

# Razvoj kapilarne mikroprobe za masenu spektrometriju korištenjem iona megaelektronvoltnih energija

---

**Brajković, Marko**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:879412>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Marko Brajković

**RAZVOJ KAPILARNE MIKROPROBE ZA MASENU  
SPEKTROMETRIJU KORIŠTENJEM IONA  
MEGAELEKTRONVOLTNIH ENERGIJA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.



Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Marko Brajković

**RAZVOJ KAPILARNE MIKROPROBE ZA MASENU  
SPEKTROMETRIJU KORIŠTENJEM IONA  
MEGAELEKTRONVOLTNIH ENERGIJA**

DOKTORSKI RAD

Mentor: dr. sc. Ivančica Bogdanović Radović

Zagreb, 2022.



University of Zagreb

FACULTY OF SCIENCE

Marko Brajković

**DEVELOPMENT OF CAPILLARY MICROPROBE  
FOR MASS SPECTROMETRY WITH  
MEGAELECTRON VOLT IONS**

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Ivančica Bogdanović Radović, PhD

Zagreb, 2022

## O mentoru

Dr.sc. Ivančica Bogdanović Radović diplomirala je fiziku, smjer eksperimentalna fizika na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu 1991. godine te je iste godine zaposlena kao znanstveni novak u Laboratoriju za interakcije ionskih snopova, Zavod za eksperimentalnu fiziku, na Institutu Ruđer Bošković gdje radi i danas. Magistrirala je 1994. a doktorirala 1997. godine također na PMF-u u Zagrebu. Nakon doktorata bila je na poslijedoktorskom usavršavanju od 13 mjeseci na Sveučilištu Johannes Kepler u Linzu, Austrija. Od početka svog znanstvenog rada bavi se razvojem i primjenom nuklearnih analitičkih metoda za analizu i modifikaciju materijala, a posljednjih nekoliko godina fokus istraživanja nalazi se u razvoju i primjenama metode MeV SIMS. Od 2019. godine radi na radnom mjestu znanstvene savjetnice u trajnom zvanju. Do danas je objavila više od 160 WoSCC znanstvenih radova koji su citirani preko 1700 puta. Sudjelovala je na preko 40 međunarodnih znanstvenih skupova te je održala 15 pozvanih predavanja. Mentorirala je 2 doktorska, 2 diplomatska rada te 2 ERASMUS studenta. Bila je oponent na nekoliko stranih obrana doktorata te recenzent za nekoliko stranih nacionalnih znanstvenih zaklada. Trenutno vodi Horizon2020 projekt RADIATE, a također je vodila i UKF, HrZZ, te više IAEA CRP projekata. Od 2017. godine članica je panela za vrednovanje projektnih prijedloga (User Selection Panel) za Ion Beam Centar Helmholtz Zentrum Dresden Rosendorf, Njemačka te članica savjetodavnog uređivačkog odbora (Advisory Editorial Board) časopisa Nuclear Instruments and Methods B. Od 2018. godine članica je Odbora za nuklearnu fiziku Europskog fizikalnog društva, a od 2019. godine predsjednica je Znanstvenog vijeća Instituta Ruđer Bošković te predsjedavajuća međunarodnog savjetodavnog odbora IBA (Ion Beam Analysis) konferencija.

*Zahvaljujem mentorici dr.sc. Ivančici Bogdanović Radović na potpori, savjetima i nepokolebljivom optimizmu, kao i dr.sc. Zdravku Siketiću bez čijeg iskustva u eksperimentalnom radu, spretnosti i strpljenja ne bi bilo ovoga rada.*

*Zahvaljujem Marku Barcu na pomoći kod dijela mjerenja, Donnyju Domagoju Cosicu na korisnim promjenama u digitalnoj akviziciji, Andri Kovačiću na izradi nosača za kapilare, aperture i detektore, dr.sc. Maxu Döbeliju i dr.sc. Klausu-Ulrichu Miltenbergeru s ETH Zürich na donaciji staklenih kapilara korištenih u ovom radu i akademiku Milku Jakšiću jer mi je još na diplomskom studiju dao priliku da radim „na akceleratoru“.*

*Zahvaljujem Hrvatskoj zakladi za znanost (HRZZ) koja mi je četiri godine financirala plaću a kroz projekt BioCapSIMS potpomogla razvoj kapilarne mikroprobe i Europskoj Uniji koja je kroz različite projekte (RADIATE, CEMS) pomogla ovaj rad.*

*Kažu da život doktoranda i nije neki: plaća mala, posla puno. Možda jest tako, ali ima onih koji su ga činili lakšim i ljepšim. To je obitelj, i to su prijatelji, posebno Andreo. Od srca im hvala. A najviše od svega, jer sve ovo ima smisla, Bogu hvala.*

## Sažetak

U ovom radu predstavljen je rad na razvoju kapilarne mikroprobe za MeV TOF-SIMS s primjenom na analizu bioloških uzoraka. Za razliku od magnetskog fokusiranja, pomoću staklene kapilare moguće je kolimirati teške ionske snopove viših energija koji proizvede veći prinos sekundarnih iona težih molekula. Razvijena su dva načina okidanja startnog signala za mjerenje vremena proleta sekundarnih iona, detekcijom primarnih iona pomoću čestičnog detektora za tanke uzorke i detekcijom sekundarnih elektrona pomoću elektronskog multiplikatora za uzorke proizvoljne debljine. Ostvarena je optimalna masena razlučivost od 2500 za masu 575 Da u prvom, i 1400 u drugom, preferiranom načinu rada, zbog većeg broja uzoraka koji je moguće analizirati, jednostavnije pripreme istih i smanjene pozadine u masenom spektru. Prinos sekundarnih iona mjeren na uzorku plavog ftalocijanina pokazuje pozitivnu korelaciju s energijom, elektronskom zaustavnom moći, brzinom i nabojem primarnih iona u mjerenom energijskom području (50 – 300 keV/u). Nakon odabira optimalnog primarnog snopa i mjerenja prostorne razlučivosti ( $5 \times 12 \mu\text{m}^2$ ) analizirani su odabrani uzorci u oba načina rada. Halo primarnog snopa, vidljiv i u izmjerenim energijskim spektrima nakon prolaska kroz konusnu kapilaru, smanjuje kontrast u molekularnim mapama i uvelike ograničava primjene ovakvog postava. Alternativno rješenje, kolimiranje kružnom aperturom, pokazuje se boljim za dobivanje jasnijih i pouzdanijih molekularnih mapa različitih uzoraka u vakuumu (otisak prsta, presjek tinti na papiru, presjek moždanog tkiva).

**Ključne riječi:** MeV TOF SIMS, kapilarna mikroproba, prinos sekundarnih iona, sekundarni elektroni, halo snopa, molekularne mape, kolimiranje aperturom

# Extended Abstract

## Introduction

Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (TOF-SIMS) is a mass spectrometry technique used for identification of atomic and molecular species by measuring the time-of-flight of the secondary ions sputtered from the sample surface. With keV primary beam it is possible to analyze the surface distribution of molecules with a mass up to a few hundred Da and with a lateral resolution down to 50 nm. In the last 15 years, several laboratories have built MeV TOF SIMS setups. Thanks to the electronic excitation of the target material with MeV primary ions, there are several orders of magnitude higher secondary ion yields of heavy molecules, and less fragmentation. 2D imaging of molecules with mass up to 1200 Da is possible, which enables the application of MeV SIMS in biomedicine, forensics, paint analysis etc. A lateral resolution of the technique is from 1  $\mu\text{m}$  to tens of  $\mu\text{m}$ , depending on the possibilities of focusing systems. MeV TOF-SIMS setup was built in the Laboratory for ion beam interactions of Ruđer Bošković Institute (RBI) in 2014. A mass resolution of the setup equipped with a linear TOF analyzer is  $m/\Delta m = 370$  for  $m = 131.2$  Da. A system of magnetic quadrupoles is used to focus the primary beam, with the maximum primary beam magnetic rigidity of 14 ( $mE/q^2$ , where  $m$  is primary ion mass,  $E$  ion energy and  $q$  ion's charge state). The heaviest ion that can be focused with this system is 8 MeV Si (4+), which prevents full utilization of secondary ion yield increase with heavier primary ions. A cheap and relatively simple alternative to magnetic focusing is beam collimation using glass capillary, where the lower limit of collimated beam spot size is defined by the capillary outlet diameter. In this way, a mass-independent collimation is achieved, which enables the use of heavy ions (such as Cu, I and Au) for the imaging of organic samples with TOF-SIMS. Ion clusters can also be used as a primary beam in this setup. Beam collimation is an acceptable alternative to beam focusing since very small currents (few particle femtoamperes) are sufficient for SIMS measurements. Another benefit of the capillary collimation is the possibility of in-air extraction of the beam without an additional window at the end of capillary (so called Ambient Pressure MeV SIMS).

In this thesis, development of MeV TOF-SIMS capillary microprobe at RBI for application in the analysis of biological samples is presented. In the next subsections, a summary of each thesis chapter is given.



---

## Fundamentals of TOF-SIMS

By measuring time-of-flight  $t$  of secondary ions created by the primary ion interaction with surface layers of the target, one can identify their mass  $m$  with simple calibration formula:  $m/q = (at + b)^2$ , where  $a$  and  $b$  are calibration coefficients. Mass resolution of the measurement is defined by the uncertainties in the ion's flight time and trajectory, and by the initial energy distribution. Secondary ion yield depends on two fundamental parameters: desorption yield and ionization factor. Higher secondary ion yield for heavier molecules (those with the mass in several hundred Da) and less fragmentation are main advantages of MeV SIMS over keV SIMS for the analysis of biological samples. While nuclear interaction dominates in SIMS with keV ions, electronic excitations are responsible for desorption of heavier molecules with MeV ions. Different theoretical models (hit theory, thermal models, pressure pulse model, etc.) that describe the desorption (or sputtering) of the molecules exist, while ionization step remains largely unexplained. It is difficult to explain all experimental results with just one model, but general picture is as follows: first, ion track with 10 nm radius is created in the material around the primary ion trajectory. High energy density is deposited within the few nm close to the center of the track which leads to ionization and excitation of the material through Coulomb interaction. The part of the deposited energy, depending on the electronic stopping power of the ion, is transferred away from the center of the track in the form of delta-electrons. Resulting energy gradient leads to the desorption of the material from surface layers, either through the thermal mechanism or by the pressure pulse. It is assumed that atoms and small fragments originate from central part of the track, while non-fragmented intact molecules come from outer part of the ion track.

## Capillary microprobe

Mass-independent collimation of ion beams down to one micron, and a possibility of in-air extraction have led to different application of glass capillaries with MeV ions: sample irradiation, in-air PIXE, micro-PIXE, in-air STIM, NRA and MeV SIMS. Beside the chamber described in this work, there is MeV TOF-SIMS capillary microprobe at ETH Zurich with the best lateral resolution of 10  $\mu\text{m}$  and the best mass resolution of  $m/\Delta m = 100$  for  $m = 100$  Da. Enhancement factor,  $\eta$  is used to characterize the beam transmitted through the capillary, and is defined as:  $\eta = (I_{\text{out}}/I_{\text{in}})/(S_{\text{out}}/S_{\text{in}})$ , where  $I_{\text{out}}/I_{\text{in}}$  are outlet/inlet beam current, and  $S_{\text{out}}/S_{\text{in}}$  are outlet/inlet area. For keV ions, this factor is much greater than 1 because of the so-called

---

guiding effect: capillary walls are charged up locally and resulting electrostatic potential affects the ion trajectory. On the other hand, MeV ions show different behavior. Their energy is too high for the above-mentioned potential to have any effect on their trajectories, so  $\eta$  is much lower and close to one. In our system, borosilicate capillaries produced in-house at ETH Zurich with inlet diameter of 0.86 mm, outlet diameter 2.5 – 5  $\mu\text{m}$ , and length 30 – 50 mm are used. Measured energy spectra of transmitted beams for different ions (Si, Cu, I, Au) and energies (2 – 20 MeV) show characteristic low-energy tail that comes from ions scattered on capillary walls near the capillary tip or ions that pass through the capillary walls at the very end of the capillary tip. Two distinct regions can be identified on a Gafchromic EBT3 radiation sensitive film irradiated with the ions transmitted through the capillary: a central part that consists of directly transmitted ions, and a halo that consists of scattered ions. The shape of the halo depends on the quality of the capillary tip and the alignment of capillary and beam axes. Simulations of energy spectra and spatial distribution of transmitted beam made using SRIM generated trajectories confirm measured results. They also predict  $\eta$  to be in the range 1.4 – 1.6, which means that about 50% of transmitted ions belong to the halo.

## **Experimental setup for MeV TOF-SIMS**

The capillary microprobe is built in the extent of TOF-ERDA experimental line, at  $0^\circ$  angle to the analyzing magnet of 6 MV EN Tandem Van de Graaff accelerator. Sample holder is mounted on a 4D scanning piezo-stage in front of the fixed capillary. Secondary ions are detected using dual stage reflectron TOF analyzer, which corrects for the initial secondary ion energy distribution and improves mass resolution compared to a linear TOF analyzer. A dual MCP detector is used for the detection of positive secondary ions. Since the transmitted primary beam current is too small to pulse the beam for triggering of start signal for the TOF measurement, different options for the start trigger are implemented. Primary ions that pass through the target are detected with PIN diode placed behind the sample in the transmission mode. Constraint to thin targets and radiation damage suffered by the detector are major drawbacks of this setup. To enable the analysis of targets with arbitrary thickness, secondary electrons released from the sample upon the primary ion impact are detected with an electron multiplier in the thick target mode. The signal from electron multiplier is used as a start signal for TOF measurement. As negative electrons are attracted by positive target voltage, a target is set to 0 V before the primary ion impact and detection of secondary electrons. Only after that, the target voltage is increased

---

to the defined extraction voltage. A fast HV switch is used to implement the switching of target voltage at 10 – 20 kHz frequencies. By keeping the target voltage on, just for 2  $\mu$ s, with 100  $\mu$ s acquisition window, background due to random coincidences is significantly reduced.

## **Resolution and yield measurements**

Retarding and reflecting voltages of reflectron TOF analyzer were studied to maximize mass resolution and secondary ion yield. A mass resolution is found to be very sensitive to the retarding voltage, and the optimum value is established for both triggering modes. With respect to the reflecting voltage, the yield is maximized as long as the reflecting voltage is equal to or larger than the extraction voltage. It was found that more than 20% of detected molecular ions have an energy deficit. Detection efficiency of the setup for heavier molecules was low when compared to the old MeV SIMS setup with a linear TOF analyzer due to metastable fragmentation and small efficiency of the MCP detector for the detection of heavy molecules. For this reason, a new secondary ion detector with a 10 kV post-acceleration has been installed which improved the yield 3 – 4 times for molecules with mass 576 Da. The best measured mass resolution in the transmission setup was  $m/\Delta m = 2500$  for  $m = 575$  Da, primarily defined by a rise time of PIN diode signal. The background noise in mass spectra, due to random coincidences, is reduced by deflection of the primary beam during acquisition of stop signals. In the thick target setup, the best measured mass resolution was  $m/\Delta m = 1400$  for  $m = 575$  Da, influenced both by a rise time of the electron multiplier signal and by an oscillation of the extraction voltage due to the inability of the power supply to perfectly handle high voltage switching at working frequencies (10 – 20 kHz). Noise level is 2 – 5 times lower compared to the transmission setup. The minimum delay time between the start signal and the establishment of extraction voltage is 80 ns. By extending this delay, a little improvement of mass resolution is obtained, but with a big drop in secondary ion detection efficiency.

## **Yield dependence on primary beam parameters**

An influence of primary ion properties (ion type, energy and charge state) on secondary ion yield was studied on a sample of Phthalocyanine Blue ( $C_{32}H_{16}CuN_8$ ,  $m = 576.082$  Da). Secondary ion yield was defined as a ratio of the number of detected ions in a certain mass range and the number of primary ions detected in a PIN diode. An increase of the secondary yield with the primary ion energy, electronic stopping, velocity and charge state was found for different types

---

of primary ions (Si, Cl, Cu, I and Au). Theoretical values of electronic stopping were calculated with CasP program that takes the ion charge state into account. No single parameter that could describe all measured results was found. Obtained dependencies could not be connected to existing theoretical models that do not pay attention to the ionization part of the desorption process. Some results (velocity dependence) agree in principle with the predictions of the ion track model. To choose the optimum primary ion, both its velocity and electronic stopping must be considered – in our case the best primary ion was shown to be 14 MeV Fe<sup>4+</sup>, although it does not have the highest velocity (13.5 MeV Cl<sup>4+</sup>, but with a low stopping power compared to Fe) nor the highest stopping power (20 MeV I<sup>6+</sup>, but slower than Fe).

## **Imaging of selected samples**

In addition to secondary ion yield, lateral resolution is a key factor for molecular imaging. Line scans over leucine-evaporated copper mesh were made to measure lateral resolution in x (3 – 8  $\mu\text{m}$ ) and y-direction (12 – 17  $\mu\text{m}$ ). The resolution is defined by capillary exit diameter (2.5  $\mu\text{m}$ ), beam divergence (0.04°), and halo. A segment of a fly wing (250  $\times$  250  $\mu\text{m}^2$ ) was analyzed in transmission mode. The resulting molecular maps resemble surface morphology. In a thick target setup, an ink crossing (1  $\times$  1  $\text{mm}^2$ ) deposited on a paper was analyzed. The peaks in mass spectrum that characterize the ink are identified. Their molecular map is correlated with spatial distribution of the ink seen in an optical photo. A halo, whose contribution goes up to 50% of detected events, blurs the spatial distribution and decreases contrast in molecular images. Artifacts in acquired maps can also be observed as a consequence of asymmetric halo. The problems associated with the halo, and unreliability of transmitted beam quality, in the long run, have led to the consideration of alternative solutions for the primary beam collimation.

## **Aperture collimation**

A straight, heavy-wall capillary was first tried as an alternative but due to the beam divergence, the transmitted current was too low (few hundred Hz) for any practical application. After that, the capillary was replaced with a simple round aperture with a 5 and 10  $\mu\text{m}$  opening. No halo was observed when the beam spot was measured on radiation-sensitive film after transmission through the aperture. Measured lateral resolution was 10 – 15  $\mu\text{m}$  for the aperture with a 5  $\mu\text{m}$  opening, and less than 20  $\mu\text{m}$  for the aperture with a 10  $\mu\text{m}$  opening. Beam divergence is identified as a main resolution-limiting factor. To make the production of secondary electrons and

---

consequently a signal for the start trigger sample-independent, a 5 nm thick carbon foil is placed over the aperture. Secondary electrons created in the carbon foil during the primary ion passage are detected with the electron multiplier put in a new position close to the aperture. Three different samples (ink deposited on a paper, fingerprint and section of brain tissue) were analyzed to test the capabilities of the upgraded setup. Obtained molecular maps show expected molecular distributions that are clearly correlated with optical photos of the samples. The maps have a much higher contrast than maps obtained with the capillary-collimated primary beam.

## Conclusion

In this work, development of MeV TOF SIMS capillary microprobe is presented. There are two modes of operation, depending on a start trigger for TOF measurement: transmission mode for thin targets, where the best-achieved mass resolution is 2500 for mass 575 Da, and electron start mode for any kind of samples, with the best mass resolution of 1400 for the same mass. Despite the lower mass resolution due to the more complex setup, the latter mode makes possible the analysis of a large variety of samples with simpler sample preparation and less background compared to the former. Secondary ion yield measured for different primary ion parameters shows a positive correlation with ion energy, electronic stopping, velocity and charge state in the analyzed energy range. The best achieved lateral resolution is  $5 \times 12 \mu\text{m}^2$ , limited by the primary beam divergence. Beam halo, unavoidable with conical capillaries, significantly reduces the contrast in molecular maps and limits the application of capillary collimation. A setup with a simple round aperture is implemented as an alternative, and molecular maps obtained with this setup show clear advantage to capillary collimation for in-vacuum applications. A major modification and improvement of the current setup would be the replacement of target voltage pulsing with constant extraction.

**Keywords:** MeV TOF SIMS, capillary microprobe, secondary ion yield, secondary electrons, beam halo, molecular maps, aperture collimation

# Sadržaj

<b>1. Uvod</b>	1
<b>2. Osnove masene spektrometrije sekundarnih iona mjerenjem vremena proleta (TOF-SIMS)</b>	4
2.1. TOF-SIMS	4
2.1.1. Mjerenje vremena proleta	4
2.1.2. Prinos sekundarnih iona	6
2.2. Od keV-skog do MeV-skog SIMS-a	8
2.3. Desorpcija organskih molekula	10
2.3.1. Teorija udara	11
2.3.2. Toplinski modeli desorpcije	14
2.3.3. Model tlačnog udara	17
<b>3. Kapilarna mikroproba</b>	21
3.1. Transmisija ionskog snopa kroz kapilaru	22
3.2. Simulirani i izmjereni spektri i prostorna distribucija	24
<b>4. Eksperimentalni postav za MeV TOF-SIMS</b>	31
4.1. Komora za MeV TOF-SIMS	31
4.2. Reflektron TOF analizator	34
4.3. Okidači startnog signala	38
4.3.1. Okidanje startnog signala detekcijom primarnih iona	38
4.3.2. Okidanje startnog signala detekcijom sekundarnih elektrona	40
<b>5. Mjerenja razlučivosti i prinosa</b>	44
5.1. Utjecaj parametara reflektрона	44

5.1.1. Poboljšanje prinosa korištenjem detektora s postakceleracijom . . . . .	49
5.2. Masena razlučivost u transmisijskom načinu rada . . . . .	50
5.3. Masena razlučivost u postavu za debele mete . . . . .	53
5.3.1. Utjecaj vremena odgode na masenu razlučivost i prinos . . . . .	56
<b>6. Ovisnost prinosa o parametrima primarnog snopa . . . . .</b>	<b>58</b>
<b>7. Mapiranje odabranih uzoraka . . . . .</b>	<b>67</b>
7.1. Lateralna razlučivost . . . . .	67
7.2. Mapiranje u transmisijskom načinu rada . . . . .	70
7.3. Mapiranje u postavu za debele mete . . . . .	70
<b>8. Kolimiranje snopa aperturom . . . . .</b>	<b>74</b>
8.1. Lateralna razlučivost . . . . .	74
8.2. Okidač starta neovisan o meti . . . . .	76
8.3. Primjeri analize uzoraka . . . . .	79
<b>9. Zaključak . . . . .</b>	<b>83</b>
<b>Literatura . . . . .</b>	<b>86</b>
<b>Životopis . . . . .</b>	<b>98</b>

# Poglavlje 1

## Uvod

Masena spektrometrija sekundarnih iona mjerenjem vremena proleta (eng. Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry, TOF-SIMS) je tehnika kojom se kvalitativno analizira maseni sastav površinskih slojeva organskih i anorganskih materijala. Ioni iz primarnog snopa kojim se gađa uzorak, kroz različite mehanizme interakcije s molekulama uz površinu uzorka, dovode do desorpcije dijela molekula bombardiranog uzorka. Ionizirani dio desorbiranih molekula električnim se poljem usmjerava prema masenom spektrometru. Mjerenjem vremena proleta sekundarnih iona efektivno se mjeri njihova masa. Korištenjem primarnog snopa keV-skih energija moguće je analizirati 2D prostornu raspodjelu molekula (bilo skeniranjem snopa preko uzorka, bilo pomicanjem uzorka ispred fiksiranog snopa), težine do nekoliko stotina Da uz prostornu razlučivost i do 50 nm.[1, 2] Komercijalni TOF-SIMS uređaji nalaze primjene u različitim poljima, od analize poluvodičkih materijala [3], do primjena u biomedicini [2, 4], geologiji [5] i forenzici [6, 7].

U zadnjih petnaestak godina više laboratorija koji rade s ionskim snopovima MeV-skih energija izgradilo je TOF-SIMS postave.[8, 9, 10, 11, 12] U odnosu na konvencijalni SIMS, koji koristi keV-ski primarni snop s dominantnom nuklearnom zaustavnom moći, u MeV SIMS-u glavni mehanizam interakcije primarnog snopa i molekula na površini uzorka su elektronska pobuđenja, opisana elektronskom zaustavnom moći. Rezultat takve interakcije je nekoliko redova veličine veći prinos desorbiranih težih molekula te manja fragmentacija većih molekula.[13, 14, 15] Povećanim prinosom prošireno je područje masa koje je moguće analizirati (mapiranje do 1200 Da [8]), što omogućuje primjenu MeV SIMS-a u biomedicini [16, 17], forenzici [18, 19], analizi slikarskih materijala [20] i dr. Dodatno, smanjena fragmentacija olakšava analizu i interpretaciju složenih masenih spektara. Prostorna razlučivost ove metode je u rasponu od 1  $\mu\text{m}$



do nekoliko desetaka  $\mu\text{m}$ , ovisno o energiji i tipu primarnog iona i mogućnostima sustava za fokusiranje primarnog snopa.

TOF-SIMS tehnika se u Laboratoriju za interakcije ionskih snopova na Institutu Ruđer Bošković koristi od 2014. godine.[10] Masena razlučivost sustava opremljenog linearnim TOF analizatorom je  $m/\Delta m = 370$  za  $m = 131.2$  Da. Kao primarni snop najčešće se koristi  $\text{Si}^{4+}$  energije 8 MeV, što je najteži ion koji je moguće fokusirati postojećim sustavom. Naime, za fokusiranje primarnog snopa koriste se magnetske leće, tj. sustav magnetskih kvadrupola, s ograničenjem na fokusiranje iona mase  $m$ , energije  $E$  i naboja  $q$  za koje vrijedi:  $mE/q^2 < 14$ , što onemogućava korištenje težih iona većih energija koji imaju veću elektronsku zaustavnu moć, pa time i veći prinos težih molekula. Maseno neovisno fokusiranje je moguće postići upotrebom elektrostatskih leća (6 MeV  $\text{Cu}^{4+}$  je fokusiran na  $58.9 \times 72.5 \mu\text{m}^2$  za MeV SIMS [21]). Jeftinija alternativa je kolimacija primarnog snopa upotrebom borosilikatne kapilare [22, 23], gdje je donja granica dimenzija kolimiranog primarnog snopa određena izlaznim promjerom kapilare. Na ovaj način, kolimiranje ne ovisi o masi i energiji primarnih iona, što omogućuje korištenje teških iona (npr. Cu, I, Au) za mapiranje organskih uzoraka TOF-SIMS-om. Kod statičkog SIMS-a, gdje nema degradacije površine materijala i ukupni broj iona ne prelazi  $10^{12}$  iona/ $\text{cm}^2$ , koriste se male struje iona (2 – 3 fA iona), pa je kolimacija snopa prihvatljiva alternativa fokusiranju. Sam postupak instalacije i optimizacije transmisije snopa kroz kapilaru je puno jednostavniji i brži od magnetskog fokusiranja. Također, kapilara može držati razliku tlakova na izlazu i ulazu, pa je omogućena ekstrakcija snopa u zrak bez upotrebe tankog prozora na kraju kapilare koji dodatno proširuje snop (tzv. Ambient pressure MeV SIMS [24]). Umjesto monomera, zbog povećanog prinosa i manje fragmentacije u keV-skome SIMS-u danas se uobičajeno koriste klasteri od nekoliko iona do nekoliko tisuća iona [15, 25], pa je pomoću kapilare moguće kolimirati i manje klastere MeV-skih energija [26].

U ovom radu prikazan je rad na razvoju kapilarne mikroprobe za MeV TOF-SIMS namijenjene analizi organskih materijala. Nakon prvog poglavlja u kojem se iznose osnove TOF-SIMS tehnike i pregled teorija i eksperimenata koje opisuju desorpciju težih organskih molekula, u drugom poglavlju prikazani su najvažniji zaključci dosadašnjih proučavanja transmisije ionskih snopova kroz kapilare. Prikazani su izmjereni energijski spektri i prostorna distribucija koje su uspoređene sa simulacijama, za različite snopove iona korištene u ovom postavu. U sljedećem poglavlju opisan je eksperimentalni postav, s posebnim osvrtom na reflektornog TOF analizator i okidače startnog signala. Predstavljena su dva načina rada, transmisijski, koji uključuje detek-

ciju primarnog snopa pomoću čestičnog detektora smještenog iza uzorka, i način rada za debele mete, koji uključuje detekciju sekundarnih elektrona. U petom poglavlju razmatran je utjecaj parametara reflektora, okidača startnih signala i detektora sekundarnih iona na masenu razlučivost i prinos u oba načina rada. U idućem poglavlju proučavan je prinos sekundarnih iona organskog pigmenta plavog ftalocijanina u ovisnosti o energiji, tipu i naboju primarnih iona, radi odabira optimalnog primarnog snopa i usporedbe s teorijskim predviđanjima. U sedmom poglavlju prikazana su mjerenja lateralne razlučivosti i primjeri mapiranja različitih uzoraka u oba načina rada. Poslije kritičkog osvrtu na sve probleme do kojih dolazi kod korištenja kapilare, u posljednjem poglavlju je predstavljen alternativni postav u kojem se kolimacija primarnog snopa vrši aperturom. Prikazani su primjeri mapiranja s novim postavom napravljeni na uzorcima od interesa za MeV SIMS (presjek tinti na papiru, otisak prsta, presjek tkiva mozga). Na kraju su sumirani glavni zaključci i postignuti rezultati.

## **Poglavlje 2**

# **Osnove masene spektrometrije sekundarnih iona mjerenjem vremena proleta (TOF-SIMS)**

Masena spektrometrija sekundarnih iona mjerenjem vremena proleta (eng. Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry, TOF-SIMS) jedna je od najvažnijih metoda masene spektrometrije, koja već više od pola stoljeća nalazi brojne primjene. Uz MALDI (eng. Matrix Assisted Laser Desorption and Ionisation)[27] i DESI (eng. Desorption Electrospray Ionization)[28] najkorištenija je i najnaprednija tehnika za molekularno mapiranje. Dok se kod DESI-ja kao pobuda koristi tzv. električni sprej nabijenih otopljenih čestica pri atmosferskom tlaku, a kod MALDI-ja fokusirana laserska zraka na uzorku koji je prethodno obložen matricom nužnom za desorpciju molekula, kod SIMS-a se kao pobuda koristi snop iona, monomera ili klastera, energije od nekoliko keV-a do desetina MeV-a. Za razliku od MALDI-ja, SIMS ne zahtjeva posebnu pripremu uzorka, i, kada se koristi dovoljno niska doza (tzv. statički SIMS), možemo ga svrstati u red nedestruktivnih tehnika.

### **2.1 TOF-SIMS**

#### **2.1.1 Mjerenje vremena proleta**

Osnovni princip TOF SIMS-a je jednostavan: ionizirane rasprašene (ili desorbirane, ako je riječ o molekulama) molekule i atomi ubrzaju se na zadanu energiju, izmjeri im se vrijeme

proleta preko poznate duljine puta i na osnovu vremena se odredi masa detektiranih sekundarnih iona. U linearnom TOF analizatoru, sekundarni ioni se nakon ubrzavanja gibaju pravocrtno do detektora gdje se bilježi vrijeme njihova dolaska. Nakon kratkog vremena  $t_a$  koje sekundarni ion mase  $m$  provede ubrzavajući se između mete i ekstraktora udaljenih za  $d$  u razlici potencijala  $V_0$ , ion putuje vrijeme  $t_D$  driftnom brzinom  $v = \sqrt{2E/m} = \sqrt{2qV_0/m}$  kroz područje duljine  $L$ , čime ukupno izmjereno vrijeme  $t$  postaje:

$$t = t_a + t_D + t_0 = \frac{v}{a} + \frac{L}{v} + t_0 = \frac{\sqrt{2qV_0/m}}{qV_0/md} + \frac{L}{\sqrt{2qV_0/m}} + t_0 = A\sqrt{\frac{m}{q}} + t_0, \quad (2.1)$$

gdje je  $t_0$  vrijeme obrade signala. Pretpostavljeno je da svi ioni imaju istu kinetičku energiju i inicijalnu energiju nula. Odavde slijedi izraz za masu detektiranog iona, tj. za omjer  $m/q$ :

$$m/q = (\alpha t + \beta)^2, \quad (2.2)$$

gdje su  $\alpha$  i  $\beta$  kalibracijske konstante koje ovise o dimenziji instrumenta, naponu ekstrakcije i detaljima elektroničkog lanca. Načelno, bilo bi moguće kalibrirati izmjereni spektar preko prethodnog izraza, no u praksi se za kalibraciju svakog spektra koriste mase nekoliko poznatih vrhova u spektru (barem tri jer je riječ o kvadratnoj kalibracijskoj funkciji).

Za slučaj kada je driftno područje (područje gdje je električno polje jednako nuli) mnogo veće od dijela putanje gdje dolazi do ubrzanja (a što je gotovo uvijek slučaj), izraz za masu može se aproksimirati s:

$$m = \frac{2Et^2}{L^2}. \quad (2.3)$$

Masenu razlučivost definiramo kao omjer mase vrha i njegove širine. Rasap u izmjenom vremenu proleta  $\Delta t$  utječe na izmjerenu masenu razlučivost:

$$\frac{m}{\Delta m} = \frac{t}{2\Delta t}. \quad (2.4)$$

Vremenska razlučivost ovisi o načinu okidanja startnog signala, brzini detektora sekundarnih iona i sustavu za digitaliziranje podataka (o čemu će više govora biti u poglavljima 4 i 5).

Ovisnost o neodređenosti putanje sekundarnih iona prikazana je kroz izraz:

$$\frac{m}{\Delta m} = \frac{L}{2\Delta L}. \quad (2.5)$$

Mjesto nastanka iona je određeno mjestom interakcije primarnog snopa i mete te je u slučaju kolimiranog snopa vrlo dobro definirano. Elektrostatski elementi (Einzel leća) koriste se za fokusiranje putanje sekundarnih iona kroz analizator. Iz izraza se vidi da je problem manji za dulju putanju (za koju je i vrijeme proleta veće, pa je manja relativna nepouzdanost izmjerenog vremena proleta).

Treći, i najbitniji faktor je ovisnost o energijskoj distribuciji:

$$\frac{m}{\Delta m} = \frac{E}{\Delta E}. \quad (2.6)$$

Sam napon ekstrakcije je u slučaju konstantne ekstrakcije vrlo stabilan, stoga nije značajan faktor. Bitan faktor je inicijalna energijska distribucija sekundarnih iona: pri desorpciji ioni nemaju identičnu energiju ni smjer, nego energiju od nekoliko eV (1-10 eV) sa širinom raspodjele u tom rasponu.[29, 30] Tako će ioni iste mase imati različita vremena proleta, što dovodi do kvarenja razlučivosti. Većim naponom ekstrakcije može se smanjiti relativni doprinos inicijalne energije, ali potpuno rješavanje problema nije moguće s linearnim TOF analizatorom. Za poboljšanje razlučivosti s obzirom na problem energijskog rasapa koristi se metoda odgođene ekstrakcije ili drukčiji tip analizatora, reflektrom, o čemu će biti više govora u četvrtom i petom poglavlju. Sumirajući ova tri doprinosa, može se napisati izraz za masenu neodređenost [31]:

$$\Delta m = \sqrt{\left(\frac{2\Delta t\sqrt{2E}}{L}\sqrt{m}\right)^2 + \left(\frac{\Delta E}{E}m\right)^2 + \left(\frac{2\Delta L}{L}m\right)^2}. \quad (2.7)$$

Ukoliko je vremenska neodređenost dominantna, masena neodređenost će slijediti korijensku ovisnost o masi. U slučaju dominacije energijske neodređenosti ili neodređenosti u putanji iona, ovisnost masene neodređenosti o masi bit će linearna.

### 2.1.2 Prinos sekundarnih iona

Broj detektiranih pozitivnih sekundarnih iona  $I_m$  vrste  $m$  određen je sljedećom jednačinom [30]:

$$I_m = I_p Y_m \alpha^+ \theta_m \eta, \quad (2.8)$$

gdje je  $I_p$  struja primarnih iona,  $Y_m$  je desorpcijski prinos,  $\alpha^+$  vjerojatnost ionizacije za pozitivne ione,  $\theta_m$  relativna koncentracija čestica vrste  $m$  i  $\eta$  koeficijent transmisije analizatorskog sustava.

Prvi fundamentalni parametar je desorpcijski prinos, tj. ukupni broj desorbiranih čestica neke vrste, neutralnih ili ioniziranih, po primarnom ionu. Desorpcijski prinos ovisi o primarnom snopu, tj. o masi, energiji i naboju primarnih iona, i to nelinearno. Drugi fundamentalni parametar je vjerojatnost ionizacije: ogromna većina desorbiranih čestica je neutralna, tek otprilike 1 na 10 000 je ionizirana. Procesi izmjene elektrona između desorbirane čestice i površine jako utječu na formiranje sekundarnih iona, stoga je elektronsko stanje površine ključno za prinos sekundarnih iona. Prinosi iona mogu varirati i nekoliko redova veličine s obzirom na kemijsko stanje površine: prinos istog elementa može se značajno razlikovati u slučaju kada je isti desorbiran s površine metala ili oksida. Taj utjecaj površine zove se matrični efekt i, premda je manje izražen kod organskih uzoraka nego kod anorganskih, efektivno sprječava kvantifikaciju metode. Efekt matrice se, s druge strane, kod MALDI-ja koristi za značajno povećanje prinosa teških molekula (proteina) koji se ne mogu analizirati pomoću SIMS-a.

Postoje različiti načini formiranja sekundarnih iona: izbacivanje elektrona rezultira kreiranjem iona s manjkom elektrona  $M^+$ , polarne molekule mogu imati reakciju kiselinske baze i formirati  $[M+H]^+$  ili  $[M-H]^\pm$  ione, a može doći i do kationizacije ili anionizacije neutralnih molekula ukoliko su isti prisutni u matrici (npr. vezanje za K, Cl i dr). Kod niskomasenih fragmenata ionizacija je najčešće rezultat direktne interakcije s primarnim snopom ili odbijenim atomima unutar materijala. Točno mjesto na kojem dolazi do ionizacije nije poznato, ali je sigurno unutar emisijskog područja ili tik uz površinu materijala.

Uz cijele molekule, u masenom su spektru prisutni brojni fragmenti molekularnih iona. Njihova prisutnost je dvojaka: dok s jedne strane značajno usložnjavaju maseni spektar i tako otežavaju njegovu analizu, s druge strane pružaju mnogo informacija o strukturi analiziranih spojeva. Analizirajući fragmente malih organskih molekula, moguće je otkriti identitet i uređenje funkcionalnih grupa; tako kod peptida fragmenti daju informaciju o poretku aminokiselina. Stupanj fragmentacije ovisi o dostupnom višku energije potrebnom za pobudu unutarnjih stupnjeva slobode (tj. o načinu desorpcije i ionizacije, što je izravno povezano s primarnom pobudom) i jakosti unutarnjih veza. Fragmentacija se može dogoditi bilo kada, od samog trenutka desorpcije (ili ionizacije), pa duž putanje kroz analizator. S obzirom na trenutak u kojem nastaje fragmentacija, može se razlikovati tri tipa fragmentacije: promptna, metastabilna i post-izvorna fragmentacija.[32] Promptna fragmentacija je nerazlučiva u vremenu i prostoru od samog ionizacijskog događaja, tj. događa se pri samoj površini ili u ionizacijskoj zoni. Takvi fragmenti se ubrzavaju na istu konačnu kinetičku energiju kao i molekularni ioni, tj. njihova vremena pro-

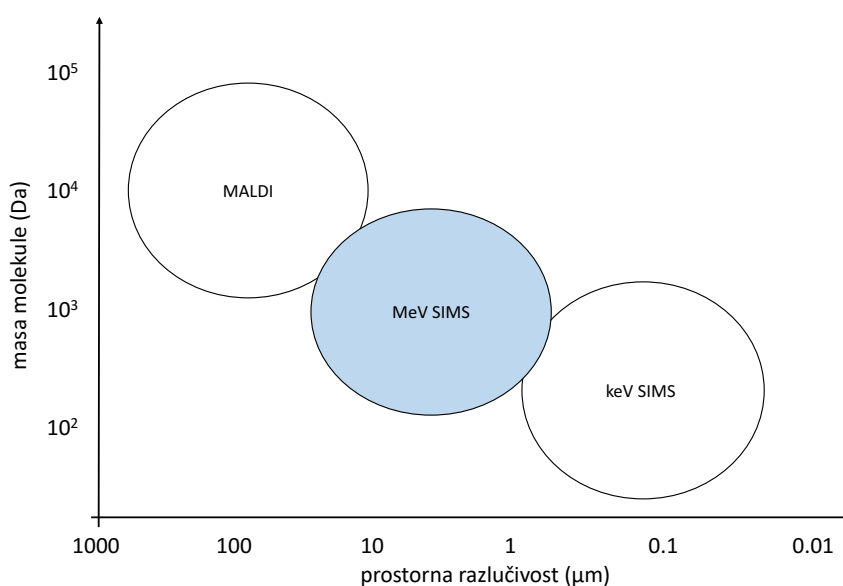
leta slijede istu korijensku ovisnost o masi. Metastabilna fragmentacija se događa za vrijeme akceleracije, i u tom slučaju ioni ulaze u driftno područje s brzinama između brzine pripadnog molekularnog iona i brzine fragmenta koji je nastao uz površinu uzorka. Ovakva fragmentacija ima negativni utjecaj na masenu razlučivost, tj. dovodi do stvaranja repa u molekularnom vrhu prema nižim masama te do povećanja spektralne pozadine. Treća vrsta fragmentacije se događa u driftnom području analizatora. U tom slučaju nastali fragment ima istu brzinu kao njegov molekularni ion i ne kviri bitno masenu razlučivost, ali u linearnom analizatoru dolazi do gubitka strukturne informacije.

## 2.2 Od keV-skog do MeV-skog SIMS-a

Do 1970-tih i pionirskog rada Alfreda Benninghovea i grupe iz Münstera [33, 34], SIMS se radio s velikim primarnim strujama koje su oštećivale i uklanjale stotine slojeva materijala (tzv. dinamički SIMS), pa se SIMS koristio uglavnom za elementno dubinsko profiliranje poluvodičkih materijala. Benninghovenova grupa uvodi tzv. statički SIMS, koji koristi vrlo male doze (ne više od  $10^{12}$  iona/cm<sup>2</sup>, tzv. statički limit, ekvivalentno jednom ionu na 100 nm<sup>2</sup>), koje omogućuju da manje od 1% atoma i molekula u površinskom sloju doživi interakciju s ionom, tj. da niti jedno mjesto na površini uzorka ne doživi više od jedne interakcije s ionom. Uklonjene čestice dolaze iz područja ne većeg od 10 nm i daleko su od pozicije iduće interakcije, što znači da spektralna informacija dolazi iz praktički neoštećene površine uzorka.[30] Ovo je omogućilo korištenje SIMS-a za atomsko i molekularno mapiranje površina širokog spektra uzoraka, od poluvodiča do organskih materijala. Na početku su se monomeri keV-skih energija upotrebljavali kao primarni snopovi (Ar<sup>+</sup>, Ga<sup>+</sup>, Cs<sup>+</sup>), međutim, od dvijetisućitih kreće komercijalna upotreba klusterskih i višeatomnih ionskih snopova za pobudu: Au<sub>3</sub><sup>+</sup>, Bi<sub>3</sub><sup>+</sup>, SF<sub>5</sub><sup>+</sup>, C<sub>60</sub><sup>+</sup>, Ar<sub>2000</sub><sup>+</sup>. [35] Metalni klasteri Au<sub>n</sub><sup>+</sup>, Bi<sub>n</sub><sup>+</sup> energija nekoliko desetaka keV omogućuju veću prostornu razlučivost i pružaju  $10^2 - 10^4$  bolji prinos nego Ga<sup>+</sup> snop, te proširuju područje mapiranja do mase 1500 Da. S višeatomnim snopovima SF<sub>5</sub><sup>+</sup>, C<sub>60</sub><sup>+</sup>, Ar<sub>n</sub><sup>+</sup> i H<sub>2</sub>O<sub>n</sub> ( $n = 500 - 10000$ ), osim povećanja prinosa dolazi do značajno smanjenog oštećenja uzrokovanih snopom: njihovo oštećenje je mnogo pliće nego u slučaju monomernih snopova, što omogućuje uklanjanje sloja po sloja materija, tj. analizu slojeva ispod površinskih koji nisu prethodno oštećeni snopom. Time je omogućeno i dubinsko molekularno profiliranje organskih, bioloških uzoraka. Današnji komercijalni keV TOF-SIMS uređaji nude mapiranje molekula težine do nekoliko stotina

Da uz lateralnu razlučivost i do 50 nm.[1, 2, 36] Primjene su brojne, od analize poluvodičkih materijala[3], do primjena u biomedicini [2, 4, 37], geologiji [5] i forenzici [6, 7].

