

## DOPLŇKOVÉ METODY V HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRII

## FRANTIŠEK TUREČEK

Department of Chemistry, University of Washington,  
Seattle, WA, USA  
turecek@uw.edu

Došlo 21.9.19, přijato 1.10.19.

**Klíčová slova:** akční spektroskopie, fotodisociace, excitované stavy, cytosin, guanin, adenin, thymín, uracil, synchrotron SOLEIL, iontově-molekulové komplexy, lineární urychlovač, elektronový laser FELIX, anharmonicitu vibračních módů, hmotnostní spektrometrie na urychlovačích, elementární analýza, isotopy, záporné ionty, primární ionty  $\text{Cs}^+$ , magnetický sektorový analyzátor, princip sekulární rovnováhy, isotop  $^{14}\text{C}$

## Obsah

1. Úvod
2. Akční spektroskopie iontů (Action Ion Spectroscopy, též Consequence Ion Spectroscopy)
  - 2.1. Jednofotonová akční spektroskopie iontů
  - 2.2. Vícefotonová akční spektroskopie iontů
  - 2.3. Kombinační akční spektroskopie
3. Elementární hmotnostní spektrometrie na urychlovačích (Accelerator Mass Spectrometry, AMS)
4. Závěr

## 1. Úvod

V tomto článku se budeme zabývat dvěma metodami, které doplňují možnosti využití hmotnostní spektrometrie (MS) ve zcela odlišných oblastech. Jednou z nich je strukturální analýza iontů v plynné fázi a druhou oblastí je elementární isotopová analýza. K oběma metodám existuje rozsáhlá literatura ve formě přehledných článků, jejichž odkazy jsou uvedeny na konci textu.

## 2. Akční spektroskopie iontů (Action Ion Spectroscopy, též Consequence Ion Spectroscopy)

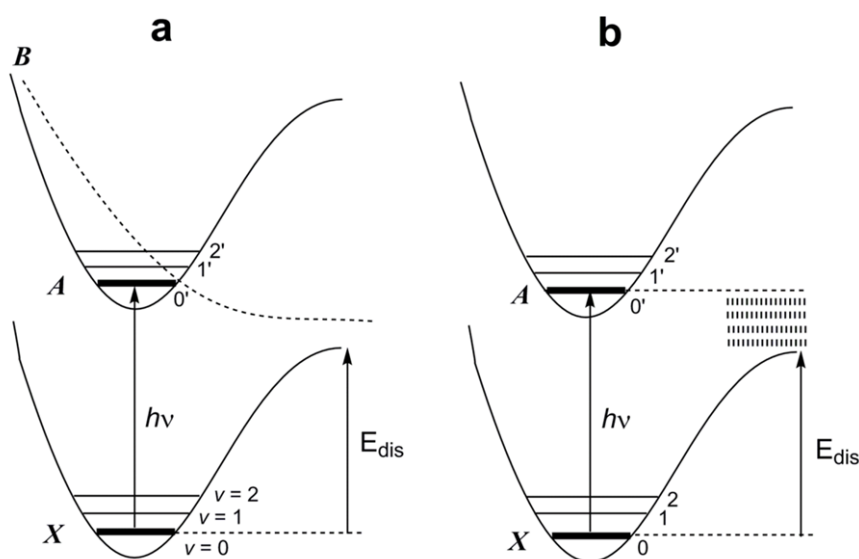
Informace obsažené v hmotnostním spektru jsou kódovány v binární soustavě poměru hmotnosti k náboji iontu ( $m/z$ ) a jeho intenzity. Ionový signál sám však neobsahuje žádné další informace týkající se chemické struktury iontu, z níž by se dalo usuzovat na strukturu ionizované látky. Hmotnostní spektrometrie tento nedostatek obchází pomocí interpretace spekter, v níž se využívá zobecněných

chemických principů iontové reaktivity. Například přítomnost dvou iontů ve spektru, jejichž  $m/z$  se liší o 15 jednotek, ukazuje na ztrátu methylové skupiny z iontu, z čehož se usuzuje na přítomnost methylu ve výchozí molekule. I když tento princip často platí, jsou i výjimky, např. v hmotnostním spektru cyklohexenu je pík ( $\text{M}-\text{CH}_3$ ), ač molekula žádný methyl nemá<sup>2</sup>. Na rozdíl od hmotnostní spektrometrie (MS) využívají spektroskopické metody k přiřazení funkčních skupin specifických chromoforů, které se vyznačují absorpcí elektromagnetického záření o charakteristické vlnové délce, takže jejich přítomnost lze odhalit z absorpčního spektra. Příkladem je absorpce karbonylových skupin ( $\text{C}=\text{O}$ ) v infračervené oblasti v rozmezí zhruba  $1650\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ . Sloučením MS se spektroskopii by bylo tedy možné charakterizovat chromofory v iontech a tím určit přítomné funkční skupiny. Naneštěstí je měření absorpčních spekter iontů v plynné fázi prakticky nemožné, jak plyne z krátkého výpočtu. Uvážíme-li iontovou past obsahující typicky maximálně 25 000 iontů odpovídající koncentraci  $4,15 \cdot 10^{-17}\text{ mol/l}$ , pak i při dobrém chromoforu o molární absorptivitě  $\epsilon = 10\,000$  a optické dráze dané rozměry iontové pasti (1 cm) by byla absorbance iontů pouze  $4,15 \cdot 10^{-13}$ , tedy prakticky neměřitelná. Namísto měření absorbance se v MS používá jiný přístup založený na tzv. akční spektroskopii. Akční spektroskopie je tandemová fotodisociační metoda, v níž se sleduje fragmentace vybraného iontu v závislosti na vlnové délce elektromagnetického záření. Absorpce fotonu vede k excitaci iontu, která má za následek rozpad spojený se změnou  $m/z$ . Měření je tedy založeno na vysoce účinné detekci vzniklého fragmentového iontu oproti nízkému pozadí. Existuje několik typů akční spektroskopie, které se navzájem liší podstatou, provedením a přístrojovým zařízením<sup>1</sup>.

