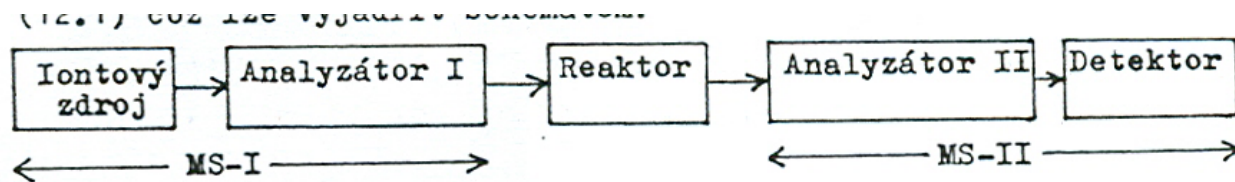
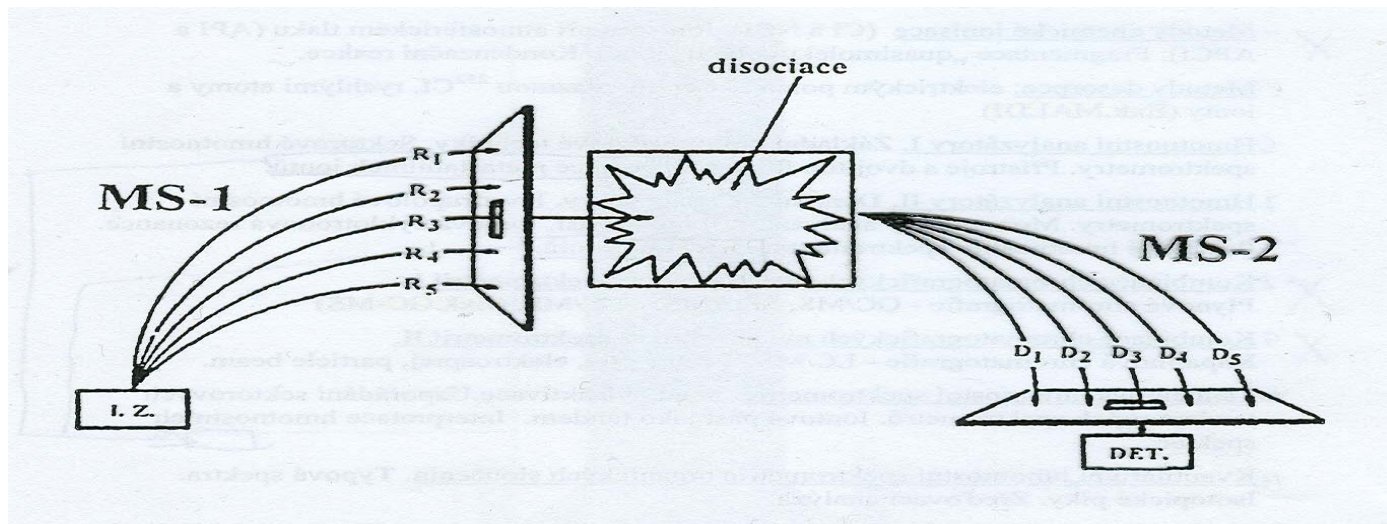
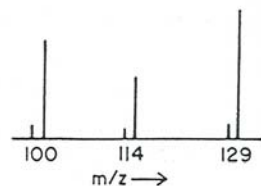
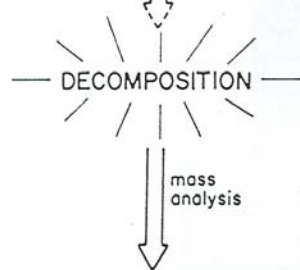
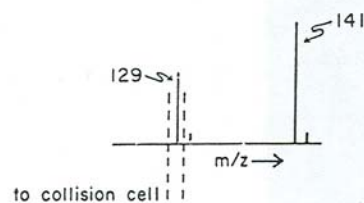
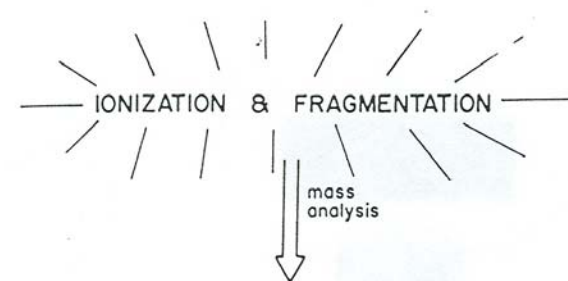


10. Tandemová hmotnostní spektrometrie

Princip tandemové hmotnostní spektrometrie



Informace získávané při tandemové hmotnostní spektrometrii



Conceptual representation of the technique of MS/MS. In this case, ions of mass 129 are selected by the first mass spectrometer; these ions are directed into a collision chamber, and the decomposition products are analyzed by the second mass spectrometer to produce the daughter-ion spectrum of m/z 129 (bottom).

Možné způsoby uspořádání tandemové HS

a/ scan fragmentů vzniklých v CC z iontu vybraného prvním HS

b/ scan iontů prvním HS se současným sledováním chování iontu v CC

c/ současný scan oběma HS s konstantním rozdílem hmotností

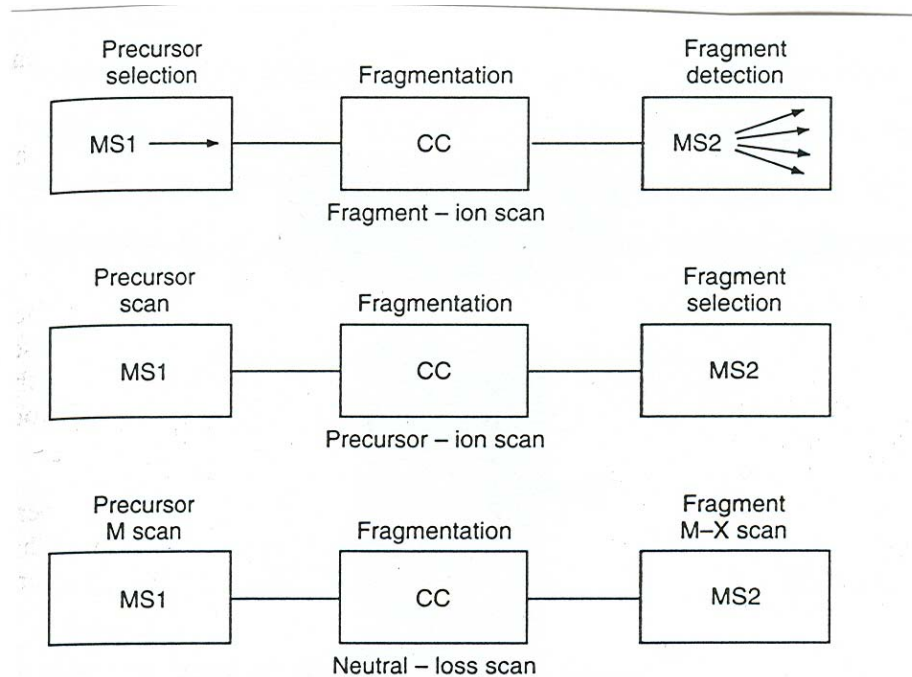


Figure 3.9a Examples of possible scan modes for a tandem mass spectrometer

Kvadrupólové HS v tandemu

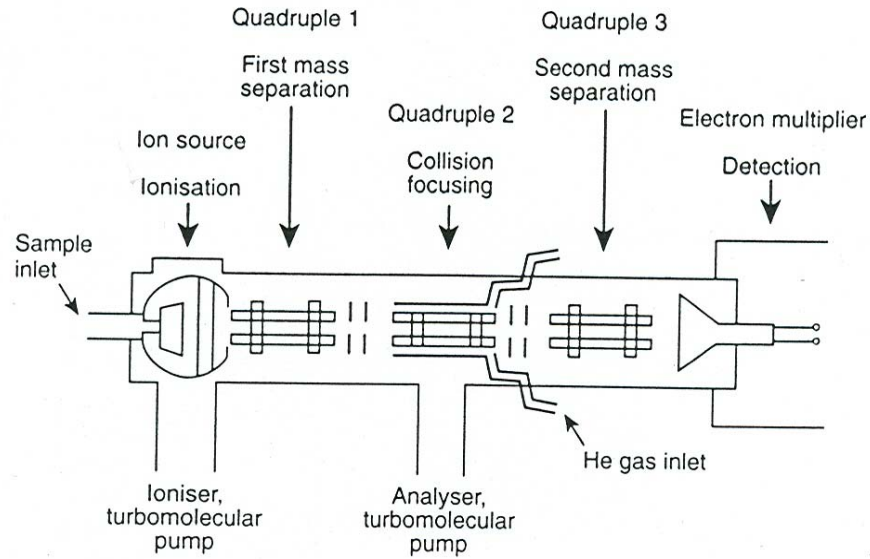
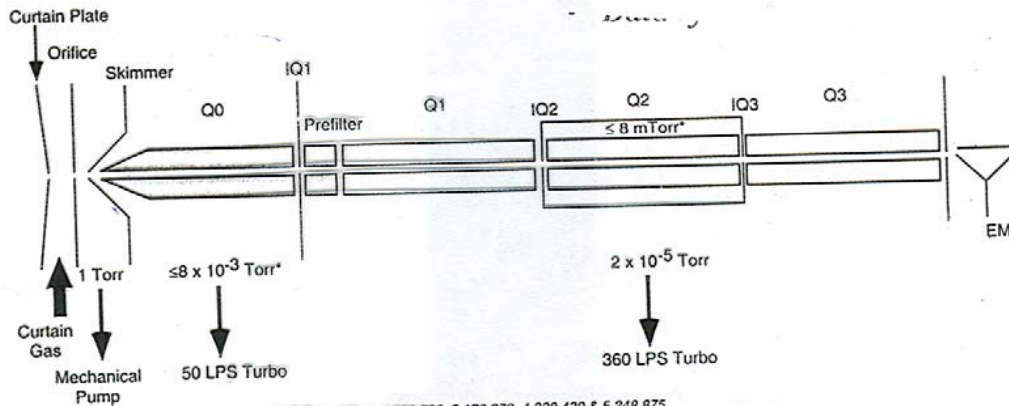


