

Kiểu đo mảnh (theo dõi ion chọn lọc)

Tín hiệu thu được là của một ion (theo dõi một ion, SIM) hay nhiều ion (theo dõi nhiều ion, MIM) đặc trưng cho chất được phân tích. Giới hạn phát hiện có thể được thu nhỏ đáng kể trong kiểu thu tín hiệu này. Có thể tiến hành các phép thử định lượng hay bán định lượng nhờ dùng các chất chuẩn ngoại hay chuẩn nội (ví dụ, dùng chuẩn deuteri hóa). Không thể tiến hành các phép thử này với các bộ phân tích thời gian bay.

Kiểu đo mảnh phổ khối hai lần (theo dõi nhiều phản ứng, MRM)

Kiểu đo này cho phép theo dõi chọn lọc sự phân hủy đơn phân tử hay đôi phân tử của một tiền ion đã chọn, đặc trưng cho chất phân tích. Độ chọn lọc và tính đặc hiệu của kiểu thu tín hiệu này cho phép đạt đến độ nhạy rất cao, làm cho kiểu đo này trở thành một phép đo thích hợp nhất trong các nghiên cứu định lượng nếu dùng chất chuẩn nội thích hợp (như chuẩn deuteri hóa). Kiểu phân tích này có thể thực hiện trên máy có ba tứ cực ghép nối tiếp, các bộ phân tích bẫy ion hay cộng hưởng cyclotron.

Hiệu chuẩn

Việc hiệu chuẩn cho phép ta gán một giá trị m/z tương ứng với một tín hiệu thu được. Trên nguyên tắc, việc hiệu chuẩn được thực hiện nhờ sử dụng một chất đối chiếu. Nếu dùng chuẩn ngoại, phổ chất đối chiếu được ghi riêng; nếu dùng chuẩn nội thì chất đối chiếu được trộn với chất đem thử. Số ion hay số điểm chuẩn cần thiết (để việc hiệu chuẩn đáng tin cậy) phụ thuộc vào kiểu bộ phân tích và độ chính xác mong muốn, ví dụ như khi dùng bộ phân tích từ thì càng làm nhiều điểm càng tốt vì ở đây tỷ số m/z biến đổi theo hàm số mũ với giá trị từ trường.

Phát hiện tín hiệu và xử lý dữ liệu

Các ion sau khi được tách trong bộ phân tích, được chuyển thành tín hiệu điện trong một hệ thống phát hiện như một nhân quang hay một nhân electron. Các tín hiệu được khuếch đại trước khi được chuyển lại thành tín hiệu số để xử lý dữ liệu cho phép hiệu chuẩn, dựng thành phổ, tự động định lượng, lưu trữ, đưa vào thư viện phổ hay sử dụng thư viện phổ. Máy tính được dùng để kiểm soát các thông số vật lý điều hành hoạt động của cả hệ thống máy.

4.6 PHỔ KHỐI - PLASMA CẢM ỨNG (ICP-MS)

Phổ khối-plasma kết hợp cảm ứng, gọi tắt là Phổ khối-plasma cảm ứng (ICP-MS) là một phương pháp phổ khối với nguồn ion hóa là plasma kết hợp cảm ứng (inductively-coupled plasma-ICP).

Nguyên lý cơ bản của sự hình thành ICP được mô tả dưới đây:

Plasma cảm ứng ICP là một nguồn khí trơ (thường là khí argon) được ion hóa cao độ, có số ion và số electron bằng nhau và được duy trì bằng một trường điện từ tần số

radio (RF). Khi mẫu thử tiếp xúc với ICP, nhiệt độ cao của plasma sẽ khử dung môi, hóa hơi, kích thích và ion hóa các nguyên tử trong mẫu. Giới hạn phát hiện của phương pháp ICP-MS đạt tới cỡ ng/L. Plasma được hình thành khi một dòng khí mang chạy qua “ngọn đèn” hay “torch” gồm 3 ống đồng tâm bằng thạch anh. Một cuộn dây kim loại cuốn quanh đầu trên của đèn và được nối với một nguồn phát tần số radio. Cuộn dây này được cấp một công suất thường là 700 - 1500 W, tạo nên một từ trường cảm ứng dao động ứng với tần số của nguồn tần số radio, thường là 27 MHz, 40 MHz. Plasma hình thành khi khí mang được kích thích bởi một nguồn phóng điện, sinh ra các ion và electron mảnh. Trong từ trường cảm ứng, các phân tử tích điện (ion và electron) bị ép chạy qua con đường hình vành khuyên khép kín. Do cản trở dòng chảy của chúng, quá trình sinh nhiệt xảy ra và tạo thêm ion.