### 2.1. Jednofotonová akční spektroskopie iontů

Tyto metody využívají absorpce jednoho fotonu, jehož energie,  $E = h\nu$ , kde  $h$  je Planckova konstanta a  $\nu$  je frekvence záření, převyšuje disociační energii iontu ( $E_{\text{dis}}$ ). Diagram energie potřebné k disociaci iontu je znázorněn na obr. 1. Vzhledem k tomu, že disociační energie vazeb v kovalentně vázaných iontech jsou většinou větší než  $200\text{ kJ mol}^{-1}$ , vyžaduje jednofotonová akční spektroskopie iontů excitaci pomocí záření v ultrafialové či viditelné oblasti spektra (UV-VIS). Převod vlnové délky ( $\lambda$ , nm) na energii fotonu v elektronvoltech (eV) provedeme pomocí vzorce  $E\text{ (eV)} = 1239,85/\lambda\text{ (nm)}$ . Převod vlnočtu ( $\sigma = 1/\lambda$ ) na energii fotonu je  $E\text{ (eV)} = 8065,51\text{ cm}^{-1}$  a dále pak  $1\text{ eV} = 96,485\text{ kJ mol}^{-1}$ . Požadavek vysoce energetického fotonu lze ale obejít při fotodisociaci slabě vázaných iontově-molekulových komplexů, jak bude popsáno později.

Diagramy na obr. 1 znázorňují excitaci ze základního stavu iontu do excitovaného stavu. Obr. 1a představuje excitaci ze základního elektronického stavu iontu ( $X$ ) do prvního excitovaného stavu ( $A$ ). V tomto případě se potenciálová plocha excitovaného stavu protíná s plochou jiného



Obr. 1. Křivky potenciální energie pro elektronickou excitaci a disociaci

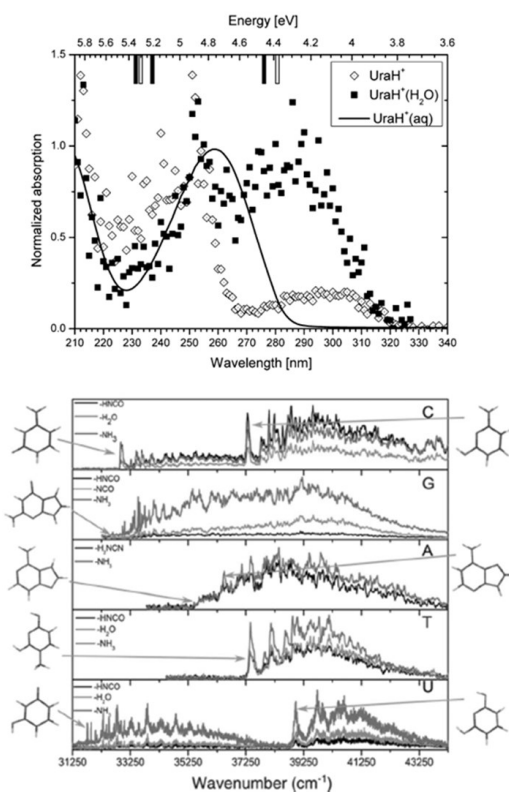
excitovaného stavu (*B*), který je repulzní. Neadiabatickým přechodem ze stavu *A* do stavu *B* se excitovaný ion dostane na repulzní potenciálovou plochu a rozpadne se během jedné vibrace. Typickým příkladem takové excitace a rozpadu je fotodisociace aromatických jodidů, např. v jodtyrosinu. Absorbci ultrafialového fotonu dojde k excitaci aromatického systému typu  $\pi \rightarrow \pi^*$ , který je následován přechodem do disociačního stavu  $\pi^* \rightarrow \sigma^*$  a rychlým štěpením vazby C–I se ztrátou atomu jodu. K absorpci fotonu v aromatických iontech dochází při vlnových délkách  $< 300$  nm, což poskytuje dostatečnou energii ( $> 400$  kJ mol<sup>-1</sup>) ke štěpení vazby C–I.

