

Spectrometrische analysetechnieken

Dr. ir. M.T.C. de Loos-Vollebregt

oplage 2009

Syntax Media – Arnhem

© 2009 Syntax Media – arnhem

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Voor zover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van artikel 16b Auteurswet 1912 j° het Besluit van 20 juni 1974, Stb. 351, zoals gewijzigd bij Besluit van 23 augustus 1985, Stb. 471 en artikel 17 Auteurswet 1912, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoedingen te voldoen aan de Stichting Reprorecht (Postbus 3060, 2130 KB Hoofddorp). Voor het overnemen van (een) gedeelte(n) uit deze uitgave in bloemlezingen, readers en andere compilatiewerken (artikel 16 Auteurswet 1912) dient men zich tot de uitgever te wenden.

ISBN 978 90 77423 71 4

NUR 123/924

Grafische vormgeving en omslagontwerp: AlphaZet prepress

Woord vooraf

De analytische spectrometrie omvat zowel de atoomspectrometrie als de molecuulspectrometrie. In 1969 verscheen in de Heron-reeks een eerste boek op dit gebied met de titel *Analytische Spectrometrie*, geschreven door dr. L. De Galan (Agon Elsevier). Daarin werden diverse spectrometrische analysetechnieken behandeld, die gebruikmaken van het elektromagnetische spectrum, van gammastraling tot radiogolven. Deze analysetechnieken hebben sindsdien een snelle ontwikkeling doorgemaakt. Dit heeft ertoe geleid dat dr. S.M. van der Kerk en dr. W. Heerma in 1990 voor de Heron-reeks een apart boek schreven over molecuulspectrometrie met de titel *Inleiding tot de Molecuulspectroscopie* (Bohn, Scheltema & Holkema). Daarnaast verscheen er een door mij geschreven boek met de titel *Atoomspectrometrie* (Bohn Stafleu Van Loghum, 1992). Nu heb ik er weer één boek van gemaakt, waarin zowel atoomspectrometrische als molecuulspectrometrische analysetechnieken besproken worden. Ik heb er met plezier aan gewerkt en hoop dat het nuttig zal blijken te zijn voor gebruik in het hoger laboratoriumonderwijs, het hoger technisch onderwijs en wellicht ook het wetenschappelijk onderwijs.

Na een algemene inleiding in de spectrometrie worden achtereenvolgens UV/VIS-spectrometrie, atomaire absorptiespectrometrie, atomaire emissiespectrometrie, anorganische massaspectrometrie en röntgenfluorescentiespectrometrie besproken. De tekst over neutronenactiveringanalyse (hoofdstuk 7) is afkomstig van dr.ir. P. Bode en prof.dr.ir. J.J.M. de Goeij van het Interfacultair Reactor Instituut van de Technische Universiteit Delft. Het hoofdstuk over infrarood- en Raman-spectrometrie (hoofdstuk 8) is totstandgekomen in samenwerking met dr.ir. J. Baas. Het is gedeeltelijk gebaseerd op onderwijsmateriaal dat in de loop der jaren in Delft werd ontwikkeld. Hetzelfde geldt voor hoofdstuk 9 over organische massaspectrometrie, waarvoor ik heb samengewerkt met dr.ir. B. van de Graaf. Hoofdstuk 10 gaat over NMR-spectroscopie en is geschreven door ir. A. Sinnema.

Ik zou graag iedereen willen bedanken die op een of andere wijze heeft bijgedragen aan het tot stand komen van dit boek. Ik ben ik dank verschuldigd aan ir. P. Rommers, professor F. Vanhaecke en ing. G.A. Warmenhoven voor het doorlezen en becommentariëren van de hoofdstukken 1 t/m 6. Door hun kritische opmerkingen zijn de lezers veel onduidelijkheden bespaard gebleven. Verder wil ik mijn Delftse (oud-)collega's bedanken voor de prettige samenwerking bij het totstandkomen van de hoofdstukken 7 t/m 10. Commentaar en suggesties van dr. Heerma met betrekking tot hoofdstuk 9 heb ik zeer op prijs gesteld. Mijn hartelijke dank!

Greet de Loos

Technische Universiteit Delft
juni 2003

Inhoud

1 Inleiding tot de spectrometrie 11

- 1.1 De aard van elektromagnetische straling 11
- 1.2 Het elektromagnetische spectrum 14
- 1.3 Stralingsprocessen 15
- 1.4 Atoomspectra 18
- 1.5 Het profiel van atomaire spectraallijnen 23
- 1.6 Elektronenspectra van moleculen 24
- 1.7 Continue spectra 25

2 UV/VIS-moleculaire absorptiespectrometrie 28

- 2.1 De wet van Lambert-Beer 28
- 2.2 Moleculaire absorptiespectra 30
- 2.3 De UV/VIS-spectrometer 36
- 2.4 Diverse uitvoeringen en toepassingen 46
- 2.5 Moleculaire fluorescentie, fosforescentie en chemiluminescentie 51
- 2.6 Analytische kenmerken van de UV/VIS-spectrometrie 54