Figure 8.3a Schematic representation of a tandem quadrupole mass spectrometer system



*US Patent Nos. 4,963,736, 5,179,278, 4,328,420 & 5,248,875

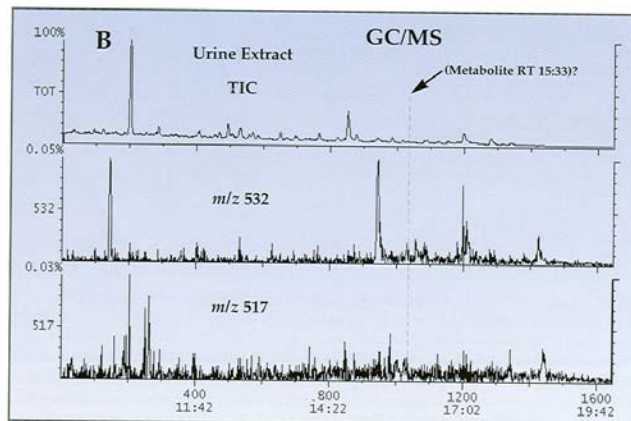
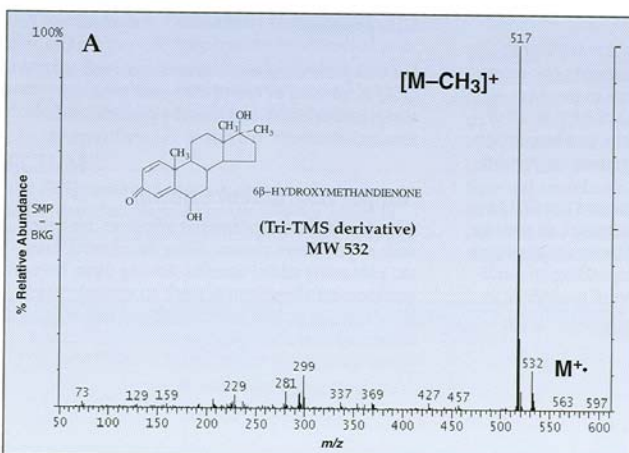
Důkaz steroidů v biologické matrici

GCQ Tandem is . . . Unprecedented Access to the Ultimate Analytical Tool

MS/MS can be a powerful tool for obtaining molecular structural information. Until now, the capabilities of true MS/MS have been limited to those who have dedicated themselves to extensive training and experience in the technique. Now you can have all the features of the GCQ plus the power of tandem mass spectrometry (MS/MS) when you choose the GCQ *Tandem* system.

Simplified MS/MS

Increasingly, the needs of the analytical laboratory go beyond the capabilities of mass spectrometry alone. For example, compounds of interest may co-elute with impurities, requiring a closer look for confirmation of identification. Or, sample matrix may contribute to chemical noise in the analytical results. Or, you may require more data on compound structures.



The power of MS/MS analysis for detection and quantitation of compounds in complex matrices is clearly illustrated by the analysis of the anabolic steroid metabolite 6 beta-hydroxymethandienone in urine. The metabolite is converted to the volatile trimethylsilyl (TMS) derivative for EI GC/MS analysis. The EI spectrum of this derivatized metabolite contains a molecular ion at m/z 532 with an abundant (M-CH₃) fragment at m/z 517, but very little other useful fragmentation [A].

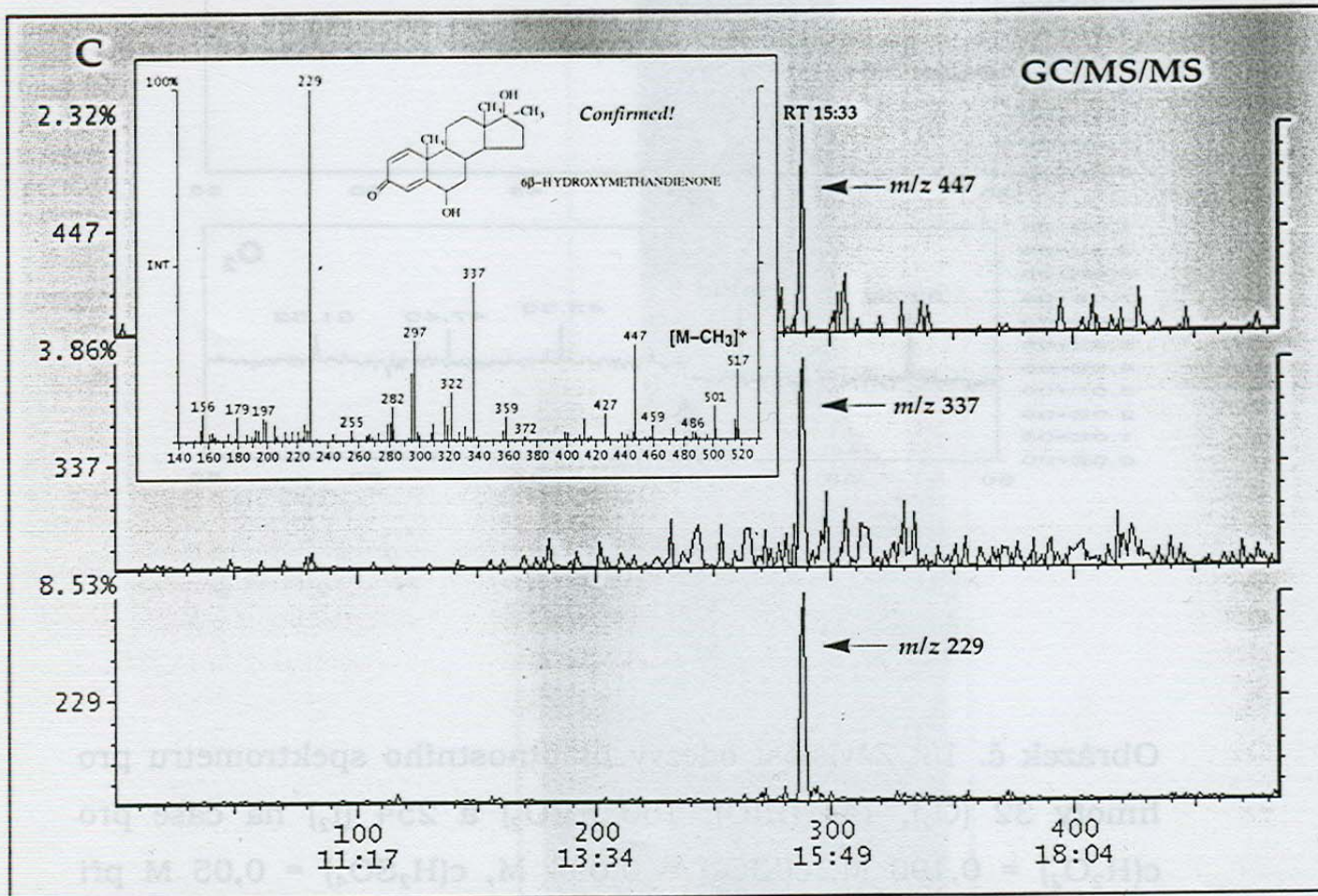
The metabolite cannot be identified in urine at the 10 ng/mL level at the appropriate retention time (15:33) from the reconstructed ion profile of m/z 532 and m/z 517 [B].

MS/MS of m/z 517 generates a structurally rich fragmentation spectrum with abundant ions at m/z 229, m/z 337 and m/z 447 and these MS/MS ions can be used to solve the problem [C].

MS/MS technika:

- Rozlišení stop nečistot od analytu
- Snížení vlivu šumu
- Více údajů o struktuře analytu

Důkaz steroidů v biologické matrici

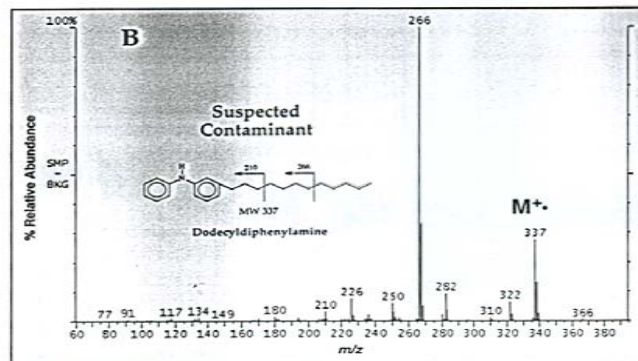
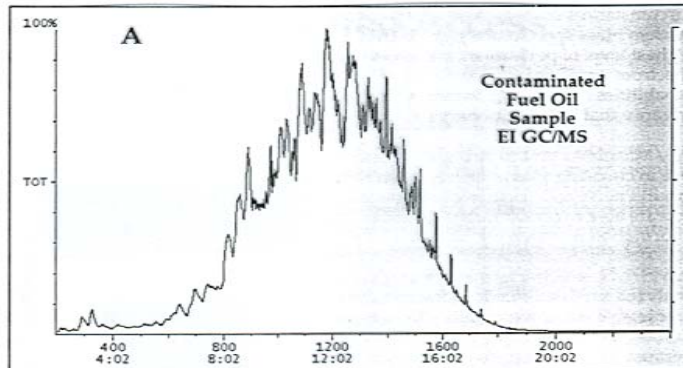


GC/MS/MS of the urine extract with isolation and fragmentation of m/z 517 ($M-CH_3$) followed by plotting of the resulting MS/MS generated fragment ions at m/z 229, m/z 337 and m/z 447 provides the ion profiles shown with high signal-to-noise at the correct retention time (15:33 min) which dramatically confirms the presence of the steroid in the complex matrix at the 10 ng/mL level.

Zvýšení citlivosti detekce při tandemové HS

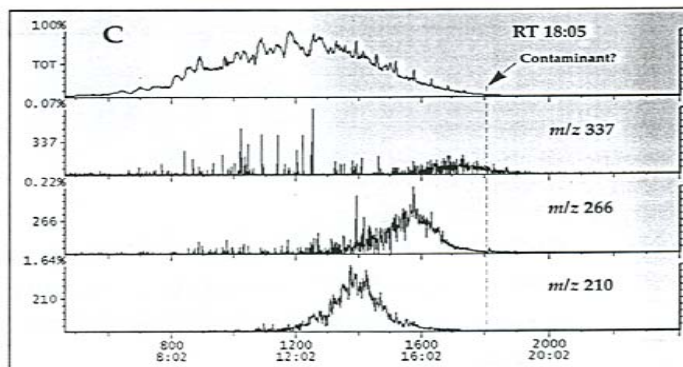
The Power of MS/MS...