Obr. 1b představuje excitaci ze základního elektronického stavu iontu (*X*) do prvního excitovaného stavu (*A*), který je v tomto případě vazný. Elektronická excitační energie uložená ve stavu *A* je neadiabaticky převedena na vibrační excitaci stavu *X*, která vede k jeho disociaci. Zde je třeba zdůraznit rozdíl mezi fotochemií iontů v plynné fázi a fotochemií v kondenzované fázi (roztok, kapalina, pevná matrice). V plynné fázi za podmínek typických pro MS je doba života excitovaného elektronického stavu ( $\leq 1$  ns) mnohem kratší než je doba mezi srážkami s okolním plynem ( $\geq 1$   $\mu$ s). Za těchto podmínek není excitační energie stavu *A* rozptýlena do okolí (jako je tomu v kondenzované fázi), ale je zachována v iontu ve formě vibrační excitace stavu *X*. Jak je vidno z obr. 1b, k fotodisociaci může dojít pouze tehdy, je-li  $h\nu > E_{\text{dis}}$ . Zároveň však musí platit, aby disociace byla srovnatelně rychlá či rychlejší než rozptyl vibrační energie srážkami s okolním plynem nebo než rychlost ztráty energie vyzářením infračerveného fotonu. Kinetika disociace iontů vyjádřená rychlostní konstantou *k* musí také být srovnatelná s experimentálně danou dobou života iontů v hmotnostním spektrometru ( $\tau$ ) tak, že platí  $k \approx 1/\tau$ . To platí zvláště pro měření na spektrometrech s průletovými analyzátoři.

Uveďme si několik příkladů.

Akční spektra získaná fotodisociací protonovaných nukleových bází jsou uvedena na obr. 2. Horní panel ukazuje dvě absorpční maxima iontu protonovaného uracilu, který byl připraven ionizací elektrosprejem a izolován při laboratorní teplotě<sup>3</sup>. Charakteristická je šířka obou absorpčních pásů, která činí asi 30 nm (0,43 eV). To je způsobeno překryvem excitací z různých vibračních a rotačních stavů základního singletového stavu iontu (*S*<sub>0</sub>) do různých vibračně-rotačních stavů excitovaných elektronických stavů (*S*<sub>1</sub> a *S*<sub>2</sub>). Přechody probíhající mezi různými vibračně-rotačními stavy, např.  $0 \rightarrow 0'$ ,  $1 \rightarrow 0'$ ,  $0 \rightarrow 1'$  atd., nejsou za těchto podmínek rozlišeny a splývají v široký absorpční pás. Dolní panel na obr. 2 ukazuje akční spektra iontů protonovaných nukleových bází, které byly před fotodisociací vychlazeny v iontové pasti na 30–50 K (cit.<sup>4</sup>). Názorné je srovnání akčních spekter studeného iontu protonovaného uracilu na nejspodnějším spektru označeném U se spektrem termálního iontu na horním panelu obr. 2. Akční spektrum chladného iontu rovněž ukazuje dva široké pásy pro elektronické excitace  $S_0 \rightarrow S_1$  a  $S_0 \rightarrow S_2$ , které jsou však částečně rozlišeny do píků vibračních přechodů. Šířka pásů všech přechodů je navíc ovlivněna dobou života excitovaného stavu v důsledku principu neurčitosti. Povšimněme si různých škál spekter, kde energie absorbovaných fotonů probíhá opačným směrem; škála vlnových délek probíhá od nejvyšší energie k nejnižší, zatímco škála vlnocít probíhá od nejnižší energie k nejvyšší.

Akční spektra iontů v UV-VIS oblasti vyžadují intenzivní laditelné zdroje světla. Jedním takovým zdrojem je synchrotronové záření, které dosahuje do velmi krátkých vlnových délek a fotonových energií větších než 10 eV. Synchrotronové záření je však polychromatické a příslušný pás vlnových délek pro fotoexcitaci musí být vyčleněn monochromátorem. Hlavní nevýhodou experimentů využí-



Obr. 2. Horní panel: Akční UV spektrum fotodisociace iontu protonovaného uracilu a jeho komplexu s molekulou vody<sup>3</sup>. Spodní panel: Akční UV spektra fotodisociace iontů nukleových bází cytosinu, guaninu, adeninu, thyminu a uracilu měřené za teplot 30–50 K (z archívu autora<sup>4</sup> s jeho svolením)

vajících synchrotronového záření je omezená dostupnost synchrotronu, kde je třeba měření plánovat dlouho dopředu. Nejznámějším takovým zařízením v Evropě je francouzský synchrotron SOLEIL. Pro fotoexcitace a akční spektroskopii iontů v ultrafialové a viditelné oblasti spektra se rozmohlo použití kompaktních laditelných laserů. Jedním z běžně používaných systémů je pulzní diodový laser, např. neodymem dopovaný yttrium-hliníkový granát (Nd:YAG) poskytující základní čáru o vlnové délce 1064 nm kromě asi 35 dalších méně intenzivních vlnových délek. Pro řadu aplikací je frekvence základní čáry nejprve umnožena pomocí nelineární optiky a získaný paprsek s vyšší harmonickou frekvencí je rozdělen na tzv. signální a zbytkový (idler) v krystalu optického parametrického oscilátoru či zesilovače (OPO). Frekvence signálního paprsku je laditelná nastavením krystalu a může být dále kombinovaná pomocí nelineární optiky s vyšší harmonickou frekvencí, tak aby se získala požadovaná frekvence excitačního paprsku. Detaily o použití laserů ve spektroskopii iontů lze nalézt v cit.<sup>1</sup>.