3 Atomaire absorptiespectrometrie 57

- 3.1 De wet van Lambert-Beer in de atomaire absorptiespectrometrie 57
- 3.2 De vlam-atomaire absorptiespectrometer 61
- 3.3 Vorming van vrije atomen in de vlam 66
- 3.4 Elektrothermische atomisatie in de grafietoven 70
- 3.5 De gevoeligheid van vlam- en grafietoven-AAS onderling vergeleken 78
- 3.6 Achtergrondabsorptie en achtergrondcorrectiesystemen 80
- 3.7 Diverse uitvoeringen van AAS 91
- 3.8 Analytische kenmerken van AAS 95

4 Optische emissiespectrometrie 98

- 4.1 Het inductief gekoppeld plasma als emissiebron 98
- 4.2 De intensiteit van spectraallijnen 103
- 4.3 De ICP optische emissiespectrometer 104
- 4.4 Signaal, ondergrond en ruis 114
- 4.5 Spectrale interferenties, lijnselectie en optimalisatie 121
- 4.6 Andere atoombronnen voor optische emissiespectrometrie 124
- 4.7 Analytische kenmerken van optische emissiespectrometrie 130

5 Anorganische massaspectrometrie 135

- 5.1 Ionisatie 135
- 5.2 Massascheiding 137
- 5.3 Spectrale interferenties 142
- 5.4 Kalibratiemethoden en detectiegrenzen 150
- 5.5 Diverse monsterintroductietechnieken en uitvoeringen 155
- 5.6 Analytische kenmerken 160

6 Röntgenfluorescentiespectrometrie 163

- 6.1 Het opwekken van een röntgenspectrum 163
- 6.2 Absorptie van röntgenstraling 167
- 6.3 Een uitdrukking voor de röntgenfluorescentie-intensiteit 168
- 6.4 Golflengtedispersieve XRF 174
- 6.5 Energiedispersieve XRF 183
- 6.6 Kwantitatieve analyse 186
- 6.7 Analytische kenmerken van de XRF-spectrometrie 191
- 6.8 Enkele verwante methoden 193

7 Activeringsanalyse 199

- 7.1 Kernbouw, radioactiviteit en kernreacties 199
- 7.2 Principe van activeringsanalyse 204
- 7.3 Activering 205
- 7.4 Wachten 211
- 7.5 Radioactiviteitsmeting 213
- 7.6 Kwalitatieve en kwantitatieve analyse 219
- 7.7 Instrumentele neutronen-activeringsanalyse 222
- 7.8 Radiochemische neutronen-activeringsanalyse 224
- 7.9 Aantoonbaarheid, meetnauwkeurigheid, meetonzekerheid en herleidbaarheid 225
- 7.10 Kwaliteitscontrole 230
- 7.11 Analytische evaluatie 233
- 7.12 Voorbeelden van toepassingen 237
- 7.13 Andere vormen van activeringsanalyse 239

8 Infrarood- en Raman-spectrometrie 243

- 8.1 Infrarood absorptiespectrum 243
- 8.2 Apparatuur 255
- 8.3 Monstertechnieken 259
- 8.4 Invloed van de fysische structuur op het spectrum 265
- 8.5 Het herkennen van absorptiebanden 270
- 8.6 Structuurbevestiging en structuuropheldering 272
- 8.7 Raman-spectrometrie 275

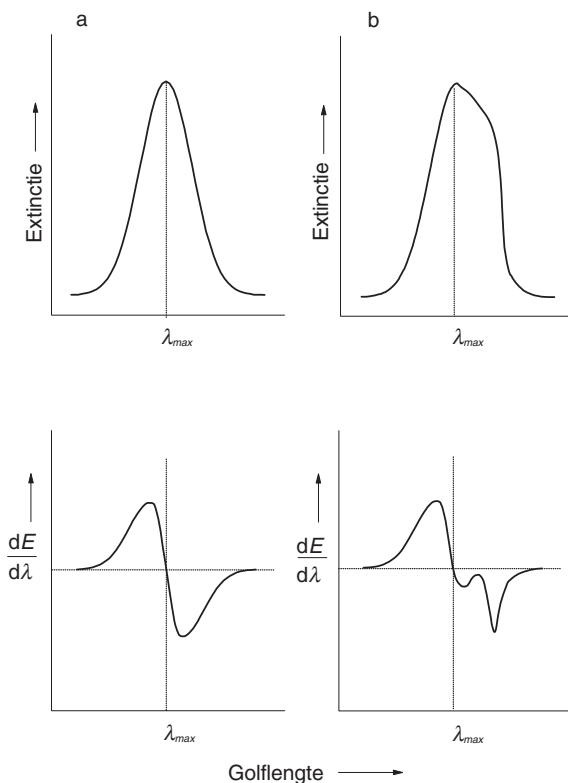
9 Organische massaspectrometrie 281

- 9.1 Massaspectra 281
- 9.2 Apparatuur 284
- 9.3 Ionisatie en monsterinleiding 291
- 9.4 Interpretatie van EI massaspectra 299
- 9.5 Fragmentatiemechanismen 304
- 9.6 Bibliotheek zoeken en standaard interpretatieprocedure 313
- 9.7 Massachromatografie en MS/MS-technieken 317

10 Kernmagnetische resonantie spectroscopie 320

- 10.1 Inleiding 320
- 10.2 Kernen, kernspin en kernmagnetisme 322
- 10.3 Zeeman-opsplitsing, kernmagnetisatie, Larmor-precessie 324
- 10.4 Kernmagnetische resonantie 326
- 10.5 Spectroscopische parameters 331
- 10.6 Dubbele resonantie 338
- 10.7 Instrumentatie 341
- 10.8 Monsters 347
- 10.9 Moderne NMR technieken 348
- 10.10 Toegepaste NMR spectroscopie 356
- 10.11 Correlatiekaarten en tabellen 369