Quá trình hình thành plasma xảy ra hầu như tức thời và plasma đạt được toàn bộ cường độ và kích thước. Sự dao động với tần số radio của công suất đặt trên cuộn dây tạo ra điện trường và từ trường tần số tại khu vực phía trên phần đầu của đèn. Khi tia lửa điện (được tạo ra bởi ống Tesla hay một thiết bị kích thích khác) tác động lên luồng khí mang đi qua đèn, thì một số electron bị bứt khỏi các nguyên tử khí mang. Các electron này bắt gặp từ trường cảm ứng và tăng tốc. Sự tăng năng lượng cho các electron nhờ cuộn dây điện này được gọi là sự kết hợp cảm ứng (inductive coupling). Các electron năng lượng cao này lại va đập với các nguyên tử khí mang khác làm bật ra thêm nhiều electron hơn nữa. Sự ion hóa (do va đập) của khí mang tiếp tục xảy ra theo một phản ứng dây chuyền, làm cho khí mang biến thành một thực thể plasma bao gồm các nguyên tử, các electron, và các ion khí mang. Plasma được duy trì trong phạm vi đèn và cuộn dây nhờ năng lượng có tần số radio được liên tục truyền cho plasma qua quá trình kết hợp cảm ứng. ICP được thấy như một plasma hình lông chim mạnh mẽ và sáng chói. Phần đáy của plasma có hình vòng xuyên, được gọi là vùng cảm ứng, là vùng ở đó có quá trình truyền năng lượng cảm ứng từ cuộn dây cho plasma. Mẫu thử được đưa qua vùng cảm ứng này vào trung tâm của plasma.

Trong ICP-MS, plasma sẽ ion hóa các nguyên tố có trong mẫu. Các ion này được đưa vào máy phổ khối và được tách theo tỷ số khối/điện tích (m/z). Hầu hết các máy phổ khối có một hệ tứ cực hoặc một nam châm. Các ion đi từ plasma qua bộ phận giao diện [gồm một côn lấy mẫu (sampler cone) và một côn gạt lọc (skimmer cone)] tới bộ quang học ion. Bộ quang học ion này gồm có một thấu kính tĩnh điện, thấu kính này đưa các ion từ một vùng có áp suất khí quyển sang bộ phận lọc khối có chân không được duy trì ở mức bằng 10^{-8} Pa hoặc nhỏ hơn, nhờ một bơm turbo phân tử. Sau khi được lọc, các ion có tỷ số khối/điện tích được chọn đi tới detector (là một nhân quang, một cốc Faraday hay các dynod), tại đây các dòng ion được chuyển thành tín hiệu điện. Nguyên tố được định lượng dựa trên số ion

đi tới detector và tạo ra các xung điện trong một đơn vị thời gian.

Trong máy phổ ICP-MS còn có một hệ thống nạp mẫu và bộ xử lý dữ liệu như trong máy phổ ICP-AES.

Thiết bị

Một máy ICP-MS bao gồm các thành phần chủ yếu sau:
Bộ nạp mẫu gồm một bơm nhu động để bơm dung dịch đến bộ phận phun sương với tốc độ dòng không đổi;
Bộ sinh tần số radio;
Bộ đèn plasma (plasma torch);
Giao diện có hai côn để chuyển các ion đến bộ quang học ion;
Máy phổ khối;
Detector;
Bộ thu nhận dữ liệu.