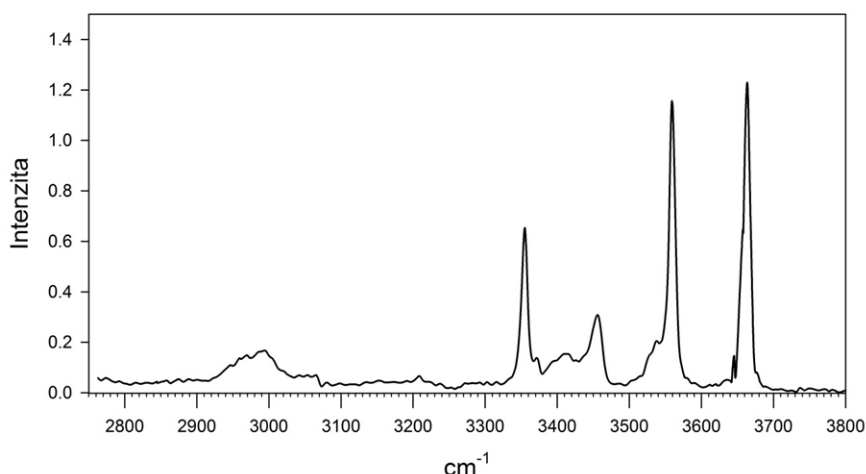
Jednofotonová akční spektroskopie iontů v infračervené oblasti je uskutečnitelná za zvláštních podmínek. Cílem je jednak získat informace o absorpčních pásech funkčních skupin, které mají charakteristické frekvence (P=O, C=O, CN, OH, NH apod.) a mohou být takto stano-

veny v iontech v plynné fázi za účelem určení struktury, jakož i zmapovat absorpci v oblasti „otisků prstů“ (fingerprint region) za účelem identifikace. Absorpce jednoho infračerveného fotonu zpravidla nepostačuje k disociaci vazeb v iontu, uvážíme-li, že např. vlnčet vibrace OH skupiny ( $3600\text{ cm}^{-1}$ ) poskytuje energii fotonu o pouhých  $43\text{ kJ mol}^{-1}$ . To lze řešit „předehřátím“ iontu zářením z infračerveného laseru na frekvenci, která je vzdálena od oblasti zkoumané spektroskopicky. Ozařování takovým „ohřívákem“, např. fundamentální frekvencí laseru  $\text{CO}_2$  při  $934\text{ cm}^{-1}$ , je kombinováno s excitací laditelným laserem v oblasti  $2800\text{--}3800\text{ cm}^{-1}$ . Jako příklad uvedme akční spektrum dvakrát nabitého peptidového iontu ( $\text{Ala-pSer-Ala-Ala-Arg} + 2\text{H}^+$ )<sup>2+</sup>, který při excitaci snadno ztrácí kyselinu fosforečnou<sup>5</sup>. Tento přechod z  $m/z$  278 na  $m/z$  229 byl použit k záznamu akčního spektra. Spektrum je uvedeno na obr. 3 a ukazuje absorpční pásy O-H, N-H a C-H vibrací<sup>5</sup>.

Jiný způsob, jak získat infračervené akční spektrum, využívá nevazebných komplexů iontů, které lze štěpit absorpcí fotonů o nízkých energiích. Předmětem studia mohou být samotné komplexy, jako např. u klastrů vody či jiného rozpouštědla s ionty kovů nebo organickými ionty, kde lze spektroskopicky rozlišit molekuly ve vnitřní a vnější koordinační sféře iontu<sup>6</sup>. K získání akčních spekter organických iontů lze použít tzv. značení. To spočívá ve vytvoření komplexu daného iontu s neutrální částicí, která nemá velký vliv na vibrace iontu. Nejčastěji používanými neutrálními částicemi jsou vzácné plyny (Ne, Ar), nebo molekuly  $\text{H}_2$  nebo  $\text{D}_2$ . Čím slaběji je taková částice vázána na ion, tím méně ovlivní absorpce chromoforů v iontu a získané spektrum se bude blížit absorpčnímu spektru volného iontu. Na druhé straně ovšem je velmi obtížné takto slabě vázané ionty připravit a uchovat, což vyžaduje buď chlazení komplexů v supersonické expanzi, nebo jejich přípravu nabalením neutrálních částic plynu na velmi chladný ion chycený v iontové pastí udržované na teplotě několika málo kelvinů<sup>7</sup>.