Register 375

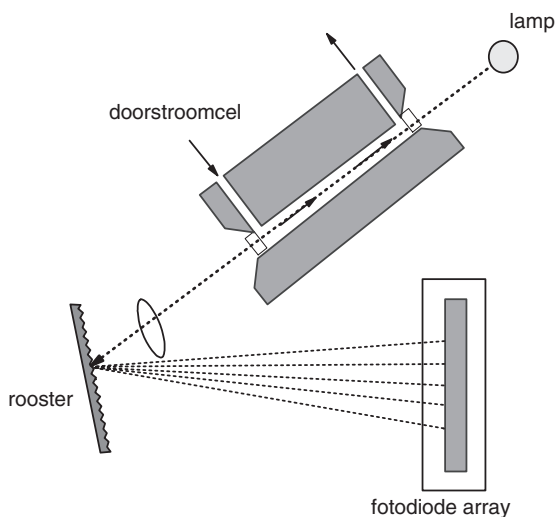


Figuur 2.15 Voorbeeld van een UV/VIS-spectrum en het bijbehorende afgeleide-spectrum: (a) een enkelvoudige absorptieband; (b) twee overlappende absorptiebanden.

Figuur 2.15a laat een voorbeeld zien van een enkelvoudige absorptieband en het bijbehorende afgeleide-spectrum. Figuur 2.15b geeft de situatie weer voor twee overlappende absorptiebanden. Voor enkelvoudige absorptiebanden biedt het afgeleide-spectrum geen voordelen maar gedeeltelijk overlappende absorptiebanden zijn in het afgeleide-spectrum goed te onderscheiden. De amplitude tussen minimum en maximum van het afgeleide-spectrum is een maat voor de extinctie van de oplossing. De spectra van kalibratieoplossingen worden op precies dezelfde manier verwerkt als de spectra van monsteroplossingen.

UV/VIS-detectie in de chromatografie

UV/VIS-spectrometrie is een veelgebruikte detectiemethode in de vloeistofchromatografie. De reden hiervoor is dat veel verbindingen straling absorberen in het ultraviolette en zichtbare deel van het spectrum. De gevoeligheid is zodanig dat goed gemeten kan worden aan concentraties van 10^{-5} - 10^{-6} M. De detectiegrenzen zijn laag, in de orde van 1 ng. Voor toepassingen in de chromatografie zijn eenvoudige spectrometers en filter fotometers ontworpen waarin de lichtbundel een doorstroomcel passeert (figuur 2.16). De optiek is aangepast in verband met de geringe afmetingen van de meetcel (venster oppervlakte circa 1 mm^2) omdat anders te veel straling verloren zou gaan. Om de meetcel is meestal een watermantel aangebracht om de tempe-



Figuur 2.16 Meetopstelling voor UV/VIS-detectie in de hoge druk vloeistofchromatografie met doorstroomcel en fotodiode array.

ratuur constant te houden. Dat is belangrijk omdat temperatuurschommelingen variaties in brekingsindex veroorzaken en daardoor invloed hebben op de ruis en drift in het signaal. De meest toegepaste detector is gebaseerd op een lage druk kwiklamp en werkt uitsluitend bij de 254 nm lijn van kwik. De straling wordt geïsoleerd met behulp van een interferentiefilter. De intensiteit van de kwiklijn is hoog en de apparatuur is eenvoudig. De meeste organische oplosmiddelen absorberen niet bij 254 nm, terwijl veel aromatische en heterocyclische verbindingen wel sterk absorberen. Andere kwiklijnen, bijvoorbeeld 313, 365, 405, 436, 546 en 578 nm, kunnen ook gebruikt worden als daarvoor geschikte interferentiefilters aanwezig zijn. Soms wordt ook een zink holle-kathodelamp toegepast die straling uitzendt bij 214 nm.

De duurder UV/VIS-detectoren bevatten een continue bron (deuteriumlamp en/of wolframlamp) en een monochromator voor golflengteselectie. De spectrale bandbreedte bedraagt meestal 1 tot 10 nm. Met behulp van fotodiode array detectoren (figuur 2.16) kan het absorptiespectrum iedere 0,01 s gemeten worden gedurende de volledige chromatografische analyse. De referentiecel is dikwijls alleen maar gevuld met lucht, maar als de mobiele fase straling absorbeert kan de referentiecel beter gevuld worden met mobiele fase die daartoe voor de injector wordt afgesplitst.

2.5 MOLECULAIRE FLUORESCENTIE, FOSFORESCENTIE EN CHEMILUMINESCENTIE

Fluorescentie

Als een van de mogelijke stralingsprocessen is in paragraaf 1.3 *fluorescentie* genoemd. Daarbij wordt een molecuul of atoom eerst door absorptie van een foton overgevoerd in een hogere energietoestand.