(A) GC/MS analysis of a fuel oil sample suspected of containing the contaminant dodecylphenylamine yields results with little useful information.

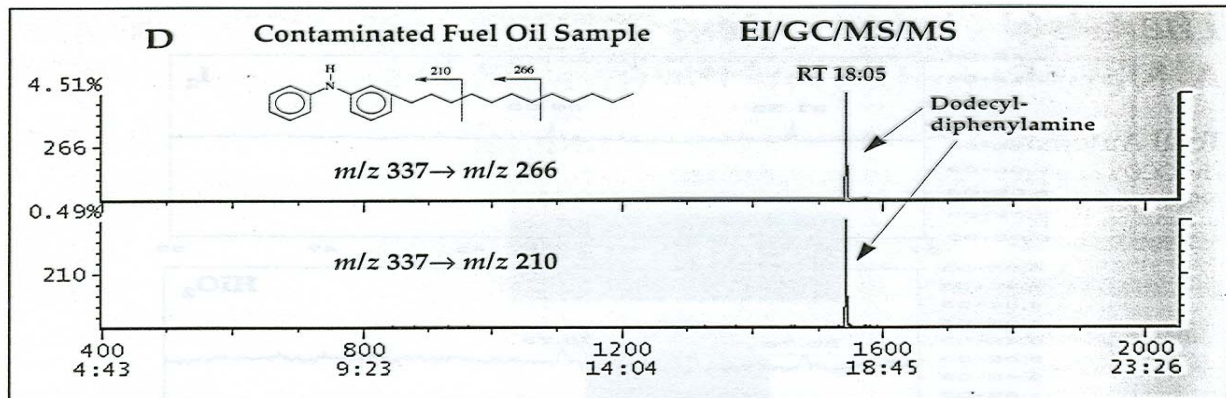


(B) EI/MS spectrum of a standard sample of dodecylphenylamine reveals the molecular ion at m/z 337 and significant side chain fragments such as m/z 266 and m/z 210.

(C) Reconstructed ion chromatograms of the molecular ion at m/z 337 and two significant fragments obtained by GC/MS do not identify the contaminant.



Analýza komplexní matrice tandemovou HS

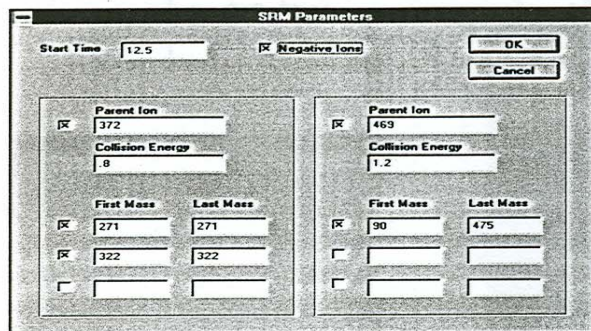


(D) GC/MS/MS analysis isolates and fragments the molecular ion at m/z 337. The reconstructed ion chromatograms for the significant MS/MS fragment ions at m/z 266 and m/z 210 unambiguously identify the contaminant in this complex matrix.

Selected Reaction Monitoring (SRM)

When searching for and/or quantitating a known compound, selecting and monitoring one or more ions in MS/MS mode allows for improved detection limits for quantitation. This process, a particularly powerful selected reaction monitoring experiment known as selected reaction monitoring (SRM) increases specificity by eliminating interferences, thereby lowering the limits of detection.

The GCQ *Tandem* offers SRM capabilities by using MS/MS in combination with Ultra-SIM. This technology provides levels of selectivity and limits of detection never before reached by benchtop MS detectors. For obtaining structural information for identification, to accurately quantitate a compound, to obtain a cleaner spectrum, or to achieve lower limits of detection, MS/MS on the GCQ *Tandem* provides the ultimate analytical results available in a benchtop system.



Even complex analytical capabilities, such as SRM are accessed by the click of the mouse, empowering the analyst as never before.

Easy-to-Use MS/MS Software

With the GCQ data system, even if you've never run MS/MS analyses before, you'll be on familiar terrain: windows-based, intuitive and easy-to-use software, with control over the entire analysis. Logical, plain menus take you through step-by-step.

A Lot from a Small Package

Finally, the GCQ *Tandem* is designed with the constraints of the typical laboratory foremost in mind. The instrument footprint for this remarkable MS/MS detector is smaller than any other instrument capable of providing the same level of performance and flexibility.

■ Iontová past jako tandemový HS

- MS² - v iontové pasti ponecháme pouze vybraný iont, ostatní vypudíme
- vybraný iont může reagovat nebo fragmentovat v iontové pasti
 - iontová past analyzuje produkty reakce (fragmentace) jako tandemový HS

Nové trendy: vícenásobný kvadrupól a lineární iontová past:

LC/MS/MS

(aplikace v toxikologii, forenzních analýzách a analýzách potravin)

■ Otázky

- 1. Alkoholy snadno odštěpují neutrální molekulu – kterou?
- 2. Jaké jsou přednosti MS/MS techniky?
- 3. Uveďte příklady použití MS/MS techniky

Odpovědi

1. Alkoholy odštěpují snadno molekulu H_2O

2. Přednosti: rychlost scanu,

citlivost (vzorek se neředí)

Nevýhody: nákladnost (částečně odstraňuje iontová past)

3. Analýza steroidů v biologické matrici, analýza

kontaminantů topných olejů,

11. Kvantitativní hmotnostní spektrometrie organických sloučenin

Princip kvantitativní analýzy hmotnostním spektrometrem:
citlivostní faktory S_{ij} (analogicky k jiným spektrálním metodám)

$$I_1 = S_{11}p_1 + S_{12}p_2 + S_{13}p_3 + \dots + S_{1n}p_n$$

$$I_2 = S_{21}p_1 + S_{22}p_2 + S_{23}p_3 + \dots + S_{2n}p_n$$

$$\begin{array}{cccccc} \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \end{array}$$

$$I_n = S_{n1}p_1 + S_{n2}p_2 + S_{n3}p_3 + \dots + S_{nn}p_n$$

kde I_i je intenzita i -tého vybraného píku, p_i je parciální tlak

Řešení soustavy rovnic – matice (determinanty)

Metody kvantitativní analýzy:

- Metoda vnitřního standardu
 - (iont.proud z analytu porovnááme s iontovým proudem sloučeniny zvolené za vnitřní standard nebo s iontovým proudem aliquotního podílu čistého analytu)
- Metoda izotopového zředění
 - (vnitřní standard - deuterizovaná sloučenina - analyt)
- Kalibrace

5.4. Kvantitativní využití hmotnostní spektrometrie

Ke kvantitativní analýze se využívá srovnání iontového proudu (četnosti iontů) získaného z analytu a jiného iontového proudu ze sloučeniny zvolené za vnitřní standard nebo s iontovými proudy z alikvotních přídavek čistého analytu.

a) kalibrace a analýza současně

Při této metodě se nezapisuje celé spektrum, ale jen pík odpovídající zvolenému m/z - je to tzv. selektivní záchyt iontu (SIM - selective ion monitoring).

Pozor! Nezaměňovat s metodou SIMS - secondary ion mass spectrometry.

Intenzita měřeného píku se srovnává s intenzitou vhodného píku vnitřního standardu. Detekce se provádí t.zv. metodou sdílení času (time-sharing), kdy detektor skokově mění své nastavení mezi m/z píku z analytu a píku z vnitřního standardu. Jako vnitřní standardy o známé koncentraci se k analyzované látce přidávají látky strukturálně blízké, homology nebo sloučeniny izotopicky značené. Ty poslední jsou nejlepší, protože se svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi nejvíce podobají látkám analyzovaným. Velmi často se proto používají látky deuterované.

Např. u molekul typu $X-O-CRH-CH_2-NHCOY$ je běžná fragmentace na vazbě $CRH-CH_2$ s ponecháním náboje na $[X-O=CRH]^+$. V případě, že nahradíme vodík H ve skupině CRH deuteriem, bude tento fragment mít o jednotku větší m/z hodnotu a kvantitativní vyhodnocení může být založeno na vztahu:

$$\frac{I_H}{I_D} = \frac{w_A}{w_S}$$

kde I jsou intenzity píku uvedeného fragmentu s H a s D, w_S je navážka deuterovaného standardu a w_A je množství analytu, které stanovujeme. Podobně jako u jiných analytických metod je možno připravit kalibrační přímkou tak, že pro kalibrační měření použijeme známé množství w_A a levou stranu rovnice vyneseme proti pravé.