## 2.2. Vícefotonová akční spektroskopie iontů

K disociaci kovalentních vazeb v iontech je zapotřebí absorpce mnoha infračervených fotonů. To naráží na dvě potíže, z nichž jedna je zásadní a druhá technická. Technicky není snadné vyprodukovat pulzy infračervených fotonů s laditelnou frekvencí a vysokou intenzitou, která je nutná k současné absorpci mnoha fotonů. Zdrojem takových pulzů je laser používající záření produkované urychlenými elektrony, tzv. free-electron laser (FEL). V tom se pulzně generují svazky elektronů, které jsou v lineárním urychlovači urychleny na vysokou kinetickou energii, např.  $25\text{--}45\text{ MeV}$  u nizozemského laseru FELIX<sup>8</sup>. Elektronový svazek probíhá systémem magnetů, kde dochází vlivem pole k mnohonásobnému ohybu svazku, tzv. vlnění, které má za následek emisi nekoherentního synchrotronového záření. To sestává z několika tisíc tzv. mikropulzů, které mají šířku  $0,3\text{--}5\text{ ps}$  a následují  $1\text{ ns}$  po sobě. Tato sekvence tvoří tzv. makropuls o energii  $100\text{ mJ}$ , který je opakovan s frekvencí  $10\text{ Hz}$ . FELIX produkuje infračervené záření v rozmezí vlnočtů  $40\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$ , které se využívá k měření akčních spekter v oblasti „fingerprintu“. Laserový paprsek je vyveden vakuovým systémem a pomocí speciálních zrcátek přiveden do iontové pastí, kde se pou-



Obr. 3. Jednofotonové akční infračervené spektrum iontu  $(\text{Ala-pSer-Ala-Ala-Arg} + 2\text{H})^{2+}$  (z archívu autora<sup>5</sup> s jeho svolením)

živá k fotodisociaci. Podobným zařízením je francouzský elektronový laser CLIO. Náklady na stavbu a provoz laserů FEL jsou značné a pohybují se v řádech desítek milionů EUR. Tyto lasery jsou proto užívány mnoha výzkumnými skupinami, které musí měření plánovat několik měsíců až rok dopředu.

Použití vícefotonové excitace k disociaci iontů naráží na principiální potíž zvanou také „anharmonická past“. Ta je způsobena anharmonicitou vibračních přechodů, kde vlivem asymetrie potenciálového povrchu nejsou rozdíly v energetických hladinách po sobě jdoucích vibračních stavů stejné, nýbrž se zmenšují, tak že  $\Delta E(0 \rightarrow 1) > \Delta E(1 \rightarrow 2) > \Delta E(2 \rightarrow 3)$ , atd. To má za následek, že pokud bychom chtěli dodat energii potřebnou k disociaci postupnou adicí fotonů o též energii, řekněme  $E = h\nu = \Delta E(0 \rightarrow 1)$ , dojde už při relativně nízkých excitacích k ztrátě rezonance, takže  $E = h\nu \neq \Delta E(n \rightarrow n+1)$ , absorpce fotonu se zastaví a nedojde k disociaci. Naštěstí existuje únik z takové anharmonické pasti. Ten je dán velmi krátkou dobou života izolovaných excitovaných stavů většiny vibračních módů, kdy se excitační energie nabytá absorpcí fotonu velmi rychle rozptyluje anharmonickým propojením (kaplinkem) do ostatních vibračních módů. V důsledku toho dochází k deexcitaci daného módu zpět do základního stavu v době kratší než 1 ns, to jest ještě před příchodem dalšího fotonu, který pak je absorbován rezonančně do fundamentálního přechodu  $E = h\nu = \Delta E(0 \rightarrow 1)$ . Je zřejmé, že tímto postupným ohříváním iontu se snižuje populace základního vibračního stavu, ale tento efekt není kritický. Naproti tomu vibrační módy, které nejsou silně kaplovány, vykazují slabou tendenci k fotodisociaci, což může mít značný vliv na relativní intenzitu absorpčních pásů v akčních spektrech. Např. vazebné vibrace C=O skupin, které jsou spojeny se změnou dipólového momentu, a proto dávají velmi intenzivní absorpční pásy, se jen slabě projevují v akčních spektrech. Obecně platí, že intenzity týchž pásů měřených v absorpčních jednofotonových a akčních multifotonových spektrech nejsou navzájem spolehlivě korelovatelné.

Velmi značná anharmonicitu vibračního módu může mít silně negativní vliv na absorpci a intenzitu pásů v akčním spektru. K tomu dochází u vibračních módů spojených s velmi velkou amplitudou jaderného pohybu, např. u vibrací N-H a O-H vazeb, které jsou součástí silných vodíkových můstků<sup>9</sup>. Vodíková vazba může vést k tak silné deformaci potenciálové plochy, že i excitace základního přechodu je silně anharmonická a příslušný pás je rozmyt do mnoha přechodů v širokém frekvenčním pásmu a o nízké intenzitě. Příkladem je spektrum na obr. 3, které ukazuje jen 6 až 7 rozlišených pásů valenčních vibrací N-H a O-H vazeb, přestože tento ion má 15 základních módů N-H a O-H vibrací. Chybějící pásy jsou rozprostřeny ve spektru v intervalu 2900–3550  $\text{cm}^{-1}$ .