4 Optische emissiespectrometrie

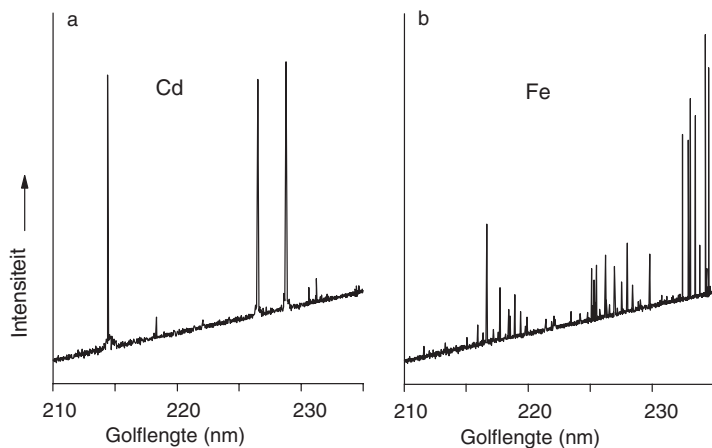
Vrije atomen kunnen bij hoge temperatuur fotonen van verschillende energie uitzenden (paragraaf 1.4). Omdat atomen, in tegenstelling tot moleculen, geen vibraties en rotaties vertonen vinden we in het emissiespectrum (165-780 nm) diverse karakteristieke *emissielijnen*. Voor het opwekken van atomaire emissiestraling is de in hoofdstuk 3 besproken acetyleen/lucht-vlam niet zo geschikt omdat bij 2500 K alleen de alkalimetalen en enkele aardalkalimetalen voldoende emitteren. De acetyleen/lachgas-vlam (3000 K) levert iets meer emissiestraling op, maar een veel betere bron voor optische emissiespectrometrie (OES) is het inductief gekoppeld plasma (Inductively Coupled Plasma, ICP), dat een temperatuur heeft van ongeveer 5000 K. Bij de hoge temperatuur van het plasma worden behalve atomen ook ionen gevormd, die eveneens straling emitteren. In OES wordt gebruikgemaakt van zowel atoom-emissielijnen als ion-emissielijnen. Behalve het ICP worden ook andere emissiebronnen toegepast: het Direct Current (DC)-plasma, de vonkontlading en glow discharge. Het optische emissiespectrum levert in principe zowel kwalitatieve als kwantitatieve informatie over de elementsamenstelling van het monstermateriaal.

4.1 HET INDUCTIEF GEKOPPELD PLASMA ALS EMISSIEBRON

Het emissiespectrum

Bij het inductief gekoppeld plasma hebben we te maken met een stromend gas (meestal argon) dat bij hoge temperatuur gedeeltelijk is geïoniseerd. Dit hete, gedeeltelijk geïoniseerde gas wordt *plasma* genoemd. In het plasma bevinden zich positief geladen deeltjes (ionen) en negatief geladen deeltjes (elektronen), terwijl het geheel neutraal is. Als er een monster in het plasma wordt gebracht verdeelt het zich in het gas als vrije atomen, moleculen, ionen of conglomeraten van deze deeltjes. Meestal overheersen de neutrale atomen en enkelvoudig geladen ionen.

De straling die door het plasma wordt uitgezonden bevat bijdragen van alle aanwezige componenten: het plasmagas, de gasvormige atmosfeer, de vrije atomen, ionen en moleculen en eventuele verbindingen die gevormd kunnen worden. Het emissiespectrum bestaat uit lijnen en banden, gesuperponeerd op een min of meer continue ondergrond. In figuur 4.1 staat een gedeelte van het ICP-emissiespectrum van cadmium en ijzer afgebeeld. De ondergrond is het gevolg van de



Figuur 4.1 Voorbeelden van een ICP-emissiespectrum; (a) Cd, 10 mg l^{-1} en (b) Fe, 10 mg l^{-1} .

hoge temperatuur van het plasma (zie paragraaf 1.7). Informatie over de monstersamenstelling wordt verkregen uit de intensiteit van atoom- en/of ion-emissielijnen. Atoom-emissielijnen van het element M worden meestal aangegeven met M(I) en ion-emissielijnen met M(II). Slechts bij uitzondering wordt aan molecuulbanden gemeten, bijvoorbeeld indirecte fluor bepaling via InF, MgF of CaF.

Het overgrote deel van de elementen vertoont emissielijnen in het ultraviolette deel van het elektromagnetische spectrum. Golflengtes in het zichtbare gebied komen minder vaak voor. Kleine golflengtes vertonen bijvoorbeeld zwavel ($180,731 \text{ nm}$) en fosfor ($177,494 \text{ nm}$). Omdat het golflengtegebied onder de 190 nm experimenteel moeilijk toegankelijk is, kunnen deze elementen niet met alle spectrometers gemeten worden.

Voor de identificatie (kwalitatieve analyse) van een te analyseren stof wordt gebruikgemaakt van de aanwezigheid van een of meerdere karakteristieke emissielijnen van het element, waarbij dan wel gecontroleerd moet worden of de waargenomen lijnen niet afkomstig zijn van andere elementen waarvan de lijnen samenvallen met die van het betreffende element of dicht daarbij in de buurt liggen. Om de concentratie van het element te bepalen (kwantitatieve analyse) wordt gebruikgemaakt van een empirisch vastgestelde relatie tussen de intensiteit van een spectraallijn van het te bepalen element en de concentratie.