Zvýšení přesnosti měření se dosáhne při současném sledování více zvolených píků, k tomu je třeba více detektorů nebo rychlého přepínání definujících parametrů pomocí počítače (programmable SIM). Dá se říci, že čím více píků v hmotnostním spektru se zachycuje, tím větší je spolehlivost naměřených dat - náhodná porucha při registraci jednoho píku se neprojeví u píků jiných a její účinek je proto potlačen. Na druhé straně, zvolíme-li menší počet sledovaných píků, pak relativně dlouhý čas určený k záchytu jednoho píku má za následek zvýšení poměru signálu a šumu a také přesnosti měření. Kvantitativní vyhodnocení analytu se pak provede srovnáním ploch píků v analyzovaném vzorku a u standardů. Přesnost stanovení se udává často jako relativní standardní odchylka a u opakovaných analýz standardu může být $\pm 3\%$ pokud se množství vzorku analyzovaného SIM technikou pohybuje ve středu kalibrační přímkou; směrem k nižším koncentracím se pak může zhoršovat až na 4-5 násobek.

b) kalibrace a analýza odděleně

Intenzita píku se běžně vyjadřuje relativně vzhledem k nejintenzivnějšímu píku ve spektru, t.j. píku hlavnímu. Tento způsob není ale vhodný pro kvantitativní analýzu, při níž je třeba srovnávat různá spektra mezi sebou. Proto se u hmotnostních spekter uvádí i druhá vertikální stupnice, z níž je možno odečíst kolik procent tvoří konkrétní iontový tok (pík zvolené m/z) z celkového iontového toku. Tato procenta z celkové ionizace (percentage total ionization) se

-Využití sledování vybraného iontu – SIM

-Isotopové obohacení vnitřního standardu:

deuterované sloučeniny:

$$I_H/I_D = w_A/w_S$$

značí %Σ. Pokud je za znaménkem sigma ještě číselná hodnota, např. %Σ₂₉₀, znamená to, že se celkový tok získal integrací nikoliv celého spektra, ale jen od uvedené hodnoty m/z = 290 až za skupinu molekulární píku. Pro kvantitativní analýzu je třeba držet tuto hodnotu konstantní nebo odpovídající intenzity přepočítat. Potom je možno postupovat jako při analýze SIM metodou, t.j. od každé složky směsi si zvolit vhodný pík a jeho intenzitu porovnat s intenzitou píku ve spektru čisté složky. Tento postup postrádá ovšem výhodu SIM metody, totiž současný zápis píku analytu i standardu. Proto se pro snížení vlivu experimentálních chyb na výsledek analýzy používá t.zv. vícerozměrná lineární regrese. Tato metoda je snadno programovatelná a často se vyskytuje ve statistických programech pro počítače. Postup je možno předvést na jednoduchém příkladě:

Mějme dva standardy C a D a jejich směs v neznámém poměru A. Ve spektru zvolíme např. tři hodnoty m/z (x₁, x₂, x₃), při kterých se spektra standardů C a D výrazně odlišují. Při stejných hodnotách m/z odečteme také intenzity ve spektru směsi A. Výsledky jsou v následující tabulce:

látka	x ₁	x ₂	x ₃
A	16	8	9
C	10	20	15
D	20	0	5

Z výsledků sestavíme soustavu rovnic s použitím zatím neznámých molárních zlomků složek C (f₁) a D (f₂) ve směsi.

$$\begin{aligned} 16 &= 10 f_1 + 20 f_2 \\ 8 &= 20 f_1 + 0 f_2 \\ 9 &= 15 f_1 + 5 f_2 \end{aligned}$$

Podobným způsobem si můžeme představit napsání n rovnic pro n zvolených m/z hodnot a jejich pravou stranu můžeme rozšířit z dvou složek směsi na potřebných p. V takovém případě je vhodné zapsat tento soubor rovnic maticovým způsobem: levá strana rovnic je sloupcový vektor A_{n,1} s n řádky, numerické hodnoty na pravé straně rovnic tvoří matici B_{n,p} s n řádky a p sloupci a tato matice je násobena zprava sloupcovým vektorem F_{p,1} s p řádky.

$$A_{n,1} = B_{n,p} * F_{p,1}$$

Výpočet molárních zlomků, t.j. vektoru F vyžaduje vynásobit obě strany rovnice zleva pseudoinverzí matice B.

$$F = (B' * B)^{-1} * B' * A$$

Pro dvousložkovou směs je tento výpočet jednoduchý, jinak je vhodné použít počítačový program. Pro výše uvedený příklad dostaneme:

$$B' * B = \begin{bmatrix} 725 & 275 \\ 275 & 425 \end{bmatrix} \quad (B' * B)^{-1} = \frac{1}{\det} \begin{bmatrix} 425 & -275 \\ -275 & 725 \end{bmatrix}$$

$$B' * A = \begin{bmatrix} 455 \\ 368 \end{bmatrix} \quad \det = 725 * 425 - 275 * 275$$

$$\text{potom } (B' * B)^{-1} * B' * A = 10^{-3} \begin{bmatrix} 1.8280 & -1.1828 \\ -1.1828 & 3.1183 \end{bmatrix} * \begin{bmatrix} 455 \\ 368 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.4 \\ 0.6 \end{bmatrix}$$

Směs A tedy obsahuje látky C a D v molárním poměru 0.4 : 0.6.

Na dalším příkladě se přesvědčíme, že je dobré pracovat s více měřeními n než je počet složek směsi p.

Nová veličina: podíl intenzity píku na celkovém iontovém toku:

$$\% \Sigma$$

Příklad: dva standardy: C,D

směs látek C,D = A

Měříme %Σ pro 3 různé píky m/z:

X₁, X₂, X₃

Sestavíme rovnice, řešíme – matice

m/z	směs	C ₃ H ₈	C ₄ H ₁₀	i-C ₄ H ₁₀	i-C ₄ H ₈	1-C ₄ H ₈	2-C ₄ H ₈
39	736	11.01	11.51	17.17	31.71	23.73	20.50
40	128	1.54	1.68	2.59	7.27	4.16	3.61
41	1491	7.26	20.73	32.05	61.10	58.60	53.10
42	364	3.32	8.48	25.18	2.20	2.05	1.70
43	1570	12.99	67.30	76.30	0.12	0.06	0.05
44	85	14.70	2.20	2.52	0.00	0.00	0.00
<hr/>							
55	185	-	0.74	0.38	10.02	10.67	11.84
56	394	-	0.54	0.31	26.21	21.80	24.59
57	58	-	1.68	2.29	1.10	1.00	1.17
58	131	-	8.48	1.98	-	-	-
<hr/>							
n=6	f%	5.86	34.31	21.08	11.75	39.07	-12.07
n=10	f%	5.79	33.49	20.82	14.21	15.98	9.71

Pokud se použije jen tolik rovnic, kolik je neznámých hodnot f, pak samozřejmě lze tyto rovnice řešit a neznámé vypočítat. Pokud se jedná ale o experimentální data zatížená chybou měření, pak nelze takto zjistit optimální hodnoty parametrů a výsledek může být i nereálný (viz zápornou hodnotu pro molární zlomek 2-C₄H₈. Doporučuje se, aby (pokud je to možné) bylo $n \geq 3p$.

Dalšího zpřesnění výsledků se dá dosáhnout tím, že se vedle spekter čistých standardů použijí i spektra jejich směsí. Příklad se dá srovnat s konstrukcí kalibrační přímky místo jednoho kalibračního měření při stanovení koncentrace jednoho analytu. Tento postup se nazývá multiparametrová kalibrace. Vstupní data jsou

- kalibrační matice spekter $K_{m,n}$,
- kalibrační matice koncentrací $C_{p,n}$,
- matice naměřených spekter k analýze $D_{m,k}$. Indexy mají tento význam:
- m = počet senzorů, t.j. počet m/z hodnot, u kterých byla měřena intenzita,
- n = počet kalibračních spekter, to mohou být spektra čistých standardů i jejich směsí,
- p = počet složek ve směsi, to je počet čistých standardů,
- k = počet naměřených směsí k analýze; může to být třeba jen jedno spektrum,

nebo více spekter s různými koncentracemi složek.

Matice koncentrací analytů v jednotlivých naměřených směsích $G_{p,k}$ se vypočítá takto:

$$G_{p,k} = C_{p,n} * K_{n,m}^+ * D_{m,k}$$

kde K^+ je pseudoinverzní matice $(K' * K)^{-1} * K'$.

Vezměme k analýze např. směs cyklohexanu (30%) a hexanu (70%):

	kalibrační matice koncentrací (%)				nalezeno(4)	nalezeno(2)
cyklohexan	100	80	10	0	30.05	31.2
hexan	0	20	90	100	69.95	68.8

Výsledky označené (4) byly získány pomocí 4 kalibračních spekter a koncentrací uvedených v tabulce, k výsledkům s označením (2) byla použita kalibrace jen čistými složkami.

Při velkém množství kalibračních roztoků je možné oprostít hodnoty v matici K^+ od značné části chyb měření. Proveďte se to t.zv. singulárním rozkladem matice K na orthogonální matice

Soustavu rovnic je vhodné „přeuročit“:

Doporučeno: $n \geq 3p$
(n rovnic pro p složek směsi)

(Jako standardy lze použít i směsi čistých látek.)

U, S a V (t.j. $K = U \cdot S \cdot V$), přičemž se před výpočtem pseudoinverzní matice K^+ tyto ortogonální matice zredukují jen na významné sloupce resp. řádky. Pokud se správně odhadne ta část, která se v maticích zanedbává, bude pseudoinverzní matice K^+ vzniklá součinem $V \cdot S^{-1} \cdot U^+$ oproštěna o značnou část experimentálních chyb.

c) izotopové ředění

Při této metodě se měří relativní intenzity piků dvou izotopů a jejich poměr se srovnává s poměrem intenzit ve vzorku smíchaném se standardem, jehož izotopické složení je změněné vzhledem k přirozenému. Takto lze principiálně stanovit koncentrace všech atomů, které mají minimálně dva stabilní izotopy.

V x gramech látky složené z izotopů I_1 a I_2 s přirozeným zastoupením p_{11} a p_{12} je $R_n \cdot x / (R_n + 1)$ gramů izotopu I_1 a $x / (R_n + 1)$ gramů izotopu I_2 , když $R_n = p_{11} / p_{12}$. Ve w gramech standardu se změněným izotopickým zastoupením na p_{11}' a p_{12}' je $R_s \cdot w / (R_s + 1)$ gramů izotopu I_1 a $w / (R_s + 1)$ gramů izotopu I_2 , kde $R_s = p_{11}' / p_{12}'$.