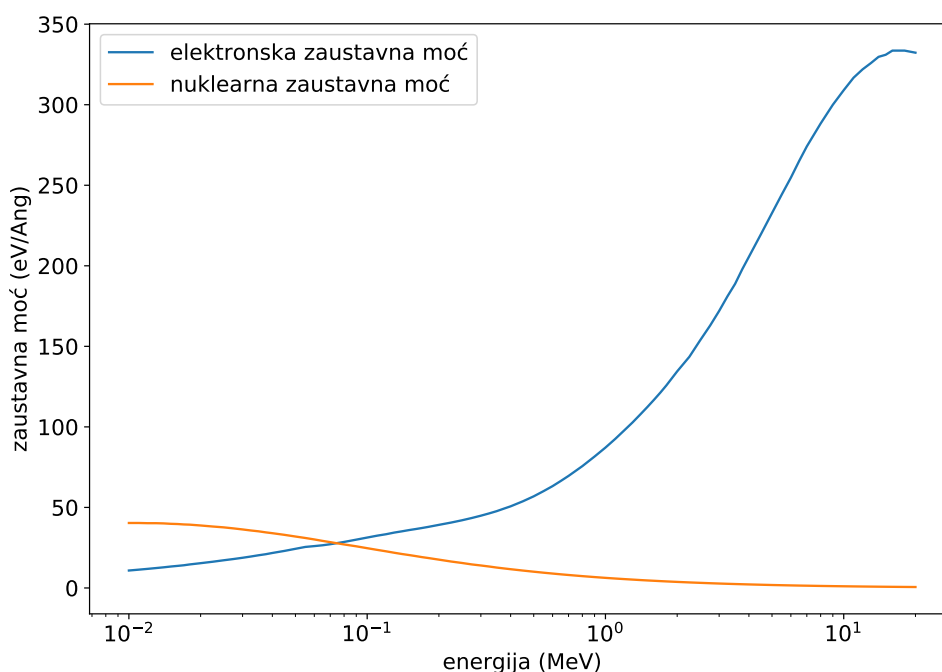
Prva primjena MeV-skih iona za TOF-SIMS seže u 1974. kada su izmjereni maseni spektri aminokiselina arginina i cistina koristeći fisijske fragmente radioaktivnog  $^{252}\text{Cf}$ . [38] Dvije godine kasnije, ova tehnika je nazvana PDMS (Plasma Desorption Mass Spectrometry). [39] Prinosi izmjerenih molekula bili su dosta veći (više redova veličine) nego u standardnom keV SIMS-u, i nisu bili objašnjivi unutar kaskadne teorije koja je objašnjavala mehanizam raspršavanja u keV SIMS-u. Tijekom osamdesetih, napravljeni su brojni eksperimenti s različitim MeV-skim snopovima u kojima su mjereni prinosi različitih organskih molekula i koji su imali za cilj objasniti povećane prinose, i njihove ovisnosti o primarnom snopu. [13, 40, 40, 41] Međutim, zbog potrebe korištenja radioaktivnog izvora, PDMS tehnika nije bila dugog vijeka. Dvadeset godina kasnije radom grupe iz Kyota [8], koja je i nazvala metodu MeV SIMS, demonstriran je tisuću puta veći molekularni prinos za peptide mase 1154 Da u odnosu na prinos dobiven keV SIMS-om. Nakon toga, SIMS s MeV-skim snopovima biva prepoznat kao moćan alat koji se može iskoristiti za različite primjene. Postave za MeV SIMS grade laboratoriji u Kyotu [8], Surreyu [9], Zagrebu [10], Ljubljani [11] i Zürichu [12]. Drukčiji mehanizam interakcije, gdje dominiraju elektronska pobuđenja površinskih slojeva materijala nasuprot nuklearnim interakcijama koje dominiraju kod keV-skih snopova, prepoznat je kao glavni razlog koji donosi mnogo veći prinos težih molekula i manju fragmentaciju, što omogućuje mapiranje molekula čije mase idu i do 1200 Da. Na slici 2.1 prikazana je usporedba različitih tehnika



**Slika 2.1:** Prikaz mogućnosti tri tehnike masene spektrometrije: MALDI, MeV SIMS, keV (monomerni) SIMS. Uspoređene su prostorne razlučivosti i maseno područje koje obuhvaćaju pojedine metode.



masene spektrometrije s obzirom na maseno područje koje obuhvaćaju i prostornu razlučivost. Monomerski keV SIMS pruža superiornu prostornu razlučivost, koja omogućuje mapiranje na staničnom nivou, ali područje masa je ograničeno na nekoliko stotina Da. To područje se proširuje u zadnje vrijeme upotrebom klusterskih i višeatomnih snopova, dodavanjem matrica (tzv. Matrix Enhanced SIMS)[42] i metalizacijom (tzv. Metal assisted SIMS)[43]. S druge strane, MALDI ima pristup značajno većem masenom području, uz mapiranje molekula mase i do 25 kDa, ali s tipičnom lateralnom razlučivosti od 20 do 100  $\mu\text{m}$  [44], ograničenom matričnim kristalom i veličinom laserskog snopa, koja omogućava mapiranje većih dijelova tkiva. MeV SIMS nalazi nišu između te dvije tehnike: dosta manji maseni raspon od MALDI-ja, ali bolja lateralna razlučivost; lošija prostorna razlučivost od keV SIMS-a, ali povećan prinos težih molekula i manja fragmentacija. MeV SIMS danas pronalazi primjene u forenzici [18, 19, 45], analizi bioloških uzoraka [17, 46, 47, 48], uključujući pojedinačne stanice [16], analizi slikarskih materijala [20, 49] i dr.



**Slika 2.2:** Elektronska i nuklearna zaustavna moć iona silicija u leucinu, za širok raspon energija iona silicija (od 10 keV do 20 MeV). Zaustavne moći izračunate su korištenjem programa SRIM [50].

## 2.3 Desorpcija organskih molekula

Mehanizam rasprašenja (eng. sputtering) čestica s površine nekog materijala ovisi o različitim faktorima: načinu pobude materijala (čestični ili laserski snop, pojedinačni ioni ili klasteri,

visoka ili niska energija), vrsti materijala (organski ili neorganski, metal ili izolator, kristal ili amorfan) i samom tipu raspršenih čestica (atomi ili organske molekule). Kod SIMS-a se za pobudu koriste pojedinačni ioni ili ionski klasteri energija od nekoliko keV-a do desetina MeV-a. U interakciji keV-skih projektila s čvrstim materijalom, gdje je brzina projektila manja od Bohrove brzine  $v_{\text{Bohr}}$ , dolazi do prijenosa energije atomima mete kroz zasjenjene elastične sudare jezgara atoma. Atomi mete daljnjim interakcijama pokreću sekundarne sudare i dolazi do kaskade sudara. Kaskada atoma prenosi energiju atomima i molekulama na i blizu površine, i ukoliko je prenesena energija veća od površinske energije vezanja, dolazi do desorpcije. Teorijski, prinos u tom slučaju ovisi linearno o nuklearnoj zaustavnoj moći  $(dE/dx)_n$ . [51] Ipak, ovakvim mehanizmom interakcije dolazi do velike fragmentacije većih molekula, pa su raspršeni uglavnom atomi i lakše molekule i fragmenti većih molekula. Za desorpciju većih (težih) molekula, predloženi su drukčiji mehanizmi, koji zahtjevaju "mekšu" interakciju projektila i molekula mete. Kod MeV-skih iona, gdje je prinos takvih, težih molekula značajno veći nego kod keV-skih monomerskih projektila, dominantnu ulogu igra elektronska zaustavna moć  $(dE/dx)_e$  (slika 2.2). Najvažniji teorijski modeli koji pokušavaju objasniti desorpciju težih molekula, a time i dominantni mehanizam interakcije MeV-skih iona s organskim čvrstim metama, izloženi su ukratko u idućim potpoglavljima, prema pregledu u knjizi [52].

### 2.3.1 Teorija udara

Teorija udara (eng. hit theory) [41, 53, 54] pretpostavlja da ion MeV-ske energije deponira energiju kroz interakciju s elektronima u materijalu, ovisno o elektronskoj zaustavnoj moći iona. Otprilike polovica energije se deponira u uskom cilindričnom području, radijusa  $1 - 10 \text{ \AA}$ , nazvanim infra-trag (eng. infratrack). Druga polovica energije se deponira u cilindričnom području značajno većeg radijusa ( $10 - 100 \text{ \AA}$ ), zvanim ultra-trag (eng. ultratrack), i to od strane visokoenergijskih sekundarnih elektrona, zvanih i delta zrake. Ti elektroni, nastali primarnom interakcijom u infra-tragu, pobuđuju (kroz interakciju s elektronima) i ioniziraju prostor oko infra-traga. Središnja pretpostavka teorije jest da će molekula blizu površine biti desorbirana ako pretrpi minimalno  $i_{\text{min}}$  udara, tj.  $i_{\text{min}}$  interakcija s delta-elektronima. Da bi molekula bila desorbirana netaknuta, tj. nefragmentirana, sve unutarnje (intra-molekularne) veze moraju biti očuvane, a vanjske (vodikove i van der Waalsove) prekinute .

Neka je  $\eta_F(r)$  prosječan broj prekinutih unutarnjih veza na udaljenosti  $r$  okomito na stazu

upadnog iona, a  $\eta_D(r)$  prosječan broj prekinutih vanjskih veza. Može se napisati:

$$\eta_F(r) = \frac{\varepsilon(r)}{n_M W_F}, \quad \eta_D(r) = \frac{\varepsilon(r)}{n_M W_D}, \quad (2.9)$$

gdje je  $\varepsilon(r)$  gustoća energije deponirana na udaljenosti  $r$  od ionske staze,  $n_M$  gustoća broja molekula, a  $W$  energija potrebna za prekidanje veze. Hedin et al.[41] su u svom modelu na osnovu prirode gubitka energije sekundarnih elektrona i distribucije njihove kinetičke energije pretpostavili funkcijsku ovisnost  $\varepsilon(r)$  kao:

$$\varepsilon(r) \propto \frac{(dE/dx)_e}{r^2}. \quad (2.10)$$

Sljedeća pretpostavka modela jest da je broj udara koje primi molekula određen Poissonovom distribucijom. Dakle, ako je prosječan broj udara  $\eta$ , vjerojatnost  $\Pr(i)$  da će molekula pretrpjeti  $i$  udara je određena izrazom:

$$P(i) = \frac{\eta^i}{i!} e^{-\eta}, \quad (2.11)$$

odakle slijedi da je vjerojatnost da molekula primi najmanje  $i_{\min}$  udara jednaka:

$$P(i \geq i_{\min}) = \sum_{i=i_{\min}}^{\infty} \frac{\eta^i}{i!} e^{-\eta}. \quad (2.12)$$

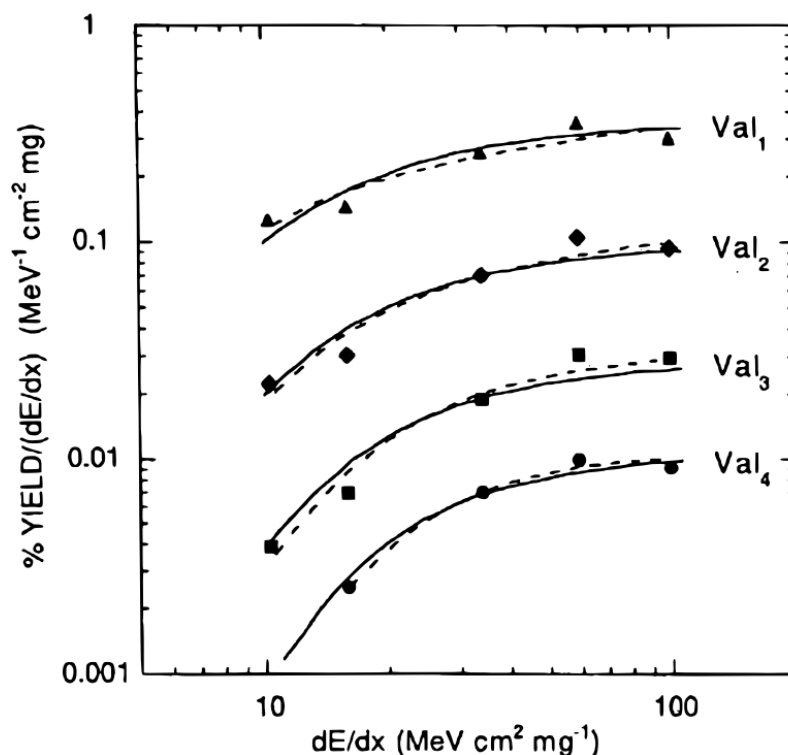
Udarni presjek  $\sigma$  za desorpciju molekula se može napisati:

$$\sigma = \int_0^{\infty} 2\pi r P_s(r) P(i \geq i_{\min}, \eta(r)) dr, \quad (2.13)$$

gdje je  $P_s(r)$  vjerojatnost da će desorbirana molekula na udaljenosti  $r$  ostati netaknuta, tj. ne-fragmentirana. Za  $P_s(r)$  se može aproksimirati da je 0 za  $0 < r < r_d = L/2 + 1 \text{ \AA}$ , gdje je  $L$  linearna veličina molekule, a  $1 \text{ \AA}$  približna veličina brzog iona. To znači da će molekula sa središtem na udaljenosti manjoj od  $r_d$  biti zahvaćena i fragmentirana ionom sa 100%-tnom vjerojatnošću. Uzimajući sve prethodne izraze u obzir, može se napisati izraz za desorpcijski molekularni prinos  $Y$ , po primarnom ionu (za ion čija staza prolazi kroz  $r = 0$ ):

$$Y = P_{\text{ion}} Z_{\text{avg}} n_M \int_{r_d}^{\infty} 2\pi r dr e^{-\eta_F(r)} \sum_{i=i_{\min}}^{\infty} \frac{\eta_D^i(r)}{i!} e^{-\eta_D(r)}, \quad (2.14)$$

gdje je  $P_{\text{ion}}$  vjerojatnost (pozitivne ili negativne) ionizacije pri desorpciji, a  $Z_{\text{avg}}$  prosječna du-



**Slika 2.3:** Prinos valina,  $C_5H_{11}NO_2$ , podijeljen s  $(dE/dx)_e$  naspram  $(dE/dx)_e$  za monomere i klastere (do tetramera) valina s MeV-skim primarnim snopom. Puna linija predstavlja prilagodbu napravljenu pomoću modela ionskih staza, za vrijednosti  $i_{\min} = 4, 5, 6, 7$  od monomera do tetramera. Isprekidana linija predstavlja rezultate Luccheseovog temperaturnog modela (desorpcija isparavanjem). Slika je preuzeta iz [41].

bina na kojoj dolazi do desorpcije. Integral divergira za  $i_{\min} = 1$ , međutim, prilagodba na podatke iz eksperimenata daje  $i_{\min} > 1$ . Za velike vrijednosti elektronske zaustavne moći,  $Y$  je proporcionalan  $(dE/dx)_e$  (slijedi iz jednadžbe 2.10), dok se za manje vrijednosti zaustavne moći predviđa jača ovisnost  $Y \propto (dE/dx)_e^n$ , gdje je  $n > 1$ .

Model je uspješno primijenjen na analizu eksperimentalno izmjerenih prinosa monomera i klastera valina ( $C_5H_{11}NO_2$ ,  $m = 117.15$  Da). Na slici 2.3 vidi se oštriji rast za manje vrijednosti zaustavne moći i saturacija na većim vrijednostima, kao što je predviđeno modelom. Prilagodbom faktora  $i_{\min}$  na podatke utvrđeno je da rastom klastera raste i  $i_{\min}$ , tj. molekuli je potreban veći broj udara za desorpciju. Ipak, ograničenja modela su u nedovoljnom tretiranju ionizacije, za koju se uvodi samo konstanta proporcionalnosti, pa recimo nije moguće objasniti izmjereni prinos manjih neutralnih organskih molekula koji slijede ovisnost:  $Y \propto (dE/dx)_e^3$ . [55] Također, i spektri u keV SIMS-u sadrže vrhove na višim masama (naravno s dosta manjim prinosom), iako je broj stvorenih sekundarnih elektrona vrlo mali. [56]



**Slika 2.4:** Shematski prikaz dva mehanizma toplinske desorpcije. Lijevo je prikazana aktivirana desorpcija, tj. isparavanje. Desno je prikazana desorpcija komada materijala poslije nepovratnog prijelaza u plinovitu fazu. Slika je reproducirana iz [52].

### 2.3.2 Toplinski modeli desorpcije

Kvalitativno, model pretpostavlja lokalno deponiranje energije u malom volumenu nakon udara iona. Nadalje, bilo kao rezultat sudara (opisano nuklearnom zaustavnom moći) bilo kao rezultat elektronskih pobuđenja (opisanih elektronskom zaustavnom moći), čestice materijala primaju određeni iznos kinetičke energije. U slučaju kada gotovo sve čestice u pobuđenom području prime dovoljno kinetičke energije, područje se naziva temperaturni šiljak (eng. thermal spike) i karakterizirano je temperaturom  $T = T(\mathbf{r}, t)$  koja evoluira u vremenu i prostoru kroz izmjenu topline. Pobuđeno područje se širi, i hladi, do potpunog vraćanja u ravnotežu.

Dva su različita mehanizma desorpcije molekula kao posljedica temperaturnog šiljka u materijalu: u prvom, koji se naziva temperaturno aktivirana desorpcija, dolazi do isparavanja jedne po jedne molekule iz zagrijanog područja. Drugi mehanizam pretpostavlja emisiju cijelog pobuđenog područja odjednom, kroz trenutačno isparavanje (eng. bulk desorption).

Prvi pristup započinje s jednažbom vođenja topline:

$$\nabla \cdot \{ \kappa(T) \nabla T \} = C(T) \frac{\partial T}{\partial t}, \quad (2.15)$$

gdje je  $\kappa(T)$  toplinska vodljivost, a  $C(T)$  specifična toplina materijala mete. U slučaju MeV-skog iona koji međudjeluje s organskom metom kroz elektronski rasap energije, prikladno je koristiti cilindričnu geometriju, kao u prethodnom modelu. Za taj slučaj, Mozumder et al.[57] dali su rješenje za toplinsku jednažbu:

$$T(r, t) = \frac{T_0}{1 + 4\delta t / r_0^2} \exp \left\{ \frac{-r^2}{r_0^2 + 4\delta t} \right\}. \quad (2.16)$$

U ovoj jednadžbi  $r$  je okomita udaljenost od osi ionskog traga,  $t$  je vrijeme proteklo od upada iona na metu,  $\delta = \kappa/C$  je toplinska difuzivnost, a dodatno se pretpostavlja neovisnost  $\kappa$  i  $C$  o temperaturi. Rješenje pretpostavlja normalnu, prostorno usku, distribuciju u početnoj temperaturi  $T_0$  s početnom širinom  $r_0$ . Veza između  $T_0$  i  $r_0$  dana je formulom:

$$T_0 = \frac{1}{\pi \rho C_v r_0^2} \left( \frac{dE}{dx} \right)_e, \quad (2.17)$$

gdje je  $\rho$  masena gustoća mete, a  $C_v$  toplinski kapacitet po jedinici mase. Dakle, početni temperaturni puls se prijenosom topline širi i slabi kako se udaljava od početnog položaja.

Generalni izraz za desorpcijski prinos u ovom modelu zadan je preko površinskog integrala:

$$Y = \int_0^\infty dt \int_0^\infty 2\pi r dr \Phi [T(r,t)]. \quad (2.18)$$

$\Phi$  je toplinski aktiviran tok čestica koje isparavaju s površine uzorka, ovisan o lokalnoj temperaturi. Tipičan izbor za  $\Phi$  je izraz za idealni plin koji isparava pri stalnoj gustoći preko plošne površinske barijere, izračunat iz Maxwell-Boltzmannovog zakona:

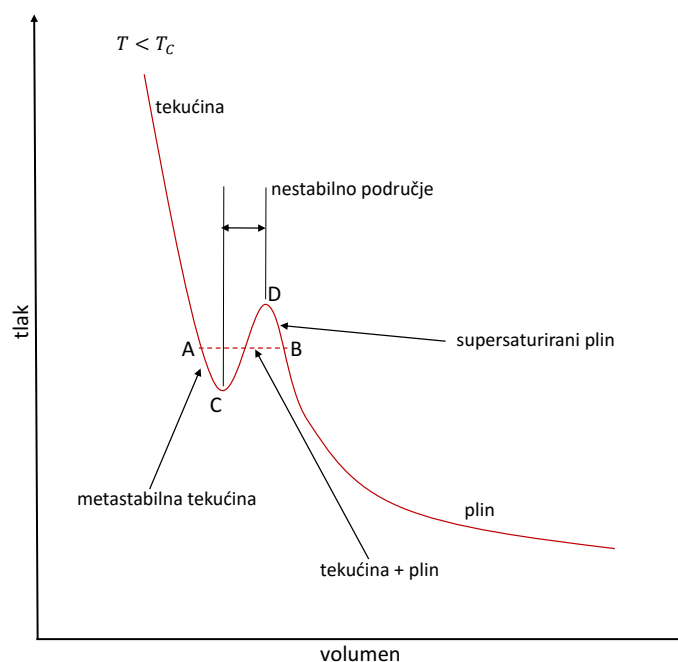
$$\Phi = \frac{n_M k T}{\sqrt{2\pi M k T}} \exp\left(-\frac{U}{kT}\right), \quad (2.19)$$

gdje je  $U$  površinska energija vezanja,  $n_M$  gustoća broja molekula,  $M$  molekularna masa, a  $k$  Boltzmannova konstanta. Ponekad se koristi i jednostavniji, Arrheniusov izraz:  $\Phi \propto \exp(U/kT)$ . Skaliranje  $Y$  s  $(dE/dx)_e$  je razmatrano od Johnsona i Evatta [58] i Johnsona [54]. Uz pretpostavku vrlo uskog (delta funkcija) početnog pobuđenog područja ( $r_0$  i  $U/kT$  mali), za rezultat u cilindričnoj geometriji se dobije:

$$Y \propto (dE/dx)_e^2. \quad (2.20)$$

S druge strane, kada se pretpostavi šira početna staza, ovakva ovisnost o zaustavnoj moći vrijedi samo za velike vrijednosti zaustavne moći. Za manje vrijednosti, prinos se mijenja brže s  $(dE/dx)_e$ . Predložena su i rješenja koja pretpostavljaju sferičnu geometriju i temperaturno ovisne  $\kappa$  i  $C$ . [58, 59] Johnson et al. [60] predložili su mehanizam koji ne pretpostavlja lokalnu temperaturnu ravnotežu, ali i u takvom slučaju ostaje skaliranje prinosa s kvadratom elektronske zaustavne moći.

Jedna od ključnih primjedbi ovoj vrsti modela jest pretpostavka lokalnog temperaturnog ekvilibrija: ako je područje uzorka u ravnoteži, dok molekula stekne dovoljno translacijske kine-



**Slika 2.5:** p-V krivulja materijala za fazni prijelaz tekućina-plin. Dio A-C predstavlja metastabilnu tekućinu, D-B supersaturirani plin, a dio C-D apsolutno nestabilno stanje tekućine, karakterizirano nepovratnim prijelazom u plinovito stanje. Slika je reproducirana iz [52].

tičke energije da bi mogla ispariti s uzorka, za isto vrijeme je stekla i više nego dovoljno unutar-nje energije za disocijaciju, što bi onda pretpostavljalo golemu fragmentaciju. Jedna od predloženih rješenja dopušta mogućnost toplinske desorpcije s "ohlađenim" unutarnjim modovima.[61]

Lucchese [62] je razvio nešto modificirani toplinski model (brzina desorpcije eksponencijalne prirode i to samo s prvog površinskog sloja) koji, za dovoljno veliku zaustavnu moć, predviđa blaže skaliranje:  $Y \propto (dE/dx)_e^1$ . Ovaj model uspješno je primijenjen na izmjerene prinose lakših aminokiselina (slika 2.3). Ovi toplinski modeli ne opisuju dobro desorpciju težih organskih molekula (proteina): predviđaju kosinusnu kutnu distribuciju, međutim, eksperimenti pokazuju da je postoji preferirani, ne-okomiti smjer. Takvu kutnu distribuciju dobro opisuje model tlačnog udara.

U slučaju kada lokalno deponirana energija uzrokuje nagli prijelaz određenog volumena krutog tijela ili tekućine u plinovitu fazu, koji onda napušta površinu uzorka, govorimo o 'desorpciji komada' (eng. bulk desorption), koji se zove i desorpcija faznom eksplozijom ili desorpcija tokom plina. Postoje različiti pristupi modeliranju ovog procesa, od jednostavne termodinamičke slike [63] do simulacija molekularne dinamike [64, 65]. Najjednostavniji pristup započinje s dijagramom tlaka i volumena (p-V dijagramom) za materijal koji prolazi kroz fazni prijelaz tekućina-plin (slika 2.5). Za temperature ispod kritične temperature  $T_c$ , sa snižavanjem

tlaka kroz povećanje volumena dolazi se do područja konstantnog tlaka (isprekidana linija na slici). U tom području, zbog heterogene nukleacije, tekućina isparava (kuha) dok se volumen povećava, bez promjene tlaka. Kada sva tekućina ispari, tlak opet pada povećanjem volumena (i obratno u obrnutom procesu). U nedostatku heterogene nukleacije, dolazi do drukčijeg ponašanja. Prekomjerna ekspanzija, preko volumena gdje inače počinje isparavanje, ne dovodi do isparavanja i nastaje metastabilna tekućina. I slično s druge strane, prekomjerna kompresija, ne dovodi do kondenzacije nego do stvaranja metastabilnog ili supersaturiranog plina. Krivulja koja povezuje metastabilnu tekućinu i supersaturirani plin (između točaka C i D na slici) zadovoljava relaciju:

$$\left(\frac{\partial p}{\partial V}\right)_T \geq 0, \quad (2.21)$$

i predstavlja apsolutno mehanički nestabilno stanje tekućine, koje dovodi do nepovratnog faznog prijelaza u spinodalnu formu koja se sastoji od kombinacije pare i klastera.

### 2.3.3 Model tlačnog udara

Model tlačnog udara (eng. pressure pulse) predstavljen je od strane Johnsona et al. [66]. Opis počinje od toga da ion koji prolazi kroz materijal deponira kinetičku energiju  $\Delta E_i$  u mali sferični volumen radijusa  $r_0$  (slika 2.6). Pretpostavlja se da se energija propagira prema jednostavnoj jednadžbi difuzije:

$$\nabla \cdot [\kappa \nabla \varepsilon(\mathbf{r}, t)] = \frac{\partial \varepsilon(\mathbf{r}, t)}{\partial t}, \quad (2.22)$$

gdje je  $\kappa$  difuzivnost, a  $\varepsilon(\mathbf{r}, t)$  volumna gustoća energije. Rješenje te jednadžbe jest:

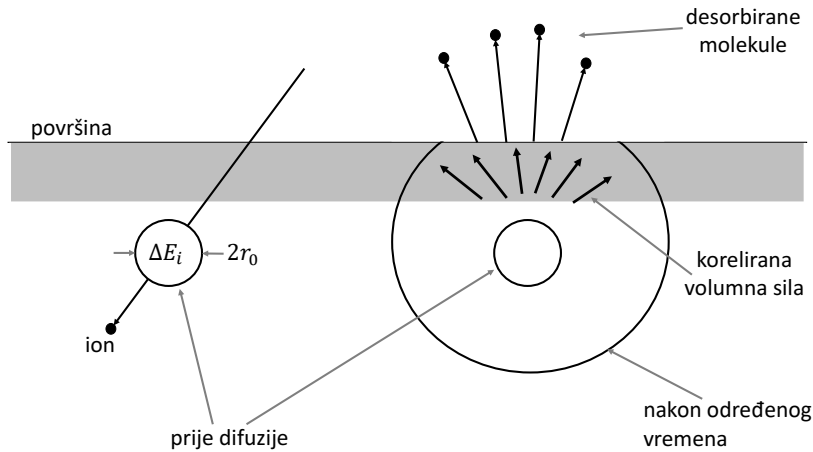
$$\varepsilon(\mathbf{r}, t) = \frac{\Delta E_i}{\pi^{3/2} (r_0^2 + 4\kappa t)^{3/2}} \exp\left(-\frac{r^2}{r_0^2 + 4\kappa t}\right). \quad (2.23)$$

Ukoliko  $\varepsilon(\mathbf{r}, t)/k n_M$  identificiramo kao lokalnu temperaturu  $T(\mathbf{r}, t)$  u prethodnom izrazu možemo prepoznati rješenje za toplinski induciranu desorpciju, ali u sferičnoj geometriji.

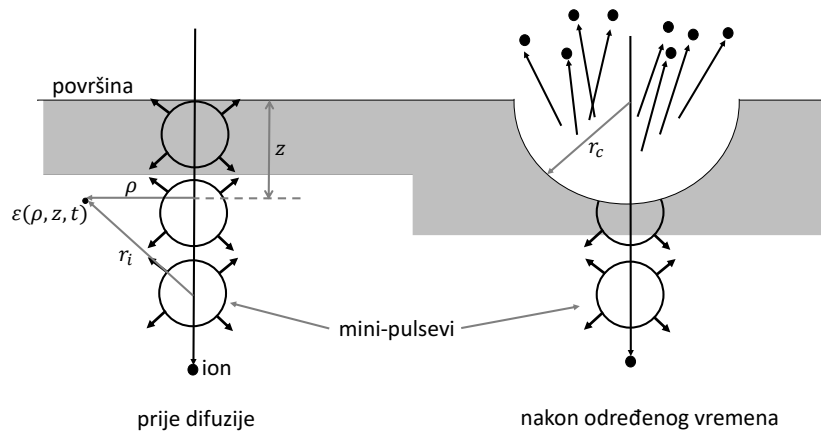
Postojanje gradijenta u  $\varepsilon(\mathbf{r}, t)$  uzrokuje stvaranje tzv. volumne sile:  $-\nabla \varepsilon(\mathbf{r}, t)$ , tj. rezultantne sile po jedinici volumena u području koje sadrži energijsku gustoću  $\varepsilon(\mathbf{r}, t)$  (slika 2.6). Vremenski promjenjiva priroda rješenja za  $\varepsilon(\mathbf{r}, t)$  omogućuje povezivanje  $-\nabla \varepsilon(\mathbf{r}, t)$  s tlačnim pulsom. Impuls koji prima molekula koja trpi tlačni udar zadan je s:

$$\mathbf{p}(\mathbf{r}) = \frac{\beta}{n_M} \int_0^\infty dt [-\nabla \varepsilon(\mathbf{r}, t)]. \quad (2.24)$$





**Slika 2.6:** Lijevo: upadni ion stvara lokalizirano područje s pobuđenjem kinetičke energije. Desno: kada ta energija dođe do površine, dolazi do desorpcije djelovanjem kolektivne volumne sile  $\nabla\epsilon(\mathbf{r},t)$ . Slika je reproducirana iz [52].



**Slika 2.7:** Primjena modela pulsa tlaka na cilindrične ionske staze. Lijevo: cilindrična ionska staza se promatra kao niz mini-pulseva razmaknutih za udaljenost  $\lambda$ . Desno: djelovanjem korelirane volumne sile  $-\nabla\epsilon(\mathbf{r},t)$  polusfera radijusa  $r_c$  izbačena je iz materijala. Slika je reproducirana iz [52].

$\beta$  je ovdje termodinamička konstanta proporcionalnosti koja opisuje dio energije koji se prenese kao translacijska kinetička energija (ostatak energije ide u unutarnju energiju molekule). Desorpcija molekule će se dogoditi kada primi minimalni iznos impulsa okomito na površinu, potreban za prevladavanje površinske energije vezanja:

$$p_{\perp} \geq \sqrt{2MU}. \quad (2.25)$$

Ovaj model je primijenjen na slučaj cilindričnih ionskih staza, koje u tom slučaju gledamo kao niz jednako razmaknutih mini-pulseva, s prosječnim razmakom  $\lambda$  (slika 2.7). Tada je gus-

toća energije na dubini  $z$ , radijalnoj udaljenosti  $\rho$  i vremenu  $t$  zadana s:

$$\begin{aligned}\varepsilon(z, \rho, t) &= \sum_{i=0}^{\infty} \varepsilon_i(r_i, t) \approx \int_0^{\infty} \varepsilon\left(\sqrt{\rho^2 + (z' - z)^2}, t\right) \frac{dz'}{\lambda} \\ &= \frac{\Delta E_i}{\lambda \pi \xi^2(t)} \exp\left(-\frac{\rho}{\xi^2(t)}\right) \frac{1 + \operatorname{erf}[z/\xi(t)]}{2},\end{aligned}\quad (2.26)$$

gdje je

$$\xi^2(t) = r_0^2 + 4\kappa t. \quad (2.27)$$

Iz jednadžbe se vidi da postoji gradijent energije na i blizu površine uzorka jer se vrijednost posljednjeg člana u jednadžbi 2.26 smanjuje kako  $z$  ide prema nuli. Površina za koju je ispunjen kriterij desorpcije 2.25 je polusfera radijusa  $r_c$  (slika 2.7). Kako je gradijent najveći na samoj površini, pretpostavka je da se desorbiraju prvo molekule s površine, nakon čega se emisijsko područje širi u dubinu. Ako veličinu  $\Delta E_i/\lambda$  identificiramo sa zaustavnom moći  $dE/dx$ , dobijamo sljedeće relacije:

$$r_c \propto \frac{1}{n_M^{2/3}} \frac{dE}{dx}, \quad Y \propto \left(\frac{1}{U} \frac{dE}{dx}\right)^3. \quad (2.28)$$

U slučaju kada je cilindrična ionska staza usmjerena okomito na površinu, emisija molekula događa se pod kutom od otprilike  $45^\circ$  u odnosu na površinu. Kada ion upada pod određenim kutom, emisija je bliža okomici na površinu, dok se u granici upada paralelnog s površinom emisija događa okomito na površinu.

Fenyo et al. [67] napravili su simulacije molekularne dinamike kojom su provjerili ovaj model: skup bezstrukturnih molekula mase 10 kDa vezanih Lenard-Jonesovim potencijalom pobuđeno je ionom koji upada pod kutom od  $45^\circ$  i deponira energiju u usku cilindričnu zonu oko ionske staze. Depozicija energije je ostvarena širenjem molekula. Te, ekspanzirane molekule su izbačene u pravcu okomice na površinu, u skladu s "modelom kokica" predloženim od Williamsa i Sundqvista [68]. S druge strane, značajna količina neekspanziranih molekula također je izbačena iz materijala, nasuprot smjeru upada iona, u skladu s predviđanjem gore iznesenog modela tlačnog pulsa. Također, prinos predviđen simulacijom prati onaj predviđen modelom ( $Y \propto (dE/dx)^3$ ).

Dobiveno skaliranje prinosa sa zaustavnom moći u skladu je i s izmjerenim prinosom neutralnih molekula leucina [55]. Također, sam iznos prinosa (1000 molekula po upadnom ionu) u skladu je s predviđanjima modela. Ipak, treba biti oprezan oko generaliziranja ovih zaključaka

zbog nedostatka eksperimenata s drugim neutralnim molekulama.

Teško je pomiriti brojne eksperimentalne rezultate s predviđanjima bilo kojeg pojedinačnog modela, imajući u vidu raznovrsnost uzoraka i primarnih snopova. Ipak, može se reći da je generalna slika sljedeća: oko putanje primarnog snopa, u radijusu do 10 nm stvara se ionski trag. U nekoliko nm oko centra ionskog traga, ovisno o brzini iona, dolazi do deponiranja velike gustoće energije koja uzrokuje ionizaciju i pobuđenje materijala kroz izravnu kulonsku interakciju. Dio deponirane energije se u obliku  $\delta$ -elektrona prenosi dalje od centra traga, ovisno o elektronskoj zaustavnoj moći iona. Nastali energijski gradijent, bilo kroz toplinski mehanizam ili kroz tlačni puls, dovodi do desorpcije materijala iz površinskog sloja. Pretpostavka je da atomi i manji fragmenti dolaze iz centralnog dijela traga, dok veće, nefragmentirane molekule dolaze iz vanjskog dijela.

## Poglavlje 3

# Kapilarna mikroproba

Nemogućnost magnetskih kvadrupola da fokusiraju teške primarne ione većih MeV-skih energija (porastom težine i energije iona raste iznos magnetskog polja potrebnog za fokusiranje iona) glavni je razlog nekorištenja tih iona za molekularno mapiranje u MeV SIMS-u, iako je poznato da ti primarni ioni omogućuju veći prinos sekundarnih iona težih molekula. Na nuklearnoj mikroprobi akceleratorskog postrojenja na IRB-u, maksimalna magnetska krutost  $mE/q^2$  koju je moguće fokusirati iznosi 14 (masa  $m$  je izražena u atomskim jedinicama mase, energija  $E$  u MeV-ima, a naboj  $q$  u količini elementarnog naboja), a jakost analizatorskog magneta omogućuje analizu iona rigidnosti do 90. Struja primarnih iona\* od 10 do 20 kHz na uzorku je sasvim prihvatljiva za statički SIMS, pa se kolimacijom snopa, kao alternativni fokusiranju, mogu postići zadovoljavajuće struje. Osim maseno neovisnog kolimiranja, kapilara nudi mogućnost ekstrakcije primarnog snopa u zrak bez upotrebe dodatnih tankih prozora koji služe za održavanje vakuuma između komore za mjerenje (u kojoj je zrak ili neki drugi plin na atmosferskom ili nešto sniženom tlaku) i visokovakuumskog dijela akceleratorskog sustava.[23] Na ovaj način moguće je analizirati i tekuće uzorke. Ta svojstva kapilare iskorištena su za različite primjene: ozračivanje uzoraka ionima [69], PIXE (eng. Proton Induced X-ray Emission) u zraku [23], mikro-PIXE [70, 71], STIM (eng. Scanning Transmission Ion Microscopy) u zraku [72], NRA (eng. Nuclear Reaction analysis) [73] i MeV SIMS [12] na ETH u Zürichu. Na tom sustavu (uz zagrebačku jedina kapilarna mikroproba za MeV SIMS) ostvarena je najbolja prostorna razlučivost od 10  $\mu\text{m}$  za kapilaru otvora 5  $\mu\text{m}$ , i maksimalna masena razlučivost od  $m/\Delta m = 100$  za masu od 100 Da onda kada se za okidanje start signala koriste sekundarni

---

\*U cijelom radu se, zbog jednostavnosti i boljeg osjećaja učestalosti događaja, struja izražava u kHz. Bitno je napomenuti da mjereni signal nije stvarno periodičan, ali u nedostatku hrvatske inačice jedinice cps (eng. counts per seconds) koristi se jedinica Hz. 1 fA jediničnog naboja odgovara "struji" od 6.25 kHz.

elektroni.[12, 22, 26, 31] U poglavlju je ukratko iznesen mehanizam transmisije ionskog snopa kroz kapilaru, a onda su prikazana mjerenja transmisije napravljena na IRB-ovoj kapilarnoj mikroprobi.

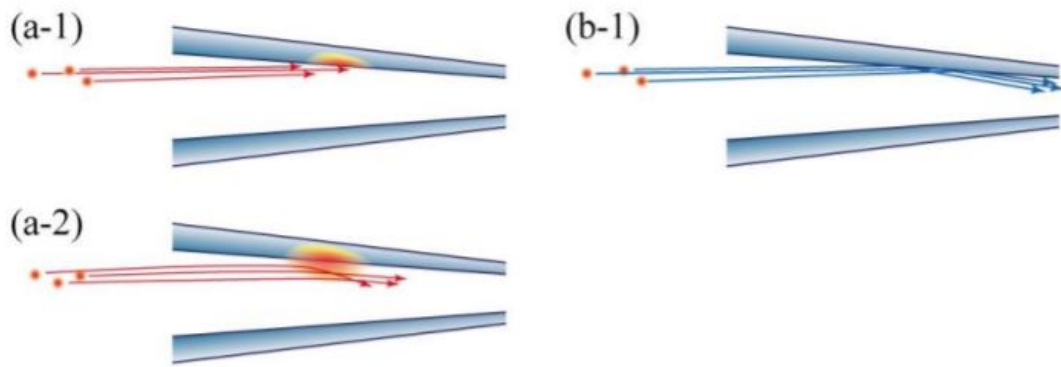
### 3.1 Transmisija ionskog snopa kroz kapilaru

Nakon što su 2002. ioni  $\text{Ne}^{7+}$  energije 3 keV uspješno transmitirani kroz nanokapilare (kapilare promjera 100 nm, duljine 10  $\mu\text{m}$  formirane jetkanjem ionskih tragova u polimerskoj foliji) [74] uslijedili su brojni eksperimenti s kapilarama različitih oblika i veličina, i različitim vrstama i energijama ionskih snopova. Osim energijskog spektra i izgleda transmitiranog snopa, proučavana je i izlazna struja te osjetljivost transmisije na poravnanje osi snopa i kapilare. U svim eksperimentima ispitivane su kapilare napravljene od izolatorskog materijala (olovno ili borosilikatno staklo) ulaznog promjera nešto manjeg od 1 mm, duljine 30 – 50 mm, a izlaznog promjera od submikronskog, pa do 100  $\mu\text{m}$ . Kapilare kojima se promjer postepeno sužava pripremaju se na način da se ravne kapilare konstantnog unutarnjeg promjera pričvrste na oba kraja i povlače prema van, dok se središnji dio kapilara zagrije na temperaturu smekšavanja stakla. Nakon izvlačenja, suženi dio kapilare odreže se na željeni izlazni promjer [75].

Generalno, pokazalo se da je najvažniji faktor pri transmisiji snopa energija samog snopa, tj. da postoji značajna razlika u načinu transmisije za keV-ske i MeV-ske ione. Bitna veličina koja karakterizira izlazni snop je faktor pojačanja,  $\eta$ , definiran kao:

$$\eta = \frac{I_{\text{izlaz}}/I_{\text{ulaz}}}{S_{\text{izlaz}}/S_{\text{ulaz}}}, \quad (3.1)$$

gdje su  $I_{\text{izlaz}}$  i  $I_{\text{ulaz}}$  redom izlazna i ulazna struja snopa, a  $S_{\text{izlaz}}$  i  $S_{\text{ulaz}}$  izlazni i ulazni površinski presjek kapilare. Vrijednost faktora  $\eta$  veća od 1 govori da dolazi do neke vrste fokusiranja, tj. da se dobije više izlazne struje nego u slučaju običnog kolimatora. U eksperimentu s ionima  $\text{Ar}^{8+}$  energije 8 keV koji je transmitiran kroz kapilaru izlaznog promjera 24  $\mu\text{m}$  izmjeren je faktor poboljšanja  $\eta = 10$  [76]. U istom eksperimentu izmjerena je nezanemariva izlazna struja i onda kada je snop upadao pod kutem od 100 mrad u odnosu na os kapilare, što je desetorostruko više nego izlazni kut same kapilare. Takav rezultat može se objasniti tzv. efektom vođenja [74, 77]. Naime, sudaranjem iona sa stijenkama kapilare (slika 3.1, a-1) dolazi do lokalnog nakupljanja pozitivnog naboja i stvaranja pozitivnog potencijala. Nakon određenog vremena uspostavlja se potencijal koji elektrostatski deflektira novodolazeće ione, tj. sprječava njihovo



**Slika 3.1:** Mehaniizam transporta iona kroz kapilaru za keV-ske ione (lijevo) i MeV-ske ione (desno). Slika je preuzeta iz [78].

sudaranje sa zidovima kapilare (slika 3.1, a-2). Na taj način i ioni koji ulaze pod velikim kutovima mogu proći kroz kapilaru. Dokazi za ovakvo objašnjenje su porast transmitirane struje s nekom vremenskom konstantom nakon koje slijedi saturacija, nepromijenjenost naboja visokonabijenih iona koji prolaze kroz kapilare bez interakcije sa stijenjkama kapilare i homogen energijski profil transmitiranog snopa [74, 77, 78].