Het plasma

Figuur 4.2 laat een inductief gekoppeld plasma zien. Het stelsel van buizen wordt *toorts* genoemd. Door de binnenste buis stroomt een geringe argonstroom waarin het monster in de vorm van een aërosol wordt meegevoerd. Door de tussenliggende buis stroomt de zogenaamde auxiliary argonstroom, een hulpgasstroom (auxiliary). Ten slotte wordt nog een stroom argon door de buitenste buis gevoerd. Deze dient voornamelijk om te voorkomen dat het hete plasma tegen de toortswand komt, waardoor deze zou smelten. Vandaar dat de buitenste argonstroom ook wel koelgas wordt genoemd.

te bepalen element kan dus aanleiding geven tot sterk verschillende fluorescentie-intensiteiten, afhankelijk van de verdere samenstelling van het monster.

Verstrooiing van röntgenstraling

De primaire röntgenstraling wordt door de atomen van het monster niet alleen geabsorbeerd, maar ook gedeeltelijk in alle richtingen verstrooid. Deze verstrooiing vindt in feite plaats aan de elektronen van het atoom. Als de energie van het foton voor en na verstrooiing hetzelfde is spreken we van *elastische of Rayleigh verstrooiing*. Deze vorm van verstrooiing treedt op aan bindingselektronen en vormt de basis van *röntgendiffractie*. Bij verstrooiing kan het foton ook een gedeelte van zijn energie verliezen, zodat de golflengte van de röntgenstraling groter wordt. We spreken dan van *inelastische of Compton-verstrooiing*. Dit treedt vooral op aan zwak gebonden elektronen. Het verstrooiend vermogen van een atoom neemt toe met het aantal elektronen, dus met de zwaarte van het atoom. In de meeste gevallen is de intensiteit van de verstrooide röntgenstraling veel kleiner dan de door fluorescentie in het monster opgewekte straling.

De verstrooide straling is waar te nemen als ondergrond in het XRF-spectrum. Bij inelastische verstrooiing over een hoek θ krijgt een foton dat oorspronkelijk een energie E heeft volgens de Compton-vergelijking een energie E' die gelijk is aan:

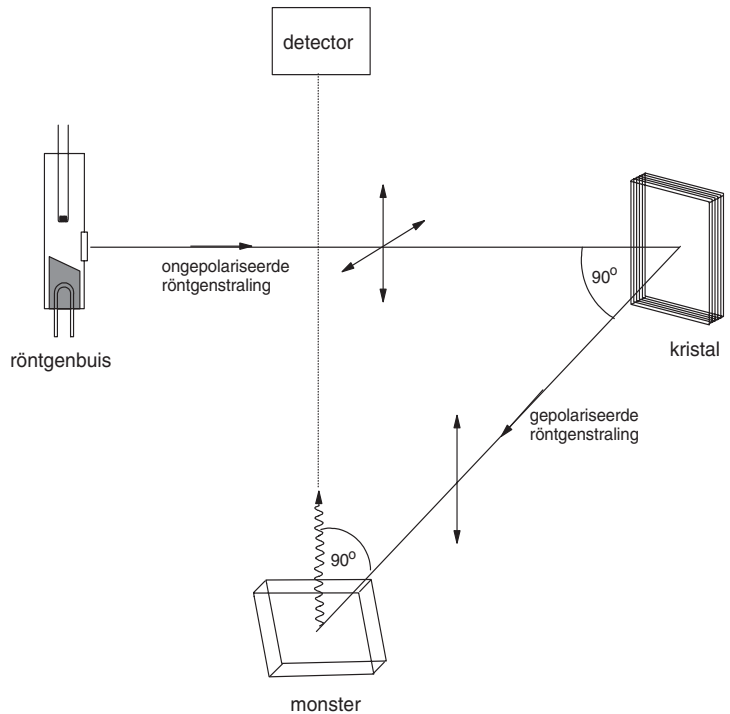
$$E' = \frac{E}{1 + \frac{E}{511}(1 - \cos\theta)} \quad (6.11)$$

Een röntgenfoton met een oorspronkelijke energie van 20 keV zal na Compton-verstrooiing over een hoek van 90° dus een energie hebben van 19,25 keV, dat wil zeggen dat de golflengte verschuift van 0,0620 nm naar 0,0644 nm. De verschuiving tussen excitatiegolflengte en Compton-golflengte bedraagt dus $\Delta\lambda = 0,0024(1 - \cos\theta)$ nm. De karakteristieke emissielijnen van de röntgenbuis in het XRF-spectrum, afkomstig van Rayleigh-verstrooiing, worden daarom altijd gevolgd door een piek veroorzaakt door Compton-verstrooiing.

Rayleigh-verstrooiing aan regelmatig opgebouwde kristallen kan zeer gericht plaatsvinden. Van dit effect wordt in de röntgendiffractie gebruikgemaakt om de bouw van kristallijne stoffen te onderzoeken, terwijl in golflengtedispersieve XRF-spectrometers juist kristallen worden toegepast om een polychromatische bundel röntgenstraling in verschillende golflengtes te splitsen.

Gepolariseerde röntgenstraling

Een van de belangrijkste oorzaken van ondergrondstraling is verstrooiing van primaire röntgenstraling aan het monsteroppervlak. Verdere bijdragen aan de ondergrond komen van fluorescentiestraling



Figuur 6.6 Opwekken van röntgenfluorescentiestraling met behulp van gepolariseerde röntgenstraling.

van de elementen die als verontreiniging in het anodemateriaal van de röntgenbuis voorkomen en van het materiaal waarvan de collimatoren gemaakt zijn. Door excitatie met behulp van gepolariseerde röntgenstraling kan de ondergrond in het XRF-spectrum beperkt worden en kan de signaal-ruisverhouding toenemen. Detectiegrenzen kunnen daardoor met een factor 4 tot 7 verbeterd worden, afhankelijk van de matrix. Dit is vooral belangrijk voor elementen met een lage fluorescentieopbrengst, zoals Na, Mg, Al, P, S en Cl.