Yếu tố ảnh hưởng

Vấn đề chính là nhiễu khối lượng, đặc biệt là trong khoảng giữa của dải khối (ví dụ 40 - 80 đơn vị a.m.u), các phân tử có cùng khối lượng che phủ đáng kể tín hiệu khối của ion phân tích. Tổ hợp các ion nguyên tử cũng dẫn đến các nhiễu đa nguyên tử hay nhiễu phân tử (như ảnh hưởng của $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ lên ^{56}Fe hay của $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ lên ^{80}Se). Nền mẫu cũng có thể ảnh hưởng lên một số chất phân tích. Một số nền mẫu có tác động lên sự hình thành giọt sương hay lên nhiệt độ ion hóa trong plasma. Những hiện tượng này có thể làm mất các tín hiệu của chất phân tích. Có thể tránh ảnh hưởng vật lý bằng cách sử dụng phương pháp chuẩn nội hay thêm chuẩn. Nguyên tố dùng làm chuẩn nội tùy thuộc vào nguyên tố cần đo: ví dụ có thể dùng ^{59}Co và ^{115}In làm chuẩn nội.

Đặc tính hàng đầu của một thiết bị ICP-MS là độ phân giải, tức là hiệu lực tách hai khối gần nhau. Về mặt này, các máy dùng tứ cực kém hơn các máy dùng nam châm.

Tiến hành

Chuẩn bị mẫu và nạp mẫu

Việc chuẩn bị mẫu thường có bước phá hủy nền mẫu bằng một phương pháp phù hợp như dùng lò vi sóng. Ngoài ra cần đảm bảo nồng độ chất phân tích nằm trong khoảng làm việc của máy (bằng cách pha loãng hay làm đậm đặc dung dịch mẫu) và đảm bảo dung dịch mẫu có thể được phun sương ổn định.

Nhiều hệ thống nạp mẫu cho phép sử dụng các acid đậm đặc, nhưng acid sulfuric và acid phosphoric có thể ảnh hưởng đến đường nền. Vì thế nên dùng acid nitric và acid hydrochloric.

Nếu có bộ nạp mẫu và đèn plasma làm bằng vật liệu chịu acid hydrofluoric (như polymer perfluoroalkoxy) thì có thể dùng acid hydrofluoric. Khi lựa chọn phương pháp nạp mẫu, cần tính đến yêu cầu về độ nhạy, độ ổn định, tốc độ, cỡ mẫu, khả năng chống ăn mòn và chống bị tắc. Một bộ phun sương phun ngang kết hợp với một buồng phun và đèn plasma có thể đáp ứng với hầu hết các yêu cầu. Dung dịch mẫu thường được bơm bằng bơm nhu động với tốc độ khoảng 20 - 1000 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Khi có sử dụng dung môi hữu cơ thì khi đưa oxygen vào phải tránh lớp dung môi hữu cơ.

Chọn điều kiện làm việc

Cần tuân theo các điều kiện thao tác chuẩn do nhà sản xuất thiết bị đưa ra. Thông thường, có các nhóm điều kiện thao tác khác nhau cho các dung dịch trong nước và dung dịch trong dung môi hữu cơ. Cần lựa chọn đúng các thông số làm việc:

- Lựa chọn các côn bằng vật liệu thích hợp (côn lấy mẫu và côn gạt lọc);
- Lựa chọn tốc độ dòng khí mang (các ống ngoài, giữa và trong của đèn);
- Lựa chọn công suất của dòng tần số radio (RF);
- Lựa chọn tốc độ bơm;
- Lựa chọn một hay nhiều đồng vị của nguyên tố cần đo.

Lựa chọn đồng vị

Có nhiều tiêu chí để lựa chọn chất đồng vị. Để đạt được độ nhạy tối đa, chọn đồng vị có mật độ cao nhất. Ngoài ra, nên chọn một đồng vị ít chịu ảnh hưởng bởi các phân tử khác trong nền mẫu và của khí mang. Trong phần mềm của nhà sản xuất thiết bị ICP-MS thường có sẵn thông tin về ảnh hưởng của các phân tử có cùng khối lượng và các ion đa nguyên tử thuộc nhiều loại khác nhau như các hydrid, các oxyd, các clorid, v.v.