S druge strane, MeV-ski snopovi pokazuju drukčije ponašanje. Iako su u nekoliko radova objavljeni rezultati eksperimenata s izmjerenim velikim faktorom poboljšanja ( $\eta = 1.8 \times 10^4$  sa snopom 2 MeV  $\text{He}^+$  i kapilarom s izlaznim promjerom od  $0.8 \mu\text{m}$  [79],  $\eta = 10$  sa snopom 6.4 MeV  $^{15}\text{N}^{2+}$  i kapilarom od  $10 \mu\text{m}$  [80],  $\eta = 100$  sa snopom 4 MeV  $\text{He}^{2+}$  i kapilarom 10 –  $20 \mu\text{m}$  [23]) ti rezultati mogu se pripisati prethodno fokusiranom snopu (prije ulaza u kapilaru) i nedovoljno dobroj definiciji faktora poboljšanja. Kasniji eksperimenti izmjerili su puno manje faktore poboljšanja:  $\eta = 2.7$  sa snopom 2 – 3 MeV  $\text{H}^+$  i kapilarom od  $8 \mu\text{m}$  [69],  $\eta = 3.6$  sa snopom 2 MeV  $\text{H}^+$  i kapilarom od  $110 \mu\text{m}$  [81],  $\eta = 1.32$  sa snopom 2 MeV  $\text{H}^+$  i kapilarom od  $31.5 \mu\text{m}$  [75],  $\eta = 1.4 - 5.2$  sa snopom 2 MeV  $\text{H}^+$  i kapilarama od  $20 \mu\text{m}$  s tri različita kuta izlaza [70],  $\eta = 2$  sa snopom 1.6 MeV  $\text{H}^+$  i kapilarom od  $50 \mu\text{m}$  [82],  $\eta = 1 - 2$  sa snopovima 1 MeV  $\text{He}^+$  i 71 MeV  $\text{Xe}^{19+}$  s kapilarama  $0.7 - 8.6 \mu\text{m}$  [83]. Izmjereni faktori u skladu su s predviđanjima Monte Carlo simulacija [70, 75, 82, 83]. Za razliku od keV-skih, MeV-ski ioni imaju preveliku energiju da bi ih potencijal od nakupljenog naboja skrenuo s putanje, stoga ne dolazi do nikakvog vođenja iona. Nije izmjerena nikakva vremenska promjena u struji transmitiranog snopa, a struja gotovo iščezava nakon što kut ulaza snopa u kapilaru postane veći od izlaznog kuta kapilare. Faktor poboljšanja veći od jedinice dolazi od iona koji se raspršuju u male kutove na stijenjkama kapilare (Rutherfordov model raspršenja, slika 3.1). Kako je mala šansa da će se putanja raspršenog iona poklapati s izlazom kapilare, značajan



**Slika 3.2:** Fotografija jedne od korištenih staklenih kapilara. Konusne kapilare napravljene su u ETH-u u Švicarskoj i postavljene na metalni nosač.

doprinos daju samo oni ioni raspršeni pri samom vrhu kapilare. Takvi ioni očekivano imaju manju energiju od onih koji prođu kroz kapilaru bez raspršenja. Ovakav opis transmisije u skladu je s izmjerenim energijskim spektrima i izmjerenim prostornim profilom transmitiranog snopa. Simulacije također pokazuju slabu ovisnost o materijalu kapilare, kao i o samoj izvedbi vrha kapilare: kod kapilara konusnog oblika (u kojih je kut suženja stalan) faktor poboljšanja je nešto veći u odnosu na kapilare u kojima se kut suženja smanjuje kako se približavamo vrhu kapilare, ali nauštrb lošije kvalitete transmitiranog snopa koji sadrži veći udio raspršenih iona.

### 3.2 Simulirani i izmjereni spektri i prostorna distribucija

U našem postavu koriste se kapilare napravljene od borosilikatnog stakla. Kapilare, napravljene u laboratoriju sveučilišta ETH u Švicarskoj, imaju ulazni unutarnji promjer od 0.86 mm, ulazni vanjski promjer od 1.5 mm, dok unutarnji izlazni promjer iznosi 2.5 do 5  $\mu\text{m}$  (slika 3.2). Kapilare su "izvučene" s gotovo konstantnim suženjem ( $\leq 0.5^\circ$ ) u odnosu na os simetrije, tj. imaju konusni oblik. Kapilara se postavlja na pripremljeni nosač na ulazu u komoru kojim je moguće precizno mijenjati položaj u ravnini okomito na os snopa i nagib kapilare prema osi snopa.

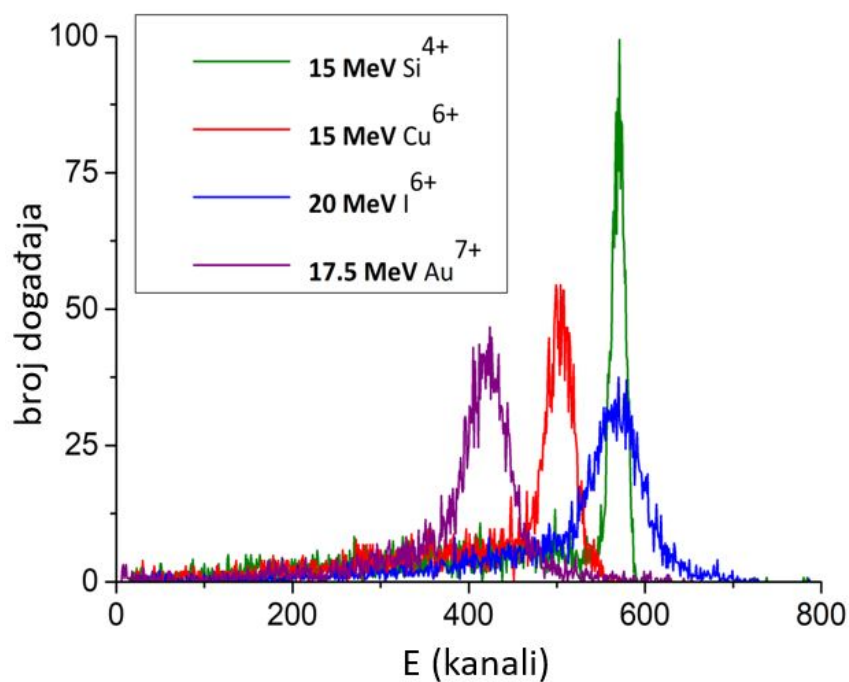
Kada ion uđe u kapilaru može, ovisno o smjeru kretanja, proći izravno kroz kapilaru bez interakcije sa stijenkama kapilare ili se na njima može raspršiti (Rutherfordovo raspršenje). Vjerojatnost izravnog prolaska određena je omjerom površina izlaza i ulaza u kapilaru, tj. omjerom kvadrata izlaznog i ulaznog promjera kapilare (u našem slučaju to je nekoliko iona na 100 000 onih koji uđu u kapilaru). Različiti su scenariji mogući za ione koji međudjeluju sa stijenkama kapilare: a) ioni mogu izgubiti svu energiju unutar stijenke kapilare, tj. zaustaviti se u njoj, što je i najrealniji scenarij za sve ione koji se rasprše na stijenkama dalje od izlaza iz kapilare; b) ioni mogu pretrpjeti višestruka raspršenja (cik-cak putanja između stijenki kapilare) koja zavr-

šavaju potpunim gubitkom energije unutar stijenke kapilare: c) ioni se mogu raspršiti u prednje kutove unutar kapilare i imati putanju nakon raspršenja koja im omogućuje izlazak iz kapilare, što je realan scenarij samo za ione koji se rasprše u neposrednoj blizini vrha kapilare i imaju kut raspršenja veći od kuta suženja kapilare; d) ioni mogu proći kroz stijenku kapilare na samom njenom kraju, bez značajne promjene putanje. Slučajevi c i d rezultiraju povećanjem izlazne struje u odnosu na onu koju možemo očekivati u slučaju običnog kolimatora. Na temelju procedure opisane u Simon et al. [83] napravljene su simulacije energijskih spektara i prostorne distribucije transmitiranih iona za nekoliko različitih snopova (slike 3.6 i 3.7). Za svaki ion koji ulazi u kapilaru, izračunato je mjesto sudara sa stijenkom kapilare, nakon čega je nasumično odabrana prethodno generirana putanja iona u borosilikatnom staklu s pripadnim energijskim profilom iona. Putanje su generirane pomoću programa SRIM [50]. Ukoliko se putanja iona poklapa s izlazom iz kapilare i površinom detektora ( $2 \times 2 \text{ mm}^2$ ) postavljenog na poziciju mete u komori, tada se smatra da je ion uspješno transmitiran, s pripadnom energijom (početnom u slučaju izravnog prolaska, ili smanjenom u slučaju raspršenja ili prolaska kroz vrh kapilare). Pretpostavljeno je da je ulazni snop paralelan s osi kapilare, a zanemarena su višestruka raspršenja (slučajevi kad ion više puta izlazi i ulazi u stijenke kapilare). Duljina kapilare u simulaciji je 4 cm, izlazni promjer je  $5 \mu\text{m}$ , a udaljenost do mete je 4 cm. Pretpostavljena je energijska razlučivost (puna širina na pola maksimuma) detektora iona od 10%.

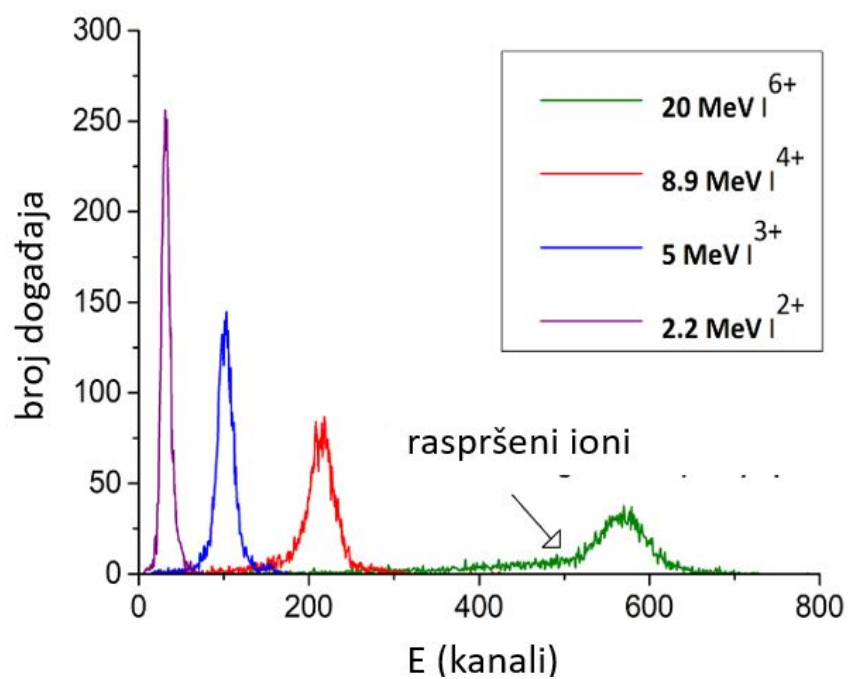
Na slici 3.3 prikazani su izmjereni energijski spektri različitih ionskih snopova (Si, Cu, I, Au) sa sličnom ulaznom energijom nakon prolaska kroz borosilikatnu kapilaru izlaznog promjera  $5 \mu\text{m}$ . Na slikama 3.4 i 3.5 prikazani su spektri za više različitih energija za ione Au i I.

Za mjerenje energije iona korištena je PIN dioda. Izmjereni rezultati u skladu su s očekivanjima i napravljenim simulacijama (slike 3.6, 3.7) Ioni koji prolaze direktno kroz kapilaru detektiraju se s punom energijom, dok se niskoenergijski rep može povezati s ionima koji se rasprše na stijenkama kapilare i onima koji prođu kroz sam vrh kapilare. Napravljene simulacije pokazuju da je udio iona koji prođu kroz vrh kapilare minoran, tj. da 99% iona iz niskoenergijskog repa čine raspršeni ioni. Simulacije za snopove zlata različitih energija (slika 3.7) pokazuju da je niskoenergijski rep uvijek prisutan, ali njegov doprinos ovisi o dosegu iona u staklenoj kapilari. Kod snopa zlata s energijom 17.5 MeV rep je izraženiji nego kod snopa s energijom od 10 MeV, jer u potonjem slučaju postoji veća šansa da će ion izgubiti svu energiju unutar stijenke kapilare. Također, energijska razlučivost detektora utječe na izgled izmjerenog spektra:

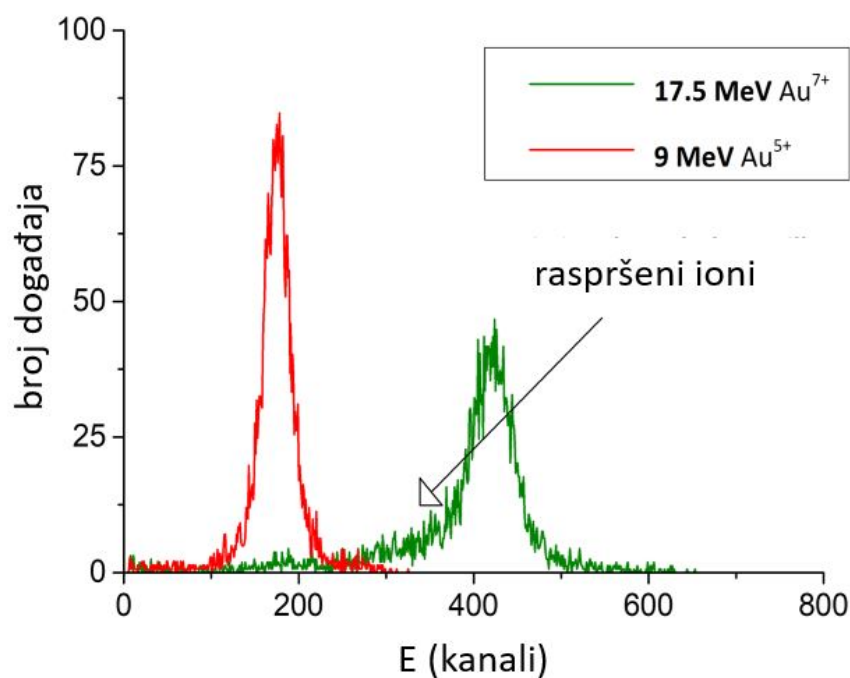




**Slika 3.3:** Izmjereni energijski spektri snopova iona Si, Cu, I i Au nakon transmisije kroz kapilaru s izlaznim promjerom od  $5 \mu\text{m}$ .



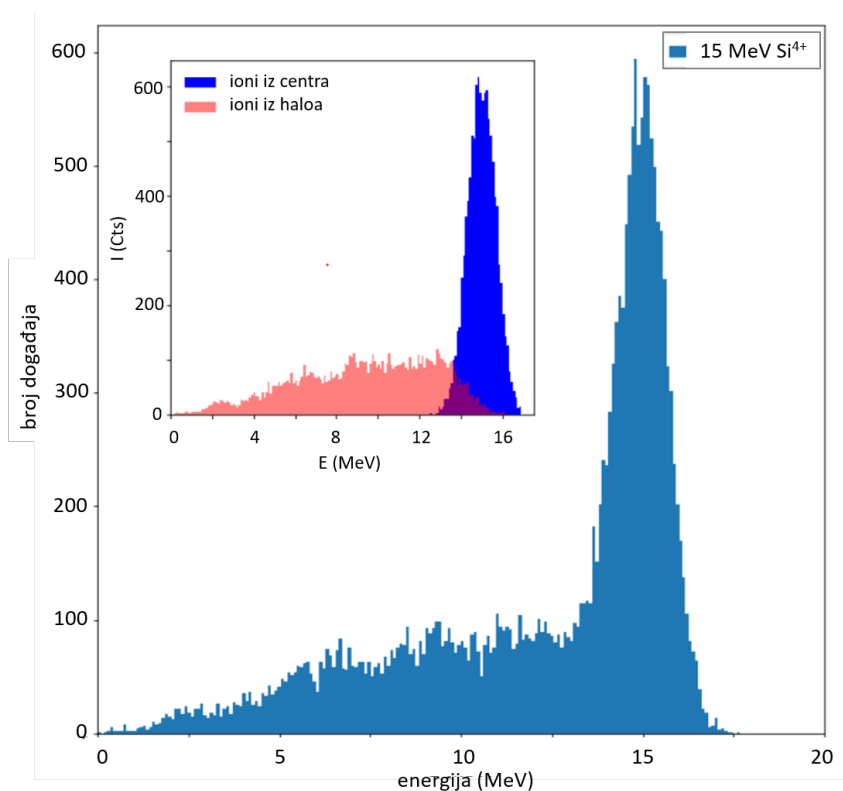
**Slika 3.4:** Izmjereni energijski spektri za snop I različitih energija nakon transmisije kroz kapilaru s izlaznim promjerom od  $5 \mu\text{m}$ .



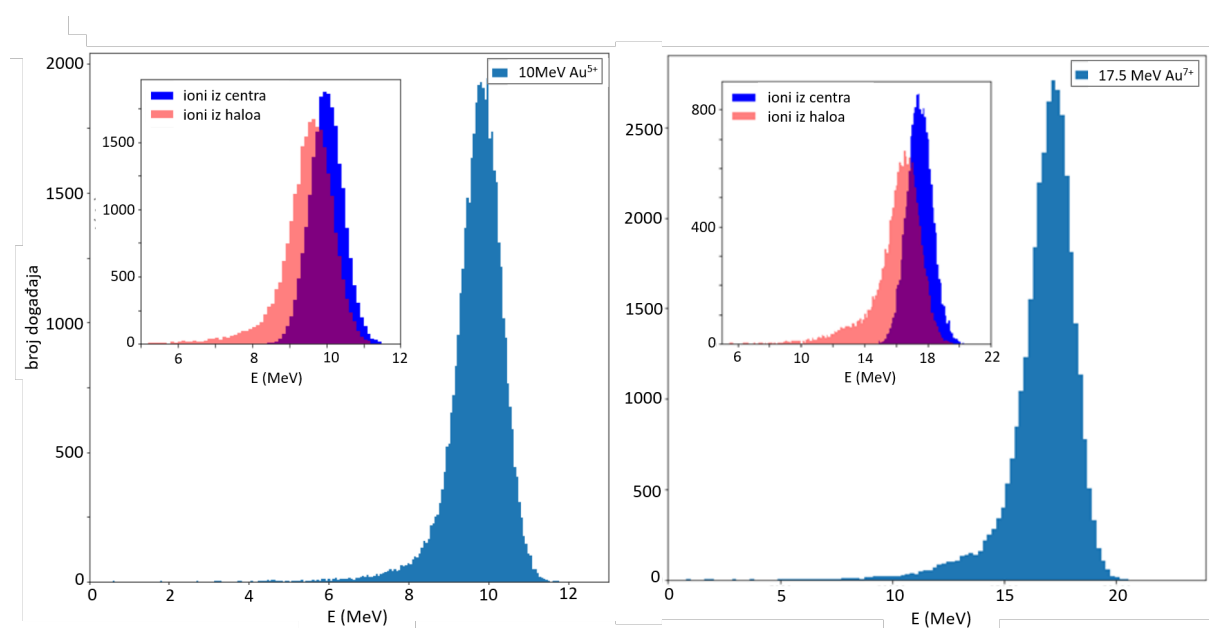
**Slika 3.5:** Izmjereni energijski spektri za snop Au različitih energija nakon transmisije kroz kapilaru s izlaznim promjerom od 5  $\mu\text{m}$ .

mali energijski rep ponekad je skriven unutar širokog vrha zbog nedovoljno dobre razlučivosti (npr. na slici 3.5 za energiju 9 MeV). Dodatno, na samom vrhu je stijenka kapilare vrlo tanka, stoga mala razlika u energiji (dosegu) iona može značajno utjecati na energijski profil transmitiranog snopa. Tako je npr. razlika u doseg u iona 15 MeV Si i 17.5 MeV Au izračunata pomoću SRIM-a samo 1.6  $\mu\text{m}$ , ali je simulirani niskoenergijski rep kod silicija (slika 3.6) mnogo dulji nego kod zlata (slika 3.7). To treba uzeti u obzir pri odabiru najoptimalnijeg snopa.

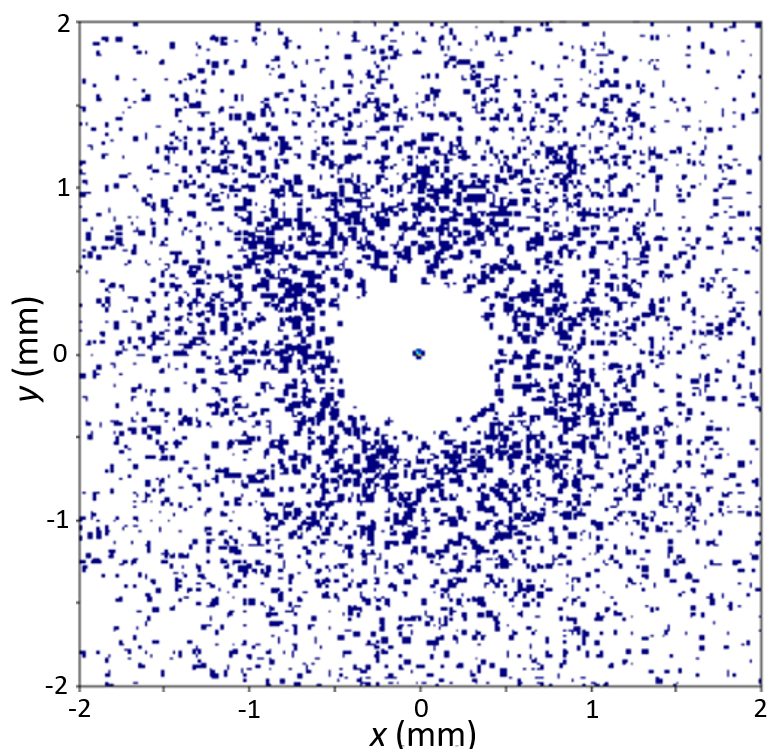
Simulirana prostorna distribucija transmitiranog snopa prikazana je na slici 3.8. Centralni dio snopa odgovara izravno transmitiranim ionima, koji su okruženi raspršenim ionima koji tvore "halo" oko centralnog dijela. Takav je izgled snopa očekivan uzimajući u obzir konusni oblik kapilare koji određuje kut minimalni kut izlaza iona iz kapilare. Simulacije predviđaju faktor poboljšanja u rasponu 1.4 - 1.6, što znači da je i do 50% transmitiranih iona pretrpilo raspršenje. U stvarnosti taj broj može biti i veći, jer su u simulaciji zanemarene neravnine površine kapilare i višestruka raspršenja. Pravi izgled transmitiranog snopa je izmjeren pomoću Gafchromic EBT3 filma osjetljivog na zračenje (slika 3.9). Film je postavljen na poziciju mete u komori. Može se vidjeti da to približno odgovara simuliranoj distribuciji - prisutni su centralni dio i asimetrični halo na najbližoj udaljenosti od 0.5 mm (dio raspršenih iona nije vidljiv zbog nedovoljne osjetljivosti korištenog filma). Asimetričan oblik haloa, tj. asimetričan položaj centra snopa u odnosu na halo, dolazi od nesavršenog poravnanja osi snopa i kapilare, dok je



**Slika 3.6:** Simulacija energijskog spektra snopa 15 MeV Si<sup>4+</sup> nakon prolaska kroz kapilaru s izlaznim promjerom od 5 μm. U umetku grafa su odvojeni doprinosi iona iz centralnog dijela snopa i iona koji pripadaju halo.



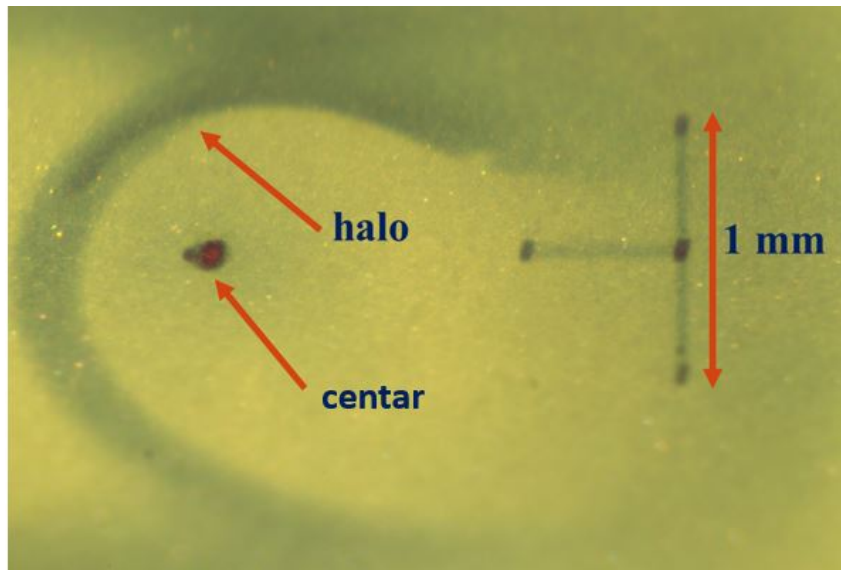
**Slika 3.7:** Simulirani energijski spektri snopova 10 MeV Au<sup>5+</sup> (lijevo) i 17.5 MeV Au<sup>7+</sup> (desno) nakon prolaska kroz kapilaru s izlaznim promjerom od 5 μm.



**Slika 3.8:** Simulacija prostorne raspodjele na poziciji mete snopa  $5 \text{ MeV Si}^{4+}$  nakon prolaska kroz kapilaru.

elipsasti oblik haloa posljedica činjenice da je kapilara postavljena pod kutom od  $45^\circ$  u odnosu na ravninu mete (filma).

Zaključno, transmitirani snop ima otprilike pola iona s ulaznom energijom kolimiranih približno na dimenziju izlaznog promjera kapilare i drugu polovinu iona sa smanjenom energijom koji tvore asimetrični prsten oko centra snopa. Utjecaj pokazane energijske distribucije transmitiranog snopa na vremensku razlučivost, tj. na masenu razlučivost postava nije značajan. Kod tankih meta, za okidanje startnog signala koriste se primarni ioni detektirani u PIN diodi postavljenoj iza mete. Iako ioni s manjom energijom, tj. ioni iz haloa, trebaju dulje vremena da pređu put od tanke mete do PIN diode koja se nalazi 10 mm iza mete, to vrijeme je zanemarivo u odnosu na razlučivost samog detektora. Naime, ako pretpostavimo da u slučaju  $17.5 \text{ MeV Au}$  energijski interval od  $1 \text{ MeV}$  obuhvaća središnji vrh i najveći dio iona iz niskoenergijskog repa, može se približno procijeniti da to može utjecati na vrijeme detekcije iona za maksimalno  $\sim 70 \text{ ps}$ . U ekstremnijem slučaju, npr. kod  $15 \text{ MeV Si}$ , gdje je niskoenergijski rep najduži, taj doprinos ide i do nekoliko stotina ps. Međutim, to je još uvijek puno manje od intrinzične razlučivosti detektora (koja je otprilike nekoliko ns). Dakle, da bi energija raspršenih iona negativno utjecala na vremensku razlučivost sustava, potrebno je imati detektor čija je razlučivost



**Slika 3.9:** Izgled snopa  $5 \text{ MeV Si}^{4+}$  nakon prolaska kroz kapilaru, vidljiv iz zatamljenja na Gafchromic EBT3 filmu postavljenom na poziciju mete u komori ( $\approx 2 \text{ cm}$  od izlaza iz kapilare). Elipsasti oblik haloa posljedica je kuta od  $45^\circ$  između mete i snopa, dok je uzrok asimetrije najvjerojatnije neporavnanje osi snopa i osi kapilare.

dosta manja od 1 ns. Što se tiče utjecaja prostorne raspodjele transmitiranih iona na prostornu razlučivost metode, jasno je da je prisutnost raspršenih iona, tj. haloa negativan faktor. O tom negativnom doprinosu bit će više riječi u poglavlju o mapiranju i prostornoj razlučivosti. Razlika u početnoj točki putanje između iona iz centralnog dijela snopa i iona iz haloa, ne bi trebala imati prevelik utjecaj na masenu razlučivost jer je udaljenost od  $\approx 0.5$  do 1 mm mala u odnosu na cijelu putanju iona (veću od 1000 mm).

# Poglavlje 4

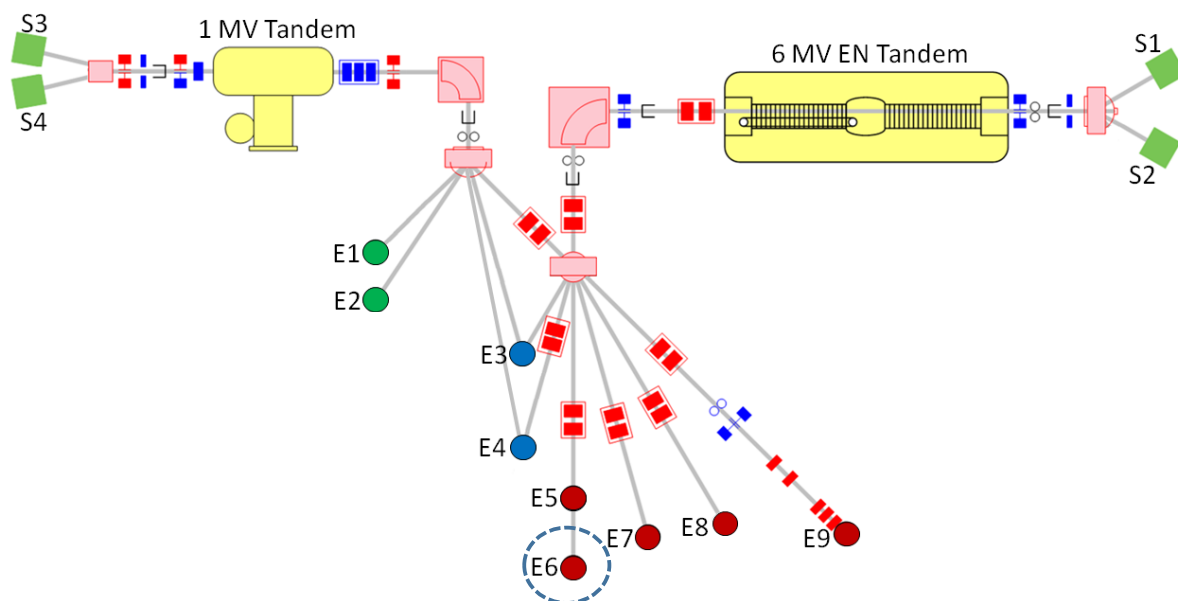
## Eksperimentalni postav za MeV TOF-SIMS

### 4.1 Komora za MeV TOF-SIMS

Za dobivanje primarnog snopa koristi se rasprašivački izvor (eng. sputter source) 40 MC-SNICS pomoću kojeg je, pored vodikovih iona, moguće proizvesti različite vrste teških iona koji se koriste u MeV TOF-SIMS-u (od kisika do zlata). Snopovi iona se na MeV-ske energije ubrzavaju pomoću 6 MV EN Tandem Van de Graaff akceleratora čiji je trenutni maksimalni napon terminala ograničen na  $\approx 3.5$  MV (zbog ograničenog tlaka izolatorskog plina u akceleratorском tanku i dotrajalosti remena za nabijanje).[84]

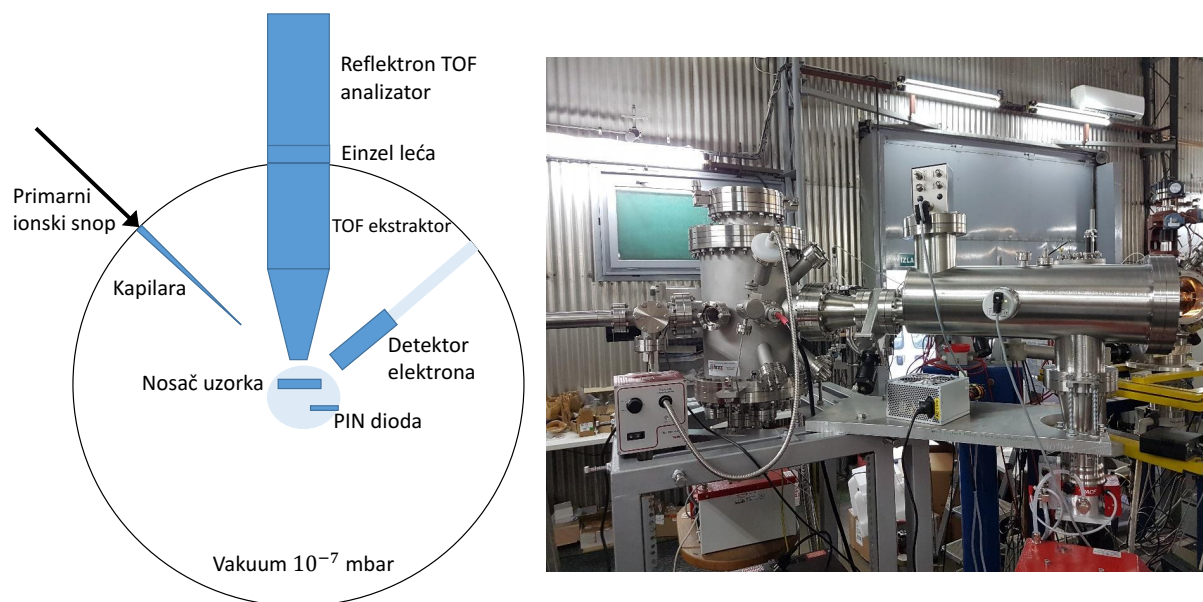
U produžetku TOF-ERDA eksperimentalne linije ( $\approx 1.5$  m iza TOF-ERDA komore) koja se nalazi na nultom stupnju analizatorskog magneta VDG akceleratora napravljena je komora za MeV TOF-SIMS (slika 4.1). Za optimiziranje jakosti struje primarnog snopa koriste se tri para kvadrupolnih dubleta (prvi ispred analizatorskog magneta, drugi između analizatorskog i zakretnog magneta, treći na TOF-ERDA liniji  $\approx 6$  m ispred kapilarne mikroprobe) te zakretni magnet. Struju primarnog snopa moguće je izmjeriti očitanjem s mete u TOF-ERDA komori i na samom ulazu u kapilarnu mikroprobu (u potonjem slučaju, očitavanje samo dijela struje, tj. onog dijela snopa koji udara u nosač kapilare). Jedini kolimator koji može ograničiti dimenzije snopa prije ulaska u kapilaru nalazi se u TOF-ERDA komori, s varijabilnom veličinom otvora u  $x$ -smjeru od 0 do 2 mm i fiksnim otvorom u  $y$ -smjeru od 3 mm.

Na slici 4.2 prikazana je shema i fotografija kapilarne mikroprobe, dok je na slici 4.3 prikazana unutrašnjost komore. Kapilara se nalazi na izoliranom metalnom nosaču postavljenom



**Slika 4.1:** Shematski prikaz akceleratorskog postava i eksperimentalnih linija u Laboratoriju za interakcije ionskih snopova Instituta Ruđer Bošković. Istaknuta je kapilarna mikroproba (E6), izgrađena u produžetku TOF-ERDA linije, koja se nalazi na kutu od  $0^\circ$  analizatorskog magneta 6 MV EN Tandem akceleratora. Slika preuzeta s [84].

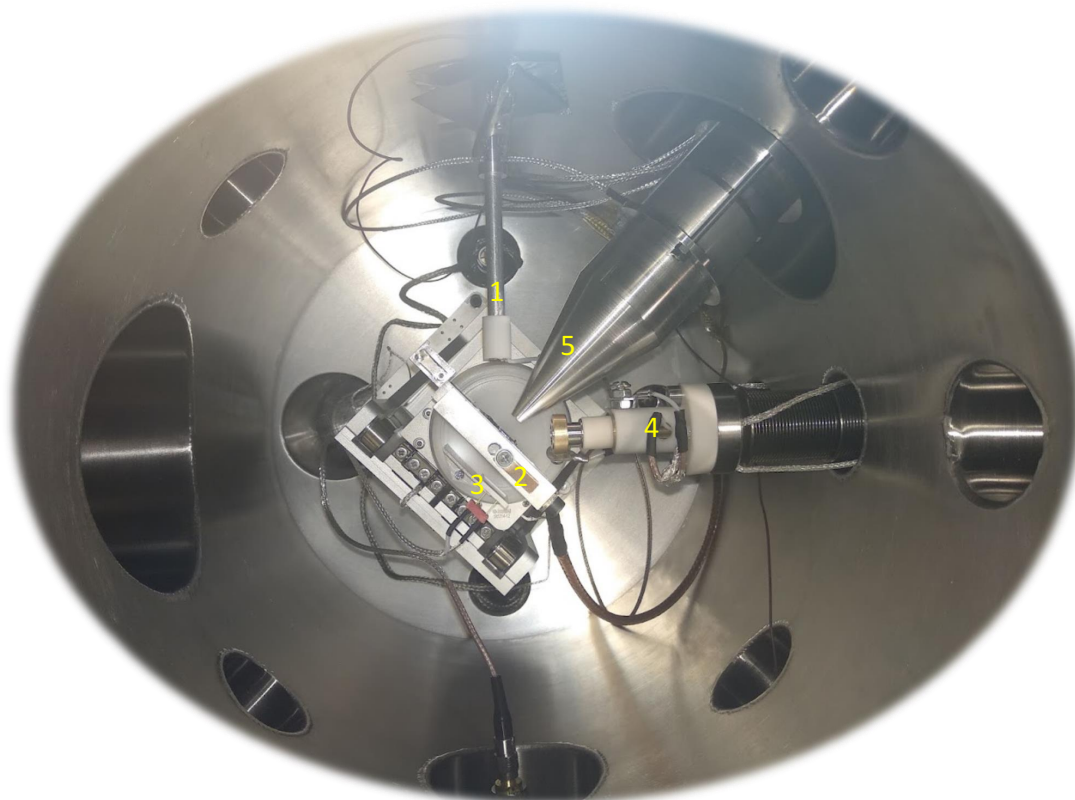
na ulazu u komoru.



**Slika 4.2:** Shematski prikaz kapilarne mikroprobe za MeV TOF-SIMS s reflektrom TOF analizatorom (lijevo). Slika komore izvana (desno).

Na metalni nosač spojen je kontakt koji omogućava čitanje "struje" na ulazu u komoru. Signal (skupljeni naboj) se spaja na integrator naboja, međutim profil ulaznog snopa ne poklapa

se s profilom metalnog nosača kapilare, pa se izmjerena struja može koristiti samo kao relativna vrijednost. Tipično, u eksperimentu se pri ubacivanju snopa u komoru maksimizira vrijednost ovako izmjerene struje. Analizirani uzorak se postavlja u komoru pomoću predkomore i 'load lock' sustava da ne bi kod zamjene mete došlo do narušavanja visokog vakuuma u komori ( $\sim 10^{-7}$  mbar).

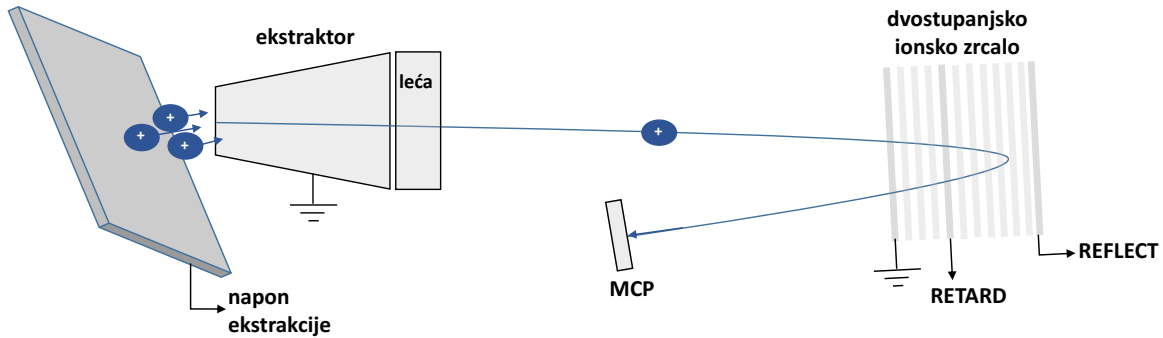


**Slika 4.3:** Fotografija kapilarne mikroprobe za MeV TOF-SIMS s reflektornim TOF analizatorom. Oznake: 1 - metalni nosač unutar kojeg se nalazi staklena kapilara, 2 - nosač uzorka, 3 - dioda, 4 - nosač na kojem se nalazi elektronski detektor, 5 - ekstraktor.

Nosač uzorka se nalazi na kutu od  $45^\circ$  u odnosu na os kapilare i na udaljenosti od  $\approx 40$  mm od vrha kapilare. Tijekom mjerenja, nagib nosača uzorka može se blago varirati ( $\pm 1^\circ$ ) kako bi se maksimizirao prinos sekundarnih iona. Nosač je montiran na 4D piezo-postolje za skeniranje proizvođača SmartAct. Na taj je način omogućeno snimanje prostorne distribucije molekula, tj. mapiranje uzorka. Optimalna brzina postolja za skeniranje je  $100 \mu\text{m/s}$ , a nominalna različitost koraka je 1 nm (stvarni korak je mnogo veći zbog lošije prostorne razlučivosti ionskog snopa). Za okidanje pomaka postolja na novu poziciju koristi se ili unaprijed postavljeno vrijeme ili skupljeni unaprijed definirani broj događaja u nekom od detektora. Za vrijeme pomicanja postolja uzorka, skupljanje masenog spektra je zaustavljeno.



## 4.2 Reflektron TOF analizator



**Slika 4.4:** Shematski prikaz detekcije sekundarnih iona s reflektornim TOF analizatorom. Nakon ekstrakcije s mete i putovanja u analizatoru kroz područje bez električnog polja, sekundarni ioni se reflektiraju u dvostupanjskom ionskom zrcalu, i onda ponovo putuju kroz područje bez električnog polja do MCP detektora.

Kako je vrh ekstraktora uzemljen, ubrzanje pozitivnih sekundarnih iona moguće je samo dovođenjem pozitivnog napona na metu. Uspostavljanjem električnog polja sekundarni ioni putuju prema 5 mm udaljenom ekstraktoru u TOF analizatoru reflektorskog tipa proizvođača Kore Technology Ltd (slika 4.4).