Er zijn verschillende manieren om gepolariseerde röntgenstraling te verkrijgen. In een röntgenbuis is de straling die ontstaat bij botsing van een elektron op de anode gepolariseerd en verder is remstraling van dunne laagjes gepolariseerd. Meestal wordt echter gebruikgemaakt van verstrooiing van röntgenbuisstraling aan een Barkla-Bragg-polarisator, die bestaat uit een dun plaatje van geschikt materiaal, bijvoorbeeld hoog georiënteerd pyrolytisch grafiet (HOPG). Daarbij wordt een polarisatiegraad van ongeveer 90% bereikt (figuur 6.6). Als de fluorescentiestraling wordt opgewekt met gepolariseerde röntgenstraling kan de intensiteit van de primaire bundel verhoogd worden. De intensiteit van de opgewekte fluorescentiestraling neemt dan evenredig toe, zonder dat de ongewenste ondergrond toeneemt, omdat verstrooiing polarisatieafhankelijk is. Gepolariseerde röntgenstraling wordt vooral toegepast in energiedispersieve systemen (paragraaf 6.5).

Het verschil is dat σ het aantal golven per centimeter in een medium aangeeft terwijl $\bar{\nu}$ hetzelfde doet in vacuüm. Het verband tussen de golflengte λ , de frequentie ν en het golfgetal σ is:

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad (8.1)$$

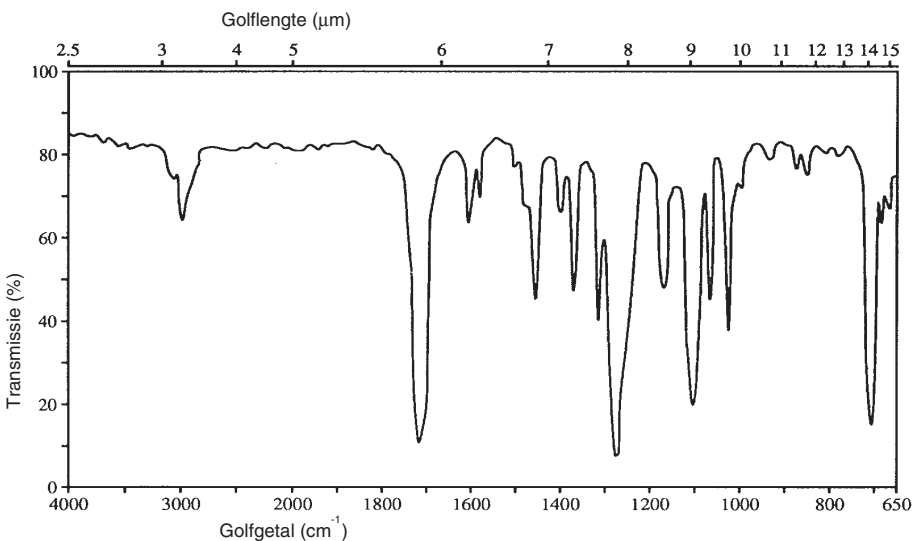
en:

$$\sigma = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad (8.2)$$

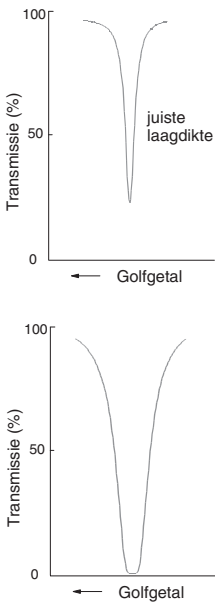
waarin men voor de lichtsnelheid c de waarde $2,998 \times 10^{10} \text{ cm s}^{-1}$ moet invullen (in vacuüm) om het golfgetal in reciproke centimeters te krijgen. Frequentie ν en golfgetal σ schelen dus een factor c . Het verschil tussen de waarden van de lichtsnelheid in vacuüm en in lucht is zeer gering: $c_{\text{lucht}} = c_{\text{vacuüm}} / n_{\text{lucht}}$; met de brekingsindex van lucht $n_{\text{lucht}} = 1,0003$ scheidt het slechts 0,03% ($2000,0 \text{ cm}^{-1}$ in vacuüm komt overeen met $2000,6 \text{ cm}^{-1}$ in lucht). Voor een bepaalde golflengte kan het golfgetal gemakkelijk berekend worden: 10 000 gedeeld door de golflengte in μm geeft het golfgetal in cm^{-1} .

Figuur 8.1 laat een voorbeeld zien van een IR-absorptiespectrum. De horizontale as loopt van 4000 cm^{-1} (links) tot 600 of 400 cm^{-1} (rechts). De schaal is meestal lineair in cm^{-1} . Spectra die met oudere apparatuur zijn opgenomen hebben vaak een schaal die lineair is in golflengte (μm). Het aanzien van deze spectra is vooral bij lage golfgetallen (grote golflengtes) vervormd door verbreding van de banden. De schaal in golfgetal is handiger omdat deze lineair is in energie. In de literatuur vindt men meestal afbeeldingen van spectra met % transmissie langs de verticale as (100% staat altijd bovenaan, 0% onderaan) en nog maar weinig spectra met een verticale as in extinctie-eenheden, zoals in de UV/VIS-spectrometrie gebruikelijk is.