### 2.3. Kombinační akční spektroskopie

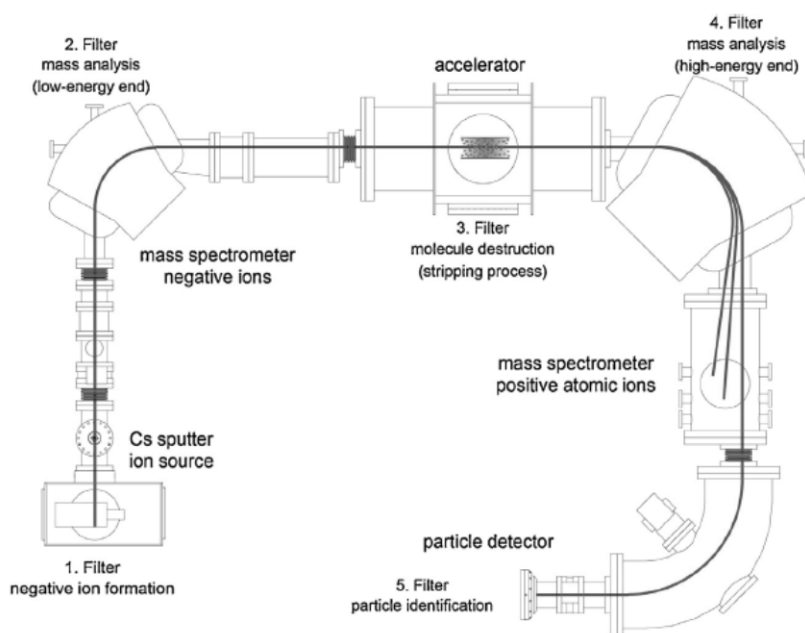
Zajímavou aplikací akční spektroskopie iontů je kombinace ultrafialové a infračervené excitace. Tato metoda spočívá ve fotodisociaci iontů absorpcí ultrafialového fotonu, takže zkoumaný ion musí mít vhodný chromofor. Fotodisociace je prováděna s velmi chladnými ionty o teplotě pod 10 K, takže ve spektru jsou rozlišeny pásy vibračních stavů (viz spektra na obr. 2). Frekvence ultrafialového laseru je naladěna na absorbující pás iontu v základním vibračním stavu a současně jsou ionty ozařovány infračerveným laserem s proměnnou frekvencí. Dojde-li k absorpci infračerveného fotonu a vibrační excitaci  $0 \rightarrow 1$ , snižuje se populace iontů v rezonančním stavu ultrafialové excitace a intenzita fotodisociačního produktu klesne. To se ve spektru projeví jako obrácený pík (dip) na frekvenci, která je rezonanční se základní frekvencí daného vibračního módu<sup>10</sup>.

### 3. Elementární hmotnostní spektrometrie na urychlovačích (Accelerator Mass Spectrometry, AMS)

Elementární analýza byla vůbec první aplikací hmotnostní spektrometrie a zavedená Astonem, který objevil první isotop  $^{22}\text{Ne}$  a posléze mnoho isotopů dalších prvků. Isotopová analýza a dělení isotopů v hmotnostním spektrometru bylo technickým triumfem válečného výzkumu v projektu Manhattan, který vedl k oddělení isotopu  $^{235}\text{U}$  a konstrukci první atomové bomby<sup>11</sup>. Speciální moderní aplikací hmotnostní spektrometrie je kvantitativní analýza velmi málo zastoupených isotopů prvků, která se využívá k datování materiálů v archeologii, paleontologii, ale i k isotopové analýze materiálů současných<sup>12</sup>. Zcela zásadní výhodou hmotnostní spektrometrie je to, že může současně analyzovat isotopy jak stabilní, tak i radioaktivní. Zvláště významná je analýza radioisotopů s dlouhými poločasy rozpadu, jako jsou  $^{14}\text{C}$  (5700 let),  $^{10}\text{Be}$  ( $1,39 \cdot 10^6$  let),  $^{26}\text{Al}$  ( $7,2 \cdot 10^5$  let),  $^{36}\text{Cl}$  ( $3,0 \cdot 10^5$  let),  $^{41}\text{Ca}$  ( $9,9 \cdot 10^4$  let) a  $^{129}\text{I}$  ( $1,57 \cdot 10^7$  let). Analýza málo zastoupených isotopů ovšem vyžaduje velmi značný dynamický rozsah, přesahující 12 řádů, který není dosažitelný na běžných spektrometrech a vyžaduje speciální přístroje. Hmotnostní spektrometrie s urychlovačem iontů, dále jen AMS, byla zavedena v r. 1977 pro analýzu radioisotopu  $^{14}\text{C}$  (cit.<sup>13,14</sup>). Hlavní předností AMS je to, že (a) dosahuje velmi účinné ionizace analytu, (b) potlačuje molekulární i atomové ionty, které jsou isobarické s ionty analytu a (c) používá spolehlivou normalizaci iontových intenzit ke kvantitativní analýze.

Společným rysem větší techniky AMS je tvorba záporných iontů analyzované látky ve velmi účinném iontovém zdroji používajícím primární ionty  $\text{Cs}^+$ , kterými se bombarduje vzorek, např. uhlík, který je v pevné fázi (objekt 1 na obr. 4). Dopadem iontů  $\text{Cs}^+$  se uvolňují sekun-