U običnom, linearnom TOF analizatoru, dolazi do vremenskog rasapa iona zbog inicijalne energijske distribucije sekundarnih iona.[30, 32]. Kako bi izračunali utjecaj ove energijske distribucije, uzmimo neka je nominalna kinetička energija  $E_0 = qV_0$ , gdje je  $V_0$  napon ekstrakcije. Ukupnu energiju iona definiramo kao [30]:

$$E = E_0 + \Delta E = E_0 \left( 1 + \frac{\Delta E}{E_0} \right) = E_0(1 + \delta), \quad (4.1)$$

gdje je  $\Delta E$  razlika u energiji u odnosu na nominalnu energiju (kada bi početni energijski rasap bio 0). Zanemarujući akceleracijski dio putanje, ako ion nominalne energije prijeđe put  $L_0$  za vrijeme  $t_0$ , tada ion energije  $E$ , za isto vrijeme ( $t = t_0$ ) prijeđe put:

$$L = \sqrt{\frac{2E}{m}} t = \sqrt{\frac{2E_0}{m}} t_0 \sqrt{1 + \delta} = L_0 \sqrt{1 + \delta}, \quad (4.2)$$

što u aproksimaciji, za mali  $\delta$  dovodi da je razlika u prijeđenom putu:

$$\Delta L = L - L_0 = L_0 \sqrt{1 + \delta} - L_0 \approx \frac{L_0}{2} \delta. \quad (4.3)$$

Ovaj izraz upućuje na to da je za vremensko fokusiranje u detektoru dva iona s početnom razlikom u energiji potrebno da ioni više energije prijeđu dodatnu udaljenost  $L_0\delta/2$ . Slijedeći tu logiku, 1957. [85] dizajniran je prvi reflektorn TOF analizator (slika 4.4) u kojem sekundarni ion u analizatoru, uz driftna područja prolazi i kroz ionsko zrcalo, tj. reflektira se u pažljivo dizajniranom električnom polju. Oni ioni koji imaju nešto višu početnu energiju prodrijet će dublje u električno polje ionskog zrcala, tj. provest će više vremena unutar njega, nego ioni s manjom energijom, što će dovesti do toga da budu detektirani u isto vrijeme, do na prvu aproksimaciju (fokusiranje u vremenu). Time dolazi do poboljšanja vremenske, tj. masene razlučivosti sustava. Koristeći osnovne relacije:

$$v = v_0 - at, \quad a = F/m = qV_m/mD_m, \quad E = mv^2/2,$$

gdje je  $V_m$  napon između krajeva reflektora (ionskog zrcala), a  $D_m$  duljina reflektora, može se izračunati vrijeme koje ion energije  $E = E_0(1 + \delta)$  provede u reflektoru:

$$t_m = 4\sqrt{m/2E_0D_m(V_0/V_m)}\sqrt{1 + \delta}. \quad (4.4)$$

Iz toga proizlazi da je ion energije  $E_0(1 + \delta)$  prijeđe dulji put ( $L_m = v_0t_m$ ) od iona energije  $E_0$  i to:

$$\Delta L_m = L_m - L_{m,0} = 4D_m(V_0/V_m)\sqrt{1 + \delta} - 1 \approx 2D_m(V_0/V_m). \quad (4.5)$$

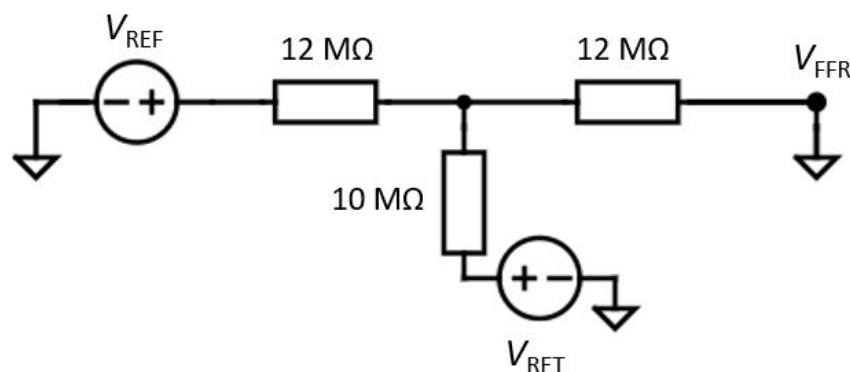
Koristeći izraz 4.3 za driftno područje, možemo vidjeti da će se vremensko fokusiranje postići, ako vrijedi uvjet:

$$D_1 + D_2 = 4D_m(V_0/V_m), \quad (4.6)$$

gdje su  $D_1$  i  $D_2$  duljine dva driftna područja. Kako je napon reflektora  $V_m \geq V_0$  slijedi da duljina reflektora, za optimalnu vremensku razlučivost, mora biti oko četiri puta manja od ukupne duljine driftne putanje. U našem postavu je dvostupanjski reflektor, u prvoj verziji osmišljen 1973. [86, 87], u kojem ion pri prolasku kroz ionsko zrcalo prolazi kroz područja s različitim električnim poljem, u prvom dijelu (duljine  $D_r$ ) je ono jače ( $E_r = V_r/D_r$ ), tj. gubitak energije je veći nego u drugom dijelu u kojem se događa sama refleksija. Za ovakav reflektor se mogu izvesti uvjeti za optimalnu razlučivost koji, u slučaju  $D_r \ll D_m$ , glase:

$$V_r/V_0 = 2/3, \quad D_1 + D_2 = 4\sqrt{3}D_m(V_0/V_m). \quad (4.7)$$

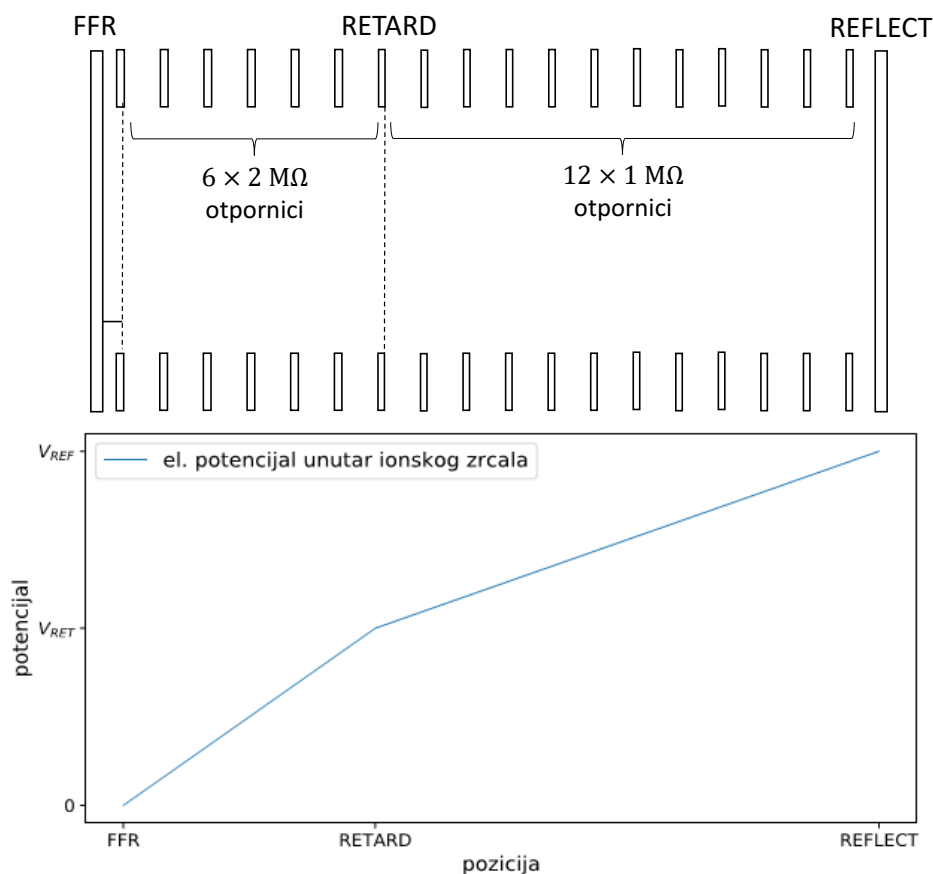
Kao što se vidi iz gornjeg uvjeta, glavna prednost dvostupanjskog reflektрона u odnosu na jednostupanjski jest kraća duljina, tj. kompaktnost. U ovim izračunima zanemarena je akceleracija iona od mete do ekstraktora, koja, iako kratka (5 mm) u odnosu na ukupnu putanju ( $> 1\text{ m}$ ), dodaje nelinearne članove u izraze, pa se u praktičnoj upotrebi optimalne duljine, tj. optimalni naponi, nešto razlikuju od izvedenih.



**Slika 4.5:** Shema strujnog kruga reflektрона. Na zadnju ploču i RETARD kontakt dovodi se vanjski napon, dok je FFR kontakt (ulaz u reflektрон) uzemljen. RETARD napon se, iz praktičnih razloga, dovodi preko otpornika od  $10\text{ M}\Omega$ . Rješavanjem kruga dobije se da je stvarna vrijednost napona na RETARD ploči jednaka  $(V_{\text{REF}} \cdot 10\text{ M}\Omega + V_{\text{RET}} \cdot 12\text{ M}\Omega) / 32\text{ M}\Omega = (5V_{\text{REF}} + 6V_{\text{RET}}) / 16$ .

Nakon elektrostatskog fokusiranja pomoću Einzel leće sekundarni ioni u analizatoru prolaze kroz područje duljine 586 mm gdje nema električnog polja, a zatim ulaze u dvostupanjski reflektрон. Gradijent potencijala je definiran nizom elektroda povezanih otpornicima (slika 4.6). Ulazna ploča je uzemljena, a na posljednju (eng. reflect plate) se dovodi napon nešto viši od napona ekstrakcije. Dodatna ploča, tzv. RETARD ploča, koja definira nagib u dva dijela reflektрона, nije u fizičkoj sredini zrcala, ali je otpor između ulazne, uzemljene ploče i RETARD ploče, kao i između RETARD ploče i posljednje, REFLECT ploče jednak (slika 4.5). To znači da, ako se na RETARD ploču ne dovede nikakav napon, na njoj će biti polovina napona dovedenog na REFLECT ploču. Ulazna i RETARD ploča izvedene su kao metalne mrežice s propusnošću od 90%, što znači da je broj detektiranih sekundarnih iona samo zbog tog faktora, jer ioni prolaze četiri puta kroz mrežicu, smanjen  $\sim 35\%$  u odnosu na broj detektiranih iona u slučaju upotrebe linearnog analizatora.

Ionsko zrcalo nagnuto je  $2.5^\circ$  u odnosu na ulaznu prirubnicu analizatora kako bi se ioni koji ulaze okomito u analizator reflektirali prema detektoru. Nakon refleksije u ionskom zrcalu, ioni prolaze dodatnih 296 mm driftnog područja prije detekcije u mikrokanalnom dvopločastom detektoru (eng. dual micro channel plate, MCP) promjera 25 mm. MCP detektor stvara električni signal na način da upadom iona u jedan od kanala čiji su zidovi presvučeni materijalom s



**Slika 4.6:** Shema ionskog zrcala reflektora TOF analizatora (gore) i raspodjela električnog potencijala unutar ionskog zrcala (dolje). Konektor na ulazu u ionsko zrcalo (FFR) se uzemljava, na posljednju ploču (REFLECT) postavlja se napon jednak ili veći naponu ekstrakcije, dok se napon RETARD ploče varira za optimalnu rezoluciju. Polupropusne mrežice nalaze se na ulazu u ionsko zrcalo (na potencijalu FFR ploče) te na RETARD ploči (na potencijalu RETARD ploče). RETARD ploča ne nalazi se fizički u sredini ionskog zrcala, pa rezultirajuća raspodjela potencijala ima dvostruki nagib.

visokim koeficijentom emisije elektrona, dolazi do emisije elektrona čiji se broj umnaža sekundarnim emisijama duž kanala zbog nametnute razlike potencijala. S vanjske strane pribornice na koju je montiran detektor integrirano je brzo pretpojačalo.

Za masenu kalibraciju, potrebno je razmotriti izraz za ukupno vrijeme proleta iona.[32] U odnosu na izraz 2.1 za linearni TOF analizator, promijenjen je driftni član pošto ion prolazi kroz dva driftna područja:

$$t_D = \frac{D_1}{v} + \frac{D_2}{v}, \quad (4.8)$$

i kroz prvi i drugi stupanj reflektora. U prvom dijelu reflektora provede  $t_{1m}$  vremena:

$$t_{1m} = 2 \left( \frac{D_r m}{q V_r} \right) \left[ v - (v^2 - 2qV_r/m)^{1/2} \right], \quad (4.9)$$

a u drugom dijelu vrijeme  $t_{2m}$ :

$$t_{2m} = 2 \left[ \frac{m(D_m - D_r)}{q(V_m - V_r)} \right] [v - q(V_m - V_r)t_{1m}/D_r m]. \quad (4.10)$$

Faktor 2 u izrazima za  $t_{1m}$  i  $t_{2m}$  potječe od toga što ion dva puta prolazi kroz oba područja. Kako vrijedi  $v \propto 1/\sqrt{m}$ , bez obzira na složenost izraza za ukupno vrijeme proleta, oblik kalibracijske krivulje je isti kao u slučaju linearnog TOF analizatora (izraz 2.1).

### 4.3 Okidači startnog signala

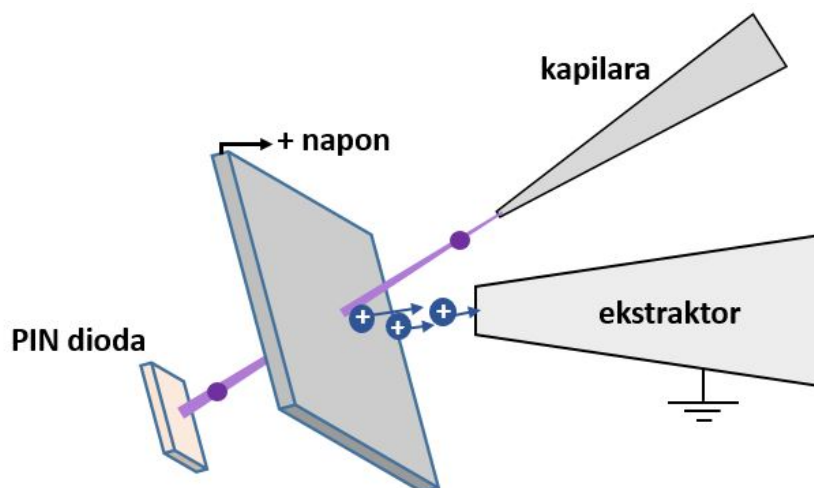
Najčešći način okidanja startnog signala kod TOF-SIMS metode jest pulsiranje primarnog snopa. U starom postavu [10] pulsevi trajanja 2 ns kreirani su pomoću elektrostatskih deflektora, postavljenih prije fokusirajućih kvadrupola, čiji je napon kontroliran visokonaponskom sklopkom (Behlke HTS 61-03-GSM) povezanom s digitalnim sustavom za skupljanje podataka. Razmak između pulseva, tj. vrijeme za kojeg je primarni snop otklonjen, iznosi 100  $\mu$ s. Trajanje pulsa određuje donju granicu vremenske razlučivosti sustava. Struja primarnog snopa značajno se smanjuje ovakvim pulsiranjem, za faktor  $10^4$  (postav ima malen radni ciklus, eng. duty cycle). Upravo je to razlog zbog kojeg nije moguće koristiti ovakav način okidanja startnog signala u postavu s kapilalom. Struja primarnog snopa nakon prolaska kroz kapilaru u rasponu je od nekoliko kHz do nekoliko desetaka kHz, stoga je jasno da bi dodatnim pulsiranjem struja primarnog snopa bila praktično zanemariva. Na raspolaganju ostaje više alternativnih načina okidanja startnog signala, svaki s prednostima i manama: detekcija samih primarnih iona ili detekcija induciranih sekundarnih elektrona. U teoriji je moguće i detektirati svjetlost, ali je praktično teško riješiti se pozadinskog šuma te male efikasnosti produkcije i detekcije fotona.

#### 4.3.1 Okidanje startnog signala detekcijom primarnih iona

Primarni ioni detektiraju se nakon prolaska kroz metu, što postavlja ograničenje na debljinu mete. Meta treba biti dovoljno tanka da ion prođe kroz nju i bude detektiran sa smanjenom energijom. Ta debljina ovisi o konkretnom uzorku i odabiru primarnog snopa, ali za organska tkiva i korištene snopove uobičajena je debljina oko 5  $\mu$ m. Ovaj uvjet zahtijeva posebnu pripremu tkiva za mjerenje (rezanje na tanke slojeve), dok neke uzorke čini potpuno nedostupnim za analizu jer ih nije moguće tako pripremiti (na primjer analiza pigmenata na papirima ili

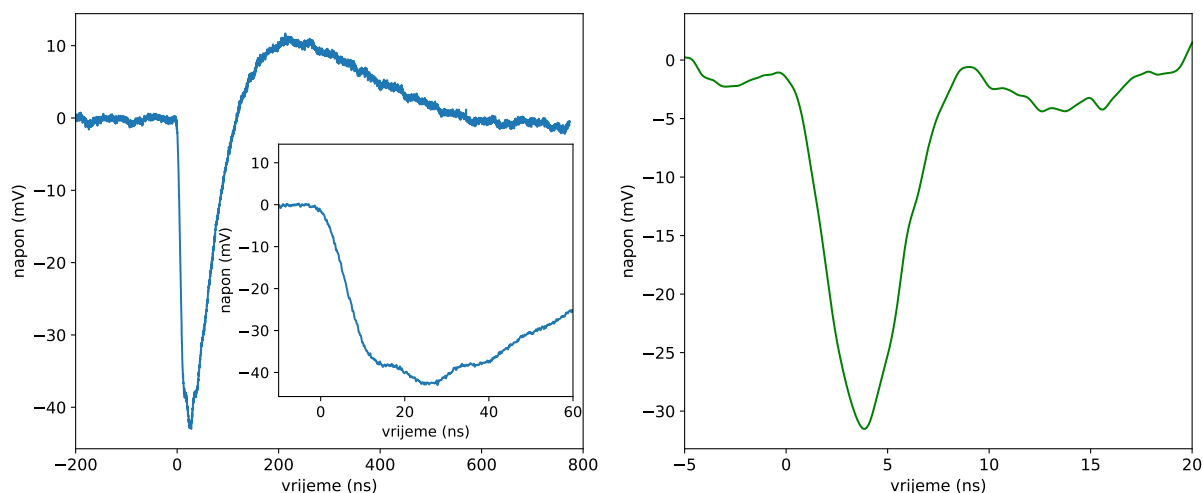
slikama).

Za detekciju primarnih iona odabran je silicijski čestični detektor (Hamamatsu S3590-09 PIN dioda površine  $10 \times 10 \text{ mm}^2$ ) koji se koristi u reverznom načinu rada. Dioda je postavljena na udaljenost 10 mm od mete (slika 4.7). Takav detektor relativno je jeftin i ima relativno dobru vremensku razlučivost (vrijeme rasta signala je približno 10 ns, slika 4.8). Mana ovakvog detektora za ovaj postav je osjetljivost na zračenje: nakon izloženosti određenoj dozi zračenja rad detektora se pogoršava (raste struja curenja zbog defekata u kristalnoj strukturi), sve do prestanka rada kada ga je potrebno zamijeniti novim. Kako bi se produžilo vrijeme trajanja detektora, montiran je na pokretni nosač koji se miče zajedno s metom, pa primarni snop ne pogađa detektor uvijek u istu točku. Umjesto ovakvog detektora, mogao bi se koristiti neki koji se ne oštećuje zračenjem, npr. plinski ionizacijski detektor, međutim taj detektor ima mnogo sporiji odziv i red veličine lošiju vremensku razlučivost, što onda kvari masenu razlučivost.[12]



**Slika 4.7:** Shematski prikaz rada postava za tanke mete.

U praktičnom smislu, startni signal je vremenski signal iz nabožno osjetljivog pretpojačala (slika 4.8) preko kojeg je dioda reverzno polarizirana (naponom 100 - 200 V). I START i STOP signal, koji dolazi iz pretpojačala MCP detektora, prolaze istim elektroničkim lancem (slika 4.9): prvo kroz brzo pojačalo (koje samo pojačava signal iz pretpojačala), zatim kroz diskriminator konstantne frakcije (eng. Constant Fraction Discriminator, CFD), koji odbacuje signale ispod određenog nivoa (pozadinu) i daje logički (pravokutni) signal amplitude 5 V za svaki ulazni signal. Logički signal odlazi u TFA jedinicu (eng. Timing Filter Amplifier) koja priprema signal pogodan za digitalnu akviziciju Spector v2 [88] napravljenu u Laboratoriju za interakcije ionskih snopova. Dolaskom START signala otvara se vremenski prozor od  $100 \mu\text{s}$  tijekom kojeg se skupljaju svi STOP signali (tzv. multi-stop sustav). Novi vremenski prozor se

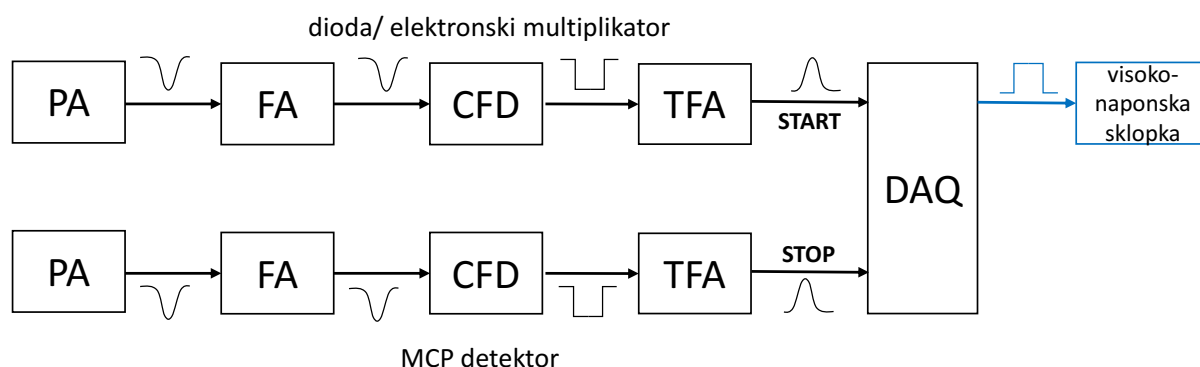


**Slika 4.8:** Startni signali iz nabojno osjetljivog pretpojačala ORTEC 142A silicijeve PIN diode (lijevo) i brzog pretpojačala ORTEC 9326 elektronskog multiplikatora Detech 2300 (desno) snimljeni na brzom digitalnom osciloskopu Teledine LeCroy WaveRunner 8404M-MS s 40 GS/s i 4 GHz analognim frekventnim pojasom. Vrijeme porasta signala iz pretpojačala diode je  $\approx 10$  ns, dok je vrijeme porasta signala iz pretpojačala elektronskog multiplikatora  $\approx 3$  ns.

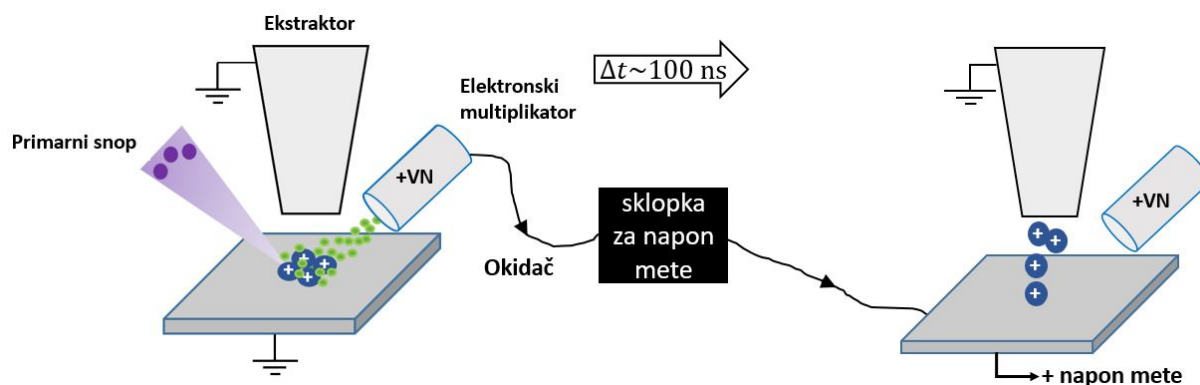
može otvoriti tek po zatvaranju prethodnog prozora.

### 4.3.2 Okidanje startnog signala detekcijom sekundarnih elektrona

Alternativno rješenje, detekcija sekundarnih elektrona, omogućuje analizu uzoraka proizvoljne debljine, što znatno proširuje vrstu i broj uzoraka koje je moguće analizirati, a olakšava i pripremu istih za mjerenja. Dodatno, ovakvo rješenje je trajno u smislu da nema nikakvih oštećenja od zračenja, i detektor nije potrebno mijenjati nakon određenog vremena. Za detekciju sekundarnih elektrona za START signal koristi se Detech 2300 kanalni elektronski multiplikator. Implementiranje detekcije (negativnih) elektrona otežano je zbog pozitivnog napona mete potrebnog za ubrzanje pozitivnih sekundarnih iona od mete prema uzemljenom ekstraktoru. Ukoliko bi meta bila konstantno na visokom pozitivnom potencijalu, ne bi bila moguća detekcija elektrona. Da bi se omogućila njihova detekcija, u postav je uvedena visokonaponska tranzistorska sklopka (Behlke HTS 61-01-GSM) koja mijenja napon mete od nule do željenog napona ekstrakcije, i obratno (slika 4.10). Nakon što primarni ion stigne do uzorka postavljenog na potencijal od 0 V, u interakciji iona s uzorkom dolazi do oslobađanja sekundarnih iona i elektrona. Elektronski multiplikator, koji je postavljen na udaljenost od 10 mm od mjesta interakcije, skupi dio elektrona nekoliko nanosekundi nakon interakcije (slika 4.11). Vrijeme porasta signala je 3 – 5 nanosekundi (slika 4.8). Logički signal iz multiplikatora (kreiran pomoću brzog pretpojačala spojenog na diskriminator konstantne frakcije) šalje se u digitalni sustav za skupljanje



**Slika 4.9:** Shema elektroničkog lanca za obradu START i STOP signala. Signali iz prepojačala (prikazani na slici 4.8) odlaze u ORTEC FTA 420 brzo pojačalo (eng. Fast Amplifier, FA), koje im podiže amplitudu, pa u ORTEC 473 A diskriminator konstantne frakcije (eng. Constant Fraction Discriminator, CFD). Negativni logični signali visine 5 V iz CFD-a ulaze u Canberra 2111 TFA jedinice (eng. Timing Filter Amplifier) koje daju pozitivne signale visine 2 V koji odlaze u digitalni sistem za skupljanje podataka (eng. Digital Acquisition, DAQ). DAQ po dolasku startnog signala šalje pozitivni logički signal visine 5 V u kontrolni ulaz Behlke HTS 61-01-GSM visokonaponske sklopke koja podiže napon mete.



**Slika 4.10:** Shematski prikaz rada postava za debele mete. VN je kratica za visoki napon.

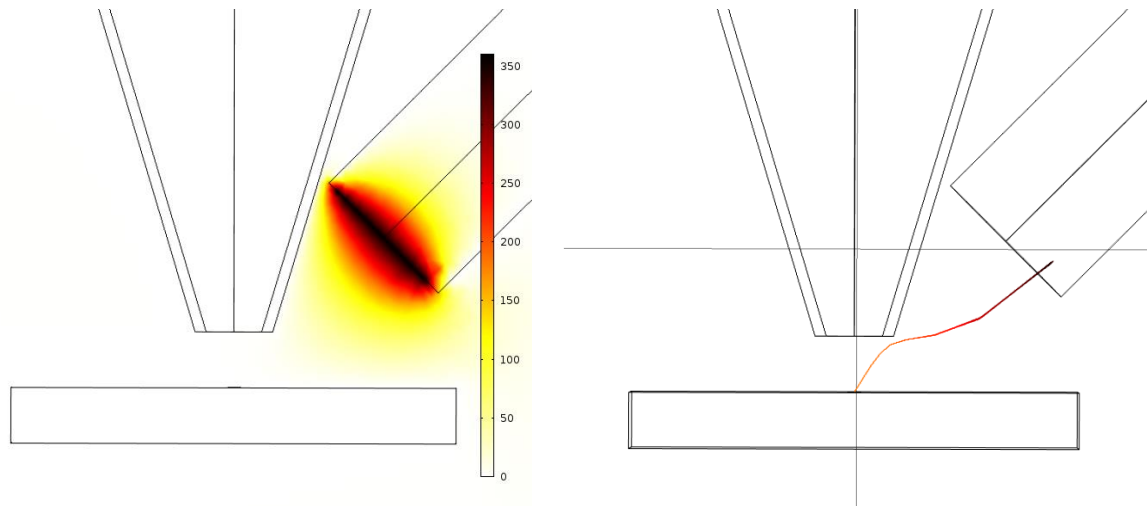
podataka i koristi kao okidač startnog signala za mjerenje vremena proleta. Dodatno, digitalni signal iz sustava za skupljanje podataka šalje se na kontrolni ulaz visokonaponske sklopke koja onda diže napon mete od nule do zadane vrijednosti napona ekstrakcije. Vremenski interval  $t$  između signala koji dolazi na kontrolni ulaz sklopke i START signala iz elektronskog multiplikatora je oko 80 ns. Ion mase  $m = 300$  Da i energije  $E = 5$  eV prijeđe maksimalnu udaljenost u smjeru ekstrakтора  $L \approx 143 \mu\text{m}$  tijekom tog vremenskog intervala:

$$E = \frac{mv^2}{2} = \frac{mL^2}{2t^2} \Rightarrow L = \sqrt{\frac{2Et^2}{m}} \approx 143 \mu\text{m}, \quad (4.11)$$

što je manje od 3% udaljenosti između mete i ulaza u ekstrakтор. Dakle, nije očekivan značajan gubitak sekundarnih iona zbog zakašnjele uspostave napona ekstrakcije, osim za najlakše ione (npr. za ion mase 1 Da prijeđena udaljenost je 17 puta veća za istu energiju iona). Nakon uspos-

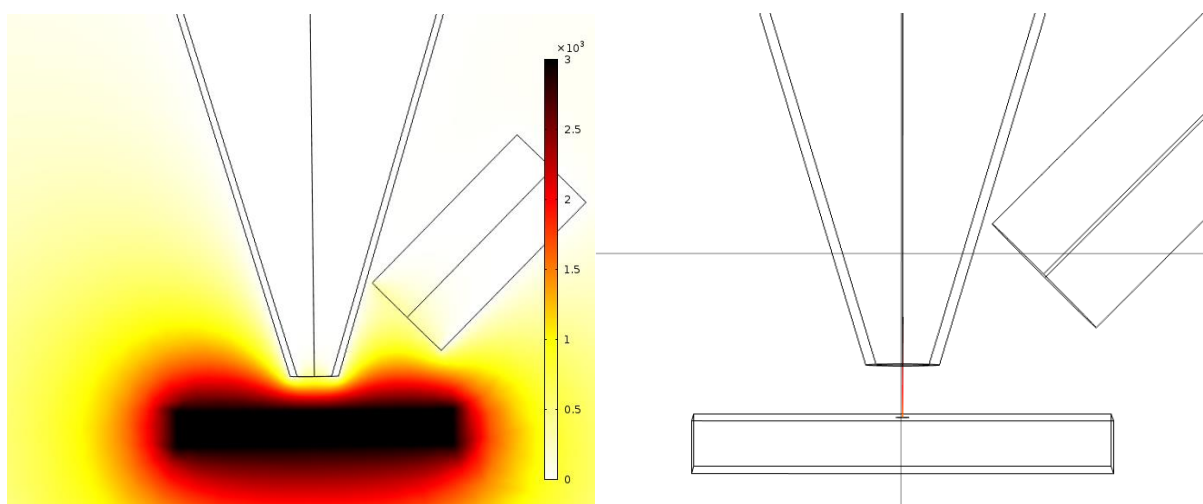


tavljanja napona ekstrakcije sekundarni ioni se ubrzavaju prema masenom spektrometru (slika 4.12). Nakon  $2\ \mu\text{s}$  napon mete se pomoću sklopke spušta ponovno na nulu i tijekom  $100\ \mu\text{s}$ , koliko traje vremenski prozor za mjerenje vremena proleta, sustav za skupljanje podataka ne može slati novi signal na kontrolni ulaz sklopke i podići napon mete. To znači da u slučaju kad bi novi primarni ion došao do mete prije isteka vremenskog prozora od  $100\ \mu\text{s}$ , ne bi došlo do slanja signala na kontrolni ulaz sklopke i podizanja napona mete, tj. neće doći do detekcije novostvorenih sekundarnih iona. Samo će oni primarni ioni, koji dođu nakon što istekne vremenski prozor od  $100\ \mu\text{s}$ , pokrenuti novo mjerenje vremena proleta i podizanje napona mete. Na taj način smanjena je pozadina u spektru zbog nekoincidentnih događaja (nekorelirani primarni i sekundarni ioni), za razliku od transmisijskog načina rada, gdje je napon mete konstantno podignut i bilo koji novi primarni ion koji dođe na metu za vrijeme trajanja vremenskog prozora za skupljanje sekundarnih iona proizvest će slučajne događaje u masenom spektru. Dodatnom elektroničkom jedinicom moguće je produžiti kašnjenje kontrolnog signala sklopke i time odabrati optimalni vremenski razmak između dolaska primarnog iona i uspostave napona ekstrakcije. Maksimalna nominalna frekvencija sklopke u kontinuiranom načinu rada je  $20\ \text{kHz}$ , što je sasvim dovoljno budući da su uobičajene frekvencije u mjerenjima od  $5$  do  $15\ \text{kHz}$ .



**Slika 4.11:** Simulacija električnog potencijala (u programu COMSOL) u postavu za debele mete prije dolaska primarnog iona i uspostave napona mete (lijevo). Simulacija putanje sekundarnih elektrona od mjesta interakcije primarnog snopa i mete do elektronskog detektora (desno). Na prednju mrežicu elektronskog detektora postavljen je napon od  $360\ \text{V}$ . Pretpostavljena je energija elektrona od  $2\ \text{eV}$ , početni kut putanje je  $56.3^\circ$  u odnosu na površinu mete. Elektronima treba  $\approx 8\ \text{ns}$  od mete do elektronskog detektora.

Simulacije napravljene u COMSOL-u [89] (primjer kojih je prikazan na slici 4.11) pokazuju da se u ovakvoj konfiguraciji (tj. za ove napone i udaljenost elektronskog detektora od mjesta



**Slika 4.12:** Simulacija električnog potencijala (u programu COMSOL) u postavu za debele mete nakon detekcije elektrona i uspostave napona mete (lijevo). Simulacija putanje sekundarnih iona od mjesta interakcije primarnog snopa i mete do ekstraktora (desno). Napon ekstrakcije je 3000 V, a napon na prednjoj mrežici elektronskog detektora je 360 V. Pretpostavljena je energija sekundarnog iona od 2 eV, početni kut putanje je  $90^\circ$  u odnosu na površinu mete, a masa 100 Da. Ionima treba  $\approx 0.13 \mu\text{s}$  od mete do ulaza u ekstraktor.

nastanka sekundarnih elektrona) detektira samo dio nastalih sekundarnih elektrona. Prema simulaciji, najveći kut u odnosu na površinu mete za koji se elektroni detektiraju je  $63^\circ$ , što znači da se detektira približno jedna trećina elektrona koji napuste metu. Kako u interakciji teških MeV-skih iona s materijom nastaje više desetina sekundarnih elektrona [90], a za okidanje signala je dovoljna detekcija jednog, sustav će zadovoljavajuće funkcionirati sve dok broj sekundarnih elektrona po primarnom ionu nije niži jednoznačenkasti. Dodatno, vremenski rasap detektiranih elektrona je ispod nanosekunde, tj. nije faktor koji značajno utječe na masenu razlučivost. Napon na prednjoj mrežici elektronskog detektora je stalno uključen, i ne utječe na ekstrakciju sekundarnih iona (slika 4.12).

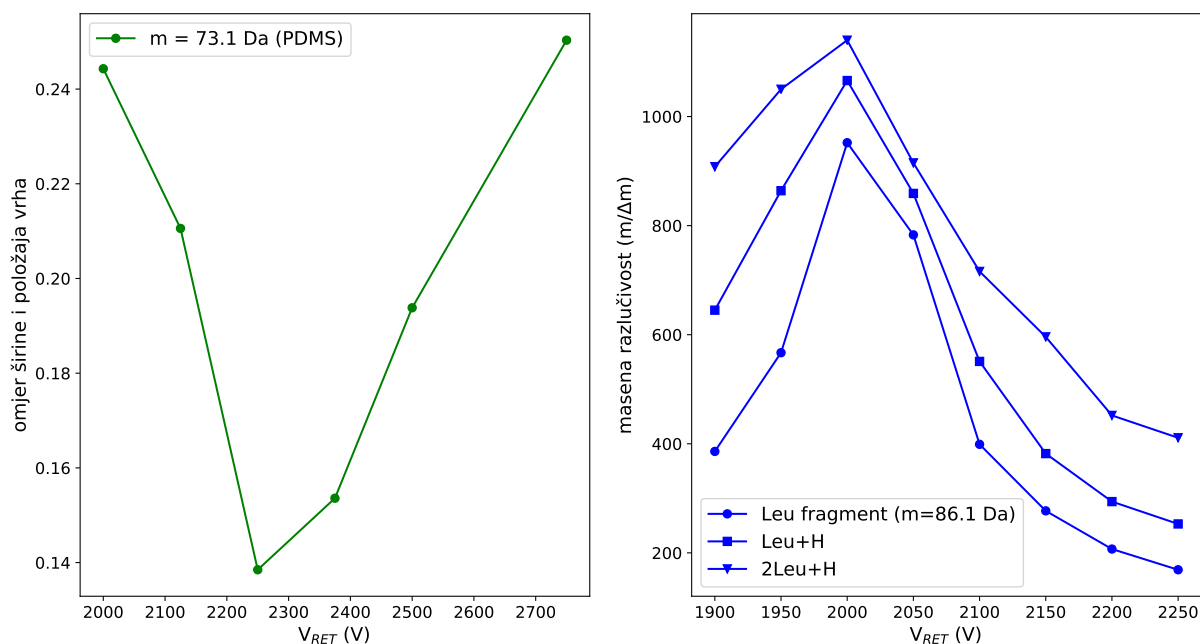
# Poglavlje 5

## Mjerenja razlučivosti i prinosa

### 5.1 Utjecaj parametara reflektora

Da bi se optimizirala masena razlučivost, potrebno je odrediti optimalnu vrijednost napona na RETARD ploči/mreži TOF reflektora. Na slici 5.1 prikazani su rezultati mjerenja razlučivosti  $s$  u ovisnosti o RETARD naponu na uzorku leucina u transmisijском postavu i u postavu za debele mete. Vidljivo je da u oba slučaja postoji dobro definirana optimalna vrijednost napona ( $\pm 20$  V), koja je nešto različita u dva slučaja za isti napon ekstrakcije. To je očekivano uzimajući u obzir da u postavu za debele mete dolazi do svojevrstne odgođene ekstrakcije, pa je sama energija sekundarnih iona nešto manja nego u slučaju konstantne (i instantne) ekstrakcije u transmisijском postavu, a nije isto ni mjesto početka ekstrakcije. Također, maksimum se nalazi na istoj vrijednosti za različite molekule u spektru leucina, što znači da optimalna vrijednost RETARD napona nije maseno ovisna. Treba napomenuti da su prikazane vrijednosti RETARD napona one koje su zadane na izvoru napona, dok je stvarna vrijednost napona na RETARD elektrodi nešto manja (slika 4.5). Na primjer, za optimalnu vrijednost na izvoru napona od 2.25 kV, stvarna vrijednost je 1.78 kV, što je 59% vrijednosti napona reflektora, i odstupa od teorijskih 66%.

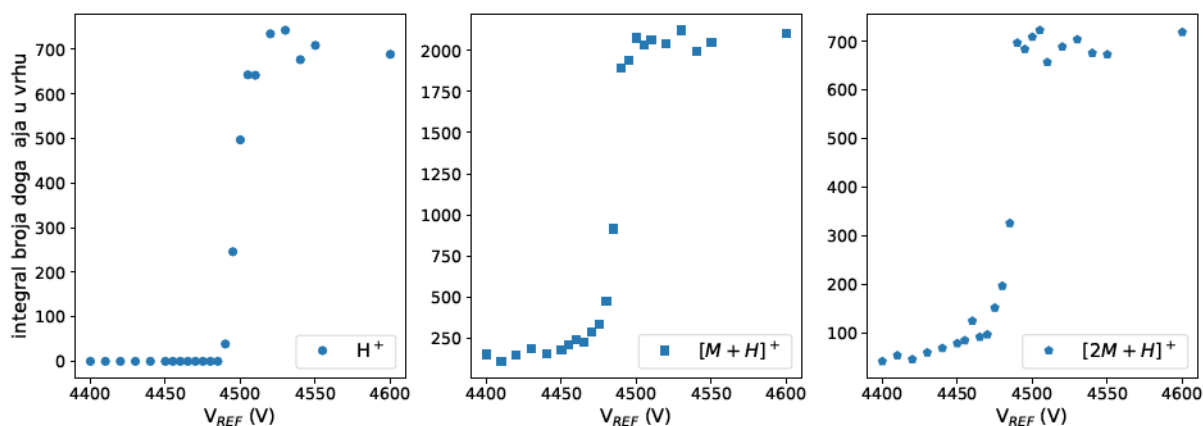
Mjerenje ovisnosti prinosa o naponu reflektora prikazano je na slici 5.2. Korišten je uzorak leucina, koji je nataložen pomoću postupka termalne evaporacije na tanki  $\text{Si}_3\text{N}_4$  prozor, u transmisijском načinu rada. Napon ekstrakcije postavljen je na 4500 V, uz standardne ostale napone ( $V_{\text{Einzel}} = 2.33$  kV,  $V_{\text{MCP}} = -2.105$  kV). Na RETARD elektrodu nije doveden (dodatni) vanjski napon, što znači da se nalazi na naponu  $V_{\text{REF}}/2$ . Kako je napon ekstrakcije 4500 V, onda ubrzani sekundarni ioni imaju energiju  $qV_{\text{EXT}} + E_0$ , tj. za  $E_0$  (inicijalnu energiju) veću od 4500



**Slika 5.1:** Ovisnost masene razlučivosti o RETARD naponu TOF analizatora. Lijevo je prikazana ovisnost u transmisijskom postavu, a desno u postavu za debele mete. U oba slučaja napon ekstrakcije bio je 3 kV.