Extinctie	Transmissie (%)
0	100
0,3	50
1	10
2	1



Figuur 8.1
Voorbeeld
van een IR-
absorptie-
spectrum
(ethyl-
benzoesaat).



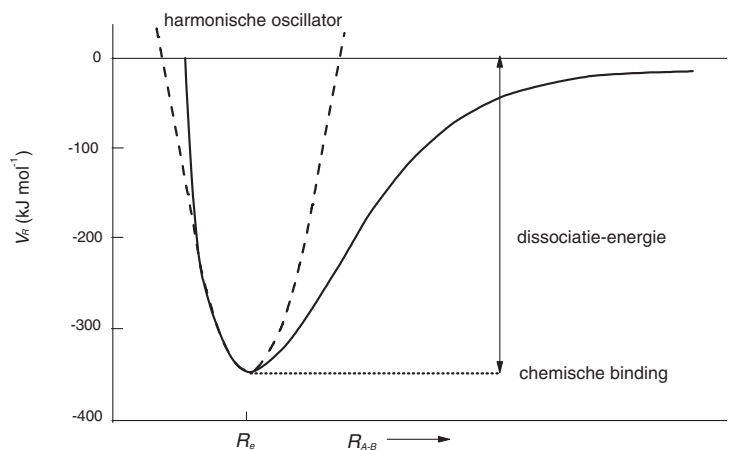
De wet van Lambert-Beer die in hoofdstuk 2, paragraaf 1, besproken is voor de UV/VIS moleculaire absorptiespectrometrie is ook van toepassing in de IR-spectrometrie. De extinctie is evenredig met de laagdikte en de concentratie van de absorberende stof. De meest nauwkeurige metingen krijgt men bij een transmissie van 70 tot 30%. Bij minder intensieve signalen hebben we last van het soms niet geheel vlak zijn van de basislijn. Bij zeer intensieve banden worden deze te veel verbreed en is het moeilijk om de positie van de top van de band te bepalen, zoals de figuur in de linker marge laat zien. Omdat er in het spectrum van een stof meestal zowel zwakke als sterke absorptiebanden voorkomen is het in de praktijk nodig om een compromis te sluiten. Ongeveer 10% transmissie is toelaatbaar voor de sterkste band als hierdoor de zwakkere banden beter tot hun recht komen. Als alle banden meer dan 75% transmissie vertonen wijst dit op een te kleine laagdikte of te lage concentratie van het monster.

Twee-atomige moleculen

In moleculen bewegen de atomen altijd ten opzichte van elkaar, zelfs bij het absolute nulpunt. Tijdens deze trilling vindt voortdurend een omzetting van potentiële energie in kinetische energie plaats en omgekeerd. De potentiële energie V_R van een molecuul A-B als functie van de afstand R tussen de atomen A en B is schematisch weergegeven in figuur 8.2. De potentiële energie heeft een minimum bij de evenwichtsafstand R_e van de atomen. Rond dit minimum is de kromme goed te benaderen door een parabool met de functie:

$$V_R = \frac{1}{2} k_{AB} (R - R_e)^2 - C \quad (8.3)$$

De constante C is gelijk aan de dissociatie-energie van de binding (eigenlijk dissociatie-energie plus nulpuntsenergie). De terugdrijvende kracht bij een bepaalde afwijking van de evenwichtsafstand R_e is



Figuur 8.2 Potentiële energie van een twee-atomig molecuul A-B als functie van de afstand van de atomen; de stippellijn geeft een parabolische benadering weer voor de harmonische oscillator.

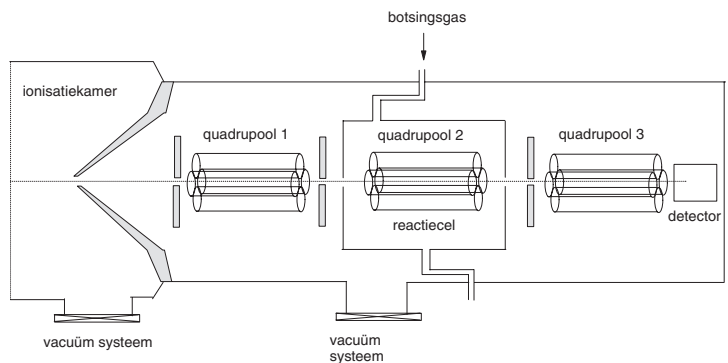
in een bepaalde verbinding (farmacologie) of in een beperkt aantal verbindingen (dopingcontrole, milieuanalyse). Er kan dan een veel grotere gevoeligheid (een factor 1000) bereikt worden.