Kiểm tra hiệu năng của máy

Tính phù hợp của hệ thống

Trước khi chạy mẫu, phải chỉnh máy để có thể theo dõi và điều chỉnh các phép đo. Kiểm tra độ đúng của khối, dùng một dung dịch chứa nhiều đồng vị phù hợp kín thang khối, ví dụ dung dịch có chứa ^9Be , ^{59}Co , ^{89}Y , ^{115}In , ^{140}Ce và ^{209}Bi . Ghi lại độ nhạy, độ ổn định ngắn hạn và dài hạn. Tối ưu hóa các thông số máy (điều kiện plasma, các thấu kính ion, thông số tứ cực) để thu được số lần đếm cao nhất có thể. Chính độ phân giải và trục khối (sử dụng một dung dịch Li, Y và Tl) để đạt được một đáp ứng chấp nhận được trên một dải khối rộng.

Phải đánh giá hiệu lực phân hủy các oxyd của plasma để giảm thiểu ảnh hưởng của oxyd. Tỷ số Ce/CeO và/hoặc Ba/BaO là một chỉ thị tốt và chỉ số này cần nhỏ hơn khoảng 3 %.

Giảm thiểu sự hình thành các ion hai điện tích với Ba và Ce. Tỷ số tín hiệu của các ion hai điện tích trên nguyên tố phân tích phải nhỏ hơn 2 %.

Kiểm tra độ ổn định dài hạn bằng cách chạy một dung dịch chuẩn trước và sau khi chạy một chuỗi dung dịch mẫu và kiểm tra xem muối đọng trên các côn có làm giảm tín hiệu đo trong quá trình chạy hay không.

Thẩm định phương pháp

Các phương pháp được mô tả trong các chuyên luận phải có hiệu năng đạt yêu cầu trong các kiểm tra định kỳ với khoảng cách thời gian thích hợp.

Độ tuyến tính

Chuẩn bị và chạy ít nhất 4 dung dịch chuẩn nằm trong khoảng hiệu chuẩn và một mẫu trắng. Với mỗi dung dịch làm lặp lại ít nhất 5 lần.

Đường chuẩn được tính toán bằng phương pháp hồi quy bình phương tối thiểu, dựa trên tất cả các dữ liệu thu được. Đường hồi quy, các trị giá trung bình, các dữ liệu đo, và khoảng tin cậy phải được ghi lại. Phương pháp có giá trị sử dụng khi:

- Hệ số hồi quy đạt tối thiểu là 0,99;
- Các điểm thực nghiệm thu được tại mỗi nồng độ chuẩn phải phân bố ngẫu nhiên hai bên đường chuẩn.

Tính các trị giá trung bình và độ lệch chuẩn tương đối tại mức nồng độ chuẩn thấp nhất và cao nhất.

Nếu tỷ số giữa hai độ lệch chuẩn tính được nhỏ hơn 0,5 hay lớn hơn 2,0 thì có thể tính lại theo phương pháp hồi quy tuyến tính hữu trọng (hay hồi quy tuyến tính có trọng số - weighted linear regression) để có được đường chuẩn chính xác hơn. Áp dụng cả hai hàm hữu trọng bậc 1 và bậc 2 để biết được dùng hàm nào là thích hợp nhất.

Nếu các trị giá trung bình so với đường chuẩn cho thấy có độ lệch khỏi sự tuyến tính thì phải dùng phép hồi quy tuyến tính hai chiều.

Độ đúng

Nên kiểm tra độ đúng bằng cách sử dụng chất đối chiếu có chứng chỉ (CRM). Nếu không thể làm việc đó thì tiến hành thử độ thu hồi.

Độ thu hồi

Với phép thử định lượng, cần đạt độ thu hồi 90 % đến 110 %. Khi xác định một lượng vết nguyên tố, phải đạt độ thu hồi từ 80 % đến 120 % trị giá lý thuyết. Có thể xác định độ thu hồi trên một dung dịch đối chiếu (dung dịch trong nền mẫu) có cho thêm một lượng đã biết của chất phân tích (khoảng nồng độ có phải phù hợp với mẫu đem phân tích).