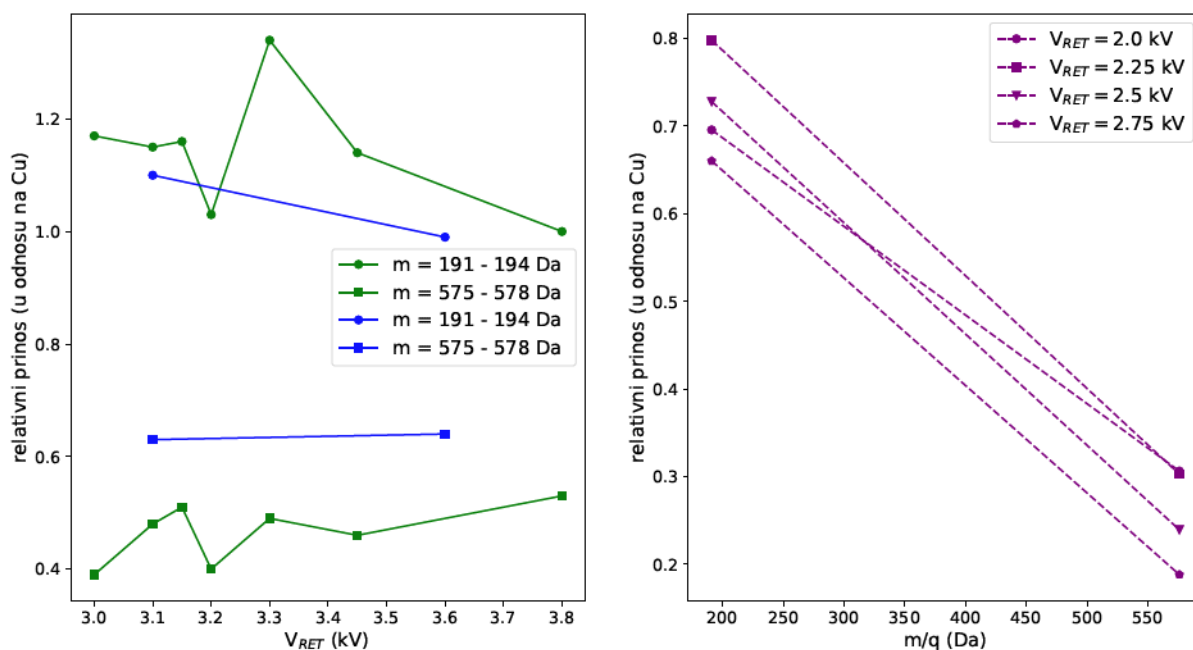
eV. Stoga se očekuje da je optimalna vrijednost napona reflektрона oko te vrijednosti (točnije za  $(4500 \cdot \cos 2^\circ)$  V, tj. 3 V manja jer ioni ulaze u reflektрон pod kutom od  $2^\circ$ ). Vidljivo je iz ovisnosti za sva tri iona (vodik,  $[M+H]^+$  i  $[2M+H]^+$ , gdje je M molekula leucina mase 131.1 Da) da je prinos maksimalan i stabilan za bilo koji napon iznad 4500 V, pa je načelno svejedno koji je napon reflektрона postavljen, sve dok je barem nešto viši od napona ekstrakcije. Vidljiva je razlika između vodikovog iona i molekularnih iona leucina: dok vodikova krivulja brzo pada na nulu (u manje od 10 V), tj. može se opisati standardnom logističkom funkcijom, kod molekula leucina prisutan je rep koji se proteže i više od 100 V ispod napona ekstrakcije. Ioni iz repa (20 – 30% ukupnih iona za pojedini vrh) detektirani su sa smanjenom energijom, tj. s energijskim deficitom. Činjenica da su ioni i sa smanjenom energijom detektirani u istoj vremenskoj točki (tj. da su imali isto vrijeme preleta) upućuje da je izvor energijskog deficita u akceleracijskoj fazi putanje, tj. netom poslije odvajanja od uzorka, u procesu ionizacije (ion s deficitom formira se 10 – 20  $\mu\text{m}$  iznad same površine mete)[29, 91]. Kod H iona ta je pojava zanemariva, dok je kod većih/težih molekularnih organskih iona značajna (u slučaju  $[3M+H]^+$ , koji nije prikazan na grafu, udio iona s deficitom je preko 35%). Ovakva pojava negativno utječe na vremensku (tj. masenu) razlučivost, a i na pomak samog vrha na masenoj skali (prema nešto višoj masi).

Na slikama 5.3 nalaze se rezultati mjerenja prinosa za različite iznose RETARD napona (za



**Slika 5.2:** Utjecaj napona reflektрона na prinos za odabrane vrhove u spektru leucina. Mjerenje je napravljeno u transmisivskom načinu rada, s naponom ekstrakcije 4.5 kV. Na RETARD kontakt nije doveden vanjski napon. Korišten je primarni snop 14 MeV  $\text{Cu}^{4+}$  struje  $\sim 350$  Hz.

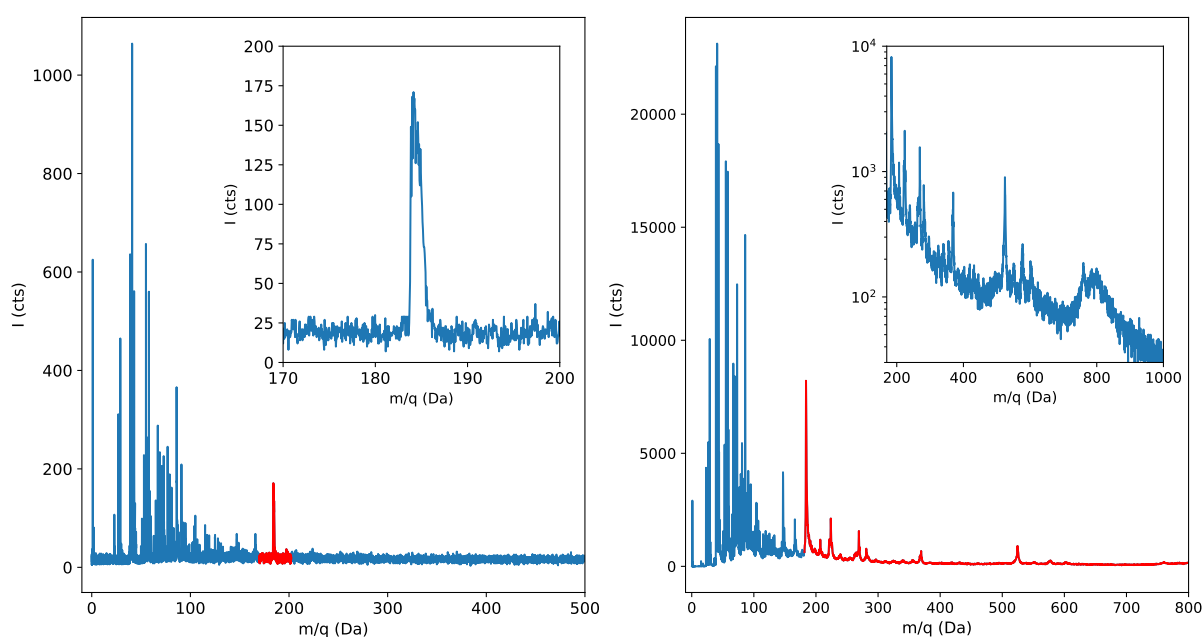
dva različita napona ekstrakcije). RETARD napon u skladu s očekivanjem nema neki značajniji utjecaj na prinos: puno veće promjene prinosa prisutne su u odnosu na masu sekundarnog iona. Tako je prinos za masu 575 Da manji više od 3 puta nego za masu 63 Da, i 2 – 3 puta u odnosu na masu 191 Da.



**Slika 5.3:** Relativni prinos cijelih molekula ftalocijanina ( $m = 575\text{-}578$  Da) i njegovih fragmenata ( $m = 191\text{-}194$  Da) za različite iznose RETARD napona, za napon ekstrakcije 4.5 kV (lijevo) i napon ekstrakcije 3 kV (desno). Prinos bakra (fragmenata molekule ftalocijanina mase 63 i 65) iznosi jedan. Na slici lijevo zelene točke su za vrijednosti REFLECT napona 4.5 kV i napona Einzel leće 1.7 kV, a plave točke su za vrijednosti napona 4.6 kV i 2.4 kV, redom.

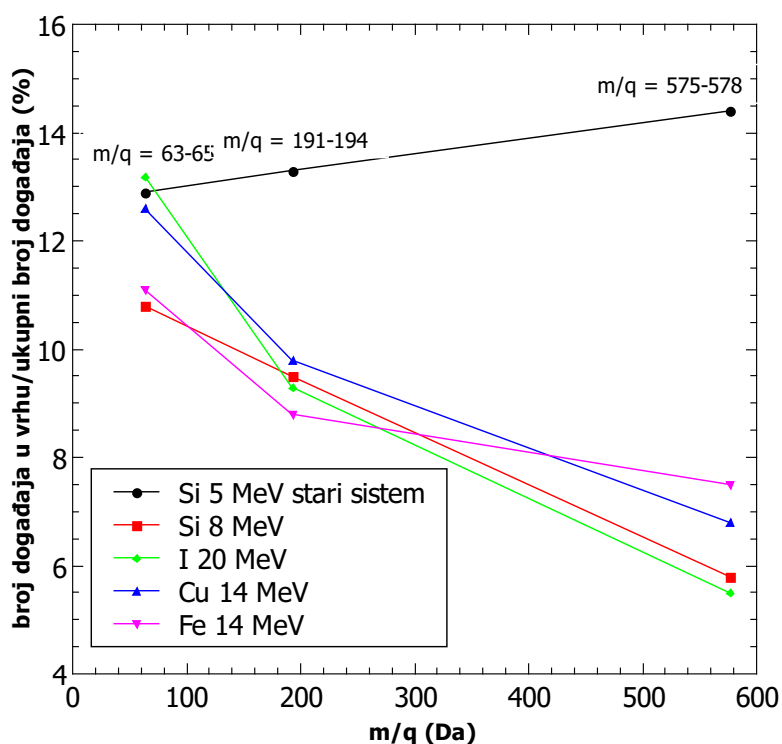
Osjetno manji prinos težih molekula u novom postavu naoko je vidljiv usporedbom dva spektra istog uzorka: uzorak tanko izrezanog ( $\leq 5 \mu\text{m}$ ) tkiva mišjeg mozga analiziran je istim

primarnim snopom na novom postavu, kapilarnoj mikroprobi s reflektrom TOF analizatorom i na starom postavu, ionskoj mikroprobi s linearnim TOF analizatorom (slika 5.4). Najviši vrh prisutan u spektru na novom postavu je na masi 184.1 Da (fragment lipida), dok su u spektru na starom postavu prisutni brojni vrhovi koji odgovaraju lipidima i njihovim fragmentima, sve do mase 800 Da. Usporedba sa starim postavom napravljena je mjereći prinos ftalocijanina (slika 5.5): dok je na starom postavu prinos neovisan o masi sekundarnog iona, u novom postavu primjetan je pad prinosa 30 – 60% od lakog fragmenta ( $m/q = 63-65$ ) do cijele molekule ( $m/q = 575-578$ ) (vidi spektar na slici 5.7). Dakle, očito je prinos na novom postavu smanjen za molekule teže od 100 Da.



**Slika 5.4:** Spektar tkiva mišjeg mozga prikupljen na kapilarnoj mikroprobi, s reflektrom TOF analizatorom (lijevo) i spektar istog uzorka snimljen s linearnim TOF analizatorom na ionskoj mikroprobi (desno). Korišten je primarni snop 9 MeV  $O^{4+}$ . Dijelovi spektara označeni crvenom bojom prikazani su u umetku grafova.

Osim manje efikasnosti detekcije u reflektrom zbog već spomenutog utjecaja mrežica koje definiraju napone u reflektrom, glavne uzroke treba tražiti u slabijoj osjetljivosti korištenog MCP detektora za detekciju težih molekula [92, 93] te gubitak sekundarnih iona uslijed fragmentacije koji se ne događa kod linearnog TOF analizatora. Od tri tipa fragmentacije koja se mogu dogoditi (promptna, za vrijeme akceleracije i nakon akceleracije iona), jedino kod fragmentacije nakon akceleracije (tj. u TOF analizatoru) dolazi do gubitka cijelih molekula, i to samo kod reflektrom TOF analizatora [32]. Naime, ako se fragmentacija dogodi u driftnom području analizatora, nastali fragmenti, koji imaju istu brzinu, neće biti detektirani u isto vrijeme



**Slika 5.5:** Broj događaja u pojedinoj grupi vrhova u spektru ftalocijanina u odnosu na ukupni broj događaja u spektru za različite primarne snopove. Prikazana je i usporedba sa starim sustavom s linearnim TOF analizatorom.

zbog prolaska kroz ionsko zrcalo. Dva ili više fragmenata će provesti isto vrijeme u driftnim područjima (pa će u linearnom TOF analizatoru biti detektirani u isto vrijeme), ali će zbog različitih masa, tj. kinetičkih energija, doći do vremenske disperzije u području ionskog zrcala, koja je u slučaju dvostupanjskog reflektora nelinearna, i teško je, samo na osnovu dobivenog spektra, povezati takve fragmente s originalnim molekulama. Ukoliko se fragmentacija dogodi u području ionskog zrcala, tada će vrijeme proleta fragmenta ovisiti i o masi fragmenta i o poziciji fragmentacije, što rezultira vremenskim rasapom, tj. širokim vrhovima loše kvalitete i povećanjem pozadine. S druge strane, ako se fragmentacija dogodi u prvom driftnom području, vrijeme proleta neće ovisiti o mjestu fragmentacije, nego samo o omjeru mase fragmenta i molekularnog iona  $\mu$ : u tom slučaju, po uzoru na izraze 4.8-4.10, ukupno vrijeme proleta fragmenta bit će :

$$t' = \frac{D_1}{v} + \frac{D_2}{v} + \frac{vD_r\mu m}{qD_r}, \quad (5.1)$$

u slučaju da je fragment reflektiran u prvom dijelu reflektora ( $\mu < V_r/V_m$ ), ili:

$$t' = \frac{D_1}{v} + \frac{D_2}{v} + 2 \left( \frac{D_r m}{q V_r} \right) \left[ v - (v^2 - 2qV_r/\mu m)^{1/2} \right] + 2 \left[ \frac{\mu m (D_m - D_r)}{q (V_m - V_r)} \right] \left[ v - q(V_m - V_r)t_{1m}/D_r \mu m \right], \quad (5.2)$$

u slučaju da je fragment reflektiran u drugom dijelu reflektora ( $\mu > V_r/V_m$ ). Dakle, načelno je tada moguće izračunati masu fragmenata, ali u praksi je komplicirano.

### 5.1.1 Poboljšanje prinosa korištenjem detektora s postakceleracijom

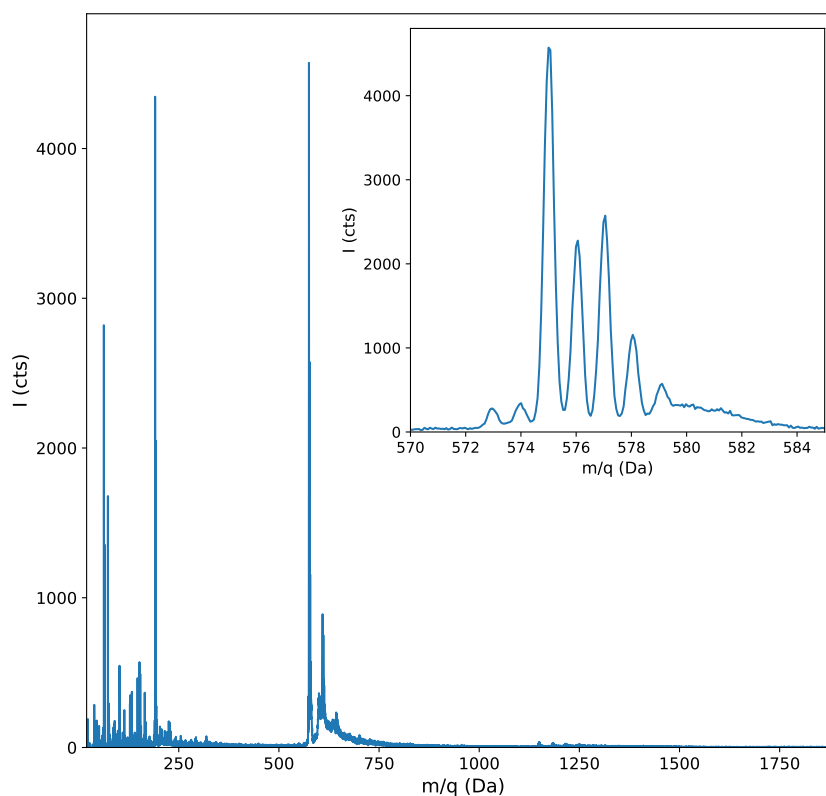
Zbog relativno loše efikasnosti kod reflektora analizatora, a koja je vjerojatno poticala od slabe efikasnosti detekcije sporih teških molekula u MCP detektoru, bilo je potrebno napraviti određene promjene u detekcijskom sustavu. Za tu svrhu je umjesto klasičnog MCP detektora postavljen Kore detektor s višim naponom postakceleracije (10 kV). Prednji dio multiplikatora je na varijabilnom negativnom naponu (u našem slučaju -2800 V), stražnji dio je uzemljen (signal je na nultom potencijalu), a konverzijska dinoda s otvorom od  $25 \times 22 \text{ mm}^2$  postavljena je na -10 kV. Pretpojačalo je integrirano u kućištu detektora.

Spektar ftalocijanina snimljen s novim detektorom prikazan je na slici 5.6. Spektar je snimljen s postavom za debele mete. Usporedbom sa spektrom istog uzorka snimljenim sa starim detektorom (slika 5.7) primjetno je značajno poboljšanje u efikasnosti detekcije težih molekula. Cijela molekula ftalocijanina (576.1 Da) i glavni fragment (191.1 Da) dominantni su vrhovi u spektru s novim detektorom, dok u spektru bez postakceleracije dominiraju vrhovi na nižim masama. U tablici 5.1 prikazani su izmjereni prinosi sa starim i novim detektorom za nekoliko različitih primarnih snopova. Za fragment je prinos isti ili blago veći, dok za cijelu molekulu povećanje prinosa iznosi 3 - 4 puta.

**Tablica 5.1:** Prinos ftalocijanina (cijele molekule i glavnog fragmenta) za različite primarne snopove s detektorom sekundarnih iona s postakceleracijom. U zagradama su vrijednosti izmjerene s običnim MCP detektorom, bez postakceleracije. Prinosi su definirani kao omjeri broja detektiranih sekundarnih iona i broja primarnih iona, iskazani u postotcima.

primarni snop	ukupni prinos	$191 \leq m/q \leq 194$	$575 \leq m/q \leq 578$
14 MeV Cu <sup>4+</sup>	8.2	0.7 (0.7)	1.9 (0.5)
20 MeV I <sup>6+</sup>	9.3	0.8 (0.9)	2.0 (0.6)
14 MeV Fe <sup>4+</sup>	11.1	1.1 (0.9)	2.7 (0.7)



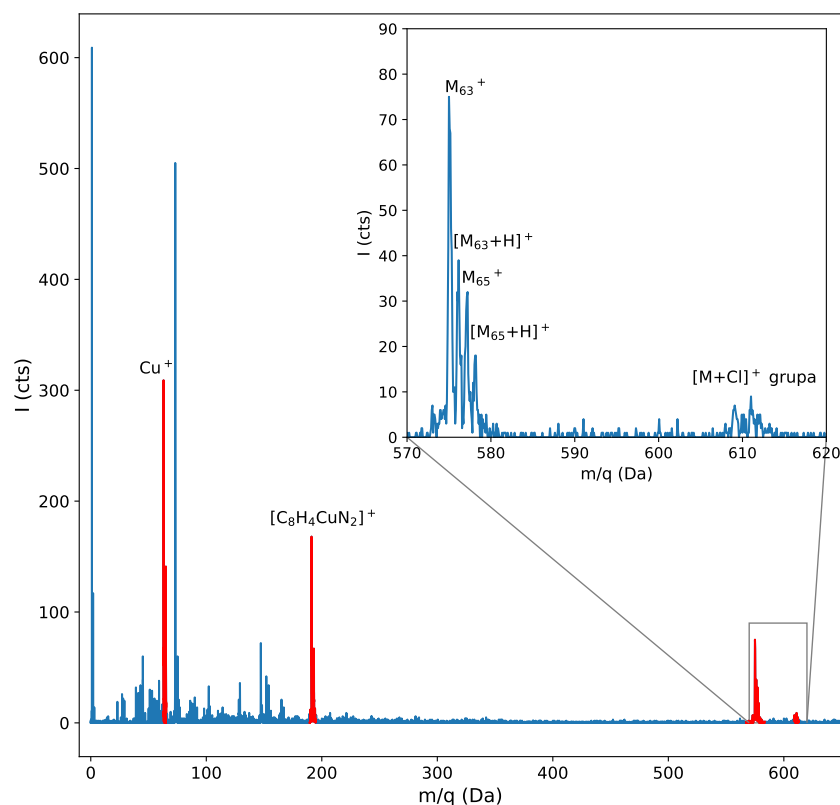


**Slika 5.6:** Maseni spektar plavog ftalocijanina (PB15:1,  $C_{32}H_{16}CuN_8$ ,  $m = 576.1$  Da) snimljen u postavu za debele mete (napon ekstrakcije 4.5 kV). Za detekciju sekundarnih iona korišten je detektor s 10 kV postakceleracijom. Istaknuta je glavna grupa vrhova. Primarni snop je 14 MeV  $Fe^{4+}$ .

## 5.2 Masena razlučivost u transmisijском načinu rada

Na slikama 5.7 i 5.8 prikazani su maseni spektri ftalocijanina ( $C_{32}H_{16}CuN_8$ ,  $m/q$  576.1) i leucina ( $C_6H_{13}NO_2$ ,  $m/q$  131.2) skupljeni u transmisijском načinu rada. Uzorci su pripremljeni napanjanjem (u laboratorijskom napanjaču) praha ftalocijanina i leucina preko 100 nm debelih  $Si_3N_4$  prozora dimenzije  $1.5 \times 1.5$  mm<sup>2</sup> koji su prethodno napareni tankim slojem zlata (debljine  $\sim 10$  nm) radi bolje ekstrakcije sekundarnih iona. Napon ekstrakcije bio je 4.5 kV, uz optimizirane ostale napone:  $V_{REFLECT} = 4.6$  kV,  $V_{RETARD} = 3.1$  kV,  $V_{Einzel} = 2.4$  kV i  $V_{MCP-front} = -2$  kV. Struja primarnog snopa je iznosila  $\sim 5$  kHz u PIN diodi, dok je frekvencija događaja u MCP-u bila otprilike 10 puta manja. Najbolja ostvarena vremenska razlučivost bila je 5 ns za vodikov vrh (masa  $m/q = 1$ ). Glavni faktor koji određuje razlučivost je vrijeme porasta START signala iz diode ( $\approx 10$  nanosekundi). Dodatno, signal iz detektora sekundarnih iona ima vrijeme porasta 2 ns. Izmjerene masene razlučivosti (definirane kao omjer položaja vrha i pune širine na pola visine) navedene su u tablici 5.2.

Za glavnu molekularnu grupu ftalocijanina (vrhovi oko mase 576 Da), ostvarena je masena razlučivost  $\sim 2500$ , što je 3 - 5 puta bolji rezultat u usporedbi sa starim postavom za

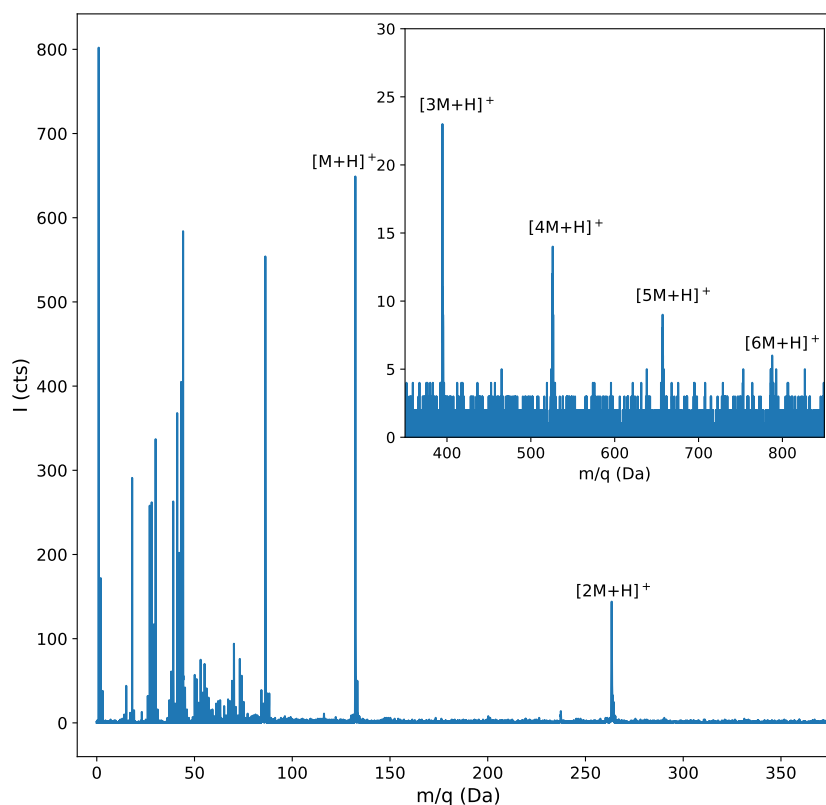


**Slika 5.7:** Maseni spektar plavog ftalocijanina (PB15:1,  $C_{32}H_{16}CuN_8$ ,  $m = 576$  Da) u transmisijskom načinu rada (napon ekstrakcije 4.5 kV). Istaknuta je glavna grupa vrhova i pripadni fragmenti. Primarni snop je 8 MeV  $Si^{4+}$  struje 5 kHz.

**Tablica 5.2:** Masena razlučivost za odabrane vrhove iz masenih spektara ftalocijanina i leucina u transmisijskom načinu rada (napon ekstrakcije 4.5 kV). Nepouzdanosti izmjerenih razlučivosti u rasponu su od 1 do 5%, ovisno o broju prikupljenih događaja u pojedinom vrhu.

Ftalocijanin		Leucin	
m/q (Da)	m/FWHM(m)	m/q (Da)	m/FWHM(m)
23	1045	2	500
129	1537	23	1278
576	2482	132.2	1488
610	2459	263.4	1458

TOF-SIMS[10]. Budući da je u starom postavu širina startnog signala  $\approx 2$  ns, a vrijeme porasta STOP signala manje od 1 ns, poboljšanje razlučivosti je u cjelosti posljedica djelomične korekcije inicijalne energijske distribucije s reflektrom. Pozadina koja je homogeno distribuirana po cijelom masenom spektru dolazi od slučajnih koincidencija, tj. lažnih događaja zbog nekoreliranih START i STOP signala zbog dolaska novih primarnih iona za vrijeme trajanja vremenskog prozora "otvorenog" od prethodnih iona. Za struju primarnog snopa od 10 kHz,

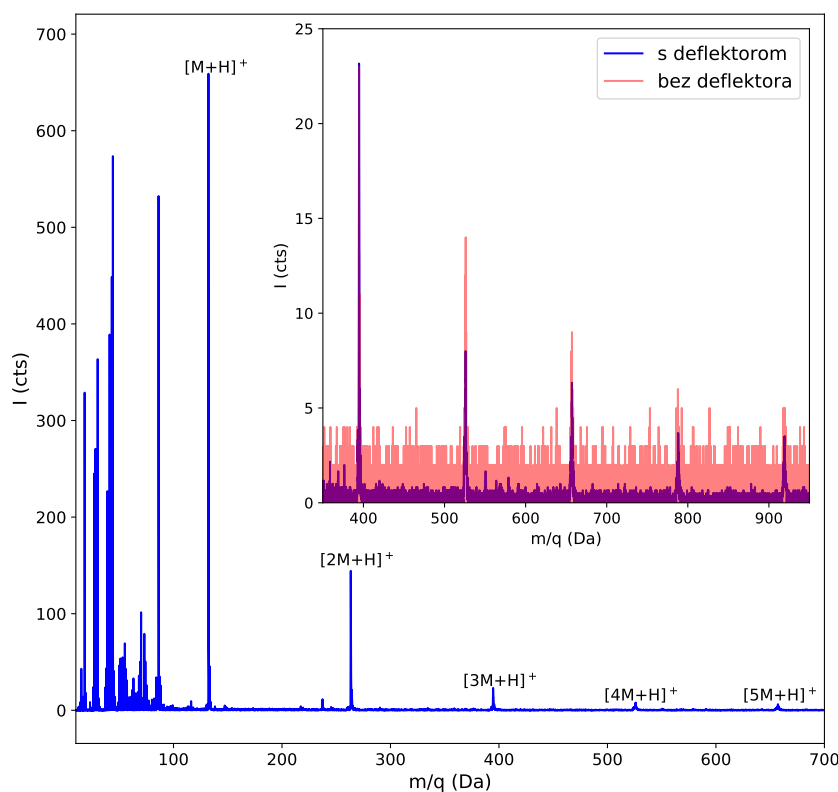


**Slika 5.8:** Maseni spektar leucina ( $C_6H_{13}NO_2$ ,  $m/q$  131.2) u transmisijskom načinu rada (napon ekstrakcije 4.5 kV). Označen je glavni vrh mase 132.2 Da (protonizirana molekula leucina) i njegovi multiplieti. U umetku je prikazan ostatak spektra s višim multipletima leucina. Primarni snop je 14 MeV  $Cu^{4+}$  struje 5 kHz.

vjerojatnost da u vremenskom prozoru od 100  $\mu s$  dođe više od jednog primarnog iona je prema Poissonovoj distribuciji  $1 - 1^0 e^{-1}/0! - 1^1 e^{-1}/1! = 0.26$ . Za struju od 15 kHz, vjerojatnost se povećava na 44%. Generalno, što je struja primarnog snopa manja, ovaj efekt je manji, pa je potrebno naći neki kompromis između brzine skupljanja spektra i tolerirane razine šuma.

Lažne koincidencije moguće je smanjiti otklanjanjem (pomoću elektrostatskog polja) primarnog snopa za vrijeme trajanja akvizicijskog prozora, kako ne bi bilo novopridošlih iona koji bi stvorili nove sekundarne ione. Deflektori (ploče na koje se dovodi visoki napon) koji su postavljeni između analizatorskog i zakretnog magneta povezani su s izvorom visokog napona. Dolaskom primarnog iona nastaje startni signal, koji se osim za mjerenje vremena proleta, koristi i kao okidač za propuštanje visokog napona na deflektorske ploče (korištenjem visokonaponske sklopke, po istom principu kao u elektronskom načinu rada). Za vrijeme trajanja akvizicijskog prozora (100  $\mu s$ ) primarni snop je otklonjen (ne dolazi na metu). Istekom tog vremena, napon na deflektorima spušta se na nulu, a primarni snop dolazi na metu. Spektar leucina s uključenim deflektorom (napon 1.5 kV) prikazan je na slici 5.9. Odmah je vidljivo da je prisutan veći broj

vrhova leucina (dimer, trimer i višeg reda, preko mase 900 Da) nego u spektru bez deflektora, gdje su više mase "utopljene" u pozadini. Dva spektra u dijelu viših masa uspoređena su u umetku slike, i vidljivo je da je pozadina manja oko 4 puta kada je primarni snop otklanjan, što rezultira povećanjem omjera visine vrha i šuma za isti faktor.

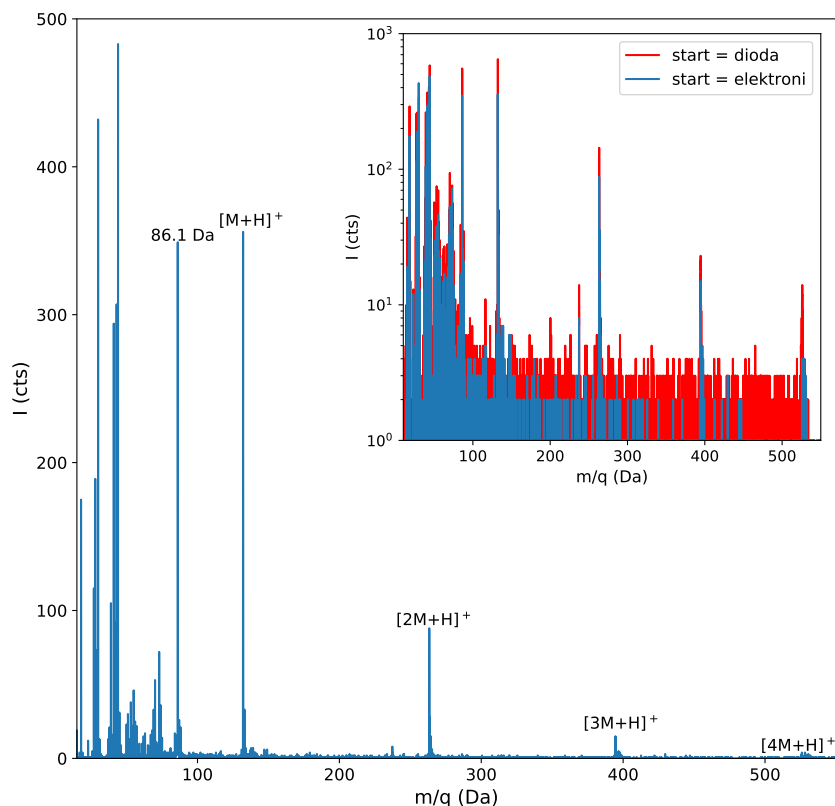


**Slika 5.9:** Maseni spektar leucina ( $C_6H_{13}NO_2$ ,  $m/q$  131.2) u transmisivnom načinu rada (napon ekstrakcije 4.5 kV) u slučaju kada je primarni snop otklonjen za vrijeme trajanja akvizicijskog prozora. U umetku je usporedba s istim spektrom bez uključenog deflektora. U oba slučaja primarni snop je 14 MeV  $Cu^{4+}$  struje 5 kHz.

### 5.3 Masena razlučivost u postavu za debele mete

Maksimalni napon ekstrakcije u ovom načinu rada je 3 kV, zbog ograničene snage dostupnih izvora napona koji su spojeni na visokonaponsku sklopku. Optimalni parametri TOF analizatora za taj napon ekstrakcije su:  $V_{REFLECT} = 3.01$  kV,  $V_{RETARD} = 2.05$  kV,  $V_{Einzel} = 1.5$  kV. Za detekciju sekundarnih elektrona, na DeTech 2300 elektronski multiplikator dovode se tri napona:  $V_{front} = 360$  V (napon na prednjoj mrežici pomoću kojeg se prikupljaju elektroni),  $V_{intermediate} = 1.8$  kV i  $V_{back} = 1.9$  kV (naponi na srednjoj i stražnoj elektrodi pomoću kojih se multipliciraju elektroni, tj. pojačava električni signal). Usporedbom frekvencije u elektronskom detektoru (detektirani pulsevi - jedan ili više elektrona koji se detektiraju istovremeno ili

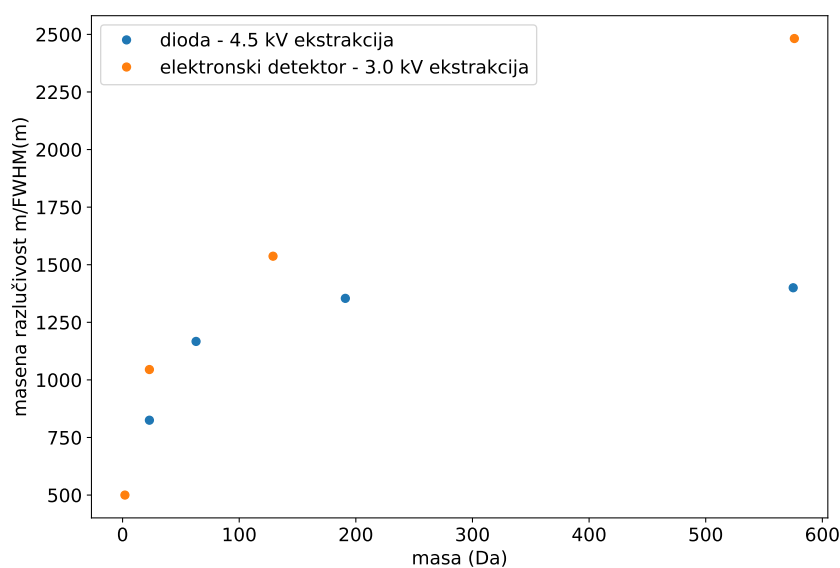
gotovo istovremeno), i frekvencije signala u diodi (detektirani primarni ioni), ustanovljeno je da je poklapanje za metu leucina  $\sim 100\%$ .



**Slika 5.10:** Maseni spektar leucina ( $C_6H_{13}NO_2$ ,  $m/q$  131.2) u postavu za debele mete (napon ekstrakcije 3 kV). Označen je glavni vrh mase 132.2 Da (protonizirana molekula leucina) i njegovi multiplieti. U umetku je prikazana usporedba s istim spektrom u transmisijskom načinu rada (s naponom ekstrakcije od 4.5 kV). U oba slučaja korišten je isti uzorak. Primarni snop je 14 MeV  $Cu^{4+}$  struje 4 -5 kHz.

Snimljeni spektar leucina (s istog uzorka kao spektar u transmisijskom načinu rada, ali s područjem snimanja izvan tankog prozora) prikazan je na slici 5.10. U svim spektrima u ovom načinu rada ne može se detektirati vodikov vrh jer vodikovi sekundarni ioni "pobjegnu" s mete prije nego se uspostavi ekstrakcijsko polje (za 80 ns, koliko je minimalno vrijeme od detekcije elektrona do početka uspostave ekstrakcijskog polja, ion vodika energije 5 eV prijeđe 2.5 mm u nasumičnom smjeru, što je 50% udaljenosti od mete do vrha ekstraktora). Izmjerena masena razlučivost za glavni vrh ( $m = 132.2$  Da) je  $m/FWHM(m) = 1250$ , što je približno isto kao razlučivost u transmisijskom načinu rada za isti napon ekstrakcije, 3 kV (u transmisijskom načinu rada uobičajeni napon ekstrakcije je viši, 4.5 kV). Na razlučivost najviše utječe vrijeme porasta signala u elektronskom detektoru (3 - 5 ns), vrijeme porasta signala detektora iona (2 ns) i stabilnost napona ekstrakcije. Razlučivost za masu 575 Da, izmjerena u spektru s detektorom s postakceleracijom (slika 5.6) je 1400, što je dosta manje nego u transmisijskom postavu ( $\approx 2500$  za

istu masu). Do saturacije krivulje masene razlučivosti (slika 5.11) dolazi oko mase 200 Da (za masu 23 Da razlučivost je 825, za masu 63 razlučivost je 1167, za masu 191 Da razlučivost je 1354). Dok razlučivost u transmisiji izgleda kao da slijedi korijensku ovisnost o masi (ovdje treba biti oprezan zbog nedostatka točaka između mase 131 i 575 Da), što bi upućivalo na dominantan utjecaj vremenske neodređenosti (izraz 2.7), u postavu za debele mete razlučivost je praktički konstantna u najinteresantnijem masenom području. Dakle, širina masenog vrha proporcionalana je masi, što upućuje na dominaciju energijske neodređenosti ili neodređenosti u putanji. Najvjerojatniji je uzrok nestabilnost napona ekstrakcije: izvor napona nema dovoljnu snagu da za frekvencije od  $\sim 10$  kHz uspostavi korektan, zadani napon. Promatrajući na osciloskopu ponašanje napona pri pulsiranju za manje vrijednosti, možemo procijeniti da je iznos oscilacije napona i do 10% u odnosu na zadanu vrijednost. Utjecaj tog efekta, koji je samo djelomično popravljiv prolaskom kroz reflektoron, izraženiji je kod težih molekula, jer one prelaze dulji put u ekstrakcijskom polju.

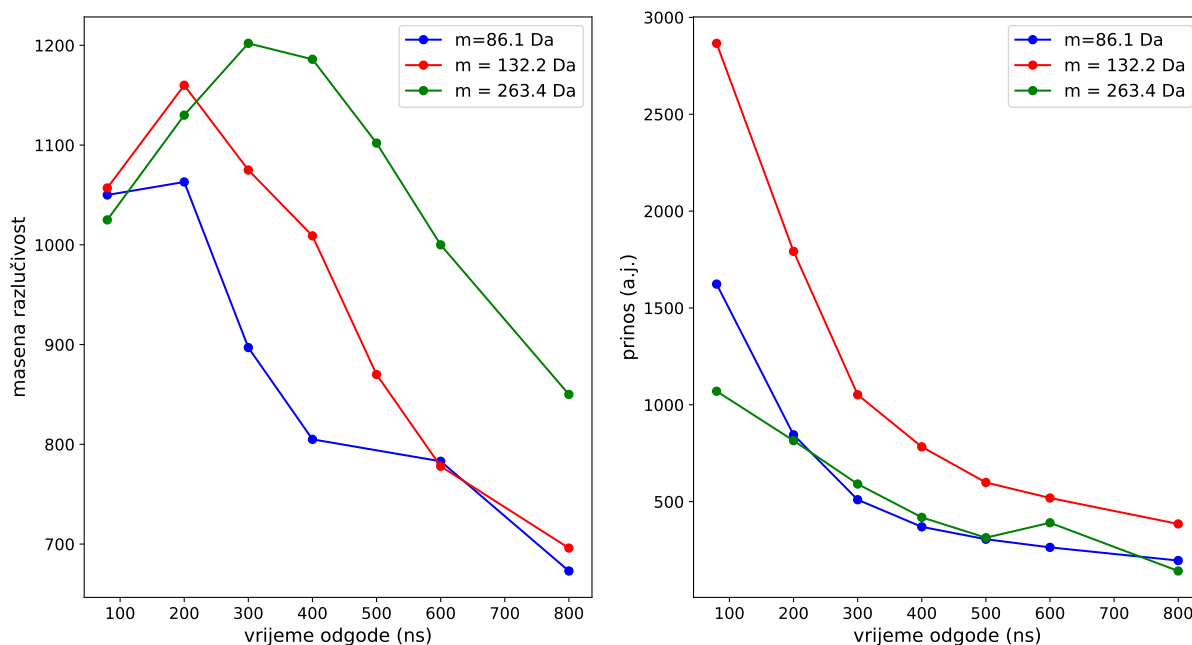


**Slika 5.11:** Ovisnost masene razlučivosti o masi sekundarnih iona u dva načina rada (transmisijski postav i postav za debele mete).

Ono što je glavni dobitak, osim činjenice da nema ograničenja na debljinu mete, jest smanjena pozadina, što se može vidjeti na grafu 5.10 gdje je uspoređen spektar dobiven korištenjem START signala iz elektronskog detektora i diode. Omjeri visine signala i pozadine (S/N omjer) za vrhove leucina (M+H na masi 132.2 Da, 2M+H na 263.4 Da, 3M+H na 394.6 Da i 4M+H na 525.8 Da) iznose redom 1318, 688, 150 i 48, dok su u transmisijskom postavu isti omjeri redom 721, 180, 32 i 20. Dakle, zahvaljujući pulsiranju napona ekstrakcije, tj. vraćanju napona ekstrakcije na nulu nakon svega  $2 \mu\text{s}$ , smanjene su slučajne koincidencije dva do pet puta u odnosu na

transmisijski postav. Niska razina šuma omogućuje analizu molekula čiji je prinos mali, ili je manja efikasnost njihove detekcije zbog veće mase (u postavu sa starim MCP detektorom).

### 5.3.1 Utjecaj vremena odgode na masenu razlučivost i prinos



**Slika 5.12:** Ponašanje masene razlučivosti i prinosa molekula iz uzorka leucina za različita vremena između detekcije START signala i okidanja visokonaponske sklopke koja kontrolira napon mete.

Minimalni vremenski razmak između START signala koji ide iz CFD-a prema digitalnom sustavu za skupljanje podataka i kontrolnog signala visokonaponske sklopke koji pokreće dizanje napona mete je 80 ns. Taj razmak je moguće kontinuirano povećavati dodavanjem elektroničke jedinice koja proizvodi dodatno kašnjenje kontrolnog signala sklopke, a kako bi se produljenjem driftne putanje smanjile relativne razlike u konačnoj kinetičkoj energiji zbog početne energijske distribucije (molekule veće početne energije prođu manji put u ekstrakcijskom polju, tj. prođu manju razliku potencijala nego molekule manje početne energije). Taj mehanizam su prvi predložili Wiley i McLaren [94], a standardno se koristi u MALDI metodi [95]. Utjecaj vremena odgode na masenu razlučivost za tri različite molekule iz uzorka leucina prikazan je na slici 5.12. Rezultati pokazuju da je optimalno kašnjenje ovisno o masi, pa tako iznosi 200 ns za molekulu mase 132.2 Da, a 300 – 400 ns za molekulu mase 263.4 Da. Povećanje razlučivosti u odnosu na slučaj kada nema dodatnog kašnjenja iznosi tek 10 – 20%, i veće je za veće mase. To je dosta manje povećanje nego u mjerenjima iz [96] gdje je povećanje 50% za masu 175 Da, ali je razlika što se ovdje koristi reflektoran TOF analizator (a ne linearni), koji

već djelomično korigira inicijalnu energijsku distribuciju, pa je optimiziranje vremena odgode u ovom slučaju donekle redundantno. Dodatno, povećanjem vremena odgode prinos kontinuirano i značajno pada, pa eventualno manji dobitak u masenoj razlučivosti ne opravdava dosta veći gubitak prinosa. Dodatno kašnjenje bi imalo smisla koristiti eventualno za još veće mase, za koje bi povećanje razlučivosti bilo još veće ako bi krivulja nastavila slijediti isti trend, onda kada mjerenje zahtjeva što bolju razlučivost, a prinos ciljanih molekula je dovoljno velik da pad prinosa ne utječe na značajan gubitak razlučivosti.