Po smíchání naměříme poměr izotopů $R_m = A_1 / A_2$ kde

$$A_1 = \left(\frac{R_n \cdot x}{R_n + 1} + \frac{R_s \cdot w}{R_s + 1} \right) \quad A_2 = \left(\frac{x}{R_n + 1} + \frac{w}{R_s + 1} \right)$$

potom
$$R_m = \frac{R_n \cdot x \cdot (R_s + 1) + R_s \cdot w \cdot (R_n + 1)}{x \cdot (R_s + 1) + w \cdot (R_n + 1)}$$

a z toho
$$x = \frac{(R_s - R_m) \cdot (R_n + 1)}{(R_s + 1) \cdot (R_m - R_n)} \cdot w$$

V případě, že standardem je prakticky čistý izotop I_1 nebo I_2 , pak $R_s \rightarrow \infty$ nebo $R_s \rightarrow 0$ a podle l'Hospitalova pravidla

$$\lim_{R_s \rightarrow \infty} \frac{R_s - R_m}{R_s + 1} = \lim_{R_s \rightarrow \infty} \frac{(R_s - R_m)'}{(R_s + 1)'} = 1$$

kde ' značí derivaci podle R_s , se rovnice pro výpočet x zjednoduší na

$$x = \frac{R_n + 1}{R_m - R_n} \cdot w$$

Příklad: Analýza uranu v meteoritu.

	p_{238}	p_{235}	p_{235}/p_{238}	
přirozený výskyt	100	0.725	0.00725	R_n
standard	-	100	∞	R_s
vzorek+standard	40 (mm)	7300 (mm)	182.5	R_m

$$x(g) = \frac{0.00725 + 1}{182.5 + 0.00725} \cdot w(g) = 0.0055 \cdot w(g)$$

Je-li navážka vzorku z = 10 g a navážka standardu w = 0.01 g, pak množství uranu v meteoritu v procentech, t.j. a%

$$a\% = \frac{x \cdot 100}{z + w} = 5.5 \times 10^{-4}\%$$

Poměr přirozených výskytů některých izotopů je někdy závislý na tom, odkud studovaný prvek pochází. Tak lze třeba na základě přirozeného výskytu ^{13}C rozlišit cukr připravený z řepy (1.078) od cukru ze třtiny (1.100). Obecně se postupuje tak, že se zkoumaná surovina spálením převede na CO_2 , u kterého se pomocí hmotnostní spektrometrie změní intenzity piků

Měří se:

Relativní intenzity piků dvou izotopů

ve standardu a v analytu
(standard obohacen jedním z izotopů)

Výhoda:

Analytická metoda bez radioaktivních izotopů – použití v lékařství
(Vydechovaný CO_2)

^{13}C z řepy (1,078) a z třtiny (1,100)

44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$) a 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$) a vypočítá se poměr $^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2$. Ten se pak vyjádří relativně vzhledem ke standardu, kterým je fosilní uhličitan vápenatý Pee Dee Belemnite z Jižní Karoliny. V CO_2 uvolněném z tohoto PDB standardu je izotopický poměr $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 0.0112372$. Získaná charakteristika se označuje jako $\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{PDB}) = \frac{\left(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}\right)_{\text{vzorek}} - \left(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}\right)_{\text{PDB}}}{\left(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}\right)_{\text{PDB}}} \cdot 1000$$

Kromě primárního PDB standardu se pro rutinní měření může používat sekundární standard NBS 22 od (International Atomic Energy Agency, IAEA Vídeň), který se od PDB standardu liší o $(-29.73 \pm 0.09)\text{‰}$. Jestliže je spektrometr schopen stanovit obsah ^{13}C s přesností na 0.05‰ , pak dosahovaná opakovatelnost těchto metod je zhruba 0.3‰ a reprodukovatelnost asi 0.7‰ .

■ Otázky

- 1. Jaké izotopy se nejčastěji vyskytují v hmotnostně spektrometrické analýze?
- 2. Jaké m/z mají molekulové ionty těchto sloučenin:
 - a./ 1-chloronaftalen $C_{10}H_7Cl$
 - b./ diethyl rtuť $(C_2H_5)_2Hg$
 - c./ tetraethyl olovo $(C_2H_5)_4Pb$
 - d./ ferrocen (dicyklopentadienyl železo) $(C_5H_5)_2Fe$
- 3. Uved'te některé monoisotopické prvky
- 4. Co je to tzv. dusíkové pravidlo?
- 5. Jak se vypočte počet dvojných vazeb a cyklů?

■ Odpovědi

■ 1. Izotopy: Cl ^{35}Cl ^{37}Cl (poměr píků 100:32,5)

■ Br ^{79}Br ^{81}Br (poměr píků 100:98)

■ S ^{32}S ^{33}S ^{34}S (poměr píků 100:0,8:4,4)

■ O ^{16}O ^{18}O (poměr píků 100:0,20)

■ N ^{14}N ^{15}N (poměr píků 100:0,37)

■ C ^{12}C ^{13}C (poměr píků 100:1,1)

■ Si ^{28}Si ^{29}Si ^{30}Si (poměr píků 100:5,1:3,4)

■ Ag ^{107}Ag ^{109}Ag (poměr píků 1:1)

■ 2. a./ 162 b./ 260 (^{202}Hg 29,8%)

■ c./ 324 (^{208}Pb 51,7%) d./ 186 (^{56}Fe 91,52%)

■ 3. ^1H , ^{19}F , ^{23}Na , ^{31}P , ^{127}I

■ 4. Molekula, obsahující lichý počet dusíkových atomů bude mít molekulovou hmotnost (M_r) liché číslo, molekula bez dusíkových atomů nebo se sudým počtem dusíkových atomů bude mít M_r sudé číslo

■ 5. Pro molekulu $\text{C}_x\text{H}_y\text{N}_z\text{O}_n$ je celkový počet kruhů a dvojných vazeb

■ $= x - (1/2)y + (1/2)z + 1$. Si zpracujeme jako C, P jako N, S jako O, halogeny jako H

Vzhled skupiny molekulového píku: atomy Cl a Br v molekule

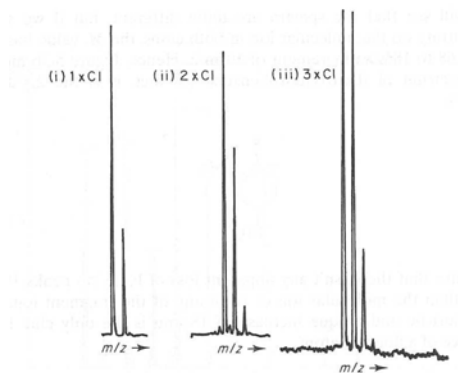


Figure 5.3c Patterns produced by elements with abundant stable isotopes, showing examples of ions containing (i) one, (ii) two, and (iii) three chlorine atoms

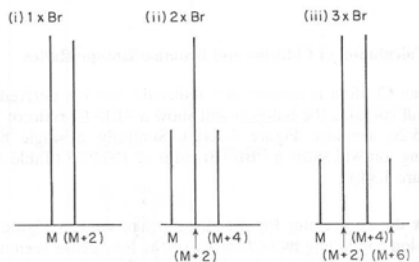
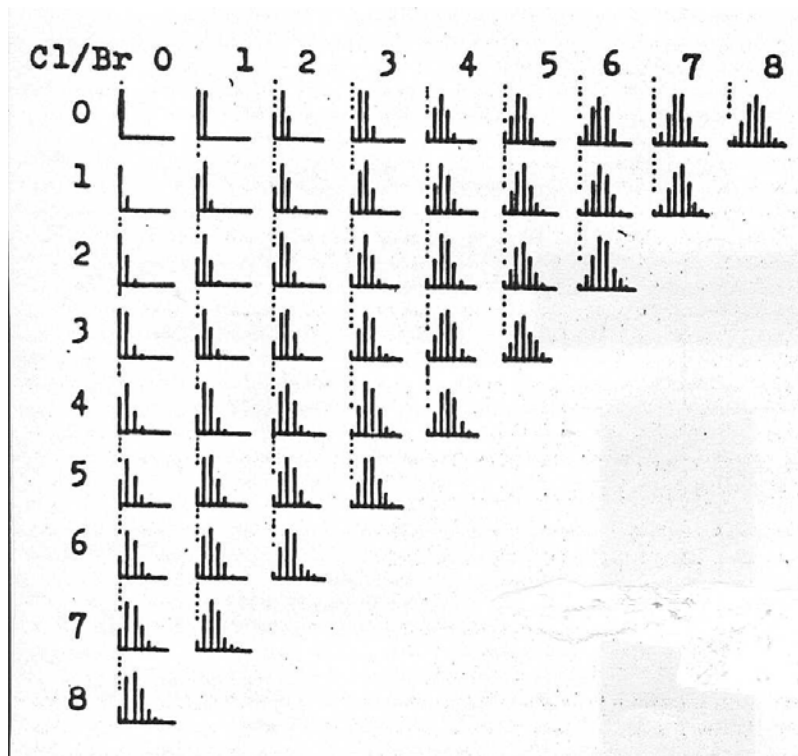


Figure 5.3d Patterns (not normalised) produced by elements with abundant stable isotopes, showing examples of ions containing (i) one, (ii) two, and (iii) three bromine atoms



12. Hmotnostní spektrometrie v anorganické chemii

Analýza roztoků

Spojení indukčně vázaného plazmatu (ICP-inductively coupled plasma) s hmotnostním spektrometrem

(1980 - Houk - laboratorně, 1983-6 - Douglas, French-komerčně.)

Přímý vstup iontů z ICP-zdroje do hmot.spektrometru: 2 kužele: reprezentativní odběr vzorku plazmatu.

Technické problémy interface: sekundární výboj na vzorkovacím kuželi, fokusace iontů různých energií, vycházejících z ICP-výboje, optimalizace rozmlžování vzorku, optimalizace charakteristik RF-generátoru pro ICP, výkonný vakuový systém.....