Độ lặp lại

Độ lặp lại (độ lệch chuẩn tương đối) không được lớn hơn 3 % trong các phép định lượng và 5 % trong phép thử xác định tạp chất.

Giới hạn định lượng

Kiểm tra để đảm bảo rằng giới hạn định lượng nhỏ hơn giá trị cần đo (ví dụ dùng phương pháp 10 σ).

4.7 PHỔ HUỖNH QUANG TIA X

Khi nguyên tử của một nguyên tố nhận được năng lượng của một chùm tia X chiếu vào (tia X sơ cấp), nguyên tử đó có thể mất đi một electron lớp trong của nó (ví dụ lớp K) và bị ion hóa, để lại một chỗ khuyết (trong lớp K). Trong một khoảng thời gian rất ngắn sau đó, một electron lớp ngoài (có năng lượng cao hơn) có thể rơi vào chỗ khuyết ở lớp trong và phát ra một tia X khác, đó là tia X huỳnh quang.

Phổ huỳnh quang tia X là một kỹ thuật phân tích dựa trên việc đo cường độ bức xạ huỳnh quang phát ra bởi một nguyên tố có nguyên tử số từ 11 đến 92 được kích thích bởi một bức xạ tia X sơ cấp liên tục.

Cường độ huỳnh quang của một nguyên tố không chỉ phụ thuộc vào nồng độ nguyên tố đó có trong mẫu mà còn phụ thuộc vào sự hấp thụ bức xạ tới và bức xạ huỳnh quang bởi nền mẫu.

Ở mức nồng độ vết, khi đường chuẩn tuyến tính, cường độ bức xạ huỳnh quang phát ra bởi một nguyên tố trong một nền mẫu xác định, ở một bước sóng xác định, sẽ tỷ lệ thuận với nồng độ của nguyên tố đó và tỷ lệ nghịch với hệ số hấp thụ khối (*mass absorption coefficient*) của nền mẫu tại bước sóng đó.

Tiến hành

Chuẩn bị và sử dụng thiết bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các mẫu lỏng được đặt trực tiếp vào máy; mẫu rắn phải được ép thành viên trước, đôi khi mẫu rắn còn phải trộn thêm với một chất kết dính trước khi ép viên.

Để xác định được nồng độ của một nguyên tố có trong mẫu, cần đo tốc độ xung thật (net impulse rate) tạo nên bởi một hay nhiều mẫu chuẩn có hàm lượng đã biết của nguyên tố đó trong các nền mẫu xác định và tính hoặc đo hệ số hấp thụ khối của nền mẫu cần phân tích.

Hiệu chuẩn

Từ một dung dịch hay một dãy các dung dịch hiệu chuẩn của nguyên tố phân tích trong các nền mẫu khác nhau, ta có thể tính được độ dốc b_0 của đường chuẩn theo phương trình sau:

$$b_0 \frac{1}{\mu_M} = \frac{I_C^N}{C}$$

Trong đó:

μ_M là hệ số hấp thụ của nền mẫu M, đã được tính hay đo;

I_C^N là tốc độ xung thật;

C là nồng độ của nguyên tố cần định lượng trong dung dịch chuẩn.

Hệ số hấp thụ khối của nền mẫu

Nếu biết công thức phân tử của mẫu phân tích, có thể tính hệ số hấp thụ khối dựa trên thành phần nguyên tố và bảng hệ số hấp thụ khối của nguyên tố.

Nếu không biết thành phần nguyên tố, có thể đo cường độ I_U của tia X tán xạ (tán xạ Compton) và tính hệ số hấp thụ khối của nền mẫu theo μ_{MP} phương trình:

$$\frac{1}{\mu_{MP}} = a + bI_U$$

Trong đó:

μ_{MP} là hệ số hấp thụ khối của nền mẫu,

I_U là cường độ tia X tán xạ.

Xác định tốc độ xung thật của nguyên tố phân tích trong mẫu

Tính tốc độ xung thật I_{EP}^N của nguyên tố phân tích dựa trên