## Poglavlje 6

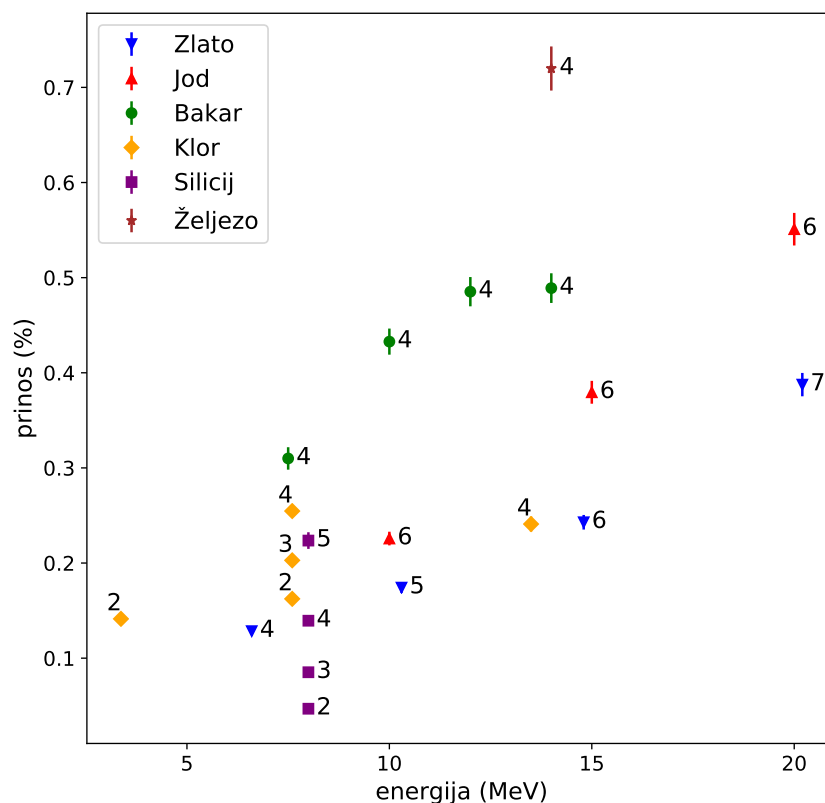
# Ovisnost prinosa o parametrima primarnog snopa

Utjecaj parametara primarnog snopa na prinos sekundarnih iona proučavan je na uzorku bakrovog (II) ftalocijanina (PB15,  $C_{32}H_{16}CuN_8$ ,  $m = 576.082$  Da), poznatog i pod imenom plavi ftalocijanin, sintetičkog organskog pigmenta koji se često koristi u komercijalnim bojama, a koje se mogu analizirati pomoću MeV SIMS-a. Dodatno, masa molekule je relativno velika i nalazi se u području gdje se nalaze druge molekule zanimljive za mapiranje (npr. lipidi). Prah ftalocijanina naparen je na 100 nm debeli  $Si_3N_4$  prozor. Mjerenja su napravljena u transmisivskom postavu (+4.5 kV napon ekstrakcije), a za detekciju sekundarnih iona korišten je MCP detektor (bez postakceleracije). Usporedbom spektara nije zabilježena promjena u vremenskoj, tj. masenoj razlučivosti, što znači da nije bilo degradacije u svojstvima korištene PIN diode zbog ozračene doze.

Prinos je definiran kao omjer broja detektiranih sekundarnih iona (integral broja događaja u odabranom rasponu masa) i broja primarnih iona (broj primarnih iona detektiranih u diodi). Da bi se smanjili efekti različitih površinskih uvjeta i geometrije na izmjereni prinos, spektri su prikupljeni iz istog područja na uzorku. Postavljeno je skenirano područje od  $250 \times 250 \mu m^2$  s dimenzijom piksela od  $5 \mu m$ , ali stvarna veličina skeniranog područja bila je manja: mjerenje je zaustavljeno nakon što je u ciljanim vrhovima ( $m = 575 - 578$  Da) skupljeno tisuću događaja. Analizom i usporedbom molekularnih mapa, nije uočena nikakva nehomogenost u analiziranom području. Struja primarnog snopa, izmjerena u PIN diodi, iznosila je od 150 do 800 Hz, ovisno o vrsti i energiji primarnog iona. Namjerno je korištena struja ispod 1 kHz da bi se smanjio doprinos šumu koji dolazi od slučajnih koincidencija. Pri računanju prinosa oduzeta

je pozadina, koja je činila 2 - 3% događaja u ciljanim vrhovima. Ukupna (kumulativna) doza za sva mjerenja bila je  $\sim 5 \cdot 10^{10}$  iona/cm<sup>2</sup>, što je najmanje jedan red veličine ispod statičkog limita SIMS-a (oko  $10^{12}$  iona/cm<sup>2</sup>), pa se varijacije u prinosu koje bi bile posljedica oštećenja površine analiziranog uzorka mogu zanemariti.

Jedan od izmjerenih masenih spektara prikazan je na slici 5.7. U umetku grafa prikazani su glavni molekularni vrhovi [M]<sup>+</sup> mase 575 Da (s <sup>63</sup>Cu izotopom) i mase 577 Da (s <sup>65</sup>Cu izotopom). Njima su pridružene protonizirane molekule ftalocijanina (m = 576 Da i m = 578 Da, za dva Cu izotopa). Dodatno, u umetku je grupa vrhova masa od 609 do 612 Da koji su karakteristični za klorom-stabilizirani PB15 pigment (poznat i kao PB15:1), koji zadrži 0.5 - 1 Cl atom po molekuli (1 vodikov atom iz prstena ftalocijanina zamijeni se atomom klora što dovodi do razlike u masi od 34 Da). Prinos ove grupe vrhova je prenizak, pa nije korišten u analizi. Glavni fragmenti u masenom spektru su na masama 191 i 193 Da ([C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>CuN<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, za dva Cu izotopa) i sami izotopi bakra na masama 63 i 65 Da. Omjer izmjerenog prinosa dva stabilna izotopa bakra je  $(2.28 \pm 0.1)$ , što je u skladu s njihovom prirodnom zastupljenošću (69.15% : 30.85%). Drugi intenzivniji vrhovi u spektru (m = 73, 147, 207, 221 Da) dolaze od PDMS-a (polidimetilsiloksana), poznatog i često prisutnog površinskog zagađivača.



**Slika 6.1:** Ovisnost prinosa iona molekule ftalocijanina o energiji primarnog snopa. Korišteni su različiti primarni ioni (Si, Cl, Fe, Cu, I i Au) u energijskom rasponu od 3.37 MeV do 20.2 MeV.

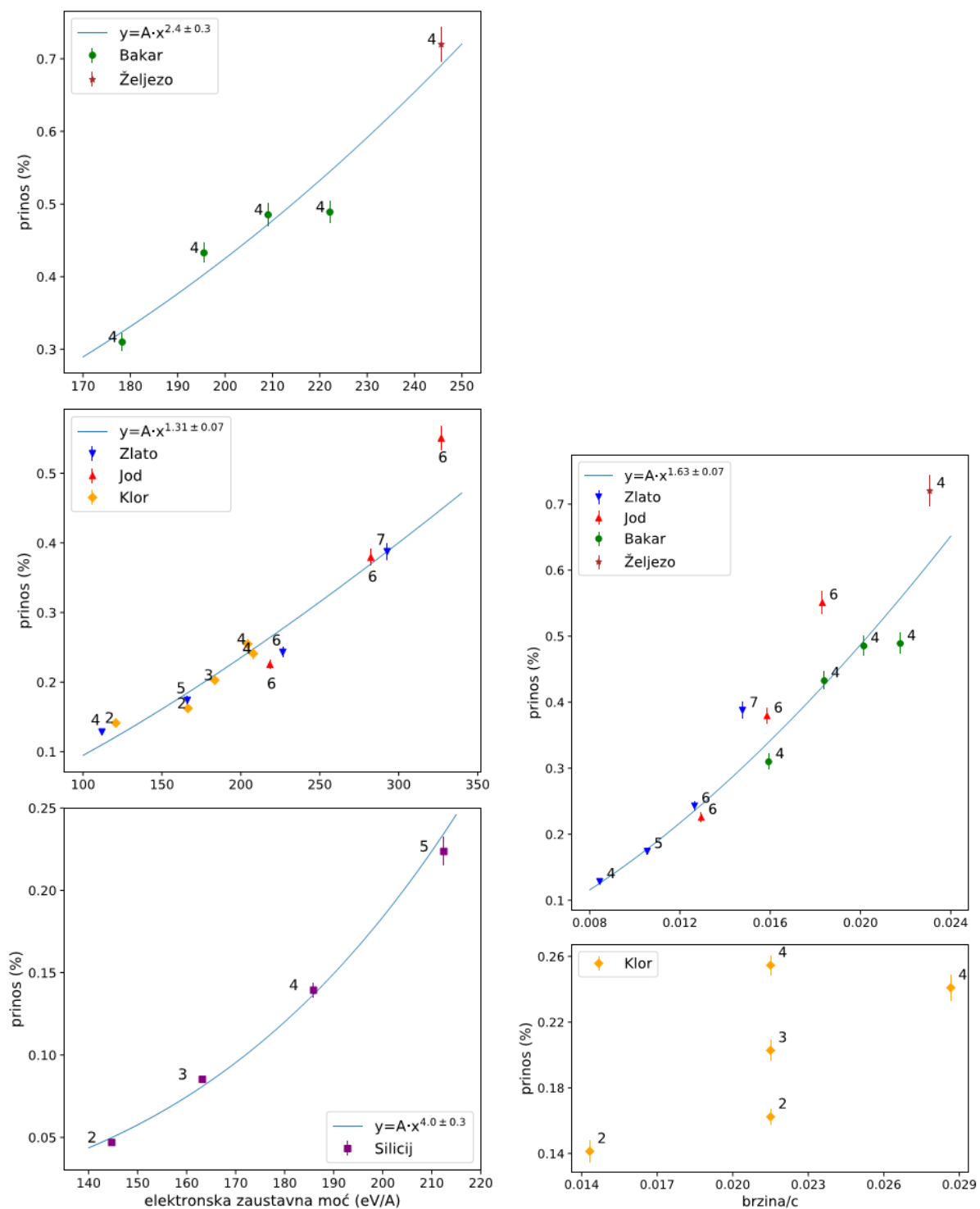
Ukupni prinos sekundarnih iona, tj. zbrojeni prinos svih molekula u spektru (s oduzetom pozadinom) iznosio je 3 - 9%, ovisno o primarnom snopu, što je skoro red veličine manje nego u slučaju linearnog TOF analizatora [93, 97] (zbog razloga navedenih u prethodnom poglavlju). Dodatno, kako prinos sekundarnih iona dosta ovisi i o brzini, tj. masi sekundarnih iona zbog upotrebe detektora bez postakceleracije, nije moguće uspoređivati prinos fragmenata i cijelih molekula u jednom spektru, nego samo međusobno uspoređivati prinos molekula iste mase za različite primarne snopove.

Molekularni prinosi ftalocijanina (za glavne vrhove masa od 575 do 578 Da) za različite parametre primarnih snopova prikazani su na slici 6.1 i u tablici 6.1. Apsolutne vrijednosti prinosa, od najmanjeg koji iznosi 0.05% za 8 MeV Si<sup>4+</sup> do najvećeg od 0.72% za 14 MeV Fe<sup>4+</sup>, u očekivanom su rasponu, tj. otprilike red veličine manje od totalnog prinosa (što je u skladu s mjerenjima na argininu i leu-enkefalinu iz [93]). Za sve primarne ione, prinos raste s energijom iona. Za ione bakra, željeza, joda i zlata, molekularni prinos je veći za lakše ione u cijelom energijskom području. Vezano za naboj primarnog iona, za ione iste energije prinos je veći za ione s većim nabojem.

Da bi provjerili ovisnost eksperimentalno izmjerenog prinosa o elektronskoj zaustavnoj moći, potrebno je izračunati teorijske vrijednosti zaustavne moći. Uobičajeno se za to koristi program SRIM koji koristi semiempirijske modele za računanje različitih veličina pri interakciji iona s materijalom. Kod računanja elektroničke zaustavne moći, jedan od parametara koje koristi SRIM je ravnotežni naboj iona, koje se uspostavlja nakon uravnoteženja dva procesa: uhvata elektrona od strane iona i gubitka elektrona od strane projektila. Ravnotežni naboj je funkcija brzine iona-projektila i atomskih brojeva projektila i materijala mete, tj. ne ovisi o naboju projektila prije ulaska u materijal. Međutim, ravnotežno stanje se postiže nakon što projektil prođe nekoliko desetaka nm putanje unutar mete, što je više od dubine izbacivanja desorbiranih molekula (najviši površinski slojevi mete). Dodatno, za mjereni energijski raspon (50 - 300 keV/u) SRIM-ovi izračuni zaustavne moći imaju relativno velika odstupanja (i do 20%) od eksperimentalnih rezultata.[98] Iz tih razloga, za računanje teorijskih vrijednosti zaustavne moći korišten je program CasP koji omogućuje izračun neravnotežnog gubitka energije i kao parametar koristi i naboj iona-projektila.[98] U tablici 6.1 prikazane su izračunate teorijske vrijednosti gdje su kao parametri korišteni UCA model i DHFS potencijal zasjenjenja. Slika 6.2 pokazuje porast prinosa molekula sa zaustavnom moći. Ako pretpostavimo skaliranje prinosa s potencijom zaustavne moći, evidentno je da podatke za sve ione nije moguće opisati jednom

**Tablica 6.1:** Molekularni prinos za različite vrste, energije i naboje primarnih iona. Elektronska zaustavna moć je izračunata koristeći program CasP, a nuklearna zaustavna pomoć pomoću programa SRIM.

ion	naboj	energija (MeV)	brzina/c	dE/dx-el. (eV/A)	dE/dx-n. (eV/A)	Prinos (%) m = 575-578 Da	Prinos (%) m = 191-194 Da
Au	4	6.6	0.008	111.96	116.64	0.128	0.250
Au	5	10.3	0.011	166.08	90.90	0.174	0.308
Au	6	14.8	0.013	226.52	72.85	0.243	0.417
Au	7	20.2	0.015	292.72	59.55	0.388	0.608
I	6	20	0.018	326.92	22.49	0.551	0.906
I	6	15	0.016	282.39	27.67	0.379	0.650
I	6	10	0.013	218.40	36.66	0.226	0.402
Si	5	8	0.025	212.47	1.30	0.224	0.337
Si	4	8	0.025	185.89	1.30	0.139	0.215
Si	3	8	0.025	163.22	1.30	0.085	0.132
Si	2	8	0.025	144.72	1.30	0.047	0.071
Cu	4	14	0.022	222.12	5.98	0.489	0.661
Cu	4	12	0.020	209.09	6.74	0.485	0.643
Cu	4	10	0.018	195.54	7.76	0.433	0.606
Cu	4	7.5	0.016	178.27	9.65	0.310	0.453
Fe	4	14	0.023	245.65	4.49	0.720	0.883
Cl	2	7.6	0.022	166.49	2.31	0.162	0.279
Cl	3	7.6	0.022	183.52	2.31	0.203	0.289
Cl	4	7.6	0.022	204.35	2.31	0.255	0.365
Cl	2	3.37	0.014	120.80	4.37	0.141	0.242
Cl	4	13.5	0.029	207.90	1.46	0.241	0.336



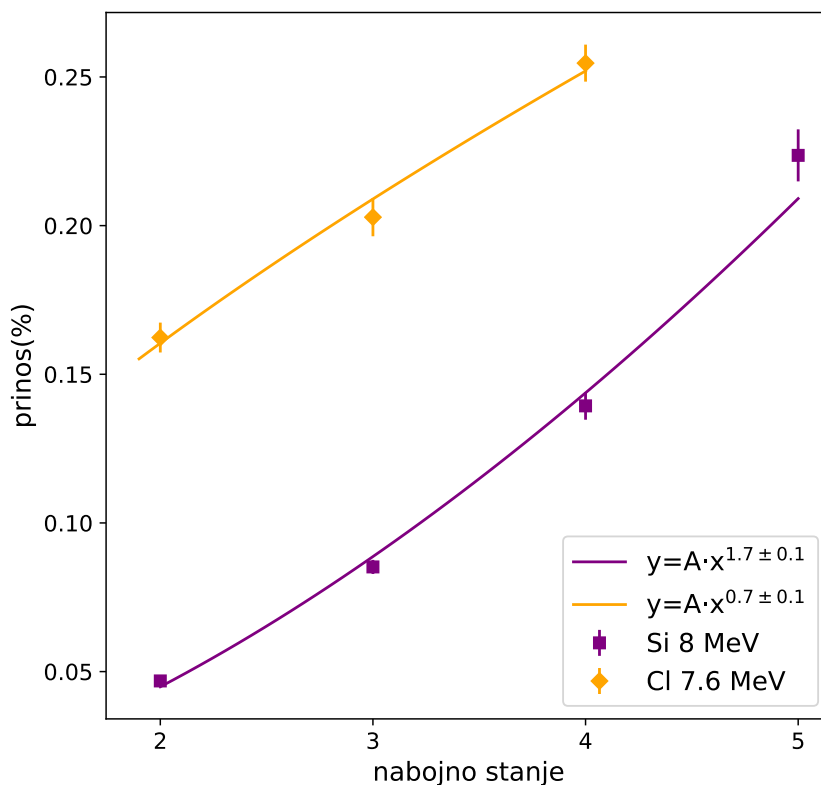
**Slika 6.2:** Lijevo je prikazana ovisnost prinosa ftalocijanina o elektronskoj zaustavnoj moći za različite primarne snopove, zajedno s prilagodbom. Teorijske vrijednosti zaustavne moći izračunate su u programu CaSP. Desno je prikazana ovisnost prinosa o brzini primarnog iona. U oba slučaja, pored izmjerenih prinosa su napisani naboji primarnih iona.

funkcijom. Izdvojena su i analizirana tri podskupa koja pokazuju slično ponašanje: parametri potencije za svaki podskup su izračunati metodom najmanjih kvadrata na logaritmirane podatke

(logy - logx prilagodba). Za ione bakra pokazuje se "jača" ovisnost o prinosu (eksponent potencije je 2.4) nego za ione zlata, joda i klora (eksponent potencije 1.31), dok je kod atoma silicija ovisnost najснаžnija (eksponent potencije je 4). Prva dva skupa podataka ne pokazuju ponašanje koje predviđaju teorijski modeli (eksponent potencije 2, kod toplinskih modela ili 3, u modelu tlačnog udara), dok je ovisnost kao kod silicijevih iona već izmjerena u nekim prijašnjim eksperimentima [40, 41, 55]. Izmjerena odstupanja od ovisnosti predviđene i izmjerene za neutralne molekule (treća potencija zaustavne moći) potvrđuju bitnu ulogu ionizacijskog dijela u procesu desorpcije, koji još nije dovoljno teorijski objašnjen. Dodatno, ovi rezultati se ne bi smjeli koristiti kao definitivni dokaz valjanosti ili nevaljanosti navedenih modela, uzimajući u obzir ograničenja analize koja uključuju određenu proizvoljnost u izboru podskupova, zatim osjetljivost prilagodbe funkcije potencije na pojedinačnu točku, zanemarivanje procesa izmjene naboja koji utječu na izračunatu zaustavnu moć na samoj površini uzorka i ograničeni raspon brzina iona.

Ovisnost prinosa o brzini prikazana je na slici 6.2 (desno). Usporedbom prinosa za Cu, Fe, Au i I može se zaključiti da je korelacija prinosa s brzinom bolja nego s elektronskom zaustavnom moći: u istom rasponu zaustavne moći bakar i željezo proizvode veći molekularni prinos nego jod i zlato, međutim kada prinos gledamo kao funkciju brzine, te razlike više nema. S druge strane, za ione klora, brzina (tj. energija) nema skoro nikakvog efekta na prinos: gotovo sav doprinos povećanju prinosa dolazi od povećanja nabojnog stanja iona klora. Ono što se još može vidjeti je da, za otprilike istu brzinu iona, prinos raste s porastom elektronske zaustavne moći: 7.6 MeV  $\text{Cl}^{2+}$  prema 20.2 MeV  $\text{Au}^{7+}$ , 7.5/10 MeV  $\text{Cu}^{4+}$  prema 15/20 MeV  $\text{I}^{6+}$ , 7.6 MeV  $\text{Cl}^{4+}$  prema 14 MeV  $\text{Cu}^{4+}$  i 14 MeV  $\text{Fe}^{4+}$  (vidjeti sliku 6.2 i tablicu 6.1). Ti rezultati se mogu kvalitativno objasniti pomoću modela ionskih tragova koji je predstavljen u prvom poglavlju, i koji podrazumijeva postojanje dva cilindrična područja oko putanje iona gdje dolazi do depozicije energije: infra-traga blizu samog iona kojeg karakterizira primarna pobuda i ionizacija, i ultra-traga gdje dolazi do depozicije energije od strane sekundarnih elektrona nastalih u infra-tragu. Ta depozicija, bilo preko kidanja molekularnih veza, bilo preko pobude vibracijskih modova molekula, dovodi do desorpcije molekula. U ovom modelu, radijus ultra-traga definiran je brzinom primarnog iona, a deponirana energija elektronskom zaustavnom moći, dok je desorpcijski prinos molekula određen gustoćom deponirane energije.[99] Za istu brzinu, ion s većom zaustavnom moći će deponirati veći iznos energije u isti volumen, tj. veću energijsku gustoću što rezultira većim desorpcijskim prinosom, u skladu s eksperimentalnim rezultatima.

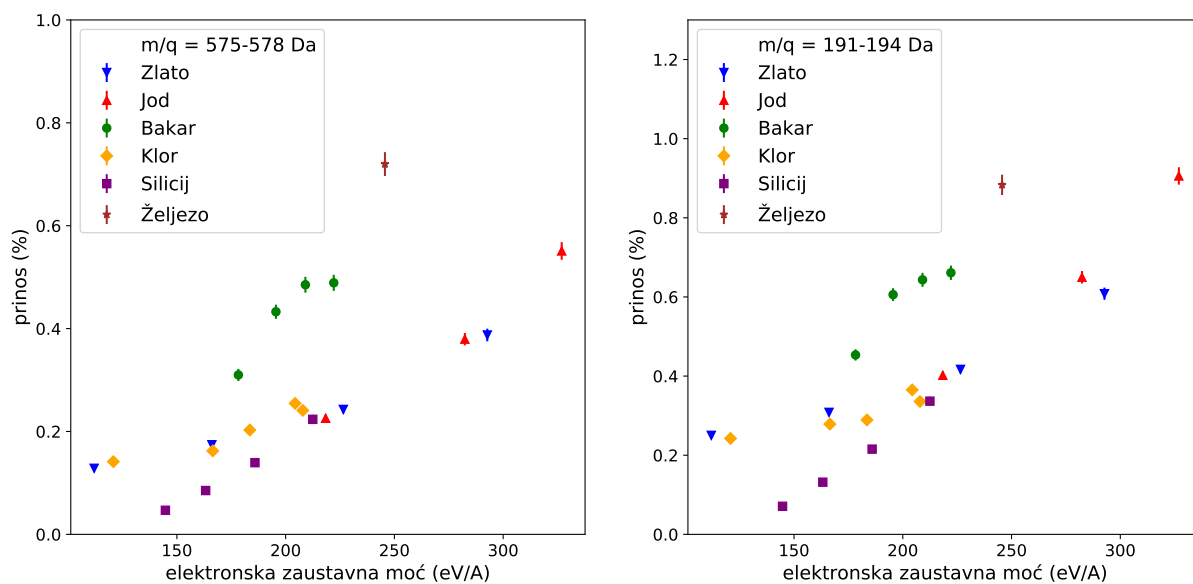
S druge strane, model predviđa i veći prinos za sporije ione iste zaustavne moći, međutim, tu eksperimentalni podaci nisu nedvosmisleni: nije moguće zaključiti da li sporiji (8 MeV Si<sup>3+</sup> prema 7.6 MeV Cl<sup>2+</sup> prema 10.3 MeV Au<sup>5+</sup>, 8 MeV Si<sup>5+</sup> prema 12 MeV Cu<sup>4+</sup>) ili brži ioni (10 MeV I<sup>6+</sup> prema 14 MeV Cu<sup>4+</sup>) slične zaustavne moći dovode do većeg prinosa.



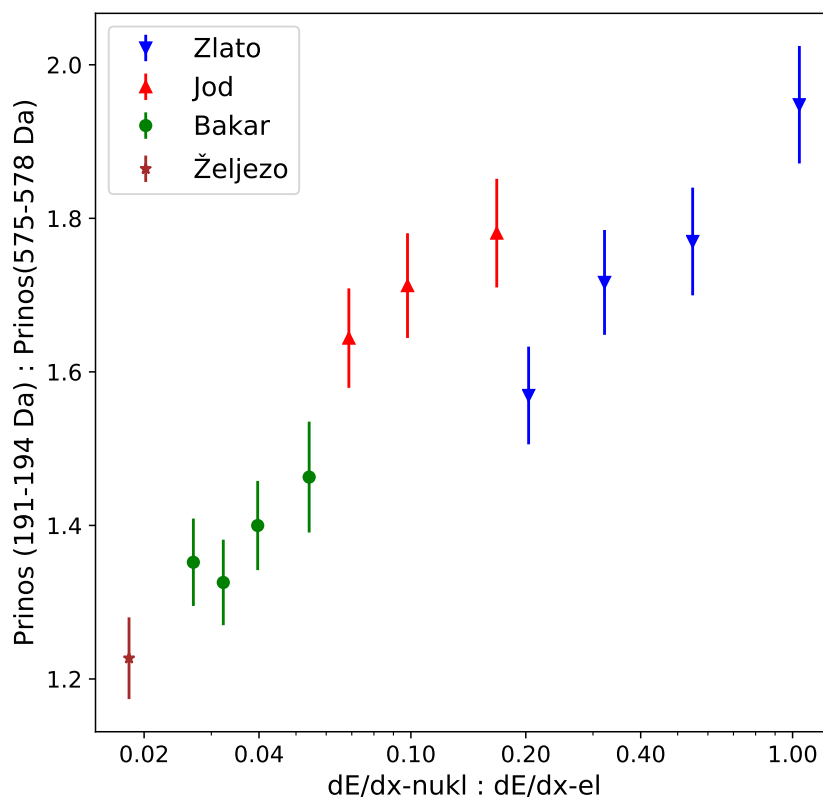
**Slika 6.3:** Ovisnost prinosa molekularnih iona ftalocijanina o naboju primarnih iona silicija i klor, zajedno s prilagodbom.

Na slici 6.3 prikazana je ovisnost molekularnog prinosa o naboju primarnih iona za 7.6 MeV Cl i 8 MeV Si. Prinos se povećava skoro linearno s nabojem klor i nešto jače s nabojem silicija, međutim, nema dovoljno podataka za čvršće zaključke. Bilo bi korisno imati podatke za više naboje jer su neki eksperimenti sa sporim teškim ionima (energija po nukleonu red veličine manja nego ovdje) visokih naboja pokazali da je prijenos potencijalne energije na površinske elektrone kroz proces izmjene naboja glavni mehanizam koji doprinosi rasprašavanju sekundarnih iona.[100] U prijašnjim eksperimentima s MeV-skim ionima prinos je otprilike bio koreliran s četvrtom potencijom naboja za naboje veće od 6.[101] U našem slučaju, struja primarnog snopa za ove naboje bila je preniska da bi se mjerenje moglo provesti.

Ovisnost prinosa fragmenta ftalocijanina ( $m = 191 - 194$  Da) o elektronskoj zaustavnoj moći prikazana je na slici 6.4. Iz grafa je vidljivo gotovo identično ponašanje kao i kod prinosa cijele molekule. S druge strane, iz slike 6.5 slijedi da prinos fragmenta naspram prinosa cijele



**Slika 6.4:** Usporedba prinosa iona cijele molekule ftalocijanina (lijevo) s fragmentom ftalocijanina (desno), u ovisnosti o elektronskoj zaustavnoj moći.



**Slika 6.5:** Ponašanje relativnog prinosa fragmenta ftalocijanina u odnosu na prinos cijele molekule, s obzirom na omjer nuklearne i elektronske zaustavne moći za različite primarne snopove..

molekule raste s porastom omjera nuklearne i elektronske zaustavne moći. Podaci za silicij i klor nisu prikazani jer svi silicijevi i tri od pet klorovih iona imaju istu, usporedivo malu nuklearnu zaustavnu moć. Iz grafa proizlazi da, dok se omjer zaustavnih moći povećava 50 puta,



prinos se povećava za manje od dva puta. Iz toga se može zaključiti da je u ovom energijskom području isti mehanizam odgovoran za desorpciju cijelih, netaknutih molekula i velike većine molekularnih fragmenata.

Općenito, za sve primarne ione mjerenja pokazuju pozitivnu korelaciju prinosa s energijom, elektronskom zaustavnom moći, brzinom i nabojem primarnog iona. Ipak, ne postoji jedan parametar koji bi obuhvatio ponašanje prinosa za sve ione istovremeno. Dostupnim teorijskim modelima nije moguće kvantitativno objasniti sve izmjerene rezultate, vjerojatno zbog ključnog doprinosa ionizacijskog koraka u procesu desorpcije koji nije adekvatno teorijski objašnjen. U principu se rezultati slažu s modelom ionskih tragova koji predviđa linearno povećanje prinosa u području visoke elektronske zaustavne moći, međutim ovo područje nije bilo moguće obuhvatiti zbog ograničenja korištenog akceleratora.

Najbolji ion za mapiranje, koji daje najbolji prinos molekula je 14 MeV  $\text{Fe}^{4+}$ , iako nema niti najveću elektronsku zaustavnu moć (to ima 20 MeV  $\text{I}^{6+}$ , ali je sporiji od željeza), niti je najbrži ion (najbrži je 13.5 MeV  $\text{Cl}^{4+}$ , ali ima malu zaustavnu moć u usporedbi sa željezom). Dakle, najveći će prinos od dostupnih iona biti za one koji istovremeno imaju i što veću zaustavnu moć i što je moguće veću brzinu.

# Poglavlje 7

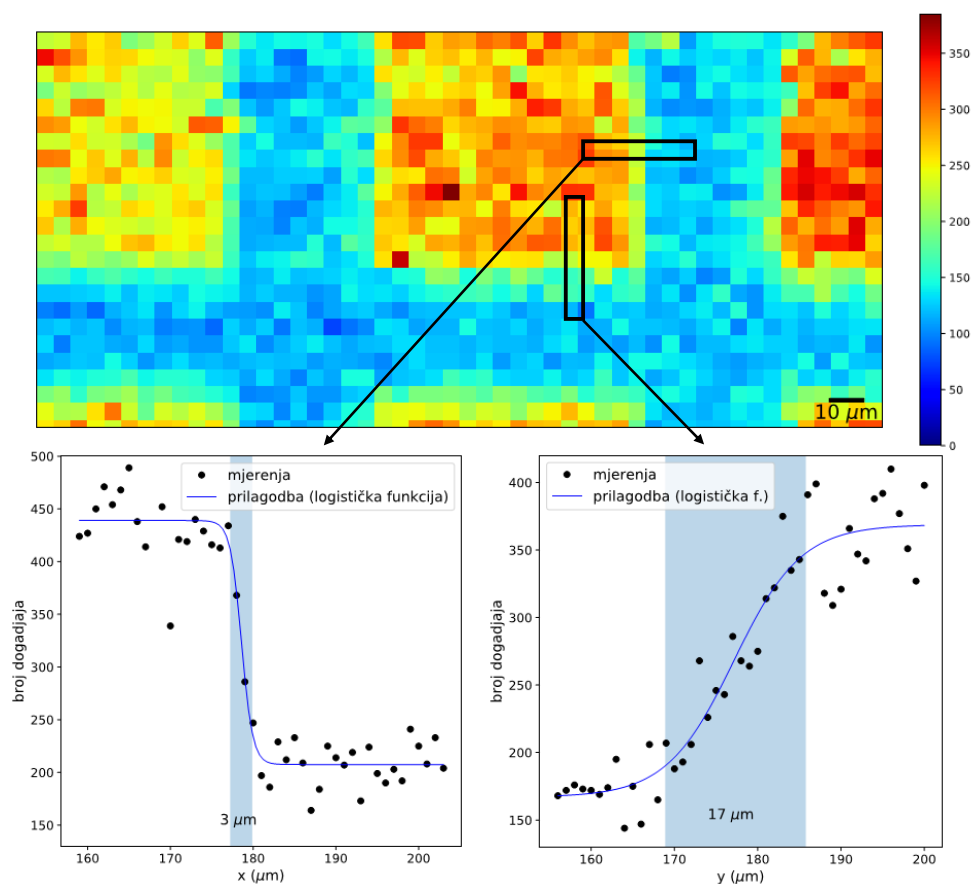
## Mapiranje odabranih uzoraka

Za mjerenje prostorne distribucije određenih molekula, tj. molekularno mapiranje uzorka, dva najvažnija čimbenika su prinos sekundarnih iona i lateralna razlučivost ionskog snopa. Odabrana veličina piksela, tj. koraka skeniranja uzorka ispred fiksiranog primarnog snopa ovisi o oba faktora. Može se reći da je donja granica veličine piksela zadana lateralnom razlučivošću (nema smisla mapirati s većom preciznošću od lateralne razlučivosti), a gornja prinosom analiziranih molekula u zadanim uvjetima (nema smisla odabrati premali piksel, ukoliko je vrijeme skupljanja dovoljnog broja događaja, tj. zadovoljavajuće statistike, predugo, ili je prinos tako mal da predugim vremenom izlazimo iz statičkog limita). Uz to, svako mapiranje koje traje dulje od nekoliko sati ima veću mogućnost pojave tehničkih problema koji mogu izazvati prekid mjerenja. U prethodnom poglavlju je pokazano da se, od dostupnih vrsta iona i energija, najbolji prinos ostvaruje za primarni snop 14 MeV Fe<sup>4+</sup>, međutim, u našim analizama je, iz tehničkih razloga (stabilnost ionskog izvora), uglavnom korišten 14 MeV Cu<sup>4+</sup>, koji ima nešto manji prinos, ali je pri vrhu po prinosu među snopovima koji su nam dostupni.

### 7.1 Lateralna razlučivost

Veličina presjeka primarnog snopa na mjestu uzorka najviše određuje lateralnu razlučivost: donja granica je određena izlaznim promjerom kapilare ( $\sim 2.5 - 5 \mu\text{m}$ ) i divergencijom snopa (koja iznosi  $\sim 0.04^\circ$ , i definirana je  $\sim 1 \text{ mm}$  kolimatorom koji se nalazi na udaljenosti od 1.5 m prije ulaza u komoru). Divergencija primarnog snopa bitna je zbog udaljenosti vrha kapilare i mete koja iznosi od 20 do 40 mm, ovisno o korištenoj kapilari.

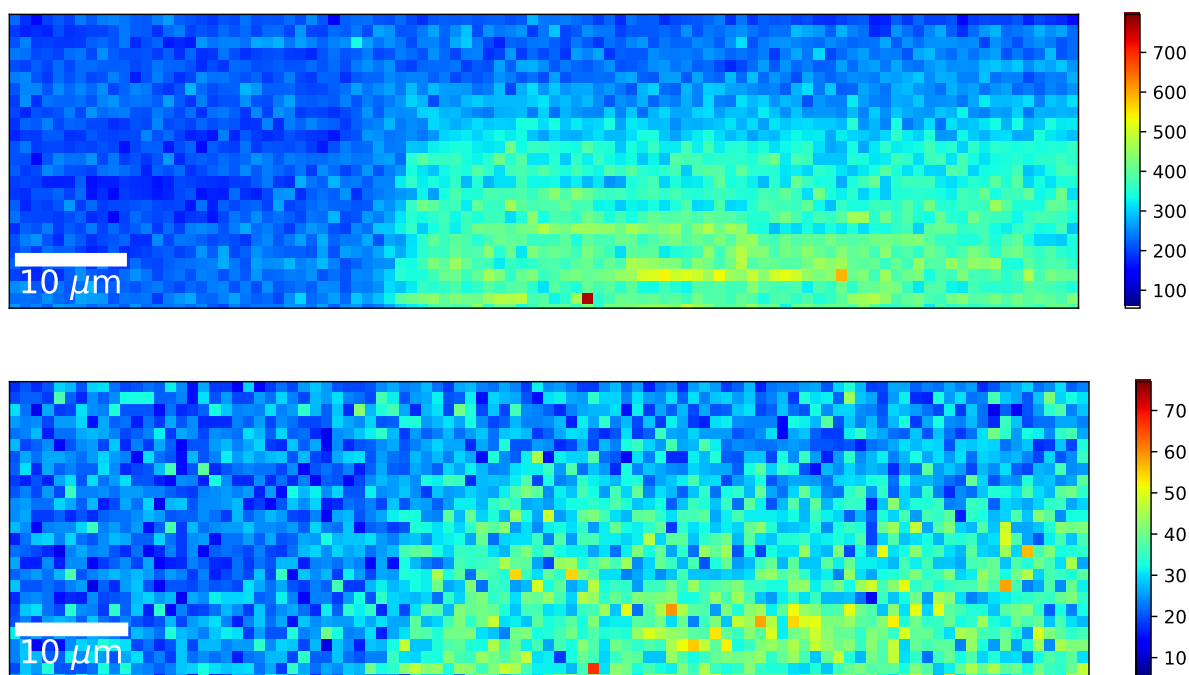
Za određivanje razlučivosti korišteni su uzorci s oštro definiranim rubovima: ugljikom oblo-



**Slika 7.1:** Mapa ukupnog masenog spektra leucina naparenog na ugljikom obloženoj bakrenoj mrežici s periodom ponavljanja od  $127\ \mu\text{m}$  (gore). Linijski skenovi ( $1\ \mu\text{m}$  po pikselu) napravljeni su radi mjerenja razlučivosti u oba smjera (dolje). Osjenčana područja u donjim grafovima predstavljaju izmjerenu razlučivost. Primarni snop je  $8\ \text{MeV}\ \text{Cu}^{3+}$ .

žena bakrena mrežica s periodom ponavljanja od  $127\ \mu\text{m}$  na koju je naparen leucin i tanki  $\text{Si}_3\text{N}_4$  prozor s rubom definiranim do na  $100\ \text{nm}$  također naparen leucinom. Na slici 7.1 nalazi se mapa ukupnog masenog spektra prvog uzorka, prikupljena u transmisijском načinu rada. Uzorak je montiran na nosač koji se miče ispred fiksne kapilare. Za normalizaciju je korištena struja primarnog snopa na ulazu u kapilaru: nosač uzorka pomiče se na novu poziciju (tj. spektar se prikuplja u idućem pikselu) kada se u integratoru naboja skupi unaprijed definirani broj događaja. U idealnom slučaju, na mjestu gdje je rešetka, ne bi trebalo biti skupljenih događaja u masenom spektru (zato što primarni ion ne može proći kroz rešetku i tako nema okidanja startnog signala u diodi), ali očigledno to nije slučaj: na području gdje je rešetka detektirano je 30 – 50% sekundarnih iona u odnosu na području gdje je "rupa" (tj. samo leucin naparen na tanki sloj ugljika koji služi kao potpora). Uzrok tomu je halo primarnog snopa: dok je jezgra primarnog snopa na poziciji rešetke (i ne može generirati START signal), ioni iz haloa (slike 3.8 i 3.9) prolaze kroz rupe u mrežici i generiraju START signal, i stvaraju lažnu sliku prostorne

distribucije. Broj događaja na području mape gdje je rešetka može služiti i kao mjera udjela iona iz haloa u primarnom snopu. Linijski skenovi u  $x$  i  $y$  smjeru napravljeni su preko ruba mrežice za određivanje razlučivosti u oba smjera: u  $x$ -smjeru izmjerena razlučivost (definirana kao udaljenost za koju broja događaja naraste od 10% do 90% razlike maksimuma i minimuma logističke funkcije koja opisuje mjerenja) je 3 - 8  $\mu\text{m}$ , ovisno o strani mrežice i poziciji. Nešto je bolja razlučivost na desnom nego na lijevom rubu mrežice zbog kuta od  $45^\circ$  pod kojim snop upada na uzorak. U  $y$ -smjeru je razlučivost nešto lošija (15-17  $\mu\text{m}$ ), jer prethodno spomenuti kolimator koji se nalazi 1.5 m ispred komore "reže" primarni snop samo u  $x$ -smjeru, pa je divergencija u  $y$ -smjeru veća. Isto mjerenje je ponovljeno i za drugi uzorak (slika 7.2), gdje su za razlučivosti u  $x$  i  $y$ -smjeru dobivene vrijednosti od 4.7  $\mu\text{m}$  i 11.6  $\mu\text{m}$ . Gledajući mapu samo molekularnog vrha leucina, gdje su rubovi mnogo manje "oštri" nego u slučaju mape ukupnog spektra vidi se i važnost dovoljno dobre statistike za određivanje stvarne prostorne distribucije molekula.



**Slika 7.2:** Mapa ruba tankog  $\text{Si}_3\text{N}_4$  prozora naparenog leucinom snimljena u transmisijskom načinu rada (+4.5 kV napon ekstrakcije). Iznad je mapa totalnog spektra, a ispod mapa glavnog molekularnog vrha (132.2 Da). Primarni snop je 14 MeV  $\text{Cu}^{4+}$ , a korišten je i deflektor s naponom 1.5 kV za smanjenje pozadine.

Valja naglasiti da upotreba kapilara još manjeg izlaznog promjera nije realna: duplo manji promjer povlači četiri puta manju izlaznu struju, što znači četiri puta dulje mjerenje. Za mali dobitak u razlučivosti, takva računica nije isplativa. Tek uz puno veći intenzitet snopa na ulazu

u kapilaru, ona bi imala smisla.

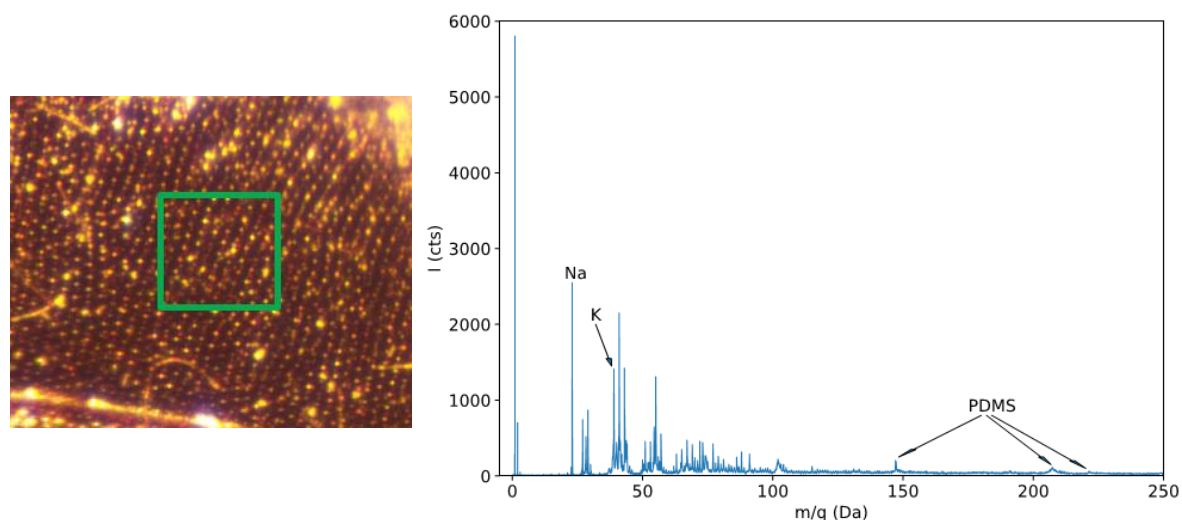
## 7.2 Mapiranje u transmisijskom načinu rada

U transmisijskom postavu moguće je analizirati samo one uzorke koje su dovoljno tanki da je primarni snop moguće detektirati pomoću čestičnog detektora koji se nalazi iza uzorka. Jedan od takvih uzoraka je krilo muhe prikazano pod mikroskopom na slici 7.3 (debljina analiziranog tkiva je manja od  $5\ \mu\text{m}$ ). U masenom spektru analiziranog područja ( $250 \times 250\ \mu\text{m}^2$ ) nema težih molekula: najistaknutiji je (uz vodik) vrh natrija. Mapa natrija (slika 7.4), skupljena u 112 minuta, može se povezati s prugastom strukturom na optičkoj slici. Mapa ukupnog spektra prikazuje istu distribuciju, što ukazuje na to da je vjerojatno porijeklo distribucije u morfologiji površine uzorka (a ne u stvarnoj masenoj distribuciji molekula).