(Interference iontů: Fe^+ - ArO^+ vyžaduje rozlišení 2500, jiné interference: As^+ - ArCl^+ potřebné rozlišení 8000, Pd^+ - YO^+ potřebné rozlišení 27000)

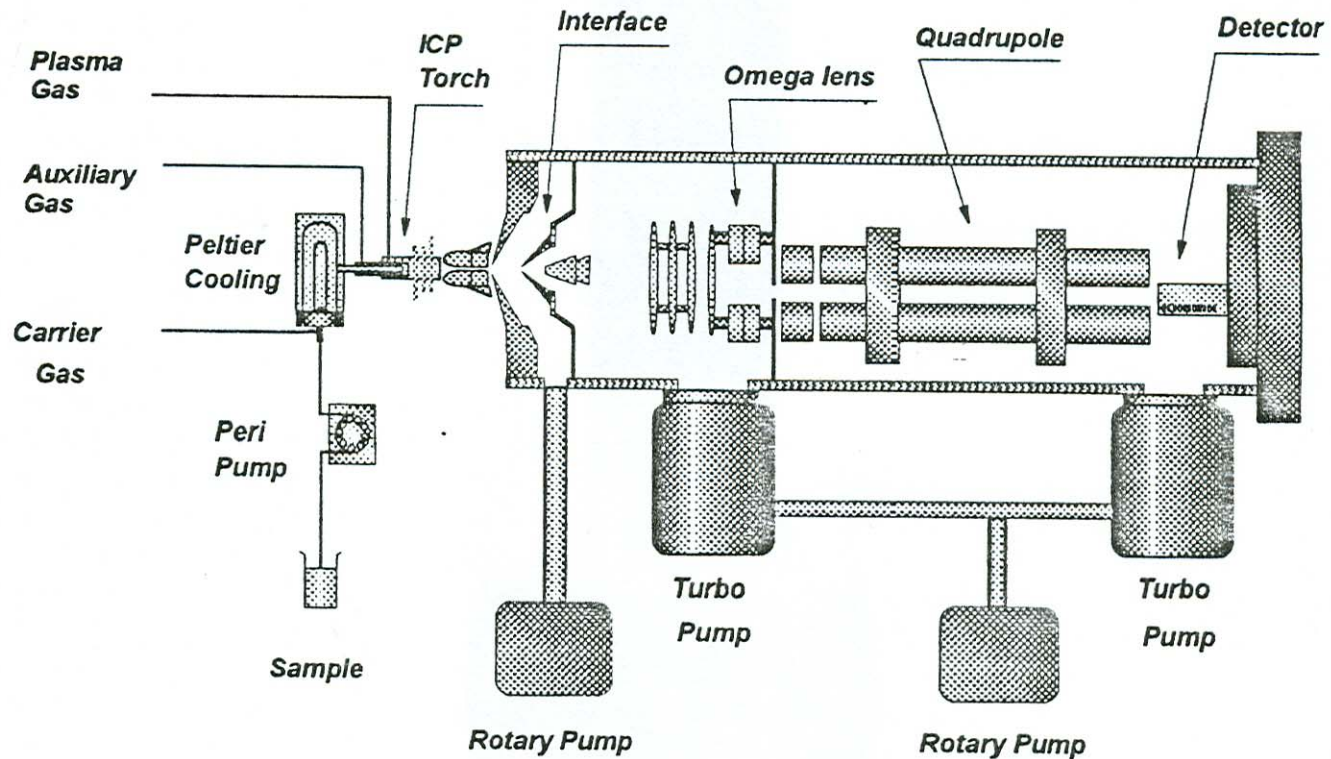
Použití směsi plynů $\text{Ar}+\text{N}_2$ při tvorbu plazmatu. Nesnadná tvorba iontů: As^+ , Zn^+ , Ba^{++}

Vyhodnocování: statistické metody (metoda hlavní komponenty), počítače, rychlost analýzy (100s)

Aplikace: stopová analýza - ppt, ppq (absolutní mez: fg, ag), rozlišení pitné vody podle obsahu stopových prvků, stanovení těžkých kovů a stopových prvků v půdách, analýza ultračistých chemikálií (mikroelektronika-ULSI) a j..

Princip metody ICP-MS

ICP-MS



Princip metody ICP-MS

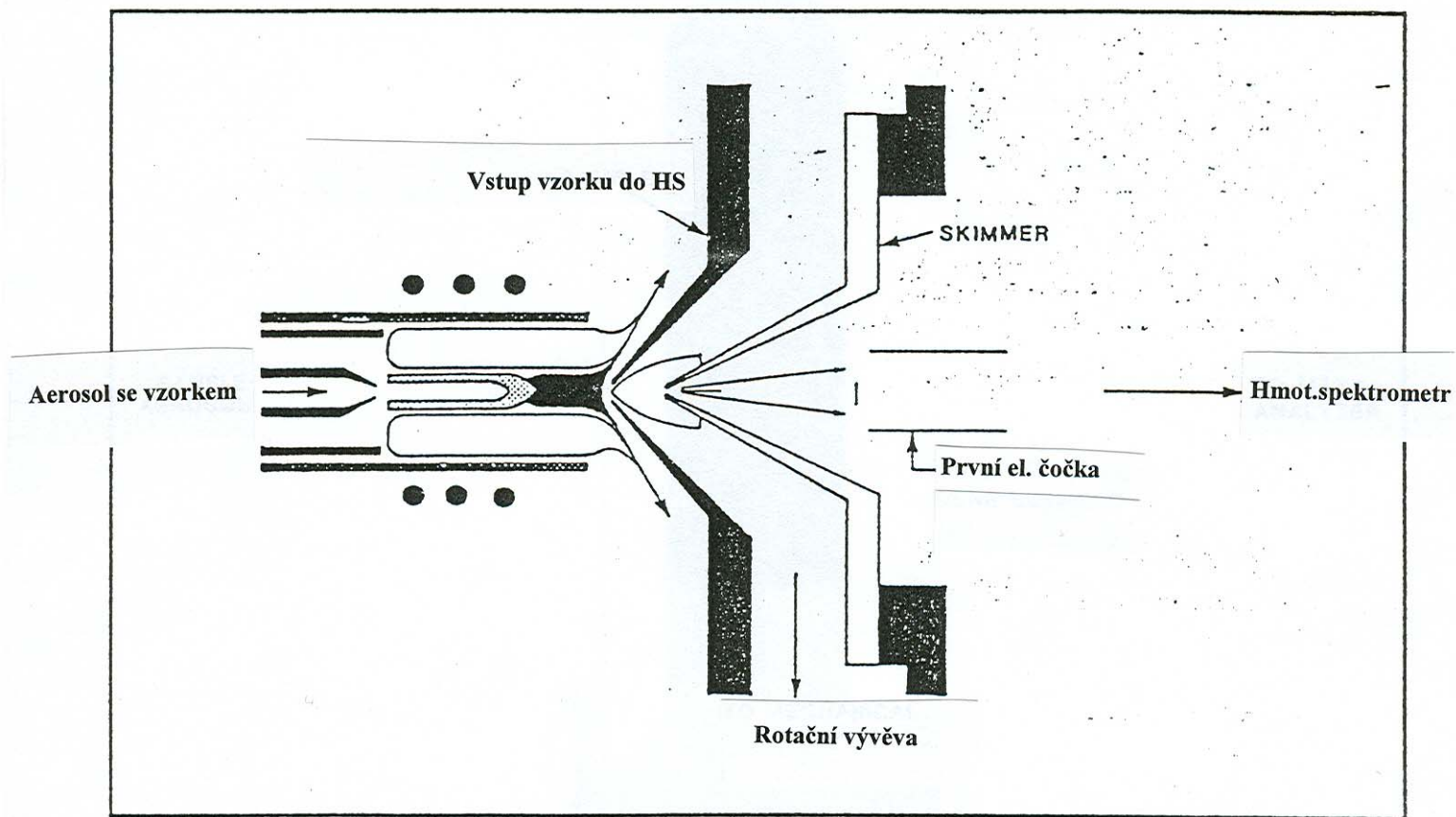


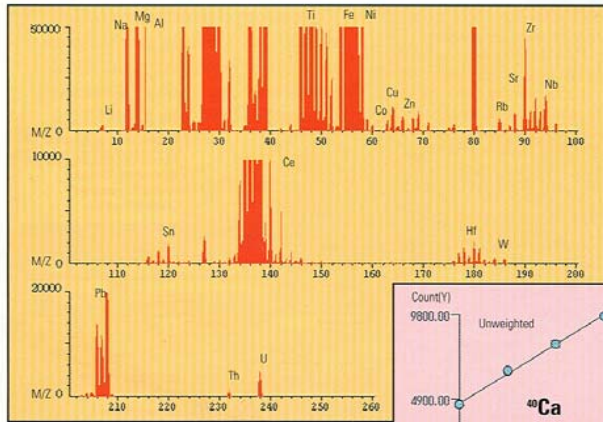
Fig. 1. Schematic of the Douglas-French ICP-MS interface.

Analytické možnosti ICP-MS

THE MULTI-ELEMENT ANALYSIS CAPABILITIES OF ICP-MS

Soil Contaminants to Ultrapure Chemicals

With detection limits in the nanogram/liter range, the very small sample size needed, its robustness and easy operation, the HP 4500 inductively coupled plasma mass spectrometer can cover a wide range of multi-element analyses. From environmental, geological, and biochemical analyses in which high matrix samples might be analyzed, to measurements in the semiconductor field with low-concentration of analytes — ICP-MS offers analytical versatility across many industries.

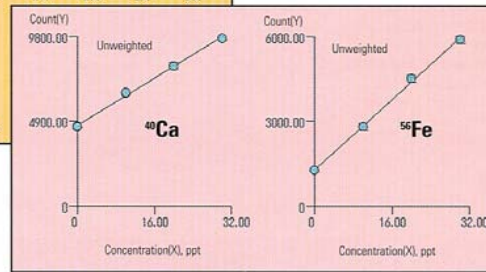


▲ Figure 1. Qualitative spectrum of SOIL-7. The detection capability of the HP 4500 ranges from Li at lower mass to U at higher mass; total analysis time: 100 seconds.

Heavy Metals in the Environment

In soil analysis, concerns continue to grow over what constitutes "safe" levels of contaminants in the environment, particularly heavy metals. The requirements established for the analysis of more and more elements, at ever-decreasing concentrations, is exposing the limitations of currently used analytical techniques. Among the techniques that offer continual improvements in sensitivity, ICP-MS stands out in its promise to accommodate future analytical demands.

Figure 1 shows the qualitative spectrum of soil standard reference material (IAEA SOIL-7), which was digested with a microwave digester. A large number of elements ranging from Li at low mass to U at high mass can be clearly identified, even though the total analysis time was only 100



▲ Table 1. Quantitative results of SOIL-7; they agree well with the certified values.

Figure 2. Calibration curves of Ca and Fe; the ShieldTorch system allows determination at low-ppt levels.