dární elektrony, které jsou zachyceny rozptýlenými atomy analytu, vzniklé záporné ionty analyzované látky jsou vytaženy ze zdroje elektrostatickým polem a urychleny na kinetické energie řádu 10–100 keV. Tvorba a oddělení záporných iontů je už samo o sobě účinným separačním procesem, neboť řada kontaminujících isotopů (např.  $^{14}\text{N}$ ) i molekul nedává stále záporné ionty. Ionty vytažené ze zdroje jsou po urychlení zhruba odděleny magnetickým sektorovým analyzátozem (objekt 2 na obr. 4). Ke kvantitativní analýze je třeba měřit iontové proudy jak minoritního, tak i více zastoupeného isotopu, které musí projít magnetickým analyzátozem. Proto je iontový zdroj provozován pulzně a pole magnetu je střídavě nastaveno tak, aby byly propouštěny záporné ionty buď minoritního, nebo referenčního isotopu. Pulzní iontový paprsek, který prošel prvním magnetem, je pak urychlen vysokým napětím na kinetické energie v rozmezí 200 keV až 25 MeV. Velikost urychlení závisí na typu AMS a je specifická pro daný přístroj. Např. kompaktní AMS pracují s napětími pod 1 MeV, AMS střední třídy užívají napětí v rozmezí 1–3 MeV a velké AMS pracují při 5–10 MeV. Přístroje používající ionty o velmi vysoké kinetické energii produkují po dopadu iontů rentgenové záření a musí být umístěny v bezpečně izolovaném prostoru, což výrazně zvyšuje náklady na instalaci. Urychlené záporné ionty procházejí srážkovou komorou naplněnou vzácným plynem (He, Ar), kde dojde k odtržení několika elektronů za vzniku mnohonásobně nabitých kladných iontů (objekt 3 na obr. 4). Alternativně mohou vstupující záporné ionty procházet velmi tenkou grafitovou fólií, kde dojde k odtržení elektronů. Vzniklé kladné ionty jsou pak při výstupu dále urychleny potenciálem srážkové komory. Přeměna záporných iontů na vícekrát nabitě kladné ionty má za následek dokonalé oddělení molekulárních iontů, které se beze zbytku rozpadnou a nejsou dále detegovány. Kladné ionty vystupující



Obr. 4. Schéma hmotnostního spektrometru s urychlovačem. Z archívu autora<sup>12</sup> s jeho svolením.

ze srážkové komory jsou pak rozděleny magnetickým analyzátozem (objekt 4 na obr. 4) a fokusovány na detektor (objekt 5 na obr. 4). K detekci iontů o velmi vysoké kinetické energii se používají plynové ionizační komůrky nebo křemíkové detektory, které mají vysokou účinnost a jsou schopny odlišit interference tzv. temných proudů (dark current) způsobené dopadem kosmických paprsků. Měření obsahu vzácných izotopů dosahují přesnosti až 3–5 promile, která je omezena čítací (Poissonovou) statistikou signálu detektoru. Takto vysoká mez přesnosti vyžaduje nasbírat desítky až stovky tisíc iontových pulsů a závisí tedy na obsahu vzácného izotopu ve vzorku, jakož i na velikosti vzorku.

Měření obsahu radioisotopů a jeho interpretace jsou postaveny na tzv. principu sekulární rovnováhy<sup>15</sup>. Ten předpokládá, že rychlost tvorby ( $P$ ) radioisotopu jadernou reakcí za účasti kosmických paprsků je dlouhodobě rovna rychlosti jeho rozpadu ( $\alpha N$ ), z čehož plyne rovnovážná (současná) koncentrace radioisotopu ( $N$ ), kde  $t_{1/2}$  je poločas rozpadu.

$$\begin{aligned} dN/dt &= -\alpha N + P = 0 \\ N &= 1,443P \cdot t_{1/2} \end{aligned}$$

Nejčastější aplikací AMS je měření obsahu izotopu  $^{14}\text{C}$ , který za rovnovážných podmínek činí podíl  $1,2 \cdot 10^{-12}$  veškerého uhlíku na Zemi. Isotop  $^{14}\text{C}$  je tvořen jadernou reakcí atmosférického dusíku:  $^{14}\text{N} + n \rightarrow ^{14}\text{C} + p$ , a je cirkulován převážně ve formě  $\text{CO}_2$ . Fosilní uhlík nepodléhá rovnovážnému obnovování izotopu  $^{14}\text{C}$ , jehož obsah klesá radioaktivním rozpadem s poločasem  $5700 \pm 30$  let. Konkurenční jaderná reakce záchytu neutronu  $^{13}\text{C} + n \rightarrow ^{14}\text{C}$  má malý průřez ( $\sigma = 1,4$  mBarn), což spolu s nízkým zastoupením izotopu  $^{13}\text{C}$  (1,1 %) způsobuje, že fosilní  $^{14}\text{C}$  se neobnovuje. Velmi přesná měření obsahu  $^{14}\text{C}$  ve formě poměru k obsahu  $^{12}\text{C}$  nebo  $^{13}\text{C}$  tedy umožňují datování fosilního vzorku od doby, kdy byl vyloučen ze sekulární rovnováhy. Pro přesná měření je třeba provést korekci na frakcionaci izotopů uhlíku jak v přírodních procesech, tak i ve spektrometru. K určení absolutního stáří vzorku pomocí zbytkového zastoupení  $^{14}\text{C}$  je dále potřeba znát časovou závislost obsahu  $^{14}\text{C}$  v atmosféře. To se stanoví měřením obsahu  $^{14}\text{C}$  ve fosilních předmětech o známém stáří, jako jsou léta v kmenech stromů, korály a stalagmity. Pro fosilie starší než 12 000 let se ke kalibraci používají jezerní sedimenty. Datování uhlíkem  $^{14}\text{C}$  lze provádět až 50 000 let nazpět a je využíváno v archeologii a paleontologii. Pro datování posledních 4500 let se uvádí přesnost asi  $\pm 50$  let, i když jsou známy výjimky, jako např. výbuch sopky Santorini, kde se datování uhlíkem  $^{14}\text{C}$  liší od historických záznamů o více než 100 let. Jednou z mnoha zajímavých aplikací je datování nástupu moderního člověka ve střední Evropě a jeho vztah k tam sídlícím Neandertálcům. Toto datování používá vzorky kostního kolagenu, který je někdy značně degradován do míry, která znemožňuje analýzu. Podrobný přehled aplikací AMS z poslední doby byl shromážděn Kutcherou<sup>15</sup>.