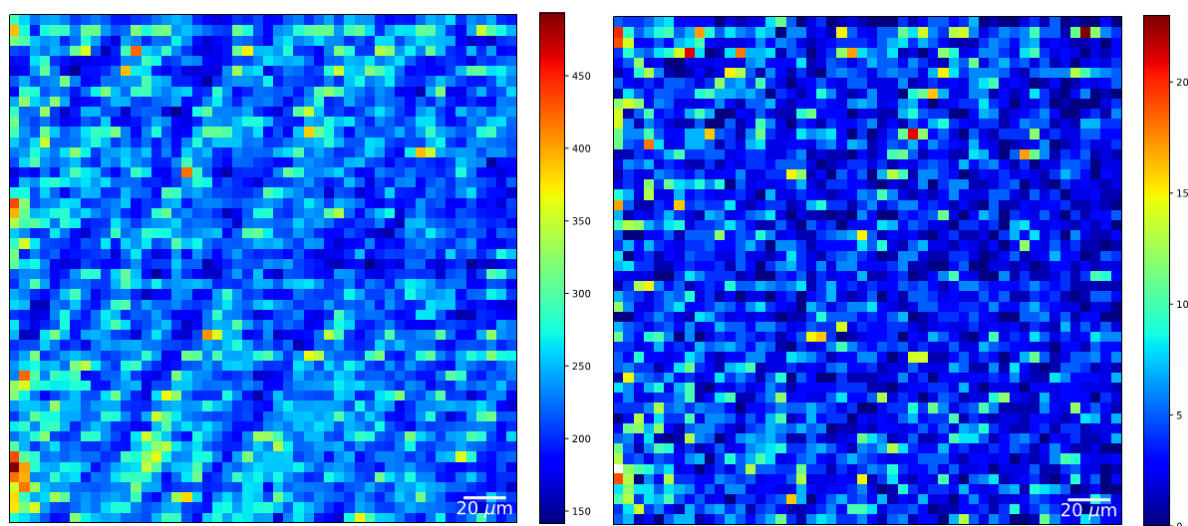
Ovdje valja napomenuti jednu moguću popravku koju bi poboljšala analizu pri mapiranju uzoraka, koju nije bilo moguće napraviti prije završetka ovoga rada: umjesto da se analizirano područje prelazi samo jednom, izmjenom u sustavu za prikupljanje podataka trebalo bi omogućiti višestruko mapiranje iste površine, gdje je svaki posebni sken puno brži. Budući da mapiranja traju dosta dugo (uobičajeno više sati po uzorku ako je potrebna dobra statistika), bilo bi moguće nakon vrlo kratkog vremena uočiti generalne obrise analizirane strukture, što bi olakšalo i optimalno pozicioniranje na uzorku, i spriječilo gubitak vremena ako odabrano područje nije zanimljivo za mapiranje. Također, u tom slučaju utjecaj nekih praktičnih problema koji mogu nastati tijekom mjerenja (npr. ispadanje nekog od napona) ne bi imali značajan efekt na prikupljenu mapu.

## 7.3 Mapiranje u postavu za debele mete

Primjer uzorka kojeg nije moguće analizirati u transmisijskom postavu prikazan je na slici 7.5. Ovaj tip uzoraka zanimljiv je za forenzičku primjenu MeV SIMS metode.[19, 45] Maseni spektar tinte deponirane na papiru sadrži karakteristične vrhove koji odgovaraju BV3 pigmentu ( $372.5\ \text{Da}$ ) i produktima njegove degradacije i pripadnim fragmentima (produkt na masi  $357.5\ \text{Da}$  gdje je  $\text{CH}_3$  grupa zamijenjena vodikom, produkt na masi  $344.4\ \text{Da}$  gdje su dvije  $\text{CH}_3$  grupe zamijenjene vodikom, i ostali). Kod analize ovog uzorka za detekciju sekundarnih iona korišten je obični MCP detektor (bez postakceleracije) pa je prinos težih molekula koje karakteriziraju

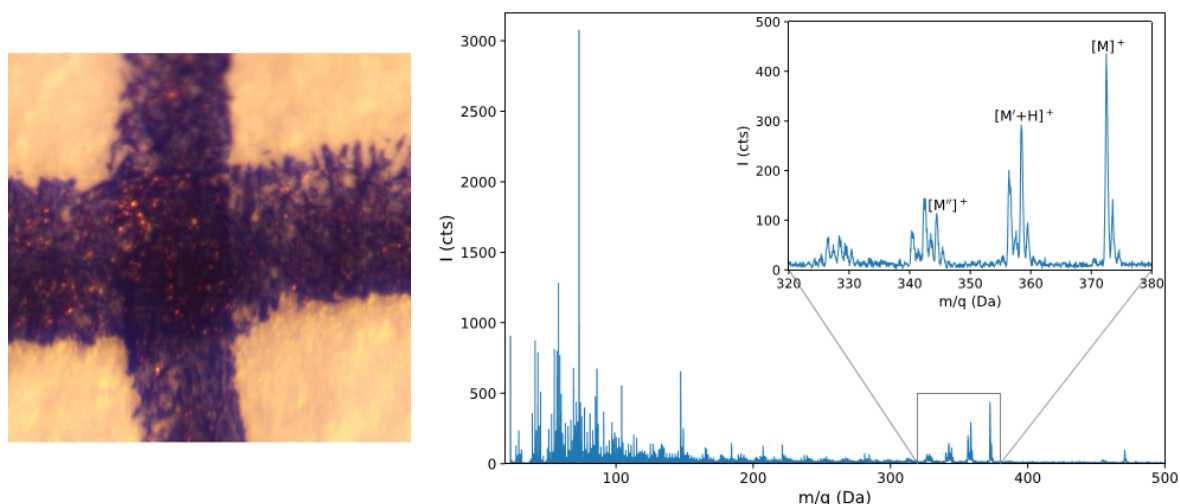


**Slika 7.3:** Slika analiziranog krila muhe na mikroskopu (lijevo). Zelenim kvadratom označeno je skenirano područje ( $250 \times 250 \mu\text{m}^2$ ). Desno je maseni spektar prikupljen u transmisijskom načinu rada (+4.5 kV ekstrakcija). Primarni snop je bio 23 MeV  $\text{I}^{7+}$  struje u diodi  $\sim 3$  kHz.



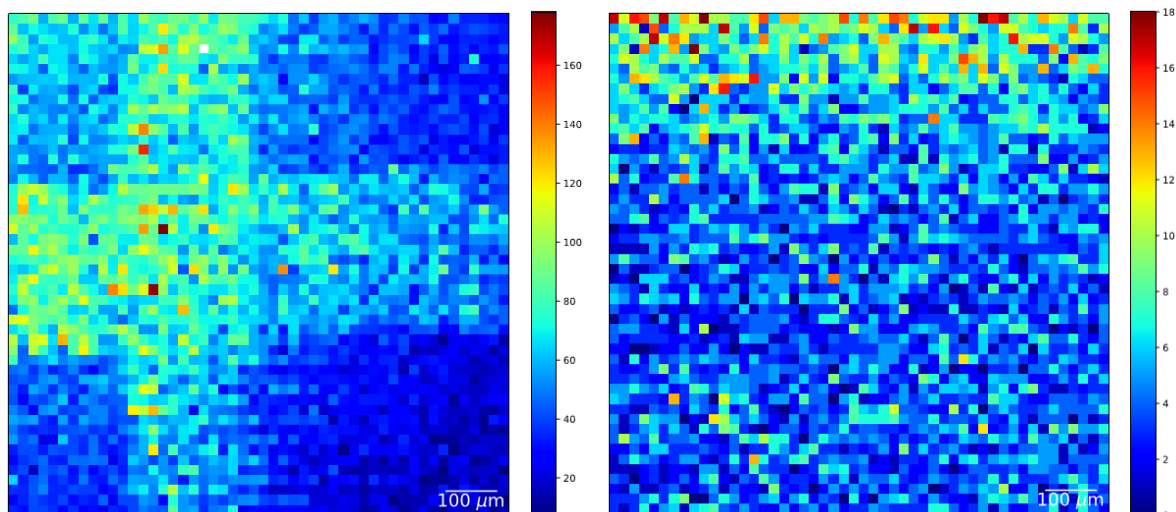
**Slika 7.4:** Mapa ukupnog masenog spektra (lijevo) i najistaknutijeg vrha, natrija (desno) odabranog područja na krilu muhe analiziranom u transmisijskom postavu. Područje skeniranja veličine je  $250 \times 250 \mu\text{m}^2$  ( $5 \mu\text{m}$  po pikselu). Za normalizaciju je korištena struja na ulazu u kapilaru.

tintu relativno mali. Za normalizaciju kod mapiranja ( $1 \times 1 \text{ mm}^2$ ,  $20 \mu\text{m}$  po pikselu) uzet je signal iz elektronskog multiplikatora (isti signal koji služi za okidanje START signala). Uzorak je prethodno naparen s vrlo tankim slojem zlata ( $1 - 2 \text{ nm}$ ) radi bolje vodljivosti i bolje emisije elektrona. Frekvencija signala iz elektronskog multiplikatora bila je približno konstantna u cijelom analiziranom području. Prostorna raspodjela karakterističnih molekula iz umetka slike 7.5 prikazana je na slici 7.6 i jasno je korelirana s pripadnom optičkom slikom. I na ovoj mapi je doprinos iona iz haloa značajan, što se može zaključiti iz broja detektiranih iona u područjima



**Slika 7.5:** Fotografija analiziranog uzorka, tinte deponirane na papiru na Si podlozi (lijevo). Desno je maseni spektar prikupljen u postavu za debele mete (+3 kV ekstrakcija). Karakteristični vrhovi tinte su istaknuti u umetku grafa: BV3 pigment i produkti njegove degradacije te fragmenti:  $M = 372.5$  Da,  $M' = 357.5$  Da i  $M'' = 344.4$  Da. Primarni snop je  $14 \text{ MeV Cu}^{4+}$ .

gdje se nalazi čisti papir. Taj doprinos ide od 10% u donjem desnom kutu, do 50% u gornjem lijevom kutu. Doprinos asimetričnog haloa vidljiv je u pojačanom broju događaja u gornjem dijelu mape natrija, koji je prisutan u papiru i po očekivanju homogeno raspoređen.



**Slika 7.6:** Mapa produkata BV3 pigmenta i fragmenata iz analiziranog uzorka tinte deponirane na papiru (lijevo) i mapa natrija iz istog uzorka (desno). Područje skeniranja veličine je  $1 \times 1 \text{ mm}^2$ . Za normalizaciju korištena je struja iz elektronskog multiplikatora.

Iz ovih, i prethodnih mapa, vidi se da je halo primarnog snopa problematičan kod molekularnog mapiranja iz tri razloga. Prvi je da "razmazuje" prostornu distribuciju, tj. smanjuje lateralnu razlučivost. Drugi je da relativno visok broj događaja koji dolazi od haloa (i do 50%) smanjuje

kontrast na mapama (relativni odnos prostorne distribucije ciljanih molekula i pozadine). Treći problem je povezan s asimetričnosti haloa, a to je stvaranje artefakta u molekularnim mapama, koje mogu dati lažnu sliku prostorne raspodjele. Nemogućnost da se riješe problemi koji dolaze od haloa snopa glavni je razlog koji je doveo do razmišljanja o alternativnim načinima kolimiranja snopa, o čemu će više riječi biti u idućem poglavlju. Treba napomenuti još jedan faktor koji je doprinio toj odluci, a to je nepouzdanost u korištenju kapilara u duljem vremenskom razdoblju. Naime, nakon višemjesečnog korištenja kapilare dogodilo se da iznenada dođe do naglog pogoršanja transmisije primarnog snopa (i u količini propuštene struje, i u prostornoj raspodjeli transmitiranog snopa). Takva pojava je možda rezultat zagrijavanja kapilare zbog prevelike struje snopa koja dovodi do deformacije njenog tankog vrha ili začepljenje izazvano nečistoćama prilikom ozračavanja komore.



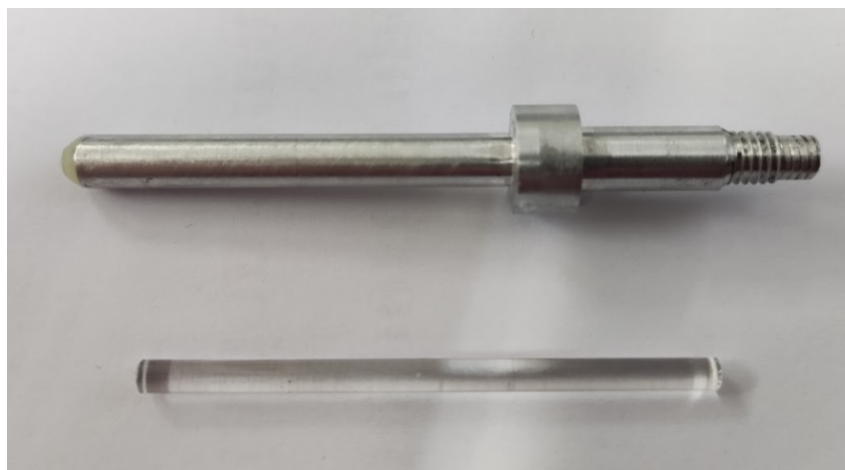
# Poglavlje 8

## Kolimiranje snopa aperturom

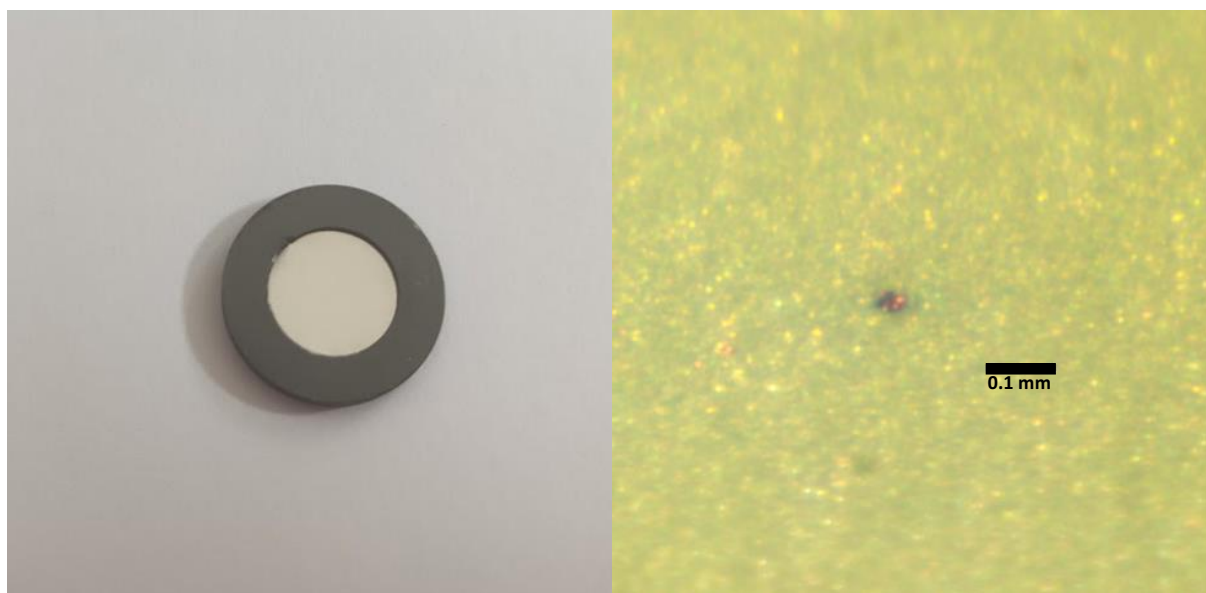
U procesu pronalaženja najboljih rješenja za kolimiranje ionskog snopa, a kako bi se najviša struja iona kolimirala u najmanji presjek snopa, provjerena su razna rješenja. Tako je umjesto konusne kapilare, opisane u prethodnim poglavljima, prva alternativa bila upotreba ravnih kapilara debelih zidova, tj. kapilara konstantnog unutarnjeg promjera od  $10\ \mu\text{m}$  (slika 8.1). Za takvu kapilaru dugačku 50 mm, struja izlaznog snopa nije bila mjerljiva. Nakon što je kapilara izrezana na (praktično) najmanju moguću duljinu od 5 mm, izlazna struja je iznosila svega 100 Hz, za istu ulaznu struju kao kod konusne kapilare. Jednostavno, približno procijenjena minimalna divergencija primarnog snopa na ulazu u kapilaru ( $0.04^\circ$ ) prevelika je za ovakve kapilare (maksimalni izlazni kut iz korištene ravne kapilare za ion koji uđe po centralnoj osi kapilare je  $0.06^\circ$ ). Dostupnim kvadrupolima i kolimatorima na eksperimentalnoj liniji divergenciju nije moguće smanjiti da bi kroz ravnu kapilaru prošao snop dovoljno velike struje koja je potrebna za mjerenja. Zbog toga je odlučeno da se prijeđe na korištenje obične kružne aperture istih dimenzija (promjera 5 -  $10\ \mu\text{m}$ ).

### 8.1 Lateralna razlučivost

Na slici 8.2 nalazi se apertura proizvođača National Aperture, Inc., promjera  $5\ \mu\text{m}$  koja je postavljena u komoru umjesto kapilare. Aperture su napravljene od nehrđajućeg čelika debljine  $12.7\ \mu\text{m}$  te su postavljene na aluminijski okvir promjera 12.65 mm. Na istoj slici prikazan je trag koji ostavlja snop 10 MeV  $\text{Cu}^{4+}$  transmitiran kroz aperturu promjera  $5\ \mu\text{m}$  na Gafchromic EBT3 filmu. Snop je jasno definiran, bez rasapa u intenzitetu i obliku i, kao što je očekivano, ne vidi se halo snopa.



**Slika 8.1:** Fotografija ravne kapilare prije i nakon montiranja na nosač. Na metalni nosač namontirana je kapilara odrezana na duljinu od 5 mm.



**Slika 8.2:** Fotografija aperture promjera 5  $\mu\text{m}$  postavljene na aluminijski okvir (lijevo). Fotografija zacrnljenja uzrokovanog snopom 10 MeV  $\text{Cu}^{4+}$  transmitiranim kroz aperturu na Gafchromic EBT3 filmu (desno). Veličina snopa ne odgovara veličini traga na filmu zbog širenja traga s akumuliranom dozom.

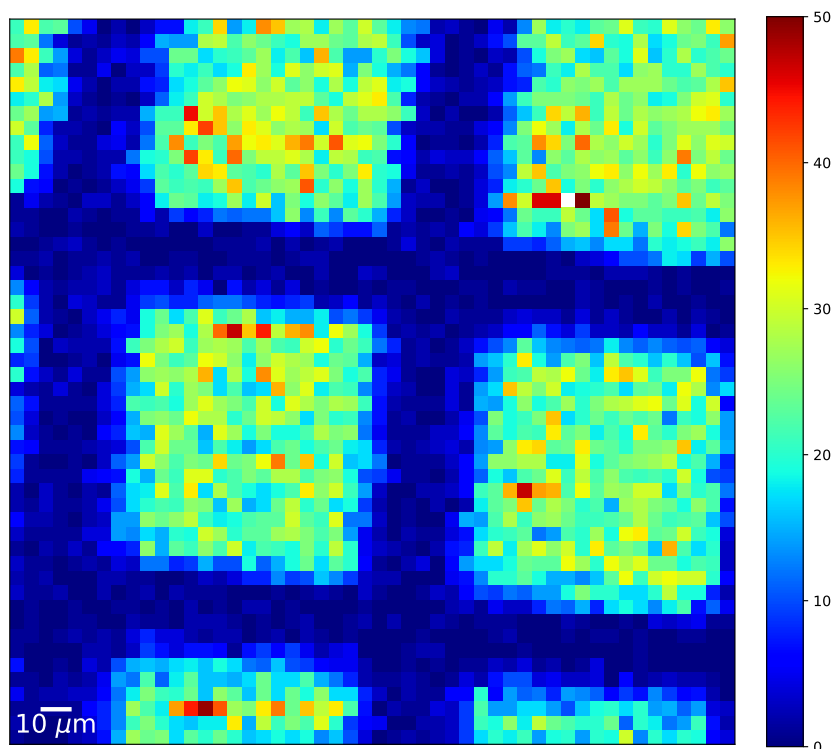
Na slikama 8.3 i 8.4 prikazane su redom mape mrežica naparenih leucinom i ftalocijaninom, u transmisiji i u postavu za debele mete. Iz mape leucina, napravljene u postavu s aperturom od 5  $\mu\text{m}$ , procijenjena je lateralna razlučivost od 10 do 15  $\mu\text{m}$ , iz čega se vidi da je za razlučivost u ovom slučaju važnija divergencija primarnog snopa od veličine aperture. Kako je udaljenost aperture od mete  $\approx 50$  mm, može se izračunati da je divergencija snopa 0.005 - 0.008°. To pak znači, da manjom aperturom ne bismo dobili gotovo nimalo popravili razlučivost: za aperturu veličine 1  $\mu\text{m}$  uz istu divergenciju razlučivost bi bila bolja tek za 1  $\mu\text{m}$ . Iako je općenito razlučivost nešto lošija za aperturu nego za kapilaru (i to samo u x-smjeru), kontrast u broju

događaja puno je bolji: broj događaja na rešetki je kod kolimiranja kapilarom bio tek upola manji od broja događaja u "rupi" mrežice, dok je ovdje broj događaja u rešetki dvadeset puta manji. Dakle, kontrast je jači deset puta kada snop kolimiramo aperturom, u odnosu kada ga kolimiramo konusnom kapilarom.

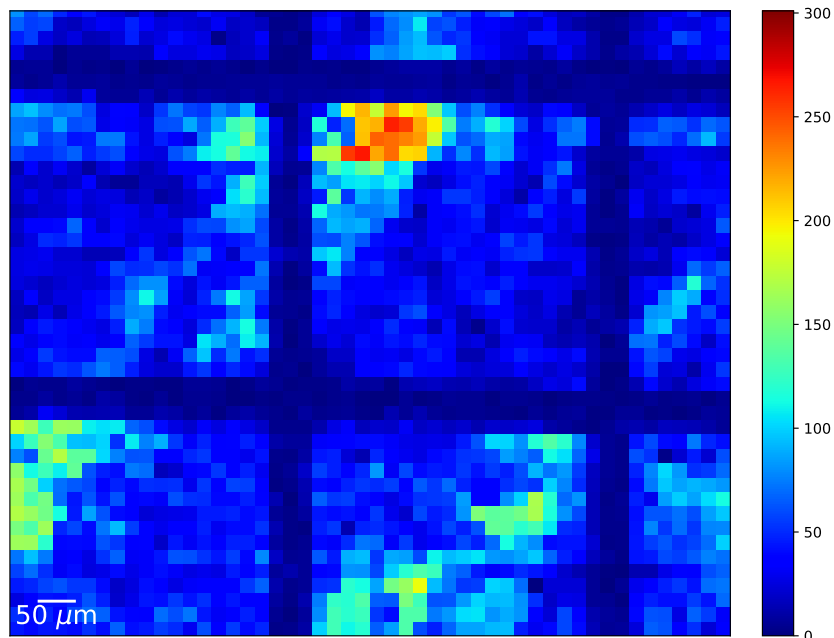
Mapa ftalocijanina napravljena je s aperturom od 10  $\mu\text{m}$  preko koje je postavljena ugljikova folija debljine 5 nm (o razlogu postavljanja folije, nešto kasnije u ovom poglavlju). Koristeći SRIM izračun putanja za nekoliko tisuća iona 14 MeV Cu kroz takvu foliju (uz pretpostavljenu gustoću folije od 2.0  $\text{g}/\text{cm}^3$ ) dobije se prosječni rasap na udaljenosti od 50 mm od folije u iznosu od 26  $\mu\text{m}$ , što bi uz istu divergenciju kao prije, dalo minimalnu razlučivost od  $\sqrt{(2 \cdot 50000 \cdot \tan 0.005^\circ)^2 + 26^2} = 27.4 \mu\text{m}$ . Za aperturu od 10  $\mu\text{m}$ , to daje procijenjenu razlučivost od  $\sqrt{27.4^2 + 10^2} = 29 \mu\text{m}$ . Ipak, iz mape je vidljivo da je razlučivost jednaka ili manja od veličine jednog piksela, tj. bolja od 20  $\mu\text{m}$ . Uzrok neslaganja između procjene i pravog rezultata može se pripisati pogrešnoj procjeni rasapa kroz foliju, ili zbog nepoznavanja gustoće folije ili zbog pogrešnih SRIM izračuna (zbog premale debljine filma, tj. zbog nepostizanja ravnotežnog naboja na kojem se temelje SRIM izračuni). Iz poznate razlučivosti, može se procijeniti da doprinos zbog prolaska kroz film iznosi do 13  $\mu\text{m}$ . S aperturom od 5  $\mu\text{m}$ , uz četiri puta manju struju primarnog snopa, dobitak na razlučivosti bio bi svega 2  $\mu\text{m}$ , pa je bolje rješenje ostati na aperturi od 10  $\mu\text{m}$ .

## 8.2 Okidač starta neovisan o meti

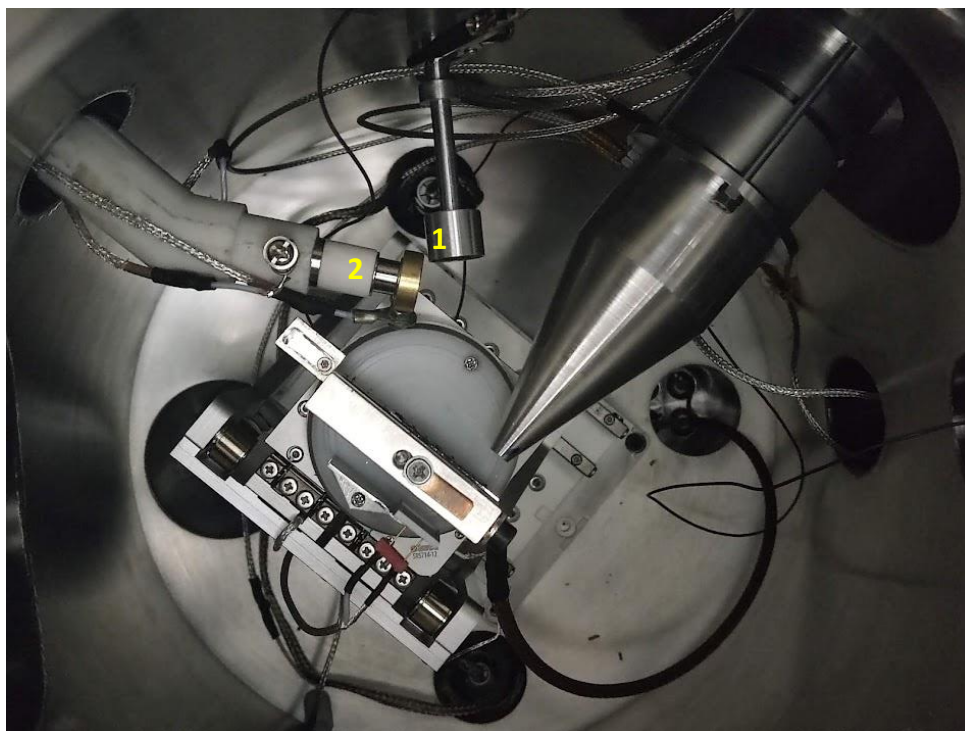
Mapiranjem različitih uzoraka ustanovljeno je da je frekvencija signala iz elektronskog detektora dosta ovisna o uzorku, tj. da je dosta manja u slučaju izolatora. Tako, za primarni snop jednake frekvencije, broj signala iz elektronskog detektora u jednoj sekundi iznosi 7 tisuća kada je snop na siliciju, a samo jednu tisuću kada je snop na papiru. Kada se na papir napari tanak sloj zlata (debljine 1 - 2 nm), frekvencija iz elektronskog detektora poveća se na 7 kHz. Kod uzoraka gdje je broj emitiranih sekundarnih elektrona mali, tj. gdje je frekvencija detektiranih elektrona u elektronskom multiplikatoru mala, značajno se produljuje vrijeme mjerenja. Još veći problem je kod uzoraka gdje broj emitiranih elektrona značajno varira ovisno o području uzorka jer tada dolazi do problema u normalizaciji kod mapiranja. Stoga je odlučeno da se proizvodnja sekundarnih elektrona učini neovisnom od mete: preko aperture je postavljena tanka folija ugljika nominalne debljine 5 nm. Prolaskom MeV-skog iona kroz C foliju nastaju deseci



**Slika 8.3:** Mapa leucina naparenog na bakrenu mrežicu s korakom od  $127\ \mu\text{m}$  napravljena u transmissijskom postavu (+4.5 kV ekstrakcija) s aperturom od  $5\ \mu\text{m}$ . Veličina skeniranog područja je  $250 \times 250\ \mu\text{m}^2$  ( $5\ \mu\text{m}$  po pikselu). Primarni snop je  $10\ \text{MeV Cu}^{4+}$  struje  $\approx 15\ \text{kHz}$ .

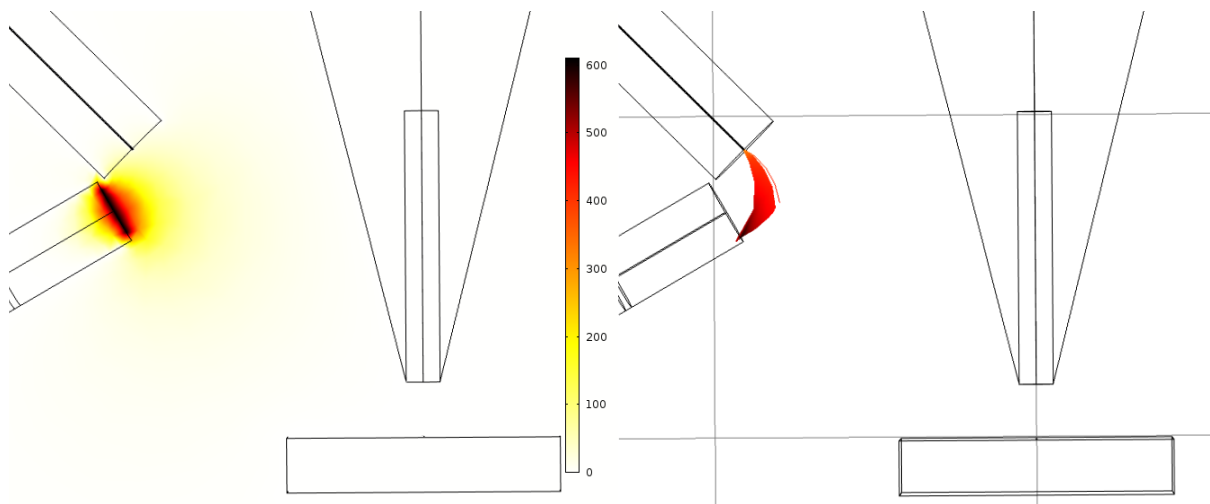


**Slika 8.4:** Mapa ftalocijanina naparenog na silicijevu podlogu u mrežastoj strukturi s korakom od  $440\ \mu\text{m}$  napravljena u postavu za debele mete (+3 kV ekstrakcija) s aperturom od  $10\ \mu\text{m}$ . Veličina skeniranog područja je  $1 \times 1\ \text{mm}^2$  ( $20\ \mu\text{m}$  po pikselu). Primarni snop je  $14\ \text{MeV Cu}^{4+}$  struje  $\approx 20\ \text{kHz}$ . Nehomogena mapa proizlazi iz nehomogenosti uzorka.



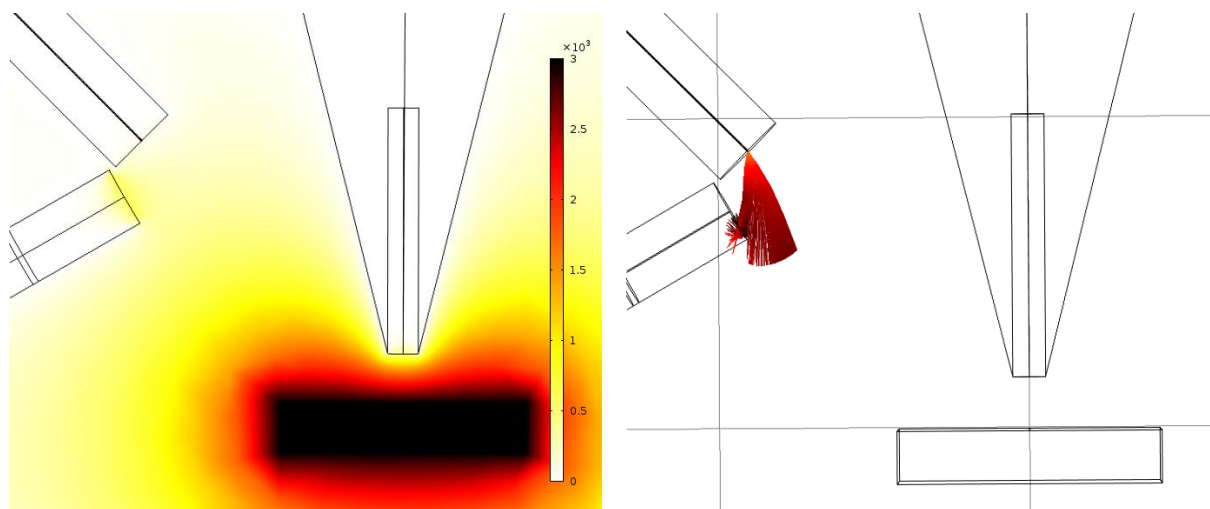
**Slika 8.5:** Fotografija postava s aperturom na nosaču (oznaka 1 na slici) i novom pozicijom elektronskog detektora (oznaka 2 na slici). Elektronski detektor postavljen je na teflonski nosač.

elektrona [90] koji se detektiraju s elektronskim multiplikatorom koji je premješten na novu poziciju (slika 8.5). Detektor je postavljen na teflonski nosač (izrađen pomoću 3D printera), i postavljen na udaljenost 1 – 2 mm od aperture.



**Slika 8.6:** Simulacija električnog potencijala (u programu COMSOL) u postavu s aperturom s ugljikovom folijom prije dolaska primarnog iona i uspostave napona mete (lijevo). Simulacija putanje sekundarnih elektrona od aperture do elektronskog detektora (desno). Pretpostavljena je energija elektrona od 2 eV sa zadanim smjerom okomito na aperturu. Elektronima treba  $\approx 2$  ns od mete do elektronskog detektora.

Raspodjela potencijala prije i za vrijeme detekcije elektrona, te simulacija detekcije elek-



**Slika 8.7:** Simulacija električnog potencijala (u programu COMSOL) u postavi s aperturom s ugljikovom folijom nakon uspostave napona mete (lijevo). Simulacija putanje sekundarnih elektrona u slučaju lijeve raspodjele potencijala (desno). Pretpostavljena je energija elektrona od 2 eV sa zadanim smjerom prema središtu prednje strane elektronskog detektora. Od generiranih 1000 putanja, manje od 10% ih bude detektirano.

trona prikazana je na slici 8.6. Elektronima treba  $\approx 2$  ns od folije do detektora, a vremenski rasap za različite početne uvjete je dosta manji od 1 ns. I za novu poziciju elektronskog detektora pulsiranje napona mete nije se moglo izbjeći: iz simulacije na slici 8.7 vidi se da je i u slučaju početne putanje elektrona prema središtu prednje površine detektora, velika većina elektrona privučena prema meti. Efikasnost detekcije elektrona u ovakvom slučaju je mala (u praksi, frekvencija signala iz detektora smanji se više od pet puta).

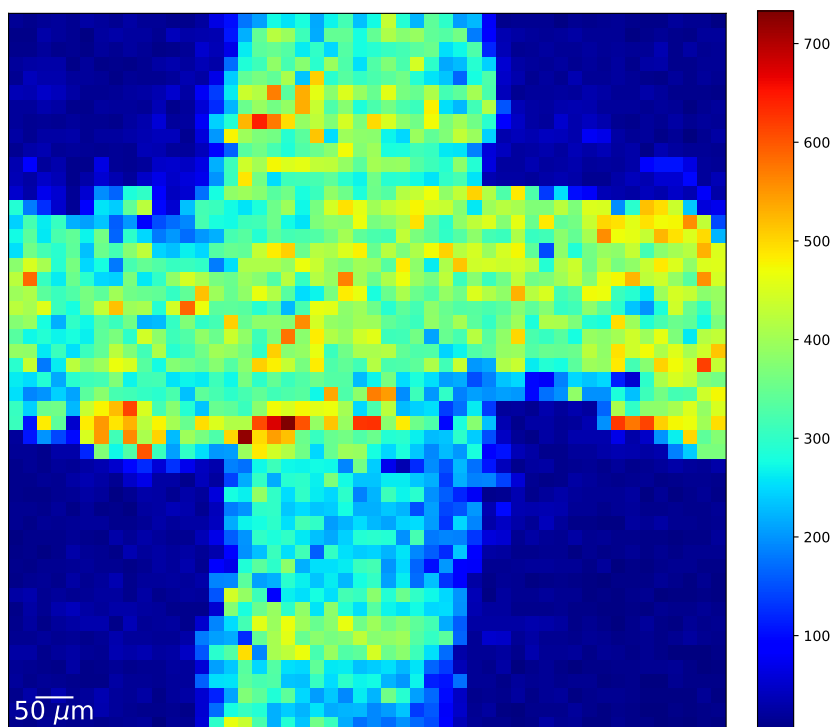
### 8.3 Primjeri analize uzoraka

Kako bi provjerili upotrebljivost ostvarenih poboljšanja, odabrano je i analizirano nekoliko stvarnih uzoraka. To su bili: uzorci tinti (slika 8.8) i uzorak otiska prsta na staklu (slika 8.10), važni za forenzične primjene, te uzorak tkiva (slika 8.12), važan za primjene u biologiji i medicini.

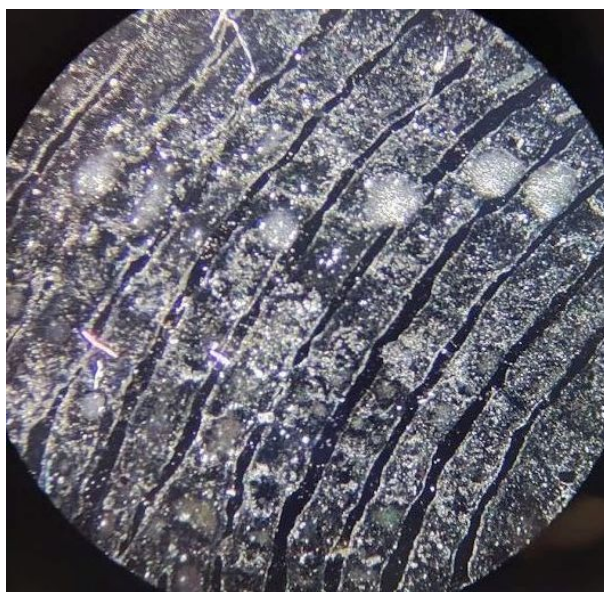
Molekularna mapa BV3 pigmenata i njegovih fragmenata jasno je povezana s pravom distribucijom (slika 7.5), bez artefakata kao na slici 7.6 i s puno boljim kontrastom u odnosu na papir nego u postavi s kapilarom.

Totalna mapa dijela otiska prsta ( $5 \times 5$  mm<sup>2</sup>) pokazuje karakteristični uzorak vidljiv na optičkoj fotografiji na slici 8.9. Jedna od prednosti ovog postava je mogućnost skeniranja većih površina (ili većih uzoraka) nego u slučaju magnetskog fokusiranja snopa: u tom slučaju je

maksimalna veličina skeniranja nešto veća od  $1 \text{ mm}^2$ , što je deset puta manja površina nego prikazana na ovoj slici.

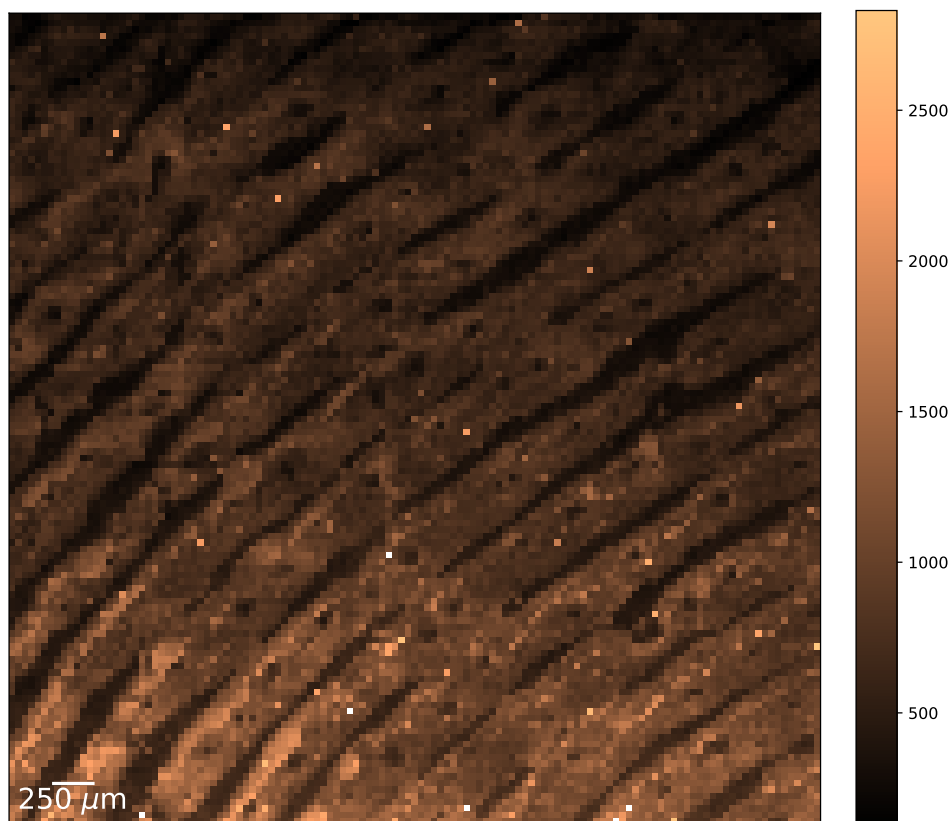


**Slika 8.8:** Mapa karakterističnih vrhova tinte deponirane na papiru (vrhovi isti kao na slici 7.5), snimljena u načinu rada za debele mete (+3 kV ekstrakcija), s aperturom od  $10 \mu\text{m}$ . Za okidanje start signala korišteni su sekundarni elektroni iz tanke ugljikove folije postavljene preko aperture. Veličina skeniranog područja je  $1 \times 1 \text{ mm}^2$  ( $20 \mu\text{m}$  po pikselu). Primarni snop je  $14 \text{ MeV Cu}^{4+}$ .

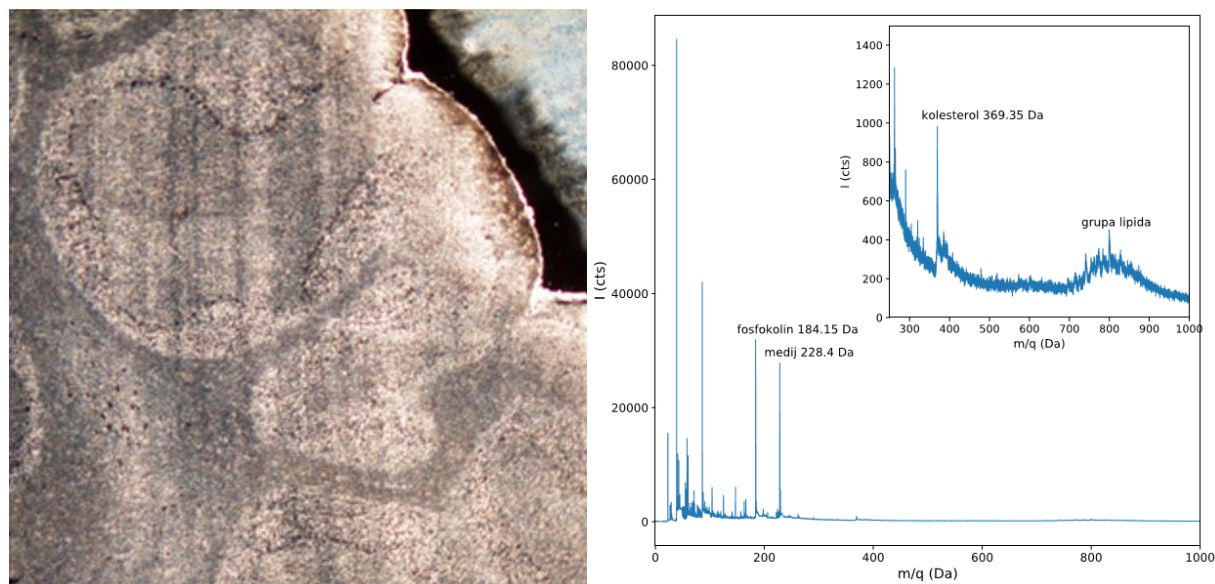


**Slika 8.9:** Fotografija analiziranog otiska prsta na Si podlozi.

Treći primjer je presjek tkiva mišjeg mozga (slika 8.11), uzorak zanimljiv zbog primjene



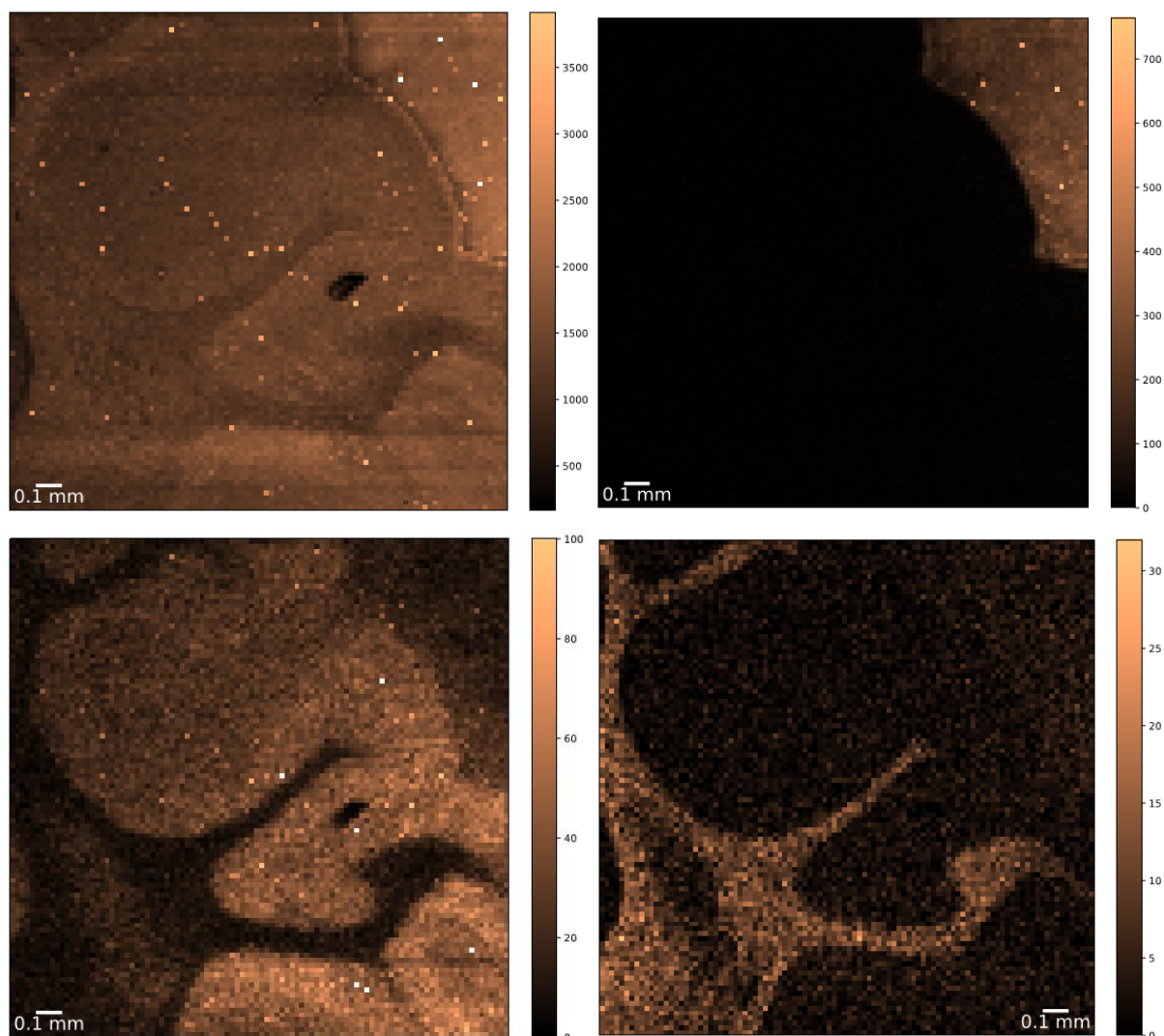
**Slika 8.10:** Totalna mapa dijela otiska prsta na silicijevoj podlozi, prikupljena u načinu rada za debele mete (+3 kV ekstrakcija), s aperturom od 10  $\mu\text{m}$ . Za okidanje start signala korišteni su sekundarni elektroni iz tanke ugljikove folije postavljene preko aperture. Veličina skeniranog područja je  $5 \times 5 \text{ mm}^2$  (40  $\mu\text{m}$  po pikselu). Primarni snop je 14 MeV  $\text{Cu}^{4+}$ .



**Slika 8.11:** Fotografija presjeka 5  $\mu\text{m}$  debelog tkiva mišjeg mozga ( $2 \times 2 \text{ mm}^2$ ) na mikroskopu (lijevo). Maseni spektar prikupljen je u postavu za debele mete, s +3 kV ekstrakcijom (desno).

MeV SIMS-a u biomedicini [47]. Uz standardno prisutne Na i K, istaknuti su vrhovi fragmenta





**Slika 8.12:** Mape različitih molekula iz spektra analiziranog tkiva mišjeg mozga: totalna mapa (gore lijevo), medij na masi 228.4 Da (gore desno), fragment lipida mase 184.1 Da (dolje lijevo) i kolesterol na masi 369.4 Da (dolje desno). Veličina skeniranog područja je  $2 \times 2 \text{ mm}^2$  ( $20 \mu\text{m}$  po pikselu). Primarni snop je  $14 \text{ MeV Cu}^{4+}$ .

lipida (fosfokolin  $\text{C}_5\text{H}_{14}\text{NO}_4\text{P}$ ,  $m = 184.1 \text{ Da}$ ), medija pomoću kojeg je presjek mozga pripremljen na podlozi ( $m = 228.4 \text{ Da}$ ) i kolesterola ( $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ , u spektru prisutan kao  $[\text{M-OH}]^+$ ,  $m = 369.35 \text{ Da}$ ). Usporedbom fotografije tkiva i molekularnih mapa, vidljivo je da je kolesterol prisutan samo u tamnijim dijelovima tkiva na slici, dok je fosfokolin (fragment grupe lipida) prisutan u svjetlijim dijelovima tkiva.

# Poglavlje 9

## Zaključak

U disertaciji je predstavljen rad na razvoju kapilarne mikroprobe namijenjene molekularnom mapiranju metodom masene spektrometrije MeV TOF-SIMS. Mogućnost korištenja snopova teških iona veće energije, koji povećavaju emisiju sekundarnih iona, glavna je prednost kolimiranja staklenom kapilarom u odnosu na klasično fokusiranje magnetskim kvadrupolima.

U sklopu rada ostvarena su bitna poboljšanja u mogućnostima TOF-SIMS masenog spektrometra: uz jednostavni način rada za tanke mete, u kojem se PIN diodom detektiraju primarni ioni koji prođu kroz tanki uzorak, razvijen je okidač startnog signala TOF mjerenja detekcijom sekundarnih elektrona nastalih u interakciji primarnog snopa i analiziranog uzorka, što omogućuje analizu uzoraka proizvoljne debljine. Tom nadogradnjom, značajno je proširena paleta uzoraka koje je moguće analizirati i posljedično povećana mogućnost primjene razvijenog postava. U transmisijskom načinu rada optimizacijom parametara reflektora TOF analizatora postignuta je masena razlučivost  $m/\Delta m = 2500$  za masu  $m = 575$  Da i napon ekstrakcije 4.5 kV, primarno određena brzinom porasta signala iz PIN diode. U postavu za debele mete, gdje se sekundarni elektroni detektiraju pomoću elektronskog multiplikatora, bilo je nužno implementirati tehnički složeno pulsiranje napona mete, tj. odgođenu ekstrakciju. U tom načinu rada ostvarena je masena razlučivost od  $m/\Delta m = 1400$  za masu  $m = 575$  Da za napon ekstrakcije od 3 kV. Uz brzinu signala iz elektronskog multiplikatora ( $\approx 4$  ns), glavni utjecaj na lošiju masenu razlučivost u ovom načinu rada ima oscilacija napona ekstrakcije, jer korišteni izvor napona nema dovoljnu snagu da pri radnoj frekvenciji od 10 do 20 kHz precizno uspostavi zadani napon u tako kratkom vremenu. I s manjom razlučivosti od transmisijskog postava, ovaj način rada je preferiraniji zbog puno šireg broja uzoraka koju je moguće analizirati, znatno jednostavnije pripreme uzoraka za mjerenja i nekoliko puta manjeg pozadinskog šuma zbog smanjenog

broja slučajnih koincidencija u masenom spektru. Dodatno, instalacijom novog detektora sekundarnih iona (MCP detektor s 10 kV postakceleracijom) povećan je prinos težih molekula, jedan od najvažnijih parametara za kvalitetu molekularnog mapiranja: u odnosu na originalni MCP detektor efikasnost detekcije težih molekula ( $m > 200$  Da) povećana je tri do četiri puta.

Optimizirani postav iskorišten je za ispitivanje ovisnosti prinosa, tj. efikasnosti desorpcije i ionizacije, teške organske molekule ftalocijanina ( $C_{32}H_{16}CuN_8$ ,  $m = 576.082$  Da) o fundamentalnim parametrima primarnog snopa (vrsta, energija i naboj primarnih iona). U mjerenom energijskom intervalu (50 – 300 keV/u) za šest različitih primarnih iona ustanovljena je pozitivna korelacija s elektronskom zaustavnom moći ( $dE/dx$ ), brzinom i nabojem primarnih iona. Međutim, rezultate nije bilo moguće povezati s konkretnim teorijskim modelom, iako je dio rezultata kvalitativno objašnjiv modelom ionskih tragova. Ovaj skup mjerenja iskorišten je i za odabir najpogodnijeg dostupnog iona za molekularno mapiranje, u odnosu na dobiveni prinos, što je 14 MeV  $Fe^{4+}$ .

Mjerenjem prostorne razlučivosti i mapiranjem nekoliko uzoraka proučavane su realne mogućnosti i ograničenja za primjene kolimiranja snopa pomoću staklene kapilare u MeV TOF-SIMS-u. Izmjerena je prostorna razlučivost  $\approx 5 \times 12 \mu m^2$  za kapilaru izlaznog promjera 2.5  $\mu m$ , čije je gornje ograničenje određeno divergencijom primarnog snopa, posebno izraženom u y-smjeru. Dodatan faktor je halo primarnog snopa, koji uglavnom dolazi od iona raspršenih pri vrhu kapilare, i koji je jasno vidljiv u izmjerenim energijskim spektrima i prostornoj distribuciji transmitiranog snopa. Na mapama snimljenim u transmisijskom postavu (krilo muhe) i u postavu za debele mete (presjek tinti na papiru) vidi se očekivana molekularna distribucija, ali je kvaliteta mapa, poglavito kontrast, narušena zbog haloa, čiji udio u primarnom snopu ide i do 50%. Kao alternativa kapilari, testirane su aperture promjera 5 i 10  $\mu m$  s kojima je ostvarena nešto lošija prostorna razlučivost,  $< 10 \mu m$  za prvu, i  $< 20 \mu m$  za drugu aperturu, dominantno određena divergencijom primarnog snopa. Ipak, mape na istim uzorcima pokazuju mnogo bolji kontrast i jasnu molekularnu distribuciju. Dodatno je ovaj postav korigiran dodavanjem tanke ugljikove folije preko kolimatora, čime je produkcija sekundarnih elektrona važna za normalizaciju mapa po pikselu postala u potpunosti neovisna o mjerenom uzorku. Generalno, pokazano je da je kolimiranje pomoću aperture puno bolje od kolimiranja kapilaram za rad u visokom vakuumu. Prikazani primjeri analize otiska prsta i presjeka tkiva mišjeg mozga, napravljeni u postavu s aperturom, zorno pokazuju dobre mogućnosti takvog postava za mapiranje većih uzoraka s većim strukturama, tj. za primjene u mapiranju bioloških i forenzičkih uzoraka. Ka-

pilara bi prednost pred aperturom imala kada bi se komora koristila za analiziranje uzoraka pri atmosferskom tlaku (zbog održavanja razlike tlakova).

Što se tiče daljnjih poboljšanja na trenutnom postavu, ona mogu ići u različitim smjerovima. Jednostavnije izmjene bile bi softverske promjene koje će omogućiti brzo, višestruko skeniranje uzorka da bi se pronašla idealna pozicija na uzorku za mapiranje prije početka mjerenja, i nabava snažnijeg izvora napona koji će omogućiti viši i preciznije definirani napon ekstrakcije pri pulsiranju u načinu rada za debele mete, što bi dodatno poboljšalo masenu razlučivost. Najsloženija bi bila izmjena koja bi omogućila konstantnu ekstrakciju, uz zadržavanje detekcije elektrona. Za funkcioniranje tog rješenja, tj. za dobivanje masenog spektra bez dosta povišene pozadine zbog slučajnih koincidencija, trebalo bi osigurati a) da sekundarni elektroni nastali pri prolasku primarnog snopa kroz ugljikovu foliju budu zaklonjeni od napona mete, i b) da postoji gotovo 100%-tna korelacija između broja primarnih iona i broja događaja u elektronskom multiplikatoru. Tako nešto je izvedivo, ali nije jednostavno. Što se tiče prostorne razlučivosti, apertura manjeg promjera trenutno nije opcija zbog prevelike divergencije (pa bi manji promjer donio minimalno poboljšanje razlučivosti) te zbog smanjenja struje primarnog snopa. Manja apertura imala bi smisla tek uz eventualno smanjenje divergencije snopa (npr. dodavanjem nekog fokusirajućeg elementa na eksperimentalnoj liniji) i uz višestruko veći intenzitet primarnog snopa, dovoljan da manja apertura i dalje propušta barem 10 kHz primarnih iona.

# Literatura

- [1] McDonnell, L. A., Heeren, R. M., “Imaging mass spectrometry”, *Mass Spectrometry Reviews*, Vol. 26, No. 4, 2007, str. 606–643.
- [2] Strick, R., Strissel, P. L., Gavrilov, K., Levi-Setti, R., “Cation–chromatin binding as shown by ion microscopy is essential for the structural integrity of chromosomes”, *Journal of Cell Biology*, Vol. 155, No. 6, 2001, str. 899–910.
- [3] McPhail, D. S., “Applications of Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS) in Materials Science”, *Journal of Materials Science*, Vol. 41, No. 3, 2006, str. 873–903.
- [4] Castner, D. G., Ratner, B. D., “Biomedical surface science: Foundations to frontiers”, *Surface Science*, Vol. 500, No. 1-3, 2002, str. 28–60.
- [5] Hou, X., Ren, D., Mao, H., Lei, J., Jin, K., Chu, P. K., Reich, F., Wayne, D. H., “Application of imaging TOF-SIMS to the study of some coal macerals”, *International Journal of Coal Geology*, Vol. 27, No. 1, 1995, str. 23–32.
- [6] Denman, J. A., Skinner, W. M., Kirkbride, K. P., Kempson, I. M., “Organic and inorganic discrimination of ballpoint pen inks by ToF-SIMS and multivariate statistics”, *Applied Surface Science*, Vol. 256, No. 7, 2010, str. 2155–2163.
- [7] Hinder, S. J., Watts, J. F., “SIMS fingerprint analysis on organic substrates”, *Surface and Interface Analysis*, Vol. 42, No. 6-7, 2010, str. 826–829.
- [8] Nakata, Y., Honda, Y., Ninomiya, S., Seki, T., Aoki, T., Matsuo, J., “Matrix-free high-resolution imaging mass spectrometry with high-energy ion projectiles”, *Journal of Mass Spectrometry*, Vol. 44, No. 1, 2009, str. 128–136.
- [9] Jones, B. N., Palitsin, V., Webb, R., “Surface analysis with high energy time-of-flight secondary ion mass spectrometry measured in parallel with PIXE and RBS”, *Nuclear*

- Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Vol. 268, No. 11-12, 2010, str. 1714–1717.
- [10] Tadić, T., Bogdanović Radović, I., Siketić, Z., Cosic, D. D., Skukan, N., Jakšić, M., Matsuo, J., “Development of a TOF SIMS setup at the Zagreb heavy ion microbeam facility”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Vol. 332, 2014, str. 234–237.
- [11] Jeromel, L., Siketić, Z., Ogrinc Potočnik, N., Vavpetič, P., Rupnik, Z., Bučar, K., Pelicon, P., “Development of mass spectrometry by high energy focused heavy ion beam: MeV SIMS with 8 MeV Cl<sup>17+</sup> beam”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Vol. 332, 2014, str. 22–27.
- [12] Schulte-Borchers, M., Döbeli, M., Müller, A. M., George, M., Synal, H.-A., “Time-of-flight MeV-SIMS with beam induced secondary electron trigger”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Vol. 380, 2016, str. 94–98.
- [13] Kamensky, I., Håkansson, P., Sundqvist, B., McNeal, C., Macfarlane, R., “Comparison of biomolecule desorption yields for low and high energy primary ions”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Vol. 198, No. 1, 1982, str. 65–68.
- [14] Nakata, Y., Honda, Y., Ninomiya, S., Seki, T., Aoki, T., Matsuo, J., “Yield enhancement of molecular ions with MeV ion-induced electronic excitation”, Applied Surface Science, Vol. 255, No. 4, 2008, str. 1591–1594.
- [15] Jones, B. N., Matsuo, J., Nakata, Y., Yamada, H., Watts, J., Hinder, S., Palitsin, V., Webb, R., “Comparison of MeV monomer ion and keV cluster ToF-SIMS”, Surface and Interface Analysis, Vol. 43, No. 1-2, 2010, str. 249–252.
- [16] Siketić, Z., Bogdanović Radović, I., Jakšić, M., Popović Hadžija, M., Hadžija, M., “Sub-micron mass spectrometry imaging of single cells by combined use of mega electron volt time-of-flight secondary ion mass spectrometry and scanning transmission ion microscopy”, Applied Physics Letters, Vol. 107, No. 9, 2015, str. 093702.
- [17] Yamada, H., Ichiki, K., Nakata, Y., Ninomiya, S., Seki, T., Aoki, T., Matsuo, J., “MeV-energy probe SIMS imaging of major components in animal cells etched using large gas

- cluster ions”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 268, No. 11-12, 2010, str. 1736–1740.
- [18] Bailey, M., Jones, B., Hinder, S., Watts, J., Bleay, S., Webb, R., “Depth profiling of fingerprint and ink signals by SIMS and MeV SIMS”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 268, No. 11-12, 2010, str. 1929–1932.
- [19] Moore, K. L., Barac, M., Brajković, M., Bailey, M. J., Siketić, Z., Bogdanović Radović, I., “Determination of Deposition Order of Toners, Inkjet Inks, and Blue Ballpoint Pen Combining MeV-Secondary Ion Mass Spectrometry and Particle Induced X-ray Emission”, *Analytical Chemistry*, Vol. 91, No. 20, 2019, str. 12 997–13 005.
- [20] Bogdanović Radović, I., Siketić, Z., Jembrih-Simbürger, D., Marković, N., Anghelone, M., Stoytschew, V., Jakšić, M., “Identification and imaging of modern paints using Secondary Ion Mass Spectrometry with MeV ions”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 406, 2017, str. 296–301.
- [21] Seki, T., Shitomoto, S., Nakagawa, S., Aoki, T., Matsuo, J., “An electrostatic quadrupole doublet focusing system for MeV heavy ions in MeV-SIMS”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 315, 2013, str. 356–359.
- [22] Miltenberger, K.-U., Schulte-Borchers, M., Döbeli, M., Müller, A. M., George, M., Synal, H.-A., “MeV-SIMS capillary microprobe for molecular imaging”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 412, 2017, str. 185–189.
- [23] Nebiki, T., Kabir, M. H., Narusawa, T., “In-air pixe analysis by means of glass capillary optics”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 249, No. 1-2, 2006, str. 226–229.
- [24] Matjajac, L., “Optimization and Application of AP MeV SIMS”, *Doktorski rad*, University of Surrey, Surrey, UK, 2018.

- [25] Matsuo, J., Ninomiya, S., Nakata, Y., Honda, Y., Ichiki, K., Seki, T., Aoki, T., “What size of cluster is most appropriate for SIMS?”, *Applied Surface Science*, Vol. 255, No. 4, 2008, str. 1235–1238.
- [26] Miltenberger, K.-U., “Secondary ion emission in MeV-SIMS”, Doktorski rad, ETH Zürich, Zürich, Švicarska, 2020.
- [27] Karas, M., Hillenkamp, F., “Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons”, *Analytical Chemistry*, Vol. 60, No. 20, 1988, str. 2299–2301.
- [28] Takats, Z., Wiseman, J. M., Gologan, B., Cooks, R. G., “Mass Spectrometry Sampling Under Ambient Conditions with Desorption Electrospray Ionization”, *Science*, Vol. 306, No. 5695, 2004, str. 471–473.
- [29] Zubarev, R. A., Abeywarna, U., Hakansson, P., Demirev, P., Sundqvist, B. U. R., “Kinetic Energies of Secondary Ions in MeV and keV Particle-induced Desorption”, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Vol. 10, 1996, str. 1966–1974.
- [30] Vickerman, J. C., Briggs, D., (ur.), *TOF-SIMS: Materials analysis by mass spectrometry*. IM Publications LPP i Surface Spectra Limited, 2013.
- [31] Schulte-Borchers, M., “MeV SIMS based on a capillary microprobe for molecular imaging”, Doktorski rad, ETH Zürich, Zürich, Švicarska, 2016.
- [32] Cotter, R. J., *Time-of-flight mass spectrometry: instrumentation and applications in biological research*. Washington, DC, USA: American Chemical Society, 1997.
- [33] Benninghoven, A., “Beobachtung von oberflächenreaktionen mit der statischen methode der sekundärionen-massenspektroskopie. I die methode”, *Surface Science*, Vol. 28, No. 2, 1971, str. 541–562.
- [34] Benninghoven, A., Sichtermann, W. K., “Detection, identification, and structural investigation of biologically important compounds by secondary ion mass spectrometry”, *Analytical Chemistry*, Vol. 50, No. 8, 1978, str. 1180–1184.
- [35] Massonnet, P., Heeren, R. M. A., “A concise tutorial review of TOF-SIMS based molecular and cellular imaging”, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, Vol. 34, No. 11, 2019, str. 2217–2228.



- [36] Chandra, S., Smith, D. R., Morrison, G. H., “Peer Reviewed: A Subcellular Imaging by Dynamic SIMS Ion Microscopy.”, *Analytical Chemistry*, Vol. 72, No. 3, 2000, str. 104 A–114 A.
- [37] Leefmann, T., Heim, C., Kryvenda, A., Siljeström, S., Sjövall, P., Thiel, V., “Biomarker imaging of single diatom cells in a microbial mat using time-of-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS)”, *Organic Geochemistry*, Vol. 57, 2013, str. 23–33.
- [38] Torgerson, D., Skowronski, R., Macfarlane, R., “New approach to the mass spectroscopy of non-volatile compounds”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 60, No. 2, 1974, str. 616–621.
- [39] Macfarlane, R. D., Torgerson, D. F., “Californium-252 Plasma Desorption Mass Spectroscopy”, *Science*, Vol. 191, No. 4230, 1976, str. 920–925.
- [40] Håkansson, P., Sundqvist, B., “The velocity dependence of fast heavy-ion induced desorption of biomolecules”, *Radiation Effects*, Vol. 61, No. 3-4, 1982, str. 179–193.
- [41] Hedin, A., Hakansson, P., Sundqvist, B., Johnson, R. E., “Ion-track model for fast-ion-induced desorption of molecules”, *Physical Review B*, Vol. 31, No. 4, 1985, str. 1780–1787.
- [42] Altelaar, A. F. M., Klinkert, I., Jalink, K., de Lange, R. P. J., Adan, R. A. H., Heeren, R. M. A., Piersma, S. R., “Gold-Enhanced Biomolecular Surface Imaging of Cells and Tissue by SIMS and MALDI Mass Spectrometry”, *Analytical Chemistry*, Vol. 78, No. 3, 2005, str. 734–742.
- [43] Delcorte, A., Bertrand, P., “Interest of silver and gold metallization for molecular SIMS and SIMS imaging”, *Applied Surface Science*, Vol. 231, 2004, str. 250–255.
- [44] Todd, P. J., Schaaff, T. G., Chaurand, P., Caprioli, R. M., “Organic ion imaging of biological tissue with secondary ion mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption/ionization”, *Journal of Mass Spectrometry*, Vol. 36, No. 4, 2001, str. 355–369.
- [45] Barac, M., Filko, A., Siketić, Z., Brajković, M., Ledić, A., Radović, I. B., “Comparison of optical techniques and MeV SIMS in determining deposition order between optically distinguishable and indistinguishable inks from different writing tools”, *Forensic Science International*, Vol. 331, 2022, str. 111136.

- [46] Jenčič, B., Jeromel, L., Ogrinc Potočnik, N., Vogel-Mikuš, K., Kovačec, E., Regvar, M., Siketić, Z., Vavpetič, P., Rupnik, Z., Bučar, K., Kelemen, M., Kovač, J., Pelicon, P., “Molecular imaging of cannabis leaf tissue with MeV-SIMS method”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 371, 2016, str. 205–210.
- [47] Popović Hadžija, M., Siketić, Z., Hadžija, M., Barac, M., Bogdanović Radović, I., “Study of the diacylglycerol composition in the liver and serum of mice with prediabetes and diabetes using MeV TOF-SIMS”, *Diabetes Research and Clinical Practice*, Vol. 159, 2020, str. 107986.
- [48] Jeromel, L., Ogrinc, N., Siketić, Z., Vavpetič, P., Rupnik, Z., Bučar, K., Jenčič, B., Kelemen, M., Vencelj, M., Vogel-Mikuš, K., Kovač, J., Heeren, R. M. A., Flinders, B., Cuypers, E., Barba, , Pelicon, P., “Molecular imaging of human hair with MeV-SIMS: A case study of cocaine detection and distribution in the hair of a cocaine user”, *PLOS ONE*, Vol. 17, No. 3, 2022, str. e0263338.
- [49] Krmpotić, M., Jembrih-Simbürger, D., Siketić, Z., Marković, N., Anghelone, M., Tadić, T., Plavčić, D., Malloy, M., Radović, I. B., “Identification of Synthetic Organic Pigments (SOPs) Used in Modern Artist’s Paints with Secondary Ion Mass Spectrometry with MeV Ions”, *Analytical Chemistry*, Vol. 92, No. 13, 2020, str. 9287–9294.
- [50] Ziegler, J. F., Ziegler, M., Biersack, J., “Srim – the stopping and range of ions in matter (2010)”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 268, No. 11-12, 2010, str. 1818–1823.
- [51] Sigmund, P., *Sputtering by ion bombardment*. Springer, 1981.
- [52] Reimann, C., “Theoretical Models for Sputtering and Desorption of Bio-Organic Molecules under Collisional and Electronic Excitation by Ion Impact”, in *Fundamental Processes in Sputtering of Atoms and Molecules (SPUT92)*, Sigmund, P., (ur.). Copenhagen: The Royal Danish Academy of Sciences and Letters, 1993, str. 351-402.
- [53] Katz, R., “Track structure theory in radiobiology and in radiation detection”, *Nuclear Track Detection*, Vol. 2, No. 1, 1978, str. 1–28.

- [54] Johnson, R., "Mechanisms for the desorption of large organic molecules", *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, Vol. 78, 1987, str. 357–392.
- [55] Hedin, A., Hakansson, P., Salehpour, M., Sundqvist, B. U. R., "Fast-ion-induced erosion of leucine as a function of the electronic stopping power", *Physical Review B*, Vol. 35, No. 14, 1987, str. 7377–7381.
- [56] Ens, W., Sundqvist, B. U., Hakansson, P., Fenyó, D., Hedin, A., Jonsson, G., "Radial velocity measurements of secondary molecular ions in keV and MeV bombardment", *Le Journal de Physique Colloques*, Vol. 50, No. C2, 1989, str. C2–9.
- [57] Mozumder, A., in *Advances in Radiation Chemistry*, Burton, M., Magee, J., (ur.). Wiley-Interscience, 1969, str. 50.
- [58] Johnson, R. E., Evatt, R., "Thermal spikes and sputtering yields", *Radiation Effects*, Vol. 52, No. 3-4, 1980, str. 187–190.
- [59] Vineyard, G. H., "Thermal spikes and activated processes", *Radiation Effects*, Vol. 29, No. 4, 1976, str. 245–248.
- [60] Johnson, R. E., Pospieszalska, M., Brown, W. L., "Linear-to-quadratic transition in electronically stimulated sputtering of solid N<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>", *Physical Review B*, Vol. 44, No. 14, 1991, str. 7263–7272.
- [61] Lee, S.-L., Lucchese, R. R., "Models for high energy ion induced desorption of molecules from surfaces", *Le Journal de Physique Colloques*, Vol. 50, No. C2, 1989, str. C2–231.
- [62] Lucchese, R. R., "Thermal spike model for heavy ion induced desorption from surfaces", *The Journal of Chemical Physics*, Vol. 86, No. 1, 1987, str. 443–453.
- [63] Sunner, J., Morales, A., Kebarle, P., "Mechanism of formation of FAB spectra", *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, Vol. 86, 1988, str. 169–186.
- [64] Shiea, J., Sunner, J., "Methods and Mechanisms for Producing Ions from Large Molecules", Standing, K., Ens, W., (ur.). New York: Plenum Press, 1991, str. 147.
- [65] Urbassek, H. M., Waldeer, K. T., "Spikes in condensed rare gases induced by keV-atom bombardment", *Physical Review Letters*, Vol. 67, No. 1, 1991, str. 105–108.

- [66] Johnson, R. E., Sundqvist, B. U. R., Hedin, A., Fenyö, D., “Sputtering by fast ions based on a sum of impulses”, *Physical Review B*, Vol. 40, No. 1, 1989, str. 49–53.
- [67] Fenyö, D., Sundqvist, B. U. R., Karlsson, B. R., Johnson, R. E., “Molecular-dynamics study of electronic sputtering of large organic molecules”, *Physical Review B*, Vol. 42, No. 4, 1990, str. 1895–1902.
- [68] Williams, P., Sundqvist, B., “Mechanism of sputtering of large biomolecular ions by impact of highly ionizing particles”, *Physical Review Letters*, Vol. 58, No. 10, 1987, str. 1031–1034.
- [69] Hasegawa, J., Shiba, S., Fukuda, H., Oguri, Y., “A compact micro-beam system using a tapered glass capillary for proton-induced x-ray radiography”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 266, No. 10, 2008, str. 2125–2129.
- [70] Hasegawa, J., Jaiyen, S., Polee, C., Chankow, N., Oguri, Y., “Transport mechanism of mev protons in tapered glass capillaries”, *Journal of Applied Physics*, Vol. 110, No. 4, 2011, str. 044913.
- [71] Singkarat, S., Puttaraksa, N., Unai, S., Yu, L., Singkarat, K., Pussadee, N., Whitlow, H., Natyanum, S., Tippawan, U., “Development of economic MeV-ion microbeam technology at Chiang Mai University”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 404, 2017, str. 58–64.
- [72] Simon, M., Döbeli, M., Müller, A., Synal, H.-A., “In-air STIM with a capillary micro-probe”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 273, 2012, str. 237–240.
- [73] Sekiba, D., Yonemura, H., Nebiki, T., Wilde, M., Ogura, S., Yamashita, H., Matsumoto, M., Kasagi, J., Iwamura, Y., Itoh, T., Matsuzaki, H., Narusawa, T., Fukutani, K., “Development of micro-beam NRA for 3D-mapping of hydrogen distribution in solids: Application of tapered glass capillary to 6MeV 15N ion”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 266, No. 18, 2008, str. 4027–4036.

- [74] Stolterfoht, N., Bremer, J.-H., Hoffmann, V., Hellhammer, R., Fink, D., Petrov, A., Sulik, B., “Transmission of 3 keV  $^{79}\text{Au}^{27+}$  ions through nanocapillaries etched in polymer foils: Evidence for capillary guiding”, *Physical Review Letters*, Vol. 88, No. 13, 2002.
- [75] Jaiyen, S., Chankow, N., Hasegawa, J., Oguri, Y., “Effect of wall material and shape on MeV ion focusing ability of tapered capillary optics”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 271, 2012, str. 13–18.
- [76] Ikeda, T., Kanai, Y., Kojima, T. M., Iwai, Y., Kambara, T., Yamazaki, Y., Hoshino, M., Nebiki, T., Narusawa, T., “Production of a microbeam of slow highly charged ions with a tapered glass capillary”, *Applied Physics Letters*, Vol. 89, No. 16, 2006, str. 163502.
- [77] Lemell, C., Burgdörfer, J., Aumayr, F., “Interaction of charged particles with insulating capillary targets – the guiding effect”, *Progress in Surface Science*, Vol. 88, No. 3, 2013, str. 237–278.
- [78] Ikeda, T., “Applications of microbeams produced by tapered glass capillary optics”, *Quantum Beam Science*, Vol. 4, No. 2, 2020, str. 22.
- [79] Nebiki, T., Yamamoto, T., Narusawa, T., Breese, M. B. H., Teo, E. J., Watt, F., “Focusing of MeV ion beams by means of tapered glass capillary optics”, *Journal of Vacuum Science Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, Vol. 21, No. 5, 2003, str. 1671–1674.
- [80] Nebiki, T., Sekiba, D., Yonemura, H., Wilde, M., Ogura, S., Yamashita, H., Matsumoto, M., Fukutani, K., Okano, T., Kasagi, J., et al., “Taper angle dependence of the focusing effect of high energy heavy ion beams by glass capillaries”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 266, No. 8, 2008, str. 1324–1327.
- [81] Gong, Z., Yan, S., Ma, H., Nie, R., Xue, J., Wang, Y., “Study of tapered glass capillary focusing MeV ion beam”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 272, 2012, str. 370–373.
- [82] Hespeels, F., Tonneau, R., Ikeda, T., Lucas, S., “Comparison of experimental and Monte-Carlo simulation of MeV particle transport through tapered/straight glass capillaries and

- circular collimators”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Vol. 362, 2015, str. 72–79.
- [83] Simon, M., Zhou, C., Döbeli, M., Cassimi, A., Monnet, I., Méry, A., Grygiel, C., Guilous, S., Madi, T., Benyagoub, A., et al., “Measurements and 3d monte carlo simulation of mev ion transmission through conical glass capillaries”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Vol. 330, 2014, str. 11–17.
- [84] <https://www.irb.hr/Zavodi/Zavod-za-eksperimentalnu-fiziku/Laboratorij-za-interakcije-ionskih-snopova/Clanci/Akceleratori>, pristupljeno: 25.1.2022.
- [85] Alikanov, S. G., “A new impulse technique for ion mass measurement”, Sov. Phys. JETP, Vol. 4, 1957, str. 452.
- [86] Karataev, V. I., Mamyryn, B. A., Shmikk, D. V., “New method for focusing ion bunches in time-of-flight mass spectrometers”, Sov. Phys. JETP, Vol. 16, 1972, str. 1177.
- [87] Mamyryn, B. A., Karataev, V. I., Shmikk, D. V., A., Z. V., “The mass-reflectron, a new nonmagnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution”, Sov. Phys. JETP, Vol. 37, 1973, str. 45.
- [88] Cosic, D., Bogovac, M., Jakšić, M., “Data acquisition and control system for an evolving nuclear microprobe”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Vol. 451, 2019, str. 122–126.
- [89] COMSOL Multiphysics® v. 5.6. [www.comsol.com](http://www.comsol.com). COMSOL AB, Stockholm, Sweden.
- [90] Rothard, H., Kroneberger, K., Clouvas, A., Veje, E., Lorenzen, P., Keller, N., Kemmler, J., Meckbach, W., Groeneveld, K.-O., “Secondary-electron yields from thin foils: A possible probe for the electronic stopping power of heavy ions”, Physical Review A, Vol. 41, No. 5, 1990, str. 2521–2535.
- [91] Zhou, J., Ens, W., Standing, K. G., Verentchikov, A., Sundqvist, B. U. R., “Kinetic energy measurements of molecular ions ejected into an electric field by matrix-assisted laser desorption”, Rapid Communications in Mass Spectrometry, Vol. 6, No. 11, 1992, str. 671–678.

- [92] Gilmore, I., Seah, M., “Ion detection efficiency in SIMS:”, *International Journal of Mass Spectrometry*, Vol. 202, No. 1-3, 2000, str. 217–229.
- [93] Jenčič, B., Vavpetič, P., Kelemen, M., Pelicon, P., “Secondary Ion Yield and Fragmentation of Biological Molecules by Employing  $^{35}\text{Cl}$  Primary Ions within the MeV Energy Domain”, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, Vol. 31, No. 1, 2019, str. 117–123.
- [94] Wiley, W. C., McLaren, I. H., “Time-of-Flight Mass Spectrometer with Improved Resolution”, *Review of Scientific Instruments*, Vol. 26, No. 12, 1955, str. 1150–1157.
- [95] Vestal, M. L., “Modern MALDI time-of-flight mass spectrometry”, *Journal of Mass Spectrometry*, Vol. 44, No. 3, 2009, str. 303–317.
- [96] Jenčič, B., Vavpetič, P., Kelemen, M., Vencelj, M., Vogel-Mikuš, K., Kavčič, A., Pelicon, P., “MeV-SIMS TOF Imaging of Organic Tissue with Continuous Primary Beam”, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, Vol. 30, No. 9, 2019, str. 1801–1812.
- [97] Stoytschew, V., Bogdanović Radović, I., Demarche, J., Jakšić, M., Matjačić, L., Siketić, Z., Webb, R., “MeV-SIMS yield measurements using a Si-PIN diode as a primary ion current counter”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 371, 2016, str. 194–198.
- [98] Grande, P., Schiwietz, G., “The unitary convolution approximation for heavy ions”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 195, No. 1-2, 2002, str. 55–63.
- [99] Pereira, J. A. M., da Silveira, E. F., “Cluster and Velocity Effects on Yields and Kinetic Energy Distributions of  $\text{Li}^+$  Desorbed from  $\text{LiF}$ ”, *Physical Review Letters*, Vol. 84, No. 25, 2000, str. 5904–5907.
- [100] Kakutani, N., Azuma, T., Yamazaki, Y., Komaki, K., Kuroki, K., “Strong charge state dependence of  $\text{H}^+$  and  $\text{H}_2^+$  sputtering induced by slow highly charged ions”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, Vol. 96, No. 3-4, 1995, str. 541–544.

- [101] Håkansson, P., Jayasinghe, E., Johansson, A., Kamensky, I., Sundqvist, B., “Charge-State Dependence of Desorption of Biomolecules Induced by Fast Heavy Ions”, *Physical Review Letters*, Vol. 47, No. 17, 1981, str. 1227–1229.



# Životopis

Marko Brajković rođen je 31. svibnja 1994. u Makarskoj. Završio je 2013. opći smjer Gimnazije fra Grge Martića u Mostaru u Bosni i Hercegovini. Diplomirao je fiziku, smjer istraživački, 2018. godine na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu (PMF) Sveučilišta u Zagrebu. Od listopada 2018. radi kao asistent u Laboratoriju za interakcije ionskih snopova Zavoda za eksperimentalnu fiziku Instituta Ruđer Bošković (IRB) u Zagrebu. U sklopu rada na IRB-u primarno je posvećen razvoju kapilarne mikroprobe za MeV TOF-SIMS s primjenom na analizu organskih materijala. Na jesen 2018. upisuje doktorski studij fizike na PMF-u u Zagrebu, smjer nuklearna fizika. Kao vanjski suradnik, od 2019. godine na PMF-u u Zagrebu održava vježbe iz predmeta Početni fizički praktikum 1 i 2.

## Popis objavljenih djela

### Rad u časopisima

1. Brajković, M., Bogdanović Radović, I., Barac, M., Cosic, D. D., Siketić, Z. (2021). Imaging of Organic Samples with Megaelectron Volt Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry Capillary Microprobe. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 32(10), 2567–2572.
2. Brajković, M., Barac, M., Bogdanović Radović, I., Siketić, Z. (2020). Dependence of Megaelectron Volt Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry Secondary Molecular Ion Yield from Phthalocyanine Blue on Primary Ion Stopping Power. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 31(7), 1518–1524.
3. Brajković, M., Barac, M., Cosic, D., Bogdanović Radović, I., Siketić, Z. (2019). Development of MeV TOF-SIMS capillary microprobe at the Ruđer Bošković Institute in Zagreb. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 461, 237–242.

4. Calligaro, T., Banas, A., Banas, K., Radović, I. B., Brajković, M., Chiari, M., Forss, A. M., Hajdas, I., Krmpotić, M., Mazzinghi, A., Menart, E., Mizohata, K., Oinonen, M., Pichon, L., Raisanen, J., Siketić, Z., Šmit, I., Simon, A. (2022). Emerging nuclear methods for historical painting authentication: AMS-<sup>14</sup>C dating, MeV-SIMS and O-PTIR imaging, global IBA, differential-PIXE and full-field PIXE mapping. *Forensic Science International*, 336, 111327.
5. Barac, M., Filko, A., Siketić, Z., Brajković, M., Ledić, A., Radović, I. B. (2022). Comparison of optical techniques and MeV SIMS in determining deposition order between optically distinguishable and indistinguishable inks from different writing tools. *Forensic Science International*, 331, 111136.
6. Barac, M., Brajković, M., Bogdanović Radović, I., Kovač, J., Siketić, Z. (2021). MeV TOF SIMS Analysis of Hybrid Organic/Inorganic Compounds in the Low Energy Region. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 32(3), 825–831.
7. Ditalia Tchernij, S., Lühmann, T., Corte, E., Sardi, F., Picollo, F., Traina, P., Brajković, M., Crnjac, A., Pezzagna, S., Pastuović, Ž., Degiovanni, I. P., Moreva, E., Aprà, P., Olivero, P., Siketić, Z., Meijer, J., Genovese, M., Forneris, J. (2020). Fluorine-based color centers in diamond. *Scientific Reports*, 10(1).
8. Moore, K. L., Barac, M., Brajković, M., Bailey, M. J., Siketić, Z., Bogdanović Radović, I. (2019). Determination of Deposition Order of Toners, Inkjet Inks, and Blue Ballpoint Pen Combining MeV-Secondary Ion Mass Spectrometry and Particle Induced X-ray Emission. *Analytical Chemistry*, 91(20), 12997–13005.