MS/MS

Met behulp van gekoppelde massaspectrometers kan extra informatie worden verkregen over de gevormde ionen. Uit de ionen in die in de eerste massaspectrometer ontstaan wordt een ionmassa geselecteerd. De ionen met de gekozen m/z worden via een koppelingsgedeelte waar fragmentatie plaatsvindt naar een tweede massaspectrometer gestuurd die de gevormde ionen registreert. Deze methode staat bekend onder de naam tandem-massaspectrometrie ofwel MS/MS-techniek. Met de eerste massaspectrometer wordt bijvoorbeeld, afhankelijk van de toegepaste ionisatiemethode, het moleculaire of quasi-moleculaire ion gekozen, waarna met de tweede massaspectrometer gewone massaspectra verkregen worden. Een typische configuratie bestaat uit drie quadrupolen die in serie staan (figuur 9.15). De eerste en de derde quadrupool functioneren als massaspectrometer terwijl de middelste dienstdoet als reactiecel waarin men de ionen laat botsen met bijvoorbeeld argon of stikstof. Alle ionen in de tweede quadrupool worden doorgelaten, er is alleen een RF-veld om ionen te focuseren. Er zijn allerlei combinaties van massaspectrometers mogelijk, bijvoorbeeld van een quadrupool massaspectrometer of ion trap met een vluchttijd-massaspectrometer of magnetische sector massaspectrometer. Een bekend voorbeeld is de koppeling van MALDI-ionisatiebronnen aan quadropool-vluchttijd hybride instrumenten voor bio-analytische toepassingen. De eerste massaspectrometer wordt dan gebruikt voor selectie van peptide ionen en de tweede voor de analyse van fragmentatiepatronen.

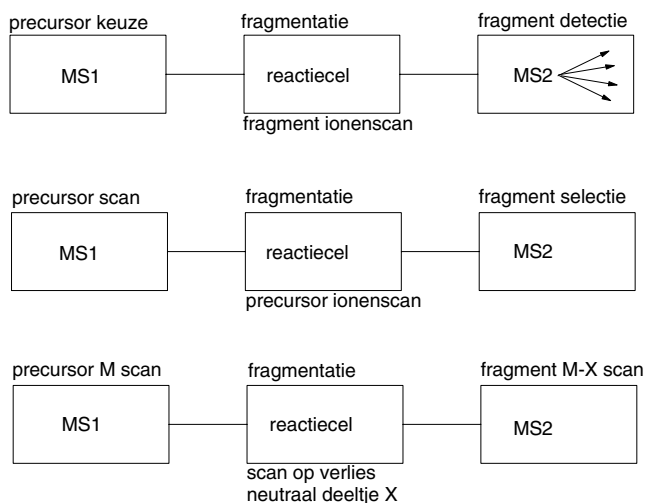
Verschillende scanmogelijkheden voor tandem-massaspectrometrie worden schematisch aangegeven in figuur 9.16.

- De eerste massaspectrometer selecteert een gekozen ion dat men vervolgens in de reactiecel laat fragmenteren. De tweede massaspectrometer analyseert de gevormde ionen. Dit wordt een dochter ionenscan van het geselecteerde ion genoemd.



Figuur 9.15 Tandem-massaspectrometrie. In deze 'triple quadropole' opstelling is de middelste quadrupool de reactiecel waarin botsingen optreden.

- De tweede massaspectrometer wordt ingesteld op een bepaalde m/z -waarde terwijl er met de eerste massaspectrometer een scan gemaakt wordt. Alle ionen die in de eerste massaspectrometer ontstaan en die na passeren van de reactiecel het geselecteerde fragment opleveren worden gedetecteerd. Dit is een ouder ionen-scan (parent ion scan / precursor ion scan).
- Beide massaspectrometers worden gescand met een constant verschil in massa tussen de ionen die de twee spectrometers passeren (constant neutral loss scan). Als het verschil in massa is ingesteld op X zal een ion met massa M dat in MS1 ontstaat alleen door MS2 gezien worden als er in de reactiecel $M-X$ gevormd wordt. Het betreffende neutrale deeltje (bijvoorbeeld CO of C_2H_2) moet dus in de reactiecel uit M worden afgesplitst.



Figuur 9.16 Verschillende scanmogelijkheden voor een tandem-massaspectrometer. MS1: eerste massaspectrometer; CC: botsingscel (collision cell); MS2: tweede massaspectrometer.

LITERATUUR

1. E. De Hoffman, V. Stroobant, Mass spectrometry, 2e druk, Wiley, Chichester (2001).
2. M.L. Vestal, Methods of ion generation, Chem. Rev. 2001, 101, 361-375.
3. W.M.A. Niessen, Current practice of gas chromatography-mass spectrometry, Chromatographic science series 86, Dekker, New York (2001).
4. J. Barker, D.J. Ando, R. Davis, M.J. Frearson, Mass Spectrometry, Analytical Chemistry by open learning, 2e druk, Wiley, Chichester (2000).
5. W.M.A. Niessen, Liquid chromatography-mass spectrometry, Chromatographic science series 79, 2e druk, Dekker, New York (1999).
6. T.A. Lee, A beginners guide to mass spectral interpretation, Wiley, Chichester (1998).
7. R. Kellner, J.-M. Mermet, M. Otto, H.M. Widmer, Analytical Chemistry, The approved text to the Federation of European Chemical Societies curriculum Analytical Chemistry, Wiley-VHC, Weinheim (1998).
8. F.W. McLafferty, F. Tureček, Interpretation of mass spectra, 4e druk, University Science Books, Sausalito, California (1993).
9. J.R. Chapman, Practical organic mass spectrometry, 2e druk, Wiley, Londen (1993).
10. S.M. van der Kerk, W. Heerma, Inleiding tot de molecuulspectroscopie, Heron-reeks, Bohn, Scheltema & Holkema, Houten (1990).