden keine Angaben zur Qualität des hergestellten Materials gemacht. [82, 108] Für tierisches Gewebe wurden oftmals ähnliche Vorgehensweisen beschrieben. Das Gewebe wie z. B. Hühnerbrust oder Hirngewebe wurde zunächst homogenisiert, mit Standardlösungen der benötigten Konzentration vermischt, eingefroren, mithilfe eines Kryomikrotoms geschnitten und auf einen Glasträger aufgebracht. Die mit diesen Materialien erhaltene Kalibriergeraden wurden abhängig von Quelle und Element mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,9 und höher angegeben. Die Homogenität wurde nicht einzeln beurteilt. [9, 91, 109]

Darauf aufbauend wurde von Jurowski *et al.* ein verbessertes Vorgehen vorgeschlagen. Das Verwenden von Säure, welche in den meisten Flüssigstandards enthalten ist, sollte vermieden werden. Deshalb wurden die benötigten Lösungen durch Auflösen der Salze in Wasser hergestellt. Zudem wurde das Material durch Eintauchen in flüssigen Stickstoff gefroren. Die Homogenität der auf diese Weise erhaltenen Dünnschnitte wurde bereits optisch als besser empfunden, weil deutlich weniger Blasen und Risse vorhanden waren. Die Homogenität wurde mittels LA-ICP-MS-Linienmessungen mit einer Spotgröße von 100 μm bestimmt. Für Magnesium wurden relative Standardabweichungen von 6,5-11,2 % innerhalb einer Linie und 6,8 % zwischen den verschiedenen Linien angegeben, für Zink wurden 4,2-6,1 % bzw. 4,9 % ermittelt. [110]

Alle bisher beschriebenen Präparationsstrategien sind darauf ausgelegt, dass während der gesamten Handhabung Probe und Referenzmaterial gefroren gehalten werden. Moderne LA-ICP-MS-Geräte sind mit einer Kryozelle ausgestattet, welche es ermöglicht, dass die Probe während der Messung gekühlt wird. Es ist jedoch nicht immer möglich alle Komponenten gefroren zu halten, daher wurden in der Literatur auch andere Präparationsmethoden beschrieben. Für eine Variante wurde Schafhirn zunächst gewaschen, homogenisiert und eingefroren. Anschließend wurden Dünnschnitte angefertigt und diese auf einem Objektträger platziert. Durch Eintauchen des gesamten Trägers in eine methanolische eisenhaltige Lösung wurde zusätzliches Eisen in das Gewebe eingebracht. Nach dem Trocknen wurde die Analyse durchgeführt, wobei in einem Bereich von 50 bis 1500 $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Eisen eine Kalibriergerade aufgestellt und das Bestimmtheitsmaß mit 0,9935 ermittelt wurde. Die Homogenität des Referenzmaterials wurde bei einer Spotgröße von 50 μm mit weniger als 10 % relativer Standardabweichung angegeben. Für diese Proben soll die Lagerfähigkeit bei Raumtemperatur für mindestens 50 Tage gegeben sein. Nachteilig an dieser Methode ist, dass für die Bestimmung des Gehalts des hergestellten Referenzmaterials dieses zunächst vom Glasträger entfernt werden muss. Eine andere Variante ist die Einbettung des Referenzmaterials (Rattenhirn versetzt mit Multi-elementstandard) in eine Sol-Gel-Matrix. Diese dient vorwiegend als Halterung und soll die Langzeitstabilität für mindestens drei Monate bei Raumtemperatur sicherstellen. LA-ICP-MS-Messungen mit einer Spotgröße von 25 μm ergaben eine relative Standardabweichung von etwa 15 % für ^{63}Cu und ^{208}Pb . [76, 106, 111]

Obwohl der gewünschte Elementgehalt von hausinternen Referenzmaterialien mit gleicher Matrix wie die Probe durch die Zugabe der entsprechenden Menge an Standardlösung eingestellt wird, ist es immer notwendig, den tatsächlich erzielten Elementgehalt zu bestimmen. Dafür wird die Probe aufgeschlossen und der Elementgehalt mittels Flüssiganalytik bestimmt. [4]

Hausinterne Referenzmaterialien mit abweichender Matrix Im vorherigen Abschnitt wurden Methoden beschrieben, Referenzmaterialien herzustellen, in denen die gleiche Matrix, die auch in der Probe vorhanden ist, verwendet wird. Es kann jedoch schwierig sein, passendes Matrixmaterial für diese Vorgehensweise bereitzustellen, z. B., weil die Matrix schwer erhältlich ist, oder die gewünschten Analyten bereits in zu großer Menge enthalten sind. Daher werden in diesem Abschnitt einige Vorgehensweisen vorgestellt, wie Referenzmaterialien hergestellt werden können, welche der Probe möglichst ähnlich sind, jedoch nicht exakt aus dem gleichen Material hergestellt wurden. [106]

Wenn die Matrix des Referenzmaterials der Probe nicht exakt entspricht, dann muss diese trotzdem gut an deren Eigenschaften angepasst werden. Für die Analyse von biologischem Gewebe soll also ebenfalls eine organische Matrix verwendet werden, die in möglichst vielen Eigenschaften denen der Probe entspricht. In der Literatur wurde dafür beispielsweise Agarose ausgewählt. Diese wurde in einer Natriumacetatlösung aufgelöst, mit Flüssigstandards versetzt, auf einen Objektträger getropft und trocknen gelassen. Es wurde jedoch festgestellt, dass bei diesem Vorgehen weder die resultierende Schichtdicke noch die Elementverteilung innerhalb des Tropfens homogen ist, sondern ein Konzentrationsprofil vorliegt. Alternativ dazu ist die Verwendung von Gelatine stärker etabliert. Es wird eine 10 %-ige wässrige Lösung hergestellt und durch Zugabe von flüssigen Standardlösungen der Elementgehalt eingestellt. Anschließend wird das Ganze entweder getrocknet, eingebettet oder eingefroren und jeweils zur Herstellung von Dünnschnitten verwendet. Im zweiten Fall ist es notwendig, die Schnitte während der Analyse gefroren zu halten, weil bei der Trocknung Inhomogenitäten in der Elementverteilung auftreten können. [76, 112–116]

Eine andere Matrixwahl wurde von Bonta *et al.* beschrieben. Mit Hilfe eines standardmäßigen Druckers wurde blaue Farbe in verschiedenen Intensitäten auf Papier gedruckt. Anschließend wurde mit Gold besputtert und mittels LA-ICP-MS (Spotgröße 50 μm) das Kupfer aus der blauen Farbe sowie das Gold analysiert. Es wurde eine relative Standardabweichung von 15 % ermittelt, wobei durch Normierung auf das Goldsignal diese auf 5 % reduziert werden konnte. [84]

Neben den in diesem Kapitel vorgestellten Materialien wurden auch verschiedene Varianten untersucht auf Basis von polymeren Referenzmaterialien für die Analyse von biologischem Gewebe herzustellen, auf diese soll im Abschnitt 3.3.4 ausführlicher eingegangen werden.

3.3.4 Referenzmaterialien auf Basis polymerer Kunststoffe

Die Verwendung von Polymeren als Referenzmaterial in der orts aufgelösten Elementanalytik wurde in der Literatur bereits von einigen Gruppen in Betracht gezogen. Dabei wurden teils

sehr verschiedene Vorgehensweisen zur Einbringung des gewünschten Elementgehalts in die Polymermatrix untersucht. Diese sollen in diesem Kapitel vorgestellt werden.

3.3.4.1 Einbringung von Füllstoffen

Für das Einbringen von Elementgehalten im Prozentbereich in eine Polymermatrix wurde vorwiegend auf Füllstoffe verschiedener anorganischer Salze und Oxide zurückgegriffen. Von Schaumann wurde ein System auf Basis von Kautschuk entwickelt, in welches Elementgehalte im Prozentbereich durch die Zugabe von Oxiden (Zn, Si, Cu, Bi, Fe, Zr) bzw. Calciumcarbonat als Füllstoffe erreicht wurden. Auf die Verwendung von metallorganischen Verbindungen wurde verzichtet, weil diese zu toxisch und nicht luftstabil seien. Zudem weisen diese Verbindungen, durch den Liganden, eine hohe Molmasse im Vergleich zum Elementgehalt auf. Allerdings wurde Bromylkautschuk verwendet, sodass auch Brom im Material vorhanden und messbar war. Schaumann ermittelte die Homogenität des Materials anhand von μ RFA-Mappings, welche eine Messzeit von 500 ms pro Punkte hatten. Die dabei erhaltenen relativen Elementverteilungsbilder wurden mit einer Bildbearbeitungssoftware hinsichtlich der Farbwerte ausgewertet, um die relative Standardabweichung zu erhalten. Diese Werte lagen zwischen 5 und 85 % allerdings wurde ihnen aufgrund der Ungenauigkeit des verwendeten Auswerteverfahrens wenig Bedeutung beigemessen. [117, 118]

Außerdem wurden von Schaumann strahlenhärtende Lacke als Matrix getestet. In einem Rotor-Stator-Dispergierer wurde die Lackmischung, Dispergieradditive und der jeweilige Füllstoff (Cu, CuO, Zn, ZnO) vermischt, anschließend mit einer Spiralrakel als Schicht appliziert und in einer UV-Kammer unter Inertgasatmosphäre ausgehärtet. Zusätzlich wurde Kupferphthalocyanin (0,1 %) als metallorganische Verbindung getestet. Wie bereits für das Kautschuk-System wurde die Homogenität mittels μ RFA-Mappings überprüft. Die relativen Standardabweichungen lagen zwischen 15 und 20 % bei 10 % Elementgehalt bezogen auf die Masse, wobei die Verwendung von mehr Dispergieradditiv jeweils noch zur Verbesserung der Werte führte. Obwohl für Kupferphthalocyanin eine bessere Mischbarkeit erwartet worden war, wurde das Ergebnis bereits optisch als schlecht eingestuft. Insgesamt wurde als problematisch angesehen, dass eine Sedimentation und Koagulation der Partikel auftrat. Zudem erfolgte die Aushärtung von stark farbigen Proben sehr schlecht. [117]

Schwartz verwendete ebenfalls strahlenhärtende Lacke als Matrixmaterial. Die gewünschten Elementgehalte sollten mittels metallorganischer Verbindungen eingebracht werden, weil deren Polarität näher an die der Lacke herankommt. Als ideal wurden flüssige Verbindungen angesehen, da in diesem Fall die Homogenisierung leichter wäre. Aufgrund des Preises wurden allerdings Feststoffe verwendet, z. B. Lithiumacrylat, Zinkacrylat und Eisen(II)-fumarat. Weiterhin wurden neben dem Dispergieradditiv ein Entschäumer zur Verminderung der durch das Rühren entstandenen Luftblasen und ein Verlaufsadditiv eingesetzt, weil die applizierte Lackschicht nach dem Rakeln zu starke Rillen aufwies. Die Schichten wurden auf Prüfkarten aus Cellulose aufgetragen, problematisch war hierbei, dass sich die Schicht nicht mehr ablösen ließ und keine direkte Gehaltsbestimmung aus der Schicht vorgenommen werden konnte. Von Schwartz wurde überprüft, wie hoch der Verlust während des Aushärtprozesses

war, weil insbesondere von den Additiven angenommen wurde, dass diese verdampfen könnten. Es konnte jedoch keine Veränderung gemessen werden. Die Homogenitätsbestimmung des Materials wurde mittels μ RFA-Mappings und LA-ICP-MS-Messung bei einer Spotgröße von 100 μm durchgeführt. Das beste Ergebnis wurde mit LA-ICP-MS mit 6,8 % für die Zinkacrylatprobe ermittelt. [119]

3.3.4.2 Einbringen der Elemente aus einer Lösung

Von Kuczelinis *et al.* wurde Technovit (Poly-2-hydroxyethylmethacrylat) mit wässrigen Standardlösungen versetzt und nach dem Aushärten wurden Dünnschnitte hergestellt. Mittels LA-ICP-MS und einer Spotgröße von 150 μm wurden relative Standardabweichungen von 1,1-8,1 % bestimmt. Von Niehaus *et al.* wurde ebenfalls Technovit verwendet, jedoch wurde es, statt mit wässrigen Lösungen, mit Platinacetat, Dibenzoylperoxid und Dimethylsulfoxid versetzt. Im Vergleich mit Gelatine wurde bei der Technovitprobe bei LA-ICP-MS-Messungen ein niedrigeres Signal und mehr Partikeln an der Ablationsstelle erhalten. Für Technovit konnte im Gegensatz zur Gelatine ein mit steigender gemessener Partikelmenge proportional steigendes Signal festgestellt werden. Es wurde vermutet, dass bei der Ablation von Gelatine kleinere nicht messbare Partikel sowie Gase entstehen, weil die Gelatine einen höheren Wassergehalt und eine Matrix mit weniger Zusammenhalt aufweist. Bei der Verwendung von Gelatine wurden auch weniger Ablagerungen im Schlauch, jedoch breitere Signale festgestellt. Als Ursache dafür wurde das leichtere Aerosol angenommen, das besser transportiert werden kann, jedoch auch stärker von Turbulenzen und Diffusion beeinträchtigt wird. [93, 115]

Austin *et al.* verwendeten Polymethylmethacrylat (PMMA), welches mit metallorganischen Standardlösungen sowie m-Xylen und Chlorbenzen versetzt wurde. Nach der Homogenisierung wurde es mit einem Spincoater auf einen Glasträger aufgebracht, danach wurde ein Dünnschnitt der Probe aufgelegt, sodass die in der Polymerschicht enthaltenen Elemente als interner Standard verwendet werden konnten. Durch LA-ICP-MS-Messungen mit einer Spotgröße von 65 μm wurde eine relative Standardabweichung von 10 % auf dem Polymer und 10 - 20 % von Polymer und Gewebe festgestellt. Zudem wurde gezeigt, dass die Abweichungen durch eine Normierung auf $^{13}\text{C}^+$ verbessert werden konnten, jedoch erwies sich die Verwendung von Yttrium als interner Standard als geeigneter. [120]

Von Schwartze wurde neben der bereits beschriebenen Methode der Füllstoffe auch das Einbringen von Elementen mittels Ölstandards in strahlenhärtende Lacke untersucht. Dafür wurde die entsprechende Ölmenge mit der Polymermischung und den Additiven zusammen gegeben und in einer Ultra-Turrax-Röhreinheit vermischt. Das hierbei erhaltene Material wies eine wesentlich bessere Homogenität als das mit der Füllstoffmethode hergestellte auf. Allerdings waren die Schichten aufgrund des Öls schlecht zu Mehrschichtsystemen stapelbar. Diese Vorgehensweise wurde von Dreyer weiter untersucht, dabei wurde eine relative Standardabweichung von 2,3 % mittels LA-ICP-MS-Linienmessung mit einer Spotgröße 100 μm nach $^{13}\text{C}^+$ -Normierung ermittelt. Somit wurde auch hier die Homogenität im Vergleich zur Füllstoffmethode als besser eingeordnet. Allerdings wurde auch festgestellt, dass der maximale Elementgehalt begrenzt ist, weil der höchste, kommerziell erhältliche Elementgehalt im

Öl $5000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ ist und maximal 10 % Öl in die Polymermischung gegeben werden können, weil sonst der Aushärtungsprozess zu stark beeinträchtigt wird. Weiterhin wurde von Dreyer die Langzeitstabilität untersucht, wobei festgestellt wurde, dass Lithium im Verlauf weniger Monate in die angrenzenden Schichten diffundiert. [119, 121]

Bode setzte die Untersuchungen an diesem System fort. Allerdings waren die zuvor von Schwartze und Dreyer verwendeten Lackmischungen nicht mehr erhältlich, weshalb ein neues System (Acrylatlack TerraGloss® der Firma ACTEGA Terra GmbH) verwendet wurde. Zunächst wurde eine Polymermischung aus zwei verschiedenen viskosen Lacken, einem Entschäumer und einem Verlaufsadditiv hergestellt. Nach der Vermischung dieser Komponenten wurde die benötigte Menge Ölstandard dazugegeben und das Gemisch homogenisiert. Auf diese Weise wurden die metallorganischen Komplexe aus dem Ölstandard in die Polymerphase extrahiert. Das hinzugegebene Öl behinderte jedoch die Aushärtung und musste vor dem Applizieren der Lackschicht entfernt werden. Dafür wurde die Suspension 24 h ruhen gelassen, wobei sich die Ölphase abtrennte (vgl. Abb. 3.6) und mit einer Pipette entfernt werden konnte. Aufgrund dessen, dass die genaue extrahierte Menge an Metallkomplexen nicht bekannt war, musste diese nach einem Aufschluss mittels ICP-OES bestimmt werden. Die Homogenität des Materials wurde, nach dem Applizieren der Schicht mit einem automatischen Filmaufziehgerät und der Polymerisation unter UV-Licht, mittels LA-ICP-MS und einer Spotgröße von $75 \mu\text{m}$ bestimmt. Die besten relativen Standardabweichungen lagen zwischen 10 und 15 %, wobei der Anteil der Additive möglichst hoch sein sollte. Wie bereits von Schwartze angegeben, wurde auch von Bode festgestellt, dass die mittels Extraktion aus Ölstandards hergestellten Referenzmaterialschichten aufgrund der vorhandenen Ölrückstände nicht stapelbar sind. Zudem wurde das Vorhandensein von Gasblasen bzw. Bereichen wesentlich niedriger Gehalte als Problem identifiziert und teilweise eine Agglomeration vermutet. [122]

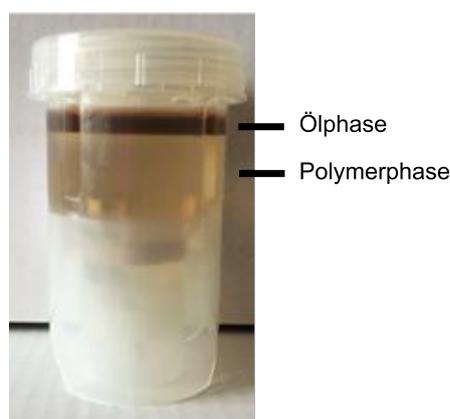


Abb. 3.6: Trennung der Öl- von der Polymerphase nach 24 h, in einer Ultra-Turrax-Rührereinheit aus [122].

3.3.4.3 Anwendung für die Polymeranalyse

Die bisher vorgestellten Präparationsmethoden für Referenzmaterialien auf der Basis von Polymeren wurden vergleichsweise häufig für die Analyse von Gewebeproben eingesetzt. Zudem

ist allerdings auch die Verwendung für die Polymeranalyse möglich, welche z. B. für die Untersuchung von Verpackungsmaterial wichtig ist. [96, 123, 124]

Die Elementanalyse von Polymeren wird aktuell vorwiegend nach Aufschluss an Lösungen durchgeführt. Dieses Vorgehen ist sehr aufwendig, daher ist die Festkörperanalyse von Polymeren im Fokus der Forschung. Schrijver *et al.* untersuchten vier kommerziell erhältliche Silber enthaltende Polymere. Mangels eines Referenzmaterials wurden die als Granulat vorliegenden Polymere jeweils mittels Mikrowellenaufschluss und Flüssiganalyse untersucht. Anschließend wurde zufällig eine Probe als Standard deklariert und gemeinsam mit den übrigen durch Festkörpermethoden untersucht. Die mittels LA-ICP-MS erhaltene relative Standardabweichung nach $^{13}\text{C}^+$ -Normierung von 15-20 % wurde als akzeptabel eingestuft. Von Stehrer *et al.* wurde gezeigt, dass mittels LA-ICP-MS-Analyse bei der Kalibration mit dem NIST 610 Glasstandard eine Überbestimmung der Gehalte im Polymer vorlag. Daher wurde der Wunsch nach besseren homogenen polymeren Referenzmaterialien geäußert. Jedoch wurde z. B. von Brunnbauer *et al.* und Deiting *et al.* gezeigt, dass besonders bei Methoden, die auf der Laserablation beruhen, wie LIBS und LA-ICP-MS auch die Unterschiede zwischen verschiedenen Polymerarten zu verschiedenen Messergebnissen führen können. [123, 125–128]

3.3.4.4 3D-Messungen an Schichten

Geschichtete Systeme werden sehr häufig in der Industrie und Forschung eingesetzt. Anwendungsgebiete sind z. B. der Korrosionsschutz oder die Mikroelektronik. Daher ist die Analyse von Schichtdicken und deren Homogenität ein wichtiger Forschungsbereich. Die Untersuchung von Metallschichten im Nanometerbereich wurde von Baake *et al.* mittels SRFA durchgeführt. Von Recknagel *et al.* wurde berichtet, dass mit 3-D-Druckverfahren metallische Schichten als Referenzmaterial hergestellt werden sollen. [3, 129]

Von Mantouvalou und Schaumann wurde gezeigt, dass Kautschukschichten mit Elementgehalten im Prozentbereich zur Validierung der Algorithmen für die Auswertung der C_μRFA mit Synchrotronstrahlung verwendet werden können. Es wurden Schichtdicken im Bereich von 20-100 μm und Massenanteile von 1-10 % Zink als Zinkoxid verwendet, um eine gute Nachweisbarkeit zu erzielen. Diese Algorithmen wurden genutzt, um die Schichtdicke und den Elementgehalt der Systeme zu berechnen. Es ist jedoch notwendig diese mit Hilfe bekannter und gut charakterisierter Schichtsysteme zu validieren, da es viele Einflussfaktoren der Matrix und der enthaltenen Analyten auf das Ergebnis gibt. Prinzipiell nimmt das Signal mit zunehmender Probentiefe ab, jedoch hat z. B. die Massendichte einen Einfluss darauf, wie stark die Strahlung absorbiert wird. Zudem konnte auch gezeigt werden, dass die verwendeten Schichtsysteme nicht immer eine homogene Elementverteilung aufweisen, sondern die eingebrachten Füllstoffe teilweise sedimentiert waren. Neben der Verwendung von Synchrotronstrahlung für die C_μRFA konnten in den letzten Jahren auch Laboraufbauten für C_μRFA -Messungen installiert werden. Dabei wurde es notwendig, die verwendeten Auswertalgorithmen an die verwendeten Geräte anzupassen. [72, 73, 118, 130]

Eine weitere Möglichkeit zur dreidimensionalen Analyse dünner Schichten ist die Flugzeit-Sekundärionenmassenspektrometrie (TOF-SIMS). Hierbei wird abwechselnd die Probenoberfläche analysiert und mit einem Sputterionenstrahl abgetragen. Von Dreyer und Schwartze

wurde mit dieser Methode das Diffusionsverhalten zwischen verschiedenen Polymerschichten in einem System der Gesamtdicke von 25 μm untersucht. [119, 121]

3.3.5 Zusammenfassung

Insgesamt lässt sich sagen, dass bei der Verwendung von pulverförmigen zertifizierten Referenzmaterialien die Mikrohomogenität oftmals nicht gesichert ist und teilweise nicht genügend verschiedene Standards für die Quantifizierung zur Verfügung stehen. Zudem kann die Präparation als vergleichsweise loses Pulver zur Ablation größerer Partikel führen und die Vakuumstabilität beeinträchtigen. [36, 43]

Die perfekte Nachbildung der Eigenschaften einer biologischen Matrix ist sehr schwierig, weil Gewebe sehr verschieden und heterogen sein können. Bereits zwei Individuen der gleichen Art können sich durch Umwelteinflüsse verschieden entwickeln. Außerdem kann das Gewebe bei der Verarbeitung zerstört werden, wodurch sich bereits andere Eigenschaften ergeben. Zudem ist bei der Verwendung von probenidentischem Matrixmaterial für die Herstellung von Referenzmaterialien der bereits enthaltene Gehalt bestimmter Elemente problematisch. Weiterhin ist es für die Herstellung von Referenzmaterialien wichtig, die real erhaltenen Gehalte zu überprüfen, weil es bei der Präparation leicht zu Änderungen kommen kann. [36, 51, 80]

4 Herstellung von Referenzmaterialien auf Basis strahlenhärtender Lacke

In diesem Kapitel soll ein neues Vorgehen zur Herstellung von Referenzmaterialien für die Elementanalytik auf Basis strahlenhärtender Lacke, unter Verwendung von Acetylacetonaten, vorgestellt werden. Zunächst wird das bisher verwendete Vorgehen und die Synthese der Acetylacetonatkomplexe vorgestellt, anschließend wird das im Rahmen dieser Arbeit ausgearbeitete Vorgehen, Metallacetylacetonate im flüssigen Polymer aufzulösen, erläutert. Abschließend wird auf die Charakterisierung der erhaltenen Materialien mit verschiedenen Methoden eingegangen. Die in diesem Kapitel dargestellten Ergebnisse wurden teilweise bereits als Fachartikel [75] veröffentlicht.

4.1 Hinführung zum Thema

In Abschnitt 3.3 wurde die Bedeutung von Referenzmaterialien für die Analyse von Proben mit organischer Matrix erläutert. Aufbauend auf den Ergebnissen der Dissertationen von Schwartz, Dreyer, Schubert und Bode, die alle die Herstellung von Referenzmaterialien aus strahlenhärtenden Polymeren untersucht haben, soll hier eine neue Methode zur Einbringung der gewünschten Elementgehalte vorgestellt werden. Die von Schwartz, Dreyer und Schubert verwendeten Glanzlacke der Firma Schekolin waren bereits in der Arbeit von Bode ausgetauscht worden, weil diese nicht mehr erhältlich waren. Stattdessen wurden Acrylatbasislacke TerraGloss der Firma ACTEGA Terra GmbH verwendet, die auch in dieser Arbeit eingesetzt wurden. In Abb. 4.1 ist der schematische Aufbau eines Acrylat-Lacks dargestellt. In dem Basislack ist ein Photoinitiator enthalten, welcher bei der Einwirkung von UV-Strahlung zersetzt wird, wobei Radikale entstehen. Diese führen zum Start der radikalischen Polymerisation, welche im Fall der Acrylatlacke über die $\text{CH}=\text{CH}_2$ -Doppelbindung verläuft. Vorteilhaft ist bei diesem System, dass kein Lösungsmittel verwendet wird, welches im Verlauf der Polymerisation abgeführt werden müsste. Zudem liegt der Basislack vor der Polymerisation flüssig vor, was zum einen die Verarbeitung in die gewünschte Form erleichtert und zum anderen auch die Möglichkeit bietet zusätzliche Verbindungen darin aufzulösen. [119, 121, 122, 131, 132]

Das von Bode optimierte Vorgehen ist darauf ausgerichtet, dass das Einbringen der Elemente durch Extraktion aus Ölstandards erfolgt. Diese sind zertifiziert erhältlich und für die Kalibrierung der Elementanalytik von Ölen gedacht. Die Elementgehalte können bis zu $5000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ betragen und liegen z. B. als aromatische Sulfonate oder Phosphonate vor. Oftmals unterliegt der verwendete Komplexbildner jedoch der Geheimhaltung und ist nicht im Zertifikat ange-

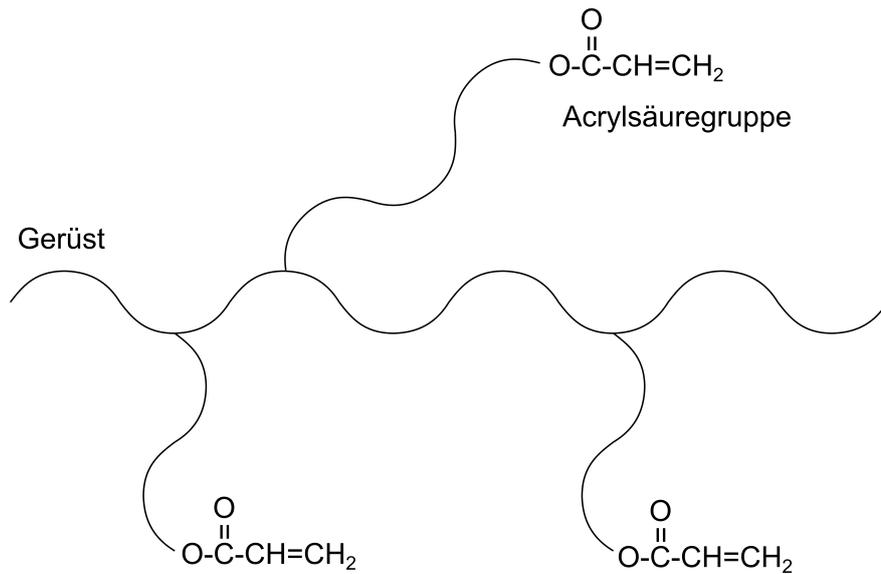


Abb. 4.1: Prinzipieller Aufbau eines strahlenthärtenden Acrylat-Polymers nach [132].

geben. [119, 122]

Wie in Abb. 4.2 dargestellt, wurde ein Gemisch aus zwei verschiedenen Basislacken, die verschiedene Viskositäten aufweisen, verwendet. Dazu wurden jeweils 5 % zweier Additive gegeben und das Gemisch vordispersiert. Bei dem einen Additiv handelt es sich um einen Entschäumer, welcher dazu dienen soll, dass der durch das intensive Rühren gebildete Schaum möglichst schnell zerfällt. Das zweite Additiv ist ein Verlaufsadditiv und wird eingesetzt, damit während des Applizierens von der Spiralrakel verursachte Rillen schnell verlaufen und eine gleichmäßige Schicht zurückbleibt. Im nächsten Schritt wird die benötigte Menge des Öl-Elementstandards zugegeben und durch intensives Rühren eine möglichst gute Suspension mit der zuvor hergestellten Lackmischung erzeugt. Hierbei werden die im Öl gelösten Metallkomplexe größtenteils in den Lack extrahiert. Anschließend wird die Suspension ruhen gelassen, um eine Phasentrennung zu erzielen, die es ermöglicht, dass die Ölphase größtenteils abgetrennt wird (vgl. Abb. 3.6). [122]

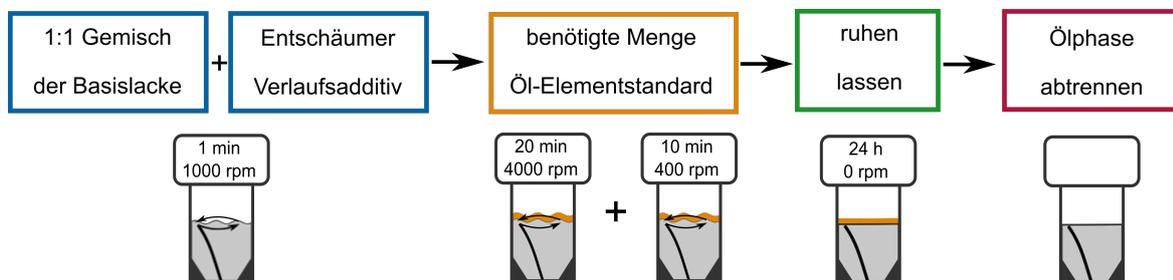


Abb. 4.2: Vorgehensweise zur Einbringung des gewünschten Elementgehalts in die Lackmischung, mittels des von Bode beschriebenen Extraktionsverfahrens [122].

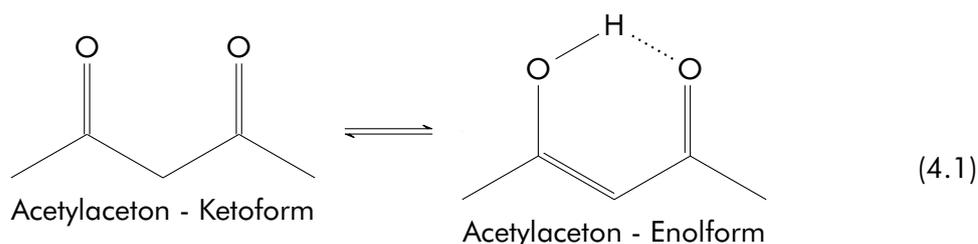
Die auf diese Weise erhaltene Lackphase wurde mit einer Spiralrakel und einem automatischen Filmaufziehgerät auf eine Polyesterfolie appliziert. Nach einer Ruhephase von 10 min, in welcher die von der Rakel verursachten Rillen verlaufen sollten, wurde die Polymerisation mithilfe einer UV-Lampe in einer Kammer (UV-Kammer) gestartet. Die UV-Kammer wurde mit

Stickstoff gespült, damit die Polymerisation nicht durch den Luftsauerstoff inhibiert werden konnte. [122]

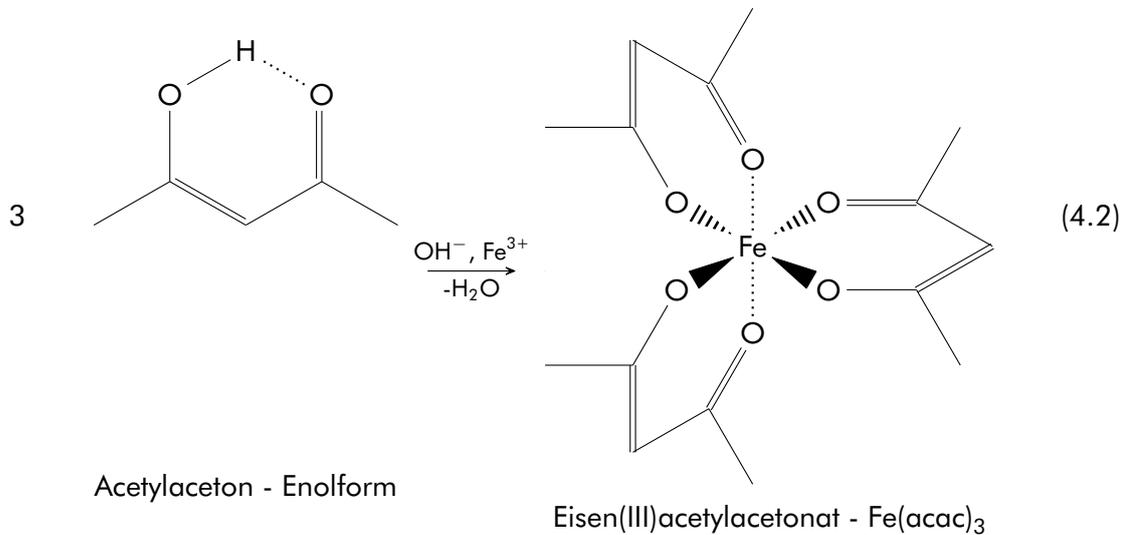
Das bisher beschriebene Vorgehen weist jedoch einige Nachteile auf. Zum einen sind sowohl die zertifizierten Öl-Elementstandards, als auch die Gefäße, die für das Verrühren der Komponenten benötigt werden, sehr teuer. Außerdem ist die Elementauswahl und der Konzentrationsbereich auf die Verfügbarkeit der Öl-Elementstandards beschränkt. Trotz des Abtrennens der Ölphase nach der Ruhezeit verbleibt ein Teil des Öls in der Lackphase, was dazu führt, dass die Herstellung von Multischichtsystemen schlecht durchführbar ist und sich auch noch teilweise Öl- und Luftbläschen in der ausgehärteten Polymerschicht befinden. Zusätzlich ist es ungünstig, wenn der verwendete Komplexbildner nicht bekannt ist, weil das dazu führen kann, dass bei der Kombination mehrerer Öl-Elementstandards zur Herstellung einer Multielementschicht, verschiedene Komplexbildner eingesetzt werden. Dies kann zu Konkurrenzreaktionen und daraus folgend zum Verlust der Homogenität der Elementverteilung im Material führen. Diese Nachteile sollen, durch das in diesem Kapitel beschriebene Vorgehen, behoben werden. [122]

4.2 Herstellung der Acetylacetonat-Komplexe

Die in dieser Arbeit verwendeten Metallacetylacetonate wurden überwiegend (außer Cr und Zn, vgl. Tab. A.8) im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert. Dies erfolgte, ähnlich der von Jones vorgeschlagenen Vorgehensweise, aus Acetylaceton und dem jeweiligen Metallsalz. [133] Acetylaceton kann aufgrund der Keto-Enol-Tautomerie sowohl als Keton, als auch als Enol vorliegen. Die Strukturformeln beider Varianten sind in Gleichung 4.1 dargestellt.



Für die Herstellung der Metallkomplexe ist jedoch nur die Enolform geeignet, da bei dieser das Proton gegen das entsprechende Metallion ausgetauscht werden kann. Daher muss die Synthese möglichst im Basischen durchgeführt werden, weil dann das Proton der Enolform abgegeben werden kann. Die Wahl der Base wurde an die Chemie des jeweiligen Metallions angepasst, damit dieses nicht im Basischen z. B. als Hydroxid ausfällt. Durch die Verwendung von NH_3 oder NaOH als Base konnten die Metallionen jeweils als Komplex in basischer wässriger Lösung stabilisiert werden. Durch die anschließende Zugabe des Acetylacetons fiel der jeweilige Metallacetylacetonatkomplex aus, da diese Komplexe alle schlecht in Wasser löslich sind. Die Lösung wurde filtriert und der Filterkuchen mit Wasser gewaschen und getrocknet. Die Reaktion ist am Beispiel von Eisen in Gleichung 4.2 dargestellt.



Als Varianten, das Produkt zu reinigen, werden in der Literatur zwei verschiedene Vorgehensweisen vorgeschlagen. Zum einen können die Metallacetylacetonate aus Chloroform umkristallisiert werden. Alternativ kann dies durch Sublimation erfolgen. Als Verunreinigungen im Produkt dieser Synthese kommen besonders die Oxide und Hydroxide des verwendeten Metalls infrage. [133, 134]

In dieser Arbeit wurde die Sublimation ausgewählt. Zunächst wurde dies für $\text{Cr}(\text{acac})_3$ mit einer in einem Sandbad stehenden Kristallisierschale, welche das $\text{Cr}(\text{acac})_3$ enthielt und einem darüber liegenden, mit Eis gefüllten Uhrglas getestet. Dabei zeigte sich, dass sich über dem violettfarbenen Feststoff zwar eine Gasphase bildete, die Strecke ca. 2 cm bis zum Uhrglas jedoch nicht überwunden werden konnten. Daher wurde die Sublimation in weiteren Versuchen im Vakuum durchgeführt.

Hierfür wurde ein Rohrofen verwendet (vgl. Abb. 4.3), in welchem die Sublimation bei Temperaturen bis 300 °C unter Vakuum durchgeführt werden konnte. Die Probe wurde in das beheizte äußere Glasrohr gegeben, in der Mitte befand sich ein Kühlfinger, an dem das sublimierte Material kristallisieren sollte. Hierbei war das erzielbare Vakuum abhängig von der verwendeten Vakuumpumpe, es wurden ca. 20 mbar erreicht. Außerdem wurde ein kleinerer Aufbau, bestehend aus einem Dreihalskolben und einem Kühlfinger getestet (vgl. Abb. 4.4), welcher mithilfe eines Ölbadts geheizt werden konnte, das hierbei erhaltene Vakuum betrug etwa 1 mbar.

Die Sublimationsversuche wurden mit $\text{Fe}(\text{acac})_3$ und $\text{Cu}(\text{acac})_2$ durchgeführt. Für $\text{Cu}(\text{acac})_2$ beträgt der Siede-/bzw. Sublimationspunkt 160 °C bei 13 mbar, für $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 180 °C. Allerdings können alle Metallacetylacetonate bei hohen Temperaturen leicht zersetzt werden. [135]

Beide Verfahren stellten sich als wenig geeignet heraus. Zwar konnten jeweils kleine Mengen der Acetylacetonate sublimiert werden, allerdings zersetzte sich der Großteil dabei, was deutlich an der Braunfärbung, im Vergleich zur ursprünglich blauen bzw. roten Farbe zu erkennen war. Insgesamt funktionierte die aus Dreihalskolben und Kühlfinger bestehende Apparatur



Abb. 4.3: Der für die Sublimationsversuche verwendete Rohrofen der Firma Büchi. Foto aufgenommen vom Institut für Anorganische Chemie.



Abb. 4.4: Kühlfinger, welcher bei der Sublimation von $\text{Fe}(\text{acac})_3$ in einem Dreihalskolben verwendet wurde.

etwas besser als der Rohrofen. Dies liegt vermutlich daran, dass die verwendete Vakuumpumpe ein etwas besseres Vakuum aufbauen kann. Zudem ist bei dieser Apparatur auch der Abstand zwischen Feststoff und dem Kühlfinger kürzer, sodass die Resublimation leichter an der gewünschten Stelle erfolgen konnte. Da die Sublimation hauptsächlich zur Zersetzung der Komplexe führte, wurde im Folgenden darauf verzichtet, diesen Schritt durchzuführen. Zudem sollen die Acetylacetonatkomplexe für die Herstellung von Referenzmaterialien für die Elementanalytik dienen, mögliche vorhandene Verunreinigungen sind jedoch lediglich als Oxide oder Hydroxide des jeweiligen Elements denkbar und eine Kontamination mit anderen Elementen wird nicht erwartet.

Die Identität aller synthetisierten Acetylacetonatkomplexe wurde mittels abgeschwächter Totalreflexion (*attenuated total reflection*) (ATR)-Infrarotspektroskopie (IR) und Datenbankvergleich der Spektren (*Aldrich Organometallic, Inorganic, Silanes, Boranes, and Deuterated Compounds Library* [136]) bestätigt, wobei jedoch festgestellt wurde, dass die Komplexverbindungen teilweise als Hydrat vorliegen.

4.3 Einbringen der Komplexe in die Lackschichten und Bestimmung der Homogenität

Für die Herstellung von Referenzmaterialien wurde die von Bode beschriebene Vorgehensweise als Grundlage verwendet. Jedoch sollte das Verfahren zum einen vereinfacht werden und zum anderen sollte auf die Verwendung der Öl-Elementstandards verzichtet werden können, um die damit einhergehenden Nachteile beheben zu können. [122]

4.3.1 Präparation der Lackschichten

Als Basis wurde wie auch in der Arbeit von Bode und anderen ein strahlenhärtender Lack verwendet. Im Gegensatz zu den anderen Arbeiten wurde jedoch auf die Verwendung eines Gemisches aus zwei Basislacken verzichtet und stattdessen der bereits von Bode genutzte TerraGloss UV Glanzlack 8/372 F NVK verwendet. Außerdem wurde auf die Zugabe von Additiven wie Verlaufsadditiv und Entschäumer verzichtet, weil deren Nutzen für die neue Methode evaluiert werden sollte, um das Verfahren einfach zu halten. [119, 121, 122, 131]

Für die Herstellung des Referenzmaterials (vgl. Abb. 4.5) wurde zunächst die stöchiometrisch notwendige Menge des Acetylacetonatkomplexes des gewünschten Elements in ein Zentrifugenröhrchen eingewogen. Dazu wurde die entsprechende Menge des flüssigen Basislacks gegeben und durch Schütteln bereits der Feststoff etwas in der Flüssigkeit verteilt. Der Lösevorgang nimmt abhängig vom Element und der Partikelgröße des Feststoffs einige Stunden in Anspruch und wurde durch Ultraschall unterstützt. Nachdem der Lösevorgang abgeschlossen war, wurde die Lösung zentrifugiert. Auf diese Weise können kleine verbliebene Partikel, z. B. geringe Mengen vorhandener Metalloxide oder Hydroxide, die sich nicht im Basislack auflösen, abgetrennt werden, ohne dass die Homogenität des Produktes durch diese negativ beeinflusst wird.

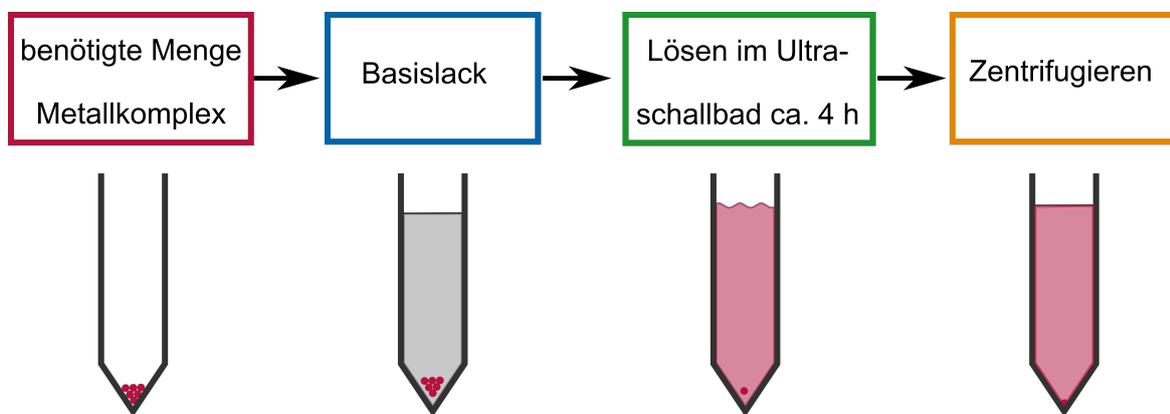


Abb. 4.5: Vorgehensweise zum Einbringen der Elementgehalte mittels Acetylacetonatkomplexen in den Basislack.

Das Applizieren der Schicht erfolgte, indem eine Glasplatte in das automatische Filmaufziehgerät eingespannt wurde und mittels einer Pasteurpipette etwa 3 ml der Lacklösung aufgegeben wurden. Durch Einschalten des automatischen Filmaufziehgerätes wurde eine Spirakranel in Bewegung gesetzt und die Lösung gleichmäßig über die Glasplatte verteilt. Anschließend wurde die Schicht 10 min ruhen lassen, bevor diese in einer UV-Kammer durch Starten der Polymerisation ausgehärtet wurde, was ebenfalls 10 min dauerte. Schließlich wurde die Schicht von der Glasplatte abgelöst. Das für die Herstellung einer Schicht erforderliche Vorgehen ist in Abb. 4.6 dargestellt.

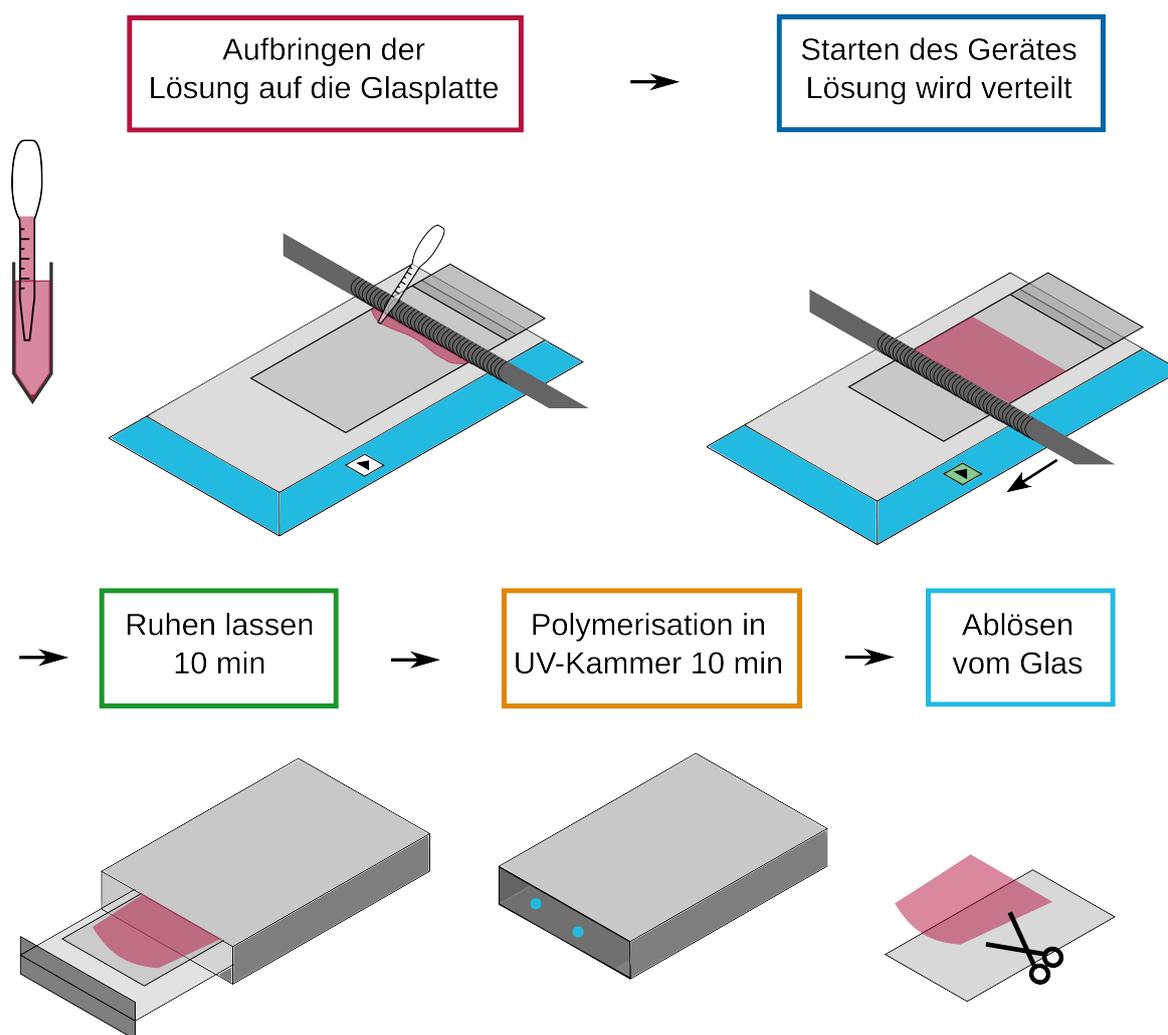


Abb. 4.6: Vorgehensweise zum Erstellen einer Schicht mit Hilfe des automatischen Filmaufziehgerätes.

Durch die Verwendung der Metallacetylacetonate kann auf die Öl-Elementstandards verzichtet werden, sodass kein Ölfilm auf der Polymeroberfläche verbleibt, wodurch auch das Stapeln mehrerer Schichten, wie in Abschnitt 4.5 beschrieben, möglich wird. Neben dem Verzicht auf die Öl-Elementstandards bringt das in diesem Kapitel beschriebene Vorgehen weitere Vorteile mit sich. Zum einen kann auf die sehr teuren Dispergiergefäße verzichtet werden, an deren Stelle Zentrifugenröhrchen benutzt werden, welche weniger als $\frac{1}{20}$ -stel pro Stück kosten. Außerdem wird nur ein Basislack, statt einer Mischung verschiedener Basislacke verwendet. In dieser Arbeit wurde der niederviskosere der beiden von Bode verwendeten Basislacke benutzt. Dadurch wurden im Schnitt etwas dünnere Schichten erzielt. Jedoch konnte zudem ebenfalls auf das Verlaufsadditiv verzichtet werden, weil der Basislack aufgrund der niedrigen Viskosität hinreichend gut verläuft, sodass keine durch die Rakel verursachten Rillen im Polymer verbleiben. Zum anderen förderte die niedrigere Viskosität das Absetzen nicht gelöster Partikel, sodass diese leichter durch Zentrifugieren abtrennbar waren. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass nicht mehr intensiv gerührt werden muss, wodurch weniger Luft in die Lackmischung eingebracht wird. Daher kann auch auf die Zugabe von Entschäumer verzichtet werden, weil eventuell vorhandene Luftblasen durch Ultraschall entfernt werden können.

Weiterhin wurde in dieser Arbeit die Lackschicht auf eine Glasplatte appliziert und anschließend wieder von dieser abgelöst. Im Gegensatz dazu wurde in vorangegangenen Arbeiten als Basis eine Prüfkarte (Schwartz) oder eine Polymerfolie (Bode) verwendet, welche an der ausgehärteten Polymerschicht verblieb. Die, auf die hier beschriebene Weise, hergestellten Proben können entsprechend unabhängig von der während der Herstellung verwendeten Unterlage analysiert und auch auf verschiedene Untergründe aufgeklebt werden. Außerdem hat die Verwendung der Glasplatte auch Vorteile während der Herstellung der Proben. Zum einen wird weniger Material benötigt, weil die Glasplatte leicht gereinigt und erneut verwendet werden kann. Zum anderen rollen sich die auf eine Folie aufgetragenen Lacke während der Polymerisation mit etwas auf. Dieser Effekt wird immer stärker, je höher die Schichtdicke der Lacke ist. Im Gegensatz zu den Polyesterfolien, verhindert die Glasplatte aufgrund ihrer Festigkeit das Aufrollen, auch bei vergleichsweise dicken Schichten, sodass die resultierende Schicht flach und gerade vorliegt. Weiterhin wurde im Gegensatz zu dem von Bode beschriebenen Vorgehen die UV-Kammer nicht mit Stickstoff gespült, da sich gezeigt hat, dass der in der Luft vorhandene Sauerstoff die Polymerisation nicht signifikant behindert und auf diese Weise Stickstoff eingespart werden kann. [119, 122]

4.3.2 Probensysteme

Eine Übersicht der hergestellten Proben ist in Tab. 4.1 dargestellt. Die verwendeten Elemente wurden aufgrund ihrer hohen Relevanz in der Spurenanalytik von biologischen Proben ausgewählt. Außerdem decken diese einen großen Bereich verschiedener Elementeigenschaften ab. Das Probensystem **a** enthält Einzelschichten, welche jeweils genau ein zusätzliches Element aufweisen, das über das entsprechende Acetylacetonat eingebracht wurde. Diese Schichten wurden alle mit einer 200 μm Spiralrakel hergestellt und als Elementgehalt wurden jeweils 1000 $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ angestrebt. Die resultierende Schichtdicke beträgt jeweils etwa 140 μm . Für einige Elemente stellte sich das Auflösen der Acetylacetonate im Basislack jedoch als problematisch heraus. Zinn(II)-acetylacetonat war das einzige in dieser Arbeit verwendete Acetylacetonat, welches flüssig vorliegt. Beim Mischen mit dem Basislack setzte direkt beim Kontakt die Polymerisation ein, sodass weder eine vollständige Homogenisierung, noch das Herstellen einer Schicht möglich war. Ähnliches konnte auch für die beiden Manganacetylacetonate, welche jedoch als Feststoffe vorlagen, beobachtet werden. Dabei färbte sich das ursprünglich gelbe $\text{Mn}(\text{acac})_2$ braun. Im Vergleich zu dem Ansatz mit $\text{Sn}(\text{acac})_2$ setzte die Polymerisation in diesen Fällen erst im Verlauf von wenigen Minuten nach dem Kontakt mit dem Basislack ein. Die Ursache für die zu früh gestartete Polymerisation ist vermutlich, dass diese Elemente besonders redoxaktiv sind und bereits beim Kontakt mit dem Basislack eine Reaktion stattfand, welche ebenfalls die Polymerisation startete. Die Löslichkeit von $\text{Cu}(\text{acac})_2$ stellte sich als besonders stark temperaturabhängig heraus, sodass zwar ein Teil der eingewogenen Menge aufgelöst werden konnte, durch die Temperaturschwankungen während des Herstellens einer Schicht kristallisierte es jedoch teilweise wieder aus, sodass Bereiche mit sehr hohem Kupfergehalt durch die Kristallite erzeugt wurden.

In Abschnitt 4.3.3 wird die Anwendbarkeit des Systems **a** für verschiedene Elemente bzw. Acetylacetonate untersucht. Dabei wird besonders die Homogenität des Elementgehaltes in

der resultierenden Schicht analysiert. Außerdem wurde eine Multielementprobe **b** hergestellt, welche vier verschiedene Elemente enthält und ebenfalls hinsichtlich deren homogener Verteilung untersucht wurde.

Weiterhin soll am Beispiel Eisen die Eignung der hergestellten Referenzmaterialien für die Kalibrierung gezeigt werden. Hierfür wurde eine Kalibrierreihe mit sieben verschiedenen Eisengehalten von $200 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ bis $2000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ hergestellt und mit verschiedenen Analysemethoden untersucht (vgl. Abschnitt 4.4).

Für die Analyse der Bindungsverhältnisse der Metalle im Polymer wurde Aluminium ausgewählt. Es wurden drei verschiedene Proben des Polymers in einer Silikonform ausgehärtet und anschließend gemahlen, (Proben **e**). Diese Ergebnisse sind in Abschnitt 4.3.4 dargestellt.

Für die Untersuchung der Stapelbarkeit der Polymerschichten wurden verschiedene Mehrschichtsysteme **d** hergestellt, welche mit C μ RFA untersucht wurden (vgl. Abschnitt 4.5).

Tab. 4.1: Notation der Einzelschichten, angelehnt an die in [75] verwendete Notation.

System	Beschreibung	Bezeichnung	verwendete Acetylacetonate	
a	Einzelschicht	a-Al	Al(acac) ₃	
		a-Ca	Ca(acac) ₂	
		a-Cd	Cd(acac) ₂	
		a-Co	Co(acac) ₃	
		a-Cr	Cr(acac) ₃	
		a-Fe	Fe(acac) ₃	
		a-La	La(acac) ₃	
		a-Mg	Mg(acac) ₂	
		a-Pb	Pb(acac) ₂	
		a-Sr	Sr(acac) ₂	
		a-Zn	Zn(acac) ₂	
		Fehlversuche		Cu(acac) ₂
				Mn(acac) ₂
	Mn(acac) ₃			
	Sn(acac) ₃			
b	Multielement-Einzelschicht	b	Cr(acac) ₃ Fe(acac) ₃ La(acac) ₃ Zn(acac) ₂	
c	Einzelschichten mit Fe, verschiedene Gehalte für Kalibrierreihe	c-200	200 ppm Fe	
		c-500	500 ppm Fe	
		c-800	800 ppm Fe	
		c-1100	1100 ppm Fe	
		c-1400	1400 ppm Fe	
		c-1700	1700 ppm Fe	
		c-2000	2000 ppm Fe	
		c-0	0 ppm Fe	
d	gemahlene Proben verschiedener Al Gehalte	d-0	0 ppm Al	
		d-1000	1000 ppm Al	
		d-2000	2000 ppm Al	

4.3.3 Homogenitätsbestimmung

Für die Anwendung der polymeren Referenzmaterialien in der orts aufgelösten Elementanalytik ist es essenziell, dass die eingebrachten Elemente im Material homogen verteilt sind. Nur auf diese Weise ist gewährleistet, dass auch bei der Analyse kleinster Mengen bzw. Bereiche ein für den jeweiligen Elementgehalt repräsentatives Signal erhalten wird. Die Überprüfung des Elementgehalts erfolgt üblicherweise nach Aufschluss mittels Flüssiganalytik z. B. ICP-OES, dabei kann jedoch nur ein durchschnittlicher Gesamtgehalt ermittelt werden, weil die Ortsinformation durch das Auflösen verloren geht. Deshalb muss die mittels Festkörperanalytik untersuchte Menge ein zu dem durchschnittlichen Gehalt passendes Signal liefern, was bei einem inhomogenen Material nicht möglich ist, weil die Signalintensität dann stark von der Messposition abhängig ist. Zudem ist es wünschenswert, mit einer möglichst kleinen Menge Referenzmaterial für die Analyse auszukommen, um nicht einen sehr großen Bereich messen und über diesen das Signal mitteln zu müssen.

Die Bestimmung der Homogenität, der wie in Abschnitt 4.3.1 beschrieben, hergestellten Schichtmaterialien wurde mittels μ RFA durchgeführt. Dafür wurde ein Stück der Schicht mit einem Kohlenstoffklebeband auf einen Plexiglasträger geklebt. In anderen Arbeiten wurde beschrieben, dass die Analyse mittels Flächenmessung und Auswertung der Bilddaten durchgeführt wurde. Aufgrund der geringen Messfleckgröße der μ RFA wird nur Signal aus einem kleinen Probenbereich untersucht. Dies ist sehr gut für orts aufgelöste Messungen, jedoch wird bei geringen Gehalten nur sehr wenig Signal aufgezeichnet. Zudem sind die Messzeiten pro Punkt bei einer Flächenmessung sehr kurz. Dies ist nachteilig, wenn die Elementgehalte wie in dieser Arbeit nur im Spurenbereich liegen. In Abb. 4.7 ist jeweils eine μ RFA-Flächenmessung der Proben **α -Cu** und **α -La** dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass die Kupferverteilung im Gegensatz zur Lanthanverteilung eine sehr schlechte Homogenität aufweist. Die relative Standardabweichung aus der gemessenen Intensität beträgt 35 % für Kupfer und 24 % für Lanthan (vgl. Tab. 4.2). Werden hingegen die Bilddaten für die Berechnung verwendet, beträgt die relative Standardabweichung 111 % für Kupfer und 97 % für Lanthan. Beide Werte würden als sehr schlecht eingestuft werden. Allerdings sind die Ursachen hierfür verschieden. Wie bereits erwähnt, ist die Intensität bei kurzen Messzeiten sehr gering, was sich besonders negativ auf die Messung der Lanthanverteilung auswirkt. Aufgrund der Verwendung der L-Linien, welche eine geringere Intensität aufweisen, und der homogenen Verteilung des Lanthans ist die gemessene Intensität pro Punkt gering, sodass der zufällige Messfehler einen großen Einfluss hat. Bei der Kupfermessung konnte die K-Linie verwendet werden, zudem wurde besonders an den Stellen mit hohem Kupfergehalt eine wesentlich höhere Intensität ermittelt. Die Berechnung der Homogenität aus den Bildwerten führt zu anderen Ergebnissen, weil der Kontrast durch die Bildausgabe erhöht wurde und es eine technische Obergrenze für die Farbwerte gibt. Durch die Kontrastoptimierung der Software liegen die Lanthanwerte im Bild zwischen 0 und 179, während es vorher 3 bis 38 counts waren. Die Werte des Kupfers wurden in den Bereich von 0 bis 151 gebracht und lagen vorher zwischen 44 und 917 counts, wodurch andere Werte für die Standardabweichung erhalten werden. [117, 119, 121, 122, 137]

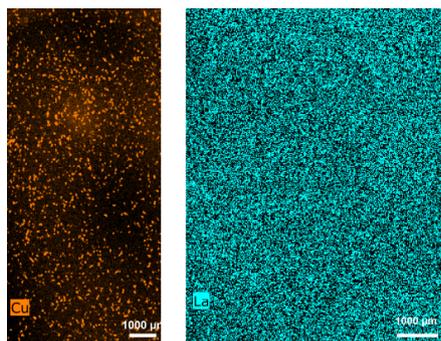


Abb. 4.7: μ RFA-Flächenmessung der Proben α -Cu und α -La, mit einem Messpunktabstand von 25 μ m und einer Messzeit von 50 ms pro Punkt. Es ist deutlich sichtbar, dass die Elementverteilung des Kupfers nicht homogen ist, während keine deutlichen Inhomogenitäten der Lanthanverteilung erkennbar sind. Im Bild ist jeweils der niedrigste Wert schwarz und der höchste Wert am hellsten dargestellt.

Tab. 4.2: Vergleich der relativen Standardabweichungen (RSD) die mit verschiedenen Auswertemethoden erhalten werden.

RSD	α -Cu	α -La
Intensitätswerte der Flächenmessung 50 ms	35 %	24 %
Farbwerte der Bilddaten 50 ms	111 %	97 %
Punktmessungen 120 s	130 %	1,6 %

Zur Vermeidung dieser Probleme bei den verwendeten niedrigen Gehalten wurden 100 zufällige verteilte Messpunkte einzeln gemessen. Der Vorteil hierbei ist die längere Messzeit pro Punkt, welche 120 s statt wenigen Millisekunden betrug. Deshalb wurde eine bessere Messpräzision bei insgesamt weniger Messpunkten erhalten. Für 100 Messwiederholungen auf der gleichen Stelle wurde unter diesen Bedingungen für eine Schicht mit 1000 $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Fe (α -Fe) eine Abweichung zwischen den Messpunkten von 0,5 % erhalten. Dies ist sehr gering, im Vergleich dazu wurde von Bode und Thieleke 7 % relative Standardabweichung für LA-ICP-MS-Messungen als ideal angesehen. In dieser Arbeit wurden die Homogenitäten mittels μ RFA ermittelt, weil die erzielbare gerätebedingte Abweichung zwischen den Messungen durch Anpassen der Messzeit auf niedrigere Werte reduziert werden kann, obwohl die LA-ICP-MS eine geringere Nachweisgrenze hat. Für die vorher verglichenen Proben α -Cu und α -La ergeben sich bei der Messung von 100 zufällig verteilten Punkten relative Standardabweichungen von 130 % für Kupfer und 1,6 % für Lanthan (vgl. Tab. 4.2). Somit konnte auch festgestellt werden, dass 100 Punkte ausreichend sind, um die Stellen sehr hoher Kupfergehalte in dieser Probe zu finden. Zudem wird durch die längere Messzeit gewährleistet, dass auch für die Lanthanprobe ein repräsentativer Wert erhalten wird, welcher nicht hauptsächlich durch den Einfluss des Rauschens geprägt ist.

Die Bestimmung der Homogenität erfolgte anhand der Proben **a** und **b**. Es wurden jeweils 100 zufällig ausgewählte Messpunkte mit einer Messzeit von 120 s pro Punkt bei 20 mbar analysiert. Anhand der Netto-Summe der $K\alpha$ - bzw. $L\alpha$ -Linie wurde die relative Standardabweichung berechnet. Diese Werte sind in Tab. 4.3 aufgelistet. Die Werte der schwereren Elemente La, Pb und Sr wurden anhand der $L\alpha$ -Fluoreszenzlinie bestimmt, weil die $K\alpha$ -Linie, welche für die übrigen Elemente verwendet wurde, zu hochenergetisch ist, um diese mit dem

verwendeten SDD gut detektieren zu können. Die Analyse der Cadmium-Fluoreszenz wurde dadurch erschwert, dass die Linien des Rhodiums im gleichen Bereich liegen. Rhodium ist das Anodenmaterial der Röntgenröhre, weshalb die charakteristischen Linien aufgrund von Streuung im Spektrum vorhanden sind. Daher wurde die Probe **a-Cd** ein weiteres Mal gemessen, wobei ein 12,5 µm Al-Filter in den Strahlengang der Röntgenröhre gebracht wurde. Durch diesen Filter kann das Anregungsspektrum besonders im niederenergetischen Bereich des Spektrums entfernt werden, wodurch die charakteristische Strahlung des Rhodiums nicht mehr vorhanden ist. Somit ist es möglich, dass das Cd-Signal ungestörter gemessen werden kann. Allerdings sinkt durch die Verwendung auch die Intensität der Fluoreszenzstrahlung, weil weniger Anregungsstrahlung vorhanden ist. Cadmium ist im Spurenbereich im Material enthalten. Das führt dazu, dass das Fluoreszenzsignal ohnehin gering ist und durch die Verwendung des Filters wird dieses noch zusätzlich vermindert. Dabei sinkt das Signal-zu-Rausch-Verhältnis, was die steigende relative Standardabweichung zwischen den Messpunkten erklärt.

Tab. 4.3: Übersicht der für die Einzelschichten mittels µRFA gemessenen relativen Standardabweichungen für die Einschätzung der Homogenität der Elementverteilung. Die Gehalte aus den Einwaagen sind zusammen mit dem systematischen Fehler angegeben und die mit ICP-OES bestimmten Gehalte mit den Abweichungen, welche aus den Messungen bestimmt wurden.

* anhand der $L\alpha$ -Fluoreszenzlinie bestimmt

** mit 12,5 µm Al-Filter gemessen

Element / Probe	rel. Stw. in %	Elementgehalt in $\frac{mg}{kg}$ nach Einwaage	Elementgehalt in $\frac{mg}{kg}$ mit ICP-OES bestimmt
a-Al	2,7	985 ± 17	1123 ± 31
a-Ca	1,5	1008 ± 34	845 ± 6
a-Cd*	1,9 2,6**	980 ± 72	995 ± 6
a-Co	1,5	981 ± 46	924 ± 8
a-Cr	1,5	990 ± 29	1056 ± 18
a-Fe	1,0	1001 ± 31	1120 ± 8
a-La*	1,6	1051 ± 63	1008 ± 4
a-Mg	2,3	995 ± 22	965 ± 5
a-Pb*	1,0	957 ± 102	1330 ± 20
a-Sr*	2,9	993 ± 61	907 ± 10
a-Zn	0,7	1087 ± 50	877 ± 13
Probe b			
Cr	2,2	988 ± 29	1086 ± 10
Fe	1,8	991 ± 31	1126 ± 12
La*	2,1	959 ± 127	948 ± 13
Zn	1,6	1013 ± 49	1074 ± 9

Insgesamt lässt sich jedoch feststellen, dass alle gemessenen relativen Standardabweichungen unter 3 % liegen und damit als sehr niedrig und damit das Material als sehr homogen einzustufen ist. Dies gilt auch für die Probe **b**, welche vier verschiedene Elemente enthält. Deren Homogenitätswerte sind jeweils etwas schlechter als die Werte der zugehörigen Einzelschicht, jedoch nur in geringem Maße. Von Becker wurden nach der Methode von Bode Multielementschichten hergestellt. Insbesondere bei der Verwendung von Lanthan

verschlechterten sich die relativen Standardabweichungen (gemessen mit LA-ICP-MS) jedoch massiv. Als Ursache wurde hier ein anderer im Öl-Elementstandard verwendeter Komplexbildner vermutet, sodass es zu Konkurrenzreaktionen und Agglomeration kam. Anhand der Multielementschicht (Probe **b**) konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Lanthan und weiteren Elementen in einer Schicht mit Acetylacetonat als Komplexbildner möglich ist und diese Schicht eine sehr homogene Elementverteilung aufweist. [122, 138]

Die für diese Schichten erhaltenen Werte für die relative Standardabweichung liegen im gleichen Bereich oder sogar niedriger als die Werte, welche unter den gleichen Bedingungen für den NIST Glasstandard 610 ermittelt wurden. Dabei ist jedoch anzumerken, dass die Gehalte der Elemente im Glas bei etwa $500 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ liegen und somit geringer als in den Lackschichten sind. Allerdings ist die Schichtdicke des Glases wesentlich größer, sodass die analysierte Probenmenge größer ist. [75] Weiterhin wurde der Elementgehalt für diese Schichten mit etwa $1000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ vergleichsweise hoch gewählt, damit auch leichtere Elemente wie Aluminium und Magnesium noch mit der μRFA gemessen werden können. Dabei konnte gezeigt werden, dass für die hier aufgelisteten Elemente ein höherer Gehalt erzielbar ist, als es mit der Öl-Elementstandardmethode möglich war. Von Dreyer wurde beschrieben, dass maximal 10 % Anteil an der Mischung Öl-Standard verwendet werden können, wobei diese mit maximal $5000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ erhältlich sind. Daher ergibt sich ein Maximalgehalt von $500 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ bei der Verwendung der Öl-Elementstandards. [121]

Die Elementgehalte der Schichten wurden nach Mikrowellenaufschluss mittels ICP-OES bestimmt und sind in Tab. 4.3 angegeben. Außerdem sind auch die aus den Einwaagen errechneten Elementgehalte angegeben. Es ist erkennbar, dass für viele Elemente eine gute Übereinstimmung vorliegt. Jedoch weisen besonders Calcium und Zink einen geringeren Gehalt auf. Dies ist auf die begrenzte Löslichkeit dieser Acetylacetonate im Basislack zurückzuführen. Bei der Herstellung der Lösung blieb bei beiden ein erkennbarer fester Anteil ungelöst zurück. Für einige Elemente ist der gemessene Gehalt höher, als der aus den Einwaagen berechnete Gehalt. Dies könnte, wie beispielsweise auch von Schwartze untersucht, am Verdampfen von Verbindungen aus dem Polymer während der Polymerisation zurückzuführen sein. Allerdings müsste dies alle Elemente gleichmäßig betreffen und es müssten signifikante Masseverluste auftreten. Daher ist es wesentlich wahrscheinlicher, dass es sich bei diesen Abweichungen um Wägefehler handelt. Die festen Acetylacetonate wurden jeweils für einen 10 g Polymeransatz eingewogen. Abhängig vom Element wurden dafür nur wenige Milligramm benötigt, sodass durch den dabei möglichen Wägefehler diese Abweichungen erklärbar sind. Die systematischen Fehler, die aus dem Fehlerbereich der Waage berechnet wurden, sind jeweils mit dem berechneten Gehalt angegeben. Allerdings ist es nicht auszuschließen, dass der tatsächliche Fehler größer ist. [119]

4.3.4 Analyse mit NMR

Für die Untersuchung der Langzeitstabilität der Schichten ist es interessant die Bindungsverhältnisse der Elemente im Polymer zu untersuchen. Theoretisch besteht die Möglichkeit, dass die Liganden über die Doppelbindung des Acetylacetonates mit in die Polymerisation einbezogen werden. Auf diese Weise würde das jeweilige Metall im Polymer fixiert werden und

Stabilitätsprobleme würden unwahrscheinlich werden.

Für diese Analysen wurde Aluminium als Analyt ausgewählt, weil dieses vergleichsweise gut mittels Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) messbar ist. ^{27}Al hat eine natürliche Häufigkeit von 100 % und wurde deswegen neben ^{13}C gemessen. Es wurde sowohl die Lösung der Proben **d-0**, **d-1000** und **d-2000** vor der Polymerisation als auch das feste Aluminiumacetylacetonat, jeweils in CDCl_3 gelöst, gemessen (vgl. Abb. A.1, im Anhang).

Das ^{13}C -Spektrum wird von den Signalen, welche von den Bestandteilen des Basislacks verursacht werden, dominiert. Da das Acetylaceton im Komplex ausschließlich in der Enolform vorliegt, sind auch im Spektrum lediglich die Signale der Enolform erkennbar (bei etwa 25 ppm, 100 ppm und 191 ppm [139]). Dies stimmt auch mit den für den Komplex gemessenen Signalen überein. Allerdings sind die Signale des Liganden in der Basislacklösung nur sehr klein, da der Anteil in der Lösung gering ist. Neben den Lösungsspektren wurden auch Festkörperspektren (*Magic Angle Spinning* (MAS)-NMR) von den polymerisierten Lacken **d-0**, **d-1000** und **d-2000** und von dem Aluminiumacetylacetonat aufgenommen. Die Polymere wurden dafür in einer Ultrazentrifugalmühle gemahlen. Die bei den Festkörpermessungen erhaltenen ^{13}C -Spektren sind in Abb. A.2 dargestellt. Die Signale des Acetylacetons sind in der Probe **d-2000** und in der Probe **d-1000** jedoch kaum erkennbar. Dies kann daran liegen, dass die Liganden mindestens teilweise mit in die Polymerisation einbezogen wurden, oder dass die Menge des Komplexes zu gering war, um diese Signale gut messen zu können.

Zusätzlich wurde ein ^{27}Al -Spektrum aufgenommen, welches in Abb. 4.8 dargestellt ist. Das Signal des Aluminiumacetylacetonats weist ein deutliches Quadrupolaufspaltungsmuster auf. Dies ist jedoch besonders bei der Probe **d-1000** nicht erkennbar, stattdessen ist ein leicht asymmetrisches Signal vorhanden, was auf eine amorphe Umgebung hinweist. Damit kann ein Einbinden der Liganden in das Polymer zumindest vermutet werden. Das Signal der Probe **d-2000**, welche eine größere Menge $\text{Al}(\text{acac})_3$ enthält, ähnelt dem Signal der Probe **d-1000**, weist jedoch eine Schulter auf, sodass es sich um eine Mischung aus den beiden beschriebenen Varianten handeln könnte.

4.4 Kalibrierreihe

Anhand verschiedener elementanalytischer Methoden wurde die Eignung der Schichten als Referenzmaterialien für die externe Kalibrierung untersucht. Es wurden Analysen mit μRFA , LA-ICP-MS und LIBS durchgeführt, wobei für die LIBS-Messungen ein *handheld* Gerät verwendet wurde. Als Element für diese Versuche wurde Eisen ausgewählt, weil es sich vergleichsweise gut mittels μRFA analysieren lässt und andere Elemente bei niedrigen Gehalten in dünnen Schichten nicht mehr gut detektiert werden können. Auch der gewählte Bereich von 200 bis $2000 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ (Proben c) wurde an die Möglichkeiten der μRFA angepasst.

4.4.1 μRFA

Das Probensystem c wurde mit μRFA -Punktmessungen untersucht, um die Eignung der Schichten mit Elementgehalten im Spurenbereich als Referenzmaterialien für die externe Kalibrierung der μRFA festzustellen. Alle Proben wurden mit einem Kohlenstoffklebepad auf einen

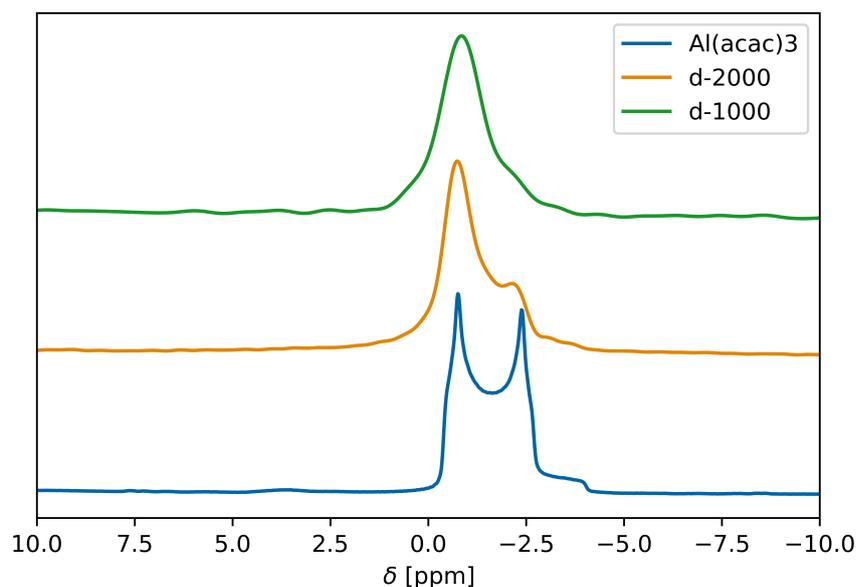


Abb. 4.8: ^{27}Al -MAS-NMR-Spektren der gemahlten Proben d-1000 und d-2000 sowie des festen $\text{Al}(\text{acac})_3$.

Plexiglasträger aufgeklebt. Die für die Messungen verwendeten Parameter sind in Tab. A.10 angegeben. Pro Probe wurden jeweils 25 zufällig ausgewählte Punkte gemessen. Anhand der Netto-Summe der Intensitäten wurde die Kalibriergerade aufgestellt und die Standardabweichungen berechnet. In Abb. 4.9 ist die erhaltene Kalibriergerade dargestellt, wobei die durch Aufschluss und Analyse mit ICP-OES bestimmten Gehalte verwendet wurden. Diese und die aus den Einwaagen berechneten Eisengehalte der Proben sind in Tab. A.1 aufgeführt. Die gemessenen und die aus der Einwaage berechneten Werte stimmen sehr gut überein, wobei die größte Abweichung bei der Probe c-2000 vorliegt. Die Ursache hierfür ist, dass lediglich diese Probe durch Auflösen der benötigten Menge Eisenacetylacetonat hergestellt wurde und daher auch hier der Wägefehler am größten ist. Alle geringeren Gehalte wurden durch Verdünnen der Lösung mit flüssigem Basislack hergestellt. Dafür konnten jedoch stets größere Massen im Vergleich zur Masse des Komplexes eingewogen werden, wodurch der dabei auftretende Fehler wesentlich geringer ausfiel. Die von Schwartz in Betracht gezogene Möglichkeit, dass eine signifikante Menge des Lackes während der Polymerisation verdunstet, kann anhand dieser Ergebnisse, für den in dieser Arbeit verwendeten Basislack, ausgeschlossen werden. [119]

In Abb. 4.9 ist erkennbar, dass die gemessenen Punkte sehr gut auf der Geraden der linearen Regression liegen. Das Bestimmtheitsmaß ist als sehr gut für eine Festkörpermessung einzustufen. Auch die Standardabweichungen sind gering, besonders bei den niedrigeren Eisengehalten. Ab $1700 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ steigen die Standardabweichungen deutlich an (vgl. Tab. A.2), allerdings sind diese mit weniger als 4 % immer noch als vergleichsweise gut einzustufen. Jedoch kann anhand der Ergebnisse vermutet werden, dass eine Obergrenze für den Eisengehalt im Bereich von $1700 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ vorhanden ist, weil theoretisch davon auszugehen wäre, dass das Signal-Rausch-Verhältnis bei höheren Gehalten besser und somit die relative Standardabweichung geringer wäre. Die Ursache für die steigende Standardabweichung bei höheren

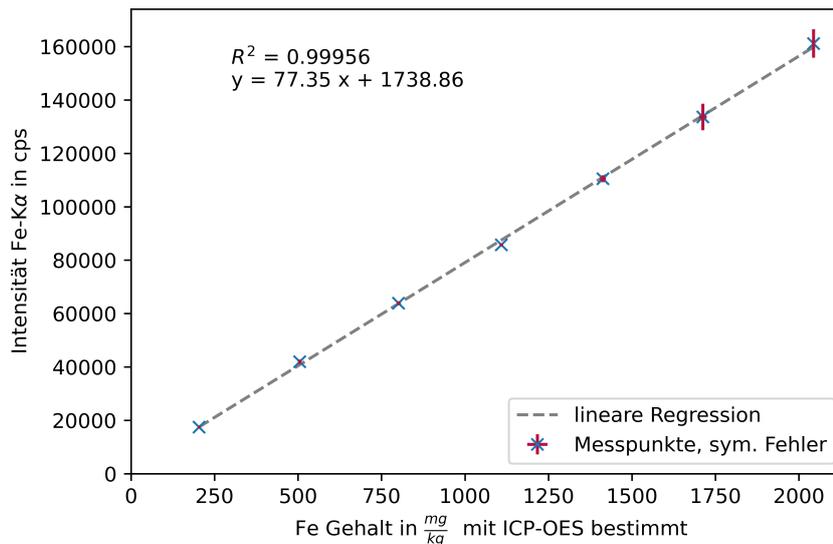


Abb. 4.9: Kalibrierreihe der Proben c, mit μ RFA gemessen. Jede Probe der Reihe wurde an 25 zufällig ausgewählten Punkten gemessen.

Eisengehalten ist eine Inhomogenität im Tiefenprofil, in Abschnitt 4.4.4 wird darauf genauer eingegangen.

Verglichen mit den von Müller *et al.* vorgestellten Ergebnissen, die Referenzmaterialien auf Basis von Gelatine mit verschiedenen Eisengehalten hergestellt haben, ist das erzielte Bestimmtheitsmaß vergleichbar. Allerdings sind die Proben und Messbedingungen verschieden, wodurch die Ergebnisse nur bedingt vergleichbar sind. In dieser Arbeit wurden die Abstände äquidistant gewählt und in einem kleineren Bereich bis $2\,000\ \frac{mg}{kg}$ Eisengehalt statt bis $30\,000\ \frac{mg}{kg}$, wie es bei Müller *et al.* der Fall ist, realisiert. Auf diese Weise sollte eine Hebelwirkung sehr hoher Gehalte auf die Kalibriergerade vermieden werden. Außerdem wurde der spektrale Untergrund, welcher durch Streuung hervorgerufen wird, berücksichtigt, sodass die Höhe des Untergrundes keinen Einfluss auf die Berechnung der Standardabweichungen hatte. Allerdings sind die hier vorgestellten Schichten mit 130 bis 140 μm wesentlich dicker als die von Müller *et al.* hergestellten etwa 5 μm dicken Gelatineproben. Durch die größere Schichtdicke ist das angeregte Probenvolumen größer und es kann mehr Signalintensität erhalten werden. Dies wurde in dieser Arbeit zusätzlich durch lange Messzeiten pro Punkt unterstützt, während die von Müller *et al.* verwendeten Messzeiten mit 100 ms pro Punkt wesentlich kürzer waren. [113]

4.4.2 LA-ICP-MS

Die Kalibrierreihe (Probensystem c) wurde auch mit LA-ICP-MS untersucht. Für die Messungen wurden alle vier natürlich vorkommenden Isotope des Eisens (^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe und ^{58}Fe) sowie ^{13}C gemessen. Die Größe des Laserspots wurde mit $20\ \mu m \times 20\ \mu m$ so gewählt, dass die pro Messpunkt analysierte Fläche etwa genauso groß wie die Messpunktgröße der μ RFA ist. Alle verwendeten Geräteparameter sind in Tab. A.9 angegeben. Es wurden pro Probe fünf Linienmessungen mit jeweils 380 Messungen durchgeführt und zusätzlich vor und nach der Ablation

für einige Sekunden gemessen. Das vor Beginn der Ablation erhaltene Signal wird lediglich durch die verwendeten Gase verursacht. Aus diesen Werten wurde der Mittelwert berechnet und von allen Messwerten bei der Ablation abgezogen. Auf diese Weise konnte z. B. der Einfluss der Argon-Sauerstoff-Interferenzen vermindert werden, ohne dass eine Kollisionszelle nötig wurde. Die dabei erhaltenen Kalibriergeraden sind in Abb. 4.10 dargestellt.

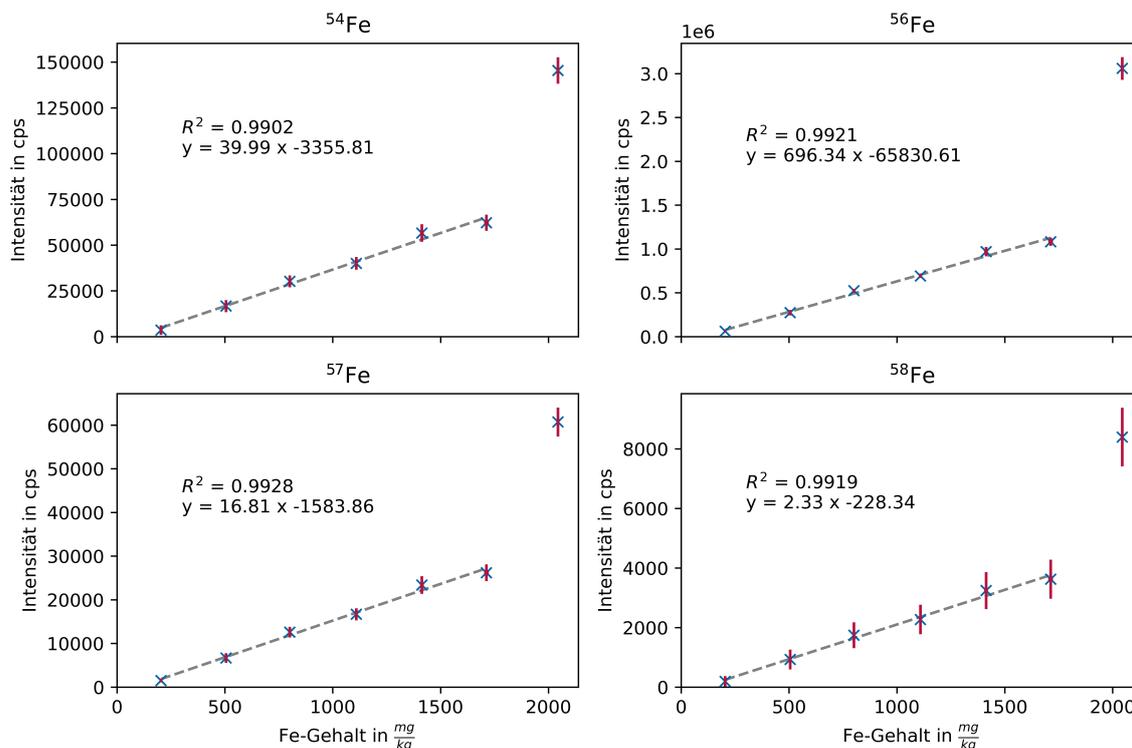


Abb. 4.10: Kalibrierreihen der Proben c, mit LA-ICP-MS gemessen. Für jede Probe wurden fünf Linien mit je 380 Messpunkten analysiert. Der höchste Gehalt (c-2000) wurde von der linearen Regression ausgeschlossen. Die zugehörigen Werte sind in Tab. A.3 angegeben.

Es lässt sich erkennen, dass der lineare Zusammenhang für die niedrigsten sechs Gehalte gut passt. Allerdings passt die Messung der Probe mit dem höchsten Gehalt c-2000 nicht zur linearen Regression, die sich aus den anderen Punkten erstellen lässt, sondern liegt bei wesentlich höheren Intensitäten. Wie in Abschnitt 4.4.4 und Abb. 4.14 beschrieben wird, ist das Eisen in der Probe c-2000 im Tiefenprofil ungleichmäßig verteilt. An den Rändern (oben und unten in der Schicht) des Tiefenprofils ist der Eisengehalt bei dieser Probe wesentlich höher als in der Mitte. Da bei den verwendeten Parametern der Laserablation nicht die gesamte Probtiefe ablatiert wurde, sondern hauptsächlich der obere Bereich mit dem erhöhten Eisengehalt, liegen die für die Probe c-2000 gemessenen Intensitäten wesentlich höher, als aus der linearen Regression der übrigen Punkte zu erwarten gewesen wäre.

Weiterhin ist in Abb. 4.10 zu erkennen, dass die relative Standardabweichung mit sinkender natürlicher Häufigkeit der Eisenisotope ($^{56}\text{Fe} > ^{54}\text{Fe} > ^{57}\text{Fe} > ^{58}\text{Fe}$) zunimmt. Die nach der Kalibriergeradenmethode berechneten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen entsprechend DIN 32645 sind in Tab. A.5 für alle verwendeten Methoden aufgeführt. Die Kalibriergeradenmethode führt aufgrund der Berechnung aus den verwendeten Gehalten zu wesentlich höhe-

ren Nachweisgrenzen (NG) und Bestimmungsgrenzen (BG) (für ^{56}Fe $146 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ bzw. $504 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$), als dies beispielsweise mit einer Berechnung aus dem Leerwert der Fall wäre. Außerdem sind die verwendeten Gehalte für die LA-ICP-MS vergleichsweise hoch gewählt. Daher sollte es theoretisch möglich sein, dass bei der Verwendung von geringeren Gehalten in den eingesetzten Standards auch geringere NG und BG erzielt werden können. Dies gilt besonders für die Eisenisotope mit höherer natürlicher Häufigkeit.

4.4.3 Handheld LIBS

Als zusätzliche Anwendung der hergestellten Standards wurde deren Eignung für die externe Kalibrierung einer *handheld* LIBS untersucht. Wie bei der LA-ICP-MS wird auch bei der LIBS Laserlicht auf die Probe eingestrahlt. Allerdings wird nicht das dabei aus der Probe ablatierte Material, sondern die vom Oberflächenplasma emittierte Strahlung untersucht. Der Vorteil eines *handheld*-Gerätes ist die Transportierbarkeit und damit die Flexibilität gegenüber dem Einsatzort. Damit wird es möglich Proben direkt vor Ort zu untersuchen oder auch Analysen an Proben durchzuführen, die zu groß für Laborgeräte sind. Der Nachteil dabei ist, dass die Transportierbarkeit des Gerätes auf Kosten der Empfindlichkeit, der Ortsauflösung und der spektralen Auflösung erzielt wird. [140–142]

Alle LIBS-Messdaten wurden integriert und normiert (die verwendeten Parameter sind in Tab. A.11 aufgeführt). Dafür wurden jeweils 21 Spektren von jeder Probe des Systems c aufgenommen. Ähnlich wie von Brunnbauer *et al.* beschrieben, wurden jeweils die Flächen unter den Signalen der Emissionslinien (238,2 nm, 239,5 nm, 259,9 nm und 275,6 nm, ausgewählt aufgrund der hohen Empfindlichkeit) ermittelt und anschließend gegen die Fläche einer Komponente normiert, die in jeder Probe in gleicher Menge enthalten ist. Eine Variante wäre Kohlenstoff dafür zu verwenden, allerdings wurden bessere Ergebnisse durch die Verwendung der Silicium-Emissionslinien 212,4 nm und 268,2 nm erzielt. Die Ursache dafür ist, dass Siliconöl in kleinen Mengen als Entschäumer im Basislack enthalten ist und damit in einer ähnlichen Menge in der Probe vorhanden ist wie Eisen. Kohlenstoff ist hingegen ein Hauptbestandteil und daher in wesentlich größerer Menge enthalten, wodurch kleinere Schwankungen die Kohlenstoffsignale weniger intensiv beeinträchtigen. [122, 123, 143]

In Abb. 4.11 sind die für die vier verwendeten Emissionslinien von Eisen erhaltenen Kalibriergeraden dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass die Standardabweichungen verglichen mit den Ergebnissen der LA-ICP-MS und μRFA sehr hoch sind. Allerdings liegen die Medianwerte gut auf der Geraden der linearen Regression. Die spektrale Auflösung und Empfindlichkeit ist bei einem *handheld*-Gerät schlechter als bei Laboraufbauten. Die anhand der Kalibriergeradenmethode nach DIN 32645 berechneten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (vgl. Tab. A.5, für Fe 238,2 nm/Si $242 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ bzw. $799 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$) zeigen, dass mit den verwendeten Gehalten die Grenzen dessen, was mit diesem Gerät möglich ist, erreicht wurden. Für alle verwendeten Emissionslinien liegt der Gehalt der Probe c-200 unterhalb der Nachweisgrenze und die Bestimmungsgrenze etwa im Bereich der Probe c-800. Daher lässt sich zwar sagen, dass die Ergebnisse unter den verwendeten Bedingungen vielversprechend sind. Für weitere Anwendungen in diesem Konzentrationsbereich wäre die Verwendung eines **LIBS!** (**LIBS!**)-

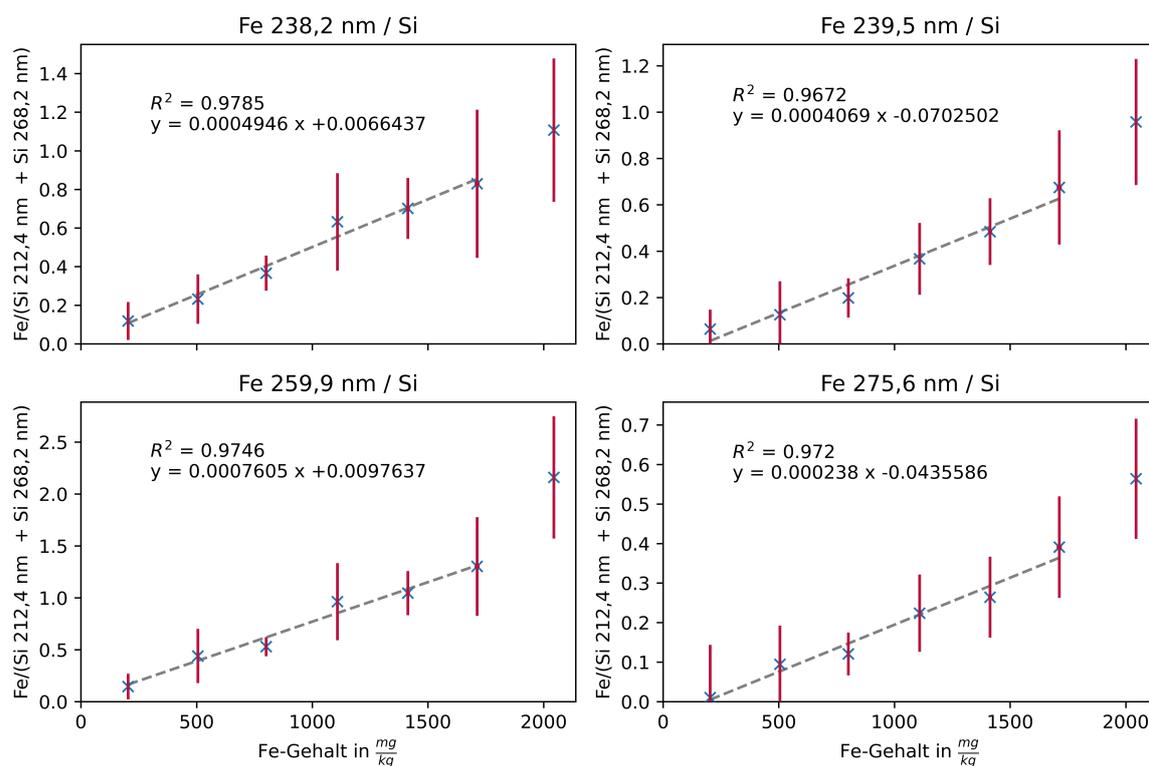


Abb. 4.11: Kalibrierreihen der Proben c, mit der *handheld* LIBS gemessen. Für jede Probe wurden 21 Spektren aufgenommen. Der höchste Gehalt (c-2000) wurde von der linearen Regression ausgeschlossen. Die zugehörigen Werte sind in Tab. A.4 angegeben.

Labora Aufbau mit höherer Empfindlichkeit und spektraler Auflösung zu empfehlen.

Wie bereits bei der LA-ICP-MS liegen auch hier die Intensitäten der Probe c-2000 jeweils etwas zu hoch und wurden daher aus der linearen Regression ausgeschlossen. Die Ursache dafür ist, wie auch bei der LA-ICP-MS, dass bei der LIBS nicht die komplette Probtiefe analysiert werden konnte und bei der Probe c-2000, wie in Abschnitt 4.4.4 beschrieben wird, der Eisengehalt im Tiefenprofil sehr unregelmäßig verteilt vorliegt.

4.4.4 Tiefenprofile

Das Probensystem c wurde zusätzlich zu den bereits beschriebenen Analysemethoden auch mit C_μRFA untersucht. Dabei sollte ermittelt werden, warum die Werte der Probe c-2000 schlechter zur jeweiligen Kalibriergerade passen. C_μRFA ist eine zerstörungsfreie Analyse-methode, wobei durch eine zweite Optik vor dem Detektor ein mikroskaliges Untersuchungsvolumen erhalten wird, welches in allen drei Raumrichtungen durch die Probe bewegt werden kann (vgl. Abb. 3.5). Auf diese Weise kann sowohl ein komplettes dreidimensionales Volumen abgerastert werden, als auch entlang festgelegter Linien z. B. in die Tiefe gemessen werden. Die in diesem Kapitel vorgestellten C_μRFA -Tiefenprofile wurden an den gleichen Probenstücken wie die μRFA -Punktanalysen gemessen. Die Messpunkte der Tiefenprofile wurden bei 20 mbar, 120 s Messzeit pro Punkt und einem Punktabstand von 10 μm aufgenommen. Alle übrigen Parameter sind in Tab. A.10 aufgeführt.

In Abb. 4.12 ist schematisch der Ablauf und die Entstehung der Messkurve für die Aufnahme

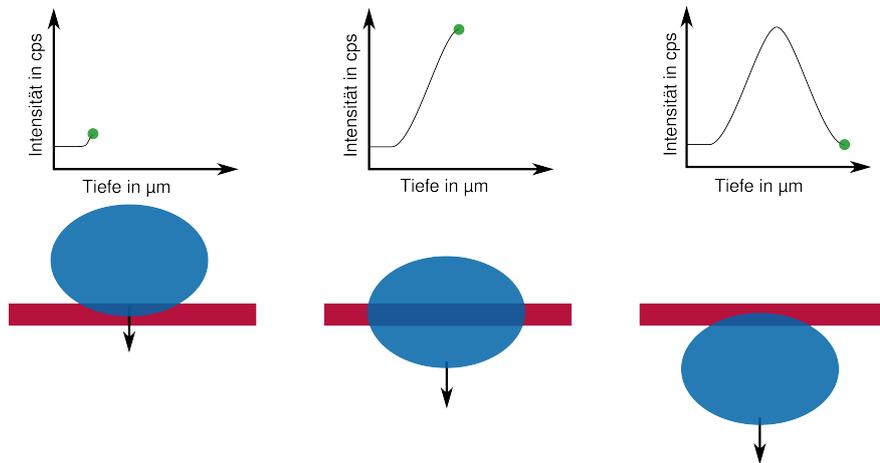


Abb. 4.12: Schematischer Ablauf der C_{μ} RFA-Messung einer Lackschicht (rot), die wesentlich dünner als das Untersuchungsvolumen ist und beispielhafte Positionen des Untersuchungsvolumens (blau) sowie die jeweils resultierenden Messpunkte (grün) auf dem erhaltenen Tiefenprofil (schwarz).

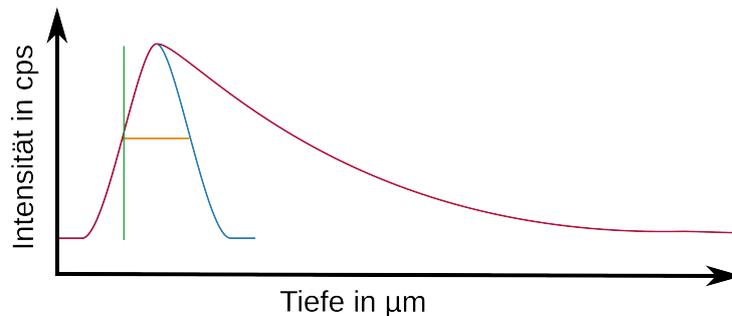


Abb. 4.13: Idealer Verlauf eines C_{μ} RFA-Tiefenprofils einer sehr dünnen Schicht (blau) und einer unendlich dicken Schicht (rot). Die Halbwertsbreite ist Orange dargestellt. In Grün ist Position der Probenoberfläche markiert.

eines Tiefenprofils sehr dünne Schicht mittels C_{μ} RFA dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass die resultierende Messkurve breiter als die Schichtdicke ist, weil bereits Fluoreszenzstrahlung aus der Schicht detektiert wird, wenn nur ein Teil des Untersuchungsvolumens in der Probe liegt. In Abb. 4.13 ist schematisch der Verlauf des Tiefenprofils für eine sehr dünne und eine unendlich dicke Schicht dargestellt. Allerdings handelt es sich dabei lediglich um ein Beispiel, weil der tatsächliche Verlauf der Messkurve sehr stark von der Energie der Fluoreszenzstrahlung und der Probenmatrix abhängig ist. Für leichte Elemente und schwere Probenmatrices kann der Verlauf des Tiefenprofils auch bei dicken Proben dem blau eingezeichneten Verlauf entsprechen. Außerdem ist in dieser Abbildung die relative Position der Probenoberfläche eingezeichnet. Für reale Messkurven lässt sich die Position der Oberfläche allerdings nicht genau festlegen. Für alle Tiefenprofile gilt, dass die Probe von oben nach unten gemessen wurde, wobei das Tiefenprofil von links nach rechts aufgetragen wurde.

Beim Eintreten des Untersuchungsvolumens in die Probe würde, wie in Abb. 4.12 dargestellt, ein Ansteigen des Signals erwartet werden. Ist das Untersuchungsvolumen vollständig in der Probe, sollte für alle Punkte ein konstantes bis mit steigender Tiefe leicht abfallendes Signal erhalten werden. Beim Austritt des Untersuchungsvolumens aus der Probe sollte das Signal entsprechend abfallen. In Abb. 4.14 sind die Tiefenprofile der Proben des Systems c dar-

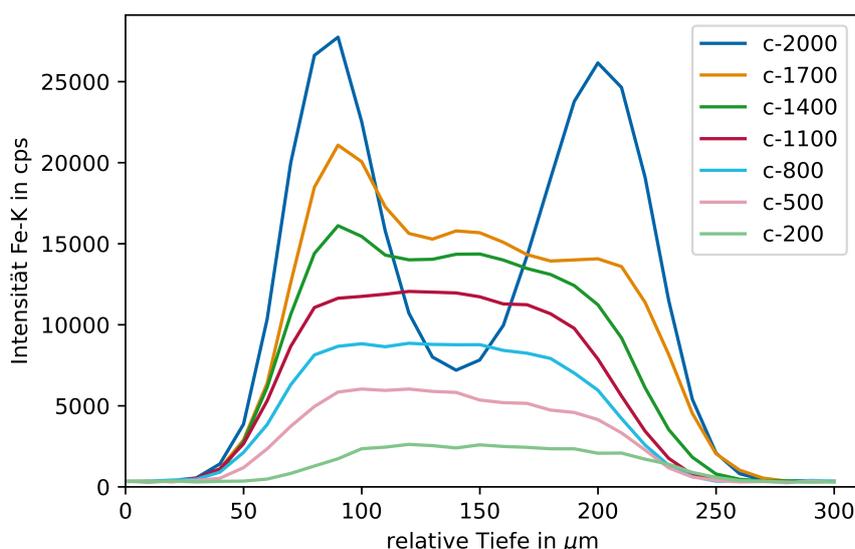


Abb. 4.14: Tiefenprofile der Proben des Systems c gemessen mit $C_{\mu}RFA$. Dargestellt ist die jeweils gemessene Intensität eine Normierung wurde nicht durchgeführt.

gestellt. Es lässt sich erkennen, dass die niedrigeren Gehalte dem erwarteten Kurvenverlauf entsprechen. Allerdings trifft das für die Proben **c-1400** und **c-1700** nur bedingt und für **c-2000** gar nicht mehr zu. Die Kurven der Proben **c-1400** und **c-1700** weisen im Anfangsbereich ein etwas höheres Signal auf, was darauf hindeutet, dass der Eisengehalt nahe der Probenoberfläche etwas höher ist. Das Tiefenprofil der Probe **c-2000** weist zwei Maxima in den beiden äußeren Bereichen auf, während im mittleren Bereich das Signal wesentlich niedriger als erwartet ist. Dadurch lässt sich das bei den vorherigen Methoden beobachtete Verhalten erklären, dass die Intensität der Probe **c-2000** bei den LA-ICP-MS und LIBS-Messungen höher als erwartet ist. Bei diesen beiden Methoden wurde nicht die gesamte Probtiefe analysiert, sondern nur ein Teil von der Oberfläche der Probe ablatiert. In diesem Bereich der Probe ist jedoch mehr Eisen vorhanden, als anhand des Gesamtgehaltes zu erwarten war. Folglich wurden zu hohe Intensitäten gemessen. Bei den μRFA -Messungen wurde dieses Verhalten nicht beobachtet, weil die gesamte Probtiefe angeregt und daher ein für den durchschnittlichen Eisengehalt in der Probe repräsentatives Signal erhalten wurde. Außerdem lässt sich feststellen, dass die Homogenität der Proben in der Fläche (x-y) auch bei höheren Gehalten noch wesentlich besser ist, als dies im Tiefenprofil (z-Achse) der Fall ist. Anhand dieser Ergebnisse ist eine Obergrenze für den Eisengehalt in diesem Material bei etwa $1700 \frac{mg}{kg}$ feststellbar, weil höhere Gehalte zu einer problematischen Inhomogenität des Materials in der Probtiefe führen.

Neben der Probenreihe c wurde auch von der Probe **b** mittels $C_{\mu}RFA$ ein Tiefenprofil erstellt (vgl. Abb. 4.15). Die Probe **b** enthält vier Elemente mit jeweils etwa $1000 \frac{mg}{kg}$. Entsprechend kann vermutet werden, dass die Tiefenprofile jeweils etwa ähnlich ungleichmäßig ausfallen wie die der Probe **c-2000**, weil insgesamt mehr Acetylacetonate enthalten sind. Dies ist jedoch, wie in Abb. 4.15 erkennbar ist, nicht der Fall. Anhand des Tiefenprofils des Eisens kann festgestellt werden, dass dessen Verteilung am stärksten inhomogen ist. Hingegen weisen die Tiefenprofile von Chrom und Lanthan einen annähernd idealen Verlauf auf. Die Signalin-

tensität des Lanthans fällt mit zunehmender Probentiefe stärker ab. Dies ist auf die stärkere Absorption der Fluoreszenzstrahlung zurückzuführen, weil die verwendete La-L-Linie eine niedrigere Energie aufweist als die verwendeten K-Linien der anderen Elemente. Der Verlauf der Intensität des Zink-Signals weist ebenfalls auf eine etwas ungleichmäßige Verteilung im Tiefenprofil der Probe hin, weil diese mit steigender Probentiefe ansteigt, anstatt konstant zu bleiben.

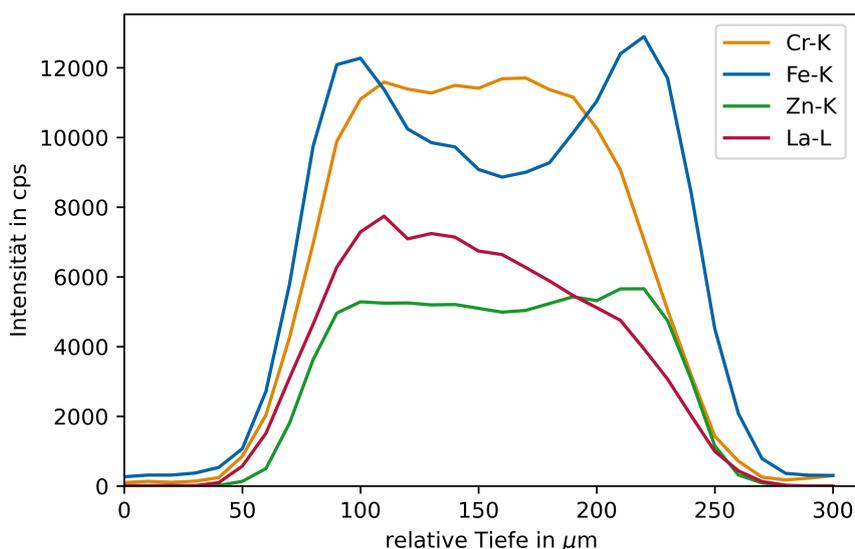


Abb. 4.15: Tiefenprofile der Probe **b** gemessen mit $C_{\mu}\text{RFA}$. Dargestellt ist die jeweils gemessene Intensität eine Normierung wurde nicht durchgeführt.

Insgesamt lässt sich jedoch sagen, dass die Verwendung von verschiedenen Metallacetylacetonaten in einer Probe die Homogenität innerhalb der x-y-Ebene kaum beeinträchtigt und dies auch in der z-Achse deutlich schwächer beobachtbar ist, als es anhand der Ergebnisse der Probe **c-2000** zu erwarten gewesen wäre.

4.5 Multischichtsysteme

Nachdem in den vorangegangenen Kapiteln die Herstellung und Analyse von einzelnen Schichten betrachtet wurde, soll in diesem Kapitel auf Proben mit mehreren Schichten eingegangen werden. Diese sind besonders für tiefensensitive Analysemethoden interessant. Für eine präzise Analyse von Tiefenprofilen ist es oftmals erforderlich die Tiefenmessung zusätzlich zu kalibrieren, weil z. B. die Absorption von Fluoreszenzstrahlung innerhalb des Materials sowohl von dem Analyten als auch von dem Material der Matrix abhängig ist. Daher ist es wichtig Referenzmaterialien für die Tiefenkalibrierung zu verwenden, welche möglichst gut die Matrix und auch die Gehalte der Analyten widerspiegeln. Daher soll in diesem Kapitel beleuchtet werden, wie gut sich das bereits beschriebene System zur Herstellung von Referenzmaterialien für die Tiefenkalibrierung eignet.

Für die Herstellung von Proben, welche aus mehreren Schichten bestehen, wurde zunächst wie in Abschnitt 4.3.1 beschrieben, vorgegangen. Nach dem Aushärten der ersten Schicht

wurde diese jedoch nicht von der Glasplatte abgelöst, sondern die Glasplatte mit der bereits ausgehärteten Schicht wurde erneut in das automatische Filmaufziehgerät eingespannt und es wurde eine zusätzliche Schicht aufgebracht. Auf diese Weise aufeinander gestapelte Schichten haften sehr gut aufeinander, ohne dass ein Ablösen der Schichten voneinander, wie z. B. von Bode beschrieben, beobachtet wurde. Eine Übersicht über die hergestellten Multischichtsysteme ist in Tab. 4.4 dargestellt. [122]

4.5.1 Tiefenprofilmessungen gestapelter Lackschichten

Für die Untersuchungen zur Stapelbarkeit der hergestellten Lackschichten wurde zunächst Eisen als Anwendungsbeispiel ausgewählt. Dieses lässt sich vergleichsweise gut mit der μ RFA detektieren. Wie bereits im vorherigen Kapitel ausgeführt wurde, eignen sich C_{μ} RFA-Messungen sehr gut zur Evaluierung der Elementverteilung im Tiefenprofil, weil diese in der leichten Matrix der Lackproben eine große Analysentiefe aufweisen und die Messungen zerstörungsfrei erfolgen können.

Zwei Schichtsysteme (**e-I** und **e-II**) mit jeweils fünf Lackschichten wurden durch nacheinander Aufbringen der Lackschichten auf die vorherige bereits ausgehärtete Schicht hergestellt. Das Probensystem **e-I** besteht aus drei $1000 \frac{mg}{kg}$ -Eisen-Schichten, zwischen welchen sich jeweils eine Schicht ohne zugegebene Elemente befindet. Auf diese Weise soll gezeigt werden, wie geeignet die vorgestellte Präparationsroutine für die Herstellung von Referenzmaterialien für die tiefenaufgelöste Analytik ist, wie gut die tieferen Schichten noch analysierbar sind und ob eine Unterscheidung der einzelnen Schichten problemlos möglich ist. Außerdem wurde eine Probe mit fünf $1000 \frac{mg}{kg}$ -Eisen-Schichten hergestellt, um mit dieser den Einfluss steigender Analysentiefe auf die gemessene Intensität bei der C_{μ} RFA nachvollziehen zu können. Die anhand der K-Fluoreszenzlinie des Eisens erstellten Tiefenprofile dieser beiden Proben sind in Abb. 4.16 (oben) dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass das Tiefenprofil der Probe **e-I** drei deutlich voneinander unterscheidbare Bereiche hoher Eisenfluoreszenz aufweist, zwischen denen die gemessene Intensität zudem auf die Basislinie absinkt. Weiterhin ist die durch die Absorption der Fluoreszenzstrahlung hervorgerufene Abschwächung der gemessenen Intensität mit zunehmender Probentiefe ersichtlich. Allerdings sind alle drei Eisenschichten trotz des Elementgehaltes im Spurenbereich gut detektierbar und die Standardabweichungen zwischen den fünf Messwiederholungen an verschiedenen Probenpositionen sind gering. Hierbei weisen die auf den Flanken der Signale liegenden Messpunkte die höchsten Abweichungen auf, was sich auf minimale Höhenunterschiede der Messpunkte zurückführen lässt. Zudem lässt sich erkennen, dass die Homogenität der Eisenverteilung innerhalb der Schichten sehr gut ist, da in keinem der fünf gemessenen Tiefenprofile dieser Probe deutliche Abweichungen oder Unregelmäßigkeiten in der Eisenverteilung im Tiefenprofil festgestellt werden konnten. Das Tiefenprofil der Probe **e-II** Abb. 4.16 (oben rechts) weist ein Eisensignal auf, welches, wie vermutet, mit zunehmender Probentiefe eine abnehmende Intensität besitzt. Allerdings ist die Intensitätsabnahme nicht so gleichmäßig, wie es für fünf identische eisenhaltige Schichten zu erwarten gewesen wäre. Stattdessen gibt es vier Maxima, welche sich deutlich vom übrigen Signalverlauf abheben. Daraus lässt sich die Vermutung ableiten, dass die Eisenverteilung

Tab. 4.4: Notation der gestapelten Schichtsysteme. Der Beginn einer neuen Schicht wird durch „-“ gekennzeichnet und die Schichten ohne zusätzliches Element sind mit „B“ (für *blank*) bezeichnet. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Schichten bei Raumtemperatur und mit einer 200 µm Rakel hergestellt.

System	Beschreibung	Bezeichnung	Schichtfolge
e	Multischichtsysteme bestehend aus $1000 \frac{mg}{kg}$ Fe Schichten (Fe) und Schichten ohne zusätzliches Element (B)	e-I	Fe-B-Fe-B-Fe
		e-II	Fe-Fe-Fe-Fe-Fe
		e-III	Fe-B-Fe-B-Fe-B-Fe-B-Fe-B-Fe
f	Multischichtsysteme bestehend aus $2000 \frac{mg}{kg}$ Fe Schichten (Fe) und Schichten ohne zusätzliches Element (B)	f-I	Fe-B-Fe-B-Fe
		f-II	Fe-Fe-Fe-Fe-Fe
g	Multischichtsysteme bestehend aus je ca. $1000 \frac{mg}{kg}$ Ca, Fe, La und Pb Schichten	g-I	Ca-Fe-La-Pb 50 µm Rakel
		g-II	Ca-Fe-La-Pb 100 µm Rakel
h	Multischichtsysteme bestehend aus $1000 \frac{mg}{kg}$ Cr Schichten und Schichten ohne zusätzliches Element (B)	h-I	Cr-B-Cr-B-Cr
		h-II	Cr-Cr-Cr-Cr-Cr
i	Zweischichtsysteme bestehend aus je ca. $1000 \frac{mg}{kg}$ Cr und $500 \frac{mg}{kg}$ Fe (bzw. $1000 \frac{mg}{kg}$ Fe bei i-III) Schicht und einer Schicht ohne zusätzliches Element (B)	i-I	CrFe-B gekühlt
		i-II	CrFe-B gekühlt auf Metallplate
		i-III	CrFe-B Raumtemperatur
		i-IV	CrFe-B erhitzt
k	Zweischichtsysteme bestehend aus je ca. $1000 \frac{mg}{kg}$ Co oder Zn in einer Schicht und einer Schicht ohne zusätzliches Element (B)	k-I	Co-B gekühlt
		k-II	Co-B Raumtemperatur
		k-III	Co-B erhitzt
		k-IV	Zn-B gekühlt
		k-V	Zn-B Raumtemperatur
		k-VI	Zn-B erhitzt

innerhalb der fünf eisenhaltigen Schichten nicht so homogen, wie erwartet, ist. Die Maxima befinden sich etwa an den Positionen der vier Schichtgrenzen innerhalb der Probe, sodass es sich hierbei auch um Streueffekte, die an dieser Kante entstanden sind, handeln könnte. Um auszuschließen, dass diese Maxima durch messtechnische Effekte verursacht wurden, wurden die Proben e in Epoxidharz eingebettet, orthogonal zu den Schichten zersägt und poliert, sodass ein Querschnitt der Probe erhalten wurde. Auf diesem Querschnitt wurde jeweils

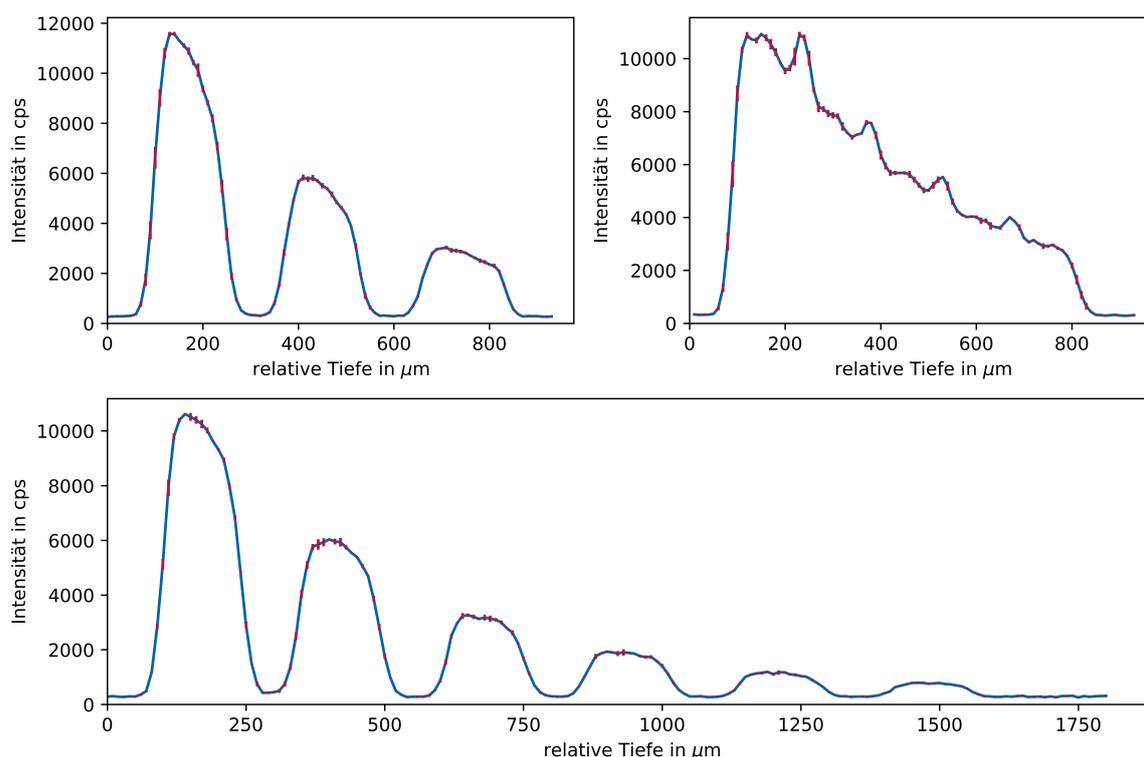


Abb. 4.16: Tiefenprofile der Proben **e-I** (oben links), **e-II** (oben rechts) und **e-III** (unten) gemessen mit $C_{\mu}RFA$ anhand der Fe-K-Fluoreszenzlinie. Mit rot sind jeweils die Standardabweichungen zwischen den Wiederholungsmessungen an verschiedenen Probenpositionen dargestellt. Für das Schichtsystem **e-I** wurden fünf Messwiederholungen durchgeführt, für die anderen jeweils drei.

erneut eine $C_{\mu}RFA$ -Messung durchgeführt, wobei jedoch nicht in die Tiefe gemessen wurde, sondern das Untersuchungsvolumen entlang der Oberfläche des Querschnitts geführt wurde. Auf diese Weise konnte für diese Proben die Eisenverteilung über den Querschnitt bestimmt werden, ohne dass die zunehmende Probentiefe das Ergebnis beeinflusst. In Abb. 4.17 sind die dabei erhaltenen Eisenverteilungen zusammen mit den Tiefenprofilen der Proben dargestellt. Aufgrund einer konstanten Fehlfunktion des Probentisches des μRFA -Gerätes und daraus resultierender Fehler in der tatsächlichen Fahrstrecke wurden die Tiefenprofile um diesen Fehler korrigiert, damit die Strecken zu den Linienmessungen an der Oberfläche passen. Es lässt sich erkennen, dass auch anhand des Querschnitts vier Maxima in der Eisenverteilung der Probe **e-II** gemessen werden konnten. Somit kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei diesen um messtechnische Effekte an den Schichtgrenzen bei der Analyse von Tiefenprofilen handelt. Daher ist festzustellen, dass die Probe **e-II** im Gegensatz zur Probe **e-I**, welche aus dem gleichen Ansatz hergestellt wurde, Inhomogenitäten in der Eisenverteilung aufweist. Auch in Abschnitt 4.4.4 wurden Inhomogenitäten der Eisenverteilung innerhalb der Schichtdicke festgestellt. Allerdings konnte dies bei den Einzelschichten erst ab höheren Eisengehalten beobachtet werden.

Zur Beurteilung, ob die Inhomogenitäten in der Eisenverteilung von Probe **e-II** auf den gleichen Effekt zurückzuführen sind, wie die in Abschnitt 4.4.4 beobachteten, wurden die Probensysteme **f-I** und **f-II** (vgl. Tab. 4.4) mit dem gleichen Aufbau wie die Proben **e-I** und **e-II**, jedoch mit einem Eisengehalt von $2000 \frac{mg}{kg}$, hergestellt. Die Tiefenprofile dieser Proben (vgl.

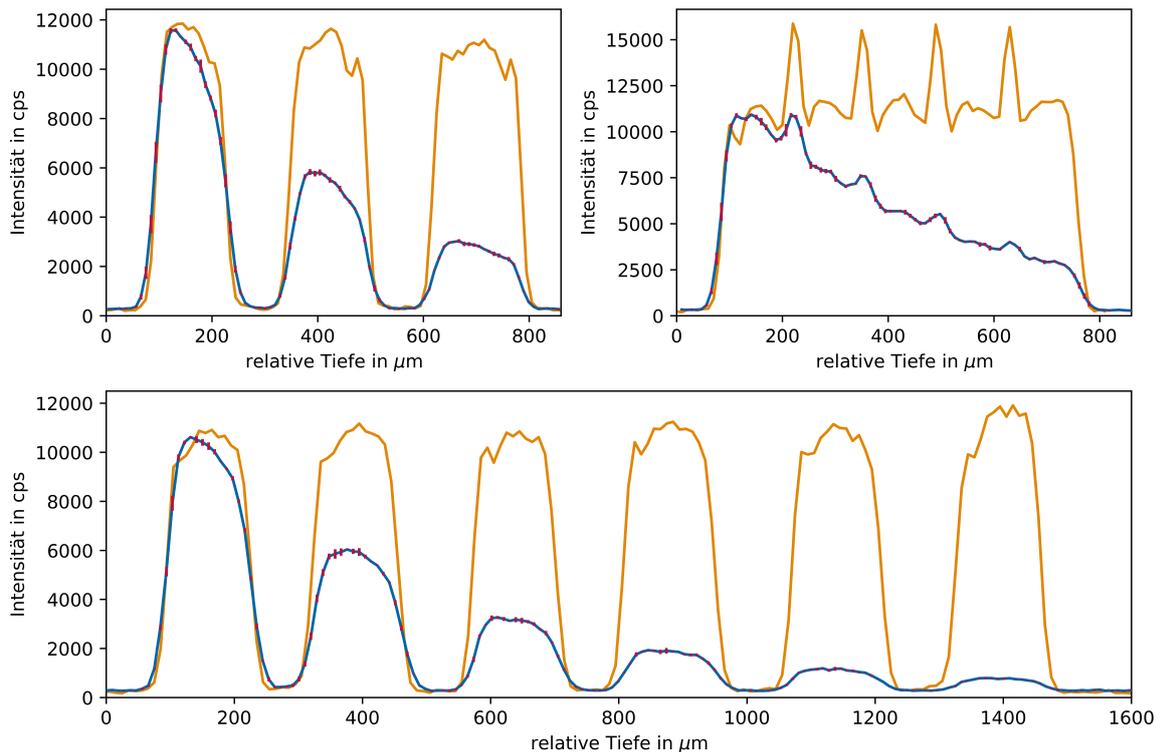


Abb. 4.17: Tiefenprofile (blau) der Proben **e-I** (oben links), **e-II** (oben rechts) und **e-III** (unten) gemessen mit $C_{\mu}RFA$. Zusätzlich sind in gelb die an den Querschnitten der Proben gemessenen Eisensignale aufgetragen.

Abb. A.3) zeigen, dass die Eisenverteilung in den gestapelten Schichtsystemen bei höherem Eisengehalt der Schichten noch inhomogener ist. Probe **f-I** weist drei deutlich voneinander abgegrenzte Eisensignale auf, die jedoch jeweils zwei Maxima ähnlich der Probe **c-2000** (vgl. Abb. 4.14) aufweisen. Das Tiefenprofil von Probe **f-II** ähnelt dem von **e-II** stark, wobei die Maxima jedoch deutlicher ausgeprägt sind. Daher kann geschlossen werden, dass die bei der Probe **e-II** beobachteten Inhomogenitäten der Eisenverteilung auf den gleichen Effekt zurückzuführen sind, durch welchen auch Inhomogenitäten bei höheren Eisengehalten auftreten, wie in Abschnitt 4.4.4 gezeigt wurde. Außerdem wird dieser Effekt durch das Aufeinanderstapeln mehrerer eisenhaltiger Schichten begünstigt, weil die eisenhaltigen Schichten der Probe **e-I**, welche jeweils durch eine eisenfreie Schicht voneinander getrennt sind, eine homogene Verteilung aufweisen. In Abschnitt 4.5.3 wird genauer auf die Ursache für dieses Verhalten eingegangen.

Anhand des erhaltenen Tiefenprofils von Probe **e-I** (vgl. Abb. 4.16 und 4.17) kann vermutet werden, dass die maximale Analysentiefe für derartige Proben noch nicht erreicht ist, weil sich das Signal der tiefsten Schicht noch gut vom Untergrund unterscheiden lässt. Deshalb wurde das Probensystem **d-III**, bestehend aus elf Schichten, davon fünf eisenhaltige, hergestellt, womit ermittelt werden sollte, wie groß die maximale Analysentiefe der $C_{\mu}RFA$ für Eisen im Bereich von $1000 \frac{mg}{kg}$ in leichter Matrix ist. Wie in Abb. 4.16 und 4.17 (jeweils unten) zu erkennen ist, konnten Tiefenprofile für die gesamte Probentiefe von ca. 1,5 mm aufgenommen werden. Alle sechs eisenhaltigen Schichten lassen sich deutlich erkennen, obwohl die

Intensität der tieferen Schichten deutlich geringer ist. Alle Schichten weisen eine homogene Eisenverteilung im Tiefenprofil auf, sodass gesagt werden kann, dass auch die Herstellung von Schichtsystemen mit vielen Schichten problemlos möglich ist und diese noch messbar sind. Eine größere Analysentiefe kann mit dem verwendeten Gerät technisch nicht realisiert werden, weil dann die konfokale Optik zu nah an der Probenoberfläche wäre. Eine Berührung zwischen der konfokalen Optik und der Probenoberfläche muss verhindert werden, damit die Optik nicht beschädigt wird.

4.5.2 Anwendbarkeit für die Tiefenkalibrierung

Die Messungen der Tiefenprofile mittels $C\mu RFA$ können nicht zum direkten Ablesen der Schichtdicke verwendet werden. Die Ursache hierfür ist, dass ein Signal erhalten wird, sobald das von den beiden Kapillarlinsen erzeugte Untersuchungsvolumen teilweise in der elementhaltigen Schicht liegt. Durch das Bewegen des Untersuchungsvolumens durch eine Schicht, welche kleiner als das Untersuchungsvolumen ist, wird ein gaußförmiges Signal erhalten (vgl. Abb. 4.12). Das Signalmaximum wird gemessen, wenn die Überlappung des Untersuchungsvolumens mit der Schicht am größten ist. Auf diese Weise ist das gesamte erhaltene Signal jedoch wesentlich breiter als die gemessene Schicht. Ein weiteres Problem ist, dass die Größe des Untersuchungsvolumens elementabhängig ist. Je leichter das Element, desto größer das Untersuchungsvolumen. Die Ursache dafür ist, dass der Akzeptanzwinkel der Totalreflexion in den Polykapillarlinsen energieabhängig ist und somit mit steigender Fluoreszenzenergie ein kleineres Untersuchungsvolumen erhalten wird. Ist das Untersuchungsvolumen kleiner, wird ein schmaleres Signal für das Tiefenprofil einer Schicht erhalten. Durch Anfitzen einer Gaußkurve an das Messsignal kann die Halbwertsbreite (*full width at half maximum*) (FWHM) berechnet werden. Der Schnittpunkt dieser mit der linken Flanke des Signals kann vereinfacht als Beginn der Schicht angesehen werden. [65, 144]

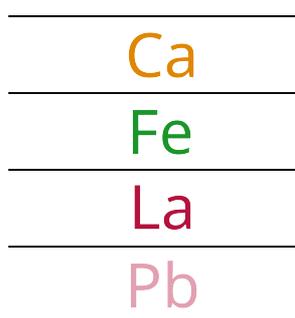


Abb. 4.18: Schematischer Aufbau der Probensysteme g-I und g-II. Silicium ist in allen Schichten enthalten, wurde jedoch nicht zusätzlich eingebracht sondern ist bereits im Basislack enthalten.

Die Probensysteme g-I und g-II (vgl. Abb. 4.18) wurden hergestellt, um festzustellen, ob sich die Schichtsysteme auch für die Tiefenkalibrierung mit verschiedenen Elementen in unterschiedlichen Schichten eignen. Die Proben wurden jeweils mit vier Schichten hergestellt, von denen je eine Calcium, Eisen, Lanthan und Blei enthält. Diese Elemente wurden ausgewählt, um verschiedene Energiebereiche untersuchen zu können. Zusätzlich kann Silicium detektiert werden, welches in allen Schichten enthalten ist, weil der Basislack ca. $1000 \frac{mg}{kg}$ enthält. [122]

Für diese Messungen wurden dünnere Schichten als für die bisher vorgestellten Proben hergestellt. Bei den bisherigen Proben ist die Schichtdicke mit ca. 130 μm größer als das Untersuchungsvolumen der analysierten Elemente, was sich auch daran erkennen lässt, dass die gemessenen Signale keinen gaußförmigen Verlauf besitzen, sondern ein leicht abfallendes Plateau aufweisen. Dieses entsteht, wenn das Untersuchungsvolumen an mehreren Messpositionen vollständig in der Schicht ist und somit mehrere Punkte eine etwa gleich große Intensität aufweisen. Damit die Berechnung der FWHM über den Gaußfit möglich wird, wurden zwei verschiedene, geringere Schichtdicken verwendet.

Das für die Probe **g-II** gemessene Tiefenprofil sowie die berechneten Gaußkurven und FWHM sind in Abb. 4.19 dargestellt. Die gemessenen Schichtdicken und FWHM-Werte für die beiden Proben **g-I** und **g-II** sind in Tab. A.6 aufgeführt. Aufgrund von Streuprozessen an der Hülse der Optik wurde für Eisen ein etwas erhöhter Untergrund aufgenommen. Da bei dieser Messung die Intensitäten vergleichsweise gering sind, wurde neben dem Fit an die Originaldaten auch ein Fit an die Eisenintensitäten durchgeführt, nachdem die Untergrundwerte abgezogen wurden.

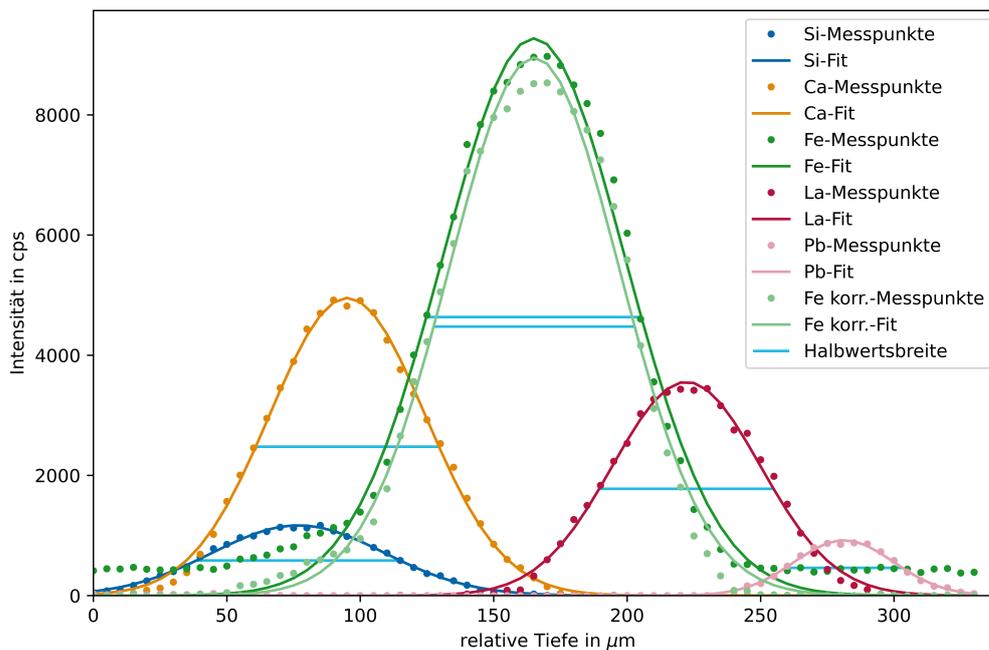


Abb. 4.19: Tiefenprofil der Probe **g-II** mit CuRFA gemessen. Dreifachbestimmung an verschiedenen Probenpositionen. Für die korrigierten Eisenwerte wurde der gerätebedingt erhöhte Untergrund im ersten Schritt abgezogen.

Für die Probe **g-I** wurden etwa 30 μm dicke Schichten und für die Probe **g-II** 60 μm dicke Schichten erhalten. In Abb. 4.19 lässt sich erkennen, dass in Probe **g-II** die Schichten aller eingebrachten Elemente aus dem Tiefenprofil heraus als einzelne Schicht identifizierbar sind. Die Maxima aller Elemente liegen außerhalb der anderen Kurven. Ausnahme ist hier Silicium, welche jedoch nicht in eine Schicht eingebracht wurde, sondern bereits im Basislack enthalten war. Daher ist es gleichmäßig in allen Schichten vorhanden. Allerdings konnte es nur für

den oberen Bereich der Probe gemessen werden, weil Silicium ein sehr leichtes Element ist, daher die Fluoreszenzstrahlung vergleichsweise niedrig energetisch ist und leichter vom Material absorbiert wird. Für Probe **g-I** liegen die Maxima der einzelnen Elemente nicht mehr in jedem Fall außerhalb der Kurven der anderen Elemente. Allerdings sind diese auch hier deutlich gegeneinander versetzt, sodass diese auch hier als unterschiedliche Schichten identifiziert werden können.

Die für Probe **g-I** berechneten Halbwertsbreiten sinken erwartungsgemäß mit steigender Ordnungszahl der Elemente. Die Ursache dafür ist das sinkende Untersuchungsvolumen mit steigender Fluoreszenzenergie. Dabei sind alle berechneten Werte größer als die jeweilige Schichtdicke. Durch die Untergrundkorrektur der Eisenwerte wurde eine um 7,3 μm niedrigere Halbwertsbreite bestimmt, welche näher an der realen Schichtdicke liegt.

Für die Probe **g-II** wurde für Eisen eine höhere Halbwertsbreite als für Calcium bestimmt. Dieser Trend liegt auch bei Probe **g-I** vor. Allerdings ist da die Reihenfolge aufgrund entsprechender Schichtdickenunterschiede (Eisenschicht etwas dünner und Calciumschicht etwas dicker) noch umgekehrt. Weiterhin ist die für Blei bestimmte Halbwertsbreite für Probe **g-II** kleiner als die Schichtdicke. Die Ursache für diese Abweichungen ist, dass die darüber liegenden Schichten einen deutlichen Einfluss auf die gemessene Intensität haben. Je nach Schichtdicke und Elementzusammensetzung werden verschieden hohe Strahlungsanteile durch das Material absorbiert. Deswegen ist es für die CpRFA -Messungen sehr wichtig mit matrixangepassten Materialien zu kalibrieren. Mithilfe der beiden Proben **g-I** und **g-II** konnte gezeigt werden, dass auch Schichtabfolgen aus verschiedenen elementhaltigen Schichten hergestellt werden können. Obwohl die Elementgehalte im Spurenbereich liegen, konnten alle vier verschiedenen Schichten identifiziert werden. Daher eignet sich das System auch zur Nachstellung komplexerer Proben, z. B. für die Tiefenkalibrierung.

4.5.3 Temperatureinflüsse auf gestapelte Proben

Für den Nachweis, dass die Herstellung von Multischichtsystemen, wie in Abschnitt 4.5.1 für Eisen gezeigt wurde, auch mit anderen Elementen möglich ist, wurden die Proben **h-I** und **h-II** hergestellt. Diese besitzen den gleichen Aufbau wie die Proben **e-I** und **e-II**, allerdings wurde Chrom anstelle von Eisen verwendet. Die für diese Proben gemessenen Tiefenprofile sind in Abb. 4.20 dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass die erhaltenen Messkurven nicht den gleichen Verlauf wie die in Abb. 4.16 gezeigten Signale des Eisens aufweisen. Stattdessen befindet sich in den beiden eigentlich chromfreien Schichten der Probe **h-I** (Abb. 4.20 (oben)) eine ungleichmäßige Menge Chrom. Diese ist jeweils in der Nähe der nächst tieferen chromhaltigen Schicht höher und fällt über den eigentlich chromfreien Bereich langsam ab. Innerhalb der jeweiligen chromhaltigen Schichten weist die Verteilung auch innerhalb des Tiefenprofils keine offensichtlichen Inhomogenitäten auf. Auch die Tiefenprofile der Probe **h-II** weisen einen anderen Verlauf als die der äquivalenten Eisenproben **e-II** auf. Während sich zwischen zwei eisenhaltigen Schichten ein Intensitätsmaximum befindet, gibt es zwischen zwei chromhaltigen Schichten ein Intensitätsminimum.

Besonders der Verlauf des Tiefenprofils der Probe **h-I** weist darauf hin, dass ein Teil des Chroms aus einer Schicht in die nächste darüberliegende Schicht (weiter links im Diagramm)

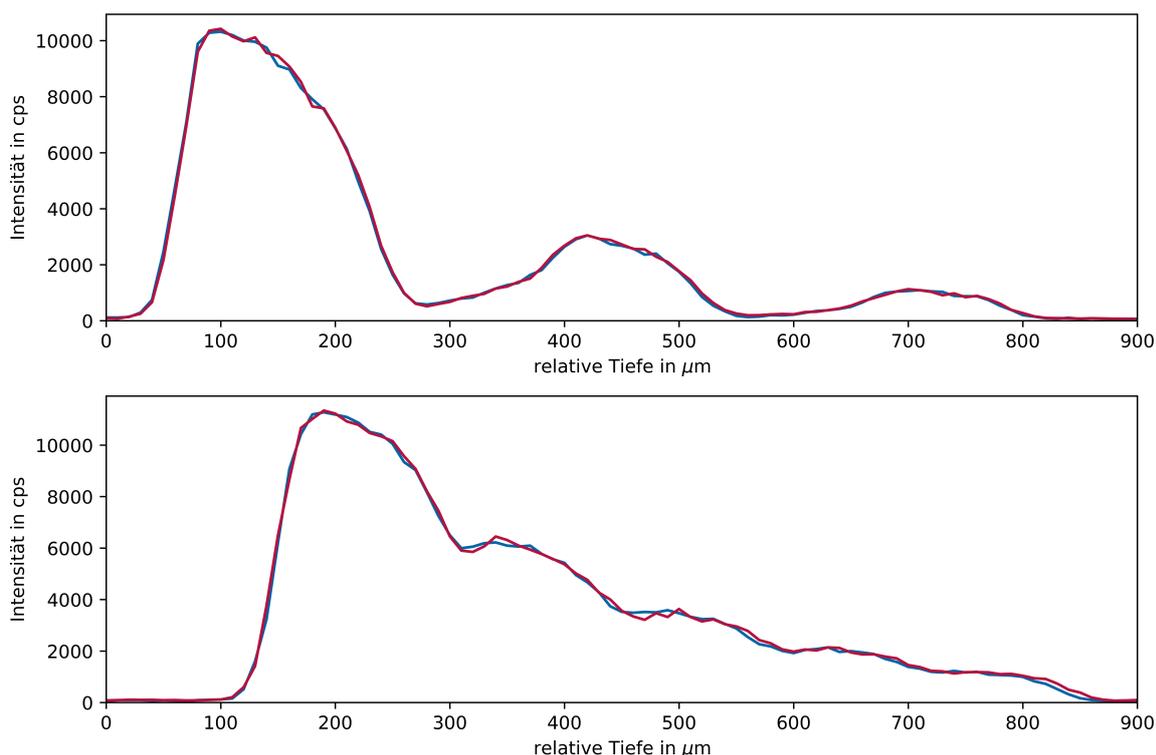


Abb. 4.20: Tiefenprofile der Proben h-I (oben) und h-II (unten) anhand der Cr-K-Fluoreszenzlinien. Es wurden je zwei Positionen mit $C_{\mu}RFA$ gemessen.

übergegangen ist, weil in der ursprünglich chromfreien Schicht ein Gradient in diese Richtung erkennbar ist. Dieses Verhalten würde auch erklären, warum am Übergang von zwei chromhaltigen Schichten ein Intensitätsminimum auftritt. Durch den Übergang von einem Teil des Chroms in die nächste Schicht würde dieses besonders im Grenzbereich der ersten Schicht fehlen und somit zu einem Intensitätsminimum führen.

Als Ursache für dieses Verhalten soll der Einfluss der Temperatur untersucht werden, weil sowohl das $Fe(acac)_3$ als auch das $Cr(acac)_3$ sowie die resultierenden Lackschichten farbig sind. Die Eisenschichten sind intensiv rotbraun, während die chromhaltigen Schichten leicht violett sind. Daher besteht die Möglichkeit, dass diese sich während der Bestrahlung mit UV-Licht zusätzlich aufheizen und durch die erhöhte Temperatur die beobachteten Inhomogenitäten im Tiefenprofil verursacht werden. Die verwendeten Acetylacetonate beginnen ab Temperaturen von ca. $110\text{ }^{\circ}C$ zu sublimieren. Punktueller Aufheizen der Schichten könnte deswegen zur Änderung der Elementverteilung innerhalb der Schicht führen. Neben den Acetylacetonatkomplexen könnten durch Austausch der Liganden in der flüssigen Basislacklösung auch andere Komplexe entstehen, welche flüchtig sein könnten und deswegen zur beobachteten Elementverteilung führen.

Für die Überprüfung dieser These wurden verschiedene Zweischichtproben hergestellt, wobei die Temperatur während der Herstellung verändert wurde. Für alle Proben i wurde als Erstes eine eisen- und chromhaltige Lackschicht ausgehärtet. Auf diese wurde eine weite-

re Schicht ohne zusätzliche Elemente aufgebracht und ausgehärtet. Anschließend wurden C_{μ} RFA-Tiefenprofile aufgenommen.

Bei der Herstellung der Probe i-I wurde die Glasplatte während der Polymerisation in der UV-Kammer auf Eis gelegt, sodass durch das Eis das Aufheizen der Schicht vermieden werden sollte. Das für diese Probe gemessene Tiefenprofil ist in Abb. 4.21 (links) dargestellt und zeigt das bereits für die Proben h-I und h-II beobachtete Verhalten. In der eigentlich chromfreien Schicht konnte Chrom detektiert werden, wobei der Gehalt im Bereich nahe der ersten Schicht am höchsten ist und dann über den Verlauf der zweiten Schicht abnimmt. Deswegen muss geschlossen werden, dass die Kühlung der Probe mit Eis in diesem Fall zu keiner Besserung geführt hat. Die Ursache dafür könnte zum einen sein, dass die Temperatur während der Polymerisation keinen Einfluss hat, oder zum anderen dass aufgrund der Isolierfähigkeit der Glasplatte die Kühlung bzw. die Wärmeübertragung nicht ausreichend war. Deswegen wurde die Probe i-II auf einer Metallplatte anstelle einer Glasplatte hergestellt und ebenfalls während der Zeit in der UV-Kammer mit Eis gekühlt. Auf diese Weise wird eine bessere Wärmeübertragung von der Lackschicht zum Eis ermöglicht.

In Abb. 4.21 (zweite von links) ist das für diese Probe erhaltene Tiefenprofil dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass es nur ein minimal erhöhtes Chromsignal im Grenzbereich gibt, aber sonst kein Chrom in die zweite Schicht übergegangen ist. Somit konnte gezeigt werden, dass der Übergang des Chroms aus einer bereits ausgehärteten Schicht in die darüber aufgebraute flüssige Schicht temperaturabhängig ist. Durch Wärmeabführung aus der Schicht während der Polymerisation kann dieses Verhalten weitestgehend verhindert werden.

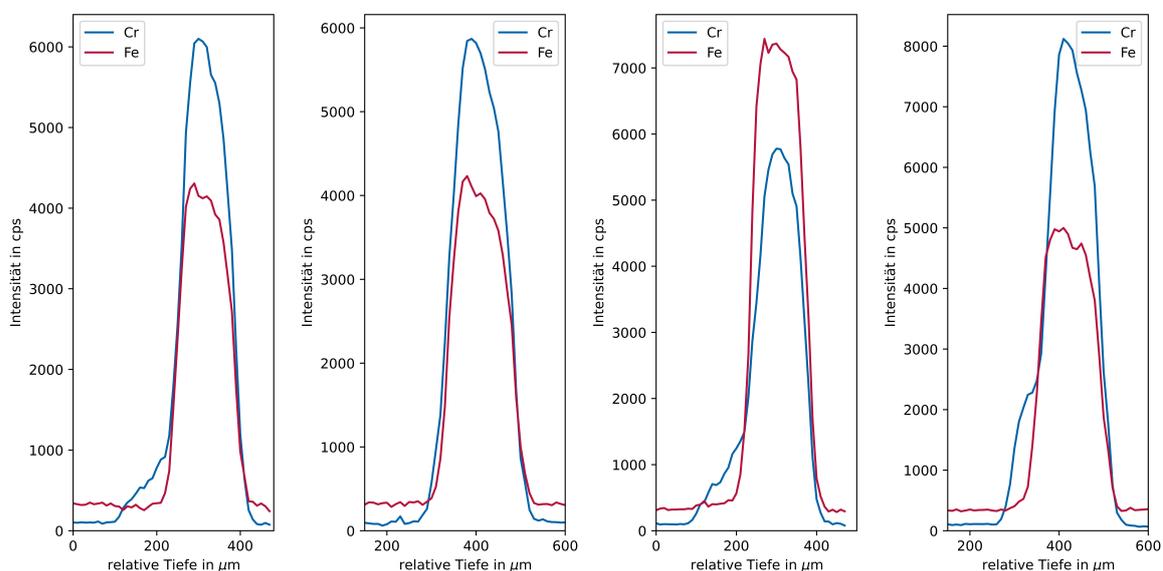


Abb. 4.21: C_{μ} RFA-Tiefenprofile der Proben i-I (links), i-II (zweite von links), i-III (dritte von links) und i-IV (rechts) für die Überprüfung der Temperaturempfindlichkeit der Cr- und Fe-haltigen Proben.

In Abb. 4.21 (dritte von links) ist das Tiefenprofil der Probe i-III dargestellt, welche ebenfalls ein Zweischichtsystem ist und ohne Kühlen oder Heizen hergestellt wurde. In der metallhaltigen Schicht wurden jeweils $1000 \frac{mg}{kg}$ Fe und Cr verwendet. Es lässt sich erkennen, dass das Cr in die darüber aufgebraute Schicht übergegangen ist, während das Eisen auch bei dem gleichen Gehalt in der ursprünglichen Schicht verbleibt. In Abb. 4.21 (rechts) ist das Tiefen-

profil der Probe i-IV dargestellt. Bei der Herstellung dieser Probe wurde die erste Schicht auf die Glasplatte aufgebracht und ausgehärtet. Anschließend wurde Basislack ohne zusätzliche Elemente auf diese Schicht aufgebracht. Während der Ruhezeit, in der die neue Schicht verlaufen gelassen wird, wurde diese Probe auf eine Heizplatte bei 75 °C gelegt. Anschließend wurde auch die zweite Schicht ausgehärtet. Aus dem Tiefenprofil lässt sich erkennen, dass beim Erhitzen der Probe während der Herstellung mehr Chrom in die zweite Schicht übergeht, was ein weiterer Hinweis auf die Temperaturabhängigkeit ist. Die Verteilung des Eisens ist in diesem Fall kaum beeinflusst worden. Es lässt sich jedoch feststellen, dass das Erwärmen und Kühlen der Proben während der Herstellung einen Einfluss auf die Schichtdicke hat. Während Schichten, bei denen die Probe gekühlt wurde, etwas dicker sind, sind die erwärmten Schichten dünner. Die Ursache hierfür ist die Temperaturabhängigkeit der Lackviskosität. Beim Kühlen friert der Lack teilweise ein und läuft daher weniger breit. Beim Erwärmen hingegen wird der Lack flüssiger und fließt breiter, sodass dünnere Schichten nach dem Polymerisieren erhalten werden.

Zusätzlich zur Analyse der eisen- und chromhaltigen Schichten sollte auch untersucht werden, ob das Verhalten weiterer Elemente stark von den bei der Herstellung der Lackschichten verwendeten Temperaturen abhängig ist. Dafür wurden die anderen beiden bereits bisher verwendeten Elemente der vierten Periode ausgewählt. Es wurden jeweils für Zink und Kobalt drei Schichtsysteme hergestellt. Wie bereits für Chrom wurde eine Probe auf der Metallplatte hergestellt und gekühlt, eine weitere ohne Beeinflussung der Temperatur und die dritte durch Erhitzen der Probe auf einer Heizplatte während der Ruheperiode der zweiten Schicht (Blank-schicht). Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Abb. 4.22 dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass bei Raumtemperatur bei beiden Elementen kein Übergang in die zweite Schicht stattgefunden hat. Gleiches gilt bei den gekühlten Proben. Allerdings ist die Schichtdicke bei der zinkhaltigen Schicht insgesamt deutlich größer. Dies ist, wie bereits beschrieben, auf das Einfrieren der Lacklösung während der Ruhephase zurückzuführen.

Beim Erwärmen der Proben ist bei beiden Elementen ein leichter Übergang in die darüberliegende Schicht erkennbar, wobei dies für die Zinkprobe deutlich ausgeprägter ist. Allerdings kann gesagt werden, dass die normale Herstellungsroutine ohne Heizen für diese Proben mit den verwendeten Gehalten unproblematisch ist. Während der Lagerung der Lackschichtenproben sollten diese jedoch möglichst keinen erhöhten Temperaturen ausgesetzt werden. Abhängig vom verwendeten Element besteht die Möglichkeit, dass kleinere Mengen der metallhaltigen Verbindungen aus der Probe austreten können, was zur Verfälschung der vorher bestimmten Elementgehalte führen könnte. Dieses Verhalten weist zudem darauf hin, dass bei den getesteten Gehalten zumindest kleine Anteile der elementhaltigen Verbindungen nicht fest in das Polymer eingebunden sind. Dabei kann es sich neben den verwendeten Acetylacetonaten auch um Verbindungen handeln, welche durch Ligandenaustausch in der flüssigen Lacklösung gebildet wurden.

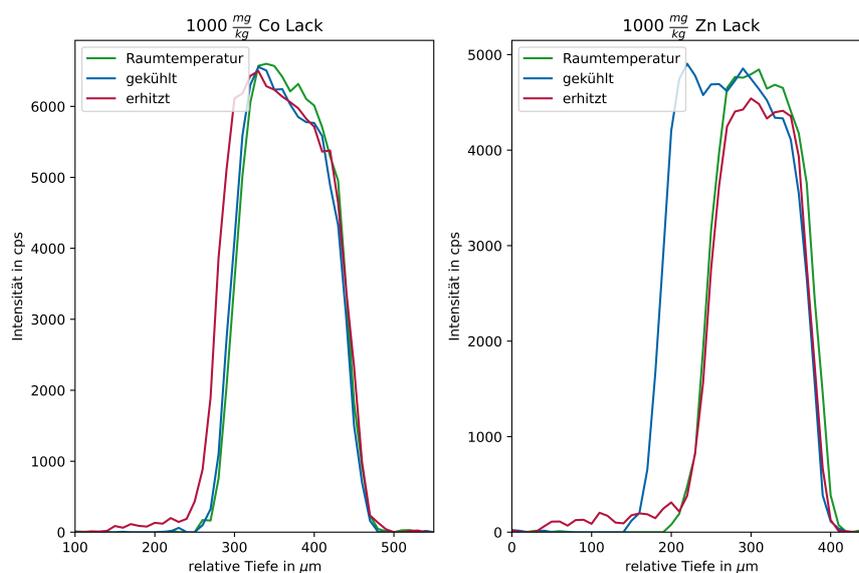


Abb. 4.22: Vergleich von Co- und Zn-haltigen Proben, die während der Herstellung jeweils verschiedenen Temperaturen ausgesetzt wurden. Bestimmt durch Tiefenprofile mit C μ RFA anhand der K-Fluoreszenzlinien.

4.5.3.1 Temperatureinfluss auf die Eisenverteilung

Nachdem gezeigt werden konnte, dass die Migration des Chroms in darüberliegende Schichten temperaturabhängig ist, sollte überprüft werden, ob dies auch für die Eisenverteilung im Tiefenprofil der Fall ist. Dafür wurde eine Probe äquivalent zu c-2000 hergestellt. Diese wurde jedoch auf eine Metallplatte gerakelt. Während der Polymerisation in der UV-Kammer wurde diese Platte mit Eis gekühlt. Obwohl diese Probe, genau wie c-2000, stark farbig (rotbraun) ist, war die Polymerisation bereits nach 15 min abgeschlossen.

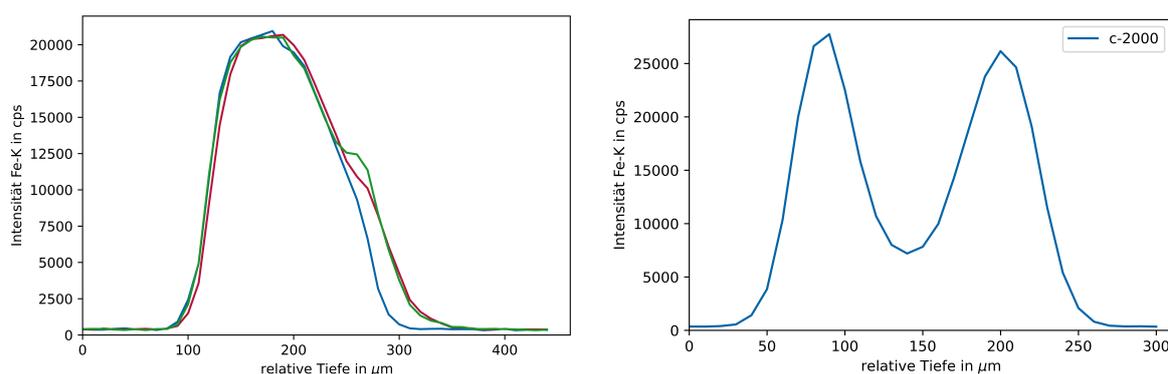


Abb. 4.23: Links: Tiefenprofile der gekühlten 2000 $\frac{mg}{kg}$ Fe-Lackschicht gemessen mit C μ RFA an drei verschiedenen Positionen. Rechts: Tiefenprofil der ungekühlten 2000 $\frac{mg}{kg}$ Fe-Lackschicht (c-2000) gemessen mit C μ RFA wie bereits in Abb. 4.14 dargestellt.

In Abb. 4.23 (links) ist das mittels C μ RFA gemessene Tiefenprofil dieser Probe dargestellt. Es wurde eine Dreifachbestimmung an verschiedenen Punkten der Probe durchgeführt. Im Vergleich zum rechts in der Abbildung dargestellten Tiefenprofil der Probe c-2000 ist die Eisenverteilung in der gekühlten Probe wesentlich gleichmäßiger. Im mittleren Bereich der

Schicht ist kein Minimum des Eisengehaltes vorhanden. Daraus kann geschlossen werden, dass die zuvor festgestellten Probleme, die bei höheren Eisengehalten der Proben aufgetreten sind, temperaturabhängig sind. Aufgrund der intensiveren Färbung der Schichten kommt es vermutlich zu einer stärkeren Aufheizung, wodurch sich das Eisenacetylacetonat aus dem Inneren der Probe in die (vermutlich kühleren) Randbereiche bewegt. Aufgrund dessen, dass die UV-Kammer geschlossen ist, kann die Temperatur in der Kammer bzw. der Schicht nicht ohne Weiteres bestimmt werden. Allerdings konnte durch Abführen der Wärme durch die eisgekühlte Metallplatte eine deutliche Verbesserung der Eisenverteilung im Tiefenprofil der Schicht erzielt werden. Es ist jedoch auch zu erkennen, dass die drei an dieser Probe aufgenommenen Tiefenprofile nicht identisch sind. Stattdessen gibt es eine Schulter und Abweichungen in der Schichtdicke zwischen den Proben. Die Ursache hierfür ist, dass durch die Eiskühlung die flüssige Lackmischung etwas an die Metallplatte angefroren ist. Daher sind die Schichtdicken zwischen den verschiedenen Probenpositionen etwas unterschiedlich. Außerdem könnte durch das Kühlen auch die Löslichkeit des Eisenacetylacetonats im Lack gesunken sein, wodurch der Bereich an der Metallplatte einen etwas geringeren Eisengehalt aufweist. Für die ideale Präparation einer solchen Probe müsste daher die Kühlung optimiert werden, sodass die Wärme effizient abgeführt wird, jedoch nicht so stark, dass es zum Erstarren der Lackmischung aufgrund der Kälte kommt.

4.6 Zusammenfassung

Insgesamt lässt sich sagen, dass die in diesem Kapitel vorgestellte Methode für die Herstellung von Referenzmaterialien auf Polymerbasis unter Verwendung von Metallacetylacetonaten ein sehr vielversprechender Ansatz ist. Zum einen ist die in diesem Kapitel erläuterte Methode wesentlich günstiger und schneller als die zuvor angewendete Vorgehensweise. Zum anderen kann durch die Verwendung der Metallacetylacetonate der Nachteil beseitigt werden, dass sich verschiedene Komplexbildner gegenseitig stören und auf diese Weise zu Inhomogenitäten führen. Metallacetylacetonate sind für sehr viele Elemente bekannt und in diesem Kapitel wurde die Anwendung einer Vielzahl untersucht. Die dabei erhaltenen Lackschichten weisen überwiegend eine hervorragende Homogenität der Elementverteilung auf.

Zudem konnte erfolgreich eine beispielhafte Kalibrierreihe, welche verschiedene Eisengehalte aufweist, hergestellt werden. Die Kalibrierproben wurden mit verschiedenen festkörperanalytischen Methoden untersucht und es konnte gezeigt werden, dass die hergestellten Proben sich, mit Ausnahme der Probe mit dem höchsten Eisengehalt, gut für die Erstellung einer Kalibriergerade eignen.

Anhand der Tiefenprofile der Proben konnte festgestellt werden, dass die hohen Abweichungen der Lackschicht mit dem höchsten Eisengehalt auf Inhomogenitäten der Eisenverteilung innerhalb der Schicht zurückzuführen sind, welche bei vergleichsweise hohen Gehalten auftreten.

Weiterhin konnten Multischichtsysteme erzeugt werden, was durch die neue Herstellungsroutine begünstigt wurde, da kein Öl mehr verwendet werden muss und deshalb mehrere Schichten sehr gut zusammenhalten. Mit einer Probe, die aus elf Schichten besteht, konnte

die Eignung dieser Multischichtsysteme für die tiefenaufgelöste Analytik gezeigt werden, da sich alle sechs Eisenschichten bis zur maximal möglichen Analysentiefe des verwendeten Gerätes nachweisen ließen.

Bei der Herstellung der Multischichtsysteme wurden jedoch auch Probleme mit der Elementverteilung über die Schichten festgestellt. Es konnte gezeigt werden, dass diese sich auf das Aufheizen der Schichten während der Polymerisation zurückführen lassen und dass diese Probleme vermieden werden können, wenn die Probe während der Herstellung gekühlt wird. Durch die Kühlung der Probe kann ebenfalls verhindert werden, dass die Proben mit höherem Eisengehalt eine inhomogene Eisenverteilung über das Tiefenprofil aufweisen.

5 Einfluss verschiedener Messparameter auf das Ergebnis der LA-ICP-MS-Analysen

In diesem Kapitel soll auf den Einfluss der Analyseparameter bei den LA-ICP-MS-Experimenten eingegangen werden. Zunächst erfolgt eine kurze Zusammenfassung der aus der Literatur bekannten Zusammenhänge. Anschließend wird deren systematische Untersuchung für den vorhandenen Aufbau vorgestellt. Abschließend wird anhand der Referenzmaterialien auf Polymerbasis darauf eingegangen, welchen Einfluss das Zusammenspiel von Einstellungen und Probe auf auftretende Messfehler haben kann.

5.1 Hinführung zum Thema

LA-ICP-MS ist eine vielseitige Analysemethode, welche für die Bestimmung der Element- bzw. Isotopenverteilung z. B. in medizinischen oder pflanzlichen Proben eingesetzt werden kann. In Abschnitt 3.1 wurde dargestellt, wie wichtig die Einstellung geeigneter Parameter während der LA-ICP-MS-Messungen ist. Diese sind aber nicht allgemein tabellierbar und müssen abhängig von Gerät und Probe optimiert werden. Zudem ist der Einfluss der Geräteparameter in der Literatur nur wenig beschrieben und die Optimierung wird in der Regel lediglich mit dem Ziel, möglichst hohe Signalintensitäten zu erhalten, durchgeführt. Allerdings ist es besonders für die Erzielung einer guten Ortsauflösung wichtig, dass auch Effekte wie die Austragszeit des Materials aus der Ablationskammer („wash out time“) bekannt sind. Durch sehr lange Austragszeiten wird bereits viel früher ablatiertes Material erst zu einem späteren Zeitpunkt detektiert und somit das ermittelte Signal einem anderen Probenbereich fälschlicherweise zugeschrieben. Des Weiteren ist auch die Größe des Bereiches um die Ablationsstelle interessant, in dem sich bereits ablatiertes Material ablagert. Anhand dieses Wertes kann festgelegt werden wie nah verschiedene Ablationsstellen zusammen liegen können, ohne dass die Messung der Zusammensetzung an der zweiten Position durch Material von der ersten Messstelle beeinträchtigt wird. Diese für die erzielbare Ortsauflösung relevante Information ist stark vom untersuchten Material abhängig und kann deshalb nicht verallgemeinert werden. [6, 7, 24, 29]

Daher sollen hier Untersuchungen zum Einfluss einiger Geräteparameter des verwendeten LA-ICP-MS-Systems vorgestellt werden. Dabei wird sowohl auf die erzielbare Signalintensität, als auch auf die Geschwindigkeit des Austrages des Probenmaterials aus der Ablationskammer Wert gelegt. Abschließend wird der von der Ablation beeinflusste Bereich anhand der bereits vorgestellten Referenzmaterialien auf Polymerbasis untersucht.

5.2 Einfluss auf die Gesamtintensität

Das verwendete LA-ICP-MS-Gerät weist zwei verschiedene Gasströme für die Laserablation auf. Durch die Ablationskammer wird ein Heliumstrom geführt (vgl. Abb. 3.2), nach der Ablationskammer wird mithilfe eines Y-Stücks zusätzlich Argon eingeleitet (vgl. Abb. 5.1). Beide Gasströme können unabhängig voneinander im Bereich von 0 bis $1000 \frac{\text{mL}}{\text{min}}$ eingestellt werden, wobei ein Heliumgasstrom von $0 \frac{\text{mL}}{\text{min}}$ nicht sinnvoll ist, weil dann kein Material aus der Ablationskammer transportiert wird und deshalb kein Analyt detektiert werden kann.

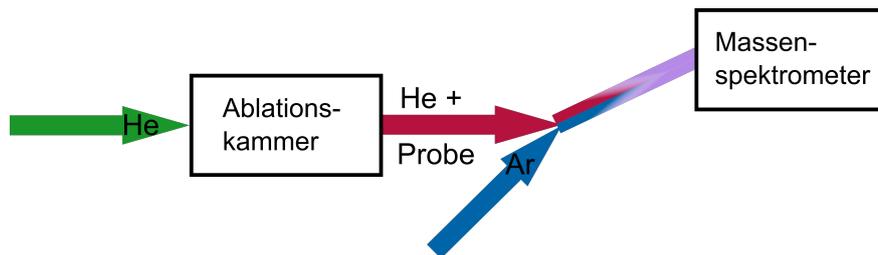


Abb. 5.1: Vereinfachte Darstellung der für die Laserablation verwendeten Gasströme.

5.2.1 Gasflussgeschwindigkeiten

Ziel der in diesem Kapitel beschriebenen Versuche ist es einen Überblick über den Einfluss der beiden Gasströme auf die gemessene Intensität zu erhalten. Dabei soll sowohl der Gesamtgasstrom als auch das Verhältnis beider Gasströme verändert werden. Zusätzlich ist es möglich, dass das Optimum für eine möglichst hohe Intensität von der Masse des zu analysierenden Isotops abhängig ist.

Damit die Analyse möglichst vieler Isotope parallel durchgeführt werden kann, wurde für diese Messungen auf einen NIST 612 Glasstandard zurückgegriffen. Dieser enthält sehr viele Elemente im Bereich von $40 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$, sodass eine Auswahl verschiedener Isotopenmassen parallel untersucht werden kann. Es wurden ${}^7\text{Li}^+$, ${}^{11}\text{B}^+$, ${}^{24}\text{Mg}^+$, ${}^{55}\text{Mn}^+$, ${}^{60}\text{Ni}^+$, ${}^{75}\text{As}^+$, ${}^{88}\text{Sr}^+$, ${}^{107}\text{Ag}^+$, ${}^{114}\text{Cd}^+$, ${}^{121}\text{Sb}^+$, ${}^{138}\text{Ba}^+$, ${}^{197}\text{Au}^+$ und ${}^{209}\text{Bi}^+$ untersucht. Die verwendete Spotgröße von $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ wurde an die der μRFA angenähert, damit für spätere Messungen Vergleiche leichter möglich sind. Mit einer Laserenergie von 50 % der maximalen Laserleistung und einer Pulsrate von 20 Hz wurden jeweils zwei Linien mit einer Länge von 2,4 mm pro Gasflusseinstellung mit einer Geschwindigkeit von $40 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$ gemessen. Die Schussrate wurde auf den maximal möglichen Wert gesetzt, damit ein möglichst konstantes Signal erhalten wird. Alle übrigen Parameter entsprechen den in Tab. A.3 angegebenen Werten. [100]

Die Messungen wurden als Linienmessungen durchgeführt, wobei die Datenaufnahmerate des Massenspektrometers nicht der Pulsrate entspricht, sondern von der Scangeschwindigkeit des Quadrupols abhängt. Für die verwendete Menge an Isotopen resultiert eine wesentlich langsamere Datenaufnahmerate, weil für jedes Isotop 10 ms Passierzeit durch den Quadrupolmassenfilter („dwell time“), sowie 10 ms Abstand zwischen zwei Isotopen gebraucht

werden. Damit werden bei 13 Isotopen etwa zwei Messpunkte pro Sekunde und Isotop erhalten. Neben den erwünschten Messpunkten werden auch für jede Linie noch einige Punkte vor Beginn und nach dem Ende der Ablation aufgenommen. Das Einlesen der Daten, die Korrektur der Datenstruktur sowie das Entfernen von Messpunkten, die nicht während der Ablation aufgenommen wurden, wurden mithilfe von selbst erstellten Auswerteskripten durchgeführt. Diese sind in Kapitel 6 genauer erklärt. Von dem Signal, welches während der Ablation erhalten wurde, wurde der Medianwert der Intensitäten aus beiden Linien berechnet. Dieser wurde anstelle des Mittelwertes ausgewählt, weil mit dem verwendeten Nanosekundenlaser, wie in Abschnitt 3.1.2 beschrieben, leicht einzelne sehr intensive Signale auftreten können. Bei der Berechnung des Mittelwertes hätten diese wenigen Signale einen sehr starken Einfluss auf das Ergebnis. Die Verwendung des Medians ist in dieser Hinsicht robuster.

Je Isotop wurden die Werte über die erhaltenen maximalen Intensitäten normiert, sodass diese leichter vergleichbar sind. Beispielhaft sind in Abb. 5.2 die auf diese Weise normierten Intensitäten der Isotope $^{24}\text{Mg}^+$, $^{88}\text{Sr}^+$ und $^{197}\text{Au}^+$ dargestellt. Die Intensitäten der übrigen Isotope bei den verschiedenen Gasströmen sind in Abb. A.5 dargestellt.

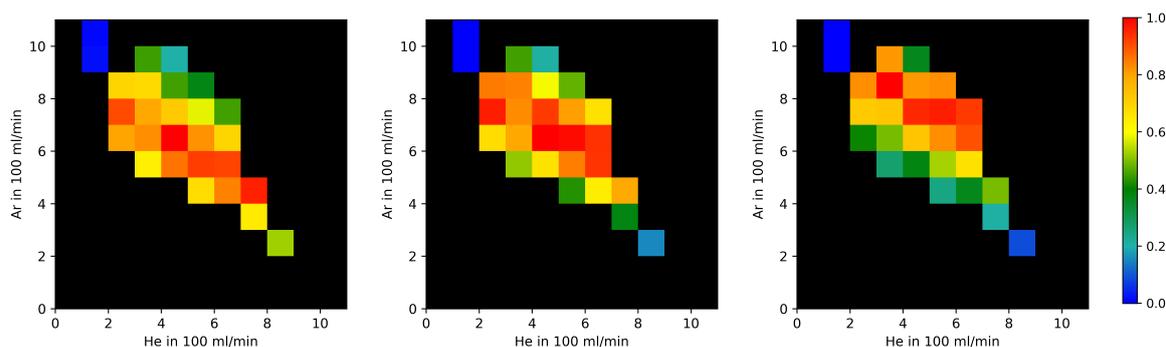


Abb. 5.2: Normierte Intensitäten der Isotope $^{24}\text{Mg}^+$ (links), $^{88}\text{Sr}^+$ (Mitte) und $^{197}\text{Au}^+$ (rechts) für verschiedene Argon- und Heliumgasströme, die an einem NIST 612 Glasstandard (vgl. Tab. A.7) gemessen wurden. Nicht gemessene Bereiche sind schwarz dargestellt.

Die meisten Messungen wurden bei einem Gesamtgasstrom von $1000 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ und angrenzend durchgeführt, weil das Injektorrohr auf diesen Durchfluss optimiert ist. Mit dem Gesamtgasstrom wird die Aufenthaltsdauer im Plasma beeinflusst. Je höher der Gasstrom, desto kürzer ist die Verweilzeit und desto kleiner die Ionisierungsrate. Diese hängt zudem aber auch vom Ionisierungspotential des Isotopes ab und kann auch durch den Anteil des Heliums im Plasma noch verändert werden. Außerdem wird das Transportverhalten aus der Probenkammer zum Plasma durch die beiden Gasströme beeinflusst, wobei Argon die besseren Eigenschaften für den Partikeltransport besitzt. Weiterhin hat der Heliumgasstrom Auswirkungen auf die Ablation des Probenmaterials. In der Literatur wurde die Theorie aufgestellt, dass die resultierenden Partikel desto größer sind, je langsamer der Gasstrom ist. [15, 24, 39]

Es lässt sich erkennen, dass die Verhältnisse der Gasströme, bei denen jeweils die höchste Intensität erreicht wird, zwischen den Isotopen sehr verschieden sind. Insgesamt werden für die schweren Isotope etwas höhere Gasströme für größere Intensitäten benötigt, als dies bei den leichteren Isotopen der Fall ist. Bei den leichteren Isotopen führen höhere Gasströme zu

schlechteren Intensitäten. Dies lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass schwere Isotope einen höheren Gasstrom benötigen, um gegen die Gravitation effizient transportiert zu werden. Hingegen könnte bei leichteren Isotopen die Ionisierungszeit im Plasma bei höheren Gasströmen zu kurz, oder der Übergang in das Massenspektrometer weniger effizient sein, weil leichtere Isotope dann anfälliger für ablenkende Raumladungseffekte sind. Anhand dieser Ergebnisse können die einzelnen maßgebenden Faktoren nicht mit Sicherheit identifiziert werden. Es wird jedoch deutlich, dass es keine idealen Gasstrombedingungen gibt, welche sich für die Messung aller Isotope gleichermaßen eignen. Deswegen muss, besonders wenn mehrere verschiedene Isotope gemeinsam gemessen werden, ein Kompromiss in den Bedingungen gefunden werden.

5.2.2 Beurteilung der Schussrate

Im vorherigen Kapitel wurde die Gesamtintensität untersucht, dabei wurde ein möglichst gleichmäßiger Partikelstrom durch eine sehr hohe Schussrate des Lasers (20 Hz, höchste Schussrate des verwendeten Gerätes) gewährleistet. Dies ist insbesondere dann sinnvoll, wenn eine homogene Probe ausreichender Schichtdicke untersucht werden soll. In diesem Fall muss ein Durchschuss der Probe nicht befürchtet werden, ebenso ist eine Vermischung verschiedener Probenbereiche mit abweichender Zusammensetzung ausgeschlossen. Für viele Messungen sind diese Bedingungen jedoch nicht gewährleistet. Daher sollte bestimmt werden, welche Schussrate für ein konstantes Messsignal bzw. einen gleichmäßigen Partikelstrom nötig ist.

Nach der von Bode beschriebenen Vorgehensweise wurde eine Lackschicht hergestellt, welche $50 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Mangan enthält. Diese wurde mit einer $200 \mu\text{m}$ Rakel auf eine Folie appliziert. Die dabei erhaltene Schichtdicke der Probe ist groß genug, damit ein Durchschuss ausgeschlossen ist. [122]

Auf dieser Probe wurde zunächst eine Linienmessung mit einer Schussrate von 1 Hz, die niedrigste mögliche Schussrate des Gerätes, durchgeführt. Das dabei erhaltene Mangan-Signal ist in Abb. 5.3 dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass jeder Materialabtrag durch einen Laserschuss zeitlich weit genug von den übrigen entfernt liegt, damit jeder einzeln im resultierenden Mn-Signal sichtbar und gut getrennt ist. Allerdings sind alle erkennbaren Signale deutlich verrauscht.

Anhand dieser Messung wurde der Signalverlauf bei höheren Schussraten hochgerechnet. Dafür wurde das Messsignal bei 1 Hz zunächst mit einem Savitzky-Golay-Filter mit einer Schrittweite von neun geglättet. Anschließend wurde der Mittelwert aus zehn einzelnen Signalen berechnet, damit ein ansatzweise idealer Verlauf des Messsignals erhalten wird. Dieses besteht aus 100 einzelnen Datenpunkten und deckt die Zeitspanne von einer Sekunde ab. Für eine bessere Übersichtlichkeit werden mehrere dieser Signale nebeneinander dargestellt (vgl. Abb. 5.4).

Der theoretische Verlauf einer Messung bei 2 Hz wurde erhalten, indem die Intensitäten des idealen Verlaufs bei 1 Hz mit dem um die Hälfte der Zeit versetzten Signalverlauf addiert wurden. Für die übrigen berechneten Signalverläufe wurde äquivalent vorgegangen. Es lässt sich erkennen, dass bereits der berechnete Verlauf bei 2 Hz nicht mehr die Basislinie erreicht,

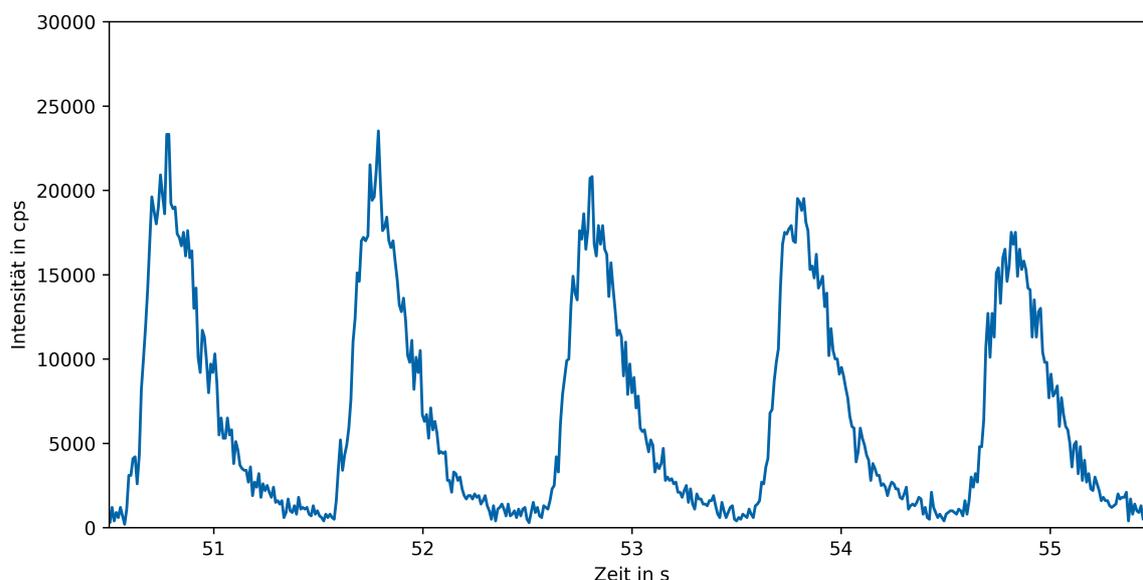


Abb. 5.3: ^{55}Mn -Signal einer LA-ICP-MS-Messung bei 1 Hz Schussrate, $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Ar-Gasstrom, $300 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He-Gasstrom und einer Messfleckgröße von $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$.

obwohl die einzelnen Signale durch die Laserschüsse noch gut identifizierbar sind. Mit jeder Steigerung der Schussrate steigt die Gesamtintensität an, weil bei mehr Laserschüssen in der gleichen Zeit eine insgesamt größere Probenmenge ablatiert wird. Dennoch kann bei den theoretischen Daten bei einer Schussrate von 5 Hz noch jeder Laserschuss erkannt werden. Erst bei 10 Hz ist das theoretische Signal so gleichmäßig, dass von einem konstanten Partikelstrom ausgegangen werden kann. Außerdem ist auch die Intensität wesentlich höher als das Maximum bei einer Schussrate von 1 Hz. Daher kann eine erhöhte Schussrate auch zur Verbesserung der Intensität genutzt werden.

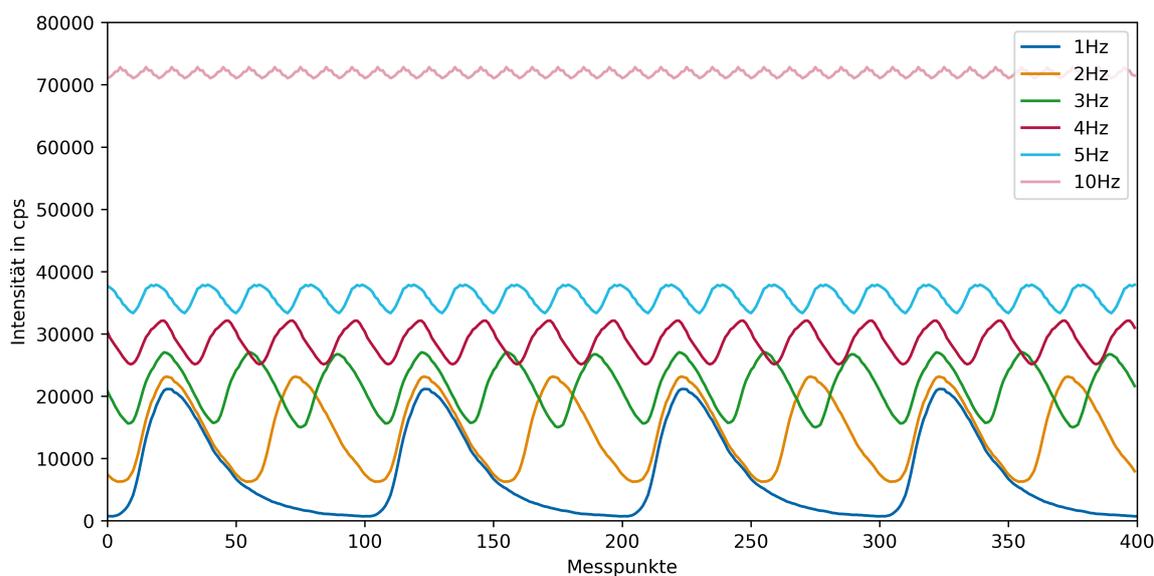


Abb. 5.4: Theoretische Hochrechnung des gemessenen Mn-Signals bei verschiedenen Schussraten. Grundlage ist die Messung bei 1 Hz, $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Ar-Gasstrom und $300 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He-Gasstrom (vgl. Abb. 5.3).

In Abb. 5.5 sind die realen Messdaten bei ein bis vier Laserschüssen pro Sekunde dargestellt.

Im Vergleich zu den theoretisch berechneten Daten fällt auf, dass die Messung bei 2 Hz noch sehr ähnlich der berechneten ist, jedoch bei 4 Hz keine deutliche Unterscheidung der einzelnen Maxima mehr möglich ist. Zwar ist das hierbei erhaltene Signal noch nicht vollständig konstant, da noch einzelne Maxima auffallen, im Gegensatz zu den theoretischen Daten sind diese jedoch nicht mehr regelmäßig vorhanden. Die Ursache hierfür ist eine stärkere Vermischung der einzelnen Probenportionen während des Transportes. Dies kann beispielsweise durch Turbulenzen, die besonders leicht beim Austritt aus der Ablationskammer oder beim Zumischen des Transportgases auftreten, verursacht werden. Deswegen ist es wichtig, die Einschätzung anhand der tatsächlichen Messergebnisse durchzuführen. Die Einstellung von 3 Hz Ablationsrate ist gerätebedingt nicht möglich.

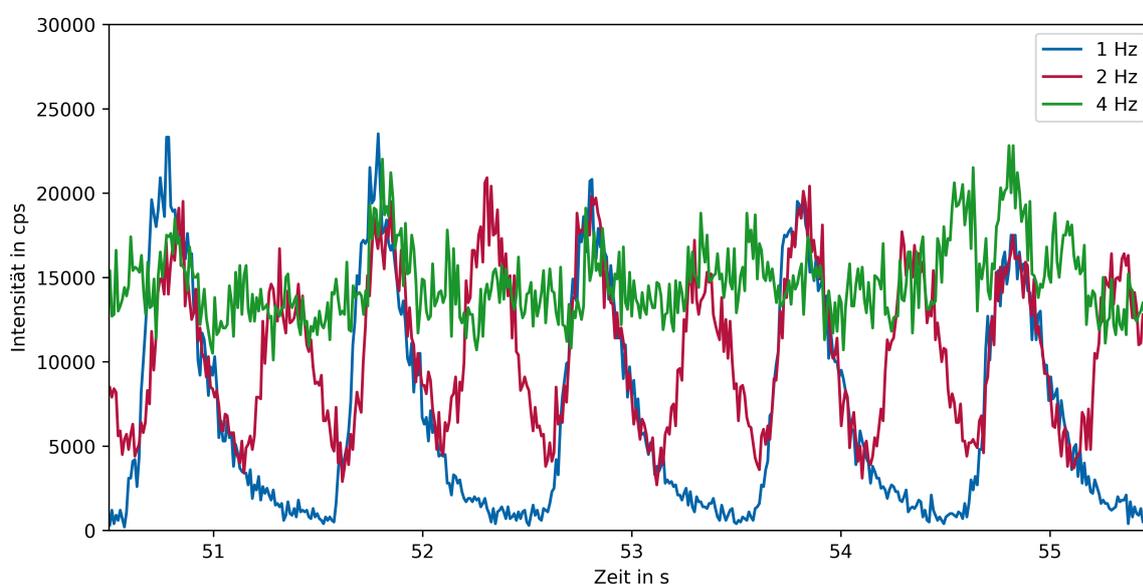


Abb. 5.5: Vergleich der LA-ICP-MS-Messungen (^{55}Mn) mit 1, 2 und 4 Hz Schussrate.

5.3 Einfluss auf das Austragsverhalten

Wie bereits in Abschnitt 5.2.1 aufgezeigt, haben die Gasströme einen hohen Einfluss auf das Messsignal bzw. die Gesamtintensität. Für Analysen von nicht homogenen Proben ist jedoch nicht nur die Gesamtintensität relevant, sondern auch Empfindlichkeit gegenüber Änderungen im Elementgehalt. Das heißt, es ist wichtig, dass das Material von der Ablation möglichst schnell und besonders ohne starke Vermischung mit dem später ablatierten Partikeln transportiert wird. Anhand des Messsignals bei 1 Hz Laserschussrate kann das Austragsverhalten aus der Ablationskammer sowie der Transport zum Massenspektrometer beurteilt werden, weil von jedem Laserschuss ein eigener Peak im Messsignal erhalten wird. Durch Vergleichen verschiedener Peaks bei Messungen mit unterschiedlichen Parametern kann der Einfluss der jeweiligen Bedingungen auf das Auswaschverhalten beurteilt werden.

In Abb. 5.6 sind drei verschiedene LA-ICP-MS-Messungen von ^{55}Mn dargestellt: die bereits im vorherigen Kapitel gezeigte Messung bei $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Ar-Gasstrom und $300 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He-Gasstrom, sowie jeweils eine Messung bei $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ und $700 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He-Gasstrom. Dabei lässt sich erkennen,

dass bei einem größeren Heliumgasstrom die Peaks jeweils schmaler werden. Zudem ist die Maximalintensität bei dem kleinsten He-Gasstrom am niedrigsten, unterscheidet sich jedoch kaum zwischen den beiden anderen.

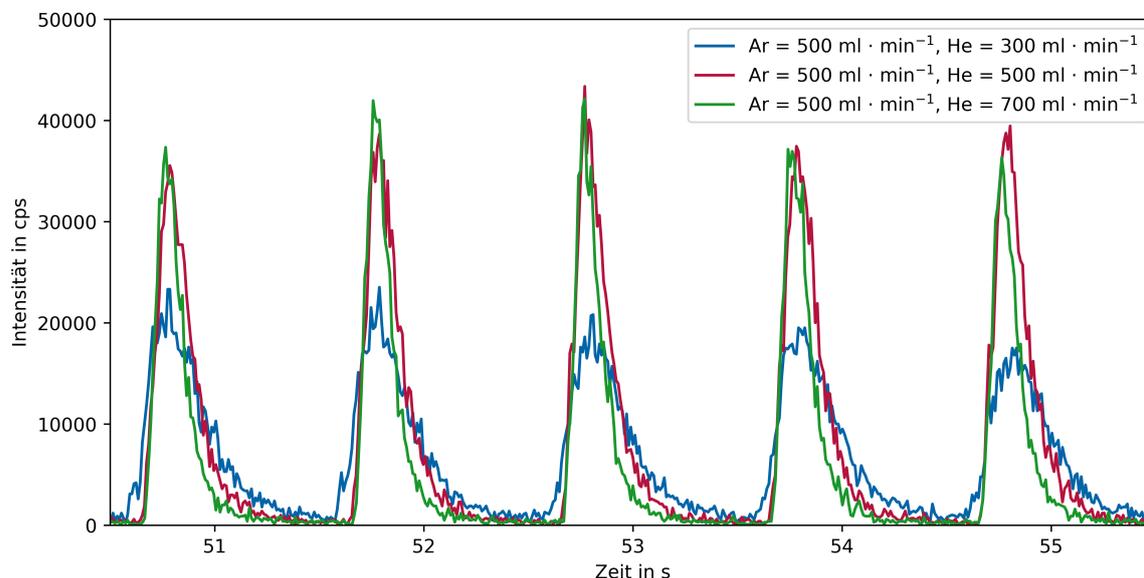


Abb. 5.6: Vergleich der LA-ICP-MS-Messungen (^{55}Mn) mit 300 bis 700 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He-Gasstrom.

5.3.1 Skript zur Auswertung der Peakform

Zur besseren Einschätzung der Geräteparameter auf das Auswaschverhalten bzw. auf die aus einem Laserschuss resultierende Peakform wurde auf die aus der Chromatografie bekannten Maße zurückgegriffen. Mithilfe der Programmiersprache Python wurde ein Skript erstellt (vgl. Skript A.1), welches die Daten einer mit 1 Hz Laserschussrate durchgeführten Messung hinsichtlich der Peakform auswertet. Dafür wurden die Daten mit einem Savitzky-Golay-Filter mit einer Schrittweite von sieben geglättet. Andernfalls würde das beispielsweise in Abb. 5.6 erkennbare Rauschen des Messsignals die weitere Auswertung zu stark behindern. Der Savitzky-Golay-Filter wird häufig in der Spektroskopie eingesetzt, weil durch die Wichtung der Anteile die Peakform und das Maximum erhalten bleibt. Im Gegensatz dazu würde z. B. mit der Berechnung des gleitenden Durchschnitts das Peakmaximum deutlich abgeflacht werden. [145] Nachdem die Messdaten geglättet wurden, erfolgte die Identifikation und Separation der einzelnen Peaks (vgl. Abb. 5.7 (links)). Anhand der Intensitäten der Peakflanken wird zunächst die Höhe der Basislinie berechnet und von allen Daten abgezogen, sodass diese sich anschließend bei einer Intensität von null befindet. Danach wird die Höhe und der Zeitpunkt des Peakmaximums bestimmt. Daraus lassen sich die Halbwertsintensität und die Intensität auf 10 % des Maximums berechnen. Aufgrund der begrenzten Anzahl an Messpunkten pro Peak existiert nicht exakt auf diesen Höhen ein Datenpunkt. Daher wurde numerisch der Zeitwert auf der entsprechenden Höhe berechnet (vgl. Abb. 5.7 (rechts)). Zusätzlich wurde die Fläche des Peaks oberhalb der 10 % Gesamthöhe berechnet. Die Fläche bis zur Basislinie konnte nicht verwendet werden, weil abhängig von den Parametern der Peak nicht auf beiden Seiten

exakt auf der Basislinie endet, sodass die 10 % Höhe ein robusteres Kriterium ist. Für jeden Peak einer Messung konnten anhand dieser Vorgehensweise folgende Daten erhalten werden: Intensität des Peakmaximums, Fläche über 10 % Peakhöhe, Halbwertsbreite, Asymmetrie auf halber Höhe ($\frac{\text{Strecke der rechten Flanke}}{\text{Strecke der linken Flanke}}$), Breite auf 10 % der Peakhöhe und Asymmetrie auf 10 %. Pro Messung wird hierbei jeweils der Medianwert verwendet, weil der Mittelwert zu stark von zufälligen Ausreißern beeinträchtigt wird, da die Peakform sich bereits bei einem deutlich abweichenden Punkt wesentlich verändert.

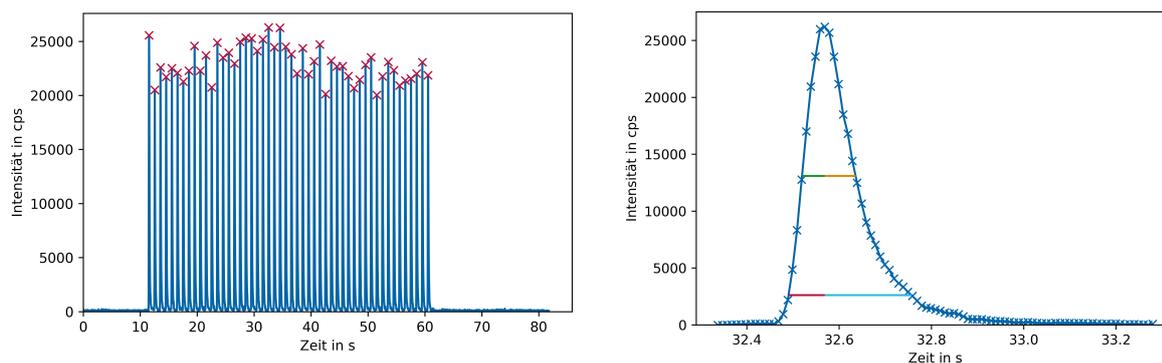


Abb. 5.7: Messung des ^{24}Mg -Signals bei einer Schussrate von 1 Hz und einem Ar-Gasstrom von $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ und $900 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He-Gasstrom (links). Rot ist jeweils das Maximum eines Peaks markiert. Rechts: Aus dieser Messung extrahierter einzelner Peak, in Grün ist die linke und in Orange die rechte Hälfte der Halbwertsbreite eingezeichnet. In Rot und Hellblau wurde das Gleiche auf 10 % der Peakhöhe markiert.

5.3.2 Auswertung der Peakform

Für die Analyse des Einflusses der Geräteparameter auf die resultierende Peakform wurden drei verschiedene Proben hergestellt. Nach dem in Abschnitt 4.3.1 beschriebenen Vorgehen wurde jeweils eine magnesiumhaltige, eine chromhaltige und eine lanthanhaltige Lackschicht mit jeweils einem Elementgehalt von $100 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ hergestellt. Jeweils etwa ein Quadratzentimeter wurde ausgeschnitten und mit einem Kohlenstoffklebepad auf einen Plexiglasträger geklebt. Für alle LA-ICP-MS-Messungen wurden Strecken von einem Millimeter Länge mit einer Schussrate von einem Hertz ablatiert.

5.3.2.1 Heliumgasstrom

Zuerst wurde an den zuvor beschriebenen Proben der Einfluss des Heliumgasstroms auf das Austragsverhalten bzw. die Peakform eines einzelnen Laserpulses untersucht. Dafür wurden die in Tab. A.9 aufgeführten Parameter ($20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ Messfleckgröße, $20 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$ Fahrgeschwindigkeit des Probenbistisches, 50 % Laserleistung, $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Argongasstrom) und 1 Hz Pulsrate verwendet und bis auf den Heliumgasstrom konstant gehalten. Dieser wurde von $100 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ bis $1000 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ in 100-er Schritten erhöht, wobei jeweils eine 1 mm lange Linie auf der Probe ablatiert wurde.

In Abb. 5.8 sind die Ergebnisse von ^{139}La dargestellt. Die Resultate von ^{24}Mg und ^{52}Cr sind in Abb. A.6 aufgeführt. Bei den Ergebnissen von ^{139}La lässt sich deutlich erkennen, dass mit

steigendem Heliumgasstrom die Peakhöhe und Fläche zunächst ansteigen. Beide Werte verhalten sich über den Verlauf der Messung annähernd gleich. Bei $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ wird bei beiden Werten ein Maximum erreicht. Eine weitere Erhöhung des Gasstroms führt zum rapiden Absinken der Werte. Der Anstieg ist darauf zurückzuführen, dass das ablatierte Material aus der Zelle zunächst nur vom Heliumgasstrom transportiert wird und eine Erhöhung des Gasstroms zu einem besseren Abtransport des Probenmaterials führt. Wie bereits in Abschnitt 5.2.1 gezeigt werden konnte, gibt es jedoch ein Optimum für den Gasstrom. Wenn dieses überschritten wird, führt es auch bei der Betrachtung der einzeln ablatierten Probenportionen zu einer deutlichen Verschlechterung der Intensität und Fläche. Die Ursache hierfür ist vermutlich die durch den höheren Gesamtgasstrom bedingte kürzere Verweilzeit im Plasma und die damit einhergehende schlechtere Ionisierungsrate. Zudem kann durch die höhere Gasflussgeschwindigkeit und die damit einhergehende höhere kinetische Energie der Ionen der Übergang vom Plasma zum Massenseparator behindert werden.

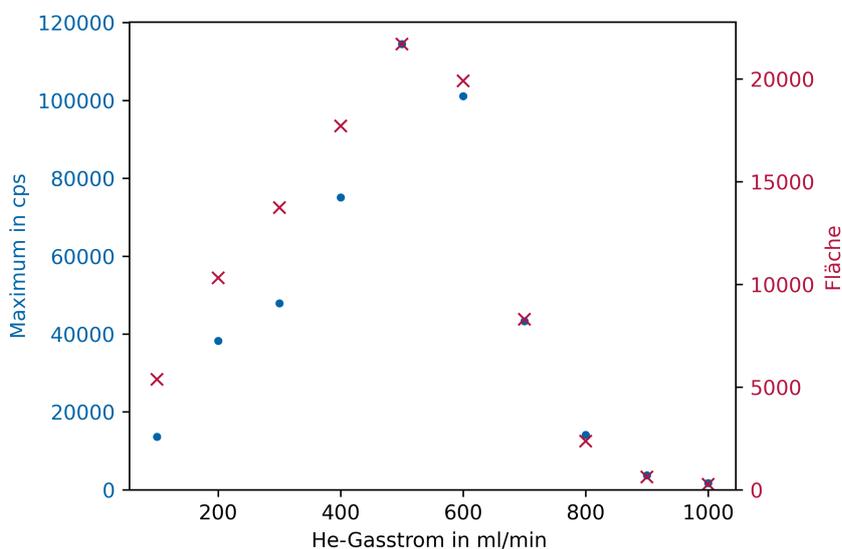


Abb. 5.8: Einfluss des Heliumgasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer lanthanhaltigen Lackschicht aus der Ablationszelle. Dargestellt sind die Peakhöhe und die Fläche.

Sowohl der Kurvenverlauf von ^{24}Mg als auch der von ^{52}Cr stimmen mit dem von ^{139}La insofern überein, dass sich Peakmaximum und Fläche jeweils ähnlich verhalten. Für ^{52}Cr konnten nur Werte zwischen 200 und $700 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ bestimmt werden, weil in den übrigen Messungen die Peaks zu klein für eine Analyse waren. Auch hier existiert ein Intensitätsmaximum, welches jedoch bei $300 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He liegt. Anschließend sinkt das Messsignal mit steigendem Gasstrom, allerdings weniger deutlich als dies bei ^{139}La der Fall ist. Die Messwerte von ^{24}Mg steigen ebenfalls zunächst an, schwanken ab 300 bis $700 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He um einen ähnlichen Wert und fallen anschließend ab. Bemerkenswert ist hierbei, dass das Optimum für Lanthan im Vergleich zu den leichteren Isotopen zwar bei dem höchsten Gasstrom liegt, sich ein Überschreiten des Optimums allerdings deutlich stärker negativ auswirkt als bei den leichteren Isotopen. Daher ist es im Hinblick auf die höchstmögliche Intensität sinnvoll, den Heliumgasstrom eher etwas niedriger als deutlich höher zu wählen.

Die Peakbreite und die Asymmetrie von ^{139}La sind in Abb. 5.9 dargestellt. Die Resultate von ^{24}Mg und ^{52}Cr sind in Abb. A.7 und A.8 abgebildet. Sowohl für die Breite auf halber Höhe als auch bei 10 % der Peakhöhe ist für alle Isotope die Tendenz fallender Werte mit steigendem Heliumgasstrom zu beobachten. Die Ursache hierfür ist, dass mit einem höheren Heliumgasstrom der Abtransport des ablatierten Materials aus der Ablationskammer schneller stattfindet und somit die Probe das Massenspektrometer innerhalb einer kürzeren Zeitspanne erreicht. Daraus resultieren schlankere Peaks.

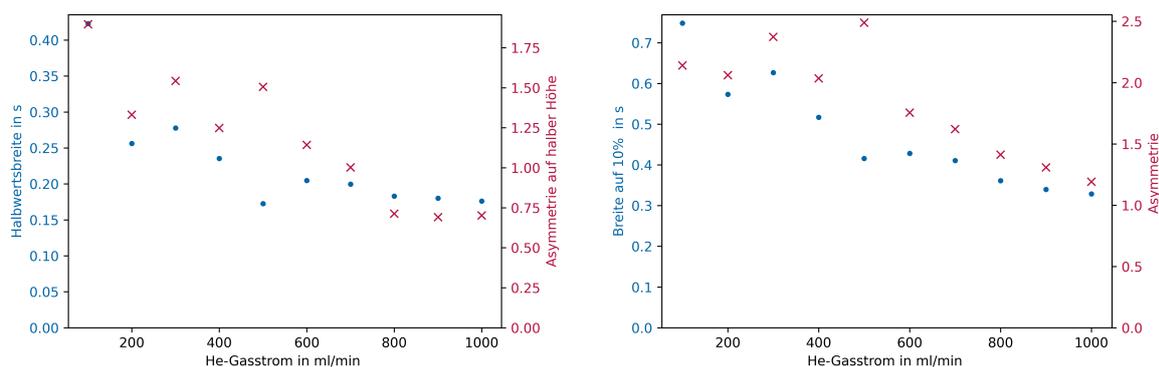


Abb. 5.9: Einfluss des Heliumgasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer lanthanhaltigen Lackschicht aus der Ablationszelle. Dargestellt sind die Breite und die Asymmetrie auf halber Höhe (links) und auf 10 % (rechts).

Für ^{139}La sind bei beiden Asymmetriewerten ab einem Heliumgasstrom von $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ deutlich sinkende Werte zu beobachten. Auf halber Höhe sinkt die Asymmetrie bis $800 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Heliumgasstrom und bleibt dann bei etwa 0,75 annähernd konstant. Das bedeutet, dass bei diesen Bedingungen die vordere Seite des Peaks auf halber Höhe bereits breiter als die hintere Seite ist. Auf 10 % der Peakhöhe beträgt die Asymmetrie bei $500 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Heliumgasstrom 2,5, was bedeutet, dass der hintere Teil des Peaks wesentlich breiter ist als der vordere. Mit steigendem Heliumgasstrom nimmt dieses Verhalten ab, bis bei einem Heliumgasstrom von $1000 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ ein annähernd symmetrischer Peak vorliegt. Dies zeigt, dass bei der Optimierung auf eine möglichst hohe Messintensität eine vergleichsweise starke Verschleppung des ablatierten Materials zu späteren Messzeiten und somit im Falle einer orts aufgelösten Messung zu folgenden Probenpositionen auftritt. Die Asymmetriewerte der anderen beiden Isotope zeigen ein weniger eindeutiges Verhalten. Allerdings werden auch hier die Peaks mit zunehmendem Heliumgasstrom schlanker, sodass insgesamt gesagt werden kann, dass ein schnellerer Probenaustrag mit einem höheren Heliumgasstrom erreicht werden kann. Jedoch geht dies bei allen Isotopen ab einem bestimmten Wert zulasten der erreichbaren Intensität.

5.3.2.2 Argongasstrom

Nachdem im vorherigen Abschnitt der Einfluss des Heliumgasstroms auf das Austragsverhalten des ablatierten Materials aus der Ablationskammer diskutiert wurde, soll in diesem Abschnitt auf den Einfluss des Argongasstroms eingegangen werden. Wie bereits bei dem vorherigen Experiment beschrieben, wurden alle Geräteparameter gleich gehalten (vgl. Tab. A.9,

500 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ He-Gasstrom, 50 % Laserleistung und 1 Hz Pulsrate). Der Argongasstrom wurde von 100 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ bis 1000 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ in 100-er Schritten erhöht, wobei jeweils eine Messstrecke von 1 mm ablatiert wurde.

In Abb. 5.10 sind die Ergebnisse von ^{139}La dargestellt. Die Resultate von ^{24}Mg und ^{52}Cr sind in Abb. A.9 aufgeführt. Wie bereits bei der Variation des Heliumgasstroms festgestellt werden konnte, ist auch bei der Änderung des Argongasstroms das Verhalten von Peakintensität und Fläche annähernd gleich. Auch hier gibt es ein Maximum, welches für ^{139}La bei 500 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ liegt. Unterschiede gibt es hier im Vergleich zur Heliummessung im etwas langsameren Anstieg vor dem Maximum. Zudem waren die resultierenden Peaks ab 900 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ zu klein für die Auswertung deswegen sind die Daten nur bis 800 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ dargestellt. Dies weist darauf hin, dass wie bereits in der Literatur beschrieben, der Partikeltransport durch Argon etwas effizienter ist. Dies lässt sich daran erkennen, dass, bei gleichem Gesamtgasstrom eine höhere Intensität erreicht wird, wenn der Argonanteil höher ist. Bei den ersten Werten der Heliumvariation wird somit eine etwas höhere Intensität erzielt. Nach dem Optimum führen höhere Argongasströme jedoch zu einem noch schnelleren Absinken der gemessenen Intensität. [15]

Auch für ^{24}Mg und ^{52}Cr lässt sich sagen, dass die Peakmaxima bzw. Flächen jeweils etwas niedriger sind als die bei der Heliumvariation ermittelten Werte. Für Magnesium wurde ein ähnlicher Kurvenverlauf wie bei der Heliumvariation gemessen. Allerdings sind, verglichen mit den dort dargestellten Werten die für die Randbereiche unter 300 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Argongasstrom und über 700 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Argongasstrom noch deutlich niedriger. Für ^{52}Cr konnten aufgrund der niedrigeren Peakintensität lediglich fünf Argongasströme ausgewertet werden, sodass sich in diesem Bereich keine eindeutige Aussage treffen lässt.

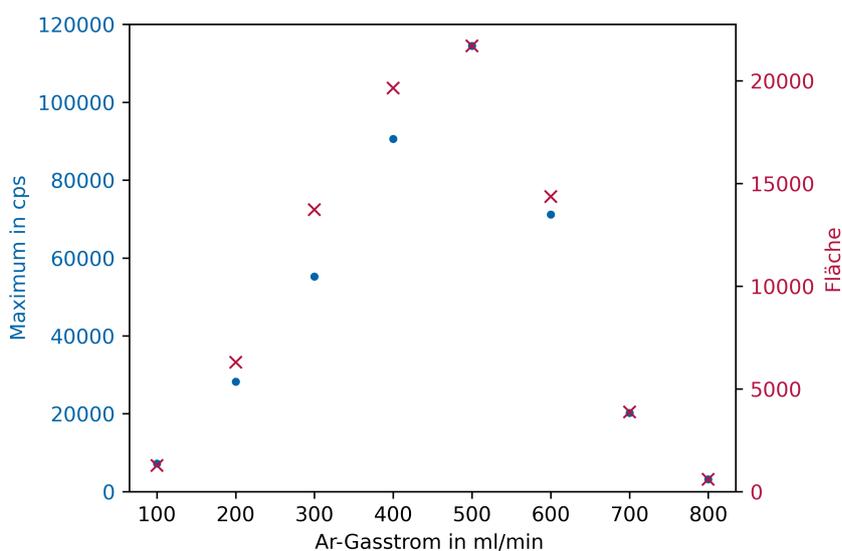


Abb. 5.10: Einfluss des Argongasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer lanthanhaltigen Lackschicht aus der Ablationszelle. Dargestellt sind die Peakhöhe und die Fläche.

Die Peakbreite und Asymmetrie von ^{139}La ist in Abb. 5.11 dargestellt. Die Resultate von ^{24}Mg und ^{52}Cr sind in Abb. A.10 und A.11 zu finden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen für die

Heliumvariation ist hier keine eindeutige Tendenz der Peakbreiten und Asymmetrie zu erkennen.

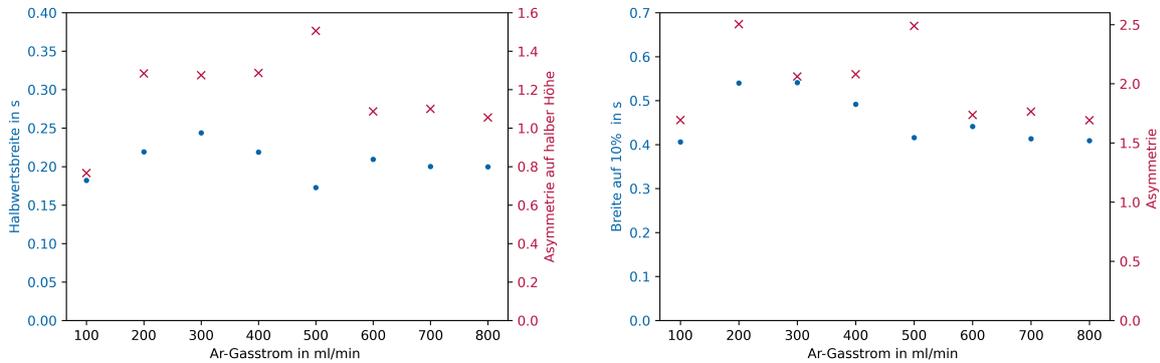


Abb. 5.11: Einfluss des Argongasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer lanthanhaltigen Lackschicht aus der Ablationszelle. Dargestellt sind die Breite und die Asymmetrie auf halber Höhe (links) und auf 10 % (rechts).

Insgesamt kann gesagt werden, dass die gemessene Intensität stärker durch den Argongasstrom als durch den Heliumgasstrom beeinflusst wird. Allerdings hat der Heliumgasstrom einen wesentlich höheren Einfluss auf die Peakbreite und Asymmetrie und damit auf die Gesamtzeit, die für den Abtransport einer Probenportion benötigt wird.

5.3.2.3 Laserleistung

Neben dem Einfluss der Gasströme sollten auch weitere Laserparameter untersucht werden. Dafür wurden erneut die bereits vorgestellten Parameter konstant gehalten (je 500 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ Argon- und Heliumgasstrom) und die Laserleistung von 20 bis 100 % variiert.

In Abb. 5.12 sind die Ergebnisse von ^{139}La dargestellt. Die Resultate von ^{24}Mg und ^{52}Cr sind in Abb. A.12 aufgeführt. Mit Ausnahme des letzten Punktes, welcher etwa auf der Höhe der Werte bei 90 % liegt, steigen die Peakhöhe und die Fläche mit steigender Laserleistung an. Dies gilt ebenso für die anderen beiden untersuchten Elemente. Je höher die Energie, die auf das Probenmaterial übertragen wird, desto mehr Probe wird ablatiert und desto mehr steht für die Detektion zur Verfügung. Allerdings kann dies auch zur Ausbildung unregelmäßiger Ablationskrater und zur Ablagerung von mehr Probenmaterial auf der Probenoberfläche führen. Für die gemessene Intensität bzw. die Peakfläche und diesen Probentyp führt eine höhere Laserleistung jedoch zu einem höheren Signal.

Die Peakbreite und Asymmetrie von ^{139}La sind in Abb. 5.13 dargestellt. Die Resultate von ^{24}Mg und ^{52}Cr sind in Abb. A.13 und A.14 zu finden. Für alle diese Daten gilt, dass kein Einfluss der Laserleistung auf die Peakform erkennbar ist.

5.3.2.4 Messfleckgröße

Als weiterer messtechnisch einstellbarer Parameter sollte der Einfluss der Messfleckgröße untersucht werden. Die in den bisherigen Versuchen verwendete Einstellung von 20 μm x 20 μm ist an die Messfleckgröße der μRFA angelehnt. Auf diese Weise sollte die Vergleichbarkeit von

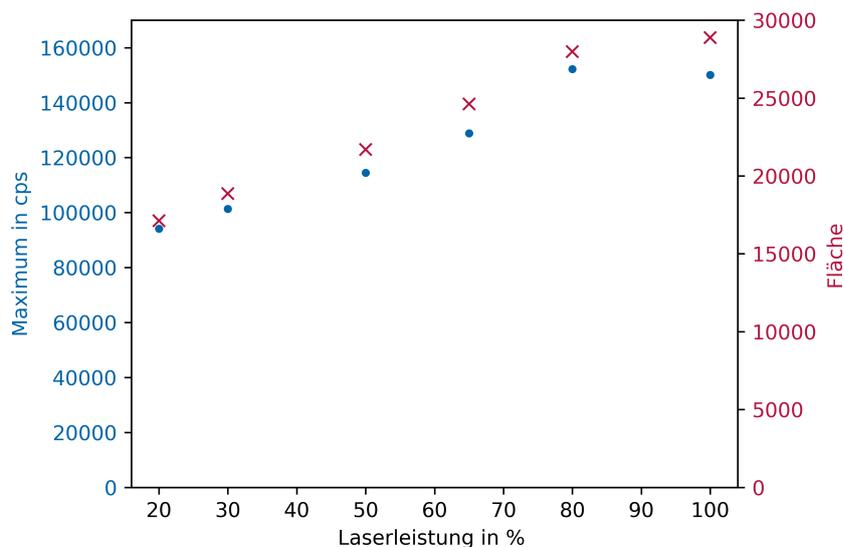


Abb. 5.12: Einfluss der Laserleistung auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer lanthanhaltigen Lackschicht aus der Ablationszelle. Dargestellt sind die Peakhöhe und die Fläche.

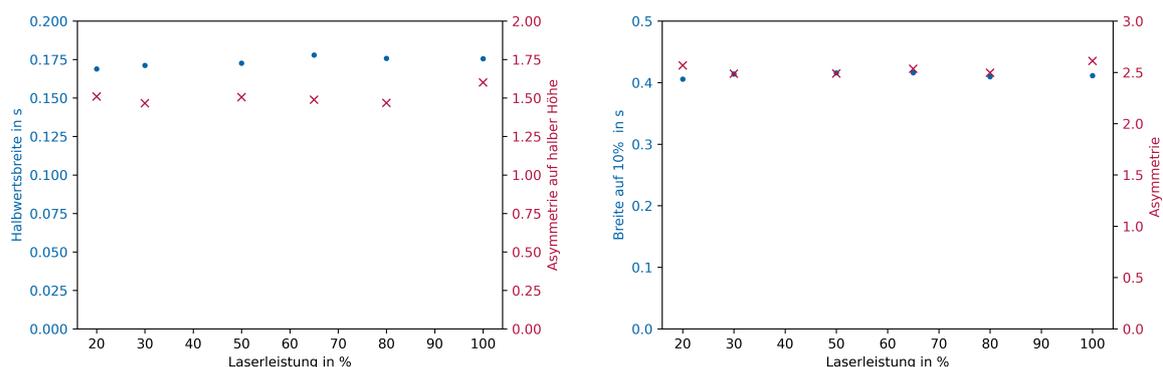


Abb. 5.13: Einfluss der Laserleistung auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer lanthanhaltigen Lackschicht aus der Ablationszelle. Dargestellt sind die Breite und die Asymmetrie auf halber Höhe (links) und auf 10 % (rechts).

Messergebnissen gewährleistet werden. Allerdings ist dieser Wert im Vergleich zur Literatur als klein einzustufen. Durch die Einstellung von einer höheren Messfleckgröße wird Material von einem wesentlich größeren Bereich abgetragen, wodurch auch höhere Intensitäten erhalten werden können. Bei diesen Messungen wurde die Fahrgeschwindigkeit des Probentisches so angepasst, dass ein ähnliches Maß an Überlappung der einzelnen Messpunkte vorliegt, wie es bei den vorherigen Messungen der Fall war.

Abgesehen von $40\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$ Messfleckgröße wurde bei allen weiteren untersuchten Einstellungen ($60\ \mu\text{m} \times 60\ \mu\text{m}$, $80\ \mu\text{m} \times 80\ \mu\text{m}$ und $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$) so viel Material ablatiert, dass keine ausreichende Trennung der einzelnen Peaks vorlag und die in den vorherigen Abschnitten vorgestellte Auswertemethode nicht angewendet werden konnte. Damit dennoch Daten für die Auswertung erhalten werden, wurde die bisher verwendete Laserleistung von 50 % auf 30 % gesenkt. Allerdings führte dies nicht zu aufgetrennten Peaks, sodass an dieser Stelle lediglich eine Diskussion des allgemeinen Messdatenverlaufs durchgeführt werden kann.

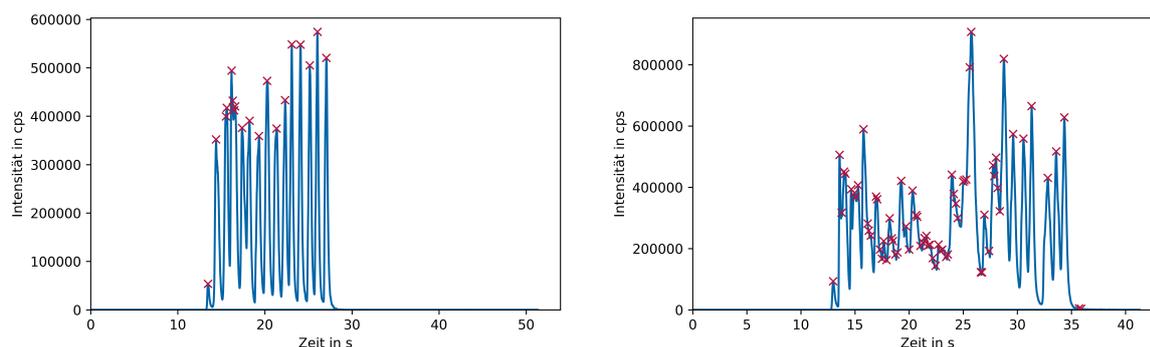


Abb. 5.14: Einfluss der Messfleckgröße auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer lanthanhaltigen Lackschicht aus der Ablationszelle. Links: $60\ \mu\text{m} \times 60\ \mu\text{m}$, 1 Hz und 30 % Laserleistung. Rechts: $80\ \mu\text{m} \times 80\ \mu\text{m}$, 1 Hz und 30 % Laserleistung. Rot sind jeweils die Maxima der vom Skript identifizierten Peaks markiert.

In Abb. 5.14 sind die Messdatenverläufe der Messfleckgrößen $60\ \mu\text{m} \times 60\ \mu\text{m}$ (links) und $80\ \mu\text{m} \times 80\ \mu\text{m}$ (rechts) bei einer Laserleistung von 30 % dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass trotz der reduzierten Laserleistung zu viel Material ablatiert wurde, als das es innerhalb einer Sekunde (bis zum nächsten Laserschuss) vollständig abtransportiert werden konnte. Die Folge davon sind unvollständig getrennte Peaks. Interessanterweise führt die Durchmischung verschiedener Probenportionen besonders bei der höheren Messfleckgröße, trotz regelmäßiger Probenablation mit 1 Hz Schussrate, zu einem sehr ungleichmäßigen Messergebnis. Die Ursache dafür könnten durch die hohe Beladung ausgelöste Turbulenzen im Transportschlauch sein.

Anhand dieser Ergebnisse wird deutlich, dass eine höhere Probenbeladung zu Effekten führen kann, die mit der hier verwendeten Auswertemethode nicht erfasst bzw. vorhergesagt werden können. Das heißt auch, dass durch die Wahl einer großen Messfleckgröße nicht nur eine höhere Intensität und niedrigere Auflösung erhalten wird, sondern auch damit gerechnet werden muss, dass die Verschleppung von Probenmaterial hin zu späteren Messzeiten verstärkt auftritt.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die verschiedenen Ablationsbedingungen sich unterschiedlich stark auf das Auswaschverhalten aus der Probenkammer und die gemessene Intensität auswirken. Die Messbedingungen sollten daher jeweils individuell an die zu bearbeitende Fragestellung angepasst werden. Das Optimum der Gasströme für eine möglichst hohe Intensität ist abhängig von der Masse der Analyten. Sollen Analyten mit deutlich verschiedenen Massen gleichzeitig möglichst empfindlich untersucht werden, ist es sinnvoll die Gasströme etwas niedriger zu wählen. Eine Überschreitung des Optimums wirkt sich wesentlich ungünstiger als eine Unterschreitung auf die gemessene Intensität aus. Wird hingegen besonderer Wert auf ein schnelleres Auswaschverhalten und die optimale Ortsauflösung, auch auf Kosten der Empfindlichkeit, gelegt, dann sind höhere Gasströme etwas besser. Ähnlich differenziert muss die Messfleckgröße beurteilt werden. Für eine bessere Ortsauflösung ist die Verwendung kleinerer Messfleckgrößen ratsamer, für die Empfindlichkeit der Messung ist die Ablation einer größeren Probenmenge vorteilhafter.

5.4 Ablagerung von Material auf der Probenoberfläche

Wie bereits in Abschnitt 3.1.2 angesprochen, kann bei der Laserablation ein Teil des ablatierten Materials auf der Probenoberfläche abgelagert werden. Dabei kann es sich sowohl um die Ablagerung von Partikeln, als auch um die Kondensation von Verbindungen aus der Gasphase handeln. In der Literatur gibt es jedoch nur wenige Informationen über den davon betroffenen Bereich um die Ablationsstelle und die Menge an abgelagertem Material. Diese Informationen sind jedoch wichtig, um einschätzen zu können, wie weit einzelne Messungen voneinander entfernt sein müssen, damit die jeweils nachfolgenden nicht beeinträchtigt werden. Außerdem ist es wichtig zu wissen, in welchem Ausmaß Messfehler auftreten können, wenn die Messstellen nah beieinander liegen. [29]

Von Woodhead *et al* wurden zwei verschiedene NIST Glasstandards (NIST 610 etwa $400 \frac{mg}{kg}$ und NIST 616 etwa $0,5 \frac{mg}{kg}$) aneinander gelegt. Zunächst wurde mit einer Spotgröße von $157 \mu m$ bzw. $206 \mu m$ auf dem NIST 610 (mit dem höheren Elementgehalt) direkt an der Kante eine Linie ablatiert. Anschließend wurde mit einer Spotgröße von $19 \mu m$ orthogonal dazu auf dem NIST 616 auf die Kante zu gemessen (vgl. Abb. 3.3). Dabei stellte sich heraus, dass nahe an der Kante etwa 4 bzw. 8 % der Intensität, welche auf dem NIST 610 gemessen wurden, nun auch auf NIST 616 nahe der Kante detektierbar waren. Bis zu einer Entfernung von etwa $300 \mu m$ von der Ablationsstelle nahm die gemessene Intensität auf NIST 616 weiter ab. [29]

In dieser Arbeit wurden, verglichen mit der Arbeit von Woodhead *et al*, kleinere Spotgrößen verwendet. Zudem muss davon ausgegangen werden, dass die verwendeten Acrylatlackschichten ein anderes Ablationsverhalten aufweisen als die NIST-Glasstandards, weil diese stark abweichende Materialeigenschaften besitzen. Daher wurden verschiedene Vorgehensweisen getestet, um das Ausmaß der Materialablagerung für die Lackschichten bei verschiedenen Ablationsbedingungen zu bestimmen. Zum einen wurden, äquivalent zur von Woodhead *et al* beschriebenen Vorgehensweise, zwei Lackschichten nebeneinander befestigt (vgl. Abb. 5.15 (links)), wobei jeweils ein Stück Lackschicht ohne zusätzliche Elemente und ein Stück einer Probe aus dem Probensatz **a** (vgl. Tab. 4.1) verwendet wurden. Diese wurden jeweils so präpariert, dass eine möglichst glatte Kante erhalten wurde, damit diese jeweils nah aneinander geklebt werden können. Als zweite Präparationsvariante wurden Schichtsysteme hergestellt, wobei jeweils eine Lackschicht durch Zugabe von Metallacetylacetonat mit einem Metallgehalt versehen wurde. Die übrigen Schichten blieben ohne zusätzliche Elementgehalte (vgl. Abb. 5.15 (mitte und rechts)).

5.4.1 Analyse der geklebten Proben

Für die Analyse der aufgeklebten Proben wurde, wie in Abb. 5.15 links dargestellt, zunächst eine Linienmessung der metallfreien Lackschicht durchgeführt (1.). Mit dieser Messung wurde sichergestellt, dass in den Blankschichten die Analytotope nicht bereits detektierbar sind. Für diese Messung wurde eine Spotgröße von $20 \mu m \times 20 \mu m$, eine Geschwindigkeit von $20 \frac{\mu m}{s}$

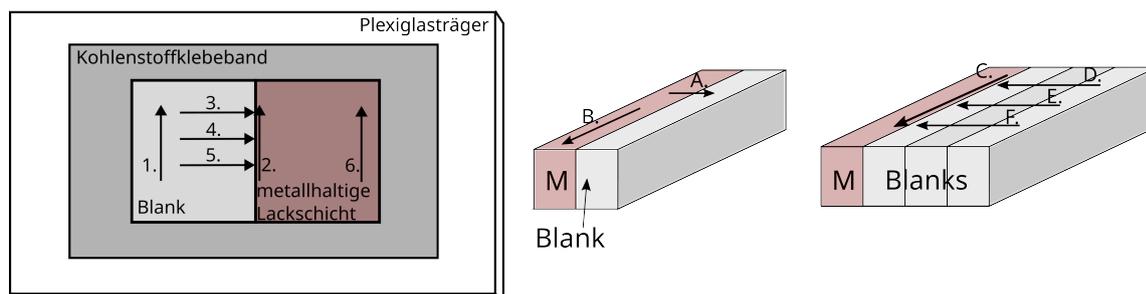


Abb. 5.15: Vorgehensweisen zur Bestimmung des Ausmaßes der Materialablagerungen auf der Probenoberfläche. Links: Eine metallhaltige und eine metallfreie Lackschicht werden separat hergestellt und anschließend bündig aneinander geklebt. Rechts: Es werden Stapel aus metallfreien und metallhaltigen Schichten hergestellt. Diese wurden so präpariert, dass die Oberfläche aus dem Querschnitt der Schichten besteht.

und eine Laserleistung von 50 % verwendet. Anschließend wurde auf der Kante der metallhaltigen Lackschicht eine Messung mit den gleichen Parametern durchgeführt (2.), wobei die Ablagerung von Probenmaterial auch auf der Blankprobe stattfinden konnte. Mithilfe von drei parallelen Messungen orthogonal zur Ablationsspur 2. wurde die Verteilung des Analyten auf der Blankprobe untersucht. Für diese Messungen (3., 4. und 5.) wurde eine größere Spotgröße ($40 \mu\text{m} \times 40 \mu\text{m}$) verwendet, da sich herausstellte, dass mit den zuvor verwendeten $20 \mu\text{m}$ kein Effekt erkennbar war. Zudem wurde die Fahrgeschwindigkeit des Proben-tisches auf $40 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$ erhöht und die Laserleistung auf 10 % gesenkt. Der Grund für letzteres ist, dass in diesem Experiment nur das an der Probenoberfläche befindliche Material untersucht werden sollte und durch die Erhöhung der Laserleistung eine größere Probertiefe ablatiert werden würde. Als Letztes wurde mit den gleichen Parametern eine Messung auf der metallhaltigen Schicht durchgeführt (6.), welche als Referenz für die Messungen 3.-5. dient. Wenn eine höhere Laserleistung verwendet werden würde, wären die bei der Messung 6. erhaltenen Intensitäten höher, die Messungen 3.-5. würden nicht beeinträchtigt werden.

Anschließend wurden die gleichen Messungen mit geänderten Parametern für Messung 2. durchgeführt. Es wurden eine Spotgröße von $40 \mu\text{m} \times 40 \mu\text{m}$ und eine Laserleistung von 80 % verwendet. Die Parameter der übrigen Messungen wurden beibehalten. Auf diese Weise konnte der Einfluss der verwendeten Ablationsbedingungen auf die Ablagerung von Material auf der Probenoberfläche untersucht werden.

In Abb. 5.16 und 5.17 sind die Ergebnisse für ^{59}Co , ^{88}Sr und ^{208}Pb dargestellt, welche jeweils einzeln in die dann metallhaltige Schicht eingebracht wurden. Es wurde jeweils der Mittelwert aus den drei Messungen 3.-5. dargestellt, wobei dieser mit der für die Referenzmessung 6. erhaltenen Intensität ins Verhältnis gesetzt wurde. In allen Darstellungen sind die Ergebnisse für die beiden verschiedenen verwendeten Ablationsbedingungen für Messung 2. erkennbar. Die Ergebnisse für ^{59}Co entsprechen in ihrem Verlauf den Erwartungen aus der Literatur. Die gemessene Intensität ist an der Kante des Blanklackes am höchsten und sinkt anschließend mit steigendem Abstand von der Kante stetig ab. Dabei ist ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden verschiedenen Ablationsbedingungen erkennbar. Für die größere Spotgröße und die höhere Laserleistung wurde insgesamt eine höhere Intensität bestimmt. Zudem fand die Ablagerung von Probenmaterial über eine größere Distanz statt. Im Gegensatz dazu sind

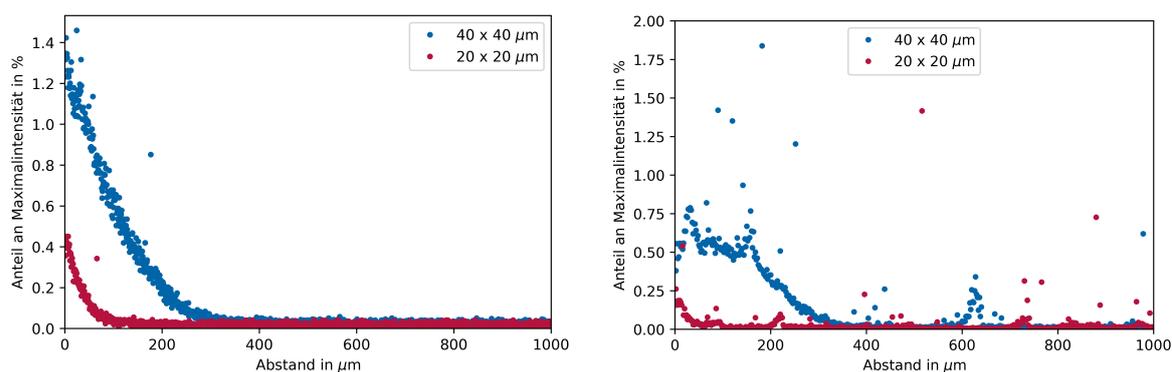


Abb. 5.16: Ortsaufgelöste Verteilung des Probenmaterials auf der Blankoberfläche der aufgeklebten Proben von ^{59}Co (links) und ^{88}Sr (rechts), jeweils bei zwei verschiedenen Ablationsbedingungen. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen.

die Kurvenverläufe von ^{88}Sr und ^{208}Pb deutlich unregelmäßiger. Die Ursache dafür sind Unebenheiten in der Probenoberfläche, welche während der Präparation für dieses Experiment entstanden sind und einen starken Einfluss auf die Verteilung des abgelagerten Probenmaterials haben. Aufgrund der Sprödigkeit der Lackschichten lässt sich durch Schneiden mit einem Skalpell oder einer Schere keine glatte Kante erzeugen. Es kommt immer zum Ausbrechen der Probe im Randbereich und zu etwa einen Millimeter langen Rissen vom Probenrand in den Innenbereich. Eine etwas bessere Kante konnte erhalten werden, wenn die Probe durch Überbiegen der Schicht abgebrochen wurde. Allerdings kam es auch hier zu Unebenheiten und Rissen im Randbereich, die insgesamt jedoch kleiner waren. In diesen Unebenheiten sammelte sich während der Ablation ein größerer Anteil des abgelagerten Materials, sodass ein Anstieg des Messsignals bei Unebenheiten beobachtet werden konnte. So führten kleine Risse zu einem deutlichen Anstieg der Intensität und durch eine etwas flachere Kante wurde zunächst sogar ein Anstieg der Intensität bei steigender Entfernung festgestellt (^{208}Pb).

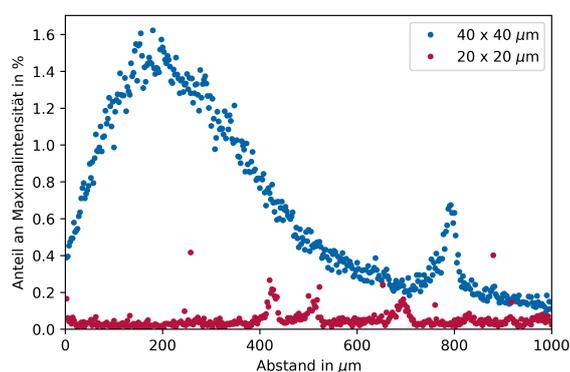


Abb. 5.17: Ortsaufgelöste Verteilung des Probenmaterials auf der Blankoberfläche der aufgeklebten Probe von ^{208}Pb bei zwei verschiedenen Ablationsbedingungen. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen.

Allerdings kann auch für diese Proben festgestellt werden, dass die verwendeten Ablationsparameter einen großen Einfluss auf die Menge und Distanz des abgelagerten Materials haben. Während bei ^{88}Sr für die kleinere Spotgröße noch ein Absinken der gemessenen Intensität mit steigender Distanz erkennbar ist, konnten für ^{208}Pb lediglich in deutlicher Entfernung von

der Kante Bereiche minimal höherer Intensität festgestellt werden.

In Abb. A.15 und A.16 sind die Ergebnisse der Messungen von ^{24}Mg , ^{27}Al , ^{64}Zn und ^{114}Cd abgebildet. Auch hier konnte kein regelmäßiger Kurvenverlauf erhalten werden. Aufgrund der bereits genannten Probleme konnte kein Trend in Abhängigkeit der Isotopenmasse erstellt werden, weil bereits leichte Unebenheiten auf der Probenoberfläche einen wesentlich größeren Einfluss hatten.

Ein weiteres Problem stellte die lückenlose Präparation der beiden Schichten dar. Für dieses Experiment ist es notwendig, dass beide Schichten über eine Länge von mehreren Millimetern möglichst lückenlos nebeneinander kleben. Bereits Lücken im Bereich von etwa 100 μm sind problematisch, weil dieser Bereich besonders stark von der Materialablagerung betroffen und daher besonders interessant ist. Wenn hier eine Lücke zwischen den beiden Lackschichten vorhanden ist, kann in diesem Bereich allerdings nicht gemessen werden. Um dieses Problem zu beheben, wurden gestapelte Schichten für dieses Experiment verwendet, weil hierbei das Auftreten eines Spalts leichter vermieden werden kann.

5.4.2 Analyse der gestapelten Proben

Die Probenpräparation durch nebeneinander Aufkleben von verschiedenen Lackschichten führte zu verschiedenen Problemen mit Unebenheiten im Kantenbereich bzw. einem zu großen Abstand der beiden Schichten. Deswegen wurde eine alternative Vorgehensweise zur Probenpräparation verwendet. Dabei wurden zunächst, wie in Abschnitt 4.5 beschrieben, verschiedene Lackschichten gestapelt, indem jeweils eine zunächst polymerisiert wurde und auf diese dann die nächste Schicht aufgebracht wurde. Auf diese Weise wurden zwei verschiedene Arten von Schichtenstapel hergestellt (vgl. Abb. 5.15 Mitte und rechts), wobei jeweils eine Schicht mit zusätzlichen Elementen enthalten war. Diese Vorgehensweise ermöglicht die lückenlose Zusammenführung verschiedener Schichten.

Nachteilig an diesem Vorgehen ist, dass vergleichsweise wenig Probenfläche neben der metallhaltigen Schicht zur Verfügung steht. Deswegen müssen mehrere Blankschichten übereinander gestapelt werden, die jeweils nur etwa 130 μm zusätzliche Fläche bieten, wobei die Präparation mit einem vergleichsweise hohen Zeitaufwand verbunden ist. Außerdem steht auch die für diese Versuche verwendete Querschnittsoberfläche nicht ohne weitere Präparationsschritte zur Verfügung. Hierfür wurden zwei Möglichkeiten untersucht. Zum einen lassen sich die Lackschichten, wie bereits erwähnt, leicht brechen, wobei eine optisch glatte Oberfläche erhalten werden kann. Daher wurde diese direkt getestet, indem der Schichtenstapel in eine Klemme gespannt wurde, sodass die Querschnittsoberfläche gemessen werden konnte. Zum anderen wurde ein Stück des Stapels in Epoxidharz eingebettet und nach dem Aushärten zersägt, sodass ebenfalls die Querschnittsoberfläche erhalten wurde. Da diese jedoch nach dem Sägen sehr uneben ist, wurde diese zusätzlich mit einer Schleif- und Poliermaschine bearbeitet.

In Abb. 5.18 ist die Vergleichsmessung beider Präparationstechniken dargestellt. Hierfür wurde ein Schichtenstapel aus vier Schichten (B-Fe-B-B, Nomenklatur wie in Tab. 4.4) verwendet, wobei jeweils sowohl die Intensität von ^{54}Fe als auch die von ^{13}C aufgetragen ist. Es lässt sich erkennen, dass die Probenoberfläche bei der gebrochenen Probe etwas schlechter ist, weil im linken Bereich der Messung das ^{13}C -Signal etwas höher ist, obwohl ein gleichmäßiger Verlauf erwartet worden wäre. Durch Unebenheiten in der Probenoberfläche ist der Laser nicht überall gleich gut auf diese fokussiert sodass Intensitätsunterschiede auftreten. Würde die Probe schräg in der Kammer liegen könnte dieses Problem auch auftreten, allerdings würde in diesem Fall der Intensitätsverlauf gleichmäßig über die gesamte Messung steigen oder fallen. Bei der eingebetteten Probe (rechts im Bild) ist der Kurvenverlauf auf der Lackschicht gleichmäßiger. Allerdings gibt es auf beiden Seiten Kanten zu etwas niedrigerer Intensität, was den Übergang von der Acrylschicht auf das Epoxidharz widerspiegelt. Insgesamt lässt sich feststellen, dass durch Einbetten und Polieren der Probe eine etwas bessere Oberfläche erhalten werden konnte jedoch ist der damit verbundene Präparationsaufwand sehr hoch. Deswegen wurde für die folgenden Messungen eine gebrochene Probe verwendet, die anschließend per Hand etwas nachpoliert wurde.

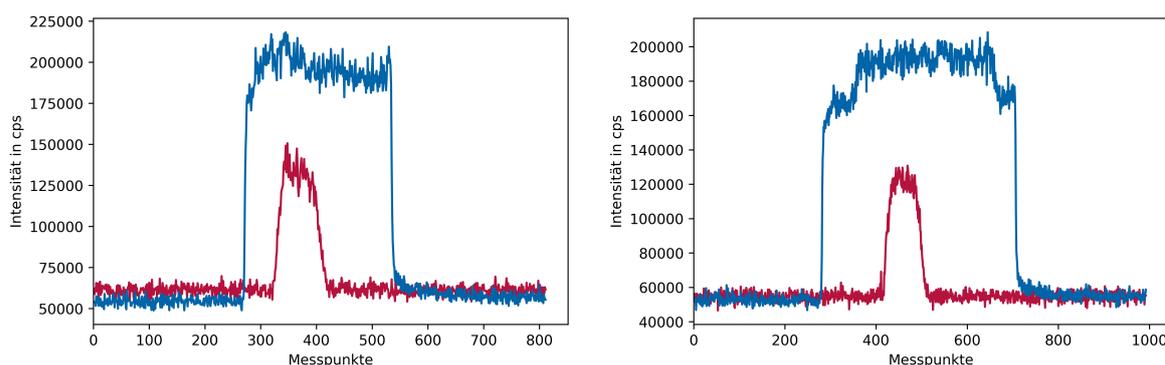


Abb. 5.18: ^{54}Fe -Messung rot und ^{13}C blau einer B-Fe-B-B-Schichtenprobe, wobei die eisenhaltige Schicht $600 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Eisen enthält. Links: Messung auf der Bruchkante der frei stehenden Probe. Rechts: In Epoxidharz eingebettete, zersägte und polierte Probe. Verwendete Laserparameter: $40 \mu\text{m} \times 40 \mu\text{m}$, 80%, $40 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$.

Wie in Abb. 5.15 (Mitte) dargestellt, wurde im nächsten Schritt das Ausmaß der Materialverschleppung in Messrichtung beurteilt. Hierbei wird die Materialablagerung in Ablationsrichtung, die direkt wieder abgetragen wird, berücksichtigt. Dafür wurde zunächst eine Linie **A.** von der metallhaltigen Schicht auf die Blankschicht ablatiert. Anschließend wurde eine zweite Linie **B.** ausschließlich auf der metallhaltigen Schicht gemessen. Durch den Vergleich der Bereiche mit absinkendem Analytsignal kann beurteilt werden, in welchem Ausmaß der Analyt zu späteren Messzeiten detektiert wird und welche Effekte dazu beitragen. Mithilfe von Messung **B.** lässt sich erkennen, welchen Einfluss das Austragsverhalten des Aerosols aus der Zelle nach Beendigung der Ablation hat. Im Vergleich dazu wurde bei Messung **A.** die Ablation über die Kante der metallhaltigen Schicht hinaus fortgesetzt, sodass lediglich der Analytanteil im Aerosol abnahm.

In Abb. 5.19 sind die für ^{24}Mg und ^{208}Pb erhaltenen Ergebnisse dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass das Analytsignal bei Beendigung der Ablation jeweils stärker abfällt. Für die Messung **A.** sind hingegen zwei verschiedene Bereiche erkennbar. Bis etwa $40 \mu\text{m}$ Abstand

von der Schicht sinkt das Signal stark ab, jedoch etwas flacher als bei Messung B.. Anschließend folgt ein deutlich flacherer Bereich bis etwa 100 μm Abstand. Die Ursache hierfür ist, dass im Übergangsbereich jeweils noch ein Teil des Messflecks auf der metallhaltigen Schicht liegt und somit noch eine teilweise Ablation dieser erfolgt, was zu einem langsameren Abfall des Analytsignals führt. Der folgende flachere Bereich ist vermutlich auf in Ablationsrichtung abgelagertes Material zurückzuführen. Hierbei fällt auf, dass die davon beeinflusste Strecke auf der Probenoberfläche kleiner ist als der im vorherigen Abschnitt untersuchte Bereich orthogonal zur Ablationsrichtung. Im Gegensatz zur dort analysierten Fläche hat der Bereich in Ablationsrichtung keine bzw. wenig Zeit um abzukühlen, da direkt der nächste Laserpuls folgt.

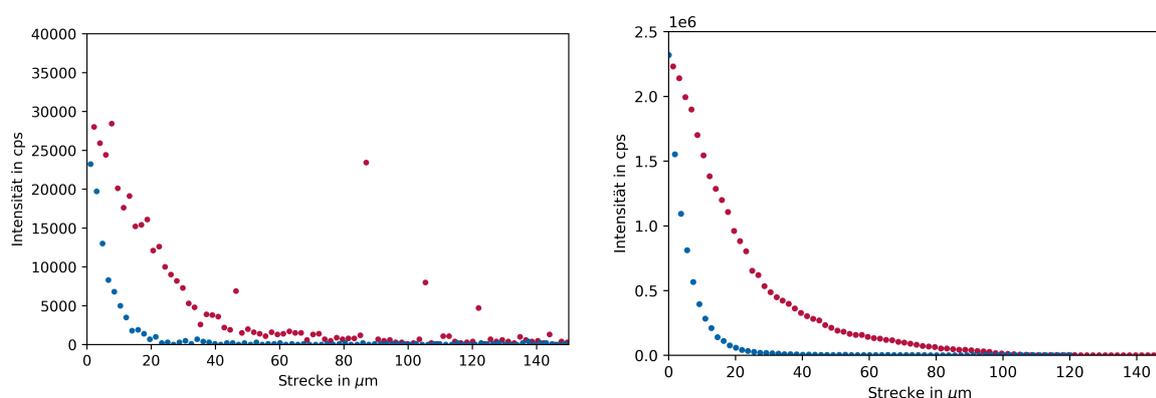


Abb. 5.19: Vergleich der Materialverschleppung bei Beendigung der Ablation (B., blau) und bei Ablation über die Kante der metallhaltigen Schicht (A., rot). Links: ^{24}Mg -Messung über eine Schicht mit $500 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Magnesium. Rechts: ^{208}Pb -Messung über eine Schicht mit $500 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Blei. Verwendete Laserparameter: $40 \mu\text{m} \times 40 \mu\text{m}$, 80%, $40 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$.

In Abb. 5.20 sind die Ergebnisse der Verteilung des Probenmaterials auf der Blankoberfläche für die geschichteten Proben (vgl. Abb. 5.15 rechts) für ^{24}Mg und ^{139}La dargestellt. Die Ergebnisse von ^{208}Pb sind in Abb. A.17 links abgebildet. Aufgrund der beschränkten Probenoberfläche wurde in diesem Fall die Messung C. sowohl zur Verteilung des Probenmaterials als auch als Referenzmessung genutzt. Deswegen wurden für alle Messungen die gleichen Ablationsparameter verwendet. Trotzdem wurden ähnliche Ergebnisse erhalten. Nahe an der Kante zur metallhaltigen Schicht wurden jeweils etwa 2 % der Intensität der Referenzmessung detektiert. Mit steigendem Abstand von der Kante fiel die Intensität des Analytsignals weiter ab. Obwohl deutliche Unterschiede im Verlauf der Messkurve von ^{24}Mg und ^{139}La zu erkennen sind, kann nicht sicher entschieden werden, ob diese auf Unterschiede zwischen den Isotopen oder auf Unebenheiten der Probenoberfläche zurückzuführen sind.

Als problematisch hat sich bei dieser Präparationsvariante erwiesen, dass insgesamt weniger Fläche für die Ablation zur Verfügung steht, weil die Schichten sehr schmal sind. Damit wie bei der zuvor beschriebenen Methode eine Strecke von einem Millimeter orthogonal zur Ablationsrichtung untersucht werden kann, würden hier sehr viele Blankschichten benötigt werden. Für diese Versuche wurden lediglich drei Blankschichten verwendet, womit eine Probenbreite von etwa $400 \mu\text{m}$ zur Verfügung stand.

Ein weiteres Problem bestand darin, dass zunächst nicht ausgeschlossen werden konnte, dass die in Abschnitt 4.5.3 vorgestellten Effekte auch hier auftreten. Falls bei der Präparation

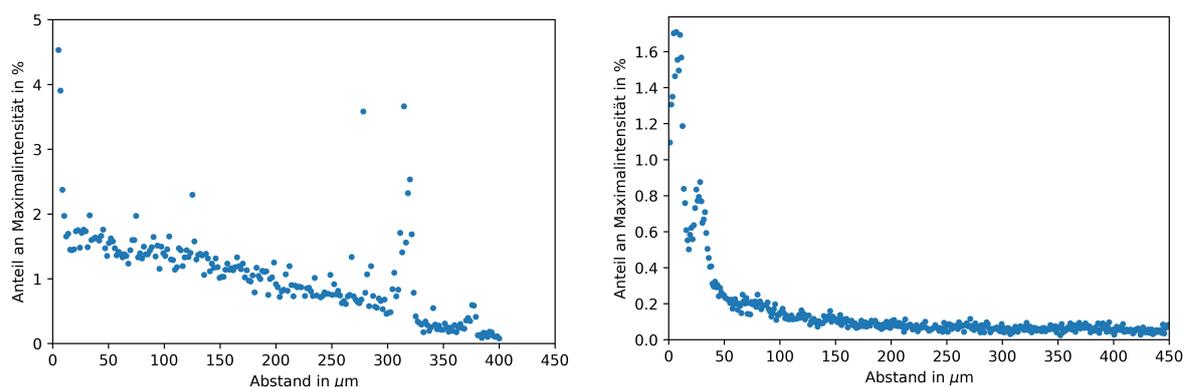


Abb. 5.20: Ortsaufgelöste Verteilung des Probenmaterials auf der Blankoberfläche der geschichteten Proben von ^{24}Mg (links) und ^{139}La (rechts). Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen (D., E. und F.). Verwendete Laserparameter: $40\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$, 80%, $40\ \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$.

bereits ein Teil des verwendeten Metalls aus der metallhaltigen Schicht in die angrenzende Blankschicht übergegangen ist, würde dies bei diesen Messungen fälschlicherweise zu einer signifikanten Überbestimmung des Einflusses der Materialablagerung auf der Probenoberfläche führen (vgl. Abb. A.17 rechts). Ein derartiger Fehler kann bei dem nebeneinander Kleben verschiedener Schichten hingegen ausgeschlossen werden.

Das dritte Problem, welches bei den Messungen an den gestapelten Schichten auftrat, war die Schwierigkeit, die exakte Kante zwischen metallhaltiger und metallfreier Schicht optisch zu erkennen. In den meisten Fällen wurde diese bei den Messungen D., E. und F. nicht genau identifiziert, sodass durch die direkte Ablation der metallhaltigen Schicht ein viel höheres Signal am Ende der Messung erhalten wurde. Somit wurde es notwendig, den Übergang zwischen beiden Schichten in den Messdaten zu identifizieren, was zur subjektiven Beeinflussung der Ergebnisse führt. Dies könnte eventuell zukünftig durch die Präparation der Schichten mit einem zusätzlichen Marker für den Schichtübergang verbessert werden. Hierbei müsste eine zusätzliche sehr dünne Schicht mit einem anderen Element verwendet werden, wodurch das Vorgehen noch deutlich komplizierter werden würde.

Insgesamt kann gesagt werden, dass die beiden in diesem Kapitel untersuchten Präparationsmethoden Probleme aufwiesen. Trotzdem konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Materialablagerung auf der Probenoberfläche von den verwendeten Laserparametern abhängig ist. Mit einer Spotgröße von $20\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$ und einer Laserleistung von 50 % wurde weniger Material in einem kleineren Umkreis nachgewiesen, als dies bei einer Spotgröße von $40\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$ und einer Laserleistung von 80 % der Fall war. Anhand dieser Ergebnisse können zukünftig die Abstände zwischen den Ablationsbereichen festgelegt werden, sodass diese einen möglichst geringen Einfluss aufeinander haben. Allerdings wurde auch deutlich, dass eine ideale regelmäßige Verteilung nur bei einer glatten Probenoberfläche erfolgt. Kleine Unebenheiten in der Oberfläche führen zu deutlichen Veränderungen. Dies ist besonders für die Analyse von Proben, welche keine polierte Oberfläche besitzen, relevant.

5.5 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde der Einfluss verschiedener Laserparameter auf das Analyseergebnis bei LA-ICP-MS-Messungen evaluiert. Dabei wurde im ersten Teil anhand des NIST Glasstandards 612 der Einfluss der Helium- und Argongasströme untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass das Optimum, bei welchem die höchste Intensität erzielt wird, abhängig von der Isotopenmasse ist. Je höher die Masse ist, desto höher sind die erforderlichen Gasströme. Weiterhin wurde die Schussrate ermittelt, welche mindestens erforderlich ist, damit ein konstantes Signal erhalten werden kann. Hierbei zeigte sich, dass dies bereits bei vier bis fünf Hertz der Fall ist, was niedriger ist, als der theoretisch ermittelte Wert. In der Realität kommt es jedoch während des Transportes zur Homogenisierung des Aerosols.

Anschließend wurde das Austragsverhalten des ablatierten Materials aus der Messzelle untersucht. Dafür wurden Messungen mit einer Laserschussrate von einem Hertz durchgeführt. Bei verschiedenen Ablationsbedingungen wurden die dabei erhaltenen Peaks anhand der Höhe, Breite, Fläche und Asymmetrie beurteilt. Hierbei wurde festgestellt, dass der Argongasstrom einen etwas stärkeren Einfluss als der Heliumgasstrom hat. Beide weisen jedoch in einem kleinen Bereich ein Optimum für die Peakfläche bzw. Peakhöhe auf, wobei eine Unterschreitung dieses Wertes sich weniger drastisch als eine Überschreitung auswirkt. Hinsichtlich der Peakform wurden bei höheren Gasströmen etwas schmalere und symmetrischere Peaks erhalten. Hingegen konnte bei der Erhöhung der Laserleistung lediglich eine leichte Steigerung der Peakfläche, jedoch kein Einfluss auf die Peakform nachgewiesen werden. Die Veränderung der Messfleckgröße führte schnell zu einer starken Steigerung der ablatierten Materialmenge, sodass keine einzelnen Peaks mehr vermessen werden konnten.

Im letzten Teil dieses Kapitels wurde die Ablagerung von Probenmaterial auf der Probenoberfläche während der Messung untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt messbar ist. Für die meisten Proben konnten nahe an der ursprünglichen Ablationsstelle Anteile im einstelligen Prozentbereich, verglichen mit der Messung direkt auf der elementhaltigen Schicht, festgestellt werden. Diese Werte sinken mit zunehmendem Abstand von der ursprünglichen Ablationsstelle. Zudem wurde festgestellt, dass die Wahl der Laserparameter sowohl die Intensität als auch den Bereich in dem es zur Ablagerung des Materials kommt, beeinflusst. Dabei fiel auch auf, dass die Beschaffenheit der Probenoberfläche ebenfalls einen nicht zu vernachlässigenden Beitrag zu diesem Problem leistet.

6 Etablierung einer Auswerteroutine

In diesem Kapitel soll auf verschiedene Pythonskripte, die im Rahmen dieser Arbeit für die Datenauswertung erstellt wurden, genauer eingegangen werden. Diese wurden erstellt, weil die Gerätesoftware der verwendeten Analysensysteme nicht alle erforderlichen Möglichkeiten für die Datenauswertung und Visualisierung bietet. Die Verwendung herkömmlicher Tabellenkalkulationsprogramme würde aufgrund der großen Datenmenge sehr viel Zeit in Anspruch nehmen. Außerdem steht bei diesen nur eine begrenzte Bandbreite an Funktionen zur Verfügung, weshalb Teile der hier vorgestellten Auswertung mit diesen Programmen nicht möglich sind.

Zunächst wird die Vorgehensweise für die Auswertung von LA-ICP-MS-Daten erläutert. Neben dem Einlesen der speziellen Ausgabedatei können verschiedene Korrekturschritte durchgeführt werden. Danach können sowohl die Linienmessungen einzeln z. B. hinsichtlich der Homogenität ausgewertet werden oder es können Elementverteilungsbilder von allen gemessenen Isotope erstellt werden.

Weiterhin wurde auch für Laserdesorption/Ionisation (LDI)-MS-Messungen eine Auswerteroutine für orts aufgelöste Messungen erstellt. Diese ermöglicht die Datenkombination mit anderen ortsauflösenden Methoden wie LA-ICP-MS und μ RFA, welche im nachfolgenden Abschnitt vorgestellt wird. Durch verschiedene Messmethoden können jeweils andere Informationen über eine Probe ermittelt werden. Werden diese anschließend zusammengeführt, wird es möglich zusätzliche Erkenntnisse zu gewinnen.

Im letzten Abschnitt dieses Kapitels wird der Umgang mit den dreidimensionalen Datensätzen der $C\mu$ RFA zur Erstellung einer Volumendarstellung aus den einzelnen gemessenen Ebenen erklärt.

6.1 LA-ICP-MS-Mapping

Für die Erstellung von Elementverteilungsbildern mithilfe von LA-ICP-MS-Messungen werden Linienmessungen aufgenommen. Hierbei werden je nach verwendetem Massenseparator alle Isotope, die von Interesse sind, gleichzeitig gemessen, während die Linie ablatiert wird. Wenn jedoch z. B. ein Quadrupolmassenseparator verwendet wird, erfolgt die Detektion der Analyten sequenziell sodass die Datenaufnahmerate pro Analyt geringer ist. Aus diesen einzelnen Linien, welche für jedes analysierte Isotop Intensitätsdaten aufweisen, wird das Verteilungsbild zusammengesetzt.

In der Fachliteratur wird oftmals nicht darauf eingegangen, wie die orts aufgelösten Darstellungen aus den Rohdaten erstellt wurden. In anderen Fällen wird lediglich erwähnt, dass

es sich um eine hausinterne Softwarelösung handelt, die erstellt wurde, weil es bisher keine nutzerfreundlichen Lösungen für die Auswertung von orts aufgelösten Messungen gibt. [1, 9, 146]

Zudem gibt es auch frei verfügbare Software für die Auswertung massenspektrometrischer Messungen, die jedoch oftmals an die speziellen Anforderungen des Urhebers angepasst ist. Andernfalls sind verfügbare Softwaretools für die direkte Integration in den Messaufbau gedacht, wobei jedoch das gleiche Gerät und die gleiche Messsoftware vorhanden sein muss wie es bei dem Urheber der Fall ist. In anderen Fällen handelt es sich um Add-Ins für kommerzielle Software. [28, 36, 51, 147]

Daher werden in diesem Abschnitt Pythonskripte vorgestellt, die an die Datenausgabestruktur und Erfordernisse der verwendeten Gerätesoftware (Qtegra) angepasst sind.

6.1.1 Einlesen der Daten

Abhängig von den Messparametern bzw. dem Messbereich werden bei einer Messung größere Datenmengen akkumuliert. Diese können von der Gerätesoftware z. B. als .csv-Datei (*comma separated values*) exportiert werden. Dabei werden allerdings lediglich die Intensitäten der nacheinander gemessenen Punkte eines Isotops angegeben. Es gibt weder Informationen zum Abstand der zugehörigen Datenpunkte auf der Probe noch zum zeitlichen Abstand dieser Messpunkte. Eine solche Datei muss für jedes gemessene Isotop einzeln exportiert werden. Falls erforderlich, kann jeweils eine zweite Datei mit den zeitlichen Abständen der Messpunkte bereitgestellt werden. Aus der Zeitangabe lässt sich jedoch abgesehen von Untersuchungen zum Transportverhalten, wie in Kapitel 5 dargestellt, kein Nutzen ziehen.

Der Export von vielen separaten Einzeldateien ist sowohl während des Exportierens aus der Gerätesoftware als auch beim Einlesen in eine Auswertesoftware aufwendig. Dieses Datenformat ist lediglich für die separate Auswertung der einzelnen Isotope übersichtlicher. Für die weiteren Schritte in der Datenverarbeitung ist es jedoch sinnvoll, alle gemeinsam gemessenen Isotope zusammen auswerten zu können. Daher wurde in dieser Arbeit ein Exportformat gewählt, welches deutlich unübersichtlicher erscheint, jedoch die Intensitätsdaten aller Isotope in einer Datei vereint. Diese werden in der Abfolge, wie sie gemessen wurden, angegeben. Das bedeutet, es wird abwechselnd jeweils ein Intensitätswert pro Isotop angegeben.

Ziel der Einleserroutine soll zum einen das automatische Erkennen aller gemessenen Isotope sein. Zum anderen soll eine Datenstruktur aufgebaut werden, welche aus einem zweidimensionalen Datensatz pro Isotop besteht. Dieser soll für alle Isotope genau gleich groß sein, die jeweiligen Intensitätswerte enthalten und spezifisch für weitere Berechnungen ansprechbar sein (vgl. Abb. 6.1 links).

In Skript A.2 ist der zugehörige Quellcode zu finden. Der Dateipfad der Rohdaten wird über eine Benutzereingabe abgefragt. Als Rückgabewert wird ein sogenanntes *dictionary* erhalten, in welchem die Daten der jeweiligen Isotope mit der Isotopenbezeichnung abgerufen werden können. Die Intensitäten sind darin jeweils als zweidimensionale Matrix angelegt. Zudem wird

die Liste der gemessenen Isotope und der Pfad, in dem die Rohdatendatei, liegt zurückgegeben.

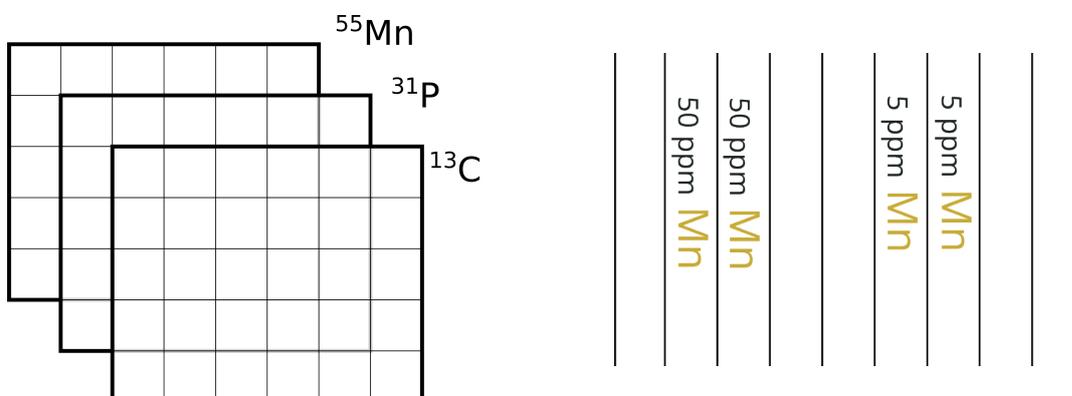


Abb. 6.1: Links: Schematische Darstellung der gewünschten Datenstruktur nach dem Einlesen der LA-ICP-MS-Daten. Rechts: Gewünschter Aufbau der Probe.

Für die Überprüfung der Skripte wurde eine Probe hergestellt, welche aus mehreren Schichten aufgebaut ist. Diese wurden nach der Vorgehensweise von Bode aus Schichten mit $50 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Mangan, Schichten mit $5 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Mangan sowie Schichten ohne zusätzliche Elemente hergestellt. Nach dem Aushärten der Schichten wurde ein Teil in Epoxidharz eingebettet und orthogonal zu den Schichten zersägt und poliert. Auf diese Weise wurde eine streifenartige Struktur, wie in Abb. 6.1 (rechts) dargestellt ist, erhalten. Über die Probe wurden 40 Linienmessungen (Messfleckgröße $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$) gemessen. Die dabei erhaltenen Daten der Isotope ^{13}C , ^{31}P und ^{55}Mn sollen im Folgenden als Beispiel dienen. Das Mangan befindet sich, wie bereits beschrieben, in insgesamt vier Schichten. Kohlenstoff ist von beiden Polymersorten ein Hauptbestandteil, während Phosphor lediglich im Epoxidharz, welches zum Einbetten verwendet wurde, vorhanden ist. [122]

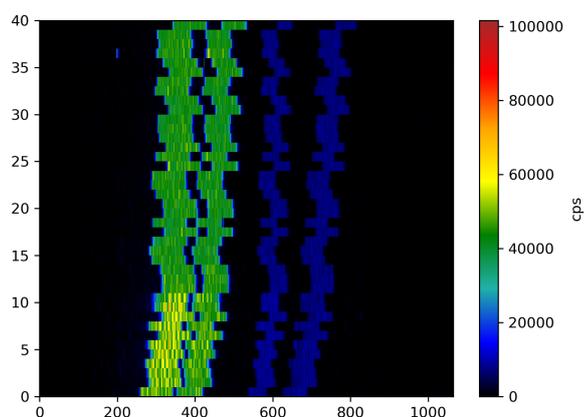


Abb. 6.2: ^{55}Mn -Elementverteilungsbild der eingebetteten Manganschichtenprobe (vgl. Abb. 6.1 (rechts)) mittels LA-ICP-MS gemessen. Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider. Im Bereich etwas höherer Intensität (gelbliche Einfärbung) wurde bereits eine Ablation durchgeführt, um herauszufinden, ob dies einen Einfluss auf das Messergebnis hat.

In Abb. 6.2 und 6.3 sind die Elementverteilungsbilder dieser Probe dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass zwar die beiden Paare manganhaltiger Schichten vorhanden sind, jedoch

gibt es zum einen zwischen diesen jeweils eine Lücke. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die nach dem Vorgehen von Bode hergestellten Schichten aufgrund des noch vorhandenen Restöls nicht gut stapelbar sind und sich voneinander abgelöst haben. Zum anderen fällt auf, dass es keine gemeinsame vertikale Linie der jeweiligen Schichten gibt, sondern die einzelnen Linienmessungen etwas versetzt zueinander sind. Ursache hierfür ist der minimal versetzte Start der Laserablation innerhalb der Datenaufnahmephase des Massenspektrometers.

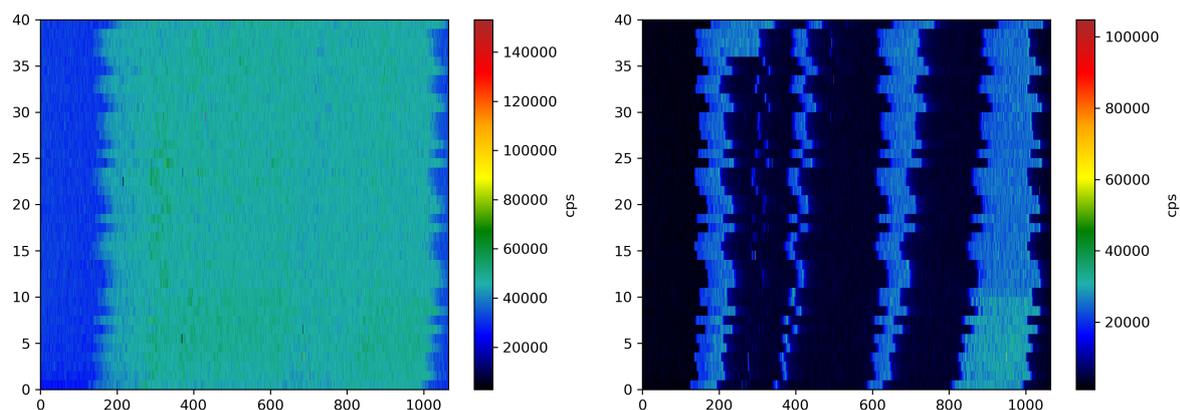


Abb. 6.3: ^{13}C - Elementverteilungsbild (links) und ^{31}P -Elementverteilungsbild (rechts) der eingebetteten Manganschichtenprobe (vgl. Abb. 6.1 (rechts)) mittels LA-ICP-MS gemessen. Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider.

Sowohl im Elementverteilungsbild von ^{13}C als auch von ^{31}P ist links im Bild und am rechten Rand ein Bereich deutlich geringerer Intensität erkennbar. Hierbei handelt es sich um die Start- und die Endphase der Messung, in welcher zwar eine Messung des Massenspektrometers stattfand, jedoch keine Probe ablatiert wurde. Für ^{55}Mn und ^{31}P ist die Intensität in diesem Bereich nahezu null. Für ^{13}C wird jedoch bereits ein Signal aufgenommen, welches von dem im System vorhandenen CO_2 verursacht wird. Nach Beginn der Messung ist das ^{13}C -Signal nahezu konstant, während das ^{31}P überall dort hoch ist, wo das zum Einbetten genutzte Epoxidharz zwischen die Schichten geflossen ist.

6.1.2 Offset-Korrektur

Im vorhergehenden Abschnitt wurde aufgezeigt, dass die Messdaten zeilenweise leicht gegeneinander verschoben sind. Im Folgenden wird ein Skript zur Korrektur dieses Problems vorgestellt. In Abb. 6.4 ist der ideale Aufbau der Messdaten einer homogenen Probe dargestellt. Zunächst beginnt lediglich die Messung des Massenspektrometers. Das heißt, dass in dieser Phase ausschließlich Analyten detektiert werden, welche in der Gasphase im Gerät vorhanden sind. Bei Beginn der Ablation steigt das Signal aller in der Probe enthaltenen Analyten an und fällt nach dem Ende der Ablation wieder ab. Dieser Anstieg des Signals bei Beginn der Ablation kann zur automatischen Identifikation des Ablationsstarts für jede Linienmessung benutzt werden.

In Skript A.3 werden die zuvor ermittelte Liste der gemessenen Isotope sowie die Datenmatrixes der Isotope übergeben. Für die Ermittlung des Intensitätsanstiegs werden aus den ersten 20 Datenpunkten der Mittelwert sowie die Standardabweichung bestimmt. Anschließend wird

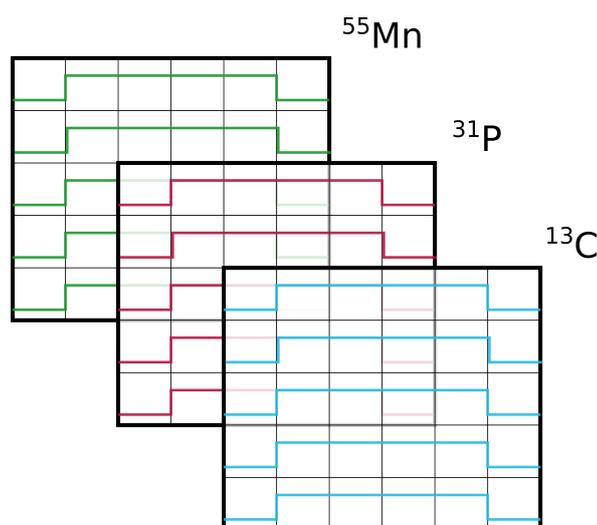


Abb. 6.4: Schematischer Aufbau der LA-ICP-MS-Messdaten bei einer homogenen Probe. Im vorderen und hinteren Bereich jeder Linienmessung wird nicht ablatiert. Deswegen wird dort ein geringeres Messsignal erhalten.

jede Linienmessung von Anfang an evaluiert und es wird der Punkt ermittelt, an welchem die Intensität die Summe aus Mittelwert (ohne Ablation) und dem Zehnfachen der Standardabweichung übersteigt. Alle Messpunkte, welche vor diesem Punkt liegen, werden entfernt. Da diese Strecke für jede Linienmessung unterschiedlich lang ist und dieses Vorgehen zu einem uneinheitlichen Ende des Datensatzes führen würde, wird auch das hintere Ende der Linienmessung so weit korrigiert, dass alle resultierenden Linien gleich lang sind. Da bei der Messung von nicht homogenen Proben, wie z. B. die im vorherigen Abschnitt vorgestellte Manganschicht, nicht alle Isotope bei Beginn der Ablation ansteigen, wird per Benutzereingabe ein Isotop ausgewählt, an welchem die Ausrichtung erfolgen soll. Für Proben mit organischer Matrix kommt dafür ^{13}C infrage, weil dieses Isotop in der Matrix überall enthalten ist. An dem zuvor vorgestellten Beispiel kommt zudem noch ^{31}P in Betracht, weil das Einbettungsmaterial Phosphor enthält und es deswegen besonders im Randbereich vorkommt. Zudem weist es im Vergleich zu ^{13}C einen weniger hohen Untergrund auf. Anhand des ausgewählten Isotops werden alle übrigen Isotope auf die gleiche Weise ausgerichtet. Dadurch kann sichergestellt werden, dass im Resultat alle Datensätze exakt gleich groß sind, was für die Weiterverwendung wichtig ist. In Abb. 6.5 sind die auf diese Weise korrigierten Elementverteilungsbilder von ^{31}P (links) und ^{55}Mn (rechts) dargestellt. Es kann erkannt werden, dass die Korrektur sehr gut funktioniert hat und die Linienmessungen korrekt aneinander ausgerichtet sind.

6.1.3 Auswerten von Linienmessungen

Die beiden, in den vorherigen Abschnitten vorgestellten Skripte, können zum einen zur Auswertung von Elementverteilungsanalysen verwendet werden, zum anderen können die bisher erläuterten Schritte auch zur Auswertung von Linienmessungen verwendet werden, welche nicht zu einem Elementverteilungsbild zusammengesetzt werden sollen. Beispielsweise können auch zur Bestimmung der Homogenität eines Materials oder zur Bestimmung der Intensität eines Referenzmaterials Linienmessungen verwendet werden.

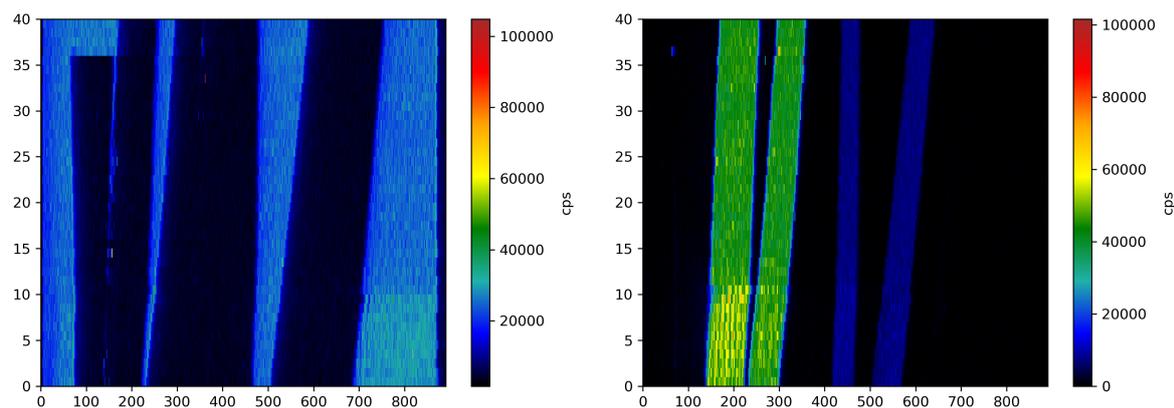


Abb. 6.5: ^{31}P (links) und ^{55}Mn -Elementverteilungsbilder (rechts) nach Neuausrichtung der einzelnen Linienmessungen aneinander. Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wieder.

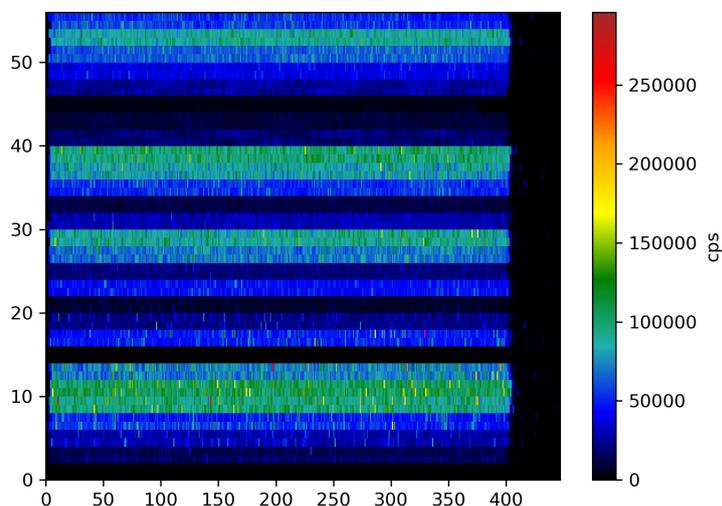


Abb. 6.6: Linienmessungen von ^{209}Bi bei verschiedenen Messbedingungen auf einem NIST 612 Glasstandard (vgl. Tab. A.7). Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wieder, wobei jede horizontale Linie eine Linienmessung ist, die für Abschnitt 5.2.1 durchgeführt wurde.

In Abb. 6.6 sind die Intensitäten von ^{209}Bi bei verschiedenen Gasströmen während der Messung des NIST 612 Glasstandards dargestellt (vgl. Abschnitt 5.2.1), wobei jeweils zwei Linienmessungen bei den gleichen Bedingungen durchgeführt wurden. Anhand der bereits beschriebenen Einleserroutine sowie des Vorgehens zur Offsetkorrektur kann auch hier ein einheitlicher Datensatz erstellt werden, mit welchem ein erster Überblick über die Daten erhalten werden kann. Anschließend kann mit Skript A.4 zunächst der Auswertebereich festgelegt werden. Wie in Abb. 6.6 erkennbar ist, kann je nach Länge der Messzeit der Beginn oder das Ende der Messung noch über die Dauer der Ablation hinausgehen. Damit die Daten während der Ablation nicht von Messdaten verfälscht werden, die ohne Ablation aufgenommen worden sind, können diese Randbereiche zusätzlich entfernt werden. Anschließend werden alle wichtigen Kenndaten wie Mittelwert, Median und Standardabweichung für jede Linie einzeln berechnet. Zudem werden auch die Anzahl der verwendeten Datenpunkte je Linie, die Anzahl der nach statistischen Kriterien als Ausreißer geltenden Punkte und die gleichen Werte nach Ausschluss der Ausreißer berechnet. Alle berechneten Daten werden gemeinsam in eine

Auswertungsdatei geschrieben, sodass diese anschließend sowohl in einem Tabellenkalkulationsprogramm als auch für weitere automatische Auswertungsschritte verfügbar sind.

6.1.4 Auswertung und Darstellung von Mappings

Für die Erstellung eines Elementverteilungsbildes aus den Linienmessungen können, neben der in Abschnitt 6.1.2 vorgestellten Korrektur der gegeneinander verschobenen Linien, auch noch weitere Bearbeitungsschritte sinnvoll sein. Diese sollen hier anhand einer Probe, die im Rahmen der Diplomarbeit von Alexandra Becker präpariert wurde, vorgestellt werden. Es handelt sich um den Stängel einer Maispflanze (*Zea mays*), von dem mit einem Kryomikrotom ein Querschnitt von 200 μm Dicke angefertigt und der auf einen Objektträger aus Acrylglas aufgebracht wurde. Die Pflanze wurde im Rahmen einer Versuchsreihe der AG Biologie/ Ökologie der TU Bergakademie Freiberg angepflanzt. Es wurde ein hydroponisches Medium verwendet und die Pflanze wurde alle zwei Wochen mit 100 ml einer Lösung gegossen, welche 1,5125 μM Siliciumverbindungen und je 10 μM Aluminium-, Mangan- und seltene Erdionen enthielt. [138]

In diesem Abschnitt wird der Datensatz von ^{41}K , welcher mittels LA-ICP-MS für den Maisstängelquerschnitt gemessen wurde, vorgestellt. Diese Daten bieten keine relevanten Informationen für die Versuchsreihe der AG Biologie/ Ökologie, jedoch eignen sich diese besonders gut, um die Funktionsweise der Pythonskripte zu demonstrieren. In Abb. 6.7 (links) ist das gemessene Elementverteilungsbild nach dem Datenimport ohne zusätzliche Bearbeitungsschritte dargestellt. Das signifikante Merkmal dieser Abbildung ist der Farbverlauf vom unteren Bildrand (Beginn der Messung) zum oberen Bildrand, wobei im Verlauf der Messung die detektierte Intensität stark abgenommen hat. Im Vergleich dazu ist die durch die Probe hervorgerufene Intensität kaum auszumachen. Die Ursache hierfür ist die polyatomare Interferenz $^1\text{H}^{40}\text{Ar}$ auf der gleichen Masse, welche besonders zu Beginn der Messung den Großteil der Signalintensität verursacht. Wichtig ist hierbei, dass die Signalintensität jedoch nicht nur während der Ablation hoch ist, sondern bereits vor Beginn der Ablation in der Gasphase des Systems gemessen wurde. Das bedeutet, dass diese z. B. durch die in der Ablationskammer vorhandene Luftfeuchtigkeit verursacht wird. Im Verlauf der etwa achtstündigen Messung wird diese jedoch überwiegend aus dem System herausgespült, wodurch die in der Gasphase gemessene Intensität sinkt.

Mithilfe von Skript A.5 kann die Intensität, die für die Gasphase ohne Ablation gemessen wurde, abgezogen werden. Dafür werden die Datensätze aller Isotope durchgegangen, wobei von jeder Linie aus dem vorderen Bereich, z. B. den ersten 20 Messpunkten, der Mittelwert gebildet wird. Dieser wird anschließend von allen Werten dieser Linienmessung abgezogen. Die auf diese Weise berechneten Datensätze aller Isotope werden anschließend zurückgegeben. Wichtig ist, dass dieser Schritt vor der in Abschnitt 6.1.2 beschriebenen Korrektur des Linienversatzes durchgeführt wird, weil der Bereich der Messdaten, in dem nicht ablatiert wurde und der für diese Berechnung nötig ist, bei der Offsetkorrektur entfernt wird (vgl. Abb. 6.4). Zudem kann die Untergrundkorrektur auch für die Auswertung von Linienscans, die nicht zu einem Elementverteilungsbild zusammengefügt werden sollen, eingesetzt werden.

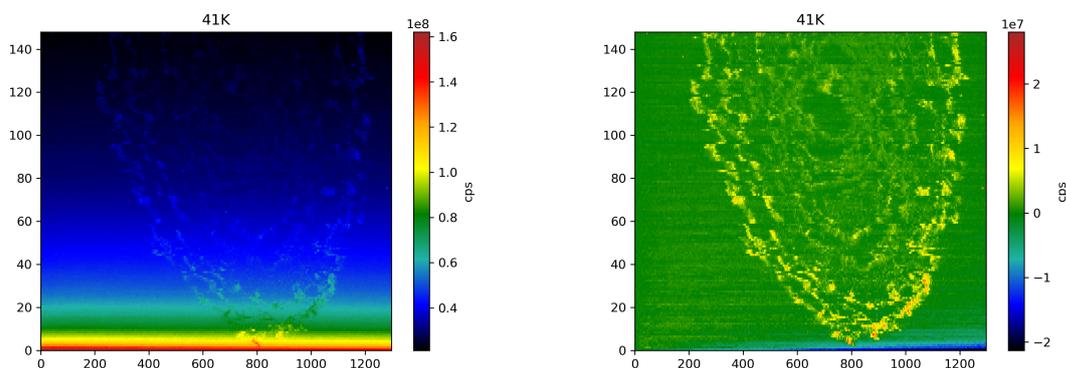


Abb. 6.7: Elementverteilungsbilder von ^{41}K eines Dünnschnittes eines Maistängels gemessen mit LA-ICP-MS. Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider. Links: Rohdaten nach dem Einlesen. Rechts: Der gleiche Datensatz nach einer zeilenweisen Untergrundkorrektur.

In Abb. 6.7 ist rechts im Bild der Datensatz von ^{41}K nach der beschriebenen Untergrundkorrektur abgebildet. Im Vergleich zur Darstellung links im Bild lässt sich die Probe nun gut identifizieren. Allerdings ist etwa die Hälfte der Farbskala mit Werten im negativen Bereich belegt. Die Ursache hierfür ist, dass die gemessene Intensität zu Beginn der Messung (unten im Bild) so stark abgesunken ist, dass bereits innerhalb einer Linienmessung deutliche Unterschiede aufgetreten sind. Da jeweils nur der Beginn der Messung für die Korrektur verwendet wurde, wo die Werte jeweils noch deutlich höher waren, werden für den Endbereich dieser Linien negative Werte erhalten, da eine Überkompensation stattfindet. Wie an dem Farbverlauf in dieser Abbildung erkennbar ist, tritt dies jedoch nur bei den ersten Linien in deutlichem Ausmaß auf. Für alle folgenden kann mit der Berechnung eines individuellen Wertes für jede Linie ein gutes Ergebnis erzielt werden. Zudem muss angemerkt werden, dass es sich beim hier vorgestellten Beispiel um einen Extremfall handelt, da im Verlauf der Messung konstant bleibende Untergrundintensitäten leichter korrigierbar sind. Anhand des hier vorgestellten Beispiels werden die Grenzen dieser Methode deutlich: Bei der Änderung des Untergrundes innerhalb der Zeit einer Linienmessung findet eine Überkompensation bei sinkenden und eine Unterkompensation bei steigenden Werten statt. Allerdings weist die automatische Auswerterroutine den Vorteil auf, dass innerhalb von Sekunden jede Linie aller Isotope individuell korrigiert werden kann, was bei einer händischen Auswertung einen sehr hohen Zeitaufwand erfordern würde. Zudem ist das Ergebnis deutlich besser, als es durch die Korrektur des gesamten Datensatzes mit nur einem Messwert wäre.

In Abb. 6.8 (links) wurde, wie bereits in Abschnitt 6.1.2 beschrieben, der Versatz der einzelnen Linienmessungen korrigiert. Durch dieses Vorgehen wurde auch für diese Probe eine wesentliche Verbesserung des Ergebnisses erzielt. Es können nun die umeinander liegenden Blätter des Maistängels gut identifiziert werden. Außerdem wurde für diese Darstellung der Intensitätsbereich der Farbskala eingeschränkt. In Abb. 6.7 umfasst die Farbskala jeweils alle Werte, welche pro Isotop vorkommen, wobei der höchste braun und der niedrigste schwarz im Elementverteilungsbild dargestellt wird. Alle Werte dazwischen werden über den Umfang

der Farbskala verteilt. Das führt dazu, dass in Abb. 6.7 (rechts) die durch die Untergrundkorrektur entstandenen negativen Werte einen großen Teil des Farbbereiches einnehmen. Zudem liegt der größte Teil des Verteilungsbildes im Farbbereich zwischen Grün und Gelb, obwohl die Skala zudem Orange, Rot und Braun umfasst. Die Ursache dafür ist, dass es einzelne wenige Messpunkte mit wesentlich höherer Intensität als die übrigen Messpunkte gibt. Diese legen den Bereich der Farbskala (für dieses Isotop) fest, jedoch sind es zu wenige Punkte, um diese gut identifizieren zu können. Daher wurde die Farbskala im Folgenden angepasst. Der Wert null wurde für das untere Ende der Farbskala festgelegt und der Farbe dunkelblau zugeordnet. Allen Werten, die niedriger liegen (verursacht durch zu starke Untergrundkorrektur), wird eine schwarze Färbung gegeben, unabhängig von der konkreten Intensität. Auf diese Weise benötigen die Werte unter null keinen großen Bereich der Farbskala, sind jedoch immer noch gut von den positiven Werten abgegrenzt dargestellt. Im Abb. 6.8 (links) erscheint nun ein wesentlich größerer Messbereich im oberen Teil der Darstellung unter null zu liegen, als dies vorher der Fall war. Die Ursache hierfür ist ebenfalls in der Untergrundkorrektur zu finden. Durch die Verwendung des Mittelwertes als Untergrundabzug liegen bei einer idealen Verteilung der Werte um den Mittelwert anschließend die Hälfte der Werte unter und die andere Hälfte über null. Durch das gerätebedingte Rauschen des Signals wird eine Verteilung der Messwerte um den Mittelwert erhalten. Dadurch werden allerdings idealerweise die Hälfte der Messpunkte, die nicht durch zusätzliche Intensität der Probe erhöht wurden, in den negativen Bereich gesetzt. Durch die Anpassung der Farbskala ist dieses Verhalten anschließend deutlicher erkennbar, da es keinen fließenden Übergang zwischen blau und schwarz mehr gibt.

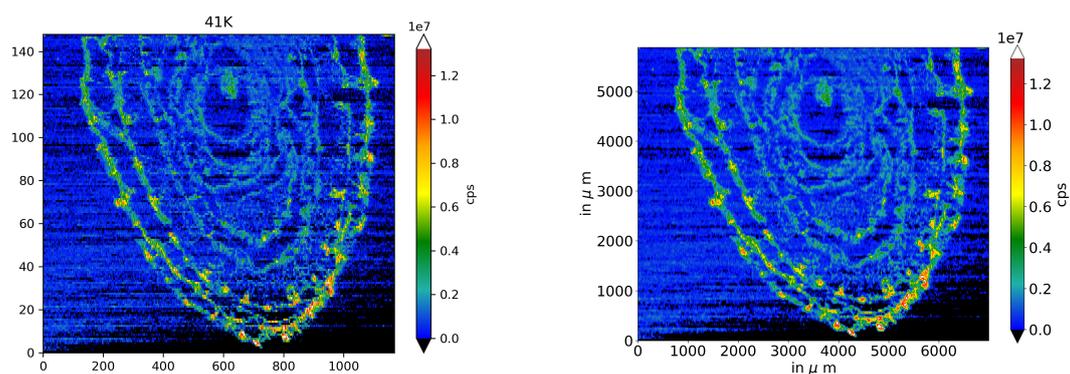


Abb. 6.8: Elementverteilungsbilder von ^{41}K eines Dünnschnittes eines Maistängels gemessen mit LA-ICP-MS. Links: Daten nach Untergrundkorrektur und Offsetkorrektur mit angepasster Farbskala. Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider. Rechts: Der gleiche Datensatz nach der Skalierung der Achsen und der Verwendung einer Konturdarstellung.

Außerdem wurde in der Darstellung in Abb. 6.8 (links) auch das obere Ende der Farbskala angepasst. Im Gegensatz zum bisher für die Darstellung verwendeten Skript A.7 kann im hier verwendeten Skript A.8 die Obergrenze der Farbskala vom Benutzer frei festgelegt werden. In dargelegten Fall wurden 99,9 % verwendet. Das bedeutet, dass die oberen 0,1 % der Intensitätswerte des Isotops von der Farbskala ausgeschlossen wurden. Dieser Anteil wird

jedoch auf die Anzahl der Werte bezogen. Das bedeutet, dass die Werte nach Intensität sortiert werden und die 0,1 % der Werte mit der höchsten Intensität von der Farbskala ausgeschlossen und weiß dargestellt werden. Diese Werte nahmen einen überproportional großen Bereich der Farbskala ein, welcher nun zur besser differenzierten Darstellung der Intensität der übrigen Werte genutzt werden kann. Trotzdem lassen sich die Bereiche mit der höchsten Intensität noch optisch von den anderen abgrenzen. Deutlicher wird dieses Phänomen bei den Verteilungsbildern der manganhaltigen Schichtenproben. Diese sind in Abb. A.18 und A.19 dargestellt. Zudem ist der Boxplot der Intensitäten abgebildet, wobei deutlich wird, dass der obere Bereich der Skala jeweils nur von einzelnen Punkten beansprucht wird. Außerdem sind dort die Verteilungsbilder mit angepasster Skala abgebildet, wobei deutlich wird, dass diese Änderung einen großen Einfluss auf die differenziertere Darstellung der übrigen Datenpunkte hat, da für diese nun ein größerer Bereich der Farbskala zur Verfügung steht.

Die Darstellung in Abb. 6.8 (rechts) wurde mittels Skript A.9 erstellt. Hierbei ist es möglich neben dem Anpassen der Farbskala durch Benutzereingabe der Messfleckgröße, des Linienabstandes und der Linienlänge das Verteilungsbild nach der tatsächlichen Größe des Messbereiches zu skalieren. Zusätzlich wurde hier eine Konturdarstellung verwendet, die sowohl bei dieser als auch bei den anderen Darstellungsfunktionen wählbar ist. Dabei wird der Übergang zwischen den einzelnen Messpunkten fließend gestaltet, sodass diese nicht mehr pixelartig erkennbar sind. Aufgrund dessen, dass bei diesem Datensatz ein großer Teil der Datenpunkte zwischen Blau und Schwarz aufgeteilt ist und es dazwischen keinen Bereich auf der Farbskala gibt, ist dieser Schritt bei dem hier vorgestellten Datensatz nur schlecht erkennbar.

In Skript A.6 sind drei einzelne Funktionen dargestellt, mit deren Hilfe die Daten geglättet werden können (Sovitzky-Golay-Filter oder gleitender Durchschnitt). Abhängig vom Datensatz und der Art der Probe kann dies sinnvoll sein, um das gerätebedingte Rauschen der Messdaten oder einzelne höhere Messpunkte zu kompensieren. Da sich das bei dem in diesem Abschnitt vorgestellten Beispiel als weniger nützlich erwiesen hat, weil dieses feinere Strukturen aufweist, ist in Abb. A.20 (links) ein Beispiel anhand der eingebetteten Lackschichten dargestellt, für welches der gleitende Durchschnitt verwendet wurde. Weiterhin ist im gleichen Skript auch eine Funktion für die Normierung auf eines der gemessenen Isotope enthalten.

Mithilfe von Skript A.11 können zudem Kalibrierdaten einbezogen werden. Dafür wird neben den Kenndaten zum Messbereich auch der Anstieg, der Achsenabschnitt, die Bestimmungsgrenze und der höchste Kalibrierwert je Isotop abgefragt. Zudem kann für jedes gemessene Isotop individuell entschieden werden, ob für dieses Kalibrierdaten einbezogen werden sollen. Anhand dieser Angaben werden die Intensitäten in Massengehalte umgerechnet und die Farbskala angepasst. Da für das hier vorgestellte Beispiel keine Kalibrierdaten aufgenommen wurden, wurde separat eine Linienmessung einer manganhaltigen Lackschicht mit $50 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ aufgenommen. Anhand dieser wurde eine Kalibriergerade durch null erstellt. In Abb. A.20 (rechts) ist die dabei erhaltene Darstellung aufgeführt. Die erhaltenen Gehalte sind nicht sehr

belastbar, weil dafür eine bessere Qualität der Kalibrierung unbedingt erforderlich wäre. Allerdings konnte damit die Funktionsweise dieses Skriptes verdeutlicht werden.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die in diesen Abschnitten vorgestellten Funktionen einen großen Beitrag zur Beschleunigung der Datenauswertung der LA-ICP-MS-Messungen leisten können. Bei der Verwendung herkömmlicher Tabellenkalkulationsprogramme werden dafür viele Stunden bis einige Tage benötigt. Trotzdem bieten jene Programme nicht alle Möglichkeiten der hier vorgestellten Skripte, sodass einige Schritte, z. B. Korrektur der gegeneinander verschobenen Linien, nicht ohne enormen Mehraufwand oder gar nicht möglich wären. Mit den hier vorgestellten Skripten sind alle erläuterten Schritte innerhalb weniger Minuten durchführbar, was selbst im Vergleich zur Messdauer dieser Daten sehr wenig ist. Außerdem wird durch die Untergliederung in einzelne Funktionen ein hohes Maß an Flexibilität erlangt, da je nach Benutzerwunsch nur eine Auswahl der Skripte in beinahe beliebiger Reihenfolge angewendet werden kann. Weiterhin kann mithilfe von Skript A.10 nach jedem beliebigen Schritt der Datenexport in ein Format, welches mit Tabellenkalkulationsprogrammen kompatibel ist, erfolgen.

6.1.5 Clusteranalyse

Die Datenstruktur, welche durch das Einlesen der LA-ICP-MS-Daten mit dem Skript A.2 erhalten wird, kann auch die weitere Analyse der Daten mittels statistischer Methoden erleichtern. Hierbei kann ausgenutzt werden, dass die Daten selbst nach Korrekturschritten noch genau deckungsgleich sind, weil alle Schritte auf exakt die gleiche Weise mit den Daten aller Isotope durchgeführt wurden. Beispielsweise können mithilfe einer Clusteranalyse zusätzliche Informationen über die Probe gewonnen werden.

Dafür werden alle gemessenen Isotope eines Punktes verknüpft (vgl. Abb. 6.9 links), anschließend wird deren Abstand berechnet. Dies erfolgt jedoch nicht im Bereich des Abstandes der ursprünglichen Messpunkte, sondern die Lage der Punkte wird in einem n -dimensionalen Koordinatensystem verwendet. Hierbei ist n die Anzahl der gemessenen Isotope. Beispielhaft ist dies für die drei bisher besprochenen Isotope der manganhaltigen Schichten in Abb. 6.9 (rechts) dargestellt. Punkte, welche sich in dem auf diese Weise erhaltenen Koordinatensystem nahe sind, haben ähnliche Messwerte für die untersuchten Isotope. Mittels Clustering-Verfahren können diese Punkte in Gruppen eingeteilt werden, wobei die Anzahl der zu bildenden Gruppen vorher festgelegt werden muss.

Mit Hilfe von Skript A.12 können z. B. die exportierten .txt-Dateien eines LA-ICP-MS-Datensatzes zur Clusteranalyse verwendet werden. Per Benutzereingabe wird der Dateipfad und die maximale Anzahl der zu berechnenden Cluster festgelegt. Aus den Messdaten werden Objekte der Klasse „Pixel“ erstellt. Als Attribute werden für jedes Pixel die x - und y -Koordinaten im ursprünglichen Verteilungsbild sowie die Clusternummer und die Intensitäten der gemessenen Isotope angegeben. Die Clusternummer ist anfangs nicht definiert. Alle Pixel erhalten eine Identifikationsnummer und werden in einem *dictionary* gespeichert. Aus diesem kann die für die Berechnung erforderliche Datenmatrix erstellt werden. Anschließend wird beginnend bei zwei bis zur vorgegebenen Maximalzahl die Clusteranalyse mit *KMeans*-Algorithmus

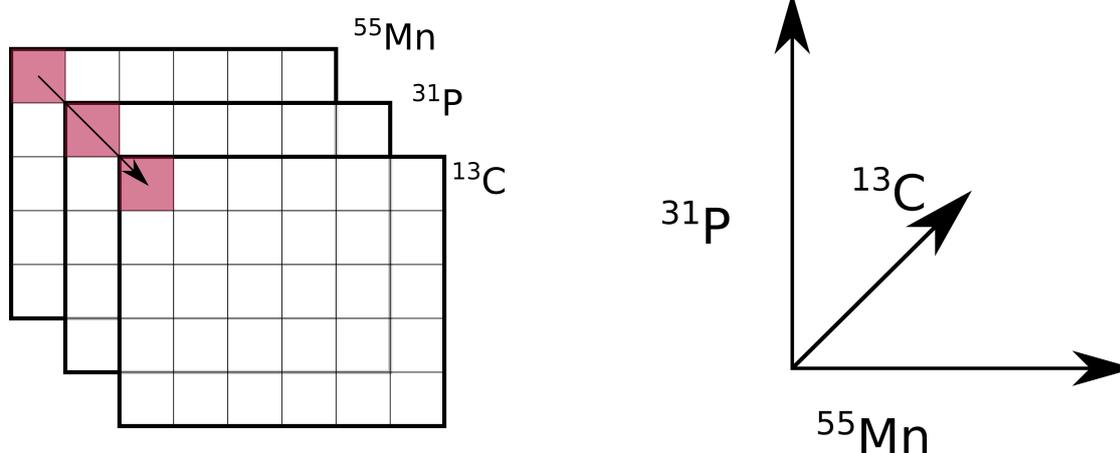


Abb. 6.9: Links: Schematische Darstellung der Verknüpfung der Datenpunkte im Datensatz über die verschiedenen gemessenen Isotope. Rechts: Koordinatensystem mit den drei besprochenen Isotopen der Lackschichten. Jedes gemessene Isotop kann in einer eigenen Dimension dargestellt werden.

durchgeführt. Der Vorteil von *KMeans* gegenüber beispielsweise hierarchischem Clustering ist, dass weniger Speicherplatz gleichzeitig benötigt wird und daher auch größere Datenmengen verwendet werden können. Während beim hierarchischen Clustering zunächst der exakte Abstand in allen verwendeten Dimensionen zwischen allen Datenpunkten berechnet und gespeichert wird, was sehr viel Speicherplatz verbraucht, ist der Ansatz hier iterativ. Zunächst werden alle Datenpunkte zufällig einem der Cluster zugewiesen. Anschließend wird die Lage der Cluster festgestellt und überprüft, ob es Punkte gibt, die besser zu einem anderen als zum aktuell zugewiesenen Cluster passen. Diesen Punkten wird das passendere Cluster zugewiesen. Anschließend wird die Lage der Cluster erneut berechnet, weil diese sich durch die Neuzuweisung einiger Punkte geändert haben könnte. Dieses Vorgehen wird so lange wiederholt, bis sich keine Änderung mehr ergibt. Die x-y-Position im ursprünglichen Datensatz hat hierbei keinen Einfluss. [145]

Wurde die Clusteranalyse für eine Clusterzahl beendet, so wird mithilfe der vorher für jedes Pixel gespeicherten x-y-Position und der diesem nun zugewiesenen Clusternummer ein Bild erstellt, in dem jedes Cluster eine andere Farbe hat. Daher lässt sich optisch erkennen, an welcher Position des Messbereiches welches Cluster dominant ist und wo größere Bereiche ähnlicher Zusammensetzung vorliegen. Zudem wird ein Report erstellt, der für jedes Cluster angibt, wie viele der Messpunkte diesem zugewiesen wurden. Weiterhin ist jeweils pro Cluster der durchschnittliche Intensitätswert für jedes Isotop in diesem Cluster sowie die Abweichung zwischen den Werten, die diesem zugewiesen wurden, angegeben. Mithilfe dieses Reports kann beurteilt werden, ob die aktuelle Zahl an Clustern die richtige für diesen Datensatz ist. Eine solche Ausgabe wird für alle Clusterzahlen zwischen zwei und dem angegebenen Maximalwert erstellt.

In Abb. 6.10 ist das Ergebnis der Clusteranalyse der manganhaltigen Schichten dargestellt. Wie bereits in den vorherigen Ausführungen zu dieser Probe erläutert, besteht diese aus vier verschiedenen Bereichen. Daher wird erwartet, dass diese am besten durch vier Cluster dargestellt werden können, was auch der Fall ist. Für Proben mit nicht bekannter Clusterzahl kann eine gute Clustermenge ermittelt werden, indem die Anzahl der Cluster gegen die durch-

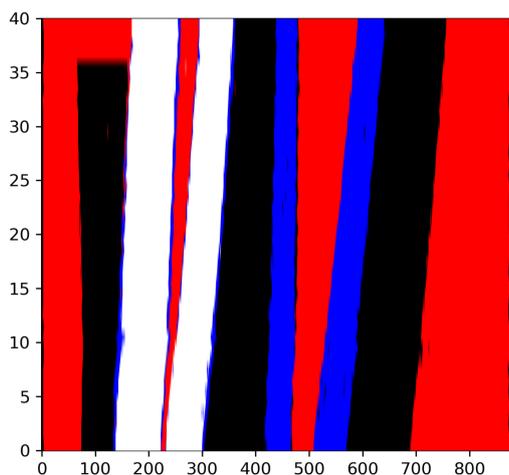


Abb. 6.10: Ergebnis der Clusteranalyse des Manganschichten-Datensatzes mit vier verschiedenen Clustern, die farblich gekennzeichnet sind. Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider.

schnittliche Standardabweichung der Werte je Cluster aufgetragen wird (vgl. Abb. A.21). Ist die Clusterzahl zu niedrig, sinkt die durchschnittliche Standardabweichung zur nächsthöheren Clusterzahl deutlich ab. Ist dies nicht der Fall, wird durch die Erhöhung der Clusteranzahl keine wesentliche Verbesserung erzielt.

In Abb. 6.10 lässt sich erkennen, dass die verschiedenen Bereiche der Probe gut in unterschiedliche Cluster eingeteilt wurden. Rot ist der Bereich eingefärbt, in dem sich das Epoxidharz, welches zum Einbetten verwendet wurde, befindet. Dieses weist einen höheren Phosphorgehalt auf als die Acrylschichten. Die Acrylschichten, in welche keine zusätzlichen Elemente eingebracht wurden, sind in der Darstellung schwarz eingefärbt. Die beiden Schichten, welche einen Mangangehalt von $50 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ aufweisen, sind weiß dargestellt und die beiden mit $5 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Mangan blau. Die Zuweisung zu den Clustern hat gut funktioniert. Lediglich in den Randbereichen der weiß gefärbten Schicht gibt es kleine blau gefärbte Bereiche. Die Ursache dafür ist, dass der Messfleck nur noch zu einem kleinen Teil auf der manganhaltigen Schicht war, weshalb die an dieser Stelle gemessene Intensität eher zu den Schichten mit dem niedrigeren Mangangehalt passt. Dieses Verfahren könnte beispielsweise zur Identifizierung gleicher Bereiche in Korrosionsproben oder Mineralphasen in Gesteinsproben eingesetzt werden.

6.2 Datenkombination verschiedener Analysemethoden

Im vorangegangenen Abschnitt dieses Kapitels wurde lediglich auf die Verarbeitung der Daten der orts aufgelösten LA-ICP-MS-Messungen eingegangen. Besonders für die Analyse von biologischen Proben können mit dieser Methode jedoch nicht alle interessanten Informationen erhalten werden, weil es z. B. nicht möglich ist, Moleküle direkt zu messen. Für die Nachvollziehbarkeit biologischer Prozesse wie der Auflösung von Implantaten oder der Wirkungsweise von Krebsmedikamenten ist es jedoch wichtig sowohl die Elementverteilung als auch die Verteilung bestimmter biologischer Marker in der Probe bestimmen zu können. Da-

mit diese Informationen erhalten werden können, müssen unterschiedliche Analysemethoden für die gleiche Probe durchgeführt werden, die jeweils komplementäre Anwendungsbereiche besitzen.

Von Becker *et al.* wurde für die Analyse eines Mausherzens sowohl ein Dünnschnitt für die LA-ICP-MS-Messung als auch einer für SIMS-Messungen verwendet. Auf diese Weise konnten sowohl Metalle wie Kupfer und Zink als auch Biomoleküle wie Cholin orts aufgelöst nachgewiesen werden, was einen intensiveren Einblick in die ablaufenden metabolischen Vorgänge ermöglichte. [1]

Biangi *et al.* nutzen zur Untersuchung der Wirkungsweise eines platinhaltigen Krebsmedikamentes sowohl LA-ICP-MS, als auch Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI). Dabei wurden ebenfalls jeweils aufeinanderfolgende Dünnschnitte für die beiden Methoden genutzt. Als Matrix wurde α -Cyano-4-hydroxymizsäure verwendet. Als nachteilig wurde beschrieben, dass aufgrund der starken Matrixabhängigkeit der MALDI-Ionisierung keine Quantifizierung vorgenommen werden kann. Es konnten mit beiden Methoden Verteilungsbilder der jeweiligen Analyten erhalten werden, sodass mögliche Korrelationen zwischen Metall- und Molekülverteilung diskutiert werden konnten. [148]

Blaske *et al.* zeigten hingegen, dass auch die gemeinsame Verwendung von zwei elementanalytischen Methoden sinnvoll sein kann. Für die Analyse des Austragsverhaltens eines Metallimplantates in das umliegende kanzerogene Knochengewebe konnten LA-ICP-MS und μ RFA ergänzend verwendet werden. Während mittels LA-ICP-MS die Spurenelementgehalte im Knochengewebe bestimmt werden konnten, war die μ RFA besser für die höheren Gehalte im Implantatbereich geeignet. [149]

Neben der Vorgehensweise, verschiedene Teile der gleichen Probe mit sich ergänzenden Techniken zu analysieren, gibt es auch Ansätze mehrere Analysemethoden in einem Gerät zu vereinen. Dies bietet den Vorteil, dass nur ein Messdurchlauf notwendig ist und dieser an demselben Stück der Probe stattfinden kann. Als Beispiel kann hier die Kombination von LIBS und LA-ICP-MS in einem Gerät genannt werden. Beide Methoden können durch einmalige Laserablation durchgeführt werden, wobei sich die Schwächen beider Methoden gegenseitig ausgleichen. [150]

Herdering *et al.* untersuchten sowohl die Element- als auch die Molekülverteilung, indem der Partikelstrom nach der Laserablation aufgeteilt wurde. Ein Teil wurde zu einem ICP-MS geleitet, der größere Teil des Partikelstroms wurde für die Massenspektrometrie mit chemischer Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI-MS) verwendet, weil diese Methode weniger empfindlich ist. Auf diese Weise konnten in der mit Eosin Y präparierten Niere einer zuvor mit einer cis-Platin-Verbindung behandelten Maus sowohl die Platinverteilung als auch die Fragmentationen des Eosins nachgewiesen werden. [151]

Derartige Hybridgeräte stehen jedoch nur selten zur Verfügung. Oftmals befinden sich die für die Analyse relevanten Messgeräte auch nicht im gleichen Labor, sodass die Kombination beider Geräte in einem Messdurchlauf nicht erreichbar ist. Holzlechner *et al.* konnten allerdings zeigen, dass durch die vollständige Kombination von Datensätzen element- und molekülanalytischer Methoden die Auswertung mittels statistischer Verfahren für alle Informationen gemeinsam möglich wird. In jener Arbeit konnte allerdings sichergestellt werden, dass mit den verwendeten Methoden die gleiche Auflösung erzielt wurde. [152]

Im Folgenden wird eine Vorgehensweise vorgestellt, die es ermöglicht die Datensätze verschiedener Methoden zu kombinieren. Zum einen wurde die LA-ICP-MS verwendet, welche bereits vorgestellt wurde und zur Analyse der Elementverteilung im Spurenbereich verwendet werden kann. Die Messfleckgröße kann zwischen 4 μm und 225 μm eingestellt und der Abstand zwischen den Linienmessungen frei gewählt werden. Zum anderen wurde die μRFA verwendet, deren Nachweisgrenzen im Spurenbereich liegen, die jedoch besonders für Elemente höherer Ordnungszahl eingesetzt werden kann. Bei dieser Methode lässt sich die Messfleckgröße nicht verändern. Diese weist eine Größe von 25 μm im Durchmesser auf. Für die Messung kann eine Überlappung verschiedener Messflecken eingestellt werden, sofern die Messgeschwindigkeit von 500 $\frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$ nicht unterschritten wird. Als dritte Methode wurde LDI in Kombination mit Fourier-Transformations Ionenzyklotronresonanz Massenspektrometrie (FT-ICR-MS) verwendet. Bei dieser Methode stand wie bei der μRFA nur ein runder Messfleck zur Verfügung. Dieser ist im Bereich von 100 μm bis 250 μm Durchmesser in fünf Stufen verstellbar, wobei ein Überlappen der Messflecken nicht empfohlen wird. Somit stehen drei verschiedene Analysensysteme zur Verfügung, welche sich bereits deutlich in der erzielbaren Auflösung unterscheiden. Für die Zusammenführung element- und molekülanalytischer Informationen sind diese jedoch bestens geeignet.

Ein weiterer Unterschied zwischen den genannten Methoden ist, dass sich die von der Gerätesoftware exportierbaren Datenformate deutlich unterscheiden, weshalb jeweils spezifische Einlese- und Verarbeitungsschritte erforderlich sind, damit alle Daten in gleicher Form zusammengeführt werden können. Auf die Datenverarbeitung der LA-ICP-MS-Daten wurde bereits am Anfang dieses Kapitels eingegangen. Daher soll es im nächsten Absatz um die Aufarbeitung der LDI-FT-ICR-MS-Daten gehen.

6.2.1 Daten der ultrahochauflösenden Molekülmassenspektrometrie

Bei den LDI-FT-ICR-MS-Messungen wird zunächst mit einem Laserpuls das Probenmaterial desorbiert, wobei es auch zur Ionisation kommt. Im Gegensatz zur LA-ICP-MS, wo die Fluenz der Laserablation bei mehreren $\frac{\text{J}}{\text{cm}^2}$ liegt, werden hier lediglich Werte im $\frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ -Bereich verwendet, sodass die Analyse von Molekülen möglich ist, die andernfalls bereits zu stark zersetzt würden. Zur Verbesserung des Desorptions- und Ionisationsprozesses kann die Probe vor der Analyse mit einer Matrix versehen werden. In diesem Fall handelt es sich um MALDI, was in dieser Arbeit allerdings nicht verwendet wurde. Zunächst werden die Ionen in das Ultrahochvakuum überführt, fokussiert und zu Ionenpaketen akkumuliert. Für die Detektion werden

die Ionen in ein Magnetfeld geführt, wo diese sich aufgrund ihrer Ladung auf einer Kreisbahn bewegen. Mithilfe eines zusätzlichen elektrischen Feldes kann die Geschwindigkeit und der Radius der kreisförmigen Bewegung eines Ions erhöht werden, wenn die verwendete Frequenz der Zyklotronfrequenz entspricht. Durch die Kreisbahn der Ionen wird in den umgebenden Detektorplatten ein Strom induziert. Auf diese Weise kann die Änderung, welche jeweils durch das zusätzliche Feld erzeugt wurde, bestimmt werden. Die Verwendung verschiedener Frequenzen ermöglicht die Analyse unterschiedlicher Masse-zu-Ladungsverhältnis (m/z) der Ionen. [17, 19]

In den folgenden Abschnitten wird die Vorgehensweise zur Analyse der LDI-FT-ICR-MS-Daten zunächst allgemein beschrieben. Das zugehörige Beispiel wird in Abschnitt 6.2.2 vorgestellt. Die Daten der LDI-FT-ICR-MS-Messungen können nach imzML-Standard [153] aus der Gerätesoftware exportiert werden. Diese liegen anschließend pro Messung in zwei Dateien vor. Die erste ist eine binäre Datei und beinhaltet die eigentlichen Messdaten. Die zweite ist eine xml-Datei und enthält die Metadaten zur Messung. Zusätzlich lässt sich als Drittes eine csv-Datei exportieren, die eine Liste der Messpunkte, deren x- und y-Position auf der Probe und die Zugehörigkeit zu einer Messregion angibt.

Wie in Abb. 6.11 dargestellt, werden pro Probe jeweils zwei Regionen gemessen. Der Bereich, in welchem sich der Analyt von Interesse befindet (rot im Bild) und eine zweite Region (grün im Bild), die sich in einem Bereich der Probe befindet, der lediglich die Matrix aufweist und die normalerweise deutlich kleiner ist. Diese zweite Region wird als Referenzbereich verwendet. Alle in diesem Bereich detektierten m/z lassen sich auf diese Weise der Matrix bzw. dem Trägermaterial zuordnen und stammen nicht von der eigentlichen Probe.

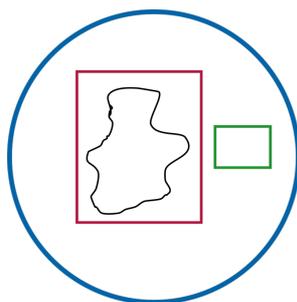


Abb. 6.11: Schematische Darstellung der beiden Messregionen auf einer Probe. In Blau ist die gesamte Region des Probenträgers dargestellt. Die Messregion mit dem Analyten ist rot und jene ohne Analyt (Blindwertregion) grün dargestellt.

Mithilfe der in Skript A.13 aufgeführten Funktionen können die Messdaten aus den imzML-Dateien in Python eingelesen werden, wobei eine bereits vorhandene Funktion zum Entpacken der binären Daten (`pyimzml.ImzMLParser`) des Alexandrov Team der EMBL Heidelberg [154] verwendet wurde. Anschließend werden die Daten mittels der Angaben aus der Messpunktliste in separate Datensätze für jede Region getrennt. Bei bekannten m/z wäre es bereits an dieser Stelle möglich ein Verteilungsbild für eine Region anzufertigen. Allerdings muss hierfür das jeweilige m/z angegeben werden. Bei der Analyse biologischer Proben müssten in diesem

Fall alle denkbaren m/z händisch durchprobiert werden. Außerdem müsste das jeweilige Verteilungsbild auch für die Referenzregion erstellt werden, damit ermittelt werden kann, ob es sich bei den Signalen um Moleküle aus der Matrix oder dem Trägermaterial handelt. Alternativ dazu kann eine Liste der m/z erstellt werden, welche in der interessanten Region vorhanden sind, jedoch nicht in der Referenzregion gemessen wurden. Dafür muss zunächst das Summenspektrum über alle Messpunkte einer Region berechnet werden.

6.2.1.1 Summenspektrum erstellen

Für die Erstellung des Summenspektrums einer Region mit Skript A.14 wird zunächst für jeden Messpunkt der Probe das Massenspektrum abgerufen. Dieses besteht aus jeweils einer Liste der detektierten m/z und einer zweiten Liste mit den zugehörigen gemessenen Intensitäten. Es wird temporär als binäre Datei gespeichert.

Anschließend müssen alle Spektren durchgegangen werden, wobei in die Liste der m/z des Summenspektrums alle m/z aufgenommen werden sollen, wenn deren gemessene Intensität an einem Messfleck größer als null war. Zusätzlich soll deren Intensität zur bisher bekannten Intensität dieses m/z in der Intensitätenliste des Summenspektrums addiert werden. Problematisch ist hierbei allerdings die sehr große Datenmenge, die für die meisten Datensätze bereits als binäre Datei im Bereich über einem Gigabyte liegt. Zudem weisen bereits die Einzelspektren eine hohe Anzahl an Datenpunkten auf. Für jeden neuen Eintrag in die m/z -Liste des Summenspektrums müsste, aufgrund der in Python standardmäßig verwendeten einfach verketteten Listen, die gesamte Liste an eine neue Speicherstelle geschrieben werden. Da dieses Vorgehen sehr viel Zeit benötigen würde, wurde für dieses Skript auf die Verwendung von doppelt verketteten Listen zurückgegriffen, was es möglich macht, Einträge hinzuzufügen, ohne die gesamte Liste an eine neue Speicherstelle zu verschieben. Außerdem wurde die Zusammenführung der Einzelspektren in mehreren Schritten durchgeführt, wodurch eine teilweise Parallelisierung möglich wurde, die ebenfalls zur Zeitersparnis beitrug. Dies wird umgesetzt, indem automatisch die Anzahl der zur Verfügung stehenden Prozessorkerne evaluiert wird. Anschließend werden die zuvor erstellten binären Dateien, welche die Einzelspektren enthalten, aufgeteilt. Somit wird zunächst in verschiedenen Prozessen parallel ein Summenspektrum für einen Teil der Messpunkte erstellt.

Die meisten heute verwendeten Prozessoren können acht oder 16 Prozesse gleichzeitig ablaufen lassen. Deswegen werden die nach dem ersten Schritt erhaltenen Teilsommenspektren in der nächsten Runde in vier Gruppen aufgeteilt und in diesen parallel zu insgesamt vier Teilsommenspektren weiter zusammengefasst. Im letzten Schritt werden die vier Teilspektren zu einem addiert, wobei nur noch ein Prozessorkern verwendet wird.

Aus dem fertigen Summenspektrum lassen sich Informationen, wie die Höhe des Rauschens sowie Aussagen über die Verteilung der Intensitäten gewinnen. Mit diesen Daten kann festgelegt werden, ab welcher Intensität die Signale für die weitere Auswertung verwendet werden sollen und welche zu niedrig sind, um sich deutlich vom Rauschen abzuheben.

6.2.1.2 Peakliste extrahieren

Nach der Berechnung des Summenspektrums und der Bestimmung des Rauschlevels kann mit Skript A.15 aus der Referenzregion eine Liste der m/z erstellt werden, deren Intensitäten oberhalb des Rauschlevels liegen. Dafür wird für jede Messstelle des Referenzbereiches zunächst das Spektrum geladen. In diesem werden alle Peaks ermittelt, deren Werte das Rauschen um einen bestimmten Faktor überschreiten. Für diese Werte und die umgebenden Punkte wird anschließend ein Fit an die Lorentzfunktion durchgeführt, weil vorher nicht sicher ist, dass der höchste Messpunkt eines Peaks tatsächlich auf dem Peakmaximum liegt. Somit kann mit dem Maximum der Lorentzfunktion ein präziserer Wert bestimmt werden. Alle auf diese Weise bestimmten m/z werden in einer neuen Liste gesammelt, welche die in dem Referenzbereich vorkommenden m/z repräsentiert.

Mit dem Skript A.16 wird auf ähnliche Weise die Bestimmung der m/z im Bereich der Probe durchgeführt. Allerdings werden hierbei lediglich m/z gespeichert, welche nicht in der Liste des Referenzbereiches vorkommen. Zudem wird ein Objekt für jede Messstelle erzeugt, in welchem jeweils die Koordinaten der Messstelle und die beiden Listen enthalten sind, welche die für diesen Messfleck detektierten m/z , sowie die zugehörigen Intensitäten beinhalten. Außerdem wird auch für den Probenbereich eine Liste mit allen m/z erstellt.

Im nächsten Schritt können mit Skript A.18 für alle m/z in der Liste Verteilungsbilder erstellt werden. Dafür werden alle m/z innerhalb eines wählbaren Toleranzbereiches (Standardwert ist 0,001 Da) zusammengefasst und jeweils sowohl die Datenmatrix als auch das zugehörige Bild erstellt.

6.2.2 Probenpräparation

Für die Überprüfung der korrekten Funktionsweise der Skripte für die Kombination der Messdaten wurde eine Probe hergestellt. Diese sollte für jede Methode einen geeigneten Analyten aufweisen. Als Analyt für die LDI-FT-ICR-MS wurde Curcumin (vgl. Abb. 6.12 links) ausgewählt. Dieses befindet sich zum einen im passenden Massenbereich, um gut mit dieser Methode detektierbar zu sein. Zum anderen besitzt es zwei Hydroxygruppen, welche eine leichte Ionisierung des Moleküls ermöglichen. Der dritte Vorteil dieser Verbindung ist ihre intensive gelbe Färbung, die es möglich machte, auch optisch die Verteilung auf der Probe identifizieren zu können.

Es wurden 22 mg Curcumin in 2 ml Aceton gelöst. Von dieser Lösung wurden 3 μ l auf ein Filterpapier getropft, wodurch sich eine kreisförmige Verteilung des Analyten ergab. Es erwies sich jedoch als nicht möglich, eine zweite Lösung mit einem Analyten für die elementanalytischen Methoden passgenau auf den gleichen Bereich aufzutragen. Deshalb wurde dieser Bereich mit einem Kugelschreiber, dessen Tinte kupferhaltig ist, ausgemalt (vgl. Abb. 6.12 rechts). Zudem musste gewährleistet werden, dass mit allen Methoden der gleiche Bereich analysiert wird. Dafür wurden drei Kreuze als Markierung angebracht, sodass jeweils daran der rechteckige Messbereich aufgespannt werden konnte.

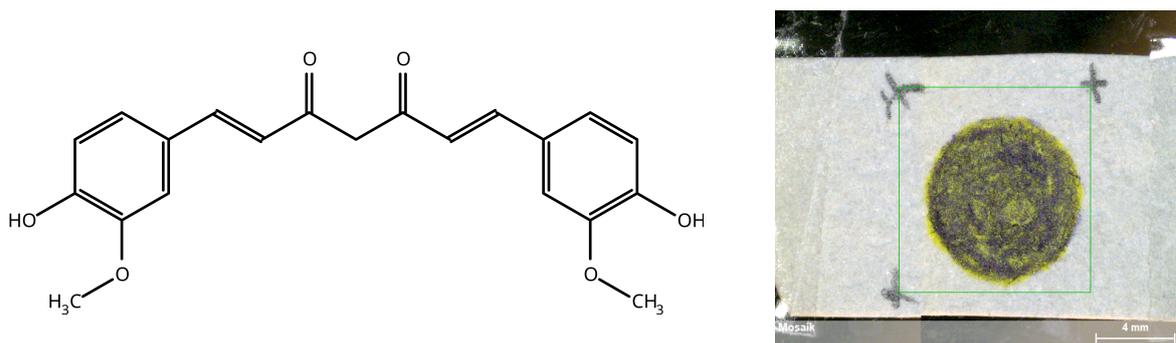


Abb. 6.12: Links: Struktur des Curcumin ($C_{12}H_{20}O_6$), $M = 368,39 \frac{g}{mol}$. Rechts: Messbereich (grün) auf der Probe, wobei der Curcumin enthaltende Bereich gelb gefärbt ist und der kupferhaltige blau.

6.2.3 Zusammenfügen der Einzeldaten

Für die Zusammensetzung der Daten wurde zunächst der Messbereich der Probe mit allen drei Methoden untersucht (μ RFA, LA-ICP-MS, LDI-FT-ICR-MS). Idealerweise wäre die Messung mit aufsteigendem Zerstörungsgrad der Probe durchgeführt wurden. Allerdings konnte dies aufgrund von Messzeitproblemen nicht gewährleistet werden. Daher wurde als Erstes die LA-ICP-MS-Messung durchgeführt, als Zweites die LDI-FT-ICR-MS-Messung und zuletzt die μ RFA-Messung. Dieses Vorgehen führt jedoch zu etwas schlechteren Ergebnissen für die LDI-FT-ICR-MS-Messung. Die Verteilungsbilder der jeweiligen Analyten der LA-ICP-MS- und LDI-FT-ICR-MS-Messungen sind in Abb. 6.13 dargestellt. In Abb. 6.14 (links) ist zudem die Kupferverteilung, gemessen mit μ RFA, dargestellt. Die niedrigen Kupfergehalte führen jedoch dazu, dass der kupferhaltige Bereich weniger deutlich erkennbar ist als bei der LA-ICP-MS-Messung.

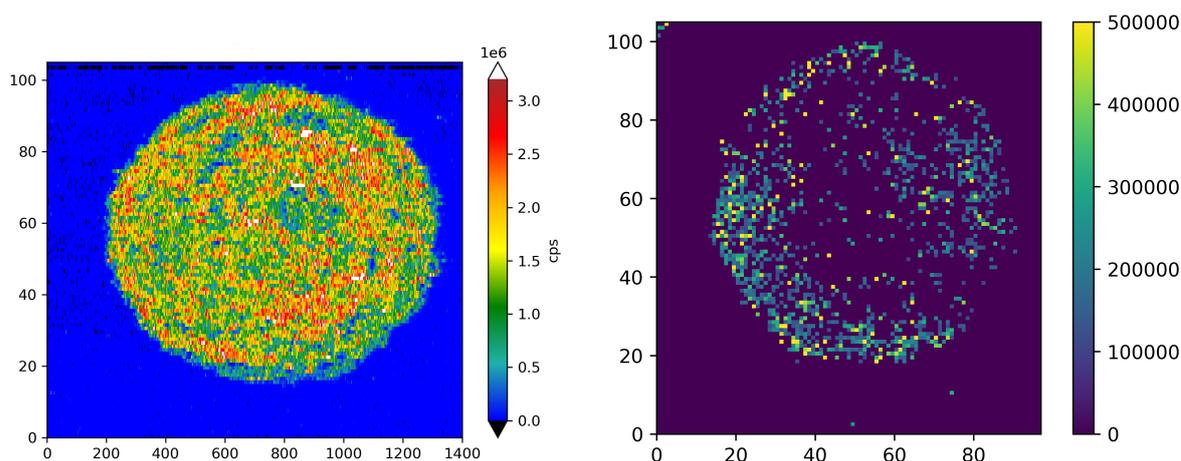


Abb. 6.13: Verteilungsbilder von $^{63}Cu^+$ gemessen mit LA-ICP-MS (links) und $C_{21}H_{19}O_6^-$ gemessen mit LDI-FT-ICR-MS. Beide Achsen geben jeweils die Anzahl der Messpunkte an.

Aufgrund der unterschiedlichen Auflösung der drei verwendeten Messmethoden wurde für die Analyse des gleichen Messbereiches jeweils eine andere Anzahl an Datenpunkten erhalten. Mithilfe von Skript A.19 können die Datenmatrizes jeweils in eine andere Größe umgerechnet werden. Hierbei werden je nach Anzahl der Punkte in der neuen Matrix die der alten gleichmäßig zusammengefasst, wobei jeweils der Durchschnittswert weiter verwendet wird. Ist die

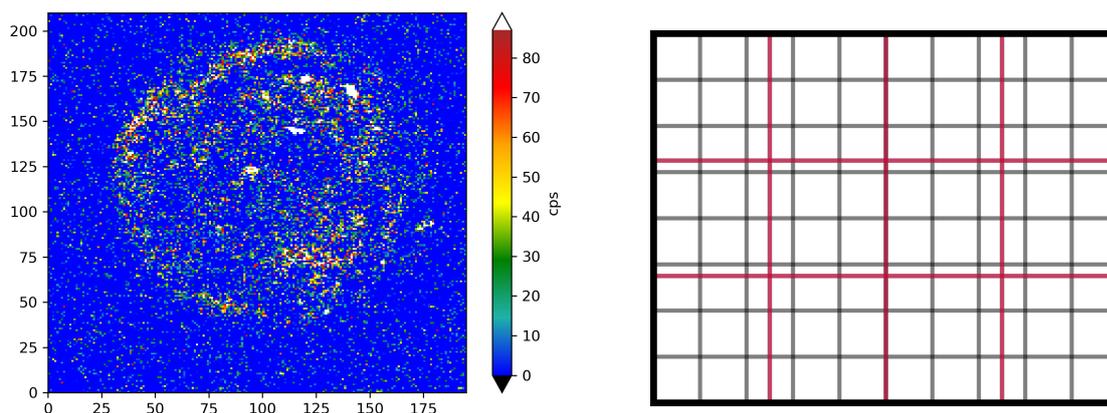


Abb. 6.14: Links: Verteilungsbild von Cu gemessen mit μ RFA. Beide Achsen geben jeweils die Anzahl der Messpunkte an. Rechts: Schematische Darstellung der Umrechnung einer größeren Datenmatrix (grau) in eine kleinere (rot).

Anzahl der Datenpunkte der alten Datenmatrix in einer Dimension nicht ohne Rest durch die der neuen Datenmatrix teilbar, dann werden die entsprechenden Datenpunkte anteilig den Pixeln der neuen Datenmatrix zugewiesen (vgl. Abb. 6.14 (rechts)). Auf diese Weise können die Datenmatrices der verschiedenen Messverfahren auf eine Größe gebracht werden, wobei allerdings die Ortsauflösung aus der Methode mit der geringsten Ortsauflösung resultiert.

Mit Skript A.20 können die jeweils als relevant bestimmten Daten der verschiedenen Messungen zunächst geladen werden. Anschließend wurden diese auf die Größe des Datensatzes mit der niedrigsten Auflösung umgerechnet. Die dabei erhaltenen Datenmatrices wurden jeweils auf den Bereich zwischen null und 255 normiert, sodass diese zum einen als Graustufenbild dargestellt werden konnten. Zum anderen wurde ein Bild aus allen drei Datensätzen erzeugt, wobei jeweils ein Kanal des RGB-Farbraums durch die Intensitäten einer Messung bestimmt wurde (vgl. Abb. 6.15).

Hierbei kann festgestellt werden, dass die Kombination der Datensätze erfolgreich war und die Bereiche der beiden Analyten gut aufeinander passen. Allerdings ist diese Vorgehensweise mit dem Verlust von Ortsauflösung der μ RFA und LA-ICP-MS verbunden. Insgesamt lässt sich jedoch sagen, dass die vorgestellte Methode viel Potential bietet zukünftig weitere Informationen aus den zusammengeführten Datensätzen ziehen zu können. Beispielsweise könnten dadurch automatisiert Korrelationen zwischen der Verteilung von Molekülen und Elementen ermittelt werden.

6.3 C_{μ} RFA-Datenverarbeitung

Mit der C_{μ} RFA können, wie bereits in Abschnitt 4.4.4 vorgestellt, zerstörungsfrei Tiefenprofile der Elementverteilung aufgenommen werden. Zudem ist es auch möglich durch das Abrastern eines Probenvolumens dreidimensionale Elementverteilungen zu bestimmen. Allerdings werden C_{μ} RFA-Geräte nicht serienmäßig verkauft, sondern es handelt sich um die Aufrüstung eines μ RFA-Gerätes mit einer zweiten Polykapillaroptik. Aus diesem Grund ist die Gerätesoftware nicht daran angepasst, die Auswertung dreidimensionaler Datensätze zu ermöglichen. Entsprechend der ursprünglichen Gerätefunktion ist lediglich die Darstellung jeweils einer

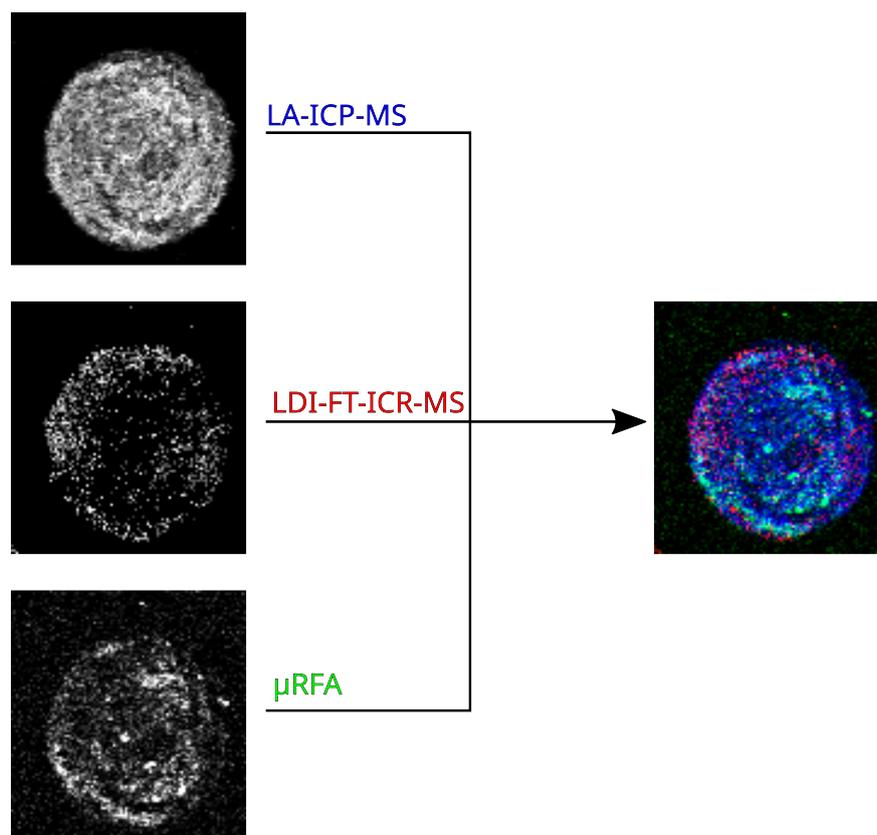


Abb. 6.15: Zusammenführung der drei verschiedenen verwendeten Methoden, wobei im resultierenden Bild jeweils ein Kanal der RGB-Farbe durch die Intensitäten einer Methode bestimmt wurde.

x-y-Ebene möglich. Damit aus den Messdaten ein dreidimensionales Verteilungsbild erstellt werden kann, müssen die Daten aus der Gerätesoftware exportiert werden. Dies kann auf zwei verschiedene Arten erfolgen. Beide müssen jeweils pro Element und Messebene durchgeführt werden.

Eine Variante ist die von der Gerätesoftware erstellten Verteilungsbilder zu verwenden, wobei aus diesen mithilfe einer Bildbearbeitungssoftware ein dreidimensionales Objekt erstellt werden könnte. Problematisch ist hierbei, dass von der Gerätesoftware jedes Ebenenbild anders skaliert wird. Es handelt sich um RGB-Bilder, deren Farbwerte im Bereich zwischen null und 255 liegen können. Die Gerätesoftware ist darauf ausgelegt, diesen Bereich für jedes Bild ideal auszunutzen, sodass für jede Ebene individuell die Maximalintensität ermittelt und auf den höchsten Farbwert gesetzt wird. Diese Vorgehensweise führt dazu, dass bei zweidimensionalen Verteilungsbildern der größtmögliche Farbkontrast verwendet wird. Dieses Vorgehen macht die Bilder für die Erstellung eines dreidimensionalen Verteilungsbildes unbrauchbar, da jede Ebene auf einen anderen Maximalwert skaliert ist. Alternativ können auch die für jede Ebene bestimmten Intensitätswerte als txt-Datei exportiert werden, wobei auch hier die händische Zusammenstellung in einem Tabellenkalkulationsprogramm viel Zeit in Anspruch nimmt. Daher wurde ein Pythonskript entwickelt, welches die erforderlichen Schritte der Datenverarbeitung übernehmen kann (vgl. Skript A.21).

6.3.1 Einlesen der Daten

Im ersten Schritt wird vom Benutzer der Pfad der Messdaten abgefragt. Dabei ist es wichtig, dass dieser die Ergebnisse genau einer Messung enthält, wobei für jedes relevante Element ein eigener Ordner vorhanden sein muss, welcher die Dateien nummeriert nach Ebene enthält. Zunächst wird vom Programm im angegebenen Ordner ein neuer Ordner für alle Ausgaben des Programms angelegt. Außerdem werden alle vorhandenen Elementordner durchgegangen und alle enthaltenen Dateien eingelesen. Dabei wird für jedes Element das globale Intensitätsmaximum über alle Ebenen bestimmt. Danach werden alle Ebenen aller Elemente einheitlich skaliert, sodass sich jeweils alle Werte zwischen null und 100 befinden, wobei mindestens ein Punkt im Volumen pro Element den Wert 100 aufweist. Der Wert null wird jedoch nicht zwingend erreicht. Für alle enthaltenen Elemente wird nun eine Datei erstellt, welche das globale Intensitätsmaximum des Elements im Datensatz sowie das Intensitätsmaximum jeder Ebene enthält. Beides bezieht sich auf die Originaldaten und kann dazu verwendet werden, einzuschätzen, wie hohe Bedeutung den Farbunterschieden im Bild beigemessen werden kann. Besonders in Ebenen, welche weiter von der Probenoberfläche entfernt sind, ist die Intensität oftmals sehr gering.

Weiterhin werden mit den skalierten Daten Bilder der Elementverteilung erstellt. Dabei wird ein Bild je Element und Ebene erzeugt, wobei die skalierten Daten verwendet werden. Mithilfe einer separaten Tabelle können die für jedes Element zu verwendenden Farben eingestellt werden. Die skalierten Intensitäten ($\cdot 2,55$ für die RGB Farbwerte zwischen 0 und 255) fließen über den Transparenzwert in das Bild (RGBA) ein. Außerdem kann vom Benutzer ein Wert zwischen null und 100 festgelegt werden, der sich auf die skalierten Daten bezieht. Alle Intensitäten unter diesem Wert werden für die Erstellung der Bilder nicht berücksichtigt. Die hier erhaltenen Bilder könnten mit einem separaten Bildbearbeitungsprogramm zum Erstellen von Volumendarstellungen verwendet werden.

Das hier vorgestellte Programm bietet dem Nutzer jedoch noch mehrere weitere Optionen für die Analyse und Darstellung der Daten über ein Menü an. Zu diesem Menü kehrt das Programm auch automatisch zurück, bis der Nutzer das Programm beendet.

6.3.2 Subtraktion und Addition

Im Menü werden dem Nutzer zwei verschiedene Optionen für die Subtraktion zur Verfügung gestellt. Bei beiden können Minuend und Subtrahend aus den gemessenen Elementen ausgewählt werden. Das Ergebnis der Rechnung wird wie zuvor als Bild (RGBA) ausgegeben, wobei die berechneten Intensitätswerte auf den Alphakanal (Transparenz) gelegt werden. Die drei übrigen Kanäle dienen zur Einstellung der Bildfarbe. Bei der Subtraktion erhaltene negative Intensitäten werden auf den Wert null gesetzt.

Der Unterschied zwischen den beiden zur Verfügung stehenden Varianten besteht darin, dass bei der ersten die skalierten Daten verwendet werden. Bei der zweiten wird zudem das jeweilige globale Maximum der beiden Elemente berücksichtigt, sodass die tatsächlichen Intensi-

tätsverhältnisse berücksichtigt werden.

Auch für die Addition von Elementverteilungsdaten stehen dem Nutzer zwei verschiedene Varianten zur Verfügung. Bei der ersten Variante können zwei oder drei Summanden aus den gemessenen Elementen ausgewählt werden. Für die Erstellung der Bilder werden die normierten Daten verwendet, wobei die Intensitäten des ersten Summanden vom roten Farbwert, die des zweiten vom grünen und die des dritten vom blauen Farbwert repräsentiert werden. Für alle Ebenen werden Verteilungsbilder erzeugt.

Bei der zweiten Variante können beliebig viele Summanden aus den gemessenen Elementen ausgewählt werden. Die Addition erfolgt ebenfalls anhand der normierten Datensätze, wobei die elementspezifischen Farben aus der separaten Tabelle verwendet werden. Zudem kann ein Grenzwert pro Element vom Benutzer angegeben werden, über dem die normierte Intensität für eine Berücksichtigung eines jeden Messpunktes liegen muss. Nachteilig bei dieser Variante ist, dass je nach verwendeten Farben leicht die maximale Farbintensität erreicht wird. Werte, die darüber liegen, können nicht mehr dargestellt werden (weiß im Bild), wodurch auf diese Weise leichter Informationen verloren gehen.

Sowohl Subtraktion als auch Addition der Elementverteilungen können dafür verwendet werden, Korrelationen von Elementverteilungen nachzuvollziehen. Besonders mithilfe der Subtraktion können Bereiche identifiziert werden, die von dem ggf. sonst vorherrschenden gemeinsamen Auftreten zweier Elemente abweichen.

6.3.3 Darstellung der dreidimensionalen Elementverteilung mit MayaVi

Neben der Ausgabe der Elementverteilung ebenenweise als Bild kann mit dem hier vorgestellten Programm auch eine dreidimensionale Darstellung erhalten werden. Dafür wird die Bibliothek MayaVi (Sanskrit: Magie) [155] verwendet. Neben der direkten Darstellung der normierten Daten aller Elemente kann diese auch im Anschluss an die in den nächsten Abschnitten vorgestellten Funktionen verwendet werden.

Es werden jeweils die Daten aller Elemente bzw. aller Elemente, für die die vorangegangene Funktion durchgeführt wurde, mit MayaVi dargestellt. Durch die Bibliothek von MayaVi wird zudem eine Benutzeroberfläche zur Verfügung gestellt, welche eine Auswahl der angezeigten Elemente sowie die Anpassung der Darstellungs- und Farbeinstellungen ermöglicht.

6.3.4 Anpassung des dargestellten Volumens

Die C μ RFA-Messdaten weisen zwei Eigenschaften auf, die für die Auswertung bzw. Darstellung der dreidimensionalen Elementverteilung ungünstig sind. Zum einen ist die Größe des Untersuchungsvolumens elementabhängig. Je leichter das Element ist, desto größer das Untersuchungsvolumen. Zudem wird durch das Hindurchführen des Untersuchungsvolumens durch bestimmte Strukturen in der Probe ein größeres Volumen der Struktur erhalten. Wie bereits in Abschnitt 4.5.2 angeführt, entsteht dies, weil schon ein (niedrigeres) Signal erhalten wird, wenn nur ein Teil des Untersuchungsvolumens in der Struktur ist. Zum anderen müssen

bei $C\mu$ RFA-Messungen für die Erstellung eines dreidimensionalen Datensatzes, verglichen mit einem Tiefenprofil, sehr viele Messpunkte analysiert werden. Dadurch steht pro Messpunkt deutlich weniger Zeit zur Verfügung, wodurch, besonders für leichte Elemente, jeweils nur wenig Signal aufgezeichnet wird. Deshalb wird ein stärker verrauschter Datensatz erhalten, weil das Untergrundsignal und zufällige Schwankungen einen höheren Einfluss haben.

Zur Korrektur dieser Einflüsse könnte, wie in Abschnitt 6.3.1 beschrieben, ein Grenzwert festgelegt werden. Anschließend könnten lediglich die Daten für die weitere Auswertung verwendet werden, deren Intensität über diesem Wert liegt. Nachteilig an dieser Vorgehensweise ist, dass manuell eine Grenze bestimmt werden muss, die für jedes Element und jeden Datensatz anders sein kann. Zudem würden hierbei leicht Bereiche mit niedrigem Analytgehalt entfernt werden. Deswegen wurde eine alternative Methode erstellt, um eine Korrektur nach objektiven Kriterien zu ermöglichen. Zunächst wird eine Kopie des Datensatzes angelegt, anschließend wird der Originaldatensatz zeilenweise analysiert. Jeder Datenpunkt, dessen vorheriger oder folgender Datenpunkt den Wert null im Originaldatensatz aufweist, wird in der Kopie ebenfalls auf null gesetzt.

Auf diese Weise werden alle Punkte entfernt, welche einzeln vorlagen. Bei solchen Punkten handelt es sich mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit um Signale aus dem Rauschen. Für leichte Elemente liegt der Durchmesser des Untersuchungsvolumens im Bereich zwischen $40\ \mu\text{m}$ und $60\ \mu\text{m}$. Bei einem Messpunktabstand von $10\ \mu\text{m}$ würden bei tatsächlichem Vorhandensein des Analyten in diesem Bereich mindestens vier Messpunkte in Folge ein Signal des Analyten aufweisen. Außerdem wird das Volumen von größeren Strukturen um einen Messpunkt an jeder Seite reduziert. Dies ist selbst für Analyten mit höher energetischen Fluoreszenzlinien und einem kleinen Untersuchungsvolumen weniger als die Überbestimmung des Volumens die durch die Größe des Untersuchungsvolumens hervorgerufen wird. Allerdings ist es eine bessere Näherung als die Angabe einer Minimalintensität.

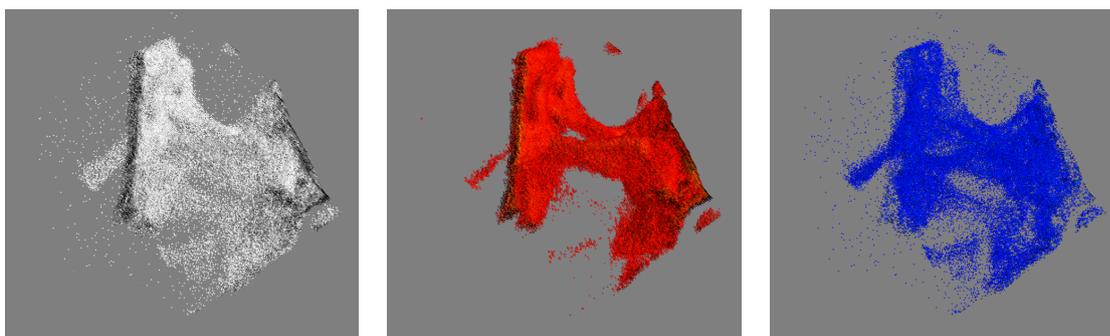


Abb. 6.16: $C\mu$ RFA-Messung der Calciumverteilung in einem Schwamm (*Hippospongia communis*). [156]. Links: Originaldatensatz der Calciumverteilung. Mitte: Datensatz nach der Anpassung des Volumens durch Löschen der an null angrenzenden Datenpunkte. Rechts: Negativ des mittleren Bildes. Alle hier dargestellten Datenpunkte wurden bei der Korrektur gelöscht.

In Abb. 6.16 ist die Anwendung dieser Methode an einem Beispiel dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass der Originaldatensatz (grau) deutlich mehr einzelne Datenpunkte in den Hohlräumen der Struktur enthält als die korrigierte Variante (rot). Zur Veranschaulichung der Wirkungsweise wurden auch die gelöschten Datenpunkte dargestellt (blau). Es lässt sich erken-

nen, dass diese zum einen alle einzelnen Datenpunkte enthalten und zum anderen auch die Oberfläche der Schwammstruktur nachbilden.

6.3.5 Datenkorrektur mittels Gaußfit

Eine präzisere Korrektur der Volumendarstellung kann erhalten werden, wenn ähnlich wie in Abschnitt 4.5.2 die Daten an eine Gaußkurve gefittet werden, weil ein gaußförmiger Kurvenverlauf erhalten wird, wenn das Untersuchungsvolumen durch eine dünne Analytschicht geführt wird. Dafür wurde eine Methode entwickelt, die in diesem Abschnitt vorgestellt werden soll.

Nach dem Einlesen der Messdaten, wie in Abschnitt 6.3.1 beschrieben, können aus dem dreidimensionalen Datensatz Tiefenprofile berechnet werden. Dies kann für jeden Punkt in der x-y-Dimension durchgeführt werden, wobei das Ergebnis einer auf der z-Achse durchgeführten Linienmessung entspricht. Für alle auf diese Weise erhaltenen Tiefenprofile (eins je Element und x-y-Position) soll anschließend ein Gaußfit durchgeführt werden, wobei die Daten der FWHM für den nächsten Schritt verwendet werden. Allerdings kann es passieren, dass nur Datenpunkte mit keiner bzw. mit sehr geringer Signalintensität des Analyten auf dem Tiefenprofil liegen. In diesem Fall ist oftmals kein Fit möglich. Daher wurde ein zusätzliches Kriterium eingeführt. Es werden nur Tiefenprofile verwendet, die mindestens einen Messpunkt bei $\geq 5\%$ der Maximalintensität des jeweiligen Elementes aufweisen. Beispielhaft sind zwei Tiefenprofile mit Gaußfit in Abb. 6.17 dargestellt.

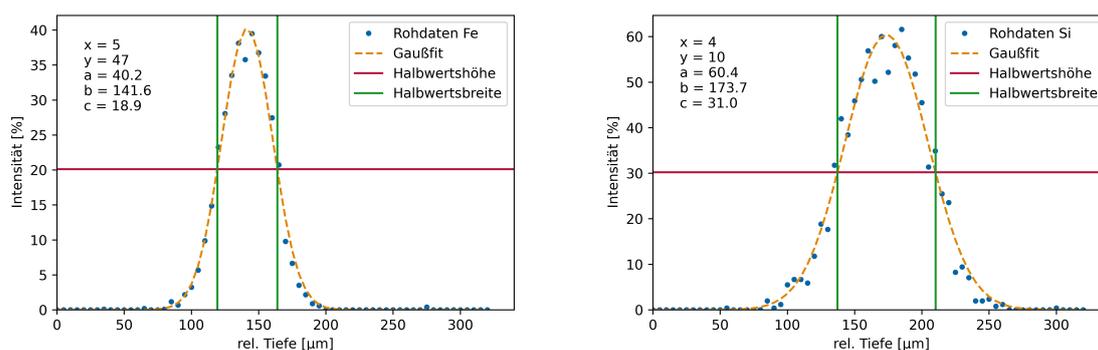


Abb. 6.17: Tiefenprofil und Auswertung nach Gaußfit für Eisenverteilung (links) und die Siliciumverteilung (rechts) von einem Hämatiteinschluss in einem Rauchquarz gemessen mittels C μ RFA [144]. Abweichend von Tab. A.10 wurde ein Messpunktabstand von 5 μm verwendet. x und y geben die Position des Tiefenprofils im Datensatz an, während a, b und c die ermittelten Parameter der Gaußkurve sind.

Alle Datenpunkte, die unterhalb der Halbwertshöhe und außerhalb der Halbwertsbreite der Gaußkurve liegen, werden auf die Intensität null gesetzt. Gleiches gilt für alle Datenpunkte der Tiefenprofile, welche keinen Punkt über 5 % der Maximalintensität aufweisen. Alle übrigen Datenpunkte werden auf die Maximalintensität, welche für die normierten Daten 100 beträgt, gesetzt, um eine bessere Darstellbarkeit zu gewährleisten. In Abb. 6.18 ist diese

Korrektur beispielhaft anhand der C μ RFA-Analyse eines Hämatiteinschlusses in einem Rauchquarz dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass der durch diese Korrektur wesentlich dünner geworden ist. Zudem lässt sich nun erkennen, dass die Eisenverteilung eine Plättchen- bzw. bandartige Struktur aufweist.

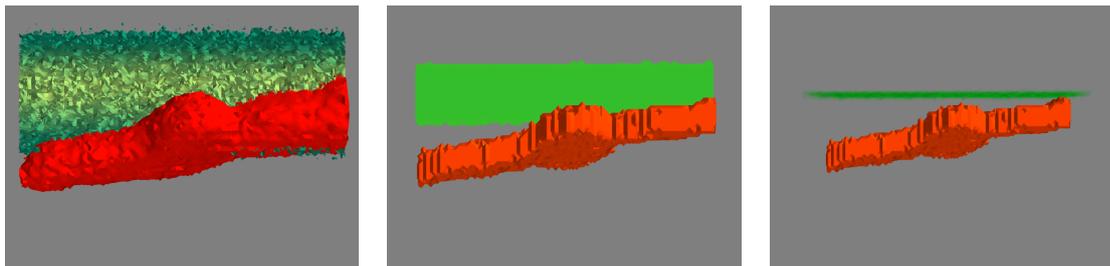


Abb. 6.18: Siliciumverteilung (grün) und Eisenverteilung (rot) von einem Hämatiteinschluss in einem Rauchquarz gemessen mittels C μ RFA [144]. Abweichend von Tab. A.10 wurde ein Messpunktabstand von 5 μm verwendet. Untersucht wurde ein Bereich von 80 x 80 x 65 Datenpunkten. Links: Darstellung des Originaldatensatzes. Für die bessere Erkennbarkeit der Eisenverteilung wurde das Si-Volumen angeschnitten. Mitte: Datensatz nach der Korrektur anhand des FWHM. Rechts: Datensatz nach der Korrektur anhand des FWHM, zusätzlich wurden die Daten der Tiefenkalibrierung einbezogen, sodass die Si-Ebene die Probenoberfläche repräsentiert.

Bei der Untersuchung des in Abb. 6.18 gezeigten Datensatzes wurde zudem eine Tiefenkalibrierung durchgeführt. Damit deren Ergebnisse ebenfalls mit in die Darstellung des Datensatzes einbezogen werden können, wurde die bereits vorgestellte Funktion erweitert. Anhand der Kalibrierdaten wurde festgestellt, dass bei Verwendung des FWHM die Siliciumdaten noch 35,7 μm oberhalb der Probenoberfläche beginnen. Bei einem Messpunktabstand von 5 μm handelt es sich um sieben Datenpunkte je Tiefenprofil, die zusätzlich entfernt wurden. Das Gleiche wurde auch für die zweite Kurvenhälfte durchgeführt, sodass für die Siliciumverteilung lediglich der Bereich verblieb, aus dem tatsächlich Fluoreszenzstrahlung gemessen wurde. Aufgrund der geringen Analysentiefe für Silicium mittels C μ RFA wurde als Ergebnis lediglich die eine Messebene erhalten, welche sich direkt auf der Probenoberfläche befindet. [144]

Die in diesem Abschnitt vorgestellte Methode kann nur verwendet werden, wenn es einen annähernd gaußkurvenförmigen Verlauf der Tiefenprofile gibt. Falls wie in Abb. 6.16 mehrere Maxima der Elementverteilung vorliegen, muss auf eine andere Methode zurückgegriffen werden.

Insgesamt lässt sich sagen, dass mit denen in diesem Kapitel vorgestellten Methoden zur Verarbeitung der C μ RFA-Daten viele wichtige Möglichkeiten zur Auswertung der dreidimensionalen Messdaten geschaffen wurden. Dies ist insbesondere relevant, weil die Gerätesoftware auf zweidimensionale Datensätze beschränkt ist und die Benutzung von Tabellenkalkulationsprogrammen für diese Auswertung extrem zeitaufwändig bzw. unmöglich ist.

6.4 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurden verschiedene in der Programmiersprache Python erstellte Skripte vorgestellt. Diese wurden für die automatisierte Datenverarbeitung und Auswertung verschiedener Analysemethoden ausgearbeitet. In allen Fällen bei der Verwendung der Skripte sowohl eine hohe Zeitersparnis als auch Ergebnisse, die mit Tabellenkalkulationsprogrammen nicht umsetzbar wären, erzielt werden.

Im ersten Teil des Kapitels wurde auf die Skripte für die Auswertung von LA-ICP-MS-Messungen eingegangen, wobei der Schwerpunkt auf der Datenkorrektur und der Darstellung von Elementverteilungsbildern lag. Zudem wurde auch auf die Auswertung von Linienmessungen eingegangen, welche z. B. für die Erstellung von Kalibrierdaten verwendet werden können. Abschließend wurde eine Funktion vorgestellt, mit der die Daten verschiedener Elementverteilungen für die Clusteranalyse verwendet werden können. Hierbei können z. B. Informationen über Bereiche gleicher Zusammensetzung erhalten werden.

Im nächsten Abschnitt wurden am Beispiel von LA-ICP-MS, μ RFA und LDI-FT-ICR-MS Funktionen vorgestellt, mit denen die Daten von orts aufgelösten Messdaten verschiedener Analysengeräte kombiniert werden können. Da bereits zuvor auf die notwendigen Datenverarbeitungsschritte der LA-ICP-MS-Ergebnisse eingegangen wurde, lag der Fokus hier zunächst auf den LDI-FT-ICR-MS-Daten. Anschließend konnte anhand einer eigens für diese Messungen hergestellten Probe, gezeigt werden, wie auch Datensätze mit unterschiedlicher Ortsauflösung kombiniert werden können.

Im dritten Teil dieses Kapitels wurde ein Programm zur Normierung und Korrektur der dreidimensionalen C_{μ} RFA-Daten vorgestellt. Neben Funktionen zur Subtraktion und Addition verschiedener Elementverteilungen des gleichen Datensatzes wurden auch zwei Methoden zur Volumenkorrektur erläutert. Diese Korrektur kann sowohl erfolgen, indem an null angrenzende Werte entfernt werden, als auch anhand der FWHM des gaußkurvenförmigen Verlaufs der Tiefenprofile. Zudem konnte gezeigt werden, dass auch Kalibrierdaten von extern erstellten Tiefenkalibrierungen einbezogen werden können.

Insgesamt bieten alle hier vorgestellten Skripte eine starke Zeitersparnis und erschließen Möglichkeiten der Datenauswertung, die vorher nicht zur Verfügung standen.

7 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene Themenbereiche bearbeitet. Eine schematische Übersicht ist in Abb. 7.1 dargestellt. Alle drei befassten sich mit verschiedenen Aspekten der orts aufgelösten Elementanalytik. Die Ergebnisse wurden jeweils in einem separaten Kapitel vorgestellt.

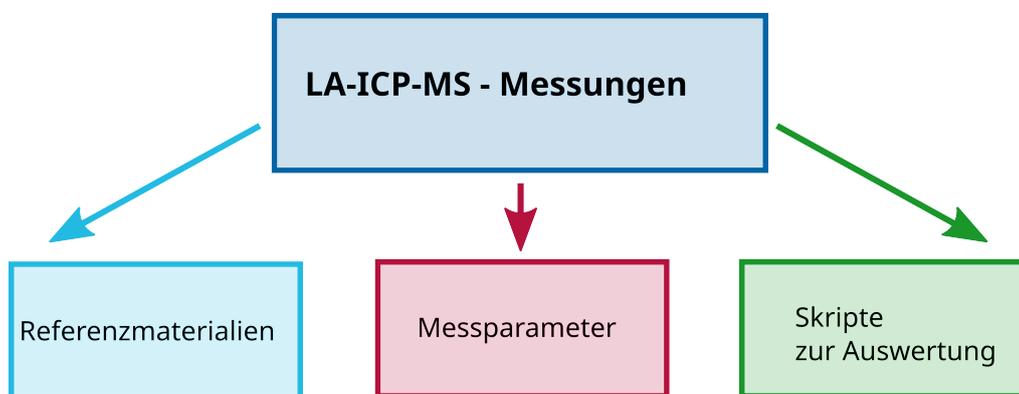


Abb. 7.1: Schematische Übersicht über die drei in dieser Arbeit bearbeiteten Themenbereiche.

Im ersten Kapitel wurde eine neue Methode zur Herstellung von Referenzmaterialien auf Polymerbasis unter Verwendung von Metallacetylacetonaten vorgestellt. Diese können zur Kalibrierung von (orts aufgelösten) festkörperanalytischen Methoden zur Spurenelementanalytik in leichten Matrices verwendet werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode weist mehrere Vorteile gegenüber der zuvor etablierten Methode, bei der die Elemente durch Extraktion aus Ölstandards eingebracht wurden, auf. Zunächst konnte die Präparation verbessert werden, da auf die zuvor eingesetzten Additive sowie eine zweite Basislackkomponente verzichtet werden konnte. Außerdem entfiel die Notwendigkeit sehr teure Spezialgefäße für die Mischung der Komponenten zu verwenden. Weiterhin konnte auch der Einsatz der Öl-Elementstandards substituiert werden. Die in dieser Arbeit verwendeten Metallacetylacetonatkomplexe wurden aus dem vergleichsweise günstigen Acetylaceton und den Metallsalzen synthetisiert. Dadurch wurde auch der Bereich möglicher Elementgehalte erweitert.

Im Folgenden wurden die Lackschichten hinsichtlich ihrer Eignung für bestimmte Anwendungen untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass mit einem Großteil der verwendeten Metallacetylacetonate Lackschichten erhalten werden konnten, deren Elementverteilung sich als sehr homogen erwies. Die relative Standardabweichung, die aus 100 Punktmessungen berechnet wurde, lag jeweils unter 3 %. Dies konnte zudem auch für eine Probe nachgewiesen werden,

in die vier verschiedene Elemente eingebracht wurden.

Des Weiteren konnte eine Kalibrierreihe mit sieben Proben unterschiedlicher Eisengehalte, jeweils zwischen 200 und 2 000 $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$, hergestellt werden. Bei der Untersuchung mit verschiedenen festkörperanalytischen Methoden konnte gezeigt werden, dass sich die Proben sehr gut für die Erstellung einer Kalibrierung eignen. Ausnahme bildete hierbei die Probe mit dem höchsten Eisengehalt. Für diese wurde sowohl mit LA-ICP-MS als auch mit LIBS eine zu hohe Intensität festgestellt.

Mit C μ RFA-Tiefenprofilanalysen der Proben konnte dies auf die ungleichmäßige Eisenverteilung innerhalb der Schichtdicke zurückgeführt werden. Zudem wurden auch innerhalb der Tiefenprofile von Stapeln aus Lackschichten, in denen Chrom enthalten war, Unregelmäßigkeiten in der Elementverteilung festgestellt. Beides konnte auf die zu starke Erwärmung der Schichten, während des Bestrahlens mit UV-Licht zurückgeführt werden. Durch das Kühlen der Proben während der Polymerisation konnten diese Probleme verhindert werden.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Schichten, die mit der hier beschriebenen Methode hergestellt wurden, gut stapelbar sind. Die gestapelten Proben eignen sich besonders für Analysen der C μ RFA. Mit einer Probe aus elf Schichten, von denen sechs eisenhaltig waren, konnte die technisch maximal mögliche Analysentiefe ausgereizt und alle sechs eisenhaltigen Schichten nachgewiesen werden. Zudem konnte mit einer Probe aus vier verschiedenen Schichten die Eignung dieser Materialien für die Tiefenkalibrierung gezeigt werden.

Für den zweiten Schwerpunkt standen die Geräteparameter der LA-ICP-MS im Vordergrund. Hierbei wurde besonders darauf eingegangen, wie sich die verschiedenen Parameter der Laserablation auf das Messergebnis auswirken.

Dabei wurde als Erstes der Einfluss der Gasflussgeschwindigkeiten auf das Messsignal analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass das Optimum von der Masse der Analytotope abhängig ist, wobei höhere Massen etwas höhere Gasströme erfordern. Zudem wurde das Ausstragsverhalten des ablatierten Materials aus der Ablationskammer zum Massenspektrometer in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern untersucht. Es wurden jeweils die aus einem Laserschuss resultierenden Peaks hinsichtlich ihrer Größe und Form analysiert. Das Optimum der Gasströme von Argon und Helium lag jeweils in einem schmalen Bereich. Besonders die Überschreitung des Optimums hat einen negativen Einfluss auf die Signalintensität. Für die Laserleistung konnte festgestellt werden, dass diese nur wenig zur Steigerung der Signalintensität beitragen kann. Im Gegensatz dazu wurde die Menge des ablatierten Materials mit der Steigerung der Messfleckgröße derart drastisch erhöht, dass nicht genügend getrennte Peaks für die Auswertung erhalten werden konnten.

Abschließend wurden in diesem Kapitel zwei verschiedene Vorgehensweisen zur Beurteilung der Materialablagerung auf der Probenoberfläche während der Messung untersucht. Beide Methoden stellen sich als nicht ganz ideal heraus. Trotzdem konnte gezeigt werden, dass der betroffene Bereich abhängig von den Lasereinstellungen ist. Bei größerer Messfleckgröße und höherer Laserleistung ist ein größerer Probenbereich betroffen. Insgesamt konnten für die meisten Proben nahe an der ursprünglichen Ablationsstelle Anteile im einstelligen Prozentbe-

reich, verglichen mit der Referenzmessung, bestimmt werden. Außerdem stellte sich heraus, dass die Oberflächenstruktur der Probe ebenfalls einen deutlichen Einfluss hat.

Im letzten Kapitel wurden Pythonskripte zur automatisierten Datenverarbeitung, -auswertung und -visualisierung vorgestellt. Diese wurden erstellt, weil die Messsoftware der jeweiligen Geräte keine bzw. nicht alle notwendigen Funktionen zur Verfügung stellt. Außerdem sind diese Datenauswertungsschritte mit Tabellenkalkulationsprogrammen sehr zeitaufwendig oder aufgrund der Datenmenge oder der fehlenden Funktionen nicht durchführbar.

Im ersten Teil lag der Fokus auf den Daten von LA-ICP-MS-Mappings. Es konnte ein Skript erstellt werden, welches in der Lage ist, die aus der Messsoftware exportierten Daten einzulesen und isotopenweise Datenmatrices zu erzeugen. Bei der Darstellung der Elementverteilungsbilder stellte sich jedoch heraus, dass die einzelnen Linien gegeneinander verschoben sind. Für die Korrektur dieses Problems wurde daher ebenfalls eine Funktion erstellt, welche anhand eines Isotops mit signifikantem Ablationsbeginn die Datensätze aller gemessenen Isotope korrekt ausrichten kann. Außerdem können auf diese Weise auch Linienmessungen aneinander ausgerichtet werden, die nicht für die Erstellung von Elementverteilungsbildern, sondern z. B. für die Berechnung der Kalibrierung verwendet werden sollen. Eine weitere Funktion ermöglicht anschließend die statistische Auswertung der Linienintensitäten.

Für die Darstellung der Elementverteilungsbilder wurden mehrere Funktionen erstellt. So ist es unter anderem möglich, einen definierten Anteil der Intensität aus der Farbskala auszuschließen. Zudem besteht die Möglichkeit, die Bilder nach der Größe des Messbereiches zu skalieren und Kalibrierdaten einzurechnen.

Danach wurde eine Funktion vorgestellt, die es ermöglicht, die Verteilungsdaten der gemessenen Isotope als Datengrundlage für eine Clusteranalyse zu verwenden. Hierbei können Informationen zu Probenbereichen gleicher Zusammensetzung erhalten werden.

Im nächsten Abschnitt wurden zunächst die Funktionen und zugehörigen Skripte vorgestellt, die für die Verarbeitung der LDI-FT-ICR-MS-Daten erforderlich sind. Die Daten müssen zunächst aus einer binären Datei eingelesen und in die Regionen des Mess- und Referenzbereiches getrennt werden. Anschließend erfolgt die Berechnung des Summenspektrums der Messung sowie die Erstellung der Peaklisten des Referenz- und Messbereiches. Mithilfe der Peaklisten können alle Analyten, die ausschließlich im Messbereich detektiert wurden, ermittelt werden.

Anhand einer Probe, die sowohl Curcumin als auch Kupfer enthielt, konnte anschließend die Funktionsweise eines Skriptes demonstriert werden, welches zur Kombination der Datensätze komplementärer analytischer Methoden verwendet werden kann. Mithilfe der Messergebnisse von μ RFA, LA-ICP-MS und LDI-FT-ICR-MS wurde erläutert, wie die Vereinheitlichung der Messauflösung gewährleistet werden kann. Danach wurde ein Bild, welches die Informationen aller drei Methoden enthält, erstellt.

Im letzten Teil dieses Kapitels wurde ein Programm zur Normierung, Volumenkorrektur und

Visualisierung der dreidimensionalen $C_{\mu}RFA$ -Daten erläutert. Die Datenkorrektur kann auf verschiedene Weisen durchgeführt werden. Die einfachste besteht darin, dass Intensitäten unterhalb eines bestimmten Grenzwertes entfernt werden. Eine andere ist es, die an null angrenzenden Werte zu entfernen. Die dritte Möglichkeit besteht darin, die Messdaten jeweils an eine Gaußkurve zu fitten und nur die Datenpunkte, welche von Halbwertshöhe und -breite eingeschlossen werden, weiterzuverwenden. Welche Methode sich am besten eignet, hängt vorwiegend von den Eigenschaften der Probe bzw. des Datensatzes ab. Insgesamt lässt sich jedoch sagen, dass mit dem vorgestellten Programm deutlich mehr Auswertoptionen zur Verfügung stehen, als dies bei manueller Datenauswertung der Fall wäre.

Im Hinblick auf zukünftige Arbeiten bietet es sich an weitere Elemente als Metallacetylacetonate in die Lackschichten einzubringen. Auf diese Weise könnte das Spektrum möglicher Anwendungen zusätzlich erweitert werden. Außerdem könnte es sich als hilfreich erweisen, weitere Multielementproben herzustellen, damit sichergestellt werden kann, dass auch bei anderen als den in dieser Arbeit verwendeten Kombinationen keine Probleme auftreten. Weiterhin bietet die in dieser Arbeit vorgestellte Methode zur Elementeinbringung in strahlenhärtende Lacke das Potential der Weiterentwicklung zur 3D-Druckbarkeit. Aktuell sind bereits einige Methoden bekannt, strahlenhärtende Polymere mit einer Präzision im Nanometerbereich zu drucken. In Kombination mit der in dieser Arbeit entwickelten Methode wäre es denkbar, dass zukünftig Referenzmaterialien für orts- und tiefenauflösende Messmethoden je nach Bedarf präzise hergestellt werden könnten. Auch die Nachbildung komplexer Strukturen zum besseren Abgleich mit ähnlichen Proben wäre denkbar.

Bei weiteren Untersuchungen zu den Laserparametern wäre es besonders interessant, den Einfluss der Probenoberfläche auf die Materialablagerung weiter zu untersuchen. Dafür könnten z. B. verschiedene Strukturen absichtlich in die Oberfläche geschnitten werden. Zudem wurde in dieser Arbeit der Fokus auf das Verhalten der Lackschichten gelegt. Sollen andere Probenmatrices untersucht werden, bietet es sich an, ähnliche Experimente auch für diese durchzuführen, um das Verhalten des Materials besser einschätzen zu können.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Auswerteskripte wurden oftmals nur an wenigen Realsystemen getestet. Für die Methodenkombination stand lediglich eine Testprobe zur Verfügung. Daher ist es sinnvoll weitere Realproben zu untersuchen, das Verhalten der Skripte mit diesen weiter zu evaluieren und bei Bedarf an die neuen Erfordernisse anzupassen.

8 Anhang

8.1 Literatur

- [1] J. S. Becker, U. Breuer, H.-F. Hsieh, T. Osterholt, U. Kumtabtim, B. Wu, A. Matusch, J. A. Caruso, Z. Qin, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 9528–9533.
- [2] D. Garbe-Schönberg, S. Müller, *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 990–1000.
- [3] S. Recknagel, H. Bresch, H. Kipphardt, M. Koch, M. Rosner, U. Resch-Genger, *Anal. Bioanal. Chem.* **2022**, *414*, 4281–4289.
- [4] D. Pozebon, G. L. Scheffler, V. L. Dressler, M. A. G. Nunes, *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 2204–2228.
- [5] A. L. Gray, *The Analyst* **1985**, *110*, 551.
- [6] P. J. Sylvester, S. E. Jackson, *Elements* **2016**, *12*, 307–310.
- [7] J. S. Becker, *J. Anal. At. Spectrom.* **2005**, *20*, 1173.
- [8] Z. Qin, J. A. Caruso, B. Lai, A. Matusch, J. S. Becker, *Metallomics* **2011**, *3*, 28–37.
- [9] J. S. Becker, M. Zoriy, A. Matusch, B. Wu, D. Salber, C. Palm, J. S. Becker, *Mass Spectrom. Rev.* **2010**, *29*, 156–175.
- [10] I. Konz, B. Fernández, M. L. Fernández, R. Pereiro, A. Sanz-Medel, *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *403*, 2113–2125.
- [11] J. Koch, D. Günther, *Appl. Spectrosc.* **2011**, *65*, 155–162.
- [12] B. Giussani, D. Monticelli, L. Rampazzi, *Anal. Chim. Acta* **2009**, *635*, 6–21.
- [13] P. A. Tipler, G. Mosca, C. Kommer, *Physik: Für Wissenschaftler und Ingenieure*, 7. Aufl. 2015, Springer, Berlin, Heidelberg, **2014**.
- [14] H.-J. Eichler, J. Eichler, *Laser: Bauformen, Strahlführung, Anwendungen*, 8., aktualisierte und überarbeitete Auflage, Springer Vieweg, Berlin und Heidelberg, **2015**.
- [15] S. J. M. van Malderen, A. J. Managh, B. L. Sharp, F. Vanhaecke, *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31*, 423–439.
- [16] *Inductively coupled plasma mass spectrometry handbook*, (Hrsg.: S. M. Nelms), Blackwell, Oxford, **2005**.
- [17] J. H. Gross, *Massenspektrometrie*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2013**.
- [18] J. S. Becker, J. S. Becker, *Inorganic mass spectrometry: Principles and applications*, Wiley und John Wiley, Hoboken, N.J. und Chichester, **2007**.

- [19] D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Instrumentelle Analytik: Grundlagen - Geräte - Anwendungen*, 6., vollständig überarbeitete erweiterte Auflage, Springer Spektrum, Berlin und Heidelberg, **2013**.
- [20] N. Miliszkievicz, S. Walas, A. Tobiasz, *J. Anal. At. Spectrom.* **2015**, *30*, 327–338.
- [21] Y. Liu, Z. Hu, M. Li, S. Gao, *Chin. Sci. Bull.* **2013**, *58*, 3863–3878.
- [22] S. Bienz, L. Bigler, T. Fox, H. Meier, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 8. überarbeitete und erweiterte Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart und New York, **2012**.
- [23] R. E. Russo, X. Mao, J. J. Gonzalez, S. S. Mao, *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, *17*, 1072–1075.
- [24] J. Koch, D. Günther, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *387*, 149–153.
- [25] R. Arevalo, J. Bellucci, W. F. McDonough, *Geostand. Geoanal. Res.* **2010**, *34*, 327–341.
- [26] F. Poitrasson, F.-X. d'Abzac, *J. Anal. At. Spectrom.* **2017**, *32*, 1075–1091.
- [27] J. Pisonero, B. Fernández, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, *24*, 1145.
- [28] J. Lin, Y. Liu, Y. Yang, Z. Hu, *Solid Earth Sciences* **2016**, *1*, 5–27.
- [29] J. D. Woodhead, J. Hellstrom, J. M. Hergt, A. Greig, R. Maas, *Geostand. Geoanal. Res.* **2007**, *0*, 331–343.
- [30] P. K. Diwakar, J. J. Gonzalez, S. S. Harilal, R. E. Russo, A. Hassanein, *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 339–346.
- [31] R. Hergenröder, *Spectrochim. Acta Part B* **2006**, *61*, 284–300.
- [32] Q. Bian, C. C. Garcia, J. Koch, K. Niemax, *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, *21*, 187–191.
- [33] C. C. Garcia, H. Lindner, K. Niemax, *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, *24*, 14–26.
- [34] S. M. Eiggins, L. Kinsley, J. Shelley, *Appl. Surf. Sci.* **1998**, *127-129*, 278–286.
- [35] J. Feldmann, A. Kindness, P. Ek, *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, *17*, 813–818.
- [36] G. de S. Pessôa, J. L. Capelo-Martínez, F. Fdez-Riverola, H. López-Fernández, D. Glez-Peña, M. Reboiro-Jato, M. A. Z. Arruda, *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31*, 832–840.
- [37] J. H. Yoo, O. V. Borisov, X. Mao, R. E. Russo, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2288–2293.
- [38] D. Günther, C. A. Heinrich, *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, *14*, 1369–1374.
- [39] I. Horn, D. Günther, *Appl. Surf. Sci.* **2003**, *207*, 144–157.
- [40] Z. Wang, *J. Laser Micro/Nanoeng.* **2006**, *1*, 167–171.
- [41] R. Hergenröder, *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, *21*, 1016–1026.
- [42] M. Guillong, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, *17*, 831–837.
- [43] D. C. Perdian, S. J. Bajic, D. P. Baldwin, R. S. Houk, *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 336–341.
- [44] D. Bleiner, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2001**, *16*, 449–456.

- [45] Y. Liu, Z. Hu, H. Yuan, S. Hu, H. Cheng, *J. Anal. At. Spectrom.* **2007**, *22*, 582.
- [46] D. N. Douglas, A. J. Managh, H. J. Reid, B. L. Sharp, *Anal. Chem.* **2015**, *87*, 11285–11294.
- [47] Z. Hu, Y. Liu, S. Gao, S. Hu, R. Dietiker, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 1192.
- [48] D. Bleiner, A. Bogaerts, *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, *62*, 155–168.
- [49] D. Autrique, A. Bogaerts, H. Lindner, C. C. Garcia, K. Niemax, *Spectrochim. Acta Part B* **2008**, *63*, 257–270.
- [50] C. C. Garcia, H. Lindner, K. Niemax, *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, *62*, 13–19.
- [51] P. A. Doble, R. G. de Vega, D. P. Bishop, D. J. Hare, D. Clases, *Chem. rev.* **2021**, *121*, 11769–11822.
- [52] I. Feldmann, C. U. Koehler, P. H. Roos, N. Jakubowski, *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, *21*, 1006.
- [53] D. C. Perdian, S. J. Bajic, D. P. Baldwin, R. S. Houk, *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 325–335.
- [54] Z. Hu, S. Gao, Y. Liu, S. Hu, H. Chen, H. Yuan, *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 1093.
- [55] I. Krosiakova, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2007**, *22*, 51–62.
- [56] S. E. Jackson, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2003**, *18*, 205–212.
- [57] C. Agatemor, D. Beauchemin, *Anal. Chim. Acta* **2011**, *706*, 66–83.
- [58] Z. Wang, B. Hattendorf, D. Günther, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, *17*, 641–651.
- [59] L. Flamigni, J. Koch, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 280–286.
- [60] H. Andrén, I. Rodushkin, A. Stenberg, D. Malinovsky, D. C. Baxter, *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, *19*, 1217–1224.
- [61] D. Pick, M. Leiterer, J. W. Einax, *Microchem. J.* **2010**, *95*, 315–319.
- [62] S. D. Tanner, V. I. Baranov, D. R. Bandura, *Spectrochim. Acta Part B* **2002**, *57*, 1361–1452.
- [63] D. Pozebon, G. L. Scheffler, V. L. Dressler, *J. Anal. At. Spectrom.* **2017**, *32*, 890–919.
- [64] M. Haschke, J. Flock, *Röntgenfluoreszenzanalyse in der Laborpraxis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & M Co. KGaA, Weinheim, **2017**.
- [65] *Handbook of practical X-Ray fluorescence analysis: With 53 tables*, (Hrsg.: B. Beckhoff), Springer, Berlin, **2006**.
- [66] B. K. Agarwal, B. K. Agarwal, *X-ray spectroscopy: An introduction*, Springer, Berlin und Heidelberg, **1979**.
- [67] S. K. Sharma, *X-Ray Spectroscopy*, InTech, Rijeka, **2012**.
- [68] S. Flude, M. Haschke, M. Storey, *Mineral. Mag.* **2017**, *81*, 923–948.

- [69] L. Germinario, R. Cossio, L. Maritan, A. Borghi, C. Mazzoli, *Microsc. Microanal.* **2016**, *22*, 690–697.
- [70] Y. Liu, W. He, J. Zhang, Z. Liu, F. Chen, H. Wang, Y. Ye, Y. Lyu, Z. Gao, Z. Yu, L. Bi, S. Zhang, *Geofluids* **2022**, *2022*, 1–20.
- [71] Z. Lu, X. He, C. Lin, L. Liang, X. Jin, Q. Guo, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 285.
- [72] I. Mantouvalou, W. Malzer, I. Schaumann, L. Lühl, R. Dargel, C. Vogt, B. Kanngiesser, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 819–826.
- [73] F. Förste, L. Bauer, K. Heimler, B. Hansel, C. Vogt, B. Kanngießer, I. Mantouvalou, *J. Anal. At. Spectrom.* **2022**, *37*, 1687–1695.
- [74] I. Mantouvalou, T. Wolff, C. Seim, V. Stoytschew, W. Malzer, B. Kanngiesser, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 9774–9780.
- [75] A. Rogoll, K. Heimler, D. Friebel, E. Brendler, C. Vogt, *J. Anal. At. Spectrom.* **2022**, *37*, 2647–2661.
- [76] M. Martinez, M. Baudalet, *Anal. Bioanal. Chem.* **2020**, *412*, 27–36.
- [77] V. Gold, *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), Research Triangle Park, NC, **2019**.
- [78] International Organization for Standardization, ISO Guide 30:2015: Reference materials - Selected terms and definitions, **2015**.
- [79] G. I. Ramendik, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1998**, *172*, 221–227.
- [80] D. A. Frick, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.* **2012**, *27*, 1294.
- [81] S. R. Ellis, A. L. Bruinen, R. M. A. Heeren, *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, *406*, 1275–1289.
- [82] J. S. Becker, R. C. Dietrich, A. Matusch, D. Pozebon, V. L. Dressler, *Spectrochim. Acta Part B* **2008**, *63*, 1248–1252.
- [83] C. Austin, F. Fryer, J. Lear, D. Bishop, D. Hare, T. Rawling, L. Kirkup, A. McDonagh, P. Doble, *J. Anal. At. Spectrom.* **2011**, *26*, 1494.
- [84] M. Bonta, H. Lohninger, M. Marchetti-Deschmann, A. Limbeck, *The Analyst* **2014**, *139*, 1521–1531.
- [85] D. Deiting, F. Börno, S. Hanning, M. Kreyenschmidt, T. Seidl, M. Otto, *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31*, 1605–1611.
- [86] I. Konz, B. Fernández, M. L. Fernández, R. Pereiro, H. González, L. Alvarez, M. Coca-Prados, A. Sanz-Medel, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 3091–3096.
- [87] J. P. Thieleke, C. Vogt, *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31*, 1198–1205.
- [88] M. Thompson, S. Chenery, L. Brett, *J. Anal. At. Spectrom.* **1989**, *4*, 11.
- [89] D. Günther, H. Cousin, B. Magyar, I. Leopold, *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, *12*, 165–170.
- [90] C. Pickhardt, J. S. Becker, H. J. Dietze, *Fresenius' J. Anal. Chem.* **2000**, *368*, 173–181.

- [91] J. S. Becker, J. S. Becker, *Methods Mol. Biol. (N. Y.)* **2010**, *656*, 51–82.
- [92] U. E. A. Fittschen, N. H. Bings, S. Hauschild, S. Förster, A. F. Kiera, E. Karavani, A. Frömsdorf, J. Thiele, G. Falkenberg, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1967–1977.
- [93] F. Kuczelinis, J. H. Petersen, P. Weis, N. H. Bings, *J. Anal. At. Spectrom.* **2020**, *35*, 1922–1931.
- [94] C. C. Garcia, H. Lindner, A. von Bohlen, C. Vadla, K. Niemax, *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 470.
- [95] A. K. Souders, P. J. Sylvester, *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 975.
- [96] C. Simons, C. Mans, S. Hanning, A. Janßen, M. Radtke, U. Reinholz, M. Ostermann, M. Michaelis, J. Wienold, D. Alber, M. Kreyenschmidt, *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 40–43.
- [97] J. Pauwels, A. Lamberty, H. Schimmel, *Accredit Qual Assur* **1998**, *3*, 51–55.
- [98] M. V. Zoriy, J. S. Becker, *Int. J. Mass Spectrom.* **2007**, *264*, 175–180.
- [99] M. Stieß, *Mechanische Verfahrenstechnik - Partikeltechnologie 1, 3.*, vollst. neu bearb. Auflage, Springer, Berlin und Heidelberg, **2009**.
- [100] National Institute of Standards & Technology, Certificate of Analysis Standard Reference Material 612: Trace Elements in Glass, **2012**.
- [101] S. M. Eggins, J. M. G. Shelley, *Geostand. Geoanal. Res.* **2002**, *26*, 269–286.
- [102] T. Narukawa, S. Willie, *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 1145.
- [103] S. M. Monk, S. M. Lev, *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28*, 274–279.
- [104] C. C. Wohlgemuth-Ueberwasser, C. Ballhaus, J. Berndt, V. Stotter née Paliulionyte, T. Meisel, *Contrib. Mineral. Petrol.* **2007**, *154*, 607–617.
- [105] S. A. Wilson, W. I. Ridley, A. E. Koenig, *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, *17*, 406–409.
- [106] H. Sela, Z. Karpas, H. Cohen, Y. Zakon, Y. Zeiri, *Int. J. Mass Spectrom.* **2011**, *307*, 142–148.
- [107] S. Gruhl, F. Witte, J. Vogt, C. Vogt, *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, *24*, 181–188.
- [108] S. F. Boulyga, K. G. Heumann, *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, *19*, 1501.
- [109] D. Hare, B. Reedy, R. Grimm, S. Wilkins, I. Volitakis, J. L. George, R. A. Cherny, A. I. Bush, D. I. Finkelstein, P. Doble, *Metallomics* **2009**, *1*, 53–58.
- [110] K. Jurowski, M. Szewczyk, W. Piekoszewski, M. Herman, B. Szewczyk, G. Nowak, S. Walas, N. Miliszkiewicz, A. Tobiasz, J. Dobrowolska-Iwanek, *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 1425–1431.
- [111] J. O'Reilly, D. Douglas, J. Braybrook, P.-W. So, E. Vergucht, J. Garrevoet, B. Vekemans, L. Vincze, H. Goenaga-Infante, *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, *29*, 1378–1384.
- [112] H.-J. Stärk, R. Wennrich, *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *399*, 2211–2217.
- [113] J.-C. Müller, M. Horstmann, L. Traeger, A. U. Steinbicker, M. Sperling, U. Karst, *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2019**, *52*, 166–175.

- [114] A. Izmer, D. Gholap, K. de Houwer, F. Cuyckens, F. Vanhaecke, *J. Anal. At. Spectrom.* **2012**, *27*, 413.
- [115] R. Niehaus, M. Sperling, U. Karst, *J. Anal. At. Spectrom.* **2015**, *30*, 2056–2065.
- [116] M. Šala, V. S. Šelih, J. T. van Elteren, *The Analyst* **2017**, *142*, 3356–3359.
- [117] I. Schaumann, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Hannover, **2011**.
- [118] I. Schaumann, W. Malzer, I. Mantouvalou, L. Lühl, B. Kanngießler, R. Dargel, U. Giese, C. Vogt, *Spectrochim. Acta Part B* **2009**, *64*, 334–340.
- [119] G. Schwartze, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Hannover, **2013**.
- [120] C. Austin, D. Hare, T. Rawling, A. M. McDonagh, P. Doble, *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 722.
- [121] A. Dreyer, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Hannover, **2016**.
- [122] J. Bode, Dissertation, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, **2021**.
- [123] L. Brunnbauer, J. Gonzalez, H. Lohninger, J. Bode, C. Vogt, M. Nelhiebel, S. Larisegger, A. Limbeck, *Spectrochim. Acta Part B* **2021**, *183*, 106272.
- [124] M. Whitt, K. Vorst, W. Brown, S. Baker, L. Gorman, *J. Plast. Film Sheeting* **2013**, *29*, 163–173.
- [125] E. M. M. Flores, E. I. Muller, F. A. Duarte, P. Grinberg, R. E. Sturgeon, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 374–380.
- [126] M. Bonta, A. Limbeck, *J. Anal. At. Spectrom.* **2018**, *33*, 1631–1637.
- [127] I. de Schrijver, M. Aramendia, L. Vincze, M. Resano, A. Dumoulin, F. Vanhaecke, *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, *62*, 1185–1194.
- [128] T. Stehrer, J. Heitz, J. D. Pedarnig, N. Huber, B. Aeschlimann, D. Günther, H. Scherndl, T. Linsmeyer, H. Wolfmeir, E. Arenholz, *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398*, 415–424.
- [129] O. Baake, P. S. Hoffmann, S. Flege, H. M. Ortner, S. Gottschalk, W. Berky, A. G. Balogh, W. Ensinger, B. Beckhoff, M. Kolbe, M. Gerlach, B. Pollakowski, J. Weser, G. Ulm, M. Haschke, E. Blokhina, M. Peter, D. Porta, M. Heck, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *393*, 623–634.
- [130] I. Mantouvalou, Dissertation, Technische Universität Berlin, Berlin, **2009**.
- [131] J. V. Schubert, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Hannover, **2019**.
- [132] T. Brock, M. Groteklaes, P. Mischke, *Lehrbuch der Lacktechnologie*, Vincentz Network, Hannover, **2017**.
- [133] M. M. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 3188–3189.
- [134] E. W. Berg, F. R. Hartlage, *Anal. Chim. Acta* **1965**, *33*, 173–181.

- [135] Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung, GESTIS-Stoffdatenbank, (Hrsg.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung), <https://gestis.dguv.de/>.
- [136] Thermo Fisher Scientific Inc., Aldrich Organometallic, Inorganic, Silanes, Boranes, and Deuterated Compounds: Subset of Aldrich FT-IR Library, (Hrsg.: Thermo Fisher Scientific Inc.), **2007**.
- [137] J. P. Thieleke, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Hannover, **2017**.
- [138] A. Becker, Diplomarbeit, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, **2021**.
- [139] National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Hrsg., SDBSWeb, <https://sdfs.db.aist.go.jp>.
- [140] D. W. Hahn, N. Omenetto, *Appl. Spectrosc.* **2010**, *64*, 335–366.
- [141] D. W. Hahn, N. Omenetto, *Appl. Spectrosc.* **2012**, *66*, 347–419.
- [142] S. Sheta, M. S. Afgan, Z. Hou, S.-C. Yao, L. Zhang, Z. Li, Z. Wang, *J. Anal. At. Spectrom.* **2019**, *34*, 1047–1082.
- [143] A. Kramida, Y. Ralchenko, NIST Atomic Spectra Database, NIST Standard Reference Database 78, en, **1999**.
- [144] K. Herrmann, Masterarbeit, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, **2022**.
- [145] M. Otto, *Chemometrics: Statistics and computer application in analytical chemistry*, Third edition, Wiley-VCH, Weinheim, **2017**.
- [146] J. S. Becker, *Int. J. Mass Spectrom.* **2010**, *289*, 65–75.
- [147] R. Weiskirchen, S. Weiskirchen, P. Kim, R. Winkler, *J. Cheminf.* **2019**, *11*, 16.
- [148] J. Bianga, A. Bouslimani, N. Bec, F. Quenet, S. Mounicou, J. Szpunar, B. Bouyssiére, R. Lobinski, C. Larroque, *Metallomics* **2014**, *6*, 1382–1386.
- [149] F. Blaske, O. Reifschneider, G. Gosheger, C. A. Wehe, M. Sperling, U. Karst, G. Hauschild, S. Höll, *Anal. Chem.* **2013**, *86*, 615–620.
- [150] M. Bonta, J. J. Gonzalez, C. D. Quarles, R. E. Russo, B. Hegedus, A. Limbeck, *J. Anal. At. Spectrom.* **2016**, *31*, 252–258.
- [151] C. Herdering, C. A. Wehe, O. Reifschneider, I. Raj, G. Ciarimboli, K. Diebold, C. Becker, M. Sperling, U. Karst, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2013**, *27*, 2588–2594.
- [152] M. Holzlechner, M. Bonta, H. Lohninger, A. Limbeck, M. Marchetti-Deschmann, *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 8831–8837.
- [153] T. Schramm, Z. Hester, I. Klinkert, J.-P. Both, R. M. Heeren, A. Brunelle, O. Laprèvote, N. Desbenoit, M.-F. Robbe, M. Stoeckli, B. Spengler, A. Römpf, *J. Proteomics* **2012**, *75*, 5106–5110.
- [154] Alexandrov Team der EMBL Heidelberg, <https://github.com/alexandrovteam/pyimzML>.

- [155] P. Ramachandran, **2020**, <https://github.com/enthought/mayavi>.
- [156] D. Tsurkan, P. Simon, C. Schimpf, M. Motylenko, D. Rafaja, F. Roth, D. S. Inosov, A. A. Makarova, I. Stepniak, I. Petrenko, A. Springer, E. Langer, A. A. Kulbakov, M. Avdeev, A. R. Stefankiewicz, K. Heimler, O. Kononchuk, S. Hippmann, D. Kaiser, C. Viehweger, A. Rogoll, A. Voronkina, V. Kovalchuk, V. V. Bazhenov, R. Galli, M. Rahimi-Nasrabadi, S. L. Molodtsov, P. Rahimi, S. Falahi, Y. Joseph, C. Vogt, D. V. Vyalikh, M. Bertau, H. Ehrlich, *Adv. Mater.* **2021**, *33*, e2101682.
- [157] DIN 32645:2008-11, Chemische Analytik_ - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen_ - Begriffe, Verfahren, Auswertung, Berlin.
- [158] G. Van Rossum, F. L. Drake, *Python 3 Reference Manual*, CreateSpace, Scotts Valley, CA, **2009**.
- [159] J. D. Hunter, *Comp. Sci. Eng.* **2007**, *9*, 90–95.
- [160] W. McKinney in Proceedings of the 9th Python in Science Conference, (Hrsg.: S. van der Walt, J. Millman), **2010**, S. 51–56.
- [161] C. R. Harris, K. J. Millman, S. J. van der Walt, R. Gommers, P. Virtanen, D. Cournapeau, E. Wieser, J. Taylor, S. Berg, N. J. Smith, R. Kern, M. Picus, S. Hoyer, M. H. van Kerkwijk, M. Brett, A. Haldane, J. F. del Río, M. Wiebe, P. Peterson, P. Gérard-Marchant, K. Sheppard, T. Reddy, W. Weckesser, H. Abbasi, C. Gohlke, T. E. Oliphant, *Nature* **2020**, *585*, 357–362.
- [162] P. Virtanen, R. Gommers, T. E. Oliphant, M. Haberland, T. Reddy, D. Cournapeau, E. Burovski, P. Peterson, W. Weckesser, J. Bright, S. J. van der Walt, M. Brett, J. Wilson, K. J. Millman, N. Mayorov, A. R. J. Nelson, E. Jones, R. Kern, E. Larson, C. J. Carey, Í. Polat, Y. Feng, E. W. Moore, J. VanderPlas, D. Laxalde, J. Perktold, R. Cimrman, I. Henriksen, E. A. Quintero, C. R. Harris, A. M. Archibald, A. H. Ribeiro, F. Pedregosa, P. van Mulbregt, SciPy 1.0 Contributors, *Nat. Methods* **2020**, *17*, 261–272.
- [163] F. Pedregosa, G. Varoquaux, A. Gramfort, V. Michel, B. Thirion, O. Grisel, M. Blondel, P. Prettenhofer, R. Weiss, V. Dubourg, J. Vanderplas, A. Passos, D. Cournapeau, M. Brucher, M. Perrot, E. Duchesnay, *J Mach Learn Res* **2011**, *12*, 2825–2830.
- [164] A. Clark, Pillow (PIL Fork) Documentation, **2015**, <https://buildmedia.readthedocs.org/media/pdf/pillow/latest/pillow.pdf>.

8.2 zusätzliche Graphiken und Tabellen

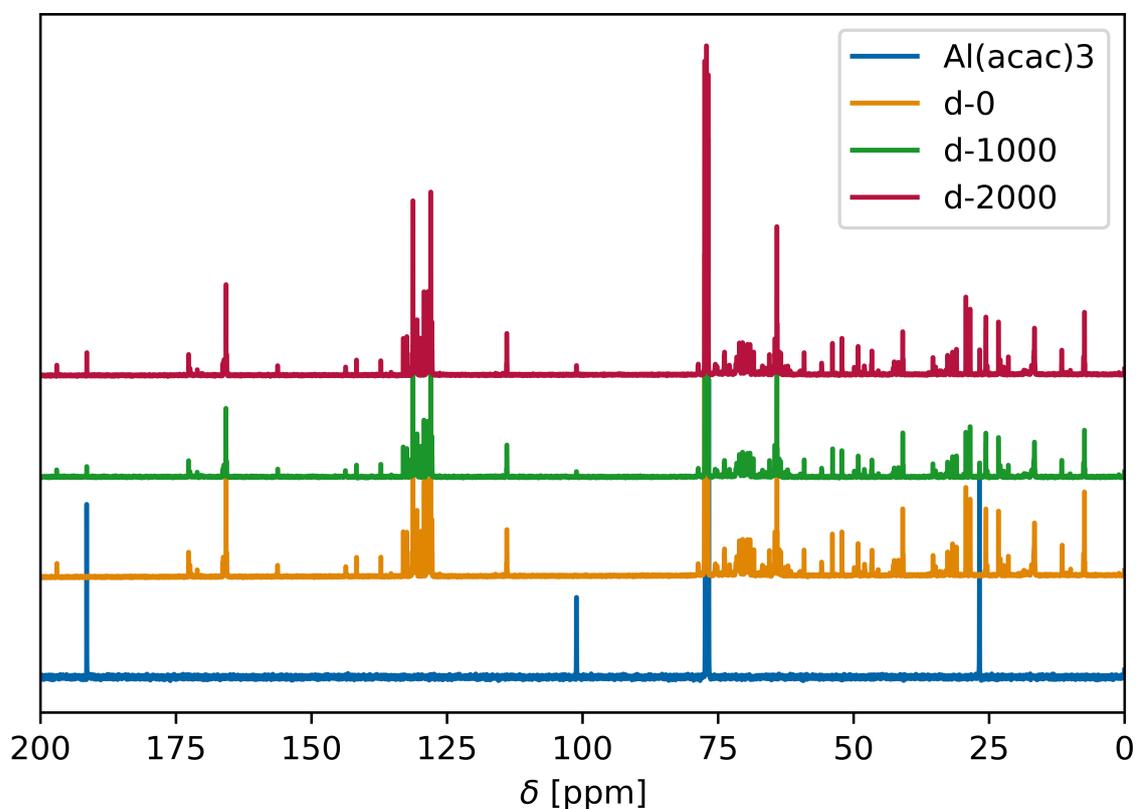


Abb. A.1: ^{13}C -NMR-Spektren der nicht polymerisierten Lackproben d-0, d-1000 und d-2000 sowie des festen $\text{Al}(\text{acac})_3$, jeweils in CDCl_3 gelöst. Das Signal (Triplet) des CDCl_3 ist jeweils bei etwa 77 ppm erkennbar.

Tab. A.1: Gehalte der Proben c, mittels ICP-OES (Fe-Emissionslinien bei 259,940 nm, 238,204 nm, 239,562 nm, 240,488 nm und 261,187 nm) bestimmt und anhand der Einwaage berechnet.

Probe	Elementgehalt in $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ nach Einwaage	Elementgehalt in $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ mit ICP-OES bestimmt
c-200	204 ± 1	204 ± 2
c-500	507 ± 1	505 ± 3
c-800	802 ± 2	801 ± 4
c-1100	1103 ± 2	1109 ± 5
c-1400	1405 ± 3	1413 ± 9
c-1700	1706 ± 4	1712 ± 11
c-2000	2014 ± 3	2044 ± 2

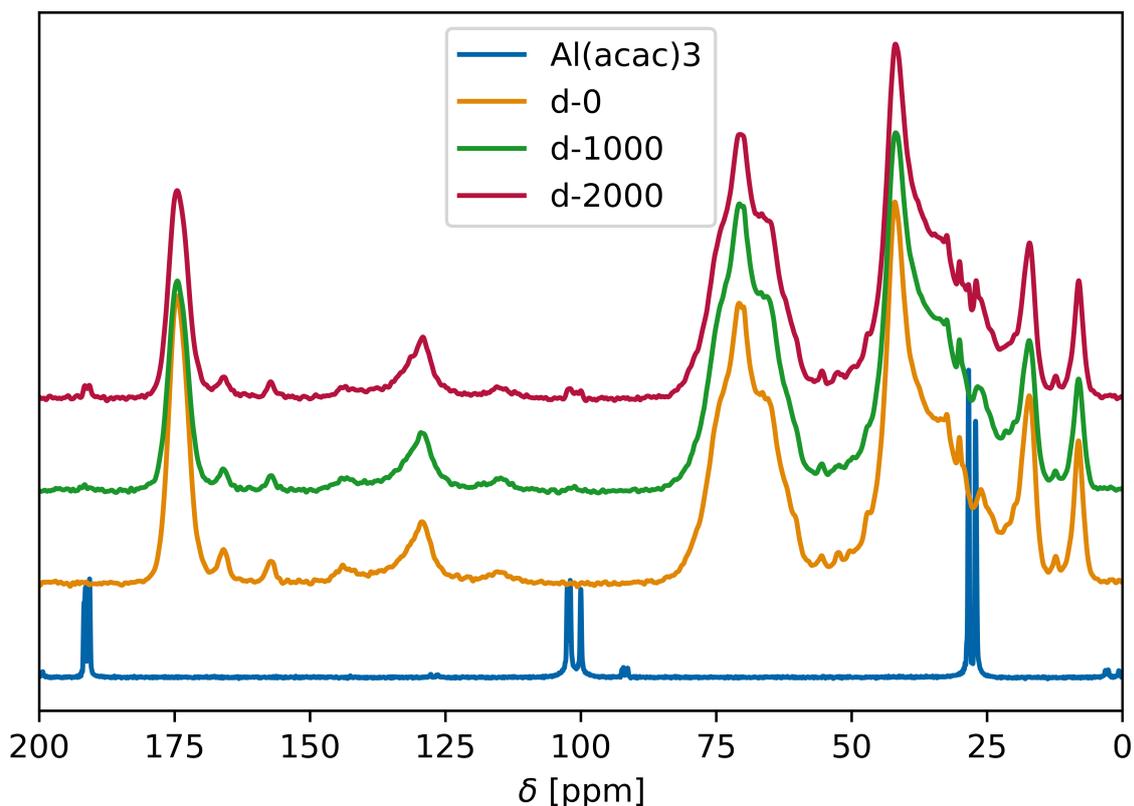


Abb. A.2: ^{13}C -NMR-Spektren (CP/MAS) der gemahlten Lackproben d-0, d-1000 und d-2000 sowie des verwendeten festen $\text{Al}(\text{acac})_3$.

Tab. A.2: Ergebnisse der μRFA -Messung des Probensystems c gemessene Intensitäten und relative Standardabweichungen.

Probe	Netto-Summe Fe-K	rel. Stw. in %
c-200	17502	1,5
c-500	41974	1,9
c-800	63914	1,1
c-1100	85753	0,6
c-1400	110509	1,2
c-1700	133651	3,7
c-2000	161193	3,3

Tab. A.3: Ergebnisse der LA-ICP-MS-Messung des Probensystems c Mittelwerte der gemessenen Intensitäten und relative Standardabweichungen.

Probe	^{54}Fe		^{56}Fe		^{57}Fe		^{58}Fe	
	Intensität in cps	rel. Stw. in %	Intensität in cps	rel. Stw. in %	Intensität in cps	rel. Stw. in %	Intensität in cps	rel. Stw. in %
c-200	3590	77,6	61379	6,8	1486	26,8	195	87,1
c-500	16721	19,7	273697	11,1	6682	16,5	928	34,9
c-800	30241	10,9	523738	4,1	12594	9,6	1743	24,4
c-1100	40073	8,7	692741	3,2	16696	8,3	2272	21,6
c-1400	56645	8,5	969929	5,5	23382	8,6	3228	18,9
c-1700	62248	7,1	1082745	4,3	26204	7,4	3628	18,0
c-2000	145489	5,0	3060110	4,2	60729	5,4	8399	11,7

Tab. A.4: Ergebnisse der LIBS-Messung des Probensystems c Medianwerte der gemessenen Intensitäten und relative Standardabweichungen.

Probe	$\text{Fe}_{238,2 \text{ nm}} / \sum \text{Si}$		$\text{Fe}_{239,5 \text{ nm}} / \sum \text{Si}$		$\text{Fe}_{259,9 \text{ nm}} / \sum \text{Si}$		$\text{Fe}_{275,6 \text{ nm}} / \sum \text{Si}$	
		rel. Stw. in %						
c-200	0,119	83	0,064	131	0,145	86	0,010	1283
c-500	0,232	55	0,126	115	0,440	59	0,095	104
c-800	0,366	25	0,199	43	0,530	17	0,121	45
c-1100	0,632	40	0,367	42	0,963	39	0,224	44
c-1400	0,702	23	0,484	30	1,046	20	0,264	39
c-1700	0,829	46	0,675	36	1,303	37	0,391	33
c-2000	1,107	34	0,958	28	2,160	27	0,564	27

Tab. A.5: Nachweisgrenzen (NG) und Bestimmungsgrenzen (BG) der Probenreihe c, berechnet nach der Kalibriergeradenmethode nach DIN 32645 sowie die Intensitäten der Messungen an Proben ohne Eisen als Leerwert. Hinter den Wellenlängen der Emissionslinien ist deren relative Intensität nach NIST *Atomic Spectra Database* in Klammern angegeben. [143, 157]

	μRFA	LA-ICP-MS				LIBS			
		^{54}Fe	^{56}Fe	^{57}Fe	^{58}Fe	Fe 238,2 nm ($1,8 \cdot 10^6$)	Fe 239,5 nm ($1,5 \cdot 10^6$)	Fe 259,9 nm ($1,0 \cdot 10^6$)	Fe 275,6 nm ($1,1 \cdot 10^6$)
NG [$\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$]	39	162	146	139	148	242	301	263	277
BG [$\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$]	144	556	504	483	511	799	977	864	905
c-0 Intensität	1613	-72	421	-15	31	0,0225	0,0227	0,0139	0,0141
c-0 Stw.	335	2379	4470	122	188	0,0383	0,0765	0,1060	0,0773
c-0 [$\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$]	-2	82	95	93	111	32	229	5	242

Tab. A.6: Vergleich der gemessenen Schichtdicken und des aus dem Gauß-Fit berechneten FWHM der Proben g-I und g-II.

Element	Probe g-I		Probe g-II	
	Schichtdicke in μm	FWHM in μm	Schichtdicke in μm	FWHM in μm
Si		78,2		76,2
Ca	39,3	64,8	61,2	68,7
Fe	25,9	62,4	60,9	80,5
Fe korr.		55,1		75,3
La	28,4	52,0	64,6	65,3
Pb	31,1	36,5	60,3	43,8

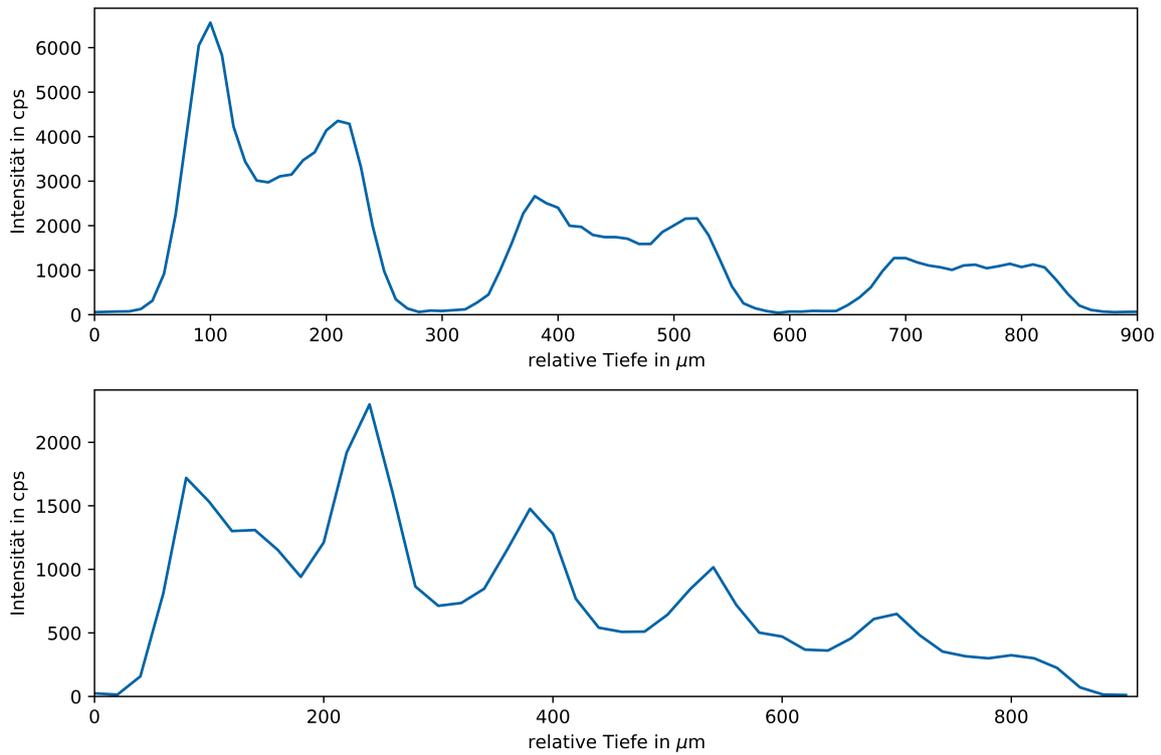


Abb. A.3: C μ RFA-Tiefenprofile (Fe-K-Fluoreszenzlinie) der Proben f-I (oben) und f-II (unten).

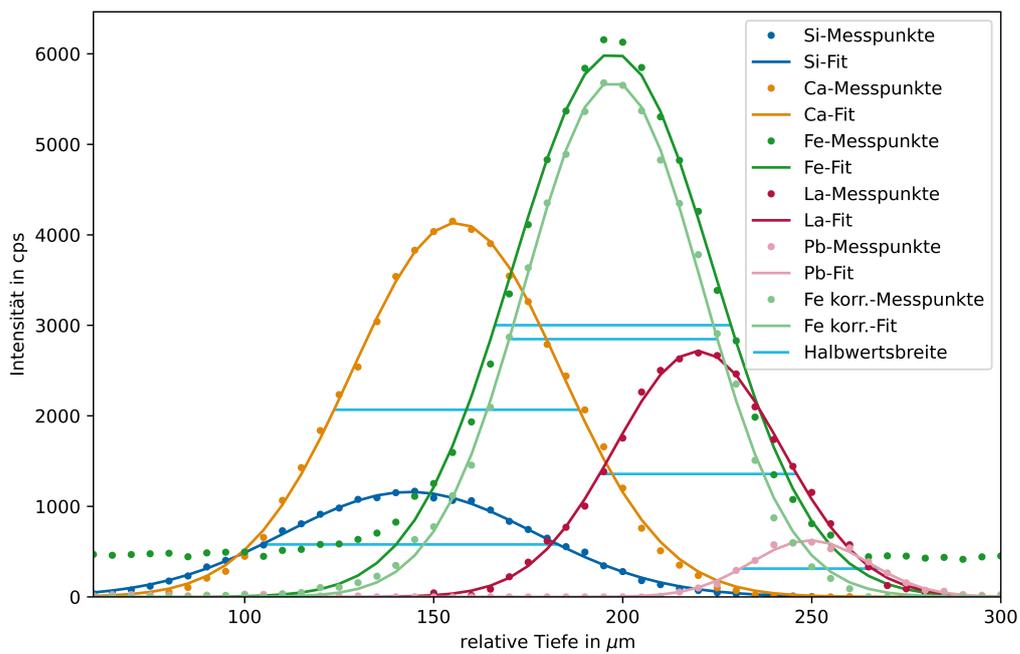


Abb. A.4: Tiefenprofil der Probe g-I mit C μ RFA gemessen (Mittelwert aus drei Messungen an verschiedenen Probenpositionen).

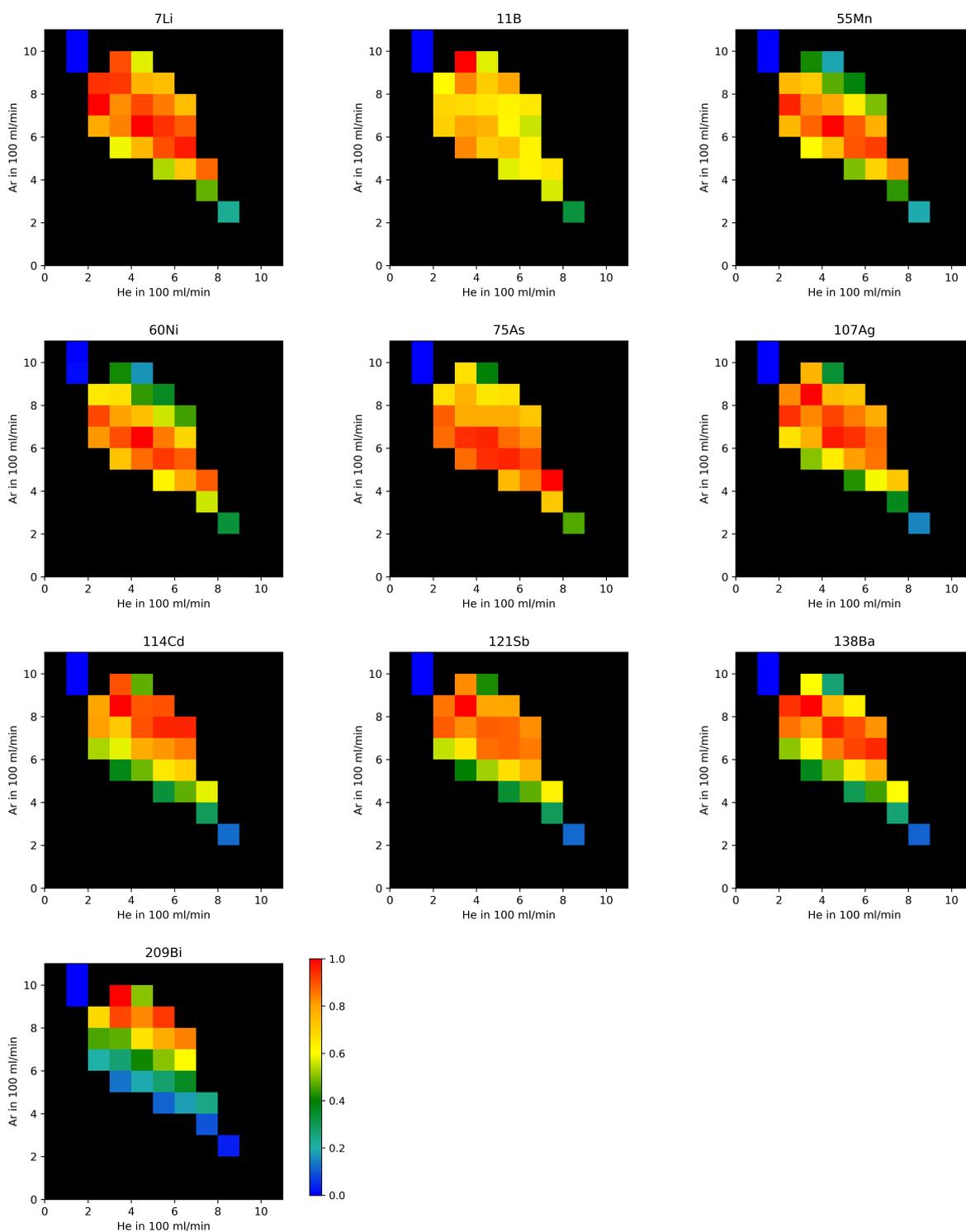


Abb. A.5: Normierte Intensitäten der übrigen gemessenen Isotope (siehe Beschriftung), für verschiedene Argon und Heliumgasströme. Gemessen an NIST 612 Glasstandard (vgl. Tab. A.7). Nicht gemessene Bereiche sind schwarz dargestellt.

Tab. A.7: Ausgewählte Elementgehalte des NIST Glasstandards 612. Einige Elemente sind im Material enthalten, der Gehalt ist jedoch nicht im Zertifikat angegeben (gekennzeichnet mit k.A.). [100]

Element	Gehalt in $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$
Antimon	$34,9 \pm 2,2$
Arsen	$37,4 \pm 2,2$
Barium	$38,6 \pm 2,6$
Bismut	k.A.
Bor	32
Cadmium	$29,9 \pm 4,2$
Gold	5
Lithium	40
Magnesium	k.A.
Mangan	$37,7 \pm 3,8$
Nickel	$38,8 \pm 0,2$
Silber	$22,0 \pm 0,3$
Strontium	$78,4 \pm 0,2$

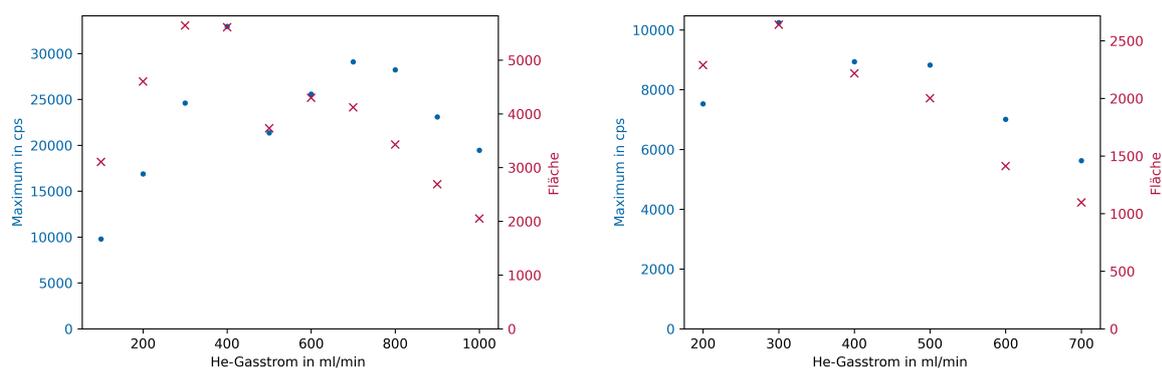


Abb. A.6: Einfluss des Heliumgasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Peakhöhe und die Fläche.

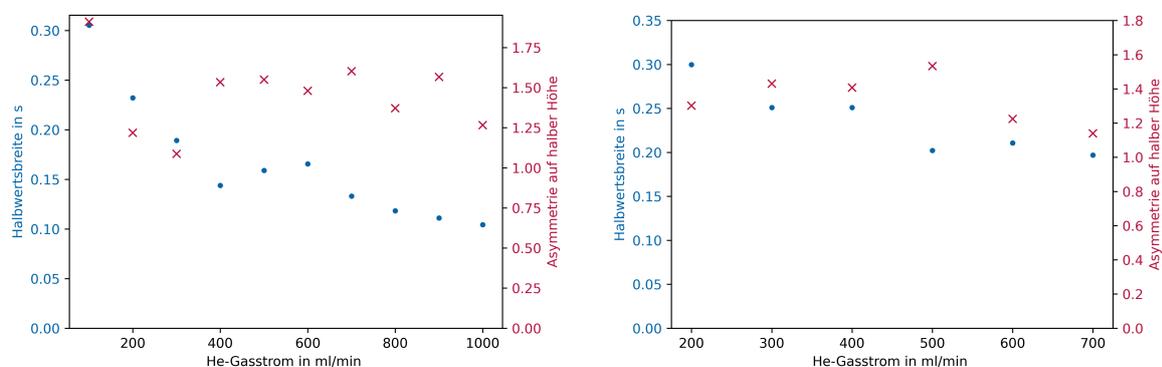


Abb. A.7: Einfluss des Heliumgasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Halbwertsbreite und die Asymmetrie auf halber Höhe.

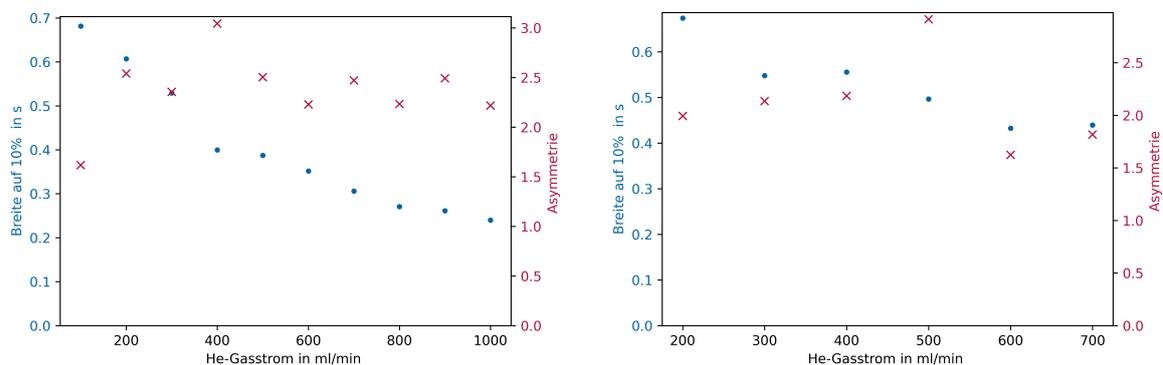


Abb. A.8: Einfluss des Heliumgasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Breite auf 10 % der Höhe und die Asymmetrie.

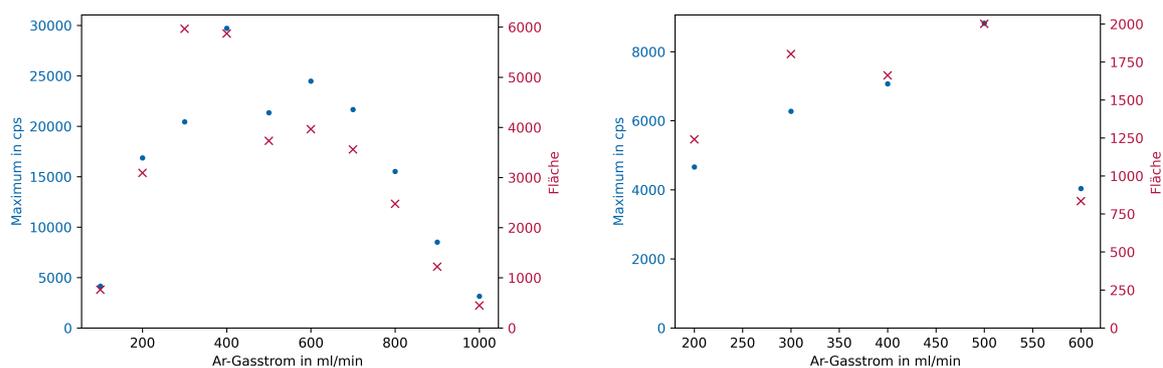


Abb. A.9: Einfluss des Argongasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Peakhöhe und die Fläche.

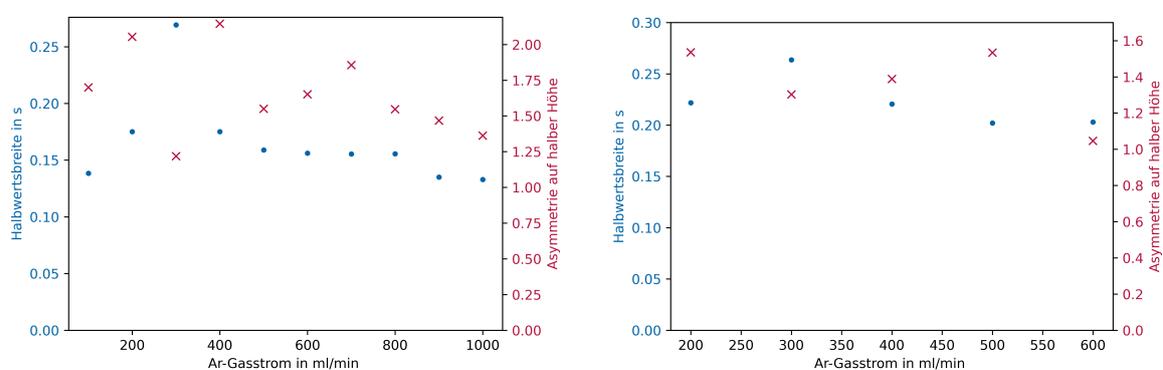


Abb. A.10: Einfluss des Argongasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Halbwertsbreite und die Asymmetrie auf halber Höhe.

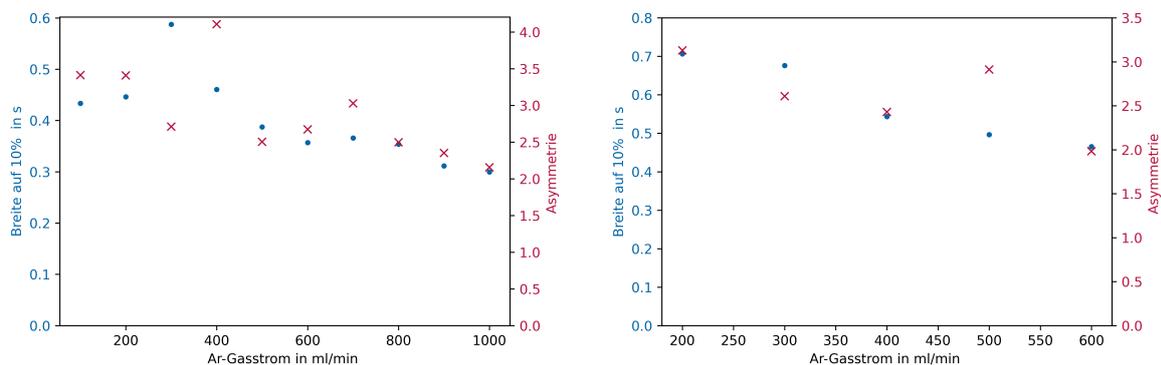


Abb. A.11: Einfluss des Argongasstroms auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Breite auf 10% der Höhe und die Asymmetrie.

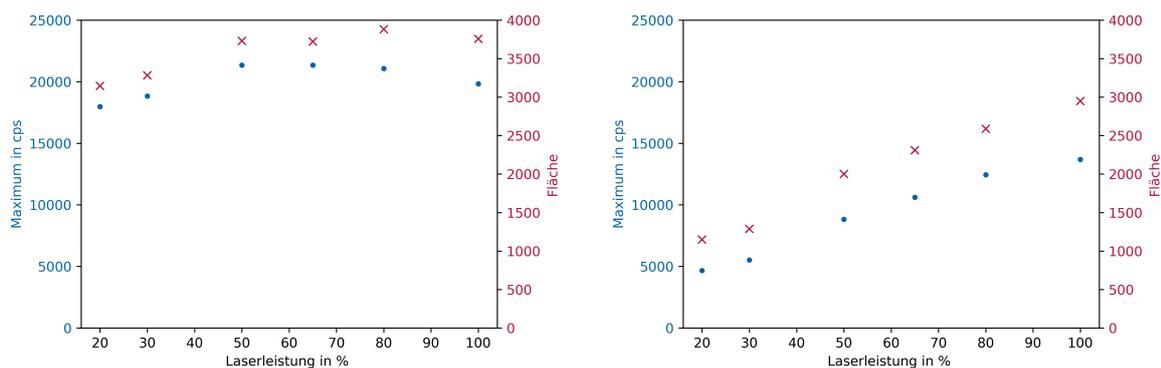


Abb. A.12: Einfluss der Laserleistung auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Peakhöhe und die Fläche.

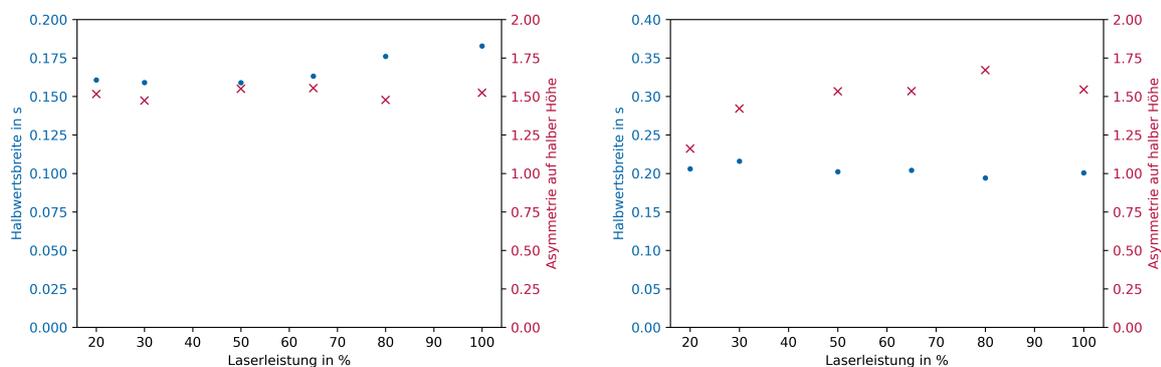


Abb. A.13: Einfluss der Laserleistung auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Halbwertsbreite und die Asymmetrie auf halber Höhe.

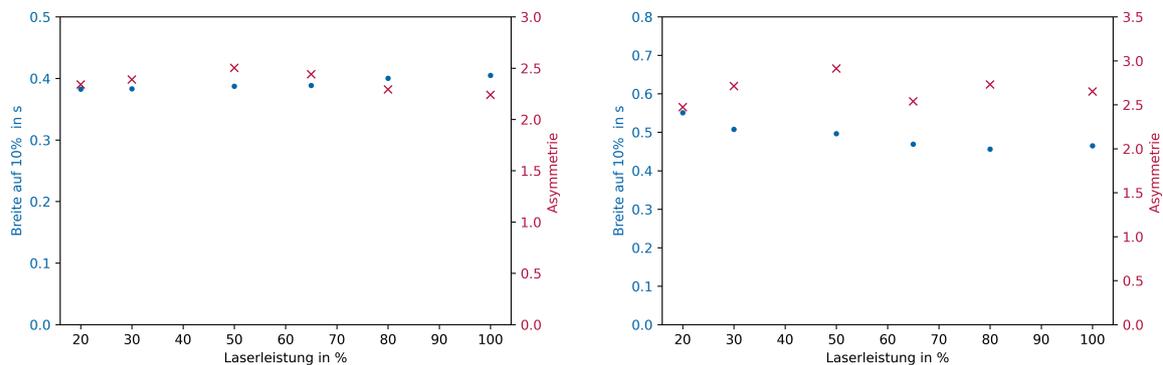


Abb. A.14: Einfluss der Laserleistung auf das Austragsverhalten des Probenmaterials einer magnesiumhaltigen (links) und einer chromhaltigen Lackschicht (rechts) aus der Ablationszelle, dargestellt sind die Breite auf 10 % der Höhe und die Asymmetrie.

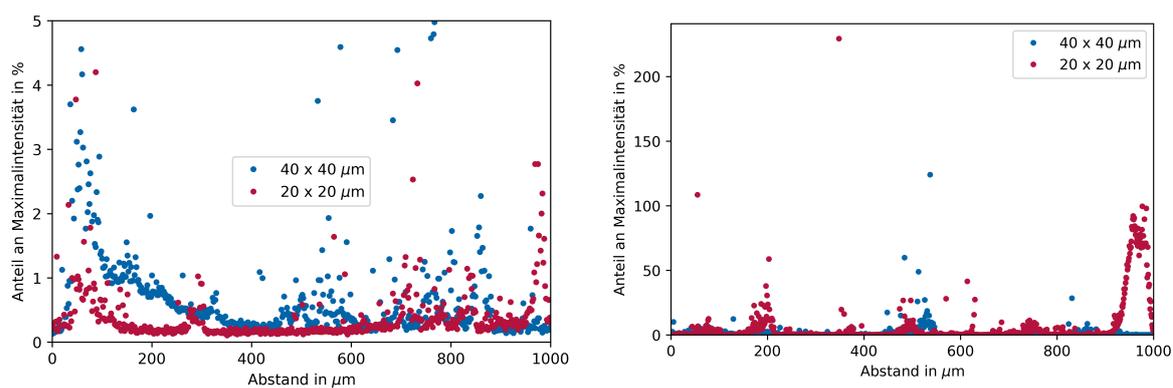


Abb. A.15: Ortsaufgelöste Verteilung des Probenmaterials auf der Blankoberfläche der aufgeklebten Proben, von ^{24}Mg (links) und ^{27}Al (rechts), jeweils bei zwei verschiedenen Ablationsbedingungen. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen.

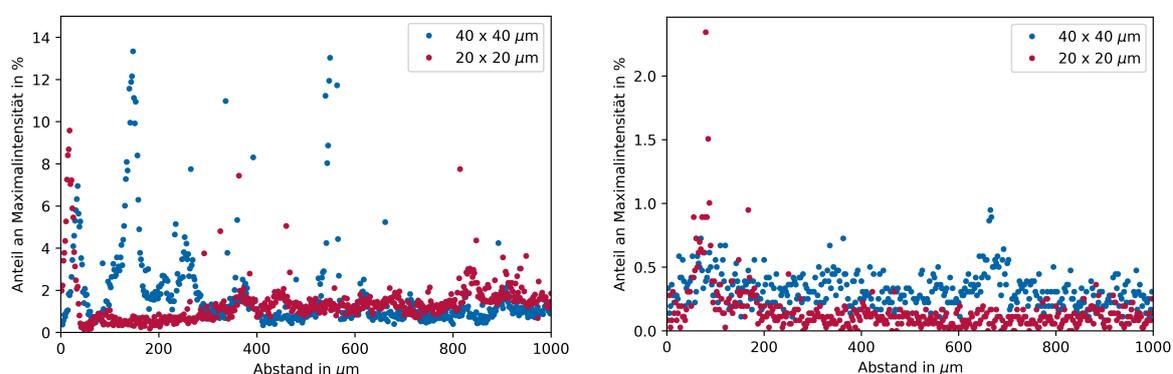


Abb. A.16: Ortsaufgelöste Verteilung des Probenmaterials auf der Blankoberfläche der aufgeklebten Proben von ^{64}Zn (links) und ^{114}Cd (rechts), jeweils bei zwei verschiedenen Ablationsbedingungen. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen.

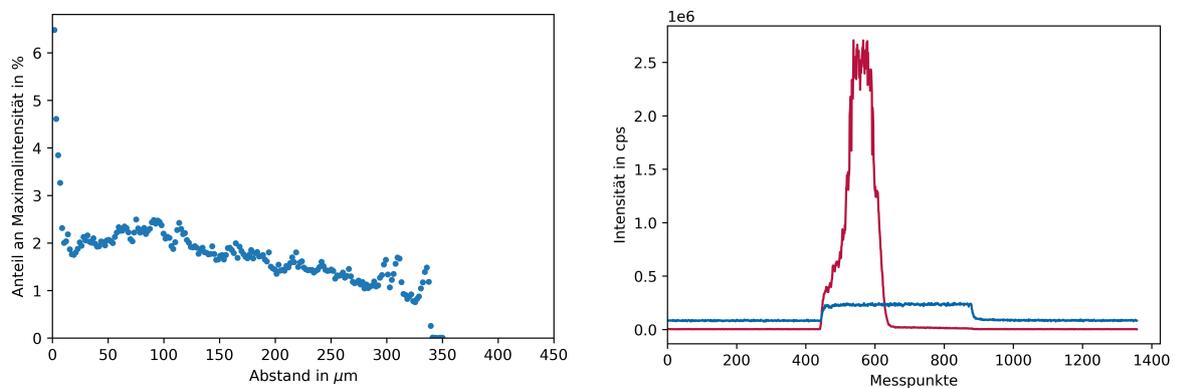


Abb. A.17: Ortsaufgelöste Verteilung des Probenmaterials auf der Blankoberfläche der gestapelten Proben von ^{208}Pb (links). Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen. Rechts: ^{52}Cr -Messung über eine B-Cr-B-B-Probe. Durch die Präparationsweise befindet sich auch in der linken B-Schicht ein erhöhter Chromgehalt.

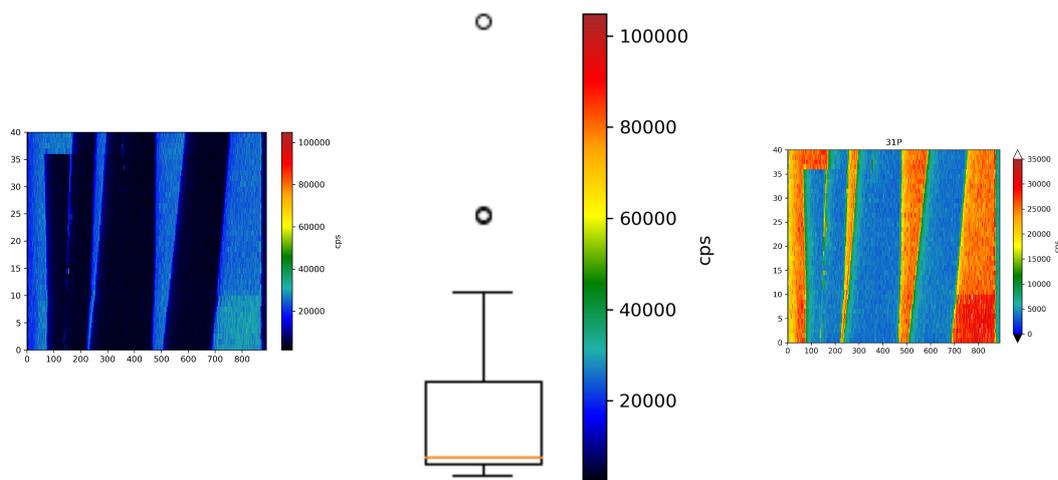


Abb. A.18: ^{31}P -Verteilung der Mn-Schichtenprobe nach der Korrektur des Offsetproblems (links). Mitte: die gleiche Farbskala zusammen mit dem Boxplot der Intensitätsverteilung. Rechts: Verteilungsbild nach Anpassung der Farbskala auf 0-99,9 %. Beide Achsen der Verteilungsbilder geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider.

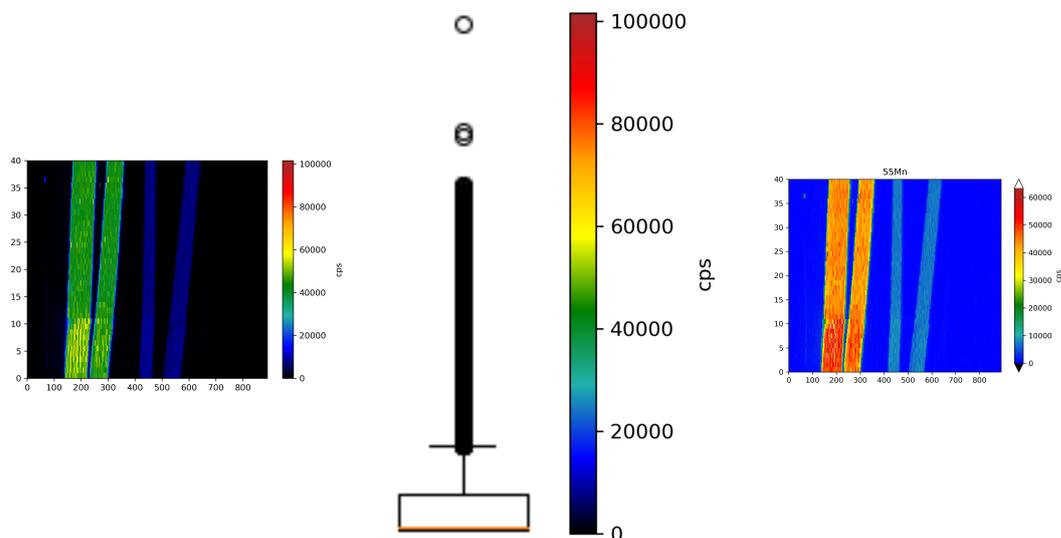


Abb. A.19: ⁵⁵Mn-Verteilung der Mn-Schichtenprobe nach der Korrektur des Offsetproblems (links). Mitte: die gleiche Farbskala zusammen mit dem Boxplot der Intensitätsverteilung. Rechts: Verteilungsbild nach Anpassung der Farbskala auf 0-99,9 %. Beide Achsen der Verteilungsbilder geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider.

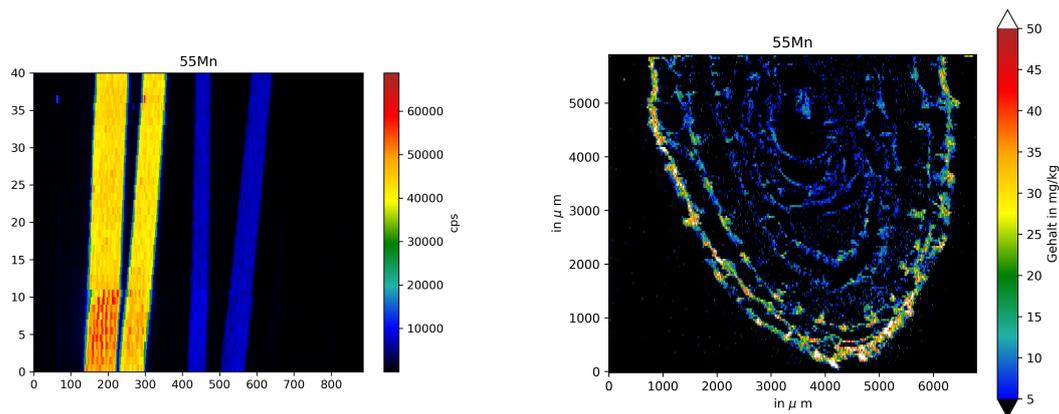


Abb. A.20: Links: ⁵⁵Mn-Verteilung der Mn-Schichtenprobe nach der Korrektur des Offsetproblems, es wurde zusätzlich der gleitende Durchschnitt mit einer Schrittweite von 5 berechnet. Beide Achsen geben die Anzahl der vorhandenen Datenpunkte wider. Rechts: ⁵⁵Mn-Verteilung des Maisstängelquerschnitts, die Kalibrierung wurde anhand einer Messung der 50 $\frac{mg}{kg}$ Lackschicht durchgeführt und dient lediglich zur Demonstration von Skript A.11.

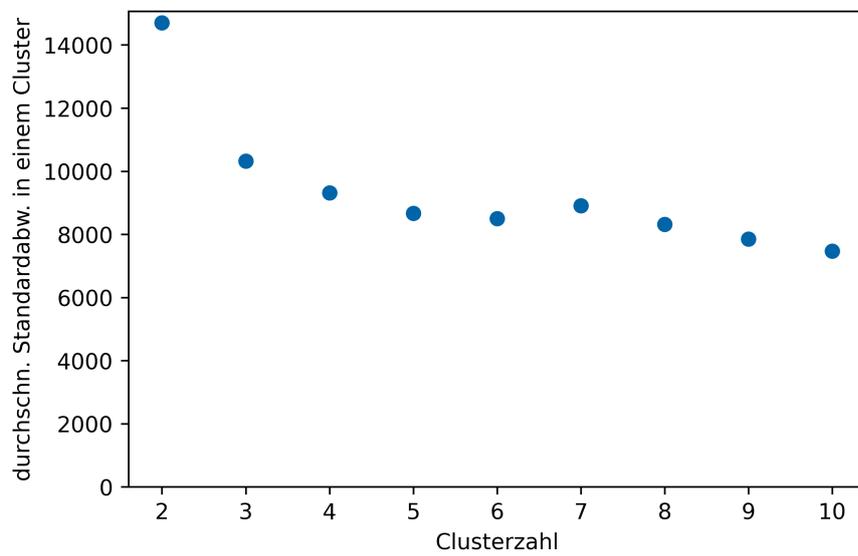


Abb. A.21: Für die Clusteranalyse der Schichtenprobe wurden jeweils die Clusteranzahl und die durchschnittliche Standardabweichung pro Cluster aufgetragen.

8.3 Pythonskripte

Für die folgenden Skripte wurden verschiedene Pythonpakete verwendet. [158–164]

Skript A.1: Auswertung der Peakform.

```
1  #!/usr/bin/env python3
2  # -*- coding: utf-8 -*-
3  """
4  Created on Thu Dec 22 15:17:03 2022
5
6  @author: anika
7  """
8
9  import pandas as pd
10 import numpy as np
11 import matplotlib.pyplot as plt
12 import glob
13 import re
14 from scipy import signal, stats
15 import os
16
17 TimePfad = '.csv'
18 IntensityPfad = '.csv'
19 Pfad = '/Bilder/'
20
21 Intensity = pd.read_csv(IntensityPfad , sep = ';' , decimal = ',' ,
22                        ,header = 4)
23
24 Time = pd.read_csv(TimePfad , sep = ';' , decimal = ',' , header =
25                    4)
26
27 Intensity = Intensity.fillna(0)
28 Time = Time.fillna(0)
29
30 File = open('/Ergebnis.txt' , 'w')
31 File.write('Bezeichnung\tAnzahl\tMaximum(Median)\t
32            Maximum(STW)\tFWHM(Median)\tFWHM(Stw)\tFWHM_As(
33            Median)\tFWHM_As(STW)\tTenPercentW(Median)\t
34            TenPercentW(Median)\tAs(Median)\tAs(STW)\tArea(
35            Median)\tArea(STW)\n' )
36
37 for i in range(len(Intensity)): #Zeilenweise durch die Daten
38     gehen
```

```
31 Row = Intensity.loc[i]
32 RowT = Time.loc[i]
33 x = np.array(RowT[2:-1])
34 y = np.array(Row[2:-1])
35 y = signal.savgol_filter(y,7,1)
36
37 Rauschen = np.mean(y[:100]) # Rauschen aus Gasblank ueber
    dem die Peaks liegen muessen
38 STD = np.std(y[:100])
39 if STD + Rauschen < 500:
40     STD = 500
41
42 Peaks, Properties = signal.find_peaks(y,prominence=Rauschen
    +STD*3,distance=10)
43
44 PeakListen = []
45 for a in range(1,len(Peaks)-1):
46     PeakList = []
47     Index = Peaks[a]
48     while True:
49         PeakList.append(Index)
50         if Index > Peaks[a] + 15:
51             if Index > Properties['right_bases'][a] or
                Index > Properties['left_bases'][a+1]:
52                 break
53             else:
54                 Index = Index + 1
55         else:
56             Index = Index + 1
57     Index = Peaks[a]-1
58     while True:
59         PeakList.append(Index)
60         if Index < Peaks[a] - 15:
61             if Index < Properties['right_bases'][a-1] or
                Index < Properties['left_bases'][a]:
62                 break
63             else:
64                 Index = Index - 1
65         else:
66             Index = Index - 1
67
68     PeakList.sort()
```

```

69         if len(PeakList)>30:
70             Vorn = np.min(y[PeakList[:10]])
71             Hinten = np.min(y[PeakList[-10:]])
72             if Vorn < Rauschen+10*STD and Hinten < Rauschen
              +10*STD:
73                 PeakListen.append(PeakList)
74                 # plt.plot(x[PeakList],y[PeakList],'-x')
75                 # plt.show()
76 ##### Herstellen der Peaklisten aus den Indices in den
              Originaldaten abgeschlossen
77             MaxList = []
78             FWHMList = []
79             FWHMAsList = []
80             TenPercList = []
81             AsList = []
82             AreaList = []
83             if len(PeakListen) > 0:
84                 for b in range(len(PeakListen)):
85                     Ind = PeakListen[b] # Liste der Indices des
              aktuellen Peaks in den OrgDaten
86                     IntenDat = y[Ind] #Liste der y-Werte (SavGol) des
              aktuellen Peaks
87                     TimeDat = x[Ind] # Liste der Zeitwerte des aktellen
              Peaks
88
89                     Basis = np.mean([IntenDat[:2],IntenDat[-2:]]) #
              Hoehe der Basislinie
90                     if Basis > 0.0:
91                         IntenDat = IntenDat - Basis
92
93                     Max = np.max(IntenDat)
94
95                     MaxInd = np.where(IntenDat==Max)[0][0]
96
97                     MaxTime = TimeDat[MaxInd]
98
99                     HM = Max/2
100                    TenPer = Max/10
101                    A = 0
102                    B = 0
103                    LHM = 0
104                    RHM = 0

```

```

105         if MaxInd < 3:
106             continue
107         MaxList.append(Max)
108         for c in range(int(MaxInd),-1,-1): # Punkte
           durchgehen bis zum Max
109
110             if IntenDat[c] < TenPer and A == 0:
111                 res = stats.linregress([TimeDat[c+1],
112                                         TimeDat[c]], [IntenDat[c+1], IntenDat[c]])
113                 A = MaxTime - ((TenPer - res.intercept)/
114                                 res.slope)
115                 AreaLinks = np.trapz(IntenDat[c:MaxInd],
116                                     TimeDat[c:MaxInd])
117
118             if IntenDat[c] < HM and LHM == 0:
119                 res = stats.linregress([TimeDat[c+1],
120                                         TimeDat[c]], [IntenDat[c+1], IntenDat[c]])
121                 LHM = MaxTime - ((HM- res.intercept)/ res.
122                                 slope)
123
124         for d in range(int(MaxInd), len(IntenDat)): # Punkte
           durchgehen bis zum Max
125             if IntenDat[d] < TenPer and B == 0:
126                 res = stats.linregress([TimeDat[d-1],
127                                         TimeDat[d]], [IntenDat[d-1], IntenDat[d]])
128                 B = ((TenPer - res.intercept)/ res.slope)
129                     - MaxTime
130                 AreaRechts = np.trapz(IntenDat[MaxInd:d],
131                                       TimeDat[MaxInd:d])
132
133             if IntenDat[d] < HM and RHM == 0:
134                 res = stats.linregress([TimeDat[d-1],
135                                         TimeDat[d]], [IntenDat[d-1], IntenDat[d]])
136                 RHM = ((HM- res.intercept)/ res.slope) -
137                     MaxTime
138
139         plt.plot(TimeDat, IntenDat, '-x', color = '#0064a8')
140         plt.ylim(0,)
141         plt.xlabel('Zeit_in_s')
142         plt.ylabel('Intensitaet_in_cps')
143         plt.hlines(TenPer, MaxTime-A, MaxTime, color='#b5123e')
           ')

```

```
134     plt.hlines(HM,MaxTime-LHM,MaxTime, color='#1a962b')
135     plt.hlines(TenPer,MaxTime+B,MaxTime, color='#23bae2
136               ')
137     plt.hlines(HM,MaxTime+RHM,MaxTime, color='#e08603')
138     plt.tight_layout()
139     plt.savefig(Pfad + 'Row' + str(i) + 'Peak' + str(b)
140               + '.png', dpi=600)
141     plt.clf()
142
143     FWHMList.append(RHM+LHM)
144     FWHMAsList.append(RHM/LHM)
145     TenPercList.append(A+B)
146     AsList.append(B/A)
147     AreaList.append(AreaLinks+AreaRechts)
148
149     File.write(str(Row[1].replace('\u001F','')) + '\t' +
150               str(len(MaxList)) + '\t' + str(np.median(MaxList))
151               + '\t' + str(np.std(MaxList)) + '\t' + str(np.
152               median(FWHMList)) + '\t' + str(np.std(FWHMList)) + '
153               \t' + str(np.median(FWHMAsList)) + '\t' + str(np.std
154               (FWHMAsList)) + '\t' + str(np.median(TenPercList)) +
155               '\t' + str(np.std(TenPercList)) + '\t' + str(np.
156               median(AsList)) + '\t' + str(np.std(AsList)) + '\t'
157               + str(np.median(AreaList)) + '\t' + str(np.std(
158               AreaList)) + '\n' )
159
160     else:
161         File.write(str(Row[1].replace('\u001F','')) + '\t' +
162               str(0) + '\n' )
163
164     plt.plot(x,y, color = '#0064a8')
165     plt.xlim(0,)
166     plt.ylim(0,)
167     plt.xlabel('Zeit_in_s')
168     plt.ylabel('Intensitaet_in_cps')
169     plt.plot(x[Peaks],y[Peaks], 'x', color = '#b5123e')
170     plt.title(Row[1].replace('\u001F',''))
171     plt.tight_layout()
172     plt.savefig(Pfad + 'Row' + str(i) + '.png', dpi=600)
173     plt.clf()
174
175     File.close()
```

Skript A.2: Einlesen der LA-ICP-MS-Rohdaten für die Erstellung der Elementverteilungsbilder.

```

1 # -*- coding: utf-8 -*-
2 """
3 Created on Wed Aug  5 13:35:29 2020
4
5 @author: rogoll
6 """
7
8 import numpy as np
9 import pandas as pd
10
11 def EinlesenLAICPMSCSV(TrennZ=',', DezTr='.', Alle=True):
12     # TrennZ ist Komma, kann anders angegeben werden, DezTr=
13     # Dezimaltrennzeichen, standard = ., Alle= True → Alle
14     # Daten in einer Datei
15     # Datenstruktur: Messungen(Liste) enthält alle Namen der
16     # Messungen
17     # Mess(Dict) enthaelt alle Daten → Klassen
18     # fuer jede Messung, enthalten je
19     # Isotope(Dict) mit Listen der Isotope (IList
20     # enthaelt die gemessenen Isotope)
21     # Alle Messungen die eingelesen werden sollen muessen
22     # gleich lang sein, sonst ggf Probleme beim plotten
23
24     if Alle == True:
25         # Anlegen der Datenstruktur:
26         Messungen = []
27         Mess = {}          # Liste mit den Klassen der
28         # Messung
29         IList = []        # Liste die alle gemessenen
30         # Isotope enthaelt
31         Datei = str(input('Bitte Pfad der Datei angeben. (
32         Muss mit / getrennt sein und eine Dateiendung (
33         csv) haben)\n'))
34         class Messung:
35             def __init__(self, Isotope):
36                 self.Isotope = {}
37
38         DataFrame = pd.read_csv(Datei, sep=TrennZ, encoding=
39         'unicode_escape', decimal = DezTr, low_memory=
40         False)
41
42
43
44
45
46
47
48
49

```

```

30     if DataFrame.columns[0] != 'SampleList':
31         DataFrame.columns.values[0] = 'SampleList'
32         DataFrame.columns.values[1] = 'SampleList.1'
33
34     for col in DataFrame.columns:
35         if col.startswith('Unnamed'):
36             del DataFrame[col]
37
38     for a in DataFrame[:0]:                                     #
39         Zeilenbezeichnungen
40         b = str(DataFrame[a][0])
41         if b == str(0):
42             IList.append(str(DataFrame[a][1]))
43
44     for a in range(len(DataFrame['SampleList.1'])) :
45         if a > 2:
46             Messungen.append(DataFrame['SampleList.1'][
47                 a])
48
49     for a in Messungen:
50         Mess[a] = Messung({})
51         for b in range(len(IList)):
52             Mess[a].Isotope[IList[b]] = []
53
54 #Einlesen der Daten:
55     for SpaNam in DataFrame.columns:                           #
56         Spalten
57         if SpaNam != 'SampleList.1' and SpaNam != '
58             SampleList':                                     #Inhalt jeder Spalte
59             for ZeilNr in range(len(DataFrame[SpaNam
60                 ])):
61                 if ZeilNr > 2:
62                     c = DataFrame[SpaNam][ZeilNr]
63                     if type(c) != float:
64                         if type(c) == int:
65                             Mess[DataFrame['SampleList
66                                 .1'][ZeilNr]].Isotope[
67                                 DataFrame[SpaNam][1]].
68                                 append(float(c))
69
70                     else:
71                         Mess[DataFrame['SampleList

```

```

        .1')[ZeilNr]].Isotope[
        DataFrame[SpaNam][1]].
        append(float(c.replace(
        ",",".")))

64         # Rueckgabe
65         Pfad = Datei[:-3]
66         Zeich = ''
67         while Zeich != '/':
68             Pfad = Pfad[:-1]
69             Zeich = Pfad[-1]
70         Arrays = ArraysErstellen(Mess, IList, Messungen)
71         return(Arrays, IList, Pfad)
72
73
74     def ArraysErstellen(Mess, IList, Messungen):
75     #Uebergebene Daten:
76         #Mess = Dict mit allen Daten
77         #IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
            fuer das Dict Isotope = Alle Isotope die geplottet
            werden
78         #Messungen = Liste mit Namen aller Messungen (Schluessel im
            Dict Mess) = Messungen die geplottet werden
79
80         Arrays={} # Dict wird alle Arrays der Isotope enthalten
81         for x in IList:
82             Array = []
83             ArrayN = []
84             for a in range(len(Messungen)):
85                 Zeile = Mess[Messungen[a]].Isotope[x]
86                 l = len(Zeile)
87                 Array.append(Zeile)
88                 if a == 0:
89                     Ende = l
90                 if l < Ende:
91                     Ende = l
92             for b in range(len(Messungen)):
93                 ZeileN = Array[b]
94                 ArrayN.append(ZeileN[:Ende])
95             Arrays[x]=np.array(ArrayN)
96
97         # Rueckgabe eines Dict mit je einer Matrix pro Isotop
98         return Arrays

```

Skript A.3: Korrektur der gegeneinander verschobenen Liniemessungen anhand des ansteigenden Signals zu Beginn der Ablation.

```

1  import numpy as np
2
3  def Offset( Arrays , IList , FHstw=10):
4      # Uebergebene Daten:
5      # Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
6      # IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
          fuer das Dict
7      # FHstw = faktor mit dem die Stw multipliziert wird um den
          Anstieg an dem der Offset ausgerichtet werden soll zu
          ermitteln
8
9      Offset = []
10     OffArrays = {}
11     OffIs = input('Isotop_an_dem_der_Offset_berechnet_werden_
          soll_eingeben:_\n')
12     x, y = Arrays[ OffIs ].shape
13     for a in range(x):
14         Diff = []
15         for z in range(2, len( Arrays[ OffIs ][ a ] ) - 2):
16             Diff.append( np.mean( Arrays[ OffIs ][ a ][ z-2:z+3 ] ) )
17
18         Hstw = []
19         for b in range(20):
20             Hstw.append( Diff[ b ] )
21         Mean = np.mean( Hstw )
22         Stw = np.std( Hstw )
23         Off = Mean + ( FHstw * Stw )
24         cList = []
25         for c in range( len( Diff ) ):
26             if Diff[ c ] > Off:
27                 cList.append( c )
28         if cList == []:
29             cList.append( 0 )
30         Offset.append( cList[ 0 ] )
31
32     MaxOff = max( Offset )
33
34     for d in IList:
35         Array = []
36         for e in range(x):

```

```

37         Zeile = Arrays[d][[e]]
38         EndOff = MaxOff - Offset[e]
39         Zeile = Zeile.tolist()
40         if EndOff == 0:
41             ZeileNeu = Zeile[0][Offset[e]:]
42         else:
43             ZeileNeu = Zeile[0][Offset[e]:-EndOff]
44         Array.append(ZeileNeu)
45
46     OffArrays[d] = np.array(Array)
47
48     return OffArrays

```

Skript A.4: Auswahl der Auswerteregion von Linienmessungen und Erstellen einer Ausgabedatei, welche jeweils alle relevanten Informationen enthält.

```

1  import numpy as np
2
3  def ArraysZuschneiden (Arrays , IList , Beginn , Ende) :
4      ZArrays={}
5      for a in IList:
6          Array = np.array ( Arrays [a][0: , Beginn :Ende ])
7          ZArrays[a]=Array
8      return ZArrays
9
10 def Auswertung (Arrays , IList , Pfad , Messungen) :
11     for a in IList:
12         PfadNeu= Pfad + str (a) + '_Report.txt'
13         f = open (PfadNeu , 'w')
14         f.write ('Messung_\t_Anzahl_Werte_\t_Mittelwert_\t_
15                 Median_\t_absStw_\t_relStw_\t_\t_Anzahl_ohne_
16                 Ausreisser_\t_Anteil_verwendeter_Daten_\t_Mittelwert
17                 _\t_Median_\t_absStw_\t_relStw_\n')
18         for b in range (len (Messungen)) :
19             Mitt = np.mean (Arrays [a][b])
20             Med = np.median (Arrays [a][b])
21             aStw = np.std (Arrays [a][b])
22             if Mitt == 0:
23                 rStw = 'N'
24             else:
25                 rStw = aStw/Mitt
26
27         Ar = Arrays[a][b]

```

```

25     Ar.sort()
26     upper_q = np.percentile(Ar, 75)
27     lower_q = np.percentile(Ar, 25)
28     iqr = upper_q - lower_q
29     upper_W = Ar[Ar <= upper_q + 1.5*iqr].max()
30     #lower_W = Ar[Ar <= lower_q + 1.5*iqr].min()
31     ArN=[]
32
33     for c in range(len(Ar)):
34         if Ar[c] <= upper_W: ## Achtung es werden nur
35             die oberen Ausreisser aussortiert
36                 ArN.append(Ar[c])
37
38     oAMitt = np.mean(ArN)
39     oAMed = np.median(ArN)
40     oAaStw = np.std(ArN)
41     if oAMitt == 0:
42         oArStw = 'N'
43     else:
44         oArStw = oAaStw/oAMitt
45     oAAanz = len(ArN)
46     oAAnteil = oAAanz/len(Arrays[a][b])
47
48     f.write(str(Messungen[b]) + '\t' + str(len(Arrays[a]
49         ][b])) + '\t' + str(Mitt) + '\t' + str(Med) + '\t'
50         + str(aStw) + '\t' + str(rStw) + '\t' + '\t' +
51         str(oAAanz) + '\t' + str(oAAnteil) + '\t' + str(
52         oAMitt) + '\t' + str(oAMed) + '\t' + str(oAaStw)
53         + '\t' + str(oArStw) + '\n' )
54
55 f.close()

```

Skript A.5: Abzug des Untergrundes jeder Linienmessung anhand des Mittelwertes der in der Gasphase ohne Ablation gemessenen Werte.

```

1  import numpy as np
2
3  def Untergrundkorrektur(Arrays, IList, Strecke=20): #
4      Untergrundabzug an den Messdaten, jede Zeile einzeln
5      # Uebergabene Daten:
6          # Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
7          # IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
8              fuer das Dict
9          # Strecke = Anzahl der Punkte zu Beginn einer Linie mit

```

```

    denen der Untergrund berechnet wird
8
9     x, y = Arrays[IList[0]].shape
10    UArrays = {}
11
12    for a in IList:
13        Array = []
14        for b in range(x):
15            Mean = np.mean(Arrays[a][b, 0:Strecke])
16            Zeile = []
17            for c in range(y):
18                Zahl = Arrays[a][b, c]-Mean
19                Zeile.append(Zahl)
20
21            Array.append(Zeile)
22        UArrays[a] = np.array(Array)
23    return UArrays

```

Skript A.6: Drei einzelne Funktionen, welche zum Glätten der Daten mittels Svitzy-Golay-Filter (erste), Glätten der Daten mit gleitendem Durchschnitt (zweite) und Normieren auf ein wählbares gemessenes Isotop (z. B. ^{13}C) (dritte) verwendet werden können.

```

1  import numpy as np
2  import scipy.signal
3
4  def SGArrays(Arrays, IList, Ordnung=2):
5      # Uebergebene Daten:
6      # Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
7      # IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
8          fuer das Dict
9
10     # Ordnung der Glaettungsfunktion ist 2, kann anders
11         angegeben werden
12
13     FenstBreite = int(input('Fensterbreite_des_SG-Filters_(
14         ungerade_Zahl):_\n'))
15     SGArrays={} # Dict wird alle Arrays der Isotope enthalten
16
17     for a in IList:
18         Array = []
19         x,y = Arrays[a].shape
20         for b in range(x):
21             Zeile = scipy.signal.savgol_filter(Arrays[a][[b]],
22                 FenstBreite,Ordnung)

```

```
18         Array.append(Zeile.tolist()[0])
19         SGArrays[a]=np.array(Array)
20
21     return SGArrays
22
23 def MovingAvArrays(Arrays, IList, Breite=3):
24     #Glaettet mit gleitendem Durchschnitt einer waehlbaren
25     Fensterbreite
26     # Uebergebene Daten:
27     # Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
28     # IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
29     fuer das Dict
30     # Breite ist die Breites des Filters
31
32     MAArrays={} # Dict wird alle Arrays der Isotope enthalten
33     FB=int(Breite/2)
34     Rest=Breite-FB
35
36     for a in IList:
37         Array = []
38         y,x = Arrays[a].shape
39         for c in range(y):
40             Zeile=[]
41             for b in range(FB,x-Rest):
42
43                 Zeile.append(np.mean(Arrays[a][c][b-FB:b+
44                                     Rest]))
45             Array.append(Zeile)
46
47         MAArrays[a]=np.array(Array)
48     return MAArrays
49
50 def NormArrays(Arrays, IList, NormIsot= '13C'): # Normierung
51     aller Arrays an dem des angegebenen Isotops
52     #Uebergebene Daten:
53     #Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
54     #IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
55     fuer das Dict
56     #NormIsot, Isotop anhand dem alle anderen Isotope normiert
57     werden sollen, falls nichts gegeben wird 13C verwendet
58
59     Max = np.amax(Arrays[NormIsot])
```

```

54 NormArray = Arrays[NormIsot] / Max
55 NormArray=np.where(NormArray == 0 , 1 , NormArray)
56 NArrays={}
57 for a in IList:
58     NArray=Arrays[a] / NormArray
59     NArrays[a] = NArray
60
61 return NArrays

```

Skript A.7: Einfachste der drei vorgestellten Funktionen zum Darstellen aller im Datensatz enthaltenen Isotope als Verteilungsbilder. Die Achsen stellen die Anzahl der Messpunkte auf dieser Achse dar. Die Farbskala gibt die Intensität wieder und umfasst alle pro Isotop enthaltenen Intensitäten.

```

1 import matplotlib.pyplot as plt
2 from matplotlib.ticker import MaxNLocator
3 import matplotlib.colorbar
4 from matplotlib.colors import ListedColormap,
5     LinearSegmentedColormap, BoundaryNorm
6 from matplotlib.cm import ScalarMappable
7
8 def pltArrays( Arrays , IList , Pfad , Contur=False , FigWidth=6.4,
9     FigHeight=4.8,label='cps' ): # Plotten der 'Rohdaten'
10     # Uebergebene Daten:
11     # Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
12     # IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
13     # fuer das Dict
14     # Pfad = Speicherort der erzeugten Bilder , kann Anfang der
15     # Quelldatei enthalten , jedoch ohne Dateiendung
16     # Contur = ohne scharfe Grenzen im Bild , Farbuebergange
17     # sind fliessend
18
19     for a in IList:
20         colors = ['black' , "blue" , "lightseagreen" , "green" , "
21             yellow" , 'orange' , "red" , 'brown' ]
22         cmap = LinearSegmentedColormap.from_list("mycmap" ,
23             colors)
24         plt.figure(figsize=(FigWidth , FigHeight) , dpi=300)
25         if Contur is False:
26             plt.pcolormesh( Arrays[a] , cmap=cmap)
27             plt.colorbar(label=label)
28         else:
29             levels = MaxNLocator(nbins=100).tick_values( Arrays[
30                 a].min() , Arrays[a].max() )

```

```

23         im=plt.contourf( Arrays[a] , levels=levels , cmap=cmap)
24         plt.colorbar( ScalarMappable( norm=im.norm, cmap=im.
           cmap) , extend='max' , label=label )
25     plt.title( a )
26     plt.savefig( Pfad + a+ '.png' )
27     plt.clf()

```

Skript A.8: Funktion zum Darstellen der Verteilungsbilder, aller im Datensatz enthaltenen Isotope. Die Achsen stellen die Anzahl der Messpunkte auf dieser Achse dar. Die Farbskala beginnt bei null, alle niedrigeren Werte werden schwarz dargestellt. Das obere Ende der Farbskala ist als Prozentsatz der Daten frei festlegbar. Standardwert ist 99 %. Die verbliebenen 1 % der höchsten Punkte des Isotopes werden weiß dargestellt.

```

1  import matplotlib.pyplot as plt
2  import numpy as np
3  from matplotlib.ticker import MaxNLocator
4  import matplotlib.colorbar
5  from matplotlib.colors import ListedColormap ,
   LinearSegmentedColormap , BoundaryNorm
6  from matplotlib.cm import ScalarMappable
7
8  def pltArrays3( Arrays , IList , Pfad , Contur=False , FigWidth=6.4 ,
   FigHeight=4.8 , OG=99 , label='cps' , dpi=300):          #
   Plot mit veraenderter Obergrenze = ivariabel
9     # Uebergebene Daten:
10    # Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
11    # IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
   fuer das Dict
12    # Pfad = Speicherort der erzeugten Bilder , kann Anfang der
   Quelldatei enthalten , jedoch ohne Dateiendung
13    # Contur = ohne scharfe Grenzen im Bild , Farbuebergaenge
   sind fliessend
14    # OG = Obergrenze in Prozent der Daten
15
16    for a in IList:
17        Ar = Arrays[a].flatten()
18        Ar.sort()
19        vmax = np.percentile( Ar , OG)
20        colors = [ "blue" , "lightseagreen" , "green" , "yellow" , '
   orange' , "red" , 'brown' ]
21        cmap = LinearSegmentedColormap.from_list( "mycmap" ,
   colors )
22        cmap.set_over( 'white' )
23        cmap.set_under( 'black' )
24        plt.figure( figsize=( FigWidth , FigHeight ) , dpi=dpi)

```

```

25     if Contur is False:
26         im= plt.pcolormesh( Arrays[a], vmax=vmax, vmin=0,
27                             cmap=cmap)
28         plt.colorbar( label=label , extend='both ' )
29     else:
30         vmin= 0
31         levels = MaxNLocator( nbins=500). tick_ values ( Arrays [
32             a]. min() , Arrays[a]. max() )
33
34         im=plt.contourf( Arrays[a], vmax=vmax, vmin=0, extend
35                         ='both ' , levels=levels , cmap=cmap)
36         plt.colorbar( ScalarMappable( norm=im. norm , cmap=im .
37                             cmap) , extend='both ' , label=label)
38
39     plt. title ( a)
40
41
42     plt. savefig ( Pfad + '_ohne_A_' + a + '.png' )
43     plt. clf ()

```

Skript A.9: Funktion zum Darstellen der Verteilungsbilder aller im Datensatz enthaltenen Isotope. Die Farbskala ist anpassbar und durch Benutzereingabe der Messfleckgröße, der Linienlänge und des Linienabstandes werden die Bilder auf die Größe des Messbereiches skaliert.

```

1  import matplotlib.pyplot as plt
2  import numpy as np
3  from matplotlib.ticker import MaxNLocator
4  import matplotlib.colorbar
5  from matplotlib.colors import ListedColormap ,
6     LinearSegmentedColormap , BoundaryNorm
7  from matplotlib.cm import ScalarMappable
8
9  def pltSkaliert( Arrays , IList , Pfad , Contur=False , OG=99, label=
10     'cps' , dpi=300):          #Plot mit veraenderter
11     Obergrenze
12     #Uebergabene Daten:
13     #Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
14     #IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
15     fuer das Dict
16     #Pfad = Speicherort der erzeugten Bilder , kann Anfang der
17     Quelldatei enthalten , jedoch ohne Dateiendung
18
19     y,x =Arrays[ IList [0]]. shape
20     Spotsize=int( input( ' Spotsize_in_Mikrometern_\n' ))
21     yAbstand=int( input( ' Abstand_zwischen_Linien_in_Mikrometern_\n' ))

```

```
        :\n'))
17  xLaenge=int(input('Laenge_der_Linien_in_Mikrometern_\n'))
18
19  yLen = Spotsize + (yAbstand)*(y-1)
20  xList=[]
21  yList=[]
22  xAbst = xLaenge/x
23  for b in range(0,yLen,yAbstand):
24      yList.append(b)
25
26  for c in range(0,x):
27      d=c*xAbst
28      xList.append(int(d))
29
30  Y=np.array(yList)
31  X=np.array(xList)
32  Verh=yLen/xLaenge
33
34  for a in lList:
35      #zum Ausreisser entfernen
36      Ar = Arrays[a].flatten()
37      Ar.sort()
38      vmax = np.percentile(Ar, OG)
39      colors = ["blue", "lightseagreen", "green", "yellow",
40               , 'orange', "red", 'brown']
41      cmap=LinearSegmentedColormap.from_list("mycmap",
42               colors)
43      cmap.set_over('white')
44      cmap.set_under('black')
45      plt.figure(dpi=dpi, figsize=(12, 10*Verh))
46      if Contur is False:
47          im=plt.pcolormesh(X,Y,Arrays[a],vmax=vmax,vmin
48              =0, cmap=cmap)
49          plt.colorbar(extend='both')
50      else:
51          vmin= 0
52          levels = MaxNLocator(nbins=200).tick_values(
53              Arrays[a].min(), Arrays[a].max())
54          im=plt.contourf(X,Y, Arrays[a], vmax=vmax, vmin
55              =0, levels=levels, cmap=cmap)
56          plt.colorbar(ScalarMappable(norm=im.norm, cmap=
57              im.cmap), extend='both', label=label)
```

```

52
53         plt.title(a)
54         plt.xlabel('in_{$\mu$}_m')
55         plt.ylabel('in_{$\mu$}_m')
56         plt.axis('scaled')
57         plt.savefig(Pfad + a)
58         plt.clf()