#### 4. Závěr

Speciální metody popsané v tomto článku podstatně rozšiřují použití hmotnostní spektrometrie v kvalitativní a kvantitativní analýze. Spektroskopie iontů přidává další dimenzi k analýze struktury, a to jak u primárních iontů získaných ionizací analyzované látky, tak i u fragmentových iontů. Spektroskopie iontů jako doplňková metoda se stává dostupnou díky vývoji poměrně levných laboratorních laserů, které lze aplikovat poměrně nenáročnými modifikacemi komerčních hmotnostních spektrometrů. Elementární hmotnostní spektrometrie na urychlovačích dnes představuje základní a nenahraditelnou metodu přesné kvantitativní analýzy málo zastoupených stálých i radioaktivních izotopů. Technický rozvoj v této oblasti vedl ke značnému zmenšení spektrometrů a snížení nákladů na jejich provoz, což umožnilo komerční využití a rozšíření této technologie.

#### LITERATURA

1. *Laser Photodissociation and Spectroscopy of Mass-Separated Biomolecular Ions*, (Polfer N. C., Dugourd P., ed.), Springer, Cham 2013.
2. McLafferty F. W., Tureček F.: *Interpretation of Mass Spectra*, 4. vyd. University Science Books, Mill Valley 1993.
3. Pedersen S. O., Byskov C. S., Tureček F., Nielsen S. B.: *J. Phys. Chem. A*, 118, 4256 (2014).
4. Berdakin M., Feraud G., Dedonder-Lardux C., Jouvett C., Pino G. A.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 16, 10643 (2014).
5. Tureček F., Moss C. L., Pikalov I., Pepin R., Golyuz K., Polfer N. C., Bush M. F., Brown J., Richardson K.: *Int. J. Mass Spectrom.* 354-355, 249 (2013).
6. Nizkorodov S. A., Dopfer O., Ruchti T., Meuwly M., Maier J. P., Bieske E. J.: *J. Phys. Chem.* 99, 17118 (1995).
7. Kamrath M. Z., Garand G., Jordan P. A., Leavitt C. M., Wolk A. B., Van Stipdonk M. J., Miller S. J., Johnson M. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 133, 6440 (2011).
8. Valle J. J., Eyler J. R., Oomens J., Moore D. T., van der Meer A. F. G., von Helden G., Meijer G., Hendrickson C. L., Marshall A. G., Blakney G. T.: *Rev. Sci. Instrum.* 76, 023103 (2005).
9. DeBlase, A. F., Bloom S., Lectka T., Jordan K. D., McCoy A. B., Johnson M. A.: *J. Chem. Phys.* 139, 024301/1-9 (2013).
10. Rizzo T. R., Stearns J. A., Boyarkin O. V.: *Int. Rev. Phys. Chem.* 28, 481 (2009).
11. Yergey A. L., Yergey A. K.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 8, 943 (1997).
12. Synal H.-A.: *Int. J. Mass Spectrom.* 349-350, 192 (2013).
13. Bennett C. L., Beukens R. P., Clover M. R., Gove H. E., Liebert R. B., Litherland A. E., Purser K. H., Sondheim W. E.: *Science* 198, 508 (1977).
14. Nelson D. E., Korteling R. G., Stott W. R.: *Science* 198, 507 (1977).
15. Kutchera W.: *Int. J. Mass Spectrom.* 349-350, 203 (2013).

**F. Tureček** (*Department of Chemistry, University of Washington, Seattle, WA, USA*): **Auxiliary Methods in Mass Spectrometry**

This chapter deals with two special auxiliary methods used in mass spectrometry. The first one is photodissociation action spectroscopy in the infrared, visible, and ultraviolet region. Discussed are methods utilizing single-photon and multiphoton excitation schemes that are illustrated by example spectra. Combination action spectroscopy methods such as tagging with atoms or molecules and dip spectroscopy are briefly mentioned. The other part introduces the basics of accelerator mass spectrometry. Instrumentation methods for ion formation, charge stripping, and detection are described. The applications are illustrated by radiocarbon dating.

Keywords: action spectroscopy, photodissociation excited states, cytosine, guanine, adenine, thymine, uracil, synchrotron SOLEIL, ion-molecule complexes, linear accelerator, free-electron laser FELIX, anharmonic vibrational modes, accelerator mass spectrometry, elemental analysis, isotopes, negative ions, Cs<sup>+</sup> primary ions, magnetic sector analyzer, secular equilibrium principle, <sup>14</sup>C isotope