



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΕΙΩΝ-ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΓΕΩΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΥΚΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΠΕΤΡΟΛΟΓΙΑΣ -
ΚΟΙΤΑΣΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΓΕΩΧΗΜΙΚΩΝ &
ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΥΠΟΓΡΑΦΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ
ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΜΑΖΑΣ TOF-SIMS.**

Διπλωματική Εργασία

Τσάκωνας Νικόλαος

Επίβλεψη: Δρ. Η. Χατζηθεοδωρίδης

ΑΘΗΝΑ

Σεπτέμβριος 2014

Πίνακας περιεχομένων

Πίνακας περιεχομένων.....	i
Εικόνες.....	v
Πρόλογος	ix
Περίληψη	x
Abstract.....	xii
1. Εισαγωγή	1
2. Βασικές αρχές της τεχνικής Φασματομετρίας Μάζας Δευτερογενών Ιόντων (SIMS). 1	
2.1. Εισαγωγή.....	2
2.2. Ιστορικά στοιχεία	5
2.3. Δευτερογενή ιόντα.....	6
2.3.1. Διαδικασία Sputtering	6
2.3.2. Ιονισμός δευτερογενών ιόντων	8
2.3.3. Απόδοση Sputtering	10
2.3.4. Εκπομπή ηλεκτρονίων & φωτονίων μετά από βομβαρδισμό ιόντων.....	11
2.3.5. Κατανομή ενεργειών των δευτερογενών ιόντων.....	12
2.4. Διαχωρισμός των δευτερογενών ιόντων	13
2.4.1. Στατική και δυναμική SIMS.....	13

2.5. Εξουδετέρωση φορτίου (Charge Compensation).....	15
2.6. Παρεμβολές μάζας (Mass Interferences)	16
2.6.1. Ισοβαρικές παρεμβολές από ισότοπα.....	17
2.6.2. Υδρίδια	18
2.6.3. Οξειδία και υδροξείδια.....	18
2.6.4. Υδρογονάνθρακες.....	19
3. Time-of-flight (ToF) SIMS.....	20
3.1. Εισαγωγή	20
3.2. Τεχνική ToF-SIMS.....	21
3.3. Βασική αρχή λειτουργίας της τεχνικής ToF-SIMS.....	23
3.3.1. Πρωτογενείς πηγές ιόντων	25
3.3.2. Προβλήματα κατά το Sputtering στην ToF-SIMS.....	26
3.4. Οργανολογία ToF-SIMS	26
3.4.1. Περιγραφή οργάνου ToF-SIMS	27
3.4.2. Λειτουργία του οργάνου ToF-SIMS	32
3.5. Ποσοτικοποίηση.....	34
3.5.1. Γραμμικότητα του ανιχνευτή	35
3.5.2. Κλασμάτωση κατά μάζα	36
3.6. Ανάλυση Στοιχείων	37
3.6.1. Υδρογόνο.....	37
3.6.2. Άνθρακας.....	38

3.6.3. Οξυγόνο.....	39
3.6.4. Πυρίτιο	39
3.6.5. Γάλλιο.....	39
3.7. Ευαισθησία SIMS.....	39
3.8. Ανάλυση ισοτόπων.....	40
3.9. Οργανικά μόρια	43
3.10. Επεξεργασία δεδομένων.....	43
4. Βιοϋπογραφές (Biosignatures).....	44
4.1. Εισαγωγή.....	44
4.2. Βιοϋπογραφές.....	45
4.2.1. Μορφολογικές βιοϋπογραφές.....	45
4.2.2. Μοριακές βιοϋπογραφές/ Βιοδείκτες (Biomarkers).....	46
4.2.3. Υπογραφές σταθερών ισοτόπων.....	47
4.2.4. Βιο-ορυκτά	47
4.2.5. Βιοϋπογραφές από ιχνοστοιχεία και σπάνιες γαίες (Trace and rare earth elements – TREE).....	48
5. Σφάλματα.....	49
5.1. Εισαγωγή.....	49
5.2. Αναλυτική ακρίβεια.....	50
5.2.1. Τυπική απόκλιση (Standard deviation)	50
5.2.2. Σχετική τυπική απόκλιση	51
5.2.3. Τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής (Standard error of the mean).....	51

5.2.4. Στατιστική μετρήσεων και προβλεπόμενη προσέγγιση ισοτοπικών αναλογιών SIMS	52
6. Περιγραφή του λογισμικού spaceTOF	56
6.1. Εισαγωγή	56
6.2. Περιγραφή και δυνατότητες του λογισμικού	58
6.3. Παράδειγμα επεξεργασίας του φάσματος ζirkονίου.....	66
7. Περιγραφή Δειγμάτων	68
7.1. Tetracene	68
7.2. Αιματίτης.....	70
8. Ερμηνεία Φασμάτων Δειγμάτων.....	74
8.1. Φάσμα Tetracene- C18 H12	77
8.2. Φάσμα Αιματίτη	80
Συμπεράσματα	83
Βιβλιογραφία	86
Παραρτήματα.....	101
Παράρτημα 1 Abstract EANA 2014.....	101
Παράρτημα 2 Poster EANA 2014.....	104
Παράρτημα 3 Βάση Δεδομένων.....	105

Εικόνες

- Εικόνα 1. Η θεωρία της δευτερογενούς φασματομετρίας μάζας: Στην επιφάνεια του δείγματος, ένα πλούσιο ενεργειακά πρωτογενές ιόν παράγει δευτερογενή ιόντα, τα οποία διαχωρίζονται και ανιχνεύονται εντός του ανιχνευτή μάζας.[6].....2
- Εικόνα 2. Επιλεγμένες εικόνες δευτερογενών ιόντων ενός κέρματος των 2 ευρώ (mc: ο αριθμός των δευτερογενών ιόντων στο φωτεινότερο εικονοστοιχείο ; tc: η συνολική καταμέτρηση ανιχνευμένων δευτερογενών ιόντων).Η ανιχνευμένη πολυσιλοξάνη (polysiloxane) είναι ένα συστατικό από λοσιόν χειρών, μεταξύ άλλων.[1].....4
- Εικόνα 3. Δέντρο πρόσκρουσης και εξέλιξη σύγκρουσης πρωτογενών ιόντων στην SIMS.....7
- Εικόνα 4. Σχηματικό διάγραμμα βομβαρδισμού της επιφάνειας του δείγματος με δέσμη θετικών πρωτογενών ιόντων.8
- Εικόνα 5. Βομβαρδισμός με πρωτογενή δέσμη ιόντων (primary ion beam). Παρατηρείται το βάθος δειγματοληψίας (sampling depth ~1nm) καθώς και το βάθος διείσδυσης (penetration depth ~10nm).8
- Εικόνα 6. Το δυναμικό ιονισμού συναρτήσει του λογαρίθμου της σχετικής απόδοσης δευτερογενών (θετικών) ιόντων αναπαριστώνται με μία σχεδόν γραμμική σχέση. Το φθόριο (αρνητικό ιόν) παρεκκλίνει της γραμμικής σχέσης.[7]....18
- Εικόνα 7. Η ηλεκτρονική συγγένεια συναρτήσει του λογαρίθμου της απόδοσης δευτερογενών (αρνητικών) ιόντων.[7].....10
- Εικόνα 8. Παράδειγμα παρεμβολής του υδριδίου του μαγνησίου $^{25}\text{Mg}^1\text{H}$ σε ισότοπο ^{26}Mg του μαγνησίου. Σε μεγαλύτερη απόσταση από την κορυφή του ^{26}Mg βρίσκεται κορυφή μοριακής παρεμβολής θραύσματος υδρογονάνθρακα, ωστόσο πλήρως διαχωρισμένου.16

Εικόνα 9. Παράδειγμα μοριακών παρεμβολών από οξείδια και υδροξείδια των ισοτόπων του ζιρκονίου.	18
Εικόνα 10. Παράδειγμα φάσματος από δείγμα πλούσιο σε οργανικό υλικό. Οι ομάδες κορυφών είναι υδρογονάνθρακες διαφορετικού μήκους αλυσίδας και διαφορετικού αριθμού υδρογόνων.	19
Εικόνα 11. Διάγραμμα που δείχνει τις αναλυτικές ικανότητες των μεθόδων Dynamic SIMS και ToF-SIMS, οι οποίες υπερτερούν κατά πολύ σε σχέση με άλλες μεθόδους ανάλυσης από άποψη ευαισθησίας και χωρικής διακριτικής ικανότητας.....	22
Εικόνα 12. Σχηματική άποψη ενός οργάνου ToF-SIMS.[6].....	27
Εικόνα 13. Σχηματική άποψη του οργάνου IDLE 1. [22].....	33
Εικόνα 14. Το όργανο IDLE 2.[22].....	33
Εικόνα 15. Λεπτομέρεια του οργάνου IDLE 2.[22].....	38
Εικόνα 16. Σχηματικό χρονοδιάγραμμα με ‘κανονικά εξαγωγή’ (normal extraction) δευτερογενών ιόντων. Η διαδρομή των δευτερογενών ιόντων μέχρι τον συλλέκτη είναι περίπου 100μs, μετά ο κύκλος επαναλαμβάνεται.[59].....	33
Εικόνα 17. Σχηματικό χρονοδιάγραμμα με ‘καθυστερημένη εξαγωγή’ (delayed extraction) δευτερογενών ιόντων. Η διαδρομή των δευτερογενών ιόντων μέχρι τον συλλέκτη είναι περίπου 100μs, μετά ο κύκλος επαναλαμβάνεται.[59].....	33
Εικόνα 18. Τα δύο σταθερά ισότοπα του άνθρακα και η παρεμβολή στον ^{13}C	38
Εικόνα 19. α) και β) Διαχωρισμός εμβადών στα 25 amu με συμβατική μέθοδο deconvolution που βασίζεται σε γκαουσιανές κορυφές (α) και η σύγκριση του ^{25}Mg (κορυφή μοντέλο) με το ^{24}Mg (β).....	42
Εικόνα 20. Αρχικό παράθυρο προγράμματος spaceTOF με απεικόνιση του αιματίτη της Μήλου.	57
Εικόνα 21. Φάσμα αιματίτη.....	58

Εικόνα 22. Περιοχή φάσματος από 145 μέχρι 155 amu.....	59
Εικόνα 23. Ατομική (αριστερά) και μοριακή (δεξιά) βαθμονόμηση μάζας.....	63
Εικόνα 24. Η κορυφή του ^{40}Ca σύμφωνα με την οποία έγινε η βαθμονόμηση.....	64
Εικόνα 25. Η κορυφή του ^{197}Au σύμφωνα με την οποία έγινε η βαθμονόμηση.....	67
Εικόνα 26. Βάση δεδομένων όπου γίνεται ομαδοποίηση ιόντων.....	63
Εικόνα 27. Ιοντικοί χάρτες των $^{12}\text{C}_2$ $^1\text{H}_3$ και $^{12}\text{C}_{18}$ $^1\text{H}_{12}$	64
Εικόνα 28. Οι 4 επιλεγμένες κορυφές κατά την διάρκεια της τεχνικής του deconvolution.....	65
Εικόνα 29. Οι 4 επιλεγμένες κορυφές μετά την ολοκλήρωση της τεχνικής του deconvolution.....	65
Εικόνα 30. Περιοχή του φάσματος όπου φαίνονται όλα τα ισότοπα του ζirkονίου. Διακρίνονται τα ^{94}Zr και ^{96}Zr χωρίς παρεμβολές και επομένως στην κορυφή του ισοτόπου με τη μεγαλύτερη αναλογία στη φύση, του ^{90}Zr , φαίνεται πως παρεμβάλλεται κάποιο άλλο ιόν.....	67
Εικόνα 31. Συντακτικός τύπος Tetracene[69].....	68
Εικόνα 32. Τα πρώτα 7 μέλη των Acenes με βάση τον αριθμό των δακτυλίων βενζολίου.....	68
Εικόνα 33. Σκόνη κρυστάλλων Tetracene.....	69
Εικόνα 34. Η Νήσος Μήλος στην Ελλάδα, το ακρωτήριο Βάνι στον χάρτη της Μήλου & φωτογραφία από μεταλλεία μαγγανίου στο Βάνι.(από Google maps).....	70
Εικόνα 35. Μωσαϊκό εικόνων από το Mars Exploration Rover Microscopic Imager απεικονίζει Σφαιρίδια Αιματίτη (Hematite Spherules) ή “Berries” μερικώς ενσωματωμένα στο πέτρωμα στο σημείο προσεδάφισης του Opportunity (2003). Η εικόνα δείχνει μια περιοχή 5cm σε πλάτος.[53].....	71

Εικόνα 36. Αριστερά: Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου από στιλπνή τομή του αιματίτη από το Βάνι Μήλου που δείχνει έντονη μορφολογία βιογενούς προέλευσης. Δεξιά: εικόνα δευτερογενών ηλεκτρονίων από τον ίδιο αιματίτη που παράχθηκε με το όργανο ToF-SIMS.	72
Εικόνα 37. Εικόνες SEM από βακτηριακές αποικίες , απολιθωμένων με αιματίτη (Βάνι, Μήλος)	72
Εικόνα 38. Φάσμα Raman του αιματίτη από το Βάνι, Μήλου.	73
Εικόνα 39. Φάσμα του δείγματος Tetracene..	77
Εικόνα 40. Βάση δεδομένων όπου γίνεται ομαδοποίηση ιόντων	78
Εικόνα 41. Διάγραμμα μαζών και ονοματολογία υδρογονανθράκων με ζυγό (κίτρινη γραμμή) και μονό (άσπρη γραμμή) αριθμό ατόμων άνθρακα. Οι ιοντικοί χάρτες δείχνουν την διαφοροποίηση μεταξύ υδρογονανθράκων που προκύπτουν από δύο διαφορετικές πηγές (π.χ. μόλυνση περιβάλλοντος για τις χαμηλές μάζες, και tetracene για τις υψηλές μάζες π.χ. στη θέση 18-12). Το ένθετο διάγραμμα είναι μεγέθυνση του φάσματος στην θέση μαζών που εμφανίζεται η ουσία tetracene.	79
Εικόνα 42. Φάσμα του δείγματος Αιματίτη.....	80
Εικόνα 43. Διάγραμμα μαζών και ονοματολογία υδρογονανθράκων με ζυγό (κίτρινη γραμμή) και μονό (άσπρη γραμμή) αριθμό ατόμων άνθρακα. Οι ιοντικοί χάρτες δείχνουν ότι δεν υπάρχει διαφοροποίηση μεταξύ των δύο ομάδων υδρογονανθράκων, άρα προέρχονται από την ίδια πηγή.	82

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία με τίτλο «ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΓΕΩΧΗΜΙΚΩΝ & ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΥΠΟΓΡΑΦΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΜΑΖΑΣ TOF-SIMS» εκπονήθηκε στη Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων – Μεταλλουργών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά την περίοδο Φεβρουαρίου του 2014 έως και τον Σεπτέμβριο του 2014. Η ανάπτυξη μεθοδολογιών της εργασίας πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια φασμάτων ToF-SIMS, που αποκτήθηκαν με τα αντίστοιχα όργανα ToF-SIMS του πανεπιστημίου του Μάντσεστερ στο Ηνωμένο Βασίλειο, και ειδικότερα από την *Ομάδα Ισοτοπικής Γεωχημείας και Κοσμοχημείας της Σχολής Επιστημών της Γης, της Ατμόσφαιρας και του Περιβάλλοντος*. Απαραίτητο για την ερμηνεία των φασμάτων υπήρξε το λογισμικό spaceTOF που δημιουργήθηκε και αναπτύχθηκε από τον καθηγητή της σχολής Δρ. Χατζηθεοδωρίδη Ηλία, στο εργαστήριό του. Από την συγκεκριμένη διπλωματική εργασία παρουσιάστηκε Abstract και Poster στο συνέδριο EANA 2014 (14th European Astrobiology Conference) τον Οκτώβριο 2014 στο Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου στο Ηνωμένο Βασίλειο, τα οποία επισυνάπτονται στα παραρτήματα.

Θα ήθελα να απευθύνω θερμές ευχαριστίες στον επιβλέποντα της διπλωματικής εργασίας, καθηγητή της σχολής των Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών του Ε.Μ.Π, Δρ. Χατζηθεοδωρίδη Ηλία, για την άριστη συνεργασία μας, την αδιάλειπτη ενημέρωση που μου προσέφερε σε όλα τα στάδια ανάπτυξης της διπλωματικής εργασίας, την νουθέτηση του με πολύτιμες συμβουλές και την αμετάκλητη συντέλεσή του στην ολοκλήρωσή της.

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2014

Περίληψη

Η διπλωματική εργασία έχει ως αντικείμενο την ανάπτυξη βάσης δεδομένων γεωχημικών υπογραφών και βιοϋπογραφών, με σκοπό η ερμηνεία των φασμάτων μάζας να ολοκληρώνεται με μεγαλύτερη ακρίβεια, ευκολία, ταχύτητα και με ποιο σωστό τρόπο. Η ανάπτυξη αυτής της βάσης δεδομένων πραγματοποιήθηκε κυρίως με το λογισμικό *spaceTOF*, το οποίο αναπτύχθηκε στη σχολή Μηχανικών Μεταλλείων Μεταλλουργών από τον επιβλέποντα καθηγητή δρ. Χατζηθεοδωρίδη Ηλία.

Η εργασία βασίζεται στη μέθοδο ToF-SIMS, μία τεχνική πολύ ευαίσθητη και καταστρεπτική σε νανοκλίμακα, στην οποία ο διαχωρισμός των δευτερογενών ιόντων, γίνεται βάσει του διαφορετικού χρόνου πτήσης τους.

Τα φάσματα που επεξεργάστηκαν, προήλθαν από τα όργανα ToF-SIMS IDLE1 και IDLE2 με χρήση δύο πρωτογενών δεσμών, C₆₀ Fullerenes και χρυσού. Με το λογισμικό *BioTOF* έγινε η απόκτηση και καταγραφή των φασμάτων ενώ η επεξεργασία τους με το λογισμικό *spaceTOF*.

Το λογισμικό *spaceTOF* ήταν απαραίτητο για την ερμηνεία των φασμάτων. Βασικές δυνατότητές του υπήρξαν οι τεχνικές ακριβούς επιλογής κορυφής με άμεση δυνατότητα υπολογισμού των εμβαδών αυτής, αλλά και παραπλήσιων, παρεμβαλλόμενων κορυφών που αντιστοιχούν σε ιόντα διαφορετικής μάζας, η εξαγωγή ιοντικών χαρτών και οι αριθμητικές πράξεις μεταξύ αυτών, η εύκολη διαχείριση της βάσης δεδομένων ατομικών και μοριακών ιόντων, καθώς και εργαλεία υπολογισμού μάζας από ένα σύνολο πιθανών ιόντων. Στο λογισμικό αυτό αναπτύχθηκαν νέα εργαλεία, όπως η διερεύνηση ομάδων ομοειδών ιόντων με ταυτόχρονη εξαγωγή διαγραμμάτων περιεκτικότητας που παράγονται με βάση τα σχετικά τους ύψη ή το εμβαδόν των κορυφών, και η αποτελεσματική βαθμονόμηση του άξονα μάζας ταυτοχρόνως με την διαφορετική βαθμονόμηση για τα ατομικά και τα μοριακά ιόντα αντίστοιχα.

Έγινε διερεύνηση συστηματικών μοτίβων σε συνήθεις παρεμβολές κατά μάζα θραυσμάτων οργανικών ενώσεων που είτε επιμολύνουν τα δείγματα, συνήθως υδρογονάνθρακες από το ατμοσφαιρικό περιβάλλον (π.χ. όταν ένας μετεωρίτης εισέρχεται στην ατμόσφαιρα της γης), είτε αναγνωρίζονται σαν βιοϋπογραφές με άμεσο ενδιαφέρον στην έρευνα της επίδρασης της ζωής σε ανόργανες διαδικασίες αλλά και της πιθανής ύπαρξης ζωής σε εξωγήινα υλικά, όπως οι μετεωρίτες.

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ένας συνθετικός πολυκυκλικός αρωματικός υδρογονάνθρακας (tetracene, PAH) , και ένα φυσικό δείγμα αιματίτη από παράλιου κροκαλοπαγούς Τεταρτογενούς ηλικίας από την ευρύτερη περιοχή του ακρωτηρίου Βάνι, στη ΒΔ Μήλο, το οποίο έχει απολιθώσει μικροοργανισμούς.

Η μελέτη των μοτίβων θραυσμάτων υδρογονανθράκων έδωσε αποτελέσματα που ενισχύουν την χρήση τους για χημικές ή βιολογικές υπογραφές. Στο μέλλον, η αυτοματοποίηση αυτών των μεθοδολογιών μπορεί να προχωρήσει, αν όχι στην αυτόνομη από τον υπολογιστή ερμηνεία των φασμάτων, τουλάχιστον στη σημαντική υποβοήθηση των χρηστών κατά την εργασία τους.

Abstract

The subject of this project is the development of a data base of geochemical signatures and biosignatures, in order to interpret mass spectra more easily and precisely and in the desired way. The development of these data bases was based on the *spaceTOF* software, which was developed at the School of Mining and Metallurgical Engineering by Professor Elias Chatzitheodoridis.

This project is based on the ToF-SIMS technique, which is a very sensitive technique and is considered to be destructive in nanoscale. The separation of the secondary ions by mass is based on the different time of flight in the spectrometer.

The elaborated mass spectra came from ToF-SIMS instruments IDLE1 and IDLE2 which used a primary ion beam of C₆₀ Fullerenes species and gold respectively. The acquisition of the mass spectra was made with the use of the *BioTOF* software, while for the handling of the mass spectra the *spaceTOF* software was used.

SpaceTOF software was necessary for the interpretation of the mass spectra. Its strong points are the precise peak selection techniques, which are combined with easy peak deconvolution tools, the extraction of ion maps and the equation parser for full arithmetic operations between them, the easy handling of the molecular and atomic ion data base and the mass calculating tools. Further software routines have been recently developed, which implement methodologies that allow the investigation of groups of peaks and their relative height. Separate mass calibration for atomic and molecular ions was created.

Then were investigated systematic patterns in usual interferences by mass, of fragments of organic compounds that are either contaminants in samples, usually hydrocarbons from the atmospheric environment (eg meteorites during entry into the earth's atmosphere), or identification of biosignatures of immediate concern in the investigation of the effect of life in inorganic processes, but also the possible existence of life on extraterrestrial materials such as meteorites.

The samples used, were a synthetic polycyclic aromatic hydrocarbon (Tetracene, PAH), and a natural sample of hematite of shore conglomerate Quaternary age from the wider region of Cape Vani, in NW Milos Island, which has petrified microorganisms.

The study of hydrocarbon fragments patterns gave results that enhance the use of chemical or biological signatures. In the future, the automation of these methodologies may proceed if not in autonomous from the computer interpretation of the spectra, at least in substantial assisting of users at their work.

1. Εισαγωγή

Η μέθοδος TOF-SIMS και SIMS (φασματομετρία μάζας δευτερογενών ιόντων) κατέχει εδώ και κάποια χρόνια το state-of-the-art στην ανάλυση και χαρακτηρισμό υλικών σε νανοκλίμακα. Η διακριτική ικανότητα κατά μάζα είναι εξαιρετικά μεγάλη οπότε είναι δυνατή η διάκριση ακόμη και των ισοτόπων των στοιχείων αλλά και μικρών διαφορών στην μάζα μοριακών ιόντων. Η ευαισθησία επίσης της μεθόδου είναι από τις μεγαλύτερες για αναλυτικά συστήματα, αγγίζοντας το φυσικό όριο ανιχνευσιμότητας των στοιχείων. Το δυναμικό εύρος των μαζών ξεκινάει από την μάζα του υδρογόνου και καταλήγει σε μερικές εκατοντάδες ή και χιλιάδες μονάδες μάζας (amu ή Dalton). Ιδιαίτερα χρήσιμη είναι και η δυνατότητα σάρωσης επιφανειών και χρήσης του, σαν μικροσκόπιο με ανάλυση που αγγίζει τα 50nm (νάνο-ανάλυση). Ωστόσο ακόμη πολύ δύσκολη είναι η ερμηνεία των φασμάτων μάζας που προκύπτουν, ιδιαίτερα από την μέθοδο TOF-SIMS, λόγω των πολλών διαφορετικών μαζών που διακρίνονται σε κάθε μονάδα μάζας (5 ή περισσότερες κορυφές).

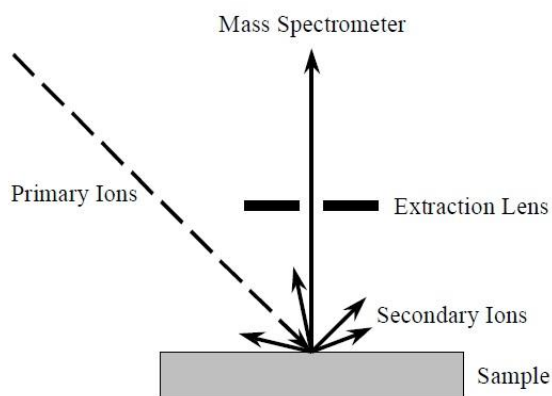
Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τα όργανα ToF-SIMS IDLE1 και IDLE2 για την παραγωγή των φασμάτων με δύο πρωτογενείς δέσμες, C₆₀ Fullerenes και χρυσού. Με το λογισμικό *BioTOF* έγινε η μέτρηση των φασμάτων και με το λογισμικό *spaceTOF* η επεξεργασία τους. Το λογισμικό *spaceTOF* εξελίχθηκε και αναπτύχθηκε από τον δρ. Χατζηθεοδωρίδη και ομάδες εργασίας του. Η ανάπτυξη μεθοδολογιών για την πιο εύκολη και γρήγορη ερμηνεία των φασμάτων βασίστηκε σε δείγμα αιματίτη το οποίο προήλθε από τη συλλογή μας και Tetracene μέσω της ομάδας του Πανεπιστημίου του Manchester.

2. Βασικές αρχές της τεχνικής Φασματομετρίας Μάζας Δευτερογενών Ιόντων (SIMS)

2.1. Εισαγωγή

Η Φασματομετρία Μάζας Δευτερογενών Ιόντων (Secondary Ion Mass Spectrometry, SIMS) είναι μία εξαιρετικά ευαίσθητη τεχνική ανάλυσης (ανίχνευση σωματιδίων σε περιεκτικότητες της τάξης των ppb) της σύστασης στερεών επιφανειών και ατομικών μονοεπιπέδων (monolayer), που απαιτεί πολύ υψηλό κενό (ultra-high vacuum, UHV).

Η τεχνική SIMS χρησιμοποιείται σε πολλές εφαρμογές στην επιστήμη των υλικών και πιο συγκεκριμένα στην επιστήμη των επιφανειών και της κατάλυσης. Η επιφάνεια που μελετάται βομβαρδίζεται με μία πρωτογενή δέσμη ιόντων υψηλής ενέργειας (1-30 keV) (Εικόνα 1). Η ενέργεια της δέσμης μεταφέρεται μέσω συγκρούσεων (στην περιοχή γύρω από την επιφάνεια) τόσο ανάμεσα στα πρωτογενή ιόντα και στα άτομα του δείγματος, όσο και στα άτομα του δείγματος μεταξύ τους. Με αυτές τις συγκρούσεις μία μικρή ποσότητα ενέργειας επιστρέφει στην επιφάνεια και γίνεται εκπομπή ηλεκτρονίων, νετρονίων και δευτερογενών ιόντων (sputtering) σε ποσοστό 1% περίπου. Επιπροσθέτως, τα ιονισμένα σωματίδια που εκπέμπονται από την επιφάνεια του δείγματος, λαμβάνονται από κατάλληλη διάταξη και αναλύονται ανάλογα με τη μάζα και το φορτίο τους.[1,2]



Εικόνα 1. Η θεωρία της δευτερογενούς φασματομετρίας μάζας: Στην επιφάνεια του δείγματος, ένα πλούσιο ενεργειακά πρωτογενές ιόν παράγει δευτερογενή ιόντα, τα οποία διαχωρίζονται και ανιχνεύονται εντός του ανιχνευτή μάζας.[6]

Από την SIMS ως τεχνική χαρακτηρισμού, προκύπτουν πληροφορίες με ποικίλους τρόπους:

1. Μονά ιόντα φανερώνουν εμφανώς την παρουσία συγκεκριμένων στοιχείων στο δείγμα.

2. Μοριακά ιόντα όπως τα MoO^+ ή RhCl^- σηματοδοτούν και προσδιορίζουν ποιά στοιχεία μπορεί να είναι σε επαφή στον καταλύτη.

3. Χαρακτηριστικές μορφές κερματισμού (fragmentation patterns) αποκαλύπτουν μερικές φορές ενδείξεις για τον τύπο της συγκεκριμένης ένωσης (για παράδειγμα, MoO_3 δίνει ένα πολύ συγκεκριμένο μοτίβο από Mo^- , MoO^- , MoO_2^- , MoO_3^- και MoO_4^- ιόντα).

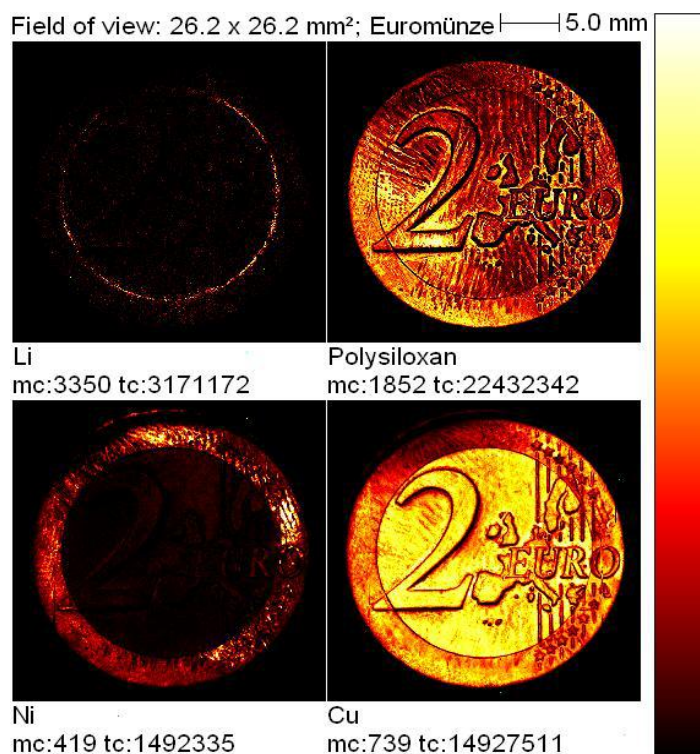
4. Κατάλληλα επιλεγμένες αναλογίες - ποσοστά έντασης, μπορούν μετά από προσεκτική βαθμονόμηση (calibration), να χρησιμοποιηθούν για να ληφθούν (ημι)ποσοτικές (quantitative) πληροφορίες (για παράδειγμα, για υδρογόνο προσροφημένο σε νικέλιο, ο λόγος $\text{Ni}_2\text{H}^+ / \text{Ni}^+$ συσχετίζεται καλά με την κάλυψη του υδρογόνου). [2]

Από την ανάλυση SIMS δεν προκύπτουν εγγενώς ποσοτικά δεδομένα, γιατί η ένταση των δευτερογενών ιόντων που έχουν ανιχνευθεί, επηρεάζεται από τη χημική σύσταση της περιβάλλουσας ύλης μήτρας (SIMS matrix effect). Παρόλα αυτά, με τη ισοδυναμία ενός δείγματος με δείγμα αναφοράς παρόμοιου χημισμού, είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί ποσοτική ανάλυση. Πλέον κλιμακώνονται νέα μοντέλα που θεμελιώνονται στην ενέργεια πρώτου ιονισμού των στοιχείων και απλοποιούν τη διαδικασία αυτή [1].

Η τοπική μοριακή δομή οδηγείτε σε αναδιαμορφώσεις από τον βομβαρδισμό του δείγματος με πρωτογενή ιόντα. Έτσι, μόνο λίγα πρωτογενή ιόντα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της αρχικής σύστασης της επιφάνειας. Τα λαμβανόμενα φάσματα περιλαμβάνουν καταγραφές των εντάσεων συναρτήσεως της μάζας των δευτερογενών ιόντων και απεικονίζουν τη μέση σύσταση της υπό εξέταση περιοχής [1].

Σαρώνοντας την περιοχή ανά εικονοστοιχείο (pixel by pixel) με μία επικεντρωμένη πρωτογενή δέσμη ιόντων, η χημική κατανομή μπορεί να καταγραφεί σαν εικόνα. (εικόνα 2) Η ένταση σε κάθε εικονοστοιχείο αναλογεί σε μία τιμή χρώματος, που οδηγεί στην διάγνωση των μαζών των εικόνων. Το μέγεθος της

επιφάνειας που αναλύεται μπορεί να είναι από 20x20 μm^2 μέχρι 9x9 cm^2 . Κατά την συνήθη λειτουργία μπορεί να επιτευχθεί διάμετρος πρωτογενούς ιόντος περίπου 300 nm. [1]



Εικόνα 2. Επιλεγμένες εικόνες δευτερογενών ιόντων ενός κέρματος των 2 ευρώ (mc: ο αριθμός των δευτερογενών ιόντων στο φωτεινότερο εικονοστοιχείο ; tc: η συνολική καταμέτρηση ανιχνευμένων δευτερογενών ιόντων). Η ανιχνευμένη πολυσιλοξάνη (polysiloxane) είναι ένα συστατικό από λοσιόν χειριών, μεταξύ άλλων. [1]

Κατά κύριο λόγο η τεχνική SIMS έχει την δυνατότητα να παρέχει πληροφορίες για τη σύσταση του δείγματος συναρτήσει των προφίλ βάθους ή συναρτήσει της θέσης σε χημικούς χάρτες. Επίσης, η δυναμική SIMS (dynamic SIMS) έχει τη ικανότητα να παράγει ποιοτικές και ποσοτικές αναλύσεις αλλά και μετρήσεις ισοτοπικών αναλογιών με μεγάλη ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Ενώ η τεχνική TOF-SIMS παράγει πληροφορίες για όλο το εύρος των μαζών σε ελάχιστο χρόνο, δεν μπορεί να αποδώσει ακόμη ποσοτικές ή ισοτοπικές αναλύσεις ακριβείας, έτσι είναι ένας από τους λόγους που δεν εφαρμόζεται καθιερωμένα (όπως για παράδειγμα η ηλεκτρονική μικροσκοπία). Ακόμα, οι αρχές της φυσικής σχετικά με τα δευτερογενή ιόντα δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως, ώστε να προβλέπεται η ποσοτική σύσταση βάσει κάποιων μοντέλων, καθώς επίσης, η πολυπλοκότητα και το μεγάλο κόστος των αναλυτικών μηχανημάτων, συντελούν κάποιους επιπλέον λόγους. [2]

Τα περισσότερα όργανα SIMS χρησιμοποιούν τετραπολικά φασματοόμετρα μάζας, με πλεονέκτημα το χαμηλό κόστος. Εντούτοις για υψηλότερη ευαισθησία, γίνεται χρήση φασματοόμετρων μάζας χρόνου πτήσης ιόντων, ή ToF (Time-of-Flight) mass spectrometers ή μαγνητικών συσκευών (magnetic sector mass spectrometers). Με τα παραπάνω όργανα μπορεί να γίνει διαχωρισμός μαζών που βρίσκονται αρκετά κοντά η μία στην άλλη, [όπως για παράδειγμα το ^{17}O (16.999) με το ^{16}OH (17.003)], διαχωρισμός μη εφικτός με ένα τετραπολικό όργανο. [2]

2.2. Ιστορικά στοιχεία

Η Φασματομετρία Μάζας Δευτερογενών Ιόντων (SIMS) βασίστηκε στα πειράματα σε σωλήνα πολύ υψηλού κενού του J.J. Thomson (1910) ο οποίος μετά από βομβαρδισμό με δέσμη ιόντων παρατήρησε την απελευθέρωση θετικών ιόντων και ουδέτερων ατόμων από την επιφάνεια ενός στερεού [4,5].

Οι Herzog και Viehböck (1949), βελτίωσαν την τεχνολογία του σωλήνα υψηλού κενού, με τα πρώτα όργανα SIMS. Στις αρχές της δεκαετίας του '60 δύο αναλυτικά όργανα SIMS αναπτύχθηκαν ανεξάρτητα. Αφ ενός ένα αμερικανικό σχέδιο, με επικεφαλής τους Liebel και Herzog, το οποίο επιχορηγούσε η NASA, για την ανάλυση πετρωμάτων από το φεγγάρι, και αφ ετέρου στο Πανεπιστήμιο Paris-Sud από τον R. Castaing στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής του G. Slodzian. Αυτά τα πρώτα όργανα βασίστηκαν σε μαγνητικούς αναλυτές διπλής εστίασης, χρησιμοποιώντας αργό (Ar) ως πρωτογενή δέσμη ιόντων. Στη δεκαετία του '70, οι K. Wittmack και C. Magee ανέπτυξαν όργανα SIMS εξοπλισμένα με τετραπολικό αναλυτή μάζας, που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση χωρικών και ισοτοπικών κατανομών όλων των στοιχείων από το υδρογόνο μέχρι το ουράνιο, τα οποία ενυπήρχαν σε δείγματα σεληνιακών πετρωμάτων. Αυτή η τρισεδιάστατη μεθοδολογία ανάλυσης (προφίλ βάθους) αναπτύχθηκε για απαιτήσεις ημιαγωγών και μικροηλεκτρονικών, γνωστή ως δυναμική SIMS, στην οποία η υπό εξέταση επιφάνεια είναι σταθερά μεταβαλλόμενη [4,5].

Το 1969 ο Benninghoven με τη μέθοδο της στατικής τεχνικής SIMS, αναλύει ένα μόνο επίπεδο όπου προκλήθηκε αμελητέα βλάβη στην επιφάνεια του δείγματος. Τεχνική αρκετά ισχυρή στη μελέτη οργανικών μορίων στις επιφάνειες [4,5].

Η τεχνική της Φασματομετρίας Μάζας Δευτερογενών Ιόντων (SIMS) έγινε σημαντικό εργαλείο στην γεωχημεία και την κοσμοχημεία. Όργανα με υψηλές αναλύσεις μάζας όπως το “Cameca IMS 3F” και το “SHRIMP” (sensitive high mass resolution ion microprobe) εισήγαγαν το SIMS σε διάφορους επιστημονικούς κλάδους κατά την δεκαετία του 1980. Και έχει χρήση στην ανάλυση στοιχείων σπανίων γαιών σε διάφορα δείγματα μέχρι την μέτρηση ισοτόπων σε μετεωρίτες, κοσμική σκόνη, προηλιακούς (presolar) κόκκους καθώς επίσης γήινα και σεληνιακά ορυκτά. Οι εξελίξεις των τεχνικών των συμβατικών οργάνων SIMS κατά τα τελευταία χρόνια οδήγησαν σε αυξημένες ευαισθησίες σε υψηλές αναλύσεις μάζας και υψηλές χωρικές αναλύσεις (spatial resolution). Με την εξέλιξη των “Cameca IMS 1270”, βελτιστοποιημένο για υψηλές αναλύσεις μάζας σε υψηλές εκπομπές, και “Cameca Nanosims 50” με εγκάρσια ανάλυση 50 nm [6]. Τέλος, από τις αρχές της δεκαετίας του 1990, έχει παρουσιαστεί επίσης το time-of-flight (ToF) SIMS στην ανάλυση εξωγήινων δειγμάτων. [6]

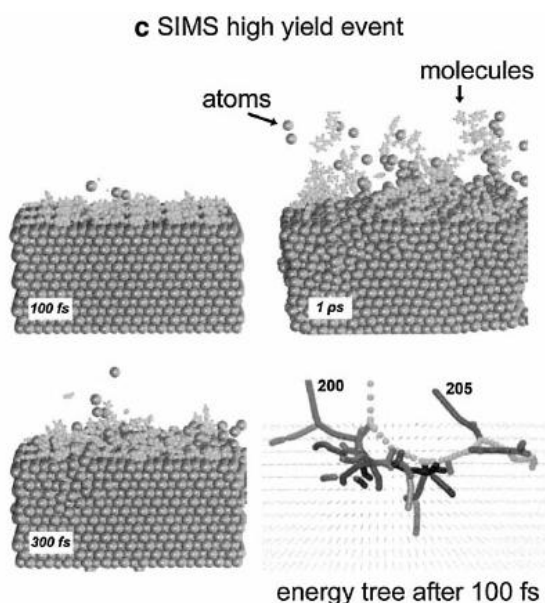
2.3. Δευτερογενή ιόντα

2.3.1. Διαδικασία Sputtering

Η επιφάνεια του υπό εξέταση υλικού βομβαρδίζεται με μία πρωτογενή δέσμη ιόντων. Οι πρωτογενείς δέσμες ιόντων που χρησιμοποιούνται, αποτελούνται από ιόντα με υψηλές ενέργειες από 1 έως 30 keV όπως για παράδειγμα τα ιόντα Cs^+ , Ga^+ , Bi^+ , Ar^+ , Au^+ , O^- . Ο βομβαρδισμός γίνεται με θετικά ή με αρνητικά ιόντα. Τα περισσότερα στοιχεία ιονίζονται ως θετικά και έτσι για το βομβαρδισμό χρησιμοποιούνται συχνότερα τα μονοατομικά και πολυατομικά σωματίδια που παράγονται κατά το βομβαρδισμό από το δείγμα που ονομάζονται δευτερογενή ιόντα. Μεταξύ αυτών μπορούν να βρίσκονται ιόντα της πρωτογενούς δέσμης με παράλληλη παραγωγή ηλεκτρονίων και φωτονίων (Εικόνα 3). Τα δευτερογενή σωματίδια είναι φορτισμένα αρνητικά ή θετικά και στο μεγαλύτερο ποσοστό τους (99%) είναι ουδέτερα. Οι κινητικές ενέργειες τους κυμαίνονται από μηδέν έως αρκετές εκατοντάδες eV με ρυθμό εξαγωγής υλικού κατά τη διάρκεια του sputtering μεταξύ 0.5 και 5 nm/s [6,7,8].

Στην παρακάτω εικόνα (3), το “δέντρο” της πρόσκρουσης δείχνει την κίνηση των ενεργών σωματιδίων μετά από 100 fs. Είναι ξεκάθαρο ότι η επικείμενη κινητική

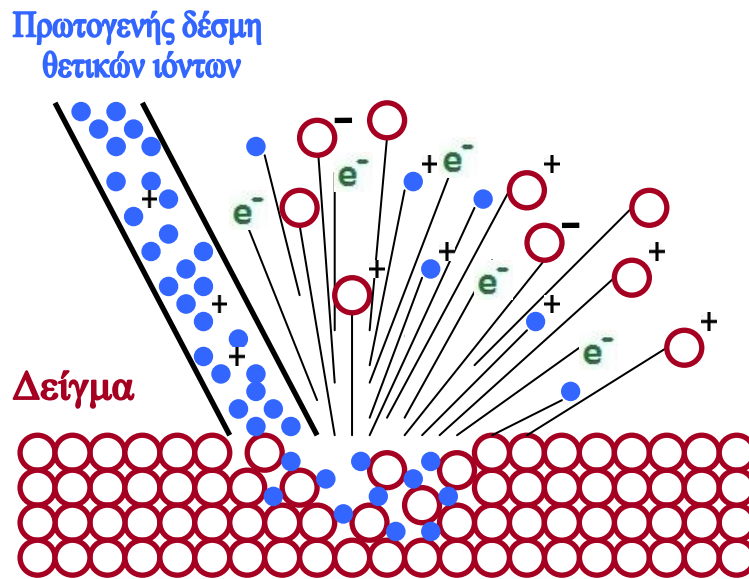
ενέργεια μένει στην περιοχή γύρω από την επιφάνεια. Η εικόνα δείχνει την εξέλιξη της πρόσκρουσης πρωτογενών ιόντων στην SIMS μετά από 100, 300 και 500 fs. [50]



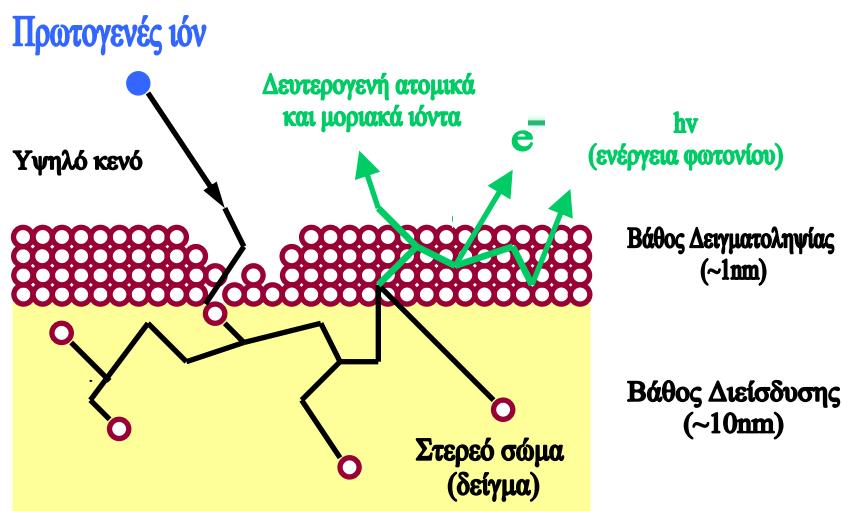
Εικόνα 3. Δέντρο πρόσκρουσης και εξέλιξη σύγκρουσης πρωτογενών ιόντων στην SIMS.

Στο μοντέλο πρόσκρουσης των πρωτογενών ιόντων στο δείγμα (collision cascade model) η πρωτογενής δέσμη αλληλεπιδρά με τα άτομα του υλικού. Ένα πρωτογενές ιόν με μεγάλη ταχύτητα μεταφέρει ενέργεια στα άτομα του δείγματος-στόχου με μία σειρά δυαδικών συγκρούσεων. Όσα από τα οπισθοσκεδαζόμενα άτομα (recoiling atoms) μετά από την σύγκρουση έχουν επαρκή ενέργεια οδηγούνται σε δευτερογενείς συγκρούσεις και δημιουργούν τα μετέπειτα recoiling atoms. Άτομα από την επιφάνεια και τα κατώτερα επίπεδα διαφεύγουν και ανιχνεύονται σαν δευτερογενή ιόντα. Η πλειοψηφία των σωματιδίων που υφίστανται sputtering προκύπτει από το νέφος των υψηλής τάξης οπισθοσκεδαζόμενων μετά τη σύγκρουση ατόμων τα οποία έχουν πολύ χαμηλές ενέργειες (μερικά eV) και προέρχονται από τα ανώτατα ατομικά στρώματα του δείγματος [6,7].

Τα πρωτογενή ιόντα προσκρούουν στην επιφάνεια του υλικού και περνούν μετά από μια σειρά συγκρούσεων στο δείγμα (target material) σε βάθη (1 έως 10 nm) (**Εικόνα 4**). Οι κρύσταλλοι επιτρέπουν τη διείσδυση και σε βάθη μεγαλύτερα των 10 nm, όπου τα κενά μεταξύ των κρυσταλλογραφικών επιπέδων λειτουργούν σαν ένα «τούνελ» καθοδήγησης των ιόντων, γνωστό ως φαινόμενο κρυσταλλογραφικής καθοδήγησης ιόντων (channeling) [2,6].



Εικόνα 4. Σχηματικό διάγραμμα βομβαρδισμού της επιφάνειας του δείγματος με δέσμη θετικών πρωτογενών ιόντων.



Εικόνα 5. Βομβαρδισμός με πρωτογενή δέσμη ιόντων (primary ion beam). Παρατηρείται το βάθος δειγματοληψίας (sampling depth ~1nm) καθώς και το βάθος διείσδυσης (penetration depth ~10nm).

2.3.2. Ιονισμός δευτερογενών ιόντων

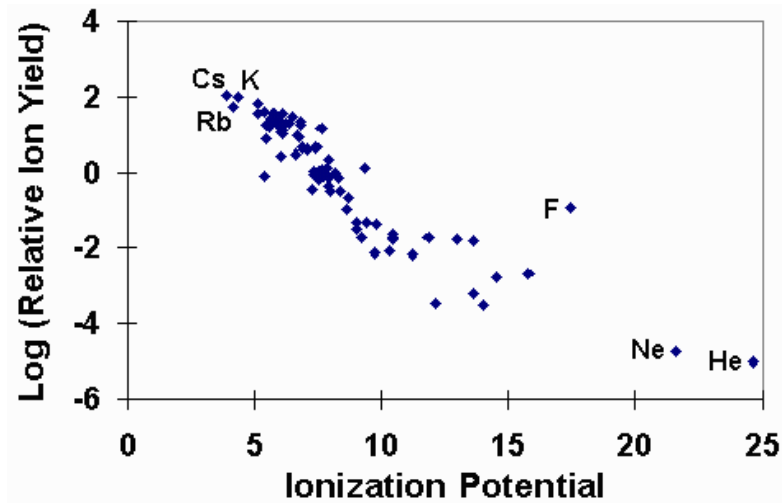
Τα θετικά και αρνητικά δευτερογενή ιόντα που δραπέτεύουν από το δείγμα και αναλύονται, αποτελούν περίπου το 1% των συνολικά εκπεμπόμενων σωματιδίων. Δεν υφίσταται θεωρία ικανοποιητικής περιγραφής της διαδικασίας μορφοποίησης των δευτερογενών ιόντων, πολλές θεωρίες όμως μπορούν να την αιτιολογήσουν [2,6].

Το δυναμικό ιονισμού (ionization potential) για τα θετικά ιόντα και η ηλεκτρονιακή συγγένεια (electron affinity) για τα αρνητικά, αποτελούν τις σημαντικότερες επιδράσεις στην απόδοση ιονισμού. Η ενέργεια ιονισμού ενός στοιχείου είναι καθοριστική για την παραγωγή θετικά φορτισμένων δευτερογενών ιόντων (Εικόνα 6). Τα ιόντα των αλκαλίων και των αλκαλικών γαιών λειτουργούν αποτελεσματικότερα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας sputtering. Στοιχεία με χαμηλό δυναμικό ιονισμού όπως τα Na, K, Mg, Ca, δίνουν υψηλές αποδόσεις στο θετικό SIMS (εφαρμογή θετικής τάσης στο δείγμα), ενώ στοιχεία με υψηλό δυναμικό ιονισμού, όπως τα N, Pt, Au δίνουν χαμηλές αποδόσεις. Για τα αρνητικά δευτερογενή ιόντα, έχει τον σπουδαιότερο ρόλο η ηλεκτρονιακή συγγένεια με τα αλογόνα να υπερτερούν (Εικόνα 7). Ηλεκτραρνητικά στοιχεία όπως τα O, F, Cl δίνουν μεγάλες εντάσεις στο αρνητικό SIMS (εφαρμογή αρνητικής τάσης στο δείγμα) ενώ τα ευγενή μέταλλα Pt και Au εμφανίζουν μεγαλύτερη ένταση στο αρνητικό παρά στο θετικό SIMS. [7,8]

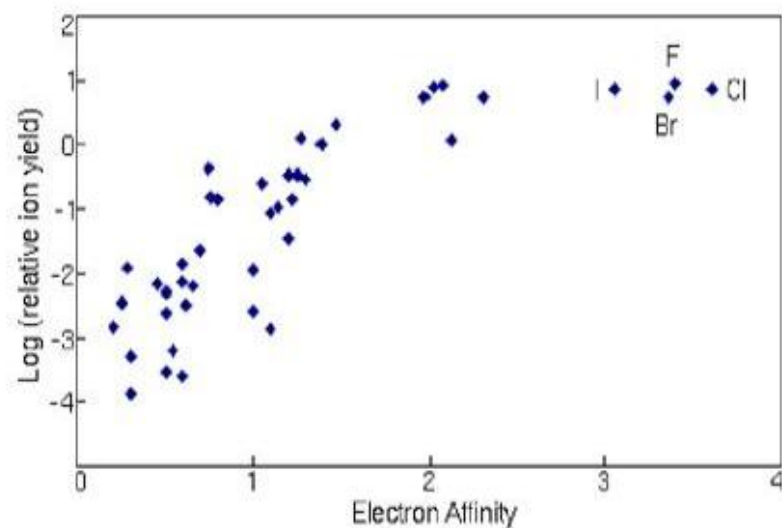
Η πιθανότητα ιονισμού εξαρτάται έντονα από το χημικό περιβάλλον του στοιχείου. Ο χημισμός επιδρά έτσι ώστε το ίδιο στοιχείο να έχει διαφορετική απόδοση ιονισμού όταν βρίσκεται σε υλικά με διαφορετικό χημισμό (διαφορετική γεωμετρία δεσμών). Φαινόμενο γνωστό ως «επίδραση περιβάλλοντος χημισμού» (matrix effect) περιπλέκει την ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων της τεχνικής SIMS. [2,6,51, 52]

Το 99% των εκπεμπόμενων δευτερογενών σωματιδίων δραπετεύουν από το δείγμα ηλεκτρικά ουδέτερα και δεν είναι ανιχνεύσιμα με την κλασική τεχνική SIMS. Όμως μπορούν να ιονιστούν με άλλες μεθόδους, όπως με βομβαρδισμό με ηλεκτρόνια ή ιονισμό με χρήση δέσμης λέιζερ. Αυτή η τεχνική αποτελεί τη φασματομετρία μάζας των δευτερογενών ουδέτερων σωματιδίων (Secondary Neutrals Mass Spectrometry, SNMS) και έχει δύο σημαντικά πλεονεκτήματα:

- A. Η απόδοση ιονισμού αυξάνεται σε σύγκριση με τη διαδικασία SIMS,
- B. Μειώνεται η εξάρτηση της απόδοσης ιονισμού από το χημισμό (matrix effects) επειδή τα δευτερογενή σωματίδια ιονίζονται μόλις αφήσουν το στερεό σώμα (είναι πλέον ελεύθερα σωματίδια), οπότε δεν υπάρχει επιρροή από το χημικό περιβάλλον του δείγματος. [6]



Εικόνα 6. Το δυναμικό ιονισμού συναρτίζει του λογάριθμου της σχετικής απόδοσης δευτερογενών (θετικών) ιόντων αναπαριστώνται με μία σχεδόν γραμμική σχέση. Το φθόριο (αρνητικό ιόν) παρεκκλίνει της γραμμικής σχέσης. [7]



Εικόνα 7. Η ηλεκτρονιακή συγγένεια συναρτίζει του λογαρίθμου της απόδοσης δευτερογενών (αρνητικών) ιόντων. [7]

2.3.3. Απόδοση Sputtering

Απόδοση Sputtering ορίζεται ως η αναλογία του αριθμού των ατόμων που υφίστανται sputtering, προς τον αριθμό των πρωτογενών ιόντων που προσκρούουν στο δείγμα με τιμές από 5 έως και 15 και λίγες εξαιρέσεις στο κατώτερο όριο (π.χ. το βισμούθιο με απόδοση γύρω στο 0.1). [2]

Η απόδοση του sputtering εξαρτάται α) από τη μάζα των πρωτογενών ιόντων β) την ενέργεια τους και γ) τη γωνία πρόσπτωσης.

- **Μάζα:** ένα βαρύ ιόν π.χ. ξένο (Xe) μεταφέρει περισσότερη ενέργεια σε μία επιφάνεια και σκεδάζεται πιο αποτελεσματικά από ένα ελαφρύ ιόν, π.χ. αργό (Ar).
- **Ενέργεια:** αυξάνοντας την ενέργεια των πρωτογενών ιόντων αρχικά αυξάνεται η απόδοση του sputter. Σε υψηλή ενέργεια, τα ιόντα διεισδύουν βαθύτερα μέσα στο στερεό και η ενέργεια τους διαχέεται μακριά από την επιφάνεια. Στην επιφάνεια γίνονται λιγότερες συγκρούσεις και αυξανόμενης της ενέργειας της δέσμης, μειώνεται η απόδοση του sputter.
- **Γωνία πρόσπτωσης:** Όταν η γωνία πρόσπτωσης είναι κάθετη στην επιφάνεια το βάθος διείσδυσης των πρωτογενών ιόντων με συγκεκριμένη ενέργεια στο δείγμα, μεγιστοποιείται (αν εξαιρέσουμε φαινόμενα channeling) και η απόδοση sputtering αυξάνεται όταν η γωνία πρόσπτωσης μετρούμενη σύμφωνα και με την ομαλότητα της επιφάνειας, αυξάνεται. Στις γωνίες ανάκλασης, υπάρχει πιθανότητα διασκορπισμού των ιόντων πίσω από την επιφάνεια στο κενό.

Sputtering μπορεί να γίνει και με ιόντα αλλά και με άτομα. Για μεταλλικά δείγματα οι αποδόσεις sputtering είναι οι ίδιες. Και ένα προσπίπτον ιόν εξουδετερώνεται γρήγορα όταν εισχωρεί σε μέταλλο. Ακόμη και για το αργό που δεν σκεδάζεται εύκολα, είναι και για τα άτομα και για τα ιόντα του ίδια η απόδοση sputtering. [2]

2.3.4. Εκπομπή ηλεκτρονίων και φωτονίων έπειτα από βομβαρδισμό ιόντων

Η εκπομπή ηλεκτρονίων από το δείγμα είναι συνδεδεμένη με την αλληλεπίδραση των ιόντων με το στερεό, με αποδόσεις από 0.1 έως 0.2 ηλεκτρόνια ανά προσπίπτον ιόν αργού 2 keV, και από 0.2 έως 0.5 στα 5keV για όλα τα ευγενή αέρια. [2]

Στα εκπεμπόμενα ηλεκτρόνια, ένα στερεό βομβαρδίζεται με ιόντα στο εύρος των keV εκπέμποντας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία από υπέρυθρη (IR) έως υπεριώδη (UV), με απόδοση φωτονίου τυπικά (10^{-4}) ανά προσπίπτον ιόν για ένα μέταλλο, και (10^{-2} με 10^{-1}) για τους μονωτές. Αν η πρωτογενής δέσμη είναι έντονη, όπως στο εύρος της δυναμικής τεχνικής SIMS και το δείγμα είναι ένας μονωτής, στο σημείο που συναντά η

δέσμη το δείγμα, φαίνεται μια λάμψη, ενώ με τους αγωγούς, η επίδραση είναι μικρή ή και ασήμαντη. [2]

2.3.5. Κατανομή ενεργειών των δευτερογενών ιόντων

Κατά τη διάρκεια του sputtering παράγονται δευτερογενή ιόντα, που χαρακτηρίζονται από ένα εύρος κινητικών ενεργειών. Οι ενεργειακές κατανομές είναι διαφορετικές για τα ατομικά και τα μοριακά ιόντα. Τα ατομικά ιόντα έχουν φαρδιές ενεργειακές κατανομές ενώ τα μοριακά ιόντα έχουν σχετικά στενές.

Η κατανομή ενέργειας των δευτερογενών ιόντων, έχει επιπτώσεις στην ανίχνευσή τους, ειδικά στην περίπτωση των μονωτών. Το μέγιστο της κατανομής ενέργειας δεν επηρεάζεται σχεδόν καθόλου από την ενέργεια των πρωτογενών ιόντων. Το τμήμα αυτό (tail) υψηλής ενέργειας είναι το αποτέλεσμα ενός σύντομου καταγισμού συγκρούσεων κοντά στο σημείο πρόσπτωσης των πρωτογενών ιόντων και η ένταση του αυξάνεται, αυξανόμενης της ενέργειας των πρωτογενών ιόντων. [2]

Η ενεργειακή κατανομή των μοριακών ιόντων εμφανίζει μέγιστο σε σημαντικά χαμηλότερες ενέργειες.

Η γωνιακή εξάρτηση της έντασης των δευτερογενών ιόντων αναμένεται να ακολουθήσει τον απλό νόμο του συνημίτονου, ιδίως για τυχαία προσανατολισμένες πολυκρυσταλλικές επιφάνειες. Η επίπτωση των συγκρούσεων παράγει μια ισοτροπική κατανομή ενέργειας μέσα από το δείγμα. Η ένταση των διατεταγμένων κατά κατιούσα παράθεση συγκρούσεων που φτάνουν στην επιφάνεια κάτω από μια γωνία θ με την επιφάνεια, ποικίλλει ως το συνημίτονο θ . Στους μονοκρυσταλλούς, η ανισοτροπική εκπομπή μπορεί να επέλθει λόγω καθοδήγησης (channeling) της δέσμης και της εστίασης των συγκρούσεων μέσα σε «κλειστές» διαδρομές στον κρύσταλλο και μπορεί να οδηγήσει σε ανισοτροπίες την εκπομπή των δευτερογενών ιόντων [2].

2.4. Διαχωρισμός των δευτερογενών ιόντων

2.4.1. Στατική και δυναμική SIMS

Η τεχνική SIMS είναι γενικά μια καταστρεπτική τεχνική. Διακρίνεται σε στατική και δυναμική SIMS λόγω της διαφοράς στην ένταση του sputtering. [2,6]

Η στατική τεχνική SIMS είναι μία ήπια, μη καταστρεπτική τεχνική. Στη στατική SIMS (static SIMS), η επιφάνεια του δείγματος δεν αλλάζει κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Ο βαθμός αφαίρεσης μονοεπιπέδων έγκειται στο ένα μονοεπίπεδο σε μερικές ώρες, (η δομή της επιφάνειας δεν αλλάζει μεταξύ δευτερολέπτων και λεπτών). Ο χρόνος που απαιτείται για την αφαίρεση ενός μονοεπιπέδου κατά τη διάρκεια ενός πειράματος SIMS εξαρτάται α) από την απόδοση sputtering, και β) από τον τύπο του δείγματος. Απαιτούνται πυκνότητες πρωτογενών ιόντων της τάξης του 1 nA/cm^2 ή και λιγότερο. [2,6]

Ερευνώντας την περίπτωση της SIMS, σε στατικές συνθήκες, η συνολική επιφάνεια που επηρεάζεται από πρωτογενή ιόντα περιορίζεται στο μικρότερο τμήμα της επιφάνειας. Και αυτό όσο είναι δυνατόν για να ελαχιστοποιηθεί η τροποποίηση της επιφάνειας συνυφασμένη με την αρχή της τεχνικής. Για την απόκτηση φασμάτων, αυτό αντιστοιχεί σε μία δόση ιόντων πολύ κάτω από 10^{13} ιόντα / cm^2 , κατά προτίμηση στο εύρος 10^{11} έως 10^{12} ιόντα / cm^2 (θεωρώντας πυκνότητα επιφάνειας σωματιδίων 10^{15} σωματίδια / cm^2). Μελέτες ως συνάρτηση της δόσης ιόντων έχουν επιβεβαιώσει τέτοιες οριακές τιμές για εφαρμογές στατικής SIMS οργανικών υλικών το οποίο εμφανίστηκε να παρουσιάζει χαρακτηριστικές υπογραφές αποικοδόμησης στα φάσματα της SIMS. [42, 43]

Σε αναλύσεις στατικής SIMS, ανιχνεύονται τα ατομικά και μοριακά ιόντα. Μεγάλα μοριακά ιόντα μπορούν να δημιουργηθούν δύσκολα στην περιοχή πρόσκρουσης λόγω της υψηλής ενέργειας των προσκρουόμενων ιόντων και πιστεύεται ότι προέρχονται από μία ή περισσότερες στιβάδες τελικής σύγκρουσης. Αντιδράσεις αέριας φάσης στην πορεία προς τον ανιχνευτή δεν αποκλείονται, αλλά συγκεκριμένες υπογραφές εξακολουθούν να λαμβάνονται για όλους τους τύπους των υλικών. Υπάρχουν διάφορα μοντέλα για την διασκόρπιση (sputtering) ή / και τα φαινόμενα

ιονισμού, αλλά δεν υπάρχει οριστική θεωρία για να εξηγήσει τη δημιουργία όλων των έκτυστων (sputtered) ιονισμένων ιόντων. [46] Παρά την έλλειψη στην πλήρη κατανόηση των βασικών στοιχείων της τεχνικής, η στατική SIMS έχει εφαρμοστεί με επιτυχία σε διάφορους τομείς από τους ημιαγωγούς μέχρι και σε πολυμερή. [47] Η ευαισθησία περιορίζεται από τον αριθμό των δευτερογενών ιόντων που στην πραγματικότητα φτάνουν στον ανιχνευτή (<0,1% για τετράπολους και 1% για μαγνητικούς αναλυτές). Αποτέλεσμα της συνεχούς ανάπτυξης στα όργανα μέτρησης, είναι ο Time-of-Flight (ToF) SIMS αναλυτής ο οποίος έχει αυξήσει τις δυνατότητες των στατικών SIMS εξαιτίας της σημαντικής βελτίωσης της μετάδοσης της μάζας (ανεξάρτητα της μάζας των ιόντων), της ανάλυσης της μάζας, του εύρους της μάζας και την ευαισθησίας. [48]

Οι εφαρμογές για τις οποίες χρησιμοποιείται μια υψηλή πυκνότητα ρεύματος αναφέρονται ως πειράματα δυναμικής SIMS. Σε αυτή την περίπτωση, η επιφάνεια μπορεί να χαραχθεί ταχύτατα κατά τη διάρκεια της ανάλυσης για να παρακολουθηθούν οι αλλαγές της στοιχειακής σύστασης με το βάθος. (προφίλ βάθους). Σε αμφότερες τις περιπτώσεις (στατική και δυναμική SIMS), ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της ανάλυσης SIMS είναι η ικανότητα της απεικόνισης της κατανομής των στοιχειακών (δυναμικές και στατικές συνθήκες) και μοριακών (στατικές συνθήκες) ιόντων στην επιφάνεια. Η απεικόνιση μπορεί να γίνει κατά την λειτουργία μικροσκοπίου (θέση από την οποία το εκπεμπόμενο ιόν, συγκρατείται) ή στην λειτουργία μικροανιχνευτή (microprobe) (rastering της δέσμης ιόντων). [44, 45]

Στη δυναμική SIMS, η βομβαρδιζόμενη επιφάνεια είναι σταθερά μεταβαλλόμενη. Κατά τη δυναμική της λειτουργία, χρησιμοποιείται για τη δημιουργία προφίλ βάθους, όπου αφαιρούνται αρκετές δεκάδες ατομικά μονοεπίπεδα από την επιφάνεια του δείγματος ανά λεπτό. Τα θραύσματα μοριακών ιόντων είναι ενδεικτικά της χημικής δομής της επιφάνειας. Η δυναμική τεχνική SIMS είναι καταστρεπτική μέθοδος (απομακρύνει τα ανώτερα στρώματα της επιφάνειας προχωρώντας όλο και πιο βαθιά στο προς ανάλυση δείγμα), παρέχει όμως ποσοτικές πληροφορίες (γεγονός μη εφικτό με τη στατική SIMS). [2,6]

2.5. Εξουδετέρωση φορτίου (Charge Compensation)

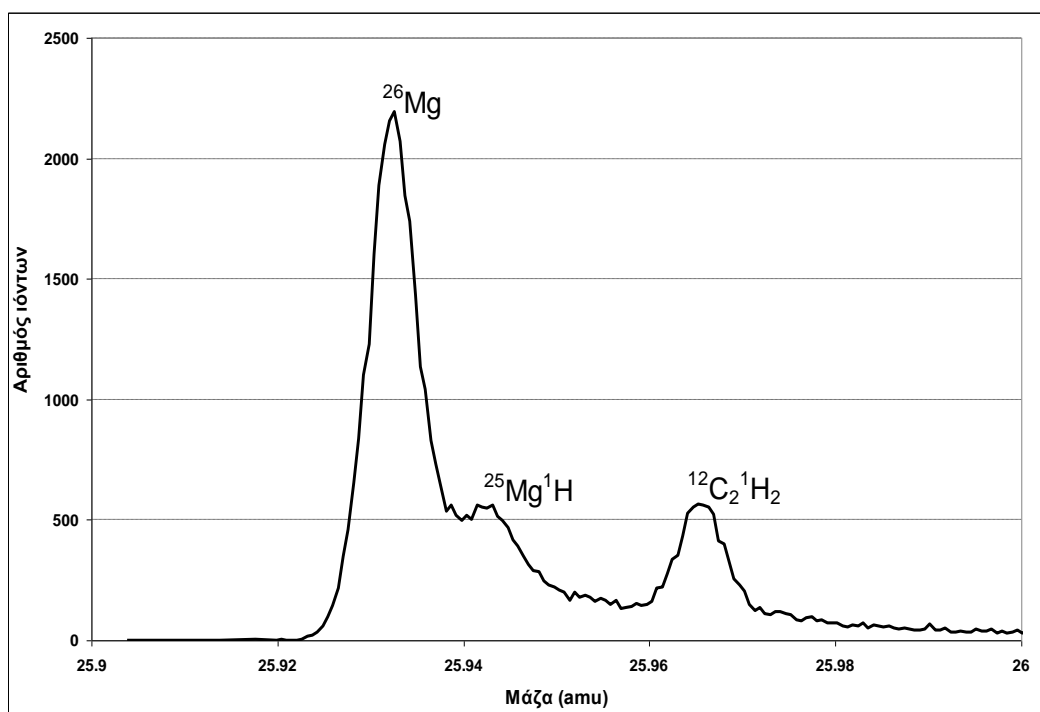
Τα περισσότερα δείγματα στην φύση (με γεωχημικό, κοσμοχημικό ή και βιολογικό ενδιαφέρον) είναι ηλεκτρικά μονωμένα. Η φόρτιση του δείγματος κατά τον βομβαρδισμό με πρωτογενή ιόντα επηρεάζει τη θέση της πρωτογενούς δέσμης ιόντων η οποία αποκλίνει από το ηλεκτρικό δυναμικό που αναπτύσσεται στην επιφάνεια δημιουργώντας αστάθεια στη δέσμη. Επηρεάζει σημαντικά την ενέργεια των δευτερογενών ιόντων, γιατί δεν εξάγονται από ένα σαφώς καθορισμένο ηλεκτρικό δυναμικό. [10,11,12]

Για τους συμβατικούς αναλυτές SIMS, τα δείγματα συχνά επικαλύπτονται με 20-100nm άνθρακα ή χρυσό [13]. Στη συνέχεια η πρωτογενής δέσμη ιόντων βομβαρδίζει στην επικάλυψη μία μικρή οπή (μέχρι 20μm) και μετά αναλύεται το υπό εξέταση υλικό. Δείγματα, με κοκκομετρία μέχρι 30μm, μπορούν να συμπιεστούν σε φύλλο χρυσού [13,14]. Αν και η υπό εξέταση επιφάνεια του δείγματος είναι απομονωμένη, η φόρτισή της δεν είναι καθοριστική και στις δύο περιπτώσεις. Τα ηλεκτρόνια για την εξουδετέρωση φορτίου επιλέγονται από το γειτονικό αγώγιμο περιβάλλον, το οποίο καταλαμβάνει το πλεόνασμα των ηλεκτρονίων όταν το δείγμα βομβαρδίζεται με αρνητικά πρωτογενή ιόντα.

Στην ToF-SIMS πρέπει να αποφεύγεται η επικάλυψη της επιφάνειας, γιατί αναλύονται μόνο τα ανώτατα ατομικά επίπεδα. Ακόμα και αν με το sputtering αφαιρείται η επικάλυψη ενός μόνο σημείου, μεγαλύτερες περιοχές δε θα είναι προσβάσιμες. Το σύστημα εξουδετέρωσης φορτίου έχει αναπτυχθεί ειδικά για παλλόμενες πρωτογενείς πηγές ιόντων που χρησιμοποιούνται στην τεχνική ToF-SIMS [15]. Άλλη τεχνική είναι ο καθαρισμός της επιφάνειας με συνεχή δέσμη και έπειτα η ανάλυση με παλμική δέσμη.

2.6. Παρεμβολές μάζας (Mass Interferences)

Στη Φασματομετρία Μάζας Δευτερογενών Ιόντων και ειδικά στην τεχνική ToF-SIMS σημαντικό πρόβλημα είναι η ικανότητα διαχωρισμού δύο γειτονικών κορυφών μάζας «Αναλυτική διακριτική ικανότητα κατά μάζα» ($m/\Delta m$, *mass resolving power*). Είναι ένας καθαρός αριθμός που αναφέρεται στο συγκεκριμένο όργανο για συγκεκριμένη μάζα και με αυτόν συγκρίνουμε την αναλυτική ικανότητα διαφορετικών οργάνων για την ίδια όμως μάζα. Η ανάλυση μάζας στην τεχνική ToF-SIMS βασίζεται κυρίως στην ακρίβεια των μετρήσεων του χρόνου πτήσης των ιόντων. [6]



Εικόνα 8. Παράδειγμα παρεμβολής του υδριδίου του μαγνησίου $^{25}\text{Mg}^1\text{H}$ σε ισότοπο ^{26}Mg του μαγνησίου. Σε μεγαλύτερη απόσταση από την κορυφή του ^{26}Mg βρίσκεται κορυφή μοριακής παρεμβολής θραύσματος υδρογονάνθρακα, ωστόσο πλήρως διαχωρισμένου.

Ο όρος «ανάλυση απαιτούμενης διακριτικής ικανότητας κατά μάζα για τον διαχωρισμό δύο κορυφών» χρησιμοποιείται για θεωρητικές εκτιμήσεις που απορρέουν αποκλειστικά από τη διαφορά μάζας των αντίστοιχων κορυφών. Δεν περιλαμβάνει τις εκτιμήσεις για τη μορφή των κορυφών, την απαραίτητη ακρίβεια, ή τις ποικίλες εντάσεις των αντίστοιχων κορυφών, οι οποίες οδηγούν συχνά σε πιο αυστηρούς περιορισμούς για έναν κατάλληλο διαχωρισμό κορυφών. Για τις πειραματικά καθορισμένες αναλύσεις μάζας ενός πραγματικού φασματομέτρου, το πλάτος (Δm)

μιας κορυφής πρέπει να καθοριστεί σε ένα ορισμένο ύψος της κορυφής που είναι συνήθως το μισό ύψος αυτής (FWHM –full width at half maximum). Η πραγματική ανάλυση μάζας για έναν ικανοποιητικό διαχωρισμό δύο κορυφών μπορεί να είναι βέβαια και σε ένα χαμηλότερο ύψος της κορυφής, ανάλογα με τις σχετικές εντάσεις των αντίστοιχων ιοντικών σημάτων και την απαιτούμενη ακρίβεια. Αυτό πρέπει να εξεταστεί ειδικά στη φασματομετρία μάζας χρόνου-πτήσης (Time-of-Flight - ToF), όπου καθορίζονται τα ολοκληρώματα των κορυφών (αλλιώς εμβαδά) και όχι τα ύψη τους. [6,16]

Ομάδες παρεμβολών μάζας (με τυπικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα):

1. Ισοβαρικές παρεμβολές από ισότοπα διαφορετικών στοιχείων (isobaric interferences).
2. Υδρίδια.
3. Οξειδία και υδροξείδια.
4. Υδρογονάνθρακες.
5. Ιόντα με δύο ή περισσότερα άτομα του ίδιου στοιχείου.
6. Διπλά φορτισμένα ιόντα {παρουσιάζονται στο φάσμα με την μισή μάζα τους [$m/(2e)$]}.
 $[m/(2e)]$
7. Άτομα της πρωτογενούς δέσμης ενωμένα με άτομα από το δείγμα.

Ως μοριακές παρεμβολές αναφέρονται οι ομάδες υδριδίων, οξειδίων και υδροξειδίων και υδρογονανθράκων.

2.6.1. Ισοβαρικές παρεμβολές από ισότοπα διαφορετικών στοιχείων (isobaric interferences)

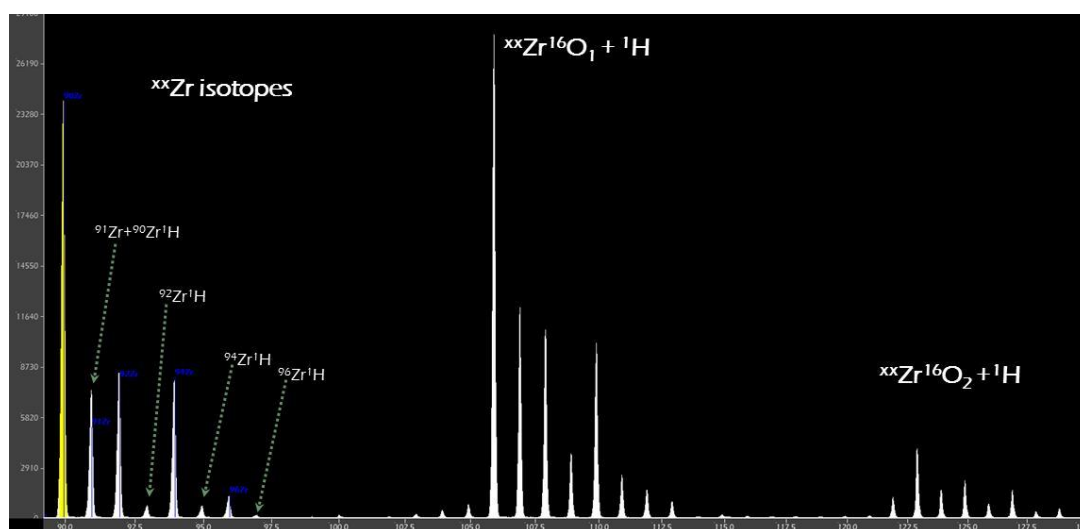
Ισότοπα από διαφορετικά στοιχεία με τον ίδιο μαζικό αριθμό αποτελούν μία ομάδα ισοβαρικών παρεμβολών. Δύο σταθεροί πυρήνες υπάρχουν για 52 ισοβαρή στοιχεία και ακόμη και τρεις φυσικοί πυρήνες μπορούν να βρεθούν για 5 ισοβαρή (π.χ. το ζεύγος ^{48}Ca - ^{48}Ti).

2.6.2. Υδρίδια

Τα υδρίδια είναι σημαντικά στην επιφανειακή ανάλυση και συνεπώς παρατηρούνται συχνά, ειδικά στα φάσματα μάζας ToF-SIMS. Λόγω της προσρόφησης ατόμων υδρογόνου ή υδρογονανθράκων φτάνουν ως την ίδια ένταση με αυτή της κορυφής του στοιχείου. Υδρίδια ενός ισότοπου μπορεί να παρεμβάλλονται με ένα ισότοπο του ίδιου ή γειτονικού στοιχείου (π.χ. το ζεύγος $^{26}\text{Mg} - ^{25}\text{Mg}^1\text{H}$, Εικόνα 8).

2.6.3. Οξειδία και υδροξείδια

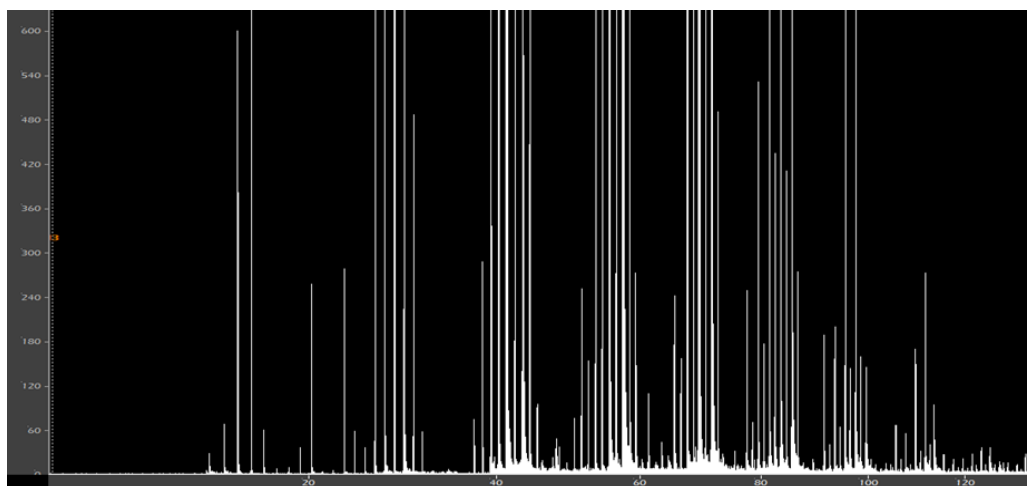
Οι παρεμβολές των οξειδίων και των υδροξειδίων είναι ανάλογες με αυτές των υδριδίων. Το ^{16}O (15.99491 amu) π.χ. ή το $^{16}\text{O}^1\text{H}$ (17.00274) συνδεδεμένο με ένα στοιχείο προσθέτει την αντίστοιχη μάζα του στην ονομαστική μάζα του στοιχειακού ιόντος. Στην Εικόνα 9 φαίνονται τρεις ομάδες κορυφών. Η πρώτη ομάδα κορυφών αντιστοιχεί στα ισότοπα του ατομικού ζirkονίου με παρεμβολές από υδρίδια αυτών, στη δεύτερη ομάδα κορυφών βρίσκονται τα μοριακά ιόντα του ζirkονίου ενωμένα με ένα άτομο οξυγόνου, ενώ η τρίτη ομάδα κορυφών αποτελείται από τα ισότοπα του ζirkονίου ενωμένα με δύο άτομα οξυγόνου. Η ύπαρξη του υδρογόνου, καθιστά το φάσμα περιπλοκότερο. Στοιχεία με μάζα από 102amu και μέχρι 130amu δύσκολα αναγνωρίζονται μέσα σε αυτό το πλήθος κορυφών.



Εικόνα 9. Παράδειγμα μοριακών παρεμβολών από οξειδία και υδροξείδια των ισότοπων του ζirkονίου.

2.6.4. Υδρογονάνθρακες

Οι υδρογονάνθρακες απαντώνται σχεδόν σε όλο το εύρος των φασμάτων μάζας. Οι παρεμβολές ατομικών ιόντων είναι εύκολα διαχωρίσιμες, ειδικά όταν υπάρχουν κάποια συγκεκριμένα άτομα υδρογόνου. Κάθε επιπλέον άτομο υδρογόνου μετακινεί την κορυφή κατά $7.98 \cdot 10^{-3}$ amu προς τα δεξιά (προς τις μεγαλύτερες μάζες). Οι κορυφές των μαζών των στοιχείων μετακινούνται αριστερά (προς τις μικρότερες μάζες) της αντίστοιχης ονομαστικής μάζας, εκτός από τα ελαφριά στοιχεία μέχρι το άζωτο και τα πολύ βαριά όπως το θόριο και το ουράνιο.



Εικόνα 10. Παράδειγμα φάσματος από δείγμα πλούσιο σε οργανικό υλικό. Οι ομάδες κορυφών είναι υδρογονάνθρακες διαφορετικού μήκους αλυσίδας και διαφορετικού αριθμού υδρογόνων.

3. Time-of-flight (TOF) SIMS

3.1. Εισαγωγή

Η τεχνική *Φασματομετρίας Μάζας Δευτερογενών Ιόντων* με τη μέθοδο διαχωρισμού ιόντων με βάση το *χρόνο πτήσης* τους (Time-of-Flight Secondary Ions Mass Spectrometry, ToF-SIMS) είναι μία αναλυτική μέθοδος για τον χημικό χαρακτηρισμό των στερεών επιφανειών, που προσδιορίζει τη μοριακή και την ατομική σύσταση των ανώτατων επιπέδων των προς ανάλυση δειγμάτων. Η μέθοδος ToF-SIMS μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε αγώγιμες και μονωτικές επιφάνειες, με όρια ανίχνευσης της τάξης μεγέθους των ppm (προσεγγίζει την τάξη μεγέθους των ppb). Δυνατότητα ανίχνευσης με μεγάλη ευαισθησία ακόμη μικρότερων ποσοτήτων ενός χημικού στοιχείου ή μιας χημικής ένωσης. [1,6]

Στην τεχνική ToF-SIMS η μάζα των δευτερογενών ιόντων προσδιορίζεται με τον αναλυτή μάζας ToF. Για την ανάλυση της μάζας όλα τα δευτερογενή ιόντα που έχουν παραχθεί από έναν χρονικά «στενό» πρωτογενή ιοντικό παλμό, επιταχύνονται με την ίδια ενέργεια. Η μάζα του κάθε δευτερογενούς ιόντος υπολογίζεται από τον χρόνο που χρειάζεται το ιόν για να διασχίσει μια συγκεκριμένη διαδρομή (Ο χρόνος αυτός είναι διαφορετικός και εξαρτάται από την μάζα του κάθε ιόντος). Ένας ακριβής προσδιορισμός του χρόνου πτήσης αποδίδει τη χημική σύσταση των εκπεμπόμενων ιόντων, ά την ατομική και μοριακή σύσταση της επιφάνειας του δείγματος. Στους σύγχρονους αναλυτές, αυτή η παράλληλη ανίχνευση μάζας συνδυάζεται με μία άριστη ικανότητα διαχωρισμού μαζών, οι οποίες είναι αρκετά κοντά. [6]

Τα φάσματα που προκύπτουν από την τεχνική ToF-SIMS είναι πολύπλοκα. Ένα τυπικό φάσμα ToF-SIMS μπορεί να αποτελείται από εκατοντάδες κορυφές. Οι σχετικές εντάσεις πολλών κορυφών από αυτές, είναι αλληλένδετες αφού προέρχονται από την ίδια επιφάνεια. Από την τεχνική ToF-SIMS παρέχονται ωστόσο πολύτιμες πληροφορίες για τη σύσταση του δείγματος, το μοριακό προσανατολισμό, τη διάταξη της επιφάνειας,

τους χημικούς δεσμούς και την καθαρότητα του δείγματος. Αποτελεί πρόκληση η ευκολότερη συλλογή πληροφοριών από το μέγεθος των δεδομένων που δίνει ένα φάσμα με την τεχνική ToF-SIMS. Η σύγκριση των σχετικών εντάσεων ακόμη και εκατό κορυφών μιας μέτριας ομάδας δειγμάτων μπορεί να αποδειχθεί αποθαρρυντική. Ειδικά όταν πρόκειται να εξεταστεί όχι μόνο πώς η κάθε κορυφή διαφέρει από μία άλλη σε ένα δείγμα αλλά και πώς δύο κορυφές ενός δείγματος διαφέρουν στα υπόλοιπα δείγματα. Αυτή η πρόκληση πολλαπλασιάζεται όταν λαμβάνονται υπ' όψιν παρόμοιες εικόνες από αναλύσεις ToF-SIMS, στις οποίες πρέπει να ανιχνευθούν αλλαγές σε εκατοντάδες κορυφές εντάσεων σε χιλιάδες pixels εικόνας. [17]

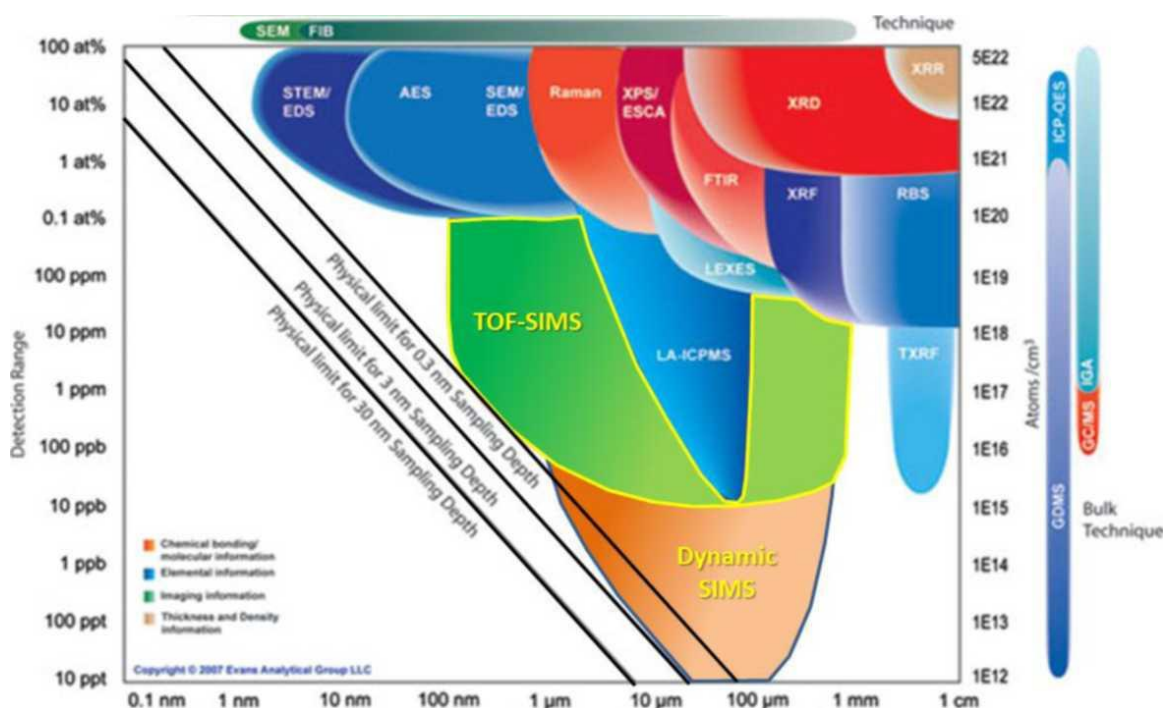
3.2. Τεχνική ToF-SIMS

Η τεχνική ανάλυσης ToF-SIMS ανήκει σε μια κατηγορία τεχνικών χημικής μικροανάλυσης, φυσικών και συνθετικών στερεών υλικών με φυσικές μεθόδους. Όπως ήδη είναι γνωστό, η ToF-SIMS χρησιμοποιεί τα άτομα του δείγματος για ανάλυση, οπότε το δείγμα καταστρέφεται ελάχιστα σημειακά. Αποκαλύπτονται βαθύτερα σημεία κάτω από την αρχική επιφάνεια του δείγματος, δίνοντας τη δυνατότητα ανάλυσης από βαθύτερα σημεία στον όγκο του δείγματος. Αυτό σε συνδυασμό με την δυνατότητα σάρωσης της δέσμης στην επιφάνεια του δείγματος, έχει σαν αποτέλεσμα την δυνατότητα διερεύνησης της λεπτομερούς χημικής σύστασης του δείγματος σε τρεις πλέον διαστάσεις, τη δημιουργία τρισδιάστατων χαρτών των ατομικών και μοριακών ιόντων. Η ToF-SIMS δίνει επιπλέον το πλήρες φάσμα μαζών για το κάθε σημείο σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα. [16]

Η τεχνική αυτή είναι γρήγορη και έχει μεγάλη ευαισθησία (για ορισμένα στοιχεία κάτω των ppb) (Εικόνα 11). Ο όγκος που αναλύεται είναι πάρα πολύ μικρός και εξαρτάται από την κινητική ενέργεια και την πυκνότητα των ιόντων της πρωτογενούς δέσμης. Ορισμένα σύγχρονα συστήματα μπορούν εύκολα να διαχωρίσουν και τα ισότοπα των περισσοτέρων στοιχείων χρησιμοποιώντας τα μετά για επεξεργασία ισοτοπικών αναλύσεων. Οι σημαντικότερες των δυνατοτήτων της ToF-SIMS είναι: η δυνατότητα ανάλυσης στις τρεις διαστάσεις (όγκος του δείγματος), η υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα (που φτάνει τις λίγες δεκάδες νανόμετρα), η δυνατότητα διάκρισης χημικών φάσεων στα δείγματα, η μέτρηση του βαθμού διάχυσης και της

ταχύτητας διάχυσης ισοτόπων και ιχνοστοιχείων μεταξύ δύο φάσεων που βρίσκονται σε επαφή, η χαρτογράφηση των απομιξέσεων και γενικά κάθε είδους χημικής ανομοιογένειας. [16]

Η μέθοδος αναπτύχθηκε και εφαρμόστηκε στην ανάλυση και τον χαρακτηρισμό ανόργανων και οργανικών τεχνολογικών υλικών (π.χ. στην ανάλυση επιφανειών), στον χαρακτηρισμό λεπτών υμενίων ή ημιαγωγών (όπου θα πρέπει να είναι γνωστή η σταθερότητα των κατασκευών και η χημική καθαρότητα των υλικών τους για να εκτιμήσουμε την καλή λειτουργία τους αλλά και τον χρόνο ζωής τους). Στην ορυκτολογία και την πετρολογία, η τεχνική ToF-SIMS χρησιμοποιείται σε σπάνια δείγματα όπου μας ενδιαφέρει η χημεία σε μικρο- ή νάνο-κλίμακα, π.χ. στην ανάλυση κοσμικής σκόνης και μετεωριτών (για την αναζήτηση ιχνών βιογενούς προέλευσης). Ακόμη για τον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων που ευθύνονται για τον χρωματισμό των πολύτιμων λίθων. Εκτός της επιστήμης των υλικών έχει εφαρμογές στην ιατρική, την βιολογία, τις περιβαλλοντικές επιστήμες, την τεχνολογία των τροφίμων, των καλλυντικών, των φαρμάκων και στους καταλύτες. [16]



Εικόνα 11. Διάγραμμα που δείχνει τις αναλυτικές ικανότητες των μεθόδων Dynamic SIMS και ToF-SIMS, οι οποίες υπερτερούν κατά πολύ σε σχέση με άλλες μεθόδους ανάλυσης από άποψη ευαισθησίας και χωρικής διακριτικής ικανότητας. [18]

3.3. Βασική αρχή λειτουργίας της τεχνικής ToF-SIMS

Η αρχή λειτουργίας της τεχνικής ToF-SIMS βασίζεται στον βομβαρδισμό του δείγματος με ιόντα από μια πρωτογενή δέσμη και τη δημιουργία δευτερογενών ιόντων που προέρχονται από το δείγμα και αναλύονται με έναν φασματογράφο μάζας. Η τεχνική ToF-SIMS είναι μια καταστρεπτική τεχνική, σε νανοκλίμακα. Απελευθερώνει άτομα από την επιφάνεια του δείγματος ενός υλικού μετά από βομβαρδισμό με άλλα ιόντα, τα ιονίζει και τα οδηγεί με μια συστοιχία ηλεκτροστατικών φακών και στο φασματογράφο μάζας όπου αναλύονται. Στο δείγμα δημιουργείται ένας κρατήρας ο οποίος στα τελευταίας τεχνολογίας συστήματα είναι αρκετά μικρού βάθους. [16]

Με ειδικά συστήματα, τις ιοντικές πηγές, δημιουργούμε αρχικά μια πρωτογενή δέσμη από ιόντα που έχουν μεγάλη κινητική ενέργεια. Αυτά είναι συνήθως ιόντα γαλλίου (^{69}Ga), καισίου (^{133}Cs) και οξυγόνου (^{16}O) ή άλλων στοιχείων, όπως τα ευγενή αέρια. Τα πλέον εξελιγμένα συστήματα χρησιμοποιούν ιόντα χρυσού ^{197}Au , φουλερένια C_{60} , αλλά και ιόντα ομάδων ατόμων (clusters) όπως $^{197}\text{Au}_2$ ή $^{197}\text{Au}_3$. (Στα δείγματα Αιματίτη και Tetracene της παρούσας μελέτης χρησιμοποιήθηκαν ιόντα χρυσού ^{197}Au και φουλερένια C_{60} αντίστοιχα.) Η δέσμη αυτή κατευθύνεται με τη συστοιχία ηλεκτροστατικών φακών προς το δείγμα και εστιάζεται πάνω σε αυτό. Η διάμετρος της δέσμης των ιόντων διαφέρει από στοιχείο σε στοιχείο και για μέταλλα όπως το ^{69}Ga μπορεί να φτάσει με ιδιαίτερη ευκολία στα 200nm ή και λιγότερο (50nm). Τα ιόντα αυτά συγκρούονται με άτομα από τα ανώτερα ατομικά επίπεδα της επιφάνειας του δείγματος και τα παρασύρουν σε κινήσεις (recoil atoms), ώστε μερικά από αυτά να οπισθοσκεδάζονται και να απελευθερώνονται από το δείγμα. Ένα μικρό μέρος τους, περίπου το 1%, είναι ιονισμένα (φορτισμένα) ενώ τα υπόλοιπα έχουν ουδέτερο φορτίο. Τα ιόντα αυτά μπορεί να έχουν θετικό ή αρνητικό φορτίο, να είναι μονοατομικά ή και πολυατομικά θραύσματα μορίων. [16]

Με την εφαρμογή ενός μεγάλου ηλεκτρικού δυναμικού στην επιφάνεια του δείγματος, μέρος των ιόντων αυτών κατευθύνεται προς το φασματογράφο μάζας με τη μορφή επίσης μιας ιοντικής δέσμης, τη «δέσμη δευτερογενών ιόντων». Η εφαρμογή αρνητικού δυναμικού παρασύρει τα αρνητικά ιόντα και η εφαρμογή θετικού τα θετικά. Δεν είναι δυνατή η ανάλυση ταυτόχρονα θετικών και αρνητικών ιόντων, παρά μόνον με αλλαγή της πολικότητας σε κάποια μέρη του αναλυτικού μηχανήματος με χειροκίνητο τρόπο. [16]

Με κατάλληλη ρύθμιση των ηλεκτροστατικών δυναμικών στην περιοχή εξόδου των ιόντων, όλα σχεδόν τα ιόντα αποκτούν την ίδια αρχική ταχύτητα. Με την εφαρμογή ενός σταθερού δυναμικού U για όλα τα ιόντα, ισχύει η παρακάτω σχέση:

$$\frac{m}{q} = \frac{2eUs^2}{t^2} \quad (1)$$

Όπου e το φορτίο ενός ηλεκτρονίου, (μία σταθερή τιμή), q είναι το φορτίο του ιόντος, s είναι το μήκος (της διαδρομής που διανύουν τα ιόντα από την επιφάνεια του δείγματος μέχρι το σημείο που είναι τοποθετημένος ο συλλέκτης), m η μάζα του ιόντος και t ο χρόνος πτήσης του (ο χρόνος που χρειάζεται το ιόν για να διανύσει την διαδρομή s) Διαφορετικά στοιχεία με διαφορετικές αναλογίες m/q φτάνουν τελικά στον συλλέκτη σε διαφορετικούς χρόνους t . [16]

Ο φασματογράφος μάζας είναι ένας κυλινδρικός σωλήνας συγκεκριμένου μήκους που περιέχει ένα σύνολο ηλεκτροστατικών φακών για την καθοδήγηση των ιόντων και στο τέλος του σωλήνα υπάρχει ο συλλέκτης. Το όλο σύστημα βρίσκεται κάτω από υψηλό κενό αέρος (της τάξης των 10^{-9} έως 10^{-11} Torr) ώστε να αποφεύγονται οι συγκρούσεις με άλλα άτομα οπότε και η διασπορά τους λόγω της αλλαγής της κινητικής τους ενέργειας. Κατά την κίνησή τους οι διαφορετικές μάζες διαχωρίζονται και φτάνουν στον συλλέκτη πρώτα τα ιόντα με την μικρότερη μάζα, ενώ τελευταία αυτά με τη μεγαλύτερη μάζα. Οι χρόνοι που φτάνουν στον συλλέκτη οι διαφορετικές μάζες καταγράφονται με ηλεκτρονικές συσκευές που έχουν πολύ μεγάλη διακριτική ικανότητα στην κατάτμηση του χρόνου. Με τη χρήση της παραπάνω σχέσης (1) δίνεται η δυνατότητα μετατροπής του χρόνου πτήσης σε μάζα. Τα αποτελέσματα σώζονται σε έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή ως αριθμός ιόντων που χτύπησαν τον συλλέκτη στην μονάδα του χρόνου. [16]

Στη μέθοδο dynamic SIMS, η πρωτογενής δέσμη είναι παλμική, δηλαδή στέλνει ομάδες ιόντων σε περιοδικά διαστήματα ενώ η καταγραφή των δευτερογενών ιόντων γίνεται στα διαστήματα μεταξύ αυτών των παλμών. Τα ηλεκτρικά δυναμικά που εφαρμόζονται σε όλα τα μέρη του οργάνου είναι παλμικά και ειδικά ηλεκτρονικά συγχρονίζουν τα διάφορα γεγονότα. Η δέσμη εναποθέτει στο δείγμα ηλεκτρικό φορτίο που δημιουργεί ρεύμα της τάξης λίγων nA. Επειδή τα φορτία θα παρέμεναν στο δείγμα επηρεάζοντας τη θέση της δέσμης και για αυτό το λόγο το δείγμα επικαλύπτεται με

μέταλλο χρυσού ή άνθρακα για να αποφορτίζεται η επιφάνειά του. Με την αύξηση της απόστασης που διανύουν τα δευτερογενή ιόντα αυξάνεται και η διακριτική ικανότητα. Αυτό γίνεται χωρίς να αυξήσουμε το μήκος του οργάνου, αλλά με την τοποθέτηση πλέγματος (reflectron) που βρίσκεται σε υψηλό δυναμικό το οποίο ανακλά τα δευτερογενή ιόντα προς τα πίσω υπό μικρή γωνία, διπλασιάζοντας σχεδόν τη διαδρομή ενώ ο συλλέκτης τοποθετείται κοντά στο δείγμα. [16]

Τα δεδομένα που προκύπτουν από την ανάλυση εκφράζουν τον αριθμό μοναδιαίων μετρήσεων (αριθμός ιόντων) κατανεμημένα σε μικρά διαστήματα χρόνου (bins). Κάθε διάστημα χρόνου μπορεί να μεταβληθεί από τον χρήστη ανάλογα με τις απαιτήσεις της ανάλυσης. Από τον τύπο (1) γίνεται μετατροπή των διαστημάτων χρόνου σε μάζα (ιοντική μάζα) διαιρεμένη με το φορτίο του ιόντος (m/q ή όπως αλλού αναφέρεται m/z) και προβολή στον οριζόντιο άξονα των διαγραμμάτων μάζας. Στον κάθετο άξονα βρίσκεται το πλήθος των ιόντων που προσέκρουσαν στον συλλέκτη στον συγκεκριμένο χρόνο καταμερισμού. [16]

3.3.1. Πρωτογενείς πηγές ιόντων

A) Η πηγή ιόντων καισίου παράγει ιόντα $^{133}\text{Cs}^+$. Το μέταλλο του καισίου αφού θερμανθεί στους 250°C και εξαχνωθεί, διέρχεται μέσα από μια πλάκα πορώδους βολφραμίου (θερμαινόμενη στους 1100°C) όπου ιονίζεται. Τελικά φιλτράρεται και μορφοποιείται σε δέσμη στην στήλη με τα ηλεκτροστατικά οπτικά μέρη. [3]

B) Η πηγή ιόντων γαλλίου $^{69}\text{Ga}^+$ εκπέμπει τα ιονισμένα άτομα γαλλίου από ακίδα. Τα άτομα του γαλλίου ρέουν πάνω στην ακίδα (με την εφαρμογή υψηλών ηλεκτρικών δυναμικών) και εκτινάσσονται από την κορυφή της ακίδας. Τέτοιες πηγές μπορούν να αυξήσουν την χωρική διακριτική ικανότητα σε κάτω από τα 50nm. [6]

Γ) Η πηγή $^{12}\text{C}_{60}^+$ και η πηγή cluster $^{-197}\text{Au}_3^+$ είναι νέας τεχνολογίας πολυατομικές πηγές με ιδιαίτερο χαρακτηριστικό την ομαλότερη κατανομή της κινητικής ενέργειας στην επιφάνεια του δείγματος, την αυξημένη διακριτική ικανότητα σε βάθος και την αυξημένη απόδοση σε δευτερογενή ιόντα. Η πηγή $^{12}\text{C}_{60}^+$ χρησιμοποιείται κυρίως στην ανάλυση βιολογικών υλικών.

Δ) Η πηγή $^{40}\text{Ar}^+$. Οι παλμοί των ιόντων αργού έχουν χαρακτηριστικά μήκη 10-15 ns και παράγονται από μια συνεχή δέσμη η οποία εκτρέπεται κατά 90° . Τα ιόντα από το τελευταίο τμήμα της δέσμης επιταχύνονται για να προφθάσουν εκείνα από το μέτωπο όταν φθάνουν στο στόχο [6,19].

3.3.2. Προβλήματα κατά το Sputtering στην ToF-SIMS

Η ToF-SIMS αναλύει την ανώτατη επιφάνεια ενός δείγματος και η ενδεχόμενη μόλυνση μπορεί να είναι σοβαρό πρόβλημα. Η επιφάνεια πρέπει να καθαριστεί και για να αποφευχθεί η προσρόφηση των μορίων που βρίσκονται στον αέρα του περιβάλλοντος (μετά από τις διαδικασίες καθαρισμού), το δείγμα οδηγείται κατευθείαν στο όργανο υψηλού κενού ToF-SIMS πριν από την ανάλυση.

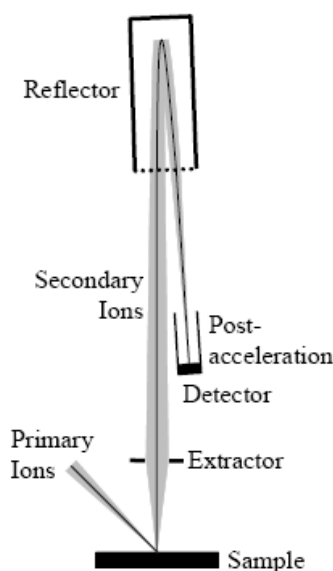
Μετά την αφαίρεση των προσροφημένων υδρογονανθράκων μέσω του sputtering, ακόμη και υπό τις υψηλές συνθήκες κενού ($\sim 2 \cdot 10^{-10}$ mbar), η επιφάνεια του δείγματος μπορεί να επανακτήσει άτομα και μόρια όπως το υδρογόνο ή τους υδρογονάνθρακες που είναι παρόντες στο υπόλοιπο αέριο. Η πρωτογενής πηγή ιόντων δεν είναι ικανή να αποτρέψει αυτήν την προσρόφηση αποτελεσματικά, ειδικά όταν η δέσμη ιόντων αναλύει μια αρκετά μεγάλη περιοχή. Το δείγμα αναλύεται με μια πρωτογενή πηγή ιόντων γαλλίου ενώ συγχρόνως γίνεται sputtering με μια πηγή αργού. [6]

3.4. Οργανολογία ToF-SIMS

Η ταχύτητα ενός ιόντος με μια δεδομένη κινητική ενέργεια εξαρτάται από τη μάζα του. Στην αρχή αυτή βασίζονται όλοι οι τύποι οργάνων ToF-SIMS. Ωστόσο, ακόμη και δευτερογενή ιόντα ίδιου είδους έχουν μια κατανομή ενεργειών με αποτέλεσμα να μην φτάνουν συγχρόνως στον ανιχνευτή. Σε αυτό βοηθά σημαντικά ο νέος τύπος ToF σωλήνων με ανακλαστήρα (reflector).

Μια σχηματική άποψη ενός ανακλαστήρα ToF-SIMS δίνεται ακολούθως (Εικόνα 12). Τα δευτερογενή ιόντα εξάγονται από την επιφάνεια του δείγματος μετά από την επιτάχυνσή τους με ένα ηλεκτρικό πεδίο. Τα ιόντα πριν φτάσουν στον ανιχνευτή διαχωρίζονται σύμφωνα με την ταχύτητά τους. Οι ελαφρώς διαφορετικές αρχικές

κινητικές ενέργειες των ιόντων οδηγούν στους ελαφρώς διαφορετικούς χρόνους πτήσης τους, ακόμη και για τα ιόντα του ίδιου είδους. Ο ανακλαστήρας χρησιμοποιείται για την ενεργειακή εστίαση [20], δηλαδή τα ιόντα με τις υψηλότερες ενέργειες διαπερνούν το ηλεκτρικό πεδίο βαθύτερα και επομένως καθυστερούν έναντι των ιόντων με χαμηλή ενέργεια. Με τη ρύθμιση των ηλεκτρικών πεδίων προσεκτικά, όλα τα δευτερογενή ιόντα ενός είδους μπορούν να φθάσουν στον ανιχνευτή σχεδόν ταυτόχρονα. Το αποτέλεσμα πρακτικά είναι πολύ στενές κορυφές άρα αυξάνεται σημαντικά η διακριτική ικανότητα του οργάνου και τελικά υπάρχει πολύ καλός διαχωρισμός των παρεμβολών. [6]



Εικόνα 12. Σχηματική άποψη ενός οργάνου ToF-SIMS. [6]

3.4.1. Περιγραφή οργάνου ToF-SIMS

Στην Εικόνα 13 παρουσιάζεται μια φωτογραφία του οργάνου IDLE 1 με ενδείξεις των διαφόρων μερών του. Το όργανο αυτό μετατράπηκε με αλλαγή της δέσμης σε δέσμη C_{60}^+ . Επίσης το IDLE 2, σχεδόν αντίγραφο του πρώτου που περιέχει δέσμη χρυσού αλλά και ένα duoplasmatron για βομβαρδισμό με οξυγόνο (Εικόνα 14, Εικόνα 15). Και τα δύο όργανα ανήκουν στην *ερευνητική ομάδα Ισοτοπικής Γεωχημείας και Κοσμοχημείας της Σχολής Επιστημών της Γης και του Περιβάλλοντος* του πανεπιστημίου του Manchester, Ηνωμένου Βασιλείου.

Τα όργανα αποτελούνται από τον χώρο ανάλυσης του δείγματος (sample analysis chamber, SAC),(κάτω από πολύ υψηλό κενό). Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται αρχικά στον προπαρασκευαστικό θάλαμο (preparation chamber), (και αυτός κάτω από κενό αέρος) και έτσι διατηρούνται τα προς ανάλυση δείγματα πριν την εισαγωγή τους στον θάλαμο ανάλυσης (analysis chamber). Το κενό του θαλάμου προετοιμασίας από μια στροβιλοαντλία βρίσκεται σε πίεση 5×10^{-8} mbar. Στον προπαρασκευαστικό χώρο αποθηκεύονται μέχρι και τέσσερα δείγματα. Η είσοδος του δείγματος γίνεται με έναν συνδυασμό μηχανικού και μαγνητικού χειριστηρίου. Η τοποθέτησή του στον θάλαμο ανάλυσης γίνεται σε ειδική τράπεζα που μπορεί να μετακινείται με μεγάλη ακρίβεια, χειροκίνητα ή ελεγχόμενα από ηλεκτρονικό υπολογιστή. [21]

Πάνω στο θάλαμο και κάθετα σε αυτόν, βρίσκεται ο σωλήνας της διαδρομής των ιόντων (αναλυτής μάζας), ενώ αριστερά και δεξιά βρίσκονται οι στήλες πρωτογενών ιόντων και ηλεκτρονίων μαζί με εξαρτήματα για τη μέτρηση του κενού, κάμερες για την οπτική εικόνα στο θάλαμο και άλλα όργανα (π.χ. όργανα μέτρησης κενού ή παράθυρα εισόδου για laser). [21]

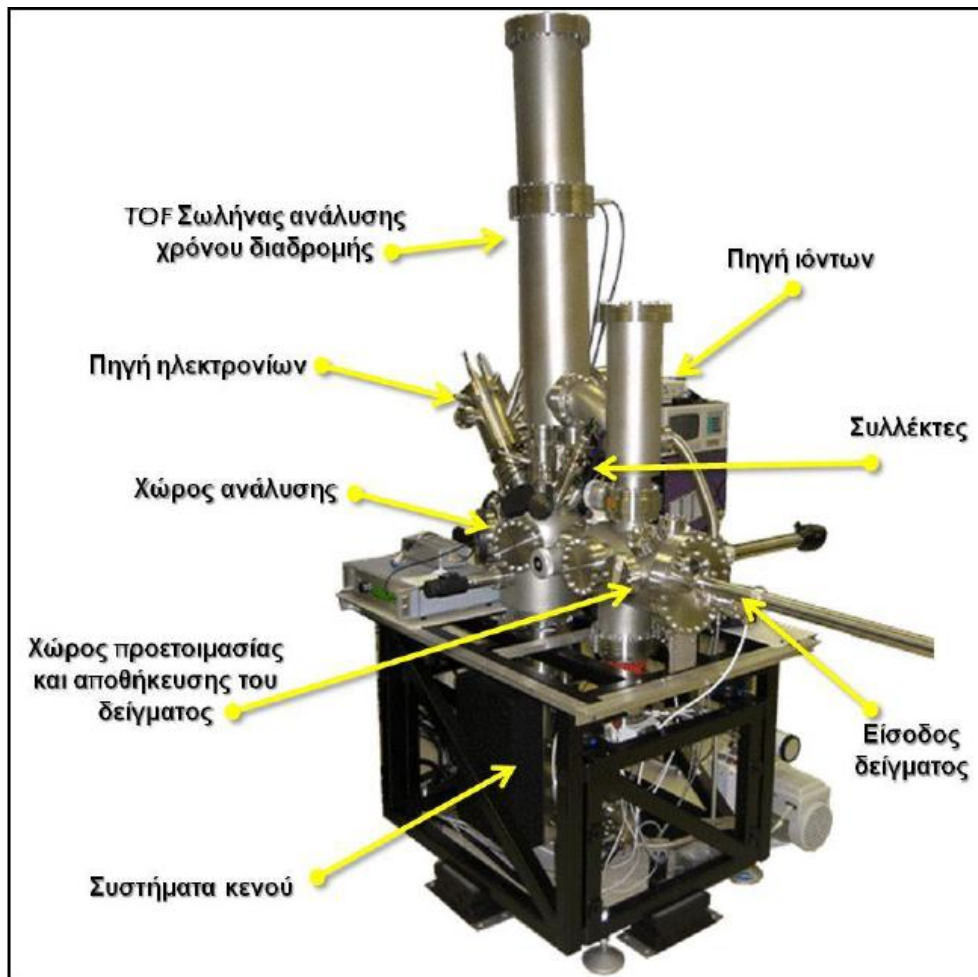
Το κενό των θαλάμων δημιουργείται από έναν συνδυασμό αντλιών, [τουρμπομοριακές αντλίες (turbomolecular pumps), αντλίες ιόντων (ion pumps) και αντλίες εξαχνωμένου τιτανίου (Ti sublimation pumps)] που επιτυγχάνουν μια πίεση 5×10^{-10} mbar. Στα όργανα ToF-SIMS η πρωτογενής δέσμη πρέπει να είναι παλμική καθώς και το δυναμικό που εφαρμόζεται στο δείγμα. Το ηλεκτροστατικό οπτικό σύστημα διαμόρφωσης δευτερογενών ιόντων σε δέσμη παραμένει σταθερό. Η πολικότητα όλων των συστημάτων αλλάζει με χειροκίνητο τρόπο μέσω διακοπών, (ανάλογα με το εάν επιθυμείται η μέτρηση θετικών ή αρνητικών ιόντων). [21]

Το «όπλο», πηγή των πρωτογενών ιόντων τοποθετείται στο θάλαμο ανάλυσης, με την πρωτογενή ιονική δέσμη να εστιάζει πάνω στο δείγμα. Τα δευτερογενή ιόντα, ή ιόντα δευτερογενώς ιονισμένα με laser, εξάγονται σε διεύθυνση με κλίση από το επίπεδο του δείγματος σε υψηλό δυναμικό. Τα ιόντα αυτά μετά τη δημιουργία τους διαμορφώνονται ηλεκτροστατικά σε λεπτή δέσμη και εισάγονται προς μέτρηση στη συσκευή ανάλυσης του οργάνου. Εκεί είναι τοποθετημένο και ένα «όπλο» ηλεκτρονίων που δημιουργεί δηλαδή δέσμη ηλεκτρονίων για την αποφόρτιση του δείγματος. Εκτός από ιόντα παράγονται και ουδέτερα άτομα ή μόρια, ηλεκτρόνια αλλά και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Με την τοποθέτηση ενός ανιχνευτή δευτερογενών

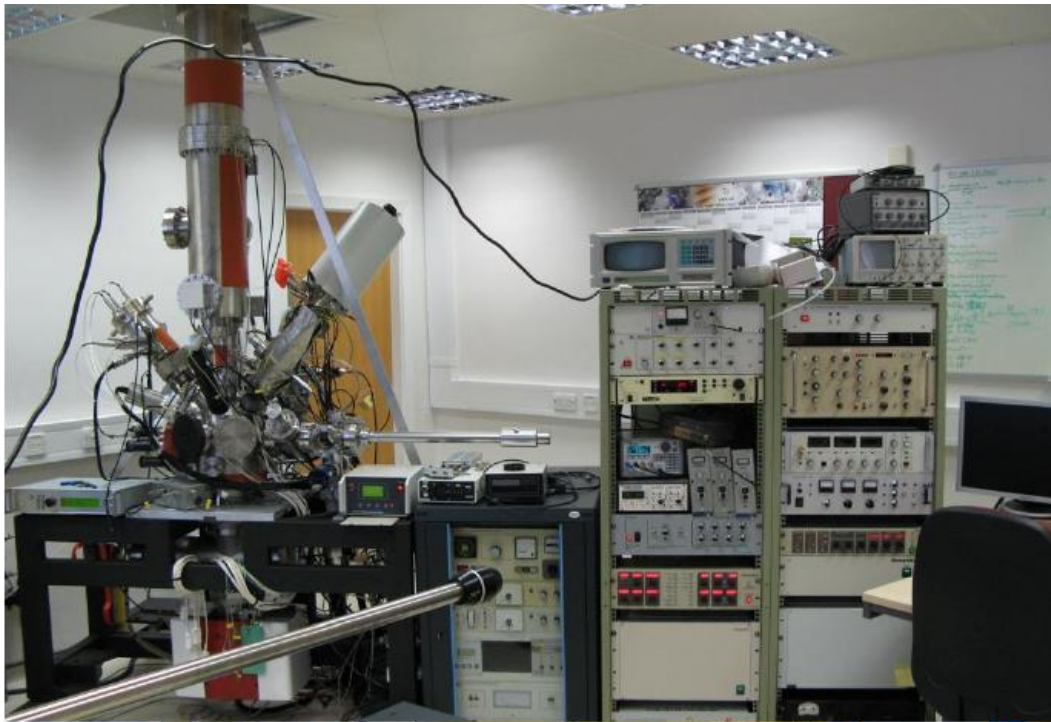
ηλεκτρονίων λαμβάνονται εικόνες όμοιες με τις εικόνες ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (SEM), μεγαλύτερης χωρικής διακριτικότητας από συμβατικά ηλεκτρονικά μικροσκόπια. [21]

Το «όπλο» των πρωτογενών ιόντων εκπέμπει ιόντα, π.χ. γαλλίου (^{69}Ga), με ενέργεια 25 kV ή στα νέα, διαμορφωμένα όργανα, εκπέμπονται και ιόντα χρυσού καθώς και C_{60}^+ . Πέντε διαφράγματα επιτρέπουν τον έλεγχο της έντασης της δέσμης (15 pA και 80 nA), αλλάζοντας έτσι και την διάμετρο της δέσμης πάνω στο δείγμα (40 nm έως και 2 μm). Το «όπλο» μπορεί να λειτουργήσει με συνεχή τρόπο για την απεικόνιση των δευτερογενών ηλεκτρονίων ή με παλμικό για αναλύσεις TOF-SIMS. Η χρονική διάρκεια ενός παλμού μπορεί να μεταβάλλεται μεταξύ 2 και 1000 ns. Για να επιτευχθεί διάρκεια παλμού κάτω από 2 ns το «όπλο» περιέχει ένα εξάρτημα (buncher) που επιταχύνει διαφορετικά τα πρωτογενή ιόντα. Έτσι επιτυγχάνεται πολύ μεγαλύτερη δέσμη ιόντων για σχετικά μικρή χρονική διάρκεια παλμών, συρρικνώνοντας χωρικά τα ιόντα, και χρονικά τον παλμό. Αυτό βελτιώνει τη διακριτική ικανότητα του οργάνου και την απόδοση των ιόντων. [21]

Τα δευτερογενή ιόντα ανιχνεύονται χρησιμοποιώντας ένα ειδικό σύστημα ToF (συσκευή χρόνου πτήσης). Αυτό αποτελείται από έναν σωλήνα δύο σταδίων (πτήσης και ανίχνευσης των ιόντων) και ένα πολυκάναλο ανιχνευτή MCP. Στον ανιχνευτή MCP εφαρμόζουμε ηλεκτρικό δυναμικό ύψους περίπου ± 2.5 kV. Αυτό το χαρακτηριστικό του δίνει την δυνατότητα ανίχνευσης μαζών από το υδρογόνο, (1 amu έως 500 amu). Το σήμα του MCP ενισχύεται από έναν προενισχυτή, που μειώνει τον ηλεκτρονικό θόρυβο του οργάνου. [21]



Εικόνα 13. Σχηματική άποψη του οργάνου IDLE 1. [22]



Εικόνα 14. Το όργανο IDLE 2. [22]



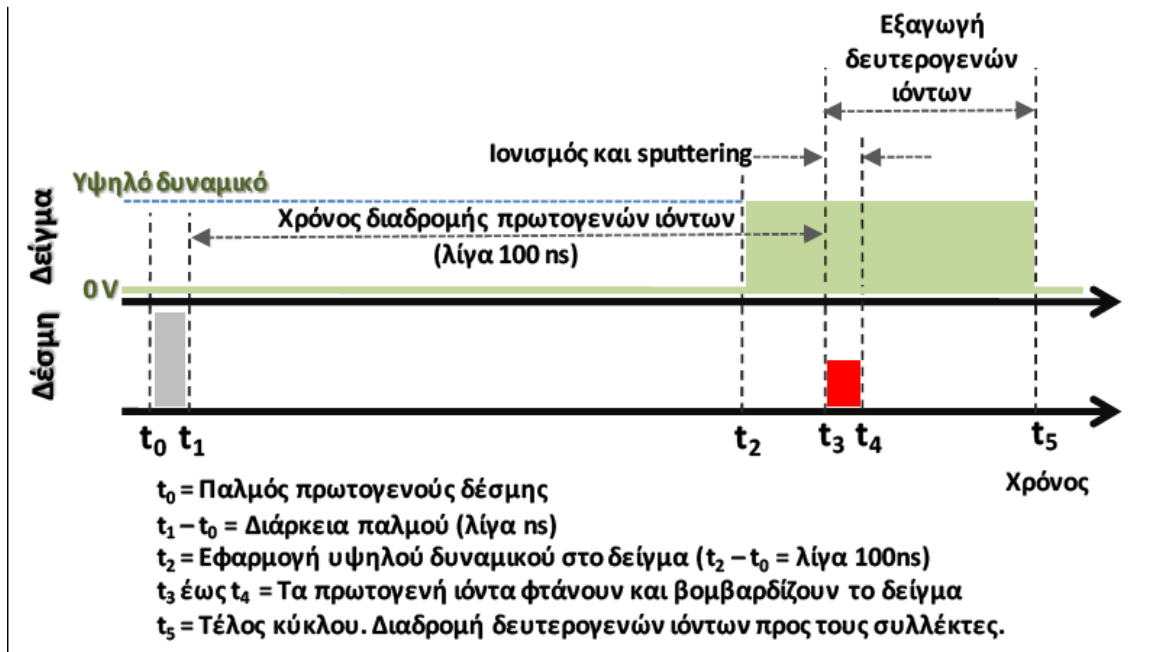
Εικόνα 15. Λεπτομέρεια του οργάνου IDLE 2. [22]

3.4.2. Λειτουργία του οργάνου ToF-SIMS

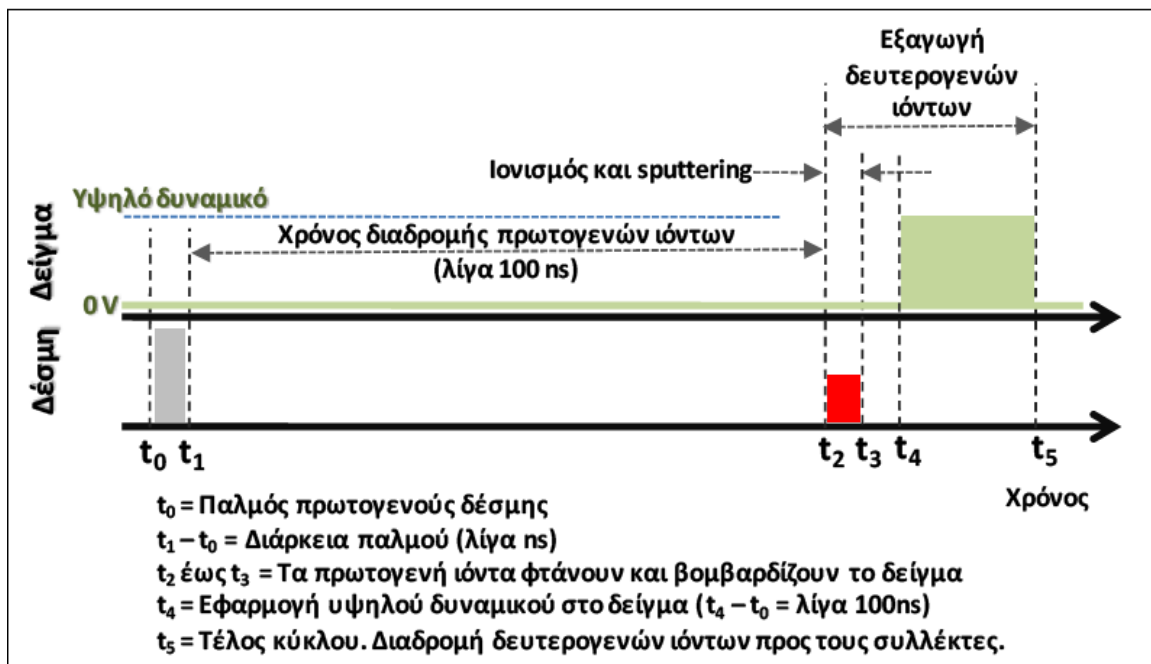
Ο χρόνος πτήσης για ιόντα με μάζες ~ 500 Da είναι περίπου 100 μs . Για να αποφευχθεί η φασματική επικάλυψη απαιτείται συχνότητα παλμών τουλάχιστον 10 kHz. Με έναν αρχικό παλμό μήκους μερικών ns (όπου επιτυγχάνεται υψηλή διακριτική ικανότητα) ο κύκλος εργασίας είναι 10^{-5} - 10^{-4} sec. Αυτός ο ενδιάμεσος χρόνος ουσιαστικά είναι χωρίς παραγωγή δευτερογενών ιόντων οπότε και η απόδοση του σήματος είναι πολύ μικρότερη απ' ό τι στη δυναμική SIMS όπου η πρωτογενής δέσμη είναι συνεχής. Η Εικόνα 16 δείχνει τον απλό κύκλο εξαγωγής δευτερογενών ιόντων, ενώ η Εικόνα 17 έναν πιο πολύπλοκο κύκλο από άποψη συγχρονισμού, αλλά με δυνατότητα να επιτύχει μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα κατά μάζα. [21]

Οι αναλογίες των σημάτων είναι μικρότερες σε σχέση με τα όργανα που χρησιμοποιούν συνεχείς πρωτογενείς δέσμες. Θα χρειαζόμασταν μεγαλύτερο χρόνο παλμού για την εξασφάλιση μεγάλου αριθμού ατομικών ιόντων (counts), όμως με τη χρήση του buncher επιτυγχάνεται μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα κατά μάζα και ταυτόχρονα δίνει μεγάλες τιμές ατομικών ιόντων (counts). [21]

Εάν είναι απαραίτητη και η υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα επιλέγουμε ένα μικρότερο διάφραγμα, και συντομότερους παλμούς, ωστόσο χάνουμε σε ένταση δέσμης. Την καλύτερη οπτική απεικόνιση (παραμελώντας τη διακριτική ικανότητα) επιτυγχάνουμε με τους μακροχρόνιους παλμούς (μερικών εκατοντάδων nanoseconds). Για κάθε εικονοκύτταρο στην εικόνα, ολόκληρο το φάσμα μάζας καταγράφεται και σώζεται σε ένα αρχείο που χρησιμοποιεί το λογισμικό spaceTOF. Επιλέγουμε οποιαδήποτε περιοχή μας ενδιαφέρει στο φάσμα και πλέον είμαστε σε θέση να αναλύσουμε και να επεξεργαστούμε τις πληροφορίες που εξάγονται από αυτές. Επιπλέον, είναι δυνατό να παραχθούν εικόνες κατανομών για όλα τα δευτερογενή ιόντα του φάσματος. [21]



Εικόνα 16. Σχηματικό χρονοδιάγραμμα με ‘κανονικά εξαγωγή’ (normal extraction) δευτερογενών ιόντων. Η διαδρομή των δευτερογενών ιόντων μέχρι τον συλλέκτη είναι περίπου 100μs, μετά ο κύκλος επαναλαμβάνεται. [59]



Εικόνα 17. Σχηματικό χρονοδιάγραμμα με ‘καθυστερημένη εξαγωγή’ (delayed extraction) δευτερογενών ιόντων. Η διαδρομή των δευτερογενών ιόντων μέχρι τον συλλέκτη είναι περίπου 100μs, μετά ο κύκλος επαναλαμβάνεται. [59]

3.5. Ποσοτικοποίηση

Η ποσοτική αξιολόγηση των φασμάτων μάζας είναι ένας από τους σημαντικότερους στόχους στην ανάλυση ToF-SIMS, όμως δεν έχει υλοποιηθεί ακόμη πλήρως. Κάθε ιόν το οποίο υφίσταται sputtering καταλήγει στον αναλυτή μάζας και αναπαρίσταται από μία κορυφή στο εξαγόμενο φάσμα μαζών. Το πρόβλημα έγκειται στις παρεμβολές μάζας (δηλαδή σε διαφορετικά μοριακά ή ατομικά ιόντα τα οποία έχουν σχεδόν ίση μάζα με αυτήν του προς ανάλυση ιόντος), με αποτέλεσμα την εξαγωγή μίας μεγαλύτερης κορυφής στο φάσμα (και όχι διαφορετικών και εύκολα διαχωρίσιμων κορυφών). Μία σημαντική παράμετρος για την επεξεργασία των φασμάτων είναι η διακριτική ικανότητα κατά μάζα του οργάνου (όσο μεγαλύτερη είναι αυτή η ποσότητα για ένα ιόν τόσο καλύτερη είναι η διακριτική ικανότητά του). Αντιπροσωπεύεται από την ποσότητα $m/\Delta m$ όπου m η μάζα του ιόντος και Δm το πλάτος της κορυφής στο μέσον του ύψους της (Full Width at Half Maximum – FWHM). [6,16]

Η απευθείας ποσοτική ανάλυση των δεδομένων της SIMS δεν είναι σαφής εξαιτίας της επιρροής των “matrix effects” στην απόδοση των ιόντων. [51] Τα “matrix effects” είναι κοινό πρόβλημα στις αναλυτικές επιστήμες και ευρέως γνωστό στην φασματομετρία μάζας. Περιπλέκει όλες τις τεχνικές φασματομετρίας μάζας και ειδικότερα στην SIMS είναι γνωστό ως, η πιθανότητα ιονισμού ενός δοθέντος στοιχείου να διαφέρει σημαντικά εξαρτώμενη από την σύσταση του άμεσου περιβάλλοντός του. [52] Το πρόβλημα μπορεί να ορισθεί ως η μεταβλητότητα της απόδοσης ιόντων όσο αλλάζει η σύσταση της επιφάνειας. Ο ίδιος αναλυτής δεν θα έχει την ίδια δευτερογενή απόδοση ιόντων σε ένα διαφορετικό χημικό περιβάλλον, κάνοντας δύσκολη την απευθείας σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων. Το περιβάλλον ενός δείγματος μπορεί επίσης να αλλάξει κατά την διάρκεια του χρόνου της ανάλυσης. Συνεπώς, διαφορική αφαίρεση των σωματιδίων από το δείγμα μπορεί να συμβεί από προνομακή διασκόρπιση “sputtering”. Επιπροσθέτως, η πιθανότητα ιοντικού σχηματισμού μπορεί να διαφέρει ως αποτέλεσμα των αλλαγών κατά την διαδικασία του “sputtering”. Μέχρι σήμερα, καμία μέθοδος δεν έχει αναπτυχθεί που να αντισταθμίζει την διαφοροποίηση στις αποδόσεις των ιόντων λόγω των “matrix effects”. [51]

Ωστόσο, πολλές έρευνες έχουν χαρακτηρίσει την σχετική ποσότητα των στοιχείων της επιφάνειας ενός δείγματος, υποθέτοντας μια ελάχιστη επίδραση του

“matrix” και καθορίζοντας αντιπροσωπευτικά ιόντα (στοιχειώδη ή μοριακά είδη). [51]
Μία πιθανή οδός προσπέλασης των “matrix effects” είναι η διερεύνηση των υψηλών αποδόσεων των ουδέτερων διασκεδασμένων “sputtered”, χρησιμοποιώντας ακτίνες laser μετά-ιοντισμένες (Post-Ionised, PI) [52]

Η τεχνική SIMS δίνει τη δυνατότητα καθορισμού μόνο των αναλογιών των ατομικών και μοριακών ιόντων. Οι απόλυτες συγκεντρώσεις δεν μπορούν να ληφθούν λόγω της ανεπαρκούς γνώσης των όγκων που υφίστανται sputtering, του βαθμού ιονισμού (ionisation efficiency), της μετάδοσης του οργάνου (transmission efficiency), και της αποδοτικότητας της ανίχνευσης (counting efficiency). Οι προϋποθέσεις για να καθοριστούν αυτές οι αναλογίες είναι, εκτός από τη γνώση των αντίστοιχων ευαισθησιών SIMS, η γραμμικότητα του συστήματος ανίχνευσης και εγγραφής, καθώς επίσης και ο έλεγχος των αποτελεσμάτων του οργάνου για την κλασματοποίηση κατά μάζα (mass fractionation). [6]

3.5.1. Γραμμικότητα του ανιχνευτή

Το πρόβλημα που δημιουργείται λόγω της μη-γραμμικότητας του συστήματος ανίχνευσης πέρα από μια ευρεία δυναμική περιοχή είναι αναπόφευκτο για μία ποσοτική αξιολόγηση των φασμάτων μάζας στην ToF-SIMS, όπου ολόκληρο το φάσμα εξάγεται ταυτόχρονα. Στην πραγματικότητα βέβαια, η γραμμικότητα υφίσταται μόνο σε πολύ μικρά διαστήματα, παρ’ ότι μία πολύ μεγαλύτερη περιοχή θεωρείται γραμμική. Η γραμμικότητα παύει να ισχύει όταν πρακτικά το όργανο ανίχνευσης δεν προλαβαίνει να αποδώσει κάθε ένταση ξεχωριστά λόγω του αυξανόμενου φορτίου. [6]

Για την ανίχνευση ενός ιόντος με την τεχνική ToF-SIMS, πρέπει να εξεταστούν οι «νεκρές» χρονικά επιδράσεις (dead time effects). Δεδομένου ότι οι εντάσεις των ιόντων στην ToF-SIMS κυμαίνονται σε ένα εξαιρετικά σύντομο χρονικό διάστημα (νανοδευτερόλεπτα), αυτά τα αποτελέσματα γίνονται πιο σύνθετα απ’ ότι για τις εντάσεις μίας γραμμικής ή εκθετικής φθίνουσας συνάρτησης. Ωστόσο, οι «νεκρές» χρονικά επιδράσεις πρέπει να εξεταστούν επίσης στη συμβατική τεχνική SIMS. Ειδικά στις μελέτες ισοτόπων όπου συμβάλλουν σημαντικά στην αβεβαιότητα των μετρήσεων. [23,24]

Μπορεί να διορθωθεί η επίδραση του «νεκρού» χρόνου στα φάσματα ToF-SIMS, χρησιμοποιώντας τις στατιστικές Poisson. Οι περιορισμοί αυτών των διορθώσεων προκύπτουν από δύο ανεπάρκειες. Α) Ο πραγματικός «νεκρός» χρόνος δεν περιγράφεται από μια ενιαία αριθμητική αξία. Χρησιμοποιείται αντί αυτού, μια συνάρτηση πιθανοτήτων γνωστή κατά προσέγγιση. Β) Οι σταθερές εντάσεις κατά τη μέτρηση είναι αναγκαίες για μια ακριβή διόρθωση του «νεκρού» χρόνου. Οι απλουστευμένες τεχνικές διορθώσεων δίνουν αποτελέσματα με ικανοποιητική ακρίβεια (~ 10%) για την ανάλυση στοιχείων ακόμη και για τους συντελεστές ασφαλείας μέχρι και το τρία (≤ 3). Στις μελέτες ισοτόπων, (όπου απαιτείται μεγαλύτερη ακρίβεια) οι περιορισμοί είναι αυστηρότεροι. [6]

3.5.2. Κλασμάτωση κατά μάζα

«Ισοτοπική κλασμάτωση» είναι η ύπαρξη διαφορών στα ισότοπα ενός στοιχείου (ελαφρά διαφορετικές χημικές και φυσικές ιδιότητες λόγω των διαφορών στη μάζα τους). [25,26]. Και εκδηλώνεται με τη μορφή φαινομένου κλασμάτωσης εξαρτώμενου από τη μάζα, ή όχι. Μορφές κλασμάτωσης εξαρτώμενων από τη μάζα είναι η αλλαγή της ισοτοπικής σύστασης ενός σώματος κατά την αλλαγή φάσης (π.χ. από νερό σε υδρατμούς), η ανταλλαγή ισοτόπων σε κατάσταση ισορροπίας (π.χ. μεταξύ νερού και υδρατμών) ή η συμμετοχή σε μια χημική αντίδραση. Στα ελαφρά στοιχεία υπάρχουν διαφορές μάζας μεταξύ των ισοτόπων τους επαρκείς και σε μια σειρά από φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες προκαλούν ισοτοπική κλασμάτωση, με μετρήσιμες τιμές. [27,28]

Εκτός της κλασμάτωσης λόγω φυσικών διαδικασιών, υπάρχει και η κλασμάτωση που οφείλεται στο όργανο ανάλυσης κατά τη μέτρηση (instrumental fractionation). Η επίδραση της κλασμάτωσης κατά μάζα που οφείλεται στο όργανο στη μέθοδο ToF-SIMS δεν είναι τόσο σημαντική όσο σε άλλες μεθόδους SIMS, (π.χ. αυτές που χρησιμοποιούν μαγνητικό αναλυτή). Η μέθοδος ToF-SIMS χρησιμοποιείται για ποιοτική και όχι ποσοτική ανάλυση. Τα στατιστικά λάθη για τα ισότοπα που είναι σε μικρότερη αφθονία στη φύση οδηγούν σε αναλυτικές αβεβαιότητες. Μεγάλο μέρος της κλασμάτωσης συμβαίνει όταν η συγκέντρωση των ιόντων που μετρούνται είναι μεγάλη, οπότε και οι εντάσεις στον συλλέκτη του φασματομέτρου είναι υψηλές, δημιουργώντας μεγάλο πλήθος επικαλυπτόμενα γεγονότα που δεν καταμετρούνται από τον συλλέκτη

σαν διακριτά γεγονότα («νεκρές» χρονικά επιδράσεις) και που υπερβαίνουν τις επιδράσεις που προκύπτουν από τη κλασμάτωση κατά μάζα. Οι νέοι συλλέκτες έχουν μεγάλο εύρος όπου συμπεριφέρονται γραμμικά, και ειδικά για την τεχνική ToF-SIMS που αναλύει μικρούς όγκους υλικού με κάθε παλμό το φαινόμενο μειώνεται σημαντικά. [6]

Σε όλες τις περιπτώσεις η κλασμάτωση κατά μάζα του οργάνου εξετάζεται πάντα σαν απόκλιση από τις «κανονικές» ισοτοπικές αναλογίες που αποτελούν τις μέσες τιμές σύστασης αυτών στη φύση.

3.6. Ανάλυση Στοιχείων

Σε κάθε ισότοπο δεδομένου στοιχείου, υπάρχει η δυνατότητα προσδιορισμού της έντασής του στην αντίστοιχη μάζα. Η ένταση που λαμβάνεται μπορεί να είναι αποτέλεσμα όχι ενός αλλά περισσοτέρων ιόντων. Το φαινόμενο αυτό αναφέρεται ως παρεμβολή κατά μάζα (mass interference). Ο ακριβής καθορισμός των μαζών που παρεμβάλλονται καθορίζει τη σωστή εκτίμηση της έντασης ενός ιόντος. Παραθέτονται περιγραφές στοιχείων του περιοδικού πίνακα με τις χαρακτηριστικές παρεμβολές τους κατά μάζα.

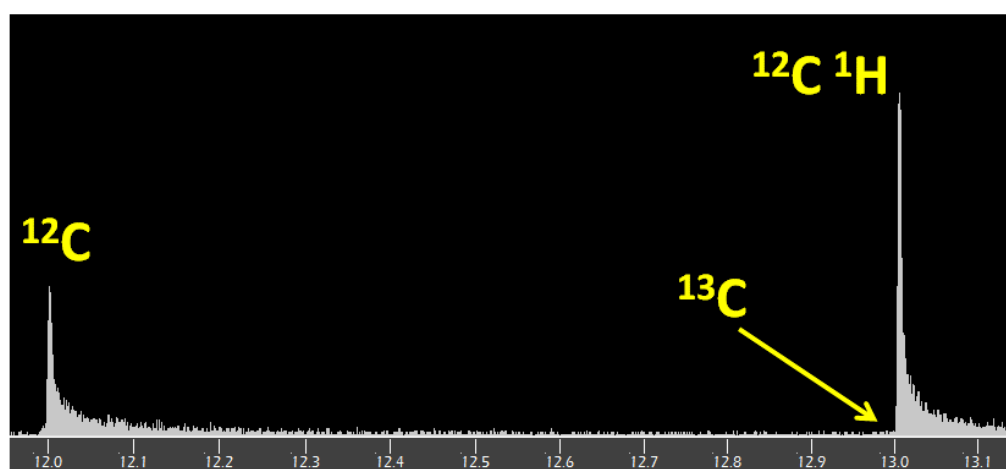
3.6.1. Υδρογόνο

Το υδρογόνο σχηματίζει κατά τη διαδικασία SIMS θετικά και αρνητικά ιόντα ωστόσο υπερισχύει η αρνητική πολικότητα. Μία παρεμβολή μάζας για τα θετικά δευτερογενή ιόντα, παρατηρείται για το δευτέριο ($^2\text{H}^+$) από τα μοριακά ιόντα $^1\text{H}_2^+$. Ιόντα $^1\text{H}_3^+$ είναι συχνά παρόντα σε δευτερογενή ιοντικά φάσματα. Η ανάλυση του υδρογόνου με ToF-SIMS επηρεάζεται από το υπολειπόμενο αέριο που βρίσκεται στο αναλυτικό όργανο και στα συστήματα κενού. Σε πίεση 10^{-10} mbar στο θάλαμο ανάλυσης, το υδρογόνο είναι προσροφημένο στην επιφάνεια του δείγματος κατά τον βομβαρδισμό πρωτογενών ιόντων και μπορεί να παρατηρηθεί σε κάθε φάσμα μάζας. Η ανάλυση ισοτοπικής αναλογίας του υδρογόνου δεν είναι δυνατή, αν και το H_2 σχηματίζει πρακτικά μη αρνητικά δευτερογενή ιόντα και άρα το $^2\text{H}^-$ δεν επηρεάζεται από κάποια παρεμβολή μάζας.

3.6.2. Άνθρακας

Ο άνθρακας σχηματίζει τόσο θετικά όσο και αρνητικά δευτερογενή ιόντα κατά το βομβαρδισμό με πρωτογενή δέσμη ιόντων, κυρίως όμως σχηματίζονται αρνητικά ιόντα. Η πολικότητα των δευτερογενών ιόντων του άνθρακα εξαρτάται από το χημικό τους περιβάλλον. Οι υδρογονάνθρακες παράγουν δευτερογενή ιόντα C^+ όπως και C^- , λαμβάνοντας υπόψη ότι οι ανθρακικές ενώσεις και ιδιαίτερα τα καρβίδια σχηματίζουν ιόντα C^- . Οι ενώσεις CH , CH_2 , CH_3 έχουν και τις δύο πολικότητες. Ο διαχωρισμός του σήματος του $^{12}C^1H$ από την κορυφή του ^{13}C είναι σημαντικός για τον υπολογισμό της ισοτοπικής αναλογίας $^{12}C/^{13}C$ και για τις δύο πολικότητες. Ένα ελάχιστο στην αναλυτική ικανότητα του οργάνου κατά μάζα $m/\Delta m=2910$ είναι απαραίτητο για αυτό το διαχωρισμό. Δεδομένου ότι η ένταση των ιόντων $^{12}C^1H$ είναι συχνά συγκρίσιμη με το σήμα του ^{13}C , αυτή η ανάλυση μάζας οφείλει να είναι στο $\sim 1\%$ του ύψους της κορυφής στην περίπτωση των ανθράκων ($^{12}C/^{13}C=89.9$). Στην Εικόνα 18 δίνεται το ισότοπο 12 του άνθρακα αλλά και η θέση του ισότοπου 13 το οποίο όμως δεν φαίνεται μπροστά στην έντονη παρεμβολή του από το μοριακό $^{12}C^1H$. Το μεγαλύτερο ποσοστό του άνθρακα 12 βρίσκεται ενωμένο με ένα άτομο υδρογόνου, συνεπώς σε τέτοιες ενώσεις πρέπει να αναζητείται ο άνθρακας για την εύρεση του συνολικού όγκου του αναλυόμενου άνθρακα (υποθέτοντας μηδενικές απώλειες στο όργανο).

Για έναν σωστό υπολογισμό ισοτοπικών αναλογιών, κατά προτίμηση το ποσό της ένυδρης ένωσης CH πρέπει να ελαχιστοποιηθεί, με τον βομβαρδισμό του δείγματος, καθώς η ενυδάτωση οφείλεται συχνά στα κατάλοιπα αερίου στο σύστημα κενού.



Εικόνα 18. Τα δύο σταθερά ισότοπα του άνθρακα και η παρεμβολή στον ^{13}C .

3.6.3. Οξυγόνο

Το οξυγόνο στις περισσότερες εφαρμογές SIMS παρέχει αρνητικά δευτερογενή ιόντα. Στις οξειδωμένες ενώσεις, προσλαμβάνει τα ηλεκτρόνια που απελευθερώνονται κατά το σχηματισμό των θετικών μεταλλικών ιόντων. Με την υψηλή του αφθονία στα πετρώματα, παρότι παρατηρείται επίσης σαν θετικό δευτερογενές ιόν, έχει χαμηλότερη ένταση. Το οξυγόνο χαρακτηρίζεται σαν στοιχείο αναφοράς, (όπως και το πυρίτιο), για τη σύγκριση αρνητικών και θετικών φασμάτων δευτερογενών ιόντων. Λόγω της πολύ μικρής αφθονίας του ^{17}O και της μεγάλης έντασης του $^{16}\text{O}^1\text{H}$, μπορεί να μετρηθεί με την τεχνική ToF-SIMS αποτελεσματικά μόνο το ^{16}O και το ^{18}O .

3.6.4. Πυρίτιο

Το πυρίτιο έχει τρία σταθερά ισότοπα, το ^{28}Si (92.23%), το ^{29}Si (4.67%), και το ^{30}Si (3.10%). Αν και διαμορφώνει κυρίως θετικά δευτερογενή ιόντα, εμφανίζονται και αρνητικά ιόντα. Στα πυριτικά άλατα, είναι κατάλληλο ως στοιχείο αναφοράς, εκτός από το οξυγόνο, για τη σύγκριση των φασμάτων των αρνητικών και θετικών δευτερογενών ιόντων. Επιπλέον, λόγω της έντονης παρουσίας του στα πετρώματα, είναι στοιχείο κανονικοποίησης για τις αφθονίες στοιχείων στους μετεωρίτες ή το ηλιακό σύστημα [29]. Τα υδρίδια εμφανίζονται και παρεμβάλλονται στα ^{29}Si , ^{30}Si και ^{31}P (ομοίως με το μαγνήσιο).

3.6.5. Γάλλιο

Το γάλλιο χρησιμοποιείται κυρίως ως πρωτογενές ιόν για τις αναλύσεις ToF-SIMS. Αν και η πρωτογενής δέσμη ιόντων είναι εξοπλισμένη με «μονοϊσοτοπικό» ^{69}Ga , και κάποια υπολείμματα ^{71}Ga (~ 0.2) με δεδομένο το ατελές της βιομηχανικής διαδικασίας διαχωρισμού ισotόπων δεν είναι τέλεια. Κατά συνέπεια και τα δύο ισότοπα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση του γηγενούς γαλλίου. [6]

3.7. Ευαισθησία SIMS

Στην τεχνική SIMS, ο τρόπος με τον οποίο γίνεται ο ιονισμός εξαρτάται άμεσα από τη χημική σύνθεση και τη δομή / προσανατολισμό του κρυστάλλου του δείγματος

[6]. Αυτή η εξάρτηση καλείται επίδραση του χημισμού του υλικού (matrix effect) και κάνει απαραίτητο τον καθορισμό των σχετικών συντελεστών ευαισθησίας (Relative Sensitivity Factors – RSFs) από πρότυπα δείγματα. Επομένως, είναι απαραίτητη η προσεκτική επιλογή προτύπου παρόμοιου χημισμού με το προς μελέτη υλικό. Δεδομένου ότι ο πραγματικά ερευνημένος όγκος του δείγματος είναι εξαιρετικά μικρός, είναι καθοριστικά μερικά ατομικά μονοεπίπεδα, η ομοιογένεια των δειγμάτων και η καθαρότητα αυτών.

Γενικά προτιμώνται τα άμορφα ή πολυκρυσταλλικά πρότυπα. Ωστόσο, ορισμένα υλικά όπως το γυαλί καθώς επίσης και μερικά μεταλλεύματα, που χρησιμοποιούνται ως πρότυπα σε άλλες τεχνικές, δεν καλύπτουν τις απαιτήσεις της ToF-SIMS σχετικά με την ομοιογένεια σε μια κλίμακα μερικών μικρών του μέτρου (μm). Η ποιότητα προτύπων πρέπει πάντα να ελέγχεται στην ανάλυση ToF-SIMS.

Η τεχνική SIMS είναι η πιο ευαίσθητη μικρο-αναλυτική διαθέσιμη τεχνική. Αυτό είναι εφικτό, αφ' ενός, επειδή η ποσότητα των σωματιδίων που εξάγονται από το υλικό είναι μεγάλη ακόμα και σε ένα μικρό όγκο, και αφ' ετέρου, λόγω της υψηλής ευαισθησίας των σύγχρονων ανιχνευτών που μπορούν να ανιχνεύουν την άφιξη μεμονωμένων ιόντων. [49]

Η ευαισθησία σε μια ανάλυση εξαρτάται από το ρυθμό καθοδικής διασκόρπισης (sputter rate), Y , και την πιθανότητα ιονισμού, α_x^\pm , η οποία θα καθορίσει την ελάχιστη συγκέντρωση ενός στοιχείου που μπορεί να ανιχνευθεί από το φασματομέτρο. Η ευαισθησία της SIMS εξαρτάται επίσης από την μετάδοση του συστήματος ανίχνευσης, β . (Μια τυπική τιμή της μετάδοσης σε τετραπολικού τύπου φασματογράφο μάζας είναι 10^{-3} , ενώ για ένα σύστημα time-of-flight είναι 10^{-1}). [49]

3.8. Ανάλυση ισοτόπων

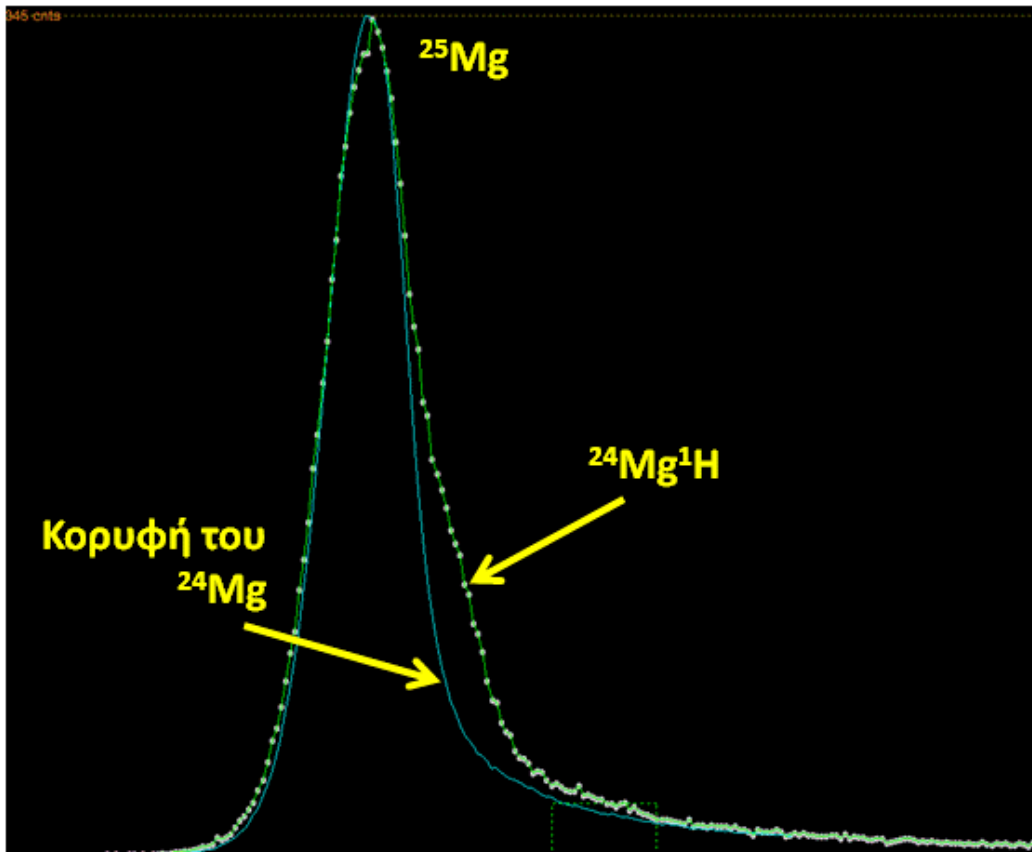
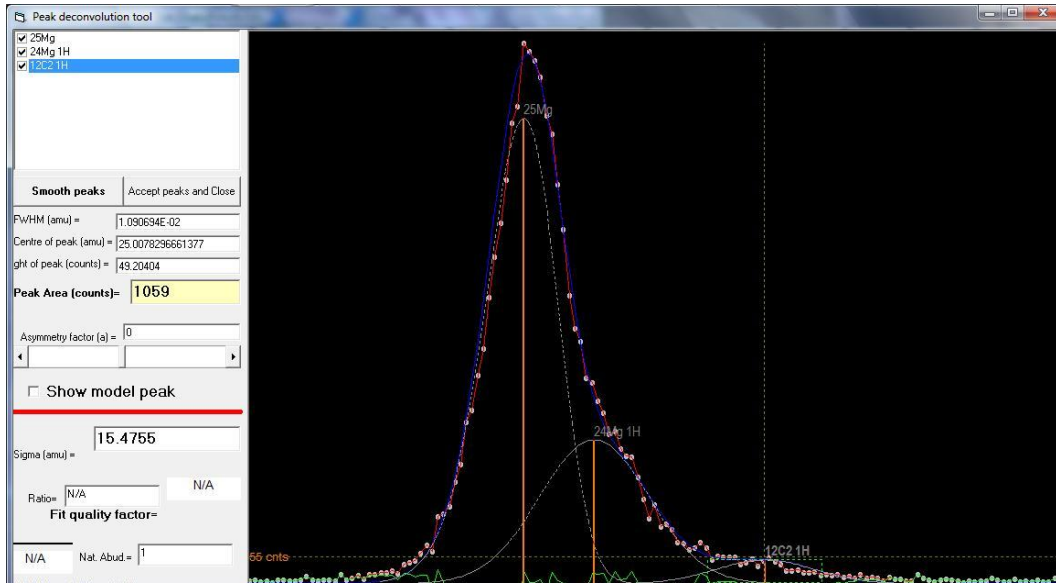
Μόνο μερικά στοιχεία των πετρωμάτων επιτρέπουν την ισοτοπική ανάλυση σε μία κλασική ανάλυση μάζας. Για το υδρογόνο (αρνητικά δευτερογενή ιόντα), το λίθιο, και το βόριο, σχεδόν καμία παρεμβολή δεν παρατηρείται στο φάσμα. Αρχίζοντας με τον άνθρακα, οι ένυδρες ουσίες αποτελούν ένα σοβαρό πρόβλημα, επειδή δεν είναι εύκολα διαχωρίσιμες με μία κλασική ανάλυση μάζας. Οι ένυδρες ουσίες είναι λιγότερο

σημαντικές για τα στοιχεία με τα ισότοπα, τα οποία διαχωρίζονται από δύο μονάδες μάζας, π.χ., χαλκός ή ασήμι. Τα στοιχεία αυτά υφίστανται ως ιχνοστοιχεία στα φυσικά δείγματα. Συχνά σωστές ισοτοπικές αναλύσεις, αποτρέπονται από παρεμβολές μάζας όπως στα οξείδια.

Εάν απαιτείται ισοτοπική ανάλυση υψηλής ακρίβειας, οι σύντομοι βομβαρδισμοί πρωτογενών ιόντων είναι αδύνατο να επιτύχουν την ανάλυση υψηλών μαζών. Ακόμη και με αυτούς, οι γειτονικές κορυφές είναι συχνά μη διαχωρίσιμες. Επομένως, μόνο οι μαθηματικές τεχνικές διαχωρισμού παρέχουν την περαιτέρω βοήθεια. Δεδομένου ότι η μορφή των κορυφών στην ToF-SIMS δεν είναι απόλυτα γκαουσιανή, και δεδομένου ότι εξαρτάται έντονα από τα είδη των ιόντων, η αναμενόμενη μορφή πρέπει να γίνει γνωστή για τον σωστό διαχωρισμό. Η κορυφή ισότοπου του ίδιου στοιχείου χωρίς παρεμβολή κατά μάζα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κορυφή σύγκρισης. Τα ισότοπα ενός στοιχείου πρέπει να έχουν την ίδια ενεργειακή κατανομή, ιδιαίτερα επειδή και οι μάζες τους είναι κοντά στο φάσμα μαζών. Οι κορυφές άλλων στοιχείων δεν είναι κατάλληλες, επειδή έχουν διαφορετική ενεργειακή κατανομή.

Για τον διαχωρισμό π.χ. της ένυδρης κορυφής $^{24}\text{Mg}^1\text{H}^+$ από το $^{25}\text{Mg}^+$, η κορυφή του $^{24}\text{Mg}^+$ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προσαρμόσει το ισότοπο μικρότερης έντασης στο φάσμα στα 25 amu (Εικόνα 19). Συνεπώς ο καθορισμός της κορυφής για το $^{24}\text{Mg}^+$ δίνει άμεσα την ισοτοπική αναλογία $^{25}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$. Η διαφορά μεταξύ των δύο φασμάτων αντιπροσωπεύει την κορυφή $^{24}\text{Mg}^1\text{H}^+$. Στην ίδια εικόνα φαίνεται η σύγκριση του ^{25}Mg με το την κορυφή του ^{24}Mg που χρησιμοποιείται σαν μοντέλο. Διακρίνεται εύκολα πλέον η συμμετοχή του $^{24}\text{Mg}^1\text{H}$ στο δεξί μέρος της κορυφής του ^{25}Mg .

Αυτή η τεχνική διαχωρισμού κορυφών έχει εφαρμοστεί επιτυχώς σε διάφορα συστήματα ισοτόπων. Η ακρίβεια που μπορεί να επιτευχθεί σε αυτήν την τεχνική διαχωρισμού κορυφών στηρίζεται στην αφθονία του αντίστοιχου στοιχείου στο δείγμα, άρα ποικίλλει για τα διαφορετικά δείγματα.



Εικόνα 19. α) και β) Διαχωρισμός εμβადών στα 25 amu με συμβατική μέθοδο deconvolution που βασίζεται σε γκαουσιανές κορυφές (α) και η σύγκριση του ^{25}Mg (κορυφή μοντέλο) με το ^{24}Mg (β).

3.9. Οργανικά μόρια

Ο αριθμός των πιθανών παρεμβολών για τα μοριακά ιόντα μπορεί να είναι πολύ υψηλός, και έπρεπε να αναπτυχθούν οι κατάλληλες τεχνικές για τον κατάλληλο προσδιορισμό τους. Ωστόσο, ένας ακριβής προσδιορισμός μάζας είναι προαπαιτούμενος για να διακριθούν περισσότερες πιθανές παρεμβολές. Κατά τη διάρκεια του βομβαρδισμού με πρωτογενή ιόντα, παρουσιάζονται θραύσματα των περισσότερων οργανικών ενώσεων, γεμίζοντας το αντίστοιχο φάσμα μάζας με πολυάριθμες κορυφές. Μέσα από τη μελέτη των θραυσμάτων τους θεωρητικά θα ήταν δυνατόν να γίνει ταυτοποίηση των αρχικών οργανικών μορίων. Στην περίπτωση βομβαρδισμού με ιόντα, όπως εδώ, δεν είναι γνωστός ο τρόπος θραύσης των μεγάλων μορίων σε κομμάτια. Η ποσοτικοποίηση αυτών των αποτελεσμάτων είναι πιο περίπλοκη από τις αναλογίες ατομικών ιόντων. Περιορισμένη στις ουσίες που ανιχνεύονται σε απλά, καθορισμένα υποστρώματα για την ποσοτικοποίηση τους απαιτούν εσωτερικά πρότυπα. [30,31]

3.10. Επεξεργασία δεδομένων

Το μέγεθος των πληροφοριών που λαμβάνονται από μια ανάλυση ToF-SIMS μπορεί να είναι τεράστιο. Κάθε βομβαρδισμός με πρωτογενή ιόντα δίνει ένα πλήρες φάσμα μαζών, αν και μόνο μερικά δευτερογενή ιόντα μπορούν να καταταχθούν σε ολόκληρο το εύρος μαζών. Κάθε δευτερογενές ιόν πρέπει να καταχωρηθεί ξεχωριστά για να αποφευχθεί η απώλεια πληροφοριών. Τα φάσματα μάζας για μια προσεκτικά επιλεγμένη σειρά πρωτογενών ιόντων μπορούν να ληφθούν, κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των επόμενων δεδομένων. Το μέγεθος των δεδομένων μιας μέτρησης είναι αρκετά megabytes. Η επεξεργασία του μπορεί να γίνει από τη σημερινή γενιά των προσωπικών Η/Υ. Μια πρώτη αξιολόγηση μπορεί να εκτελεσθεί κατά τη διάρκεια της μέτρησης, όπου παρέχονται τα συνολικά φάσματα μάζας, οι επιλεγμένοι χάρτες των ιόντων, ή τα προφίλ βάρους. Για μια λεπτομερή αξιολόγηση, πρέπει να ελεγχθούν όλες οι διαθέσιμες πληροφορίες για κάθε δευτερογενές ιόν. Για την αξιολόγηση και την επεξεργασία του τεράστιου μεγέθους δεδομένων χωρίς να χαθούν σημαντικές πληροφορίες επιδιώκονται αυτοματοποιημένες τεχνικές. Το λογισμικό spaceToF, το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, δίνει τη δυνατότητα επεξεργασίας και ανάλυσης των φασμάτων μάζας.

4. Βιοϋπογραφές (Biosignatures)

4.1. Εισαγωγή

Βιοϋπογραφή (biosignature) είναι κάθε ουσία (π.χ. στοιχεία, ισότοπα, μόρια) όπως και οποιοδήποτε φαινόμενο, που αποδεικνύει επιστημονικά την ύπαρξη ζωής στο παρόν ή και στο παρελθόν [32]. Τα μετρήσιμα αποδεικτικά στοιχεία για την ύπαρξη ζωής περιλαμβάνουν περίπλοκες φυσικές και χημικές δομές καθώς και την αξιοποίηση της ελεύθερης ενέργειας, της παραγωγής βιομάζας και των αποβλήτων. Το πιο πιθανό είναι οι βιοϋπογραφές να έχουν παραχθεί από έμβιους οργανισμούς λόγω των μοναδικών χαρακτηριστικών τους. Δεν είναι όμως καθοριστικό γιατί δεν υπάρχει πάντα η δυνατότητα εξακρίβωσης. [33]

Οι βιοϋπογραφές αποτελούν ένα σημαντικό κεφάλαιο στη γεωχημεία, γεωβιολογία και γεωμικροβιολογία. Πιθανές βιοϋπογραφές περιλαμβάνουν απολιθώματα π.χ. από στρωματόλιθους (stromatolites), μοριακές δομές (biomarkers) και ισοτοπικές συνθέσεις του άνθρακα (C), του αζώτου (N) και του υδρογόνου (H) σε οργανική ύλη, διάφορες αναλογίες ισοτόπων του θείου (S) και του οξυγόνου (O) στα ορυκτά καθώς και έντονη εμφάνιση οξειδοαναγωγικών στοιχείων όπως ο σίδηρος (Fe), το μολυβδαίνιο (Mo), το χρώμιο (Cr) κ.λπ. Στην αστροβιολογία, η εύρεση βιοϋπογραφών σε ένα δείγμα που δεν προέρχεται από τον πλανήτη Γη οδηγεί σε ενδεχόμενη ύπαρξη εξωγήινης ζωής. Η χρησιμότητα των βιοϋπογραφών στην αστροβιολογία είναι καθοριστική όχι μόνο λόγω της πιθανότητας να παρήχθησαν από έμβιους οργανισμούς αλλά και της σπουδαιότητας που έγκειται στο απίθανο σχεδόν ενδεχόμενο της παραγωγής τους από αβιοτικούς παράγοντες. [33]

4.2. Βιοϋπογραφές

Οι βιοϋπογραφές είναι ίχνη οργανισμών που παρέχουν χαρακτηριστικές πληροφορίες για τον οργανισμό και για τις συνθήκες που επικρατούσαν στο περιβάλλον γύρω από αυτόν. Τα ίχνη αυτά αντλούνται, από βασικά χαρακτηριστικά όλων των έμβιων οργανισμών α) τη φυσική δομή, β) τη χημική σύνθεση (DNA, λιπίδια μεμβρανών), γ) το μεταβολισμό και δ) τα αποτελέσματα των αλληλεπιδράσεων με το περιβάλλον. [34]

Από την παρουσία τους και τη μεταβολική τους δραστηριότητα οι έμβιοι μικροοργανισμοί σχηματίζουν τον περιβάλλοντα χώρο. Τα αποτελέσματα των μεταβολών του παρακείμενου φυσικοχημικού περιβάλλοντος, αφήνουν ίχνη όπως βιομορφές, οργανικά μόρια, σταθερά ισότοπα, θραύσματα στοιχείων, αποθέματα βιοορυκτών και σημάδια διάβρωσης. [34]

4.2.1. Μορφολογικές βιοϋπογραφές

Οι μορφολογικές βιοϋπογραφές είναι μορφολογικά υπολείμματα που περιλαμβάνουν τη διατηρημένη φυσική μορφή των μικροοργανισμών, τον περιβάλλοντα χώρο και τη βιομεμβράνη (biofilm) ή το στρώμα μικροβίων (microbial mat). Μπορεί ακόμη να περιλαμβάνονται ίχνη διάβρωσης και κινήσεων των οργανισμών που οδήγησαν στη μεταβολή των γύρω ορυκτών. [34,35,36]

Η μαλακή οργανική ουσία χωρίς το κέλυφός της μετά το θάνατό της υποβάλλεται σε γρήγορη αποσύνθεση. Τα διαρρέοντα ρευστά ευνοούν την αντικατάσταση της οργανικής ύλης από ορυκτά (permineralization) κατά τη δημιουργία απολιθωμάτων (fossilization). Οι αντιδρώσες επιφάνειες των μικροβιακών κυττάρων καθώς και η διογκωμένη πολυστερίνη (Extracellular Polymeric Substance - EPS) μέσω της προσρόφησης κατιόντων και του σχηματισμού φύτρων των ορυκτών, συνεισφέρουν δραστικά στη δημιουργία απολιθωμάτων. [34,35,36]

Άλλες βιομορφές παρουσιάζουν χαρακτηριστικές μορφολογίες, αλλά δεν είναι σαφής η σχέση τους με τους οργανισμούς ή τις διαδικασίες που προηγήθηκαν. Κατά

την αναδημιουργία των μορφών ζωής του προκάμβριου, ο προσδιορισμός και η ερμηνεία των μορφολογικών βιοϋπογραφών καθώς και η διαφοροποίησή τους από τα ψευδοαπολιθώματα, τα οποία προέρχονται από γεωλογικές και όχι βιολογικές διεργασίες (π.χ. οι δενδρίτες που σχηματίστηκαν όταν ορυκτά κάλυψαν φυσικές ρωγμές των πετρωμάτων), είναι ένα σημαντικό πρόβλημα μέχρι και σήμερα. [34,35,36]

Η μελέτη των απολιθωμάτων βασίζεται στους στρωματόλιθους που βρίσκονταν σε αφθονία στο προκάμβριο και είναι αρκετά σπάνιοι τη σημερινή εποχή. Οι παγιδευμένοι μικροοργανισμοί ανάμεσα στα στρώματα των στρωματολίθων, διατηρήθηκαν ως απολιθώματα δίνοντας τη δυνατότητα μελέτης τους από τους επιστήμονες, χιλιετίες μετά την ύπαρξη τους. [34,35,36]

4.2.2. Μοριακές βιοϋπογραφές/ Βιοδείκτες (Biomarkers)

Σαν συνώνυμο των βιοϋπογραφών (biosignatures), χρησιμοποιείται ο όρος «biomarker». Επειδή όμως παραδοσιακά, τα biomarkers αναφέρονται σε οργανικά μόρια (ειδικά λιπίδια) το καταλληλότερο συνώνυμο που έχει προταθεί είναι «μοριακά biosignatures». Σε αντίθεση με άλλα biosignatures, τα οργανικά μόρια (biomarkers) παρέχουν στοιχεία βιοσυνθετικής προέλευσης. [34,37]

Τα νουκλεϊκά οξέα, τα αμινοξέα, οι πρωτεΐνες και οι υδατάνθρακες είναι τα χαρακτηριστικά συστατικά των έμβιων οργανισμών που χρησιμοποιούνται ως μοριακές βιοϋπογραφές για γήινα ή πιθανά εξωγήινα ίχνη ζωής. Τα λιπίδια και οι χρωστικές ουσίες χρησιμοποιούνται συχνότερα ως biomarkers δεδομένου ότι παραμένουν ανθεκτικά με την πάροδο του χρόνου. [37]

Οι συνηθέστερες μοριακές βιοϋπογραφές είναι ισομερή δηλαδή ενώσεις με ίδιο μοριακό τύπο αλλά διαφορετικό τρόπο διάταξης των ατόμων του μορίου στο επίπεδο ή στο χώρο (π.χ. εναντιομερή, διαστερομερή κ.λπ.). [37,38]

Οι σκελετοί των οργανισμών που αποτελούνται από υδρογονάνθρακες παραμένουν σταθεροί κατά τη διάρκεια των δισεκατομμυρίων ετών αποτελώντας πηγή πληροφοριών. Ακόμη ένα συγκεκριμένο μοτίβο μοριακών βιοϋπογραφών που εξάγεται από πετρώματα πολύ παλαιότερων χρόνων μπορεί να δώσει πληροφορίες για τη σχέση μεταξύ ορισμένων κοινοτήτων μικροοργανισμών και του περιβάλλοντός τους. [37]

4.2.3. Υπογραφές σταθερών ισοτόπων

Από τα πρώτα κιόλας χρόνια ανάπτυξης της ζωής στη Γη, οι οργανισμοί μέσω ενζύμων μεταβόλιζαν το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) και το μεθάνιο (CH_4) σε οργανικές ενώσεις (π.χ. φωτοσύνθεση) ή ακόμη κέρδιζαν ενέργεια από τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Τέτοιες μεταβολικές δραστηριότητες προκαλούν την κλασμάτωση των σταθερών ισοτόπων οδηγώντας έτσι σε ισοτοπικές βιοϋπογραφές. Συγκεκριμένες υπογραφές σταθερών ισοτόπων δίνουν μόνο έμμεσα στοιχεία της ύπαρξης των οργανισμών με απαραίτητη μια προσεκτική ερμηνεία. [34,39]

Η πρωτογενής βιοσύνθεση των οργανικών μορίων συνοδεύεται από το ισότοπο ^{13}C πέρα από τον ^{12}C . Όμως τα στοιχεία για την αρχαία ζωή δεν μπορούν να στηριχθούν μόνο στις υπογραφές των ισοτόπων του άνθρακα για αυτό είναι απαραίτητα η μελέτη και άλλων ισοτόπων. Για παράδειγμα τα ισότοπα του θείου (S) στις θειϊκές ενώσεις χρησιμοποιούνται ως ίχνη αναγωγής των θειϊκών ριζών τους στους οργανισμούς και τα ισότοπα του αζώτου (N) οδηγούν στο συμπέρασμα μικροβιακής δραστηριότητας. Εξετάζονται επίσης σαν πιθανές βιοϋπογραφές για την αναδημιουργία των περιβαλλοντικών συνθηκών, αλκαλικές γαίες όπως το ασβέστιο (Ca) και το μαγνήσιο (Mg). [34]

4.2.4. Βιο-ορυκτά

Συνήθη προϊόντα της μικροβιακής δραστηριότητας είναι τα βιο-ορυκτά (biominerals). Αυτά διαμορφώνονται υπό ελεγχόμενες συνθήκες κρυστάλλωσης ή πιο συχνά ως υποπροϊόντα της μεταβολικής δραστηριότητας. Τα ορυκτά ανάλογα με τις διαδικασίες σχηματισμού, παρουσιάζουν ευρεία ποικιλομορφία και μπορούν να διαφέρουν τόσο ώστε να είναι αρκετά ευδιάκριτα από τα αντίστοιχα που έχουν διαμορφωθεί με ανόργανες διεργασίες, στη μορφή, το μέγεθος, τη διαύγεια, την ισοτοπική σύνθεση και τη σύνθεση ιχνοστοιχείων. [34,40]

Τα ορυκτά ανθρακικού ασβεστίου (CaCO_3) αφθονούν από πλευράς παραγωγής τους σε σχέση με τα υπόλοιπα βιο-ορυκτά. Τα βιο-ορυκτά του σιδήρου είναι ιδιαίτερα σημαντικά γεωλογικά, αφ' ενός επειδή περιλαμβάνουν περίπου 40% όλων των ορυκτών

που διαμορφώνονται από τους οργανισμούς, και αφ' ετέρου γιατί οι μικροοργανισμοί που οξειδώνουν τον σίδηρο μπορεί να ευθύνονται κυρίως για την ογκώδη απόθεση των ενωμένων σχηματισμών σιδήρου (Banded Iron Formation-BIF) στο προκάμβριο. [34,40]

4.2.5. Βιοϋπογραφές από ιχνοστοιχεία και σπάνιες γαίες (Trace and rare earth elements – TREE)

Ευδιάκριτα θραύσματα στοιχείων όπως ο σίδηρος (Fe), το μαγγάνιο (Mn), το μαγνήσιο (Mg), το κοβάλτιο (Co), το νικέλιο (Ni), ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), και το μολυβδαίνιο (Mo), μπορούν να δώσουν αποδεικτικά στοιχεία της μικροβιακής δραστηριότητας. Αυτά τα στοιχεία είναι γνωστά για τις βιοχημικές και φυσικές ιδιότητές τους συμβάλλοντας στις μεταβολικές δραστηριότητες, [π.χ. ο χαλκός (Cu) και το νικέλιο (Ni) συμπεριλαμβάνονται στις πρωτεΐνες, και το μολυβδαίνιο (Mo) είναι ένα σημαντικό ιχνοστοιχείο απαραίτητο για τη σταθεροποίηση του αζώτου]. [34]

5. Σφάλματα

5.1. Εισαγωγή

Η τεχνική φασματομετρίας μάζας δευτερογενών ιόντων (SIMS) είναι μια πολύ ευαίσθητη μέθοδος ανάλυσης και η ακρίβεια της υπόκειται σε παράγοντες εσωτερικούς, (που αφορούν στον ιονισμό), αλλά και εξωτερικούς, (που αφορούν στη διάταξη του οργάνου, στις συνθήκες μέτρησης και στην προετοιμασία του δείγματος). Υπάρχουν τυχαία σφάλματα, (όπως μια τυχαία αλλαγή θερμοκρασίας, πτώση τάσης ή φόρτιση του δείγματος στο σημείο ανάλυσης), αλλά και συστηματικά, (όπως διαφορά στις ρυθμίσεις από μέρα σε μέρα, μείωση της απόδοσης του αισθητήρα ή ο λεγόμενος «αδρανής» ή «νεκρός» χρόνος κ.τ.λ.). Οι διαφορές αυτές είναι ιδιαίτερα σοβαρές όταν κάνουμε ποσοτική στοιχειακή ανάλυση, ενώ απαλείφονται όταν μετράμε αναλογίες στοιχείων ή των ισοτόπων τους, όταν βεβαίως έχουμε όργανο με πολλαπλούς συλλέκτες και παράλληλη μέτρηση των ισοτόπων γιατί η επίδρασή τους είναι αναλογικά ίδια σε όλα τα ισότοπα.

Η στατιστική Poisson εκφράζει τις μετρήσεις SIMS, στην ακρίβεια και στα σφάλματα. Βαθμονόμηση με πρότυπα υλικά απαιτείται πάντα για την αποφυγή συστηματικών λαθών από ισοβαρικές παρεμβολές. Ακόμη και μετατοπίσεις (drift) που οφείλονται στις παρεμβολές με τον χρόνο μπορούν να προβλεφτούν ή να διορθωθούν με μεθόδους ελαχίστων τετραγώνων (least-squares). [41]

Η μέθοδος δυναμικής SIMS αφαιρεί υλικό δημιουργώντας έναν κρατήρα συνήθως διαμέτρου 10 - 30 μm και βάθους από 1- 6 μm. Ο όγκος του δείγματος (αν και πάρα πολύ μικρός), είναι αρκετά μεγάλος σε σχέση με τον αναλυόμενο όγκο με τη μέθοδο ToF-SIMS. Αυτό σε συνδυασμό με το ότι μόνο το 1% των ατόμων ιονίζεται, ενώ ακόμη μικρότερη ποσότητα καταλήγει και μετράται στον συλλέκτη οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα σφάλματα μπορεί να είναι πολύ μεγάλα, ακόμη περισσότερο όταν μετρούνται στοιχεία με μικρές συγκεντρώσεις. Όπως έχει ειπωθεί, η ακρίβεια της

μέτρησης είναι πολύ μικρότερη στην ToF-SIMS, όπου η δέσμη έχει διάμετρο μόνο λίγες δεκάδες νανόμετρα. Οι αναλύσεις SIMS μπορούν να προσεγγίσουν την ακρίβεια συμβατικών τεχνικών ($1\sigma = 0.1\%$) με το μειονέκτημα όμως ότι απαιτούνται μεγάλοι χρόνοι ανάλυσης. Παρακάτω, παραθέτονται μερικά βασικά στοιχεία για τη στατιστική των μετρήσεων. Δεν γίνεται λεπτομερής ανάλυση μιας και δεν απαιτείται μεγάλη ακρίβεια στις μετρήσεις μας, αφού μας ενδιαφέρει η σχετική ένταση των κορυφών και τα σχήματα που προκύπτουν από τα ύψη των κορυφών, τα οποία προήλθαν από ομάδες ατομικών και μοριακών ιόντων. [41]

5.2. Αναλυτική ακρίβεια

Η αναλυτική ακρίβεια είναι το μέτρο της συνοχής ενός συνόλου αναλυτικών αποτελεσμάτων. Όσο περισσότερο συμφωνούν μεταξύ τους ένα σύνολο επαναλαμβανόμενων μετρήσεων, τόσο υψηλότερη είναι η ακρίβεια τους. Το πόσο κοντά είναι η τιμή της μέτρησης με την πραγματική τιμή ονομάζεται «προσέγγιση» και είναι ανεξάρτητο από την ακρίβεια. Ακρίβεια είναι η τυπική απόκλιση που μετρά το εύρος μιας σειράς μεμονωμένων μετρήσεων και από εδώ προκύπτει και η μέση τιμή. [41]

5.2.1. Τυπική απόκλιση (Standard deviation)

Για έναν πληθυσμό n πιθανών μετρήσεων μιας ποσότητας x , η τυπική απόκλιση (σ_x) ορίζεται ως:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \mu_x)^2}{n}} \quad (2)$$

όπου x_i είναι μια μεμονωμένη μέτρηση, και το μ_x είναι η προσέγγιση της τιμής του x , (η πραγματική μέση τιμή για ολόκληρο τον πληθυσμό των n μετρήσεων). [41]

Σε πολλές περιπτώσεις, ολόκληρος ο πληθυσμός είναι τεράστιος και έτσι μετριέται μόνο ένα περιορισμένο δείγμα του πληθυσμού, το οποίο χρησιμοποιείται

έπειτα για να υπολογίσει την τυπική απόκλιση του συνολικού πληθυσμού. Αυτή η εκτίμηση, γνωστή ως τυπική απόκλιση του δείγματος (s_x), δίνεται από τον τύπο:

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

όπου το n είναι ο αριθμός των μετρήσεων στο δείγμα και το \bar{x} είναι η μέση τιμή του x στο δείγμα, το οποίο είναι μια εκτίμηση του μ_x . Η χρήση του $n-1$ αντί του n δείχνει το γεγονός ότι μόνο $n-1$ τιμές του $(x_i - \bar{x})^2$ είναι ανεξάρτητες. Για δείγματα με περισσότερες από 30 τιμές, συνήθως το αποτέλεσμα των δυο εξισώσεων είναι σχεδόν όμοιο, ωστόσο είναι σωστότερο να χρησιμοποιείται πάντα ο δεύτερος τύπος. [41]

5.2.2. Σχετική τυπική απόκλιση

Η σχετική τυπική απόκλιση του δείγματος εκφράζει την τυπική απόκλιση σε σχέση με τη μέση τιμή μιας μέτρησης, και ορίζεται από τον τύπο:

$$e_x = \frac{s_x}{\bar{x}} \quad (4)$$

Κατά τη συζήτηση των αναλογιών των ισοτόπων, είναι κατάλληλο να εκφραστεί η σχετική τυπική απόκλιση σε τιμές επί τοις χιλίοις (%). [41]

5.2.3. Τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής (Standard error of the mean)

Η τυπική απόκλιση ($s_{\bar{x}}$) για ένα σύνολο μετρήσεων δείχνει την ακρίβεια μιας μεμονωμένης μέτρησης, η οποία πρέπει να είναι ανεξάρτητη από το πλήθος των μετρήσεων που γίνονται. Ένα αναλυτικό αποτέλεσμα λαμβάνεται συνήθως ως η μέση τιμή των διάφορων επαναλαμβανόμενων μετρήσεων. Είναι ενδιαφέρον όχι μόνο το πώς οι μεμονωμένες μετρήσεις κατανέμονται κατά μέσο όρο, αλλά και πόσο καλά η μέση τιμή του δείγματος (\bar{x}) προσεγγίζει τη μέση τιμή του πληθυσμού (μ_x). Η προσέγγιση του \bar{x} , ή πόσο αξιόπιστη είναι μια εκτίμηση του \bar{x} σε σχέση με το μ_x , εξαρτάται από τον

αριθμό των μετρήσεων που χρησιμοποιούνται για να υπολογίσουν τη μέση τιμή. Όσο περισσότερες μετρήσεις χρησιμοποιούνται για να υπολογίσουν το \bar{x} , τόσο πιο κοντά είναι αυτή η τιμή στο μ_x (δηλ. το \bar{x} είναι ακριβέστερο). Μπορεί να αποδειχθεί ότι η τυπική απόκλιση του μέσου αποτελέσματος, $s_{\bar{x}}$ (συνήθως αποκαλούμενο τυπικό σφάλμα του μέσου όρου), δίνεται από τον τύπο:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

Η μέση τιμή που υπολογίζεται από n μετρήσεις είναι \sqrt{n} φορές πιο αξιόπιστη από μία και μοναδική μέτρηση, και το κέρδος που επιτυγχάνεται στην ακρίβεια για κάθε πρόσθετη μέτρηση γίνεται σταδιακά μικρότερο καθώς ο αριθμός των μετρήσεων αυξάνεται. Το τυπικό σφάλμα του μέσου όρου είναι ένα μέτρο της αβεβαιότητας της μέσης τιμής και οι μέσες τιμές αναφέρονται συνήθως ως $\bar{x} \pm s_x$ ή $\bar{x} \pm 2s_x$. Τα όρια της εμπιστοσύνης σε αυτήν την περίπτωση είναι πολλαπλάσια του s_x/\sqrt{n} και όχι του s_x . Είναι δυνατό να εκφραστεί ένα τυπικό σφάλμα του μέσου όρου σε σχετικούς όρους του e_x , όπου $e_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\bar{x}}$. [41]

5.2.4. Στατιστική μετρήσεων και προβλεπόμενη προσέγγιση ισοτοπικών αναλογιών SIMS

Μέχρι στιγμής έχει οριστεί η ακρίβεια μιας απλής μέτρησης σε σχέση με την τυπική απόκλιση και την ακρίβεια της μέσης τιμής που υπολογίζεται για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και σε σχέση με το τυπικό σφάλμα του μέσου όρου. Στην περίπτωση όμως των ισοτοπικών αναλογιών θα πρέπει να γίνεται αναφορά σε επαναλαμβανόμενα ζεύγη μετρήσεων (δύο στοιχεία ή δύο ισότοπα του ίδιου στοιχείου) που γίνονται σε ένα μόνο σημείο του δείγματος. Κάθε μέτρηση περιλαμβάνει μια μικρή χρονική περίοδο μέτρησης (συνήθως 1-5 δευτερόλεπτα) για κάθε ισότοπο που εξετάζεται. Σε συστήματα με τουλάχιστον δύο συλλέκτες ιόντων αυτό μπορεί να γίνει ταυτόχρονα. Συνήθως 100-200 τέτοια ζευγάρια μετρήσεων γίνονται σε ένα σημείο (συνολική διάρκεια 100 έως 1000s). Κάθε μέτρηση περιλαμβάνει ξεχωριστές αναλύσεις

που γίνονται σε διαφορετικά σημεία του δείγματος με στόχο τον ποσοτικό προσδιορισμό ενός στοιχείου ή μια ισοτοπική αναλογία σε κάθε ένα από τα προς ανάλυση σημεία. [41]

Η ακρίβεια μιας ανάλυσης SIMS επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της αστάθειας της πρωτογενούς δέσμης, τη χημική ετερογένεια στο σημείο ανάλυσης και τη φόρτιση του δείγματος κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Συνήθως τέτοιες περιπτώσεις εισάγουν συστηματικά σφάλματα. Η φύση όμως της δευτερογενούς εκπομπής ιόντων από το δείγμα είναι μια τυχαία διαδικασία που ελέγχεται από την στατιστική Poisson. Αυτή η τυχαία συμπεριφορά εισάγει αποκλίσεις από την ιδανική μέτρηση. Η κατανομή Poisson περιγράφει τον αριθμό των τυχαίων γεγονότων, N , τα οποία συμβαίνουν σε μία συγκεκριμένη χρονική περίοδο μέτρησης, υπό την προϋπόθεση ότι τα γεγονότα αυτά είναι συχνά και τελείως τυχαία (αυτό εκφράζεται με μικρή αλλά όχι μηδενική πιθανότητα εμφάνισης του γεγονότος για την κάθε περίοδο). Σε αυτήν την περίπτωση το N είναι ο αριθμός των δευτερογενών ιόντων που μετριούνται από τον ανιχνευτή κατά τη διάρκεια μιας περιόδου μέτρησης. Όλες οι κατανομές Poisson έχουν τη σημαντική ιδιότητα ότι η τυπική απόκλιση του N (δηλαδή η σ_n) σχετίζεται άμεσα με τη μέση τιμή του N (μ_N):

$$\sigma_N = \sqrt{\mu_N} \quad (6)$$

Στην πράξη, το μ_N είναι άγνωστο, αλλά μπορεί να υπολογιστεί από ένα δείγμα n μετρήσεων, υπολογίζοντας τους μέσους όρους των γεγονότων (δηλ. τις δευτερογενείς ιονικές καταγραφές) ανά μέτρηση,

$$\bar{N} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n N_i \quad (7)$$

όπου το N_i είναι ο αριθμός των καταγραφών στην κάθε μέτρηση i . [41]

Κατά συνέπεια η προβλεπόμενη τυπική απόκλιση για ένα σύνολο μετρήσεων ενός ιόντος στην τεχνική SIMS, χρησιμοποιώντας στατιστικές Poisson, εξαρτάται απλώς από το μέσο όρο των καταγραφών για εκείνο το ιόν ανά μέτρηση, και δίνεται από τον τύπο:

$$\hat{s}_N = \sqrt{N}$$

(8)

Το \hat{s}_N συμβολίζει την προβλεπόμενη τυπική απόκλιση η οποία βασίζεται σε ένα στατιστικό μοντέλο, σε αντιδιαστολή με το απλό s_N που συμβολίζει μια παρατηρηθείσα σταθερή απόκλιση. Και τα δύο είναι εκτιμήσεις της πραγματικής τιμής του σ_N . Ομοίως, η προβλεπόμενη τυπική απόκλιση της μέσης τιμής \hat{N} που υπολογίζεται για n μετρήσεις δίνεται από τον τύπο:

$$\hat{s}_{\hat{N}} = \sqrt{\frac{N}{n}}$$

(9)

Όπου μπορεί να εκφραστεί σε σχετικούς όρους ως:

$$\hat{e}_{\hat{N}} (\%) \approx 1000 \frac{1}{\sqrt{nN}}$$

(10)

Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό της κατανομής Poisson είναι ότι καθώς το N αυξάνει, η κατανομή γίνεται όλο και περισσότερο πιο συμμετρική γύρω από τη μέση τιμή. Εάν το N είναι μεγάλο, όπως συμβαίνει συνήθως στη δευτερογενή ιονική εκπομπή της τεχνικής SIMS όπου το N καταμετρά συνήθως $10^3 - 10^5$ ατομικά ιόντα (counts) ανά περίοδο μέτρησης, η κατανομή Poisson προσεγγίζει πολύ μια «γκαουσιανή» κατανομή (Gaussian distribution). Όλες οι «γκαουσιανές» κατανομές έχουν την ιδιότητα ότι το 68,27% των μετρήσεων βρίσκονται μέσα στο εύρος $\mu_N \pm \sigma_N$, το 95,44% είναι μέσα στο εύρος $\mu_N \pm 2\sigma_N$ και το 99,74% μέσα στο εύρος $\mu_N \pm 3\sigma_N$. Στην περίπτωση των αναλύσεων SIMS, που ελέγχονται από τις στατιστικές Poisson οι οποίες προσεγγίζουν τις γκαουσιανές στατιστικές, το σ_N μπορεί να αντικατασταθεί από \sqrt{N} και αυτό ακολουθεί τον κανόνα ότι το 68,27% των μετρήσεων πρέπει να βρίσκεται μέσα στο εύρος $N \pm 1\sqrt{N}$, το 95,44% μέσα στο εύρος $N \pm 2\sqrt{N}$ και το 99,74% μέσα στο εύρος $N \pm 3\sqrt{N}$. [41]

Ο ορισμός αυτός που αναφέρεται σε μία απλή μέτρηση είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Για παράδειγμα, εάν μια απλή ανάλυση με SIMS περιλαμβάνει 100

διαφορετικές περιόδους μέτρησης για ένα δεδομένο ιόν, και κάθε μια από αυτές έχει διάρκεια 5 s, τελικά ο συνολικός αριθμός των counts που καταγράφονται στις 100 μετρήσεις είναι 250.000. Ο μέσος όρος των counts ανά μέτρηση των 5 s είναι 2500, και η προβλεπόμενη τυπική απόκλιση αυτής της μέσης τιμής είναι ± 5 (από την εξίσωση 9). Εναλλακτικά, τα ίδια στοιχεία θα μπορούσαν να συλλεχθούν σε μια απλή μέτρηση 500 s παρά σε 100 μετρήσεις των 5 s. Σε αυτήν την περίπτωση, ο μέσος όρος των counts ανά μέτρηση είναι 250.000 και η προβλεπόμενη τυπική απόκλιση αυτής της μέσης τιμής είναι ± 500 . Αν και τα δύο σφάλματα που αναφέρθηκαν διαφέρουν στους απόλυτους όρους (που είναι 5 σε 2500 counts και 500 σε 250.000 counts), και τα δύο έχουν το ίδιο σχετικό σφάλμα, που σύμφωνα με την εξίσωση 10 είναι 2‰ και στις δύο περιπτώσεις. [41]

6. Περιγραφή του λογισμικού spaceTOF

6.1. Εισαγωγή