```

Skript A.10: Funktion zum Export der eingelesenen (und korrigierten) Daten in .txt-Dateien, um diese für andere Programme verfügbar zu machen.

```

1  import numpy as np
2
3  def Exporttxt(Arrays, IList, Pfad, Limit = False):
4      # Uebergebene Daten:
5      # Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
6      # IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
7      # fuer das Dict
8      # Limit = ggf. Begrenzung um hinteren Bereich zu entfernen
9
10     for a in IList:
11         if Limit == False:
12             np.savetxt(Pfad + a + '.txt', Arrays[a], delimiter=
13                 ';')
14         if Limit != False:
15             np.savetxt(Pfad + a + '.txt', Arrays[a][0:,0:Limit
16                 ], delimiter=';')

```

Skript A.11: Funktion zum Kalibrieren der Messdaten mit bereits bekannten Kalibriergeraden. Diese werden je Isotop per Benutzereingabe abgefragt.

```

1  #!/usr/bin/env python3
2  # -*- coding: utf-8 -*-
3  """
4  Created on Thu Jan 19 10:43:48 2023
5
6  @author: anika
7  """
8
9  import numpy as np
10 import matplotlib.pyplot as plt
11 from matplotlib.colors import LinearSegmentedColormap
12 from matplotlib.cm import ScalarMappable
13 from matplotlib.ticker import MaxNLocator

```

```
14
15 def pltKali(Arrays, IList, Pfad, Contur=False, dpi=600, OG=99,
    label='Gehalt_in_mg/kg'): # Einrechnen der
    Kalibrierergebnisse
16 #Uebergebene Daten:
17     #Arrays = Dict mit einer np Matrix pro Isotop
18     #IList = Liste mit allen gemessenen Isotopen = Schluessel
        fuer das Dict
19     # Pfad = Speicherort der erzeugten Bilder, kann Anfang der
        Quelldatei enthalten, jedoch ohne Dateiendung
20     # Contur = ohne scharfe Grenzen im Bild, Farbuebergaenge
        sind fliessend
21
22     y,x =Arrays[IList[0]].shape
23     Spotsize=int(input('Spotsize_in_Mikrometern_\n'))
24     yAbstand=int(input('Abstand_zwischen_Linien_in_Mikrometern_\n'))
25     xLaenge=int(input('Laenge_der_Linien_in_Mikrometern_\n'))
26
27     yLen = Spotsize + (yAbstand)*(y-1)
28     xList=[]
29     yList=[]
30     xAbst = xLaenge/x
31     for b in range(0,yLen,yAbstand):
32         yList.append(b)
33
34     for c in range(0,x):
35         d=c*xAbst
36         xList.append(int(d))
37
38     Y=np.array(yList)
39     X=np.array(xList)
40     Verh=yLen/xLaenge
41
42     KaliArrays = {}
43     for a in IList:
44         Kali = input(str(a) + 'kalibrieren?(J/N)_\n')
45         if Kali == 'J':
46             AchsAb = float(input('Achsenabschnitt_fuer_' + str(a) + ':\n'))
47             AnSt = float(input('Anstieg_fuer_' + str(a) + ':\n'))
```

```
48     BestG = float(input('Bestimmungsgrenze_fuer_' + str(
49         a) + ':\n'))
50     MaxWert = float(input('Obergrenze_der_Kalibrierung_
51         fuer_' + str(a) + ':\n'))
52
53     KArray=(Arrays[a] + AchsAb)/AnSt
54
55     colors = ["blue", "lightseagreen", "green", "yellow"
56         , 'orange', "red", 'brown']
57     cmap=LinearSegmentedColormap.from_list("mycmap",
58         colors)
59     cmap.set_over('white')
60     cmap.set_under('black')
61     plt.figure(dpi=dpi, figsize=(6, 6*Verh))
62     if Contur is False:
63         plt.pcolormesh(X,Y, KArray, vmax=MaxWert, vmin=
64             BestG, cmap=cmap)
65         plt.colorbar(extend='both', label=label, fraction
66             =0.07)
67     else:
68         vmin= BestG
69         levels = MaxNLocator(nbins=200).tick_values(
70             BestG, MaxWert)
71         im=plt.contourf(X,Y, KArray, vmax=MaxWert, vmin
72             =BestG, levels=levels, cmap=cmap)
73         plt.colorbar(ScalarMappable(norm=im.norm, cmap=
74             im.cmap), extend='both', label=label, fraction
75             =0.07)
76
77     plt.title(a)
78     plt.xlabel('in_μm')
79     plt.ylabel('in_μm')
80     plt.axis('scaled')
81     plt.tight_layout()
82     plt.savefig(Pfad + a + 'kalibriert')
83     plt.clf()
84
85     KaliArrays[a] = KArray
86
87     else: #es sollen keine Kalidaten verwendet werden
88     Ar = Arrays[a].flatten()
89     Ar.sort()
```

```

80     vmax = np.percentile(Ar, OG)
81     colors = ["blue", "lightseagreen", "green", "yellow"
82             , 'orange', "red", 'brown']
83     cmap=LinearSegmentedColormap.from_list("mycmap",
84             colors)
85     cmap.set_over('white')
86     cmap.set_under('black')
87     plt.figure(dpi=dpi, figsize=(6, 6*Verh))
88     if Contur is False:
89         plt.pcolormesh(X,Y, Arrays[a], vmax=vmax, vmin=0,
90             cmap=cmap)
91         plt.colorbar(extend='both', label='Intensitaet_
92             in_cps', fraction=0.07)
93     else:
94         levels = MaxNLocator(nbins=200).tick_values(
95             Arrays[a].min(), Arrays[a].max())
96         im=plt.contourf(X,Y, Arrays[a], vmax=vmax, vmin
97             =0, levels=levels, cmap=cmap)
98         plt.colorbar(ScalarMappable(norm=im.norm, cmap=
99             im.cmap), extend='both', label='Intensitaet_
100             in_cps', fraction=0.07)
101
102     plt.title(a)
103     plt.xlabel('in_ $\mu$ m')
104     plt.ylabel('in_ $\mu$ m')
105     plt.axis('scaled')
106     plt.tight_layout()
107     plt.savefig(Pfad + a)
108     plt.clf()
109
110     return KaliArrays # Achtung enthaelt nur noch die
111                       kalibrierten Datensatze

```

Skript A.12: Clustering mit KMeans-Algorithmus. Es kann die Maximalzahl der Cluster vom Benutzer angegeben werden, wobei bis zu dieser Zahl alle Ergebnisse ab zwei Cluster berechnet werden. Die Ergebnisse werden zum einen als Bild mit unterschiedlicher Einfärbung der Cluster und zum anderen als Ergebnisdatei ausgegeben. Die Ergebnisdatei gibt einen Überblick über die Werte der einzelnen Cluster und der Abweichung in diesen.

```

1  # -*- coding: utf-8 -*-
2  """
3  Created on Tue Feb 11 13:52:45 2020
4
5  @author: rogoll
6  """

```

```
7
8 import numpy as np
9 import glob
10 import os
11 from sklearn.cluster import KMeans
12 from PIL import Image
13
14 class Pixel:
15     def __init__(self, xPos, yPos):
16         self.xPos = xPos
17         self.yPos = yPos
18         self.Clust = []
19         self.Elemente = []
20
21 vielePixel = {}
22 ElementName = []
23 Name = 0
24 Daten = []
25 Nr = 2
26
27 Pfad = str(input('Bitte Pfad der Daten angeben. (Muss mit /
    getrennt sein)\n'))
28 Anzahl = int(input('Wie viele Cluster maximal? (Achtung es gibt
    aktuell nur 20 Farben.)\n'))
29 L = 0
30
31 Dateien = [os.path.basename(x) for x in glob.glob(Pfad+'*.txt')]
    # alle Dateinamen auslesen
32
33 for i in Dateien: # Fuer jede Datei im Ordenr die
    Adresse erstellen
34     a = np.loadtxt(Pfad + i, delimiter=';')
35     ElementName.append(i)
36     Daten.append(a)
37
38 y, x = np.shape(Daten[0])
39
40 for a in range(x):
41     for b in range(y):
42         vielePixel[Name] = Pixel(a, b)
43         for c in range(len(ElementName)):
44             vielePixel[Name].Elemente.append(Daten[c][b, a])
```



```

                                Liste angelegt (Spalten)
79  for i in vielePixel:
80      Datenzaehler = 0
81      for o in Dateien:
82          Clusterarray[o][vielePixel[i].Clust[L]].append(
                vielePixel[i].Elemente[Datenzaehler])    #
                Elementgehalte werden an die richtige
                Position im Clusterarray geschrieben
83          Datenzaehler = Datenzaehler + 1
84  Report = open(Pfad+'Clusterreport'+ str(L+2) + '.txt', 'w')
85  Report.write('Element/Clusternummer_\t')
86  n = 1
87  for a in range(len(Clusterarray[Dateien[0]])):
88      Report.write(str(n) + '\t')
89      n = n + 1
90  Report.write('\n')
91  Report.write('Anzahl_der_Pixel_im_Cluster_\t')
92  for q in range(len(Clusterarray[Dateien[0]])):
93      Report.write(str(len(Clusterarray[Dateien[0]][q
                ])) + '\t')
94  Report.write('\n')
95  Report.write('Anteil_der_Pixel_im_Cluster_in_%_\t')
96  for q in range(len(Clusterarray[Dateien[0]])):
97      Report.write(str(len(Clusterarray[Dateien[0]][q
                ])/len(vielePixel)*100) + '\t')
98  Report.write('\n')
99
100 #####Dateikopf ist erstellt
101
102  for r in Dateien:
103      Report.write(r[:-4]+ '_Max' + '\t')
104      for p in range(len(Clusterarray[r])):
105          #Abfrage aller Spaltenwerte
106          if Clusterarray[r][p] != []:
107              Report.write(str(max(Clusterarray[r][p])) +
                '\t')
108      Report.write('\n' + r[:-4] + '_Min' + '\t')
109      for p in range(len(Clusterarray[r])):
110          if Clusterarray[r][p] != []:
111              Report.write(str(min(Clusterarray[r][p])) +
                '\t')
112      Report.write('\n' + r[:-4] + '_Durchschnitt' + '\t')

```

```

    )
112     for p in range(len(Clusterarray[r])):
113         if Clusterarray[r][p] != []:
114             Report.write(str(np.mean(Clusterarray[r][p]
115                                     ))) + '\t')
116     Report.write('\n'+ r[:-4] + '_Standardabweichung' +
117                 '\t')
118     for p in range(len(Clusterarray[r])):
119         if Clusterarray[r][p] != []:
120             Report.write(str(np.std(Clusterarray[r][p])
121                               ) + '\t')
122     Report.write('\n')
123 Report.close()
124 L = L+1

```

Skript A.13: Funktionen zum Einlesen der bei LDI-FT-ICR-MS-Messungen erhaltenen imzML-Dateien und zum Trennen der Analyse und Referenzregion.

```

1 from pyimzml.ImzMLParser import ImzMLParser
2 import pandas as pd
3
4 def MaldiEinlesen(imzmlPfad, SpotlistPfad):
5     p = ImzMLParser(imzmlPfad)
6     SpotList = pd.read_csv(SpotlistPfad, skiprows = 1, header
7                             =0, names=['Xpos', 'Ypos', 'SpotName', 'region'])
8     return p, SpotList
9
10 def RegionEntfernen(p, SpotList, Region):
11     Region2 = []
12     for idx, (x,y,z) in enumerate(p.coordinates):
13         if SpotList.iloc[idx]['region'] != Region:
14             Region2.append((x,y,z))
15
16     for a in Region2:
17         p.coordinates.remove(a)
18     return p

```

Skript A.14: Funktionen zum Berechnen des Summenspektrums der LDI-FT-ICR-MS-Messungen.

```

1 import os
2 import numpy as np
3 import glob
4 import multiprocessing

```

```
5 import math
6 from timeit import default_timer as timer
7 from collections import deque
8 import matplotlib.pyplot as plt
9
10 def Summenspektrum(p, SpotList, Pfad):
11     os.mkdir('TempDat/')
12     for idx in range(len(SpotList)):
13         mzs, intensities = p.getspectrum(idx)
14         np.save('TempDat/'+ str(idx), [mzs,intensities])
15
16     Dateien1 = [os.path.basename(y) for y in glob.glob('TempDat
17         /'+ '*')]
18     Dateien1.sort()
19     Teile = multiprocessing.cpu_count()
20     Teil= math.ceil(len(Dateien1)/Teile)
21     Prozesse=[]
22     start = timer()
23     for i in range(Teile):
24         Namensliste=Dateien1[i*Teil:(i+1)*Teil]
25         proc = multiprocessing.Process(target= SumSpecProz,
26             args=('TempDat', Namensliste, len(Dateien1), i))
27         Prozesse.append(proc)
28         proc.start()
29
30     for i in Prozesse:
31         i.join()
32
33     Dateien2 = [os.path.basename(y) for y in glob.glob('TempDat
34         /'+ '*')]
35     Dateien2.sort()
36     for i in Dateien2:
37         if i in Dateien1:
38             Dateien2.remove(i)
39     end=timer()
40     print('Zeit='+str(end-start) +'\n_Start_2.Runde' )
41
42     Teile = int(multiprocessing.cpu_count()/4)
43     Teil= math.ceil(len(Dateien2)/Teile)
44     Prozesse=[]
45     for i in range(Teile):
46         Namensliste=Dateien2[i*Teil:(i+1)*Teil]
```

```
44         proc = multiprocessing.Process(target= SumSpecProz ,
45             args=('TempDat', Namensliste , len (Dateien2) , i))
46         Prozesse.append(proc)
47         proc.start ()
48
49     for i in Prozesse:
50         i.join ()
51
52     Dateien3 = [os.path.basename(y) for y in glob.glob('TempDat
53         /'+ '*')]
54     Dateien3.sort ()
55     for i in Dateien3:
56         if i in Dateien2:
57             Dateien3.remove(i)
58     end=timer ()
59     print ('Zeit='+str (end-start) +'\n_Start_3.Runde' )
60     Summz=[]
61     Sumint=[]
62     Namensliste=Dateien3
63     for i in range(len (Namensliste)):
64         mzs, intensities =np.load('TempDat'+ '/' +
65             Namensliste[i])
66         os.remove('TempDat'+ '/' + Namensliste[i])
67         for a in range(len(mzs)):
68             if intensities[a] >0:
69                 Summz.append(np.round(mzs[a], decimals=6))
70                 Sumint.append(intensities[a])
71
72     Daten=list (zip (Summz, Sumint))
73     del Summz, Sumint
74     Daten.sort ()
75     Masse, Inten = zip (*Daten)
76     del Daten
77     Masse=deque (list (Masse))
78     Inten = deque (list (Inten))
79     MasseNeu=deque ([])
80     IntenNeu=deque ([])
81     for i in range(len (Masse)-1, 0, -1):
82         if Masse[i] == Masse [i-1]:
83             Inten[i-1] = Inten[i-1] + Inten[i]
84             Masse.pop ()
85             Inten.pop ()
```

```

83         else:
84             MasseNeu.appendleft(Masse[i])
85             IntenNeu.appendleft(Inten[i])
86             Masse.pop()
87             Inten.pop()
88     os.rmdir('TempDat/')
89     end=timer()
90     print('Fertig_: _ _ _ Zeit='+str(end-start))
91     np.savetxt(Pfad + '/' + 'Final.txt', [MasseNeu, IntenNeu])
92     plt.figure(dpi=300)
93     plt.plot(MasseNeu, IntenNeu)
94     plt.figure(dpi=600)
95     plt.plot(MasseNeu, IntenNeu, color = '#0064a8')
96     plt.xlabel('Masse-zu-Ladungsverhaeltnis')
97     plt.ylabel('Intensitaet_in_cps')
98
99     return MasseNeu, IntenNeu
100
101
102
103 def SumSpecProz(Pfad, Namensliste, vorhandeneDaten, ProzNr):
104     Summz=[]
105     Sumint=[]
106     for i in range(len(Namensliste)):
107         mzs, intensities =np.load(Pfad+ '/' + Namensliste[i])
108         #print(Namensliste[i])
109         os.remove(Pfad+ '/' + Namensliste[i])
110         for a in range(len(mzs)):
111             if intensities[a] >0:
112                 Summz.append(np.round(mzs[a], decimals=6))
113                 Sumint.append(intensities[a])
114
115     Daten=list(zip(Summz, Sumint))
116     del Summz, Sumint
117     #print('gelistet')
118     Daten.sort()
119     Masse, Inten = zip(*Daten)
120     del Daten
121     #print('sortiert')
122     Masse=deque(list(Masse))
123     Inten = deque(list(Inten))
124     MasseNeu=deque([])

```

```

125     IntenNeu=deque ([])
126     for i in range(len(Masse)-1, 0, -1):
127         if Masse[i] == Masse [i-1]:
128             Inten [i-1] = Inten [i-1] + Inten [i]
129             Masse.pop()
130             Inten.pop()
131         else:
132             MasseNeu.appendleft(Masse[i])
133             IntenNeu.appendleft(Inten[i])
134             Masse.pop()
135             Inten.pop()
136
137     np.save(Pfad + '/' + str(vorhandeneDaten + ProzNr), [
        MasseNeu, IntenNeu])

```

Skript A.15: Funktionen zum Berechnen einer Peakliste der relevanten Signale oberhalb des Rauschlevels in einer Region der LDI-FT-ICR-MS-Messungen.

```

1  from scipy.signal import find_peaks, peak_widths
2  from scipy.optimize import curve_fit
3
4
5  def ListeDerUntergrundPeaks(F, Noise):
6      ReflistX=[]
7      for idx, (x,y,z) in enumerate(F.coordinates):
8          mzs, intensities = F.getspectrum(idx)
9          XList, YList = SpotListBerechnen(mzs, intensities,
10             Noise) #*3
11             ReflistX= ReflistX + XList
12             ReflistX = list(dict.fromkeys(ReflistX))
13             ReflistX.sort()
14             return ReflistX
15
16  def SpotListBerechnen(mzs, intensities, Noise):
17      xData=mzs.copy()
18      yData=intensities.copy()
19      peaks, _ = find_peaks(yData, height=Noise*3) #*5
20      results_half = peak_widths(yData, peaks, rel_height=1)
21      _,_,links, rechts=results_half
22
23      PeakListX=[]
24      PeakListY= []

```

```

25     for i in range(len(peaks)):
26         p0 = [yData[peaks[i]], xData[int(rechts[i])] - xData[int(
                links[i])], xData[peaks[i]]]
27         if len(xData[int(links[i]):int(rechts[i])]) > 2:
28             OptVar = fit(p0, xData[int(links[i]):int(rechts[i])],
                yData[int(links[i]):int(rechts[i])])
29         else: # entfernt Punkte, welche zu wenige Datenpunkte
                zum fitten enthalten.
30             print(p0, xData[int(links[i]):int(rechts[i])], yData
                [int(links[i]):int(rechts[i])], '\n') # entfernen
                ?
31
32         yMax, Basisbreite, xMax = OptVar
33         PeakListX.append(xMax.round(decimals = 6)) #ggf noch
                runden einbauen
34         PeakListY.append(int(yMax))
35
36     return PeakListX, PeakListY
37
38
39 def lorentz(x, l, gamma, x0):
40     Y = l * gamma**2 / ((x - x0)**2 + gamma**2)
41     return Y
42
43 def fit(p, x, y):
44     popt, pcov = curve_fit(lorentz, x, y, p0 = p, ftol=1.49012e
                -09, xtol=1.49012e-09, maxfev=8000)
45     return popt

```

Skript A.16: Funktion zum Berechnen einer Peakliste der relevanten Signale oberhalb des Rauschlevels in der Analytregion der LDI-FT-ICR-MS-Messungen. Anschließend erfolgt die Erstellung eines Objektes für jeden Messpunkt, welches die Koordinaten, sowie eine m/z- und eine Intensitätenliste enthält.

```

1  import math
2
3  def KlassenErstellen(P, Noise, RefX, Toleranz = 0.001):
4      Messpunkte={}
5      class Messpunkt:
6          def __init__(self, x, y, PeaklistX, PeaklistY):
7              self.x = x
8              self.y = y
9              self.PeaklistX = PeaklistX
10             self.PeaklistY = PeaklistY

```

```

11     Liste =[]           # Massen auf denen Probensignale an
                        # mindestens einem Punkt liegen
12     for idx, (x,y,z) in enumerate(P.coordinates):
13         mzs, intensities = P.getspectrum(idx)
14         XList, YList = SpotListBerechnen(mzs, intensities ,
                        Noise*3)#*5
15         negList=[]
16         for i in XList:
17             for rX in range(len(RefX)):
18                 if math.isclose(i, RefX[rX],abs_tol= Toleranz)
19                     :
20                         Index = XList.index(i)
21                         negList.append(Index)
22
23                     break
24         negList.sort(reverse=True)
25         for neg in negList:
26             XList.pop(neg)
27             YList.pop(neg)
28         Liste = Liste + XList
29         Liste = list(dict.fromkeys(Liste))
30         Liste.sort()
31
32         Messpunkte[idx] = Messpunkt(x,y, XList, YList)
33     return Messpunkte, Liste

```

Skript A.17: Funktion zum Berechnen einer Peakliste der relevanten Signale oberhalb des Rauschlevels in der Analytregion der LDI-FT-ICR-MS-Messungen ohne Lorentzfit. Anschließend erfolgt die Erstellung eines Objektes für jeden Messpunkt, welches die Koordinaten, sowie eine m/z- und eine Intensitätenliste enthält.

```

1  from scipy.signal import find_peaks
2  import math
3
4  def KlassenOhneFit(F, Noise, RefList=[0], Toleranz=0.001):
5      #erstellt ein Dict mit Infos zu den Messpunkten ohne Fit
6      #der Peaks, ggf. kann eine Negliste fuer die Peaks
7      #beruecksichtigt werden
8      # F = parser objekt
9      #Noise = Hoehe des Untergrunds im Datensatz
10     #RefListe, wird ggf. nicht als Peak angesehen
11
12     GesMz = []
13     Messpunkte={}

```

```

12     class Messpunkt:
13         def __init__(self, x, y, PeaklistX, PeaklistY):
14             self.x = x
15             self.y = y
16             self.PeaklistX = PeaklistX
17             self.PeaklistY = PeaklistY
18     KeyList=[]
19
20     for idx, (x,y,z) in enumerate(F.coordinates):
21         XList=[]
22         YList=[]
23         mzs, intensities = F.getspectrum(idx)
24         xData=mzs.copy()
25         yData=intensities.copy()
26         peaks, _ = find_peaks(yData, height=Noise*3) #*5
27         for Peak in peaks:
28             for rX in range(len(RefList)):
29                 if not math.isclose(xData[Peak], RefList[rX],
30                                     abs_tol= Toleranz) :
31                     XList.append(xData[Peak].round(decimals=3))
32                     YList.append(yData[Peak])
33                     GesMz.append(xData[Peak].round(decimals=3))
34         Messpunkte[idx] = Messpunkt(x,y, XList, YList)
35         KeyList.append(idx)
36         GesMz = list(dict.fromkeys(GesMz)) #Loescht Dopplungen
37         GesMz.sort()
38     return Messpunkte, GesMz

```

Skript A.18: Funktionen zum Erstellen einer Verteilungsmatrix über die Messregion, je m/z der LDI-FT-ICR-MS-Messungen. Dabei werden alle Massen innerhalb eines wählbaren Toleranzbereiches zusammengefasst.

```

1  import math
2  import numpy as np
3  import matplotlib.pyplot as plt
4
5  def ArraysErstellen(Messpunkte, GesMzList, Pfad, Toleranz =
6      0.001):
7      #Messpunkte = dict, mit einem Eintrag pro Messpunkt (
8          Klasse, x,y Koordinaten, Listen fuer YPeaks, XPeaks)
9      #GesMzList = Liste, die alle relevanten MZ der Messung
10         enthaelt
11      #Pfad= dir in dem die Ausgabe txt + Bilder gespeichert

```

```

    werden
9   #Tol= Tolernaz fuer das zusammenfassen zu Arrays/Bildern
10
11   Dict = {}
12   KeyList = []
13   XKoordinaten=[]
14   YKoordinaten = []
15   for l in Messpunkte:
16       XKoordinaten.append(Messpunkte[l].x)
17       YKoordinaten.append(Messpunkte[l].y)
18
19   XKoordinaten = list(dict.fromkeys(XKoordinaten))
20   YKoordinaten = list(dict.fromkeys(YKoordinaten))
21   #SaveGesMzList = GesMzList.copy()
22
23   while GesMzList != []:
24       TolList=[]
25       for Tol in GesMzList:
26           if math.isclose(Tol, GesMzList[0], abs_tol=
27               Toleranz):
28               TolList.append(GesMzList.index(Tol))
29       TolMax= np.max(TolList)
30       Bild = np.zeros((len(YKoordinaten), len(XKoordinaten)))
31       for l in Messpunkte:
32           YSum = 0
33           for rX in range(len(Messpunkte[l].PeaklistX)):
34               if math.isclose(GesMzList[0], Messpunkte[l].
35                   PeaklistX[rX], abs_tol= Toleranz):
36                   YSum = YSum + Messpunkte[l]. PeaklistY[rX]
37                   #Index = Messpunkte[l]. PeaklistX.index(i)
38                   Bild[Messpunkte[l].y-np.min(YKoordinaten),
39                       Messpunkte[l].x-np.min(XKoordinaten)] = YSum
40       plt.pcolormesh(Bild, vmax=500000) # anpassen!
41       plt.axis('scaled')
42
43       if len(TolList)>1:
44           Titel = 'm/z_=_ ' + str(GesMzList[0]) + '_bis_' + str
45               (GesMzList[TolMax]) + 'Da'
46       else:
47           Titel = 'm/z_=_ ' + str(GesMzList[0]) + 'Da'
48       plt.title(label= Titel)
49       plt.colorbar()

```

```

46     plt.show()
47     np.savetxt(Pfad + Titel[5:] + '.txt', Bild)
48     KeyList.append(Titel[5:])
49     Dict[Titel[5:]] = Bild
50     TollList.sort(reverse=True)
51     for To in TollList:
52         GesMzList.pop(To)
53
54     return Dict, KeyList

```

Skript A.19: Funktion zum Umrechnen einer Datenmatrix in eine kleinere Größe.

```

1  import numpy as np
2
3
4  def ArraySizeRed(Array, SizeNeu):
5      # Das neue Array kann nicht groesser als das alte werden.
6
7      y,x = np.shape(Array)
8      ArrayNeu = np.zeros(SizeNeu)
9      Hohe, Breite = np.shape(ArrayNeu)
10
11     YBlock = np.round(y/ Hohe, decimals=3)
12     XBlock = np.round(x/ Breite, decimals=3)
13
14     xRest = 0
15     yRest = 0
16     yZahler = YBlock +1
17     yNeu = 0
18     ArrayNeu = np.zeros((Hohe +1, Breite+1))
19
20     for Y in range(y):
21         yZahler = np.round(yZahler -1, decimals=3)
22         xNeu = 0
23         xZahler = XBlock +1
24         for X in range(x):
25             xZahler = np.round(xZahler -1, decimals = 3)
26
27             if xZahler >= 1 and yZahler >=1:
28                 ArrayNeu[yNeu, xNeu] = ArrayNeu[yNeu, xNeu] +
29                     Array[Y,X]
30
31             elif xZahler < 1 and yZahler >= 1:

```

```

31         ArrayNeu[yNeu, xNeu] = ArrayNeu[yNeu, xNeu] +
           Array[Y,X] * xZahler
32         xNeu = np.round(xNeu + 1, decimals=3)
33         xRest = np.round((1-xZahler), decimals=3)
34         ArrayNeu[yNeu, xNeu] = ArrayNeu[yNeu, xNeu] +
           Array[Y,X] * xRest
35         xZahler = XBlock + 1 - xRest
36
37     elif xZahler >= 1 and yZahler < 1:
38         ArrayNeu[yNeu, xNeu] = ArrayNeu[yNeu, xNeu] +
           Array[Y,X] * yZahler
39         yRest = (1 - yZahler)
40         ArrayNeu[yNeu + 1, xNeu] = ArrayNeu[yNeu + 1,
           xNeu] + Array[Y,X] * yRest
41
42     elif xZahler < 1 and yZahler < 1:
43         ArrayNeu[yNeu, xNeu] = ArrayNeu[yNeu, xNeu] +
           Array[Y,X] * xZahler * yZahler
44         yRest = 1 - yZahler
45         xRest = 1 - xZahler
46         ArrayNeu[yNeu+1, xNeu] = ArrayNeu[yNeu + 1,
           xNeu] + Array[Y,X] * xZahler * yRest
47         xNeu = xNeu + 1
48         ArrayNeu[yNeu, xNeu] = ArrayNeu[yNeu, xNeu] +
           Array[Y,X] * xRest * yZahler
49         ArrayNeu[yNeu+1, xNeu] = ArrayNeu[yNeu + 1,
           xNeu] + Array[Y,X] * xRest * yRest
50         xZahler = XBlock + 1 - xRest
51
52     if yZahler < 1:
53         yNeu = yNeu + 1
54         yZahler = YBlock + 1 - yRest
55
56     ArrayNeu = ArrayNeu[0:Hohe, 0:Breite]
57     ArrayNeu = ArrayNeu / (XBlock * YBlock)
58
59     return ArrayNeu

```

Skript A.20: Laden der einzelnen Datenmatrizes verschiedener Messungen, Umrechnen auf eine Größe, Erstellen von Graustufenbildern, Kombinieren in eine Farbdarstellung.

```
1 import numpy as np
```

```
2
```

```

3 Cu = np.loadtxt('/63Cu.txt', delimiter=';')
4
5 RFACu = np.loadtxt('/Nettosum_Cu.txt', delimiter=';')
6 RFANeu = MALDIFunktionen.ArraySizeRed(RFACu,(105,97))
7 CuNeu= MALDIFunktionen.ArraySizeRed(Cu,(105,97))
8 CuNeu = np.minimum(CuNeu, np.quantile(CuNeu, 0.99))
9 CuNeu= np.uint8((CuNeu/np.max(CuNeu))*255)
10
11 Curc = np.minimum(Bild, np.quantile(Bild, 0.99))
12 Curc = np.uint8((Curc/np.max(Curc))*255)
13
14 RFANeu = np.minimum(RFANeu, np.quantile(RFANeu, 0.99))
15 RFANeu = np.uint8((RFANeu/np.max(RFANeu))*255)
16 RFA=Image.fromarray(RFANeu, mode='L')
17 #RFA.show()
18 RFA.save('RFA.png')
19
20 ImCu=Image.fromarray(CuNeu, mode='L')
21 ImCu.save('/LA.png')
22 #ImCu.show()
23
24 ImCurc=Image.fromarray(Curc, mode='L')
25 ImCurc.save('MALDI.png')
26 #ImCurc.show()
27
28 Final = Image.merge('RGB', (ImCurc, RFA, ImCu))
29 Final.show()
30 Final.save('/367Da_rot_63Cu_blau_RFA_gruen.png')

```

Skript A.21: Programm zur Verarbeitung der CuRFA-Daten. Nach dem Einlesen der Daten und nach Beendigung einer ausgewählten Operation kehrt das Programm automatisch ins Menü zurück. Der Benutzer kann aus dem Menü verschiedene Verarbeitungs- und Ausgabeoptionen der Daten wählen.

```

1 #!/usr/bin/env python3
2 # -*- coding: utf-8 -*-
3 """
4 Created on Sun Jan 17 12:38:03 2021
5
6 @author: anika
7 """
8
9 import glob
10 import os

```

```
11 from PIL import Image
12 import numpy as np
13 import pandas as pd
14 import re
15 import mayavi
16 from mayavi import mlab
17 import matplotlib.pyplot as plt
18 import scipy as sp
19 from scipy.signal import find_peaks, peak_widths
20 from scipy.optimize import curve_fit
21
22 def SortFunc(n): # Sortiert nach der Nummer am Dateianfang
23     Num=re.findall('\d',n)
24     Num=int(''.join(Num))
25     return Num
26
27 def gauss(x,a,b,c):
28     return a * np.exp(-(x - b) ** 2 / (2 * c ** 2))
29
30 def fit(x,y):
31     popt, pcov = curve_fit(gauss, x, y, p0=[np.max(y),y.index(
32         np.max(y)),11], bounds=[[0.5,0.5,1.5],[101,150,20]])
33     return popt
34
35 Pfad = str(input('Bitte Pfad der Elementordner angeben. (Muss mit _/ _enden)\n'))
36 Pfad = Pfad.replace('\\', '/')
37 GrenzA = int(input('Bitte Grenzwert fuer die Transparenz angeben (bezieht sich auf die skalierten Daten zwischen 0 und 100) und gilt nur fuer die Einzelelementbilder (nur fuer Bilder mit schwarzem Hintergrund):\n'))
38
39 ElOrdner = [os.path.basename(x) for x in glob.glob(Pfad+'*')]#
40     alle Ordnernamen auslesen
41
42 Farbdatei = pd.read_csv('Farb.csv')
43 StackList=[]
44 Elemente={}
45 ArraysNeu={}
46 Stacks={} # fuer die 3D Daten je Element
47 Elementealt={}# fuer die Rohdaten
48 Maxima = {} # Dict fuer die glob Max der Elemente, benoetigt
```

fuer relative Berechnungen

```

47
48 PfadSave=Pfad + 'Ausgabe/'
49 os.mkdir(PfadSave)
50
51 for ElVar in ElOrdner:
52     Daten = [os.path.basename(x) for x in glob.glob(Pfad+ElVar+
53         '/*.txt')]# alle Dateinamen im aktuellen Ordner auslesen
54     Daten.sort(key=SortFunc)
55     GesMax = 0
56
57     PfadSave=Pfad + 'Ausgabe/' + ElVar+ '/'
58     os.mkdir(PfadSave)
59     Report = open(PfadSave + 'MaximumReport'+'.txt', 'w')
60     Report.write('Dateiname_\t_DateiMax_\n')
61     Arrays={}
62     for i in Daten:
63         a= np.loadtxt(Pfad + '/' + ElVar+ '/' + i, delimiter=';')
64         DateiMax=np.max(a)
65
66         if DateiMax > GesMax:
67             GesMax = DateiMax
68
69         Report.write(i + '\t' + str(DateiMax) + '\n')
70         Arrays[i[: -4]] = a
71     Report.write('\n_\n_Globales_Maximum_\t_' + str(GesMax))
72     Report.close()
73     Maxima[ElVar] = GesMax
74
75     for i in Daten:
76         a=(Arrays[i[: -4]])
77         a=(a/GesMax)*100    # Maximalwert ist 100 fuer Bilder
78                             ggf. mit 2,55 multiplizieren
79
80         ArraysNeu[i[: -4]]=a
81         yMax,xMax=np.shape( Arrays[i[: -4]])
82         Bild=Image.new('RGBA', size=(xMax, yMax), color=256)
83         R=int( Farbdatei[ Farbdatei['Element']==ElVar][ 'Rot' ])
84         G=int( Farbdatei[ Farbdatei['Element']==ElVar][ 'Gruen' ])
85         B=int( Farbdatei[ Farbdatei['Element']==ElVar][ 'Blau' ])
86         for y in range(yMax):
87             for x in range(xMax):

```

```

86
87         A=ArraysNeu[i[: -4]][y,x]
88         if A < GrenzA:
89             A=0
90         Bild.putpixel((x,y),(R,G,B,int(A*2.55)))
91
92         Bild.save(PfadSave + i[: -4] + '.tif') #ggf. wieder .png
           eintragen
93         StackList.append(a)
94
95     Stack=np.stack(StackList)
96     Elemente[ElVar]=ArraysNeu
97     Elementalt[ElVar]=Arrays # Vermutlich nicht benoetigt
98     ArraysNeu={}
99     Stacks[ElVar]=Stack
100    StackList=[]
101
102    ##### Start der Schleife
           #####
103
104    EndVar = 100
105    while EndVar != 0:
106        EndVar = int(input('Fertig_:)\n\nWas_nun?\n_0_=Programm
           _beenden\n_1_=Subtraktion_der_skalierten_Daten\n_2_=
           Subtraktion_der_skalierten_Daten_(relativ)\n_3_=
           Addition_der_skalierten_Daten_(alt)\n_4_=Addition_der_
           skalierten_Daten_(neu)\n_5_=Mayavi\n_6_=Anpassung_
           an_das_Untersuchungsvolumen\n_7_=GIF_erstellen\n_8_=
           Anpassung_V_nach_Mayavi\n_9_=FWHM\n_10_=FWHM_inkl._
           Si-Kali\n'))
107    # Block 1
108        if EndVar == 1:
109            print('Moegliche_Elemente:\n')
110            for z in range(len(ElOrdner)):
111                print(str(z) + '_=' + ElOrdner[z])
112            Minuend = int(input('Welchen_Minuend_nehmen?\n'))
113            Subtrahend = int(input('Welchen_Subtrahend_nehmen?\n'
           ))
114            Farbe = input('Welche_Farbe_(aus_Farb.csv)_nehmen?\n')
115            GrenzA = int(input('Bitte_Grenzwert_fuer_die_
           Transparenz_angeben_(bezieht_sich_auf_die_skalierten
           _Daten_zwischen_0_und_100):_'))

```

```

116     SubPfad= Pfad + 'Ausgabe/' + 'skaliert_' + ElOrdner[
           Minuend]+'-'+ElOrdner[Subtrahend] + '/'
117     os.mkdir(SubPfad)
118     Daten1=[os.path.basename(x) for x in glob.glob(Pfad+
           ElOrdner[Minuend]+'/*.txt')]
119     Daten1.sort(key=SortFunc)
120     Daten2=[os.path.basename(x) for x in glob.glob(Pfad+
           ElOrdner[Subtrahend]+'/*.txt')]
121     Daten2.sort(key=SortFunc)
122     for i in range(len(Daten1)):
123         a=Elemente[ElOrdner[Minuend]][Daten1[i][: -4]] -
           Elemente[ElOrdner[Subtrahend]][Daten2[i][: -4]]
124         a=np.maximum(a,0)      # setzt negative Zahlen auf
           null
125         yMax,xMax=np.shape(a)
126         Bild=Image.new('RGBA', size=(xMax, yMax), color
           =256)
127         R=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']== Farbe][ 'Rot'
           ])
128         G=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']== Farbe][ '
           Gruen' ])
129         B=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']== Farbe][ 'Blau
           '])
130         for y in range(yMax):
131             for x in range(xMax):
132
133                 A=a[y, x]
134                 if A < GrenzA:
135                     A=0
136                 Bild.putpixel((x,y), (R,G,B, int(A*2.55)))
137
138         Bild.save(SubPfad+ Daten1[i][: -6] + '.png')
139
140 # Block 2
141     if EndVar == 2:
142         print('Moegliche_Elemente:\n')
143         for z in range(len(ElOrdner)):
144             print(str(z) + '_=' + ElOrdner[z])
145         Minuend = int(input('Welchen_Minuend_nehmen?\n'))
146         Subtrahend = int(input('Welchen_Subtrahend_nehmen?\n'
           ))
147         Farbe = input('Welche_Farbe_(aus_Farb.csv)_nehmen?\n')

```

```
148 GrenzA = int(input('Bitte_Grenzwert_fuer_die_
    Transparenz_angeben_(bezieht_sich_auf_die_skalierten
    _Daten_zwischen_0_und_100):_\n'))
149 Faktor = Maxima[EIOrdner[Minuend]] / Maxima[EIOrdner[
    Subtrahend]] # Faktor fuer die relative
    Werteanpassung
150 SubPfad= Pfad + 'Ausgabe/' + 'skaliert_' + EIOrdner[
    Minuend] + '-' + EIOrdner[Subtrahend] + '_rel_/'
151 os.mkdir(SubPfad)
152 Daten1=[os.path.basename(x) for x in glob.glob(Pfad+
    EIOrdner[Minuend]+'/*.txt')]
153 Daten1.sort(key=SortFunc)
154 Daten2=[os.path.basename(x) for x in glob.glob(Pfad+
    EIOrdner[Subtrahend]+'/*.txt')]
155 Daten2.sort(key=SortFunc)
156 for i in range(len(Daten1)):
157     a=Elemente[EIOrdner[Minuend]][Daten1[i][: -4]] -
        Faktor * Elemente[EIOrdner[Subtrahend]][Daten2[i
        ][: -4]]
158     a=np.maximum(a,0) # setzt negative Zahlen auf
        null
159     yMax,xMax=np.shape(a)
160     Bild=Image.new('RGBA', size=(xMax, yMax), color
        =256)
161     R=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']== Farbe][ 'Rot '
        ])
162     G=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']== Farbe][ '
        Gruen' ])
163     B=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']== Farbe][ 'Blau
        ' ])
164     for y in range(yMax):
165         for x in range(xMax):
166
167             A=a[y,x]
168             if A < GrenzA:
169                 A=0
170             Bild.putpixel((x,y),(R,G,B,int(A*2.55)))
171
172     Bild.save(SubPfad+ Daten1[i][: -6] + '.png')
173
174 # Block 3
175
```



```
206
207         Bild.save(SubPfad+ Daten1[i][: -6] + '.png')
208
209 # Block 4
210
211     if EndVar == 4:
212         Summanden={}
213         SummandenList=[] # enthaelt die Schluessel fuer das
214             Summanden Dict
215         SumGrenzwerte={}
216         print('Moegliche_Elemente:\n')
217         for z in range(len(EIOrdner)):
218             print(str(z) + '_=' + EIOrdner[z])
219         print('keinen_auswaehlen_=' + str(len(EIOrdner)) + '\n')
220         Eingabe= 0
221         Zaehler = int(1) # zaehlt die Anzahl der eingegebenen
222             Summanden
223     while Eingabe != len(EIOrdner):
224         Eingabe = int(input(str(Zaehler) + '._Summand_\n' )
225             )
226         if Eingabe == len(EIOrdner):
227             break
228         GrenzSum = float(input('Grenzwert_fuer_' + str(
229             Zaehler) + '._Summand_angeben_(zwischen_0_und_
230             100)_\n'))
231         SummandenList.append(Eingabe)
232         Summanden[Eingabe]=EIOrdner[Eingabe]
233         SumGrenzwerte[Eingabe]=GrenzSum
234         Zaehler = Zaehler + 1
235     for i in Summanden: # In die Liste der Summanden werden
236         jeweils die Dateinamen eingefuegt und sortiert
237         Summanden[i] = [os.path.basename(x) for x in glob.
238             glob(Pfad+Summanden[i]+'/*.txt')]
239         Summanden[i].sort(key=SortFunc)
240
241     SubPfad = Pfad + 'Ausgabe/' + 'skaliert_Option_4_'
242     for i in SummandenList:
243         SubPfad = SubPfad + '+' + EIOrdner[SummandenList[i]
244             ]
245     SubPfad = SubPfad + '/'
246     os.mkdir(SubPfad)
247
248
```

```

240     for i in range(len(Summanden[0])): # geht die Anzahl
        der Bildebenen durch
241         X,Y = np.shape( Elemente[ElOrdner[SummandenList
            [0]]][Summanden[SummandenList[0]][0][: -4]])
242
243         R= np.zeros((X,Y))
244         G= np.zeros((X,Y))
245         B= np.zeros((X,Y))
246         for l in range(len(Summanden)): # Geht die
            Elemente durch
247             Matrix = Elemente[ElOrdner[SummandenList[l]]][
                Summanden[SummandenList[l]][i][: -4]] >
                SumGrenzwerte[SummandenList[l]]
248             Martix = Matrix.astype(int) # Matrix in 0 =
                unter dem Grenzwert und 1 = ueber dem
                Grenzwert ueberfuehrt
249
250             R = R + Matrix * int(Farbdatei[Farbdatei[ '
                Element']== ElOrdner[SummandenList[l]]][ 'Rot
                '])
251             G = G + Matrix * int(Farbdatei[Farbdatei[ '
                Element']== ElOrdner[SummandenList[l]]][ '
                Gruen' ])
252             B = B + Matrix * int(Farbdatei[Farbdatei[ '
                Element']== ElOrdner[SummandenList[l]]][ '
                Blau' ])
253             R= np.minimum(R, 255)
254             G= np.minimum(G, 255)
255             B= np.minimum(B, 255)
256             Rlm = Image.fromarray(R).convert('L')
257             Glm = Image.fromarray(G).convert('L')
258             Blm = Image.fromarray(B).convert('L')
259
260             Bild =Image.merge('RGB', (Rlm, Glm, Blm))
261
262             Bild.save(SubPfad + str(i) + '.png')
263
264 # Block 5 ==> mayavi
265
266     if EndVar == 5:
267         print('Geladene_Elemente:\n')
268         for z in range(len(ElOrdner)):

```

```
269         print(EIOrdner[z])
270
271     for i in range(len(EIOrdner)):
272         Stack = Stacks[EIOrdner[i]]
273         S=mlab.contour3d(Stack, name= EIOrdner[i])
274     mlab.show()
275
276
277
278 # Block 6 ==> Anpassung von V
279
280     if EndVar == 6:
281         print('Moegliche_Elemente:\n')
282         for z in range(len(EIOrdner)):
283             print(str(z) + '_=' + EIOrdner[z])
284
285     Eingabe = int(input('Welches_Element_verwenden?\n'))
286     SubPfad = Pfad + 'Ausgabe/angepasst_' + EIOrdner[
        Eingabe] + '/'
287     os.mkdir(SubPfad)
288     Stack = Stacks[EIOrdner[Eingabe]]
289     StackNeu = Stack.copy()
290     for i in range(len(Stack)): # Ebenenweise
291         for y in range(len(Stack[i])): #Zeilenweise
292             for x in range(len(Stack[i][y])-1):
293                 if Stack[i][y][x] == 0:
294                     StackNeu[i][y][x+1] = 0
295                 elif x+2 < len(Stack[i][y]):
296                     if Stack[i][y][x+2] == 0:
297                         StackNeu[i][y][x+1] = 0
298
299     R = StackNeu[i] * 2.55
300     R = R.astype(np.uint8)
301     R = np.minimum(R,255)
302     R = np.maximum(R,0)
303     X,Y = np.shape(R)
304     RIm = Image.fromarray(R)
305     G = Image.fromarray(np.zeros((X,Y)))
306     B = Image.fromarray(np.zeros((X,Y)))
307
308     RIm = RIm.convert('L')
309     G = G.convert('L')
```



```

346         if Stack[i][y][x] == 0:
347             StackNeu[i][y][x+1] = 0
348         elif x+2 < len(Stack[i][y]):
349             if Stack[i][y][x+2] == 0:
350                 StackNeu[i][y][x+1] = 0
351
352     StackNeg = Stack - StackNeu
353     StackNeg = np.maximum(StackNeg, 0)
354
355     S=mlab.contour3d(StackNeu, name= EIOrdner[l] + '
356         _angepasst')
357     S=mlab.contour3d(StackNeg, name= EIOrdner[l] + '
358         _Negativ')
359
360     mlab.show()
361     print('Achtung_Programm_laeuft_noch!\n')
362
363 # Block 9 FWHM nach Gausfit(z-Achse)
364
365     if EndVar == 9:
366
367         FWHMStacks = {}
368         for l in range(len(EIOrdner)):
369             EIVar = EIOrdner[l]
370             print(EIVar)
371
372             Stack = Stacks[EIOrdner[l]]
373             PfadSave = Pfad + 'Ausgabe/' + EIVar + '/' + 'Plots/'
374             os.mkdir(PfadSave)
375             L=[]
376             L.extend(range(0, len(Stack))) # Werte fuer x zu
377             zList
378
379             StackFWHM = np.zeros_like(Stack)
380
381             for y in range(len(Stack[0])): #
382                 Zeilenweise
383                 for x in range(len(Stack[0][0])): #
384                     Punktweise
385                     zList = [] #Liste fuer
386                     Werte des Tiefenprofils anlegen

```



```

403         #         plt.xlim(0,X[-1]+20)
404         #         plt.ylim(0,)
405         #         plt.xlabel('rel. Tiefe [ $\mu$ 
           m]')
406         #         plt.ylabel('Intensitaet [%]')
407         #         plt.legend()
408         #         plt.savefig(PfadSave+'x'+str(
           x)+'y'+str(y))
409         #         plt.clf()
410         # ##### bis hier
           #####
411         for z in range(len(StackFWHM)):
412             if Stack[z][y][x] > 0.5*FitRes
               [0] and z > (FitRes[1]-FWHM
               /2) and z < (FitRes[1]+FWHM
               /2) : #Falls FWHM-Bedingung
               erfuehlt ist
413                 StackFWHM[z][y][x] = 100
                   # Alle Werte die die
                   FWHM Bedingung erfuehlen
                   werden 100 gesetzt,
                   falls anders gewuenscht
                   Stack[z][y][x] einsetzen
414
415         FWHMStacks[EIVar] = StackFWHM
416         S=mlab.contour3d(StackFWHM, name= EIOrdner[1] + '
           FWHM')
417         S=mlab.contour3d(Stacks[EIVar], name= EIOrdner[1] +
           'Original')
418
419         ## Tif export
420
421         for z in range(len(StackFWHM)):
422
423             a = StackFWHM[z]
424             yMax,xMax = np.shape(a)
425
426             Bild = Image.new('L', size=(xMax, yMax))
427
428             # R=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']]=
               EIVar]['Rot'])

```

```

429         # G=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']==
           #      EIVar]['Gruen'])
430         # B=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']==
           #      EIVar]['Blau'])
431         for y in range(yMax):
432             for x in range(xMax):
433
434                 A = a[y,x]
435
436                 Bild.putpixel((x,y),(int(A*2.55)))
437
438                 Bild.save(PfadSave + str(z) + '.tif') #ggf.
           #      wieder .png eintragen
439
440     mlab.show()
441
442
443
444 # Block 10 FWHM nach Gausfit(z-Achse) mit Si Kali
445
446     if EndVar == 10:
447
448         FWHMStacks = {}
449         for l in range(len(EIOrdner)):
450             EIVar = EIOrdner[l]
451             print(EIVar)
452             if EIVar == 'Si':
453                 VolumenKorrektur = 7
454             else:
455                 VolumenKorrektur = 0
456             Stack = Stacks[EIOrdner[l]]
457             PfadSave = Pfad + 'Ausgabe/' + EIVar + '/' + 'Plots/'
458             os.mkdir(PfadSave)
459             L=[]
460             L.extend(range(0,len(Stack))) # Werte fuer x zu
           #      zList
461             StackFWHM = np.zeros_like(Stack)
462
463             for y in range(len(Stack[0])): #
           #      Zeilenweise
464                 for x in range(len(Stack[0][0])): #
           #      Punktweise

```

```

465         zList = []                                #Liste fuer
           Werte des Tiefenprofils anlegen
466     for z in range(len(Stack)):                  # alle
           Ebenen durchgehen Punkte hinzufuegen
467         zList.append(Stack[z][y][x])
468
469     if np.max(zList) > 5:
470
471         FitRes = fit(L, zList)
472         FWHM = 2.355 * FitRes[2]
473
474         # plt.plot(zList, '. ')
475         # plt.plot(L, gauss(L, *FitRes), 'x ')
476         # plt.text(5, np.max(zList)-2, str(
           FitRes))
477         # plt.axhline(y=0.5*FitRes[0],
           color='r', linestyle='-') #HM
478         # plt.axvline(FitRes[1]-FWHM/2, 0,
           FitRes[0]) #FWHM
479         # plt.axvline(FitRes[1]+FWHM/2, 0,
           FitRes[0])
480         # plt.savefig(PfadSave+'x'+str(x)+'
           y'+ str(y))
481         # plt.clf()
482
483     for z in range(len(StackFWHM)):
484         if Stack[z][y][x] > 0.5*FitRes
           [0] and z > (FitRes[1]-FWHM
           /2)+VolumenKorrektur and z <
           (FitRes[1]+FWHM/2)-
           VolumenKorrektur : #Falls
           FWHM-Bedingung erfuellt ist
485             StackFWHM[z][y][x] = 100
           # Alle Werte die die
           FWHM Bedingung erfuellen
           werden 100 gesetzt,
           falls anders gewünscht
           Stack[z][y][x] einsetzen
486
487     FWHMStacks[EIVar] = StackFWHM
488     S=mlab.contour3d(StackFWHM, name= EIOrdner[1] + '
           FWHM')

```

```
489         S=mlab.contour3d(Stacks[EIVar], name= EIOrdner[I] +
          'Original')
490
491     ## Tif export
492
493     for z in range(len(StackFWHM)):
494
495         a = StackFWHM[z]
496         yMax,xMax = np.shape(a)
497         Bild = Image.new('L', size=(xMax, yMax))
498
499         # R=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']==
          EIVar]['Rot'])
500         # G=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']==
          EIVar]['Gruen'])
501         # B=int(Farbdatei[Farbdatei['Element']==
          EIVar]['Blau'])
502         for y in range(yMax):
503             for x in range(xMax):
504
505                 A = a[y,x]
506
507                 Bild.putpixel((x,y),(int(A*2.55)))
508
509         Bild.save(PfadSave + str(z) + '.tif') #ggf.
          wieder .png eintragen
510
511     mlab.show()
```

8.4 Geräte und Chemikalien

8.4.1 Chemikalienliste

Tab. A.8: Verwendete Chemikalien.

Bezeichnung	Hersteller
TerraGloss® UV Glanzlack 8/372 F NVK	ACTEGA Terra
TerraGloss® UV Glanzlack G 8/372 L NVK S	ACTEGA Terra
Epoxidharz - EpoThin 2 Epoxy Resin 20-3440-032	Buehler
Epoxidharzhärter - EpoThin 2 Epoxy Hardener 20-3442-016	Buehler
Acetylaceton 99 %	abcr
NH ₃ , 25 % in H ₂ O	VWR
NaOH	Altbestand
FeCl ₃ · 6 H ₂ O	Altbestand
Mg(CH ₃ COO) ₂ · 4 H ₂ O	Fluka
Mn(CH ₃ COO) ₂ · 4 H ₂ O	Sigma Aldrich
KMnO ₄	Sigma Aldrich
AlCl ₃ · 6 H ₂ O	Altbestand
LaCl ₃ · xH ₂ O	Fluka
Cd(CH ₃ COO) ₂ · 4 H ₂ O	Sigma Aldrich
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	VWR (NORMAPUR)
SrCl ₂ · 6 H ₂ O	VWR (NORMAPUR)
Pb(CH ₃ COO) ₂ · 3 H ₂ O	Sigma Aldrich
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	Altbestand
Cu(NO ₃) ₂ · 3 H ₂ O	Merck kGaA
Cr(C ₅ H ₇ O ₂) ₃	abcr
Zn(C ₅ H ₇ O ₂) ₂	Sigma Aldrich
Sn(C ₅ H ₇ O ₂) ₂	Sigma Aldrich
Curcurmin (zur Synthese)	Merck kGaA
EM-Tec CT12 high purity conductive double sided adhesive carbon tabs	micro to nano
Multi IV ICP Flüssigstandard, 1000 $\frac{mg}{kg}$ in 2-3 % HNO ₃	Merck kGaA
Fe ICP Flüssigstandard, 1000 $\frac{mg}{kg}$ in 2 % HNO ₃	Roth GmbH & Co. KG

Das verwendete Reinstwasser wurde mithilfe einer Reinstwasseranlage (TKA Micropure, Mieth Labor- und Messtechnik GmbH) aus destilliertem Wasser erzeugt. Die Leitfähigkeit beträgt weniger als 0,6 µS bei 20 °C.

Die verwendete Salpetersäure wurde aus analysenreiner Salpetersäure (Merck) mittels *sub-boiling*-Anlage (Saville DST 1000, S-Prep GmbH) zusätzlich gereinigt.

8.4.2 Geräte und Parameter

Tab. A.9: Geräteparameter LA-ICP-MS, wenn nicht anders angegeben wurden diese Parameter verwendet.

ESI NWR213	
Hersteller	Electro Scientific Industries, Inc.
Laser	Nd:YAG Laser, 213 nm
Durchschnittliche Fluenz	$3,9 \frac{J}{cm^2}$
Größe Laserspot	20 μm x 20 μm
Fahrgeschwindigkeit des Probenisches	40 $\frac{\mu m}{s}$
Ablationsfrequenz	20 Hz
Heliumgasfluss	500 $\frac{ml}{min}$
Argongasfluss	500 $\frac{ml}{min}$
iCAP Q	
Hersteller	Thermo Fisher Scientific, Inc.
Software	Qtegra
Detektor	Sekundärelektronenvervielfacher
Generatorleistung	1400 W
Kühlgasfluss (Ar)	14,0 $\frac{L}{min}$
Hilfsgasfluss (Ar)	1,0 $\frac{L}{min}$
Dwellzeit	10 ms

Tab. A.10: Geräteparameter μ RFA und C_{μ} RFA, wenn nicht anders angegeben.

M4 TORNADO		
	μ RFA	C_{μ} RFA
Hersteller	Bruker Nano GmbH	
Röntgenröhre	30 W Mikrofokusröntgenröhre, Rh-Anode	
Spannung	50 kV	
Anodenstrom	200 μA	600 μA
Druck	20 mbar	Umgebungsdruck
Messzeit pro Punkt	120 s	
Optik	Polykapillarlinse	Polykapillarlinse und Polykapillarhalblinse
Messpunkt Abstand	zufällig	10 μm

Tab. A.11: Geräteparameter LIBS.

<i>handheld</i> LIBS Z-300	
Hersteller	SciAps, Woburn MA, USA
Wellenlänge	1064 nm
Frequenz	50 Hz
Pulsenergie	7,5 mJ
Größe Laserspot	80 μm
Messbereich Spektrometer	190 - 950 nm
Messbereich Probe	4 x 2 Raster auf 400 x 800 μm
Sonstiges	Argonspülung

Tab. A.12: Geräteparameter Mikrowelle nach Bode [122].

START		
Hersteller	MLS GmbH	
Dauer in min	Temperatur in °C	Leistung in W
2,5	bis 80	500
8	80 bis 160	800
3	160 bis 220	1200
15	220	1200

Tab. A.13: Geräteparameter ICP-OES.

iCAP 6000	
Hersteller	Thermo Fisher Scientific, Inc.
Software	iTEVA
Optik	Echelle Spektrometer
Generatorleistung	1150 W
Kühlgasfluss (Ar)	14,0 $\frac{\text{L}}{\text{min}}$
Hilfsgasfluss (Ar)	0,7 $\frac{\text{L}}{\text{min}}$
Zerstäubergasfluss (Ar)	0,6 $\frac{\text{L}}{\text{min}}$
Modus	Axial und Radial

Tab. A.14: Geräteparameter NMR.

Bezeichnung	700 MHz Bruker AVANCE NEO	400 MHz Bruker AVIII HD WB
gemessene Kerne	^{27}Al	^{13}C
Resonanzfrequenz	182,47 MHz	100,6 MHz
Rotationsgeschwindigkeit	20 kHz	10 kHz
Probenkopf	2,5 mm Trigamma CP/MAS 1,3 mm CP/MAS (e-1000)	4 mm CP/MAS
Rotor	ZrO_2	

Tab. A.15: Geräteparameter LDI-FT-ICR-MS.

solariX 15T FT-ICR-MS	
Hersteller	Bruker Daltonics
MALDI-Quelle	Nd:YAG-Laser (355 nm), Smartbeam II
Pulsdauer	3 ns
Pulsenergie	500 μJ

Tab. A.16: Sonstige verwendete Geräte.

Gerät	Bezeichnung	Parameter
Rohröfen	Büchi B-585	Sublimationszubehör verwendet
Ultrazentrifugalmühle	ZM 200 (Retsch GmbH)	200 μm Ringsiebweite, 1000 $\frac{\text{U}}{\text{min}}$
Zentrifuge	Biofuge Primo R (Thermo Scientific)	8500 $\frac{\text{U}}{\text{min}}$
Ultraschallbad	<i>ultrasonic cleaner</i> (VWR)	
Automatisches Filmaufziehgerät	S, (BYK-Gardener) GmbH	Spiralraker 200 μm , 50 $\frac{\text{mm}}{\text{s}}$
UV-Kammer	UV-Kammer ELG100S, (Dinies Technologies GmbH)	UV-Lampe, 365 nm
Digitalmikroskop	VHX600 (Keyence Corporation)	Universalzoomobjektiv VH-Z100R 100x – 1000x
IR-Spektrometer	Nicolet iS10 (Thermo Fisher Scientific Inc.)	ATR-FT-IR, Kristalltyp Diamant
Präzisionssäge	MICRACUT 152 – metkon (Schütz + Licht Prüftechnik GmbH)	Diamantsägeblatt, Kühlflüssigkeit METCOOL II – metkon
Schleif- und Poliermaschine	Saphir 520 Rubin 500 (ATM GmbH)	SIC-Schleiffolien (Körnung P320, P600, P1200), Poliertücher Gamma und Iota
Metallplatte	Edelstahlblech 1.4016 XCr 17 (Gemmel Metalle)	magnetisch, kaltgewalzt, spiegelnd, 1 x 1000 x 2000 mm

8.5 Publikationsliste

ORCID ID: 0000-0002-4144-2353

8.5.1 Artikel in Fachzeitschriften

Dmitry Tsurkan, Paul Simon, Christian Schimpf, Mykhaylo Motylenko, David Rafaja, Friedrich Roth, Dmytro S. Inosov, Anna A. Makarova, Izabela Stepniak, Iaroslav Petrenko, Armin Springer, Enrico Langer, Anton A. Kulbakov, Maxim Avdeev, Artur R. Stefankiewicz, Korbinian Heimler, Olga Kononchuk, Sebastian Hippmann, Doreen Kaiser, Christine Viehweger, **Anika Rogoll**, Alona Voronkina, Valentine Kovalchuk, Vasili V. Bazhenov, Roberta Galli, Mehdi Rahimi-Nasrabadi, Serguei L. Molodtsov, Parvaneh Rahimi, Sedigheh Falahi, Yvonne Joseph, Carla Vogt, Denis V. Vyalikh, Martin Bertau, and Hermann Ehrlich, *Extreme Biomimetics: Designing of the First Nanostructured 3D Spongin–Atacamite Composite and its Application*, *Advanced Materials*, 33, 2101682, 2021, DOI: 10.1002/adma.202101682.

Ahmet Kertmen, Iaroslav Petrenko, Christian Schimpf, David Rafaja, Olga Petrova, Viktor Sivkov, Sergey Nekipelov, Andriy Fursov, Allison L. Stelling, Korbinian Heimler, **Anika Rogoll**, Carla Vogt and Hermann Ehrlich, *Calcite Nanotuned Chitinous Skeletons of Giant *Ianthella basta* Marine Demosponge*, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 12588, 2021, DOI: 10.3390/ijms222212588.

Rogoll, Anika; Heimler, Korbinian; Friebel, Dina; Brendler, Erica; Vogt, Carla, *Metal acetylacetonates dissolved in UV-curing resin as solid reference material for trace element measurements in organic samples*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 37, 2647, 2022, DOI: 10.1039/D2JA00287F

Bomee Chung, Yong Wang, Marleen Thiel, Fatemeh Rostami, **Anika Rogoll**, Valentin G. Hirsch, Zulaikha Malik, Anne Bührke, Christian Bär, Michael Klintschar, Jan D. Schmitto, Carla Vogt, Christopher Werlein, Danny Jonigk, Johann Bauersachs, Kai C. Wollert, Tibor Kempf, *Preemptive iron supplementation prevents myocardial iron deficiency and attenuates adverse remodelling after myocardial infarction*, *Cardiovascular Research*, eingereichtes Manuskript.

8.5.2 Patenteinreichung

Anika Rogoll, Carla Vogt, *Referenzmaterial für die Festkörperanalytik, Verfahren zur Herstellung des Referenzmaterials und Verwendung des Referenzmaterials*, Deutsche Patentanmeldung Nr. 10 2022 116 898.0, Anmeldetag: 06.07.2022.

8.5.3 Konferenzbeiträge

Anika Rogoll, Alexandra Becker, Korbinian Heimler, Carla Vogt, *Distribution of trace elements in Plants: Quantification strategies for 2D- μ XRF and Laser ablation ICP-MS measurements*, Poster, AOFKA Conference, Freiberg, 2021.

Mareike Loh, **Anika Rogoll**, Korbinian Heimler, Petra Maier, Carla Vogt, *Analysis of corrosion layers on biodegradable magnesium alloys for medical applications*, Poster, AOFKA Conference, Freiberg, 2021.

Anika Rogoll, Angelina Jaeger, Carla Vogt, *Determination of the impact of LA-ICP-MS parameters during soft material analysis: Surface resampling consideration for LA-ICP-MS*, Poster, European Symposium on Analytical Spectrometry, Brno, 2022.

Korbinian Heimler, **Anika Rogoll**, Kira Herrmann, Debora Pötschke, Carla Vogt, *Confocal Micro X-Ray Fluorescence (C μ XRF) -Tabletop C μ XRF spectrometer for nondestructive depth resolved element analysis*, Poster, European Symposium on Analytical Spectrometry, Brno, 2022.

8.6 Lebenslauf

Persönliche Informationen

Name	Anika Rogoll
Geburtstag	07. August 1995
Geburtsort	Meißen

Berufserfahrung

11/2019 – 01/2023	wissenschaftliche Mitarbeiterin, Doktorandin Institut für Analytische Chemie, TU Bergakademie Freiberg
2015 – 2019	studentische / wissenschaftliche Hilfskraft mehrere Anstellungen, Institut für Anorganische Chemie, Institut für Analytische Chemie

Schul- und Hochschulbildung

04/2018 – 11/2019	Masterstudium Chemie, TU Bergakademie Freiberg Master of Science Titel der Abschlussarbeit: „Beiträge zur Analyse von Goldobjekten aus dem afrikanischen Raum“
10/2014 – 03/2018	Bachelorstudium Chemie, TU Bergakademie Freiberg Bachelor of Science Titel der Abschlussarbeit: „Synthese und spektroskopische Untersuchung von Thiogermanaten in wässriger Lösung“
2006 – 2014	Schulbildung, Geschwister-Scholl-Gymnasium Nossen Allgemeine Hochschulreife

Freiwilligenaktivitäten

05/2022 – 08/2022	Betreuung einer internationalen Praktikantin DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst) gefördertes Forschungspraktikum einer Studentin aus Kanada.
05/2021 – 08/2021	Betreuung eines internationalen Praktikanten DAAD gefördertes Forschungspraktikum eines Studenten aus Großbritannien. Dieses wurde aufgrund der Reisebeschränkungen 2021 digital durchgeführt.
12/2015 – 11/2019	Mitglied der Studienkommission Chemie
06/2016 – 05/2019	Mitglied im Fachschaftsrat für Chemie und Physik
2011 – 2019	Mitglied der Freiwilligen Feuerwehr Taubenheim