Element	m/z	Certified		Measurement
		Concentration	Confidence Interval	
V	51	66	59-73	67.3
Cr	52	60	49-74	60.7
Mn	55	631	604-650	629
Co	59	8.9	8.4-10.1	8.60
Ni	60	*26	*21-37	24.1
Cu	65	11	9-13	9.85
Zn	66	104	101-113	104.4
As	75	13.4	12.5-14.2	13.8
Gd	114	*1.3	*1.1-2.7	1.20
Sb	121	1.7	1.4-1.8	1.60
Pb	208	60	55-71	61.7

Unit: mg/kg * Not certified—information only

seconds. Table 1 presents quantitative results and the certified values. Despite the high matrix content of the sample (Ca, Al, etc.) good agreement was obtained.

Analysis of Ultrapure Chemicals

The trend toward pattern miniaturization and ultralarge scale integration (ULSI) in semiconductor devices requires lowering the level of metallic impurities present. This requirement applies not only to the silicon wafer itself, but also to the environment and the materials used in the manufacturing process, such as ultrapure chemicals.

Table 2 lists the quantitative results of two kinds of HNO₃ (60%). The HP 4500

	Ultrapure Grade		Poisonous Metal Analysis Grade		D.L.
	Certified	Measurement	Certified	Measurement	
Na	<1	N.D.		842	0.02
Mg	<1	0.075		3.34	0.002
Al	<1	0.26		34.8	0.01
Cr	<1	0.20	<2	0.34	0.02
Mn	<1	0.40		0.77	0.004
Co	<1	N.D.	<100	0.062	0.0008
Ni	<1	N.D.		0.05	0.02
Cu	<1	0.11		0.76	0.004
Zn	<1	0.13	<10	0.09	0.02
As	<1	N.D.	<1	0.02	0.01
Gd	<1	N.D.	<0.5	N.D.	0.004
Sn	<1	0.87	<10	6.0	0.02
Ba	<1	N.D.		0.46	0.001
Pb	<1	N.D.	<1	0.17	0.002
Fe	<1	0.36		2.80	0.04
K	<1	0.15		10.0	0.009
Ca	<1	0.35		12.0	0.08

Unit: µg/L (ppb) N.D.—Not detected

Table 2. Quantitative results of ultrapure HNO₃, easily analyzed even at ng/L (ppt) levels.

D.L. detection limit

ICP-MS ilustrativní výsledky

	Ultrapure Grade		Poisonous Metal Analysis Grade		D.L.
	Certified	Measurement	Certified	Measurement	
Na	<1	N.D.		842	0.02
Mg	<1	0.075		3.34	0.002
Al	<1	0.26		34.8	0.01
Cr	<1	0.20	< 2	0.34	0.02
Mn	<1	0.40	< 100	0.77	0.004
Co	<1	N.D.		0.062	0.0008
Ni	<1	N.D.		0.05	0.02
Cu	<1	0.11		0.76	0.004
Zn	<1	0.13	< 10	0.09	0.02
As	<1	N.D.	< 1	0.02	0.01
Cd	<1	N.D.	< 0.5	N.D.	0.004
Sn	<1	0.87	< 10	6.0	0.02
Ba	<1	N.D.		0.46	0.001
Pb	<1	N.D.	< 1	0.17	0.002
Fe	<1	0.36		2.80	0.04
K	<1	0.15		10.0	0.009
Ca	<1	0.35		12.0	0.08

Unit µg/L (ppb) N.D.=Not detected

Table 2. Quantitative results of ultrapure HNO₃, easily analyzed even at ng/L (ppt) levels.

■ Analýza povrchů

■ Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (SIMS)

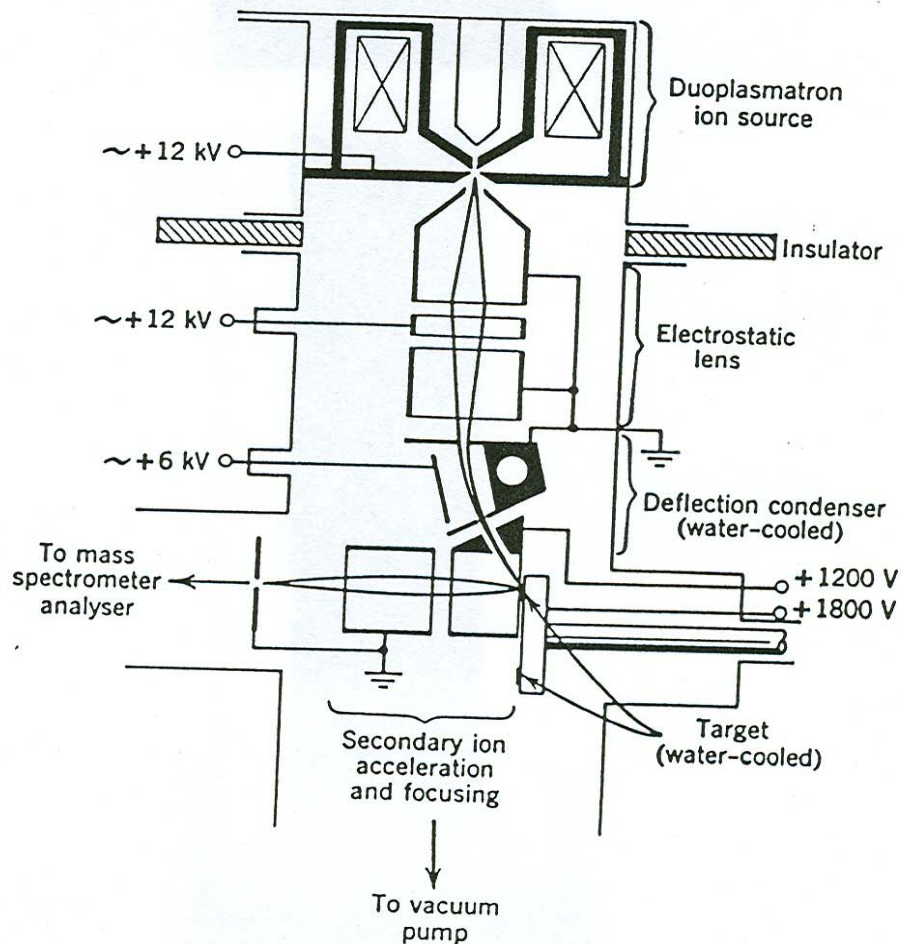


Figure 9.1a Schematic representation of a SIMS source

Analytické možnosti SIMS

QMG 421 – The ideal Secondary Ion Mass Spectrometer

High sensitivity

Standard measuring range
to 512 amu – Models available
to 2048 amu

64 measurement channels

Integrated ion counter with
12-channel analog output

Measurement of positive and
negative ions

RS 232 and LAN interfaces

QUADSTAR™ 421 software

„SIMS“– Secondary Ion Mass Spectrometry – is a proven technique for surface analysis. It can be used either as an independent method of measurement or in conjunction with other surface analysis methods such as ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis) and AES (Auger Electron Spectroscopy). Because the SIMS technique is highly sensitive, it is often used for isotope detection.

Design

QMS 421 quadrupole control unit with:

- QC 421 quadrupole controller
- IS 420 ion source supply to supply the ion optics, field axis and target voltages. Can be switched between settings for positive and negative ions from either the QMS 421 or a personal computer.
- HV 421 high voltage supply to operate the secondary electron multiplier (SEM) for detection of positive and negative ions, switchover from QMS 421 or personal computer.
- IC 421 ion counter for counting rates from $0.1 \cdot 10^3$ cps with integrated 12-channel analog output.
- RS 232 interface for connection to a personal computer
- LAN interface for connection to a network

QMH 400 high frequency generator

Mass range 1-512 amu

QMA 400 analyzer

High precision mass filter with 8 mm molybdenum rods, 90° off-axis SEM for minimum noise, 3-lense ion optics, integrated beam stop to block fast ions, photons and fast neutrals.

CP 400 ion counter preamplifier

Mounted directly on the analyzer, inlet protected against high voltage arcs, discriminator threshold adjustable from the QMS 421 or personal computer.

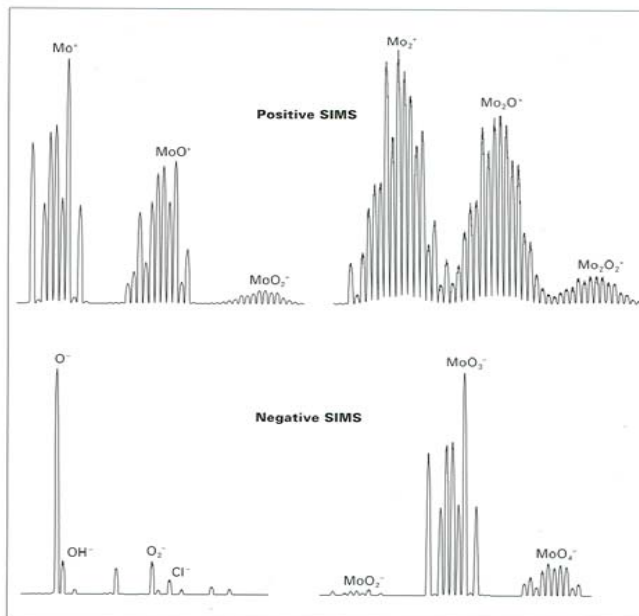
QUADSTAR™ 421 software

- Easy operation with SAA (System Application Architecture) based on Windows™ 3.1.
- Collection, presentation and storage of measured data
- Presentation of Analog Scan spectra for a specific range
- Scan FIR digital filtering for interference suppression
- Scan Bar Graph spectra for a selected range
- MID Multiple Ion Detection presentation of depth profiles.

Order numbers

SIMS mass spectrometer	
512 amu*, with 10 m cable set	
110 V	BG 573 267-T
220 V	BG 573 268-T
QUADSTAR™ 421 software	BN 882 085-T

* Both a model with an 8 mm mass filter and mass range up to 2048 amu as well as a model with a 16 mm mass filter and mass range to 340 amu are available on request.



Positive and negative SIMS spectra of oxidizing molybdenum, taken in an unconditioned high vacuum system.

BALZERS

Balzers Limited
FL-9496 Balzers
Principality of Liechtenstein
Tel (0755) 4 41 11
Telex 859 788 bva fl
Telefax (0755) 4 54 14

Balzers
8 Sagamore Park Road
Hudson, NH 03051-4914
Tel (603) 889-6888
Fax (603) 889-8573

Balzers High Vacuum Ltd.
Bradbourne Drive
Tilbrook
Milton Keynes, MK7 8AZ
Tel (09 08) 37 33 33
Fax (09 08) 37 77 76

Analýza povrchů

Hmotnostní spektrometrie jako iontová mikrosonda

(IMPMA- ion microprobe mass analysis),

- Iontový paprsek průměru 1-2 μm , optickým mikroskopem nasměrovaný na zvolenou plochu povrchu.
- Sekundární ionty: vysoká citlivost (10^{-15} g), vysoké rozlišení
- mapování povrchu (skenování iontovým paprskem)

Analýza povrchů

Mikrosonda podporovaná laserem

(LAMMA-laser assisted microprobe mass analysis)

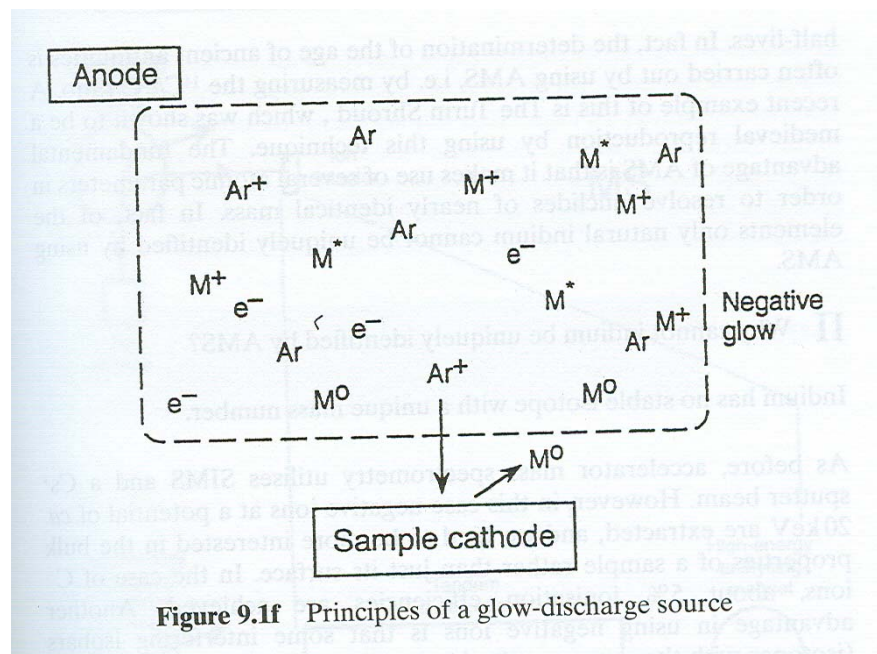
- Nd-YAG laser místo svazku iontů:
- 10^{11} Wcm^{-2} , průměr stopy několik μm – detekční limit až 10^{-20} g

Analýza povrchů

Hmotnostní spektrometrie s doutnavým výbojem

(GDMS-glow discharge mass spectrometry)

- Stejnoseměrné napětí aplikované na pevnou, vodivou látku
- Vytvoří se elektrony, které ionizují Ar. Vytvořené plazma Ar^+ se přitáhne ke vzorku (katoda) a odpráší atomy z povrchu.
- Typické parametry: cca 4 mA, 1,2 kV, 0,02 Pa

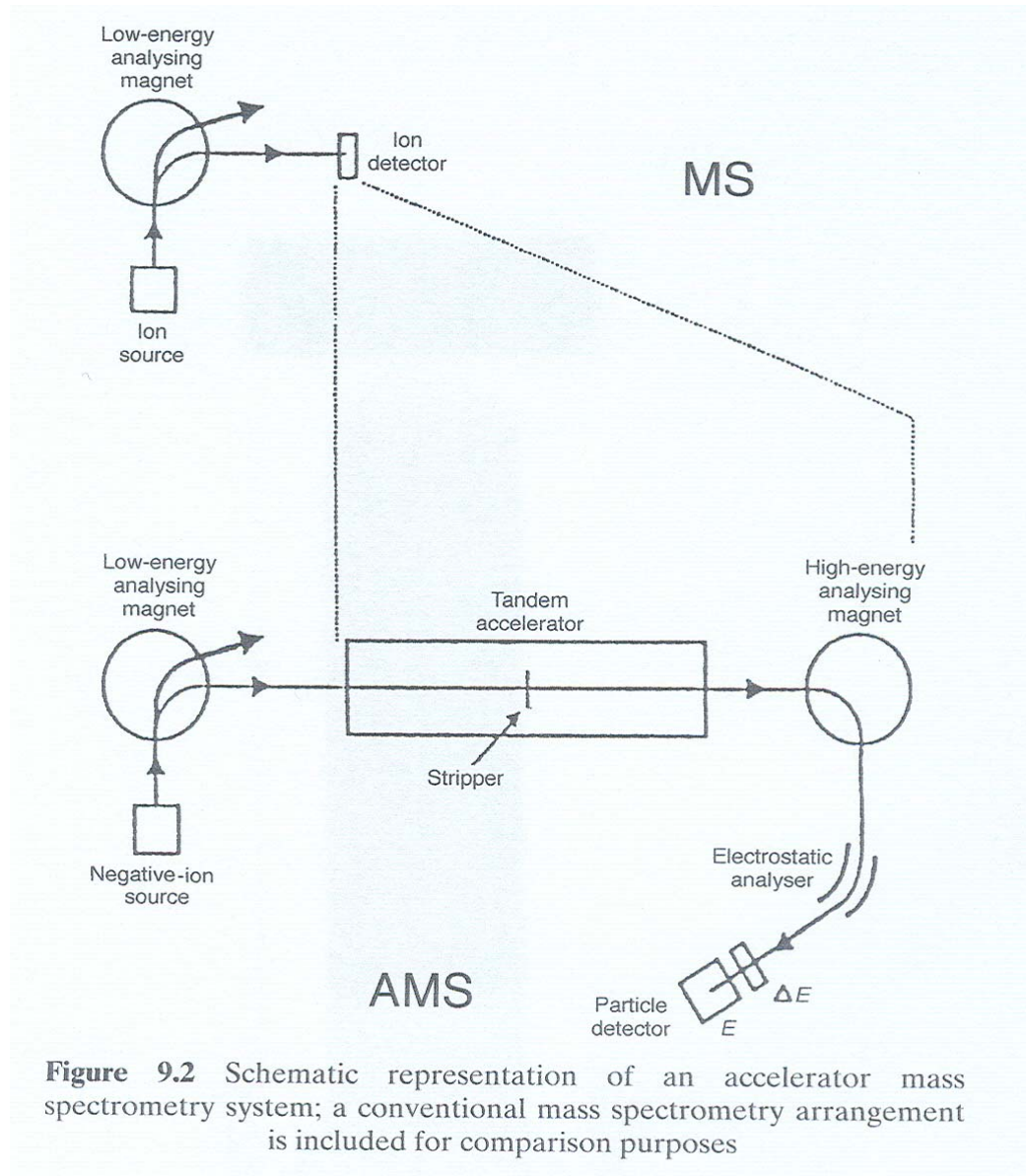


Analýza pevných vzorků - Urychlovač/MS - (AMS)

Ionizace: SIMS, Cs^+ - extrahují se negativní ionty (20kV)!- analýza nejen povrchu

- (pro C^- ionizační účinnost cca 5%)
- (nové možnosti separace iontů:
- N^- je nestabilní - lze odlišit ^{14}C od ^{14}N v datování
- Využití rozdílných parametrů atomů - rozlišení velmi blízkých izotopů, (ne In))
- Fokuse paprsku negativních iontů do magnetického separátoru a pak do van de Graaffova urychlovače - „tandemový urychlovač“: v centru urychlovače – grafitová folie (2-3 MV!): Molekulové ionty disociují, elektrony se odstraňují
- Separátor podle hodnoty náboje vybere stanovované ionty (např.: $^{13}\text{C}^{3+}$),
- které jsou urychlovány od centra urychlovače, fokusovány do analyzujícího magnetu (separátor) a detektoru.
- Paralelně se měří proud odpovídající ^{12}C (vsuvná Faradayova klec za separátorem)

Schéma zařízení pro AMS



Vlastnosti a užití AMS

- Výhoda užití měření poměru izotopů:
- eliminace fluktuací
- Citlivost: měří poměry koncentrace izotopů
- v hodnotách 10^{-15} (ppq) ($^{14}\text{C} / ^{12}\text{C}$)
- Užití: ^{14}C – datování, analýza meteoritů, arktické ledovce, těžké kovy v biomateriálu

Jiskrová hmotnostní spektrometrie - SSMS (spark source) – analýza povrchů pevných látek

- Problémy: reprodukovatelnost malá (nestabilní v čase) -
 - $\pm 20\%$ - s použitím fotografické integrace
 - velká plocha jiskry, vodivý vzorek=elektroda
 - 30 kV, rf-jiskra, vakuum
 - vícenásobně nabitě ionty-rozlišení separátoru min. 5000
 - jednodušší příprava vzorku, dynamický rozsah $\geq 10^6$
- ICP-MS vytlačila tuto techniku

■ **Otázky**

- 1. Vzorky pro mikrosondu s hmotnostní spektrometrií se obvykle uchovávají ve vakuu před analysou. Proč?
- 2. Proč je problémem analýza Ca v ICP-MS?
- 3. Jak lze zvýšit vodivost pevných vzorků?
- 4. Jaké procesy probíhají v laserem asistované hmotnostně spektrometrické mikrosondě?

- **Odpovědi**

- 1. Prevence kontaminace povrchu filmem nečistot
- 2. Interference s Ar^{40} iontem z plazmatu
- 3. Mísením s grafitovým práškem
- 4. Přímá ionizace laserem, povrchová ionizace, desorpce a ionizace pevné látky v oblasti okolí dopadu záření, iontově-molekulové reakce, reakce v plynné fázi, emise neutrálních částic a tvorba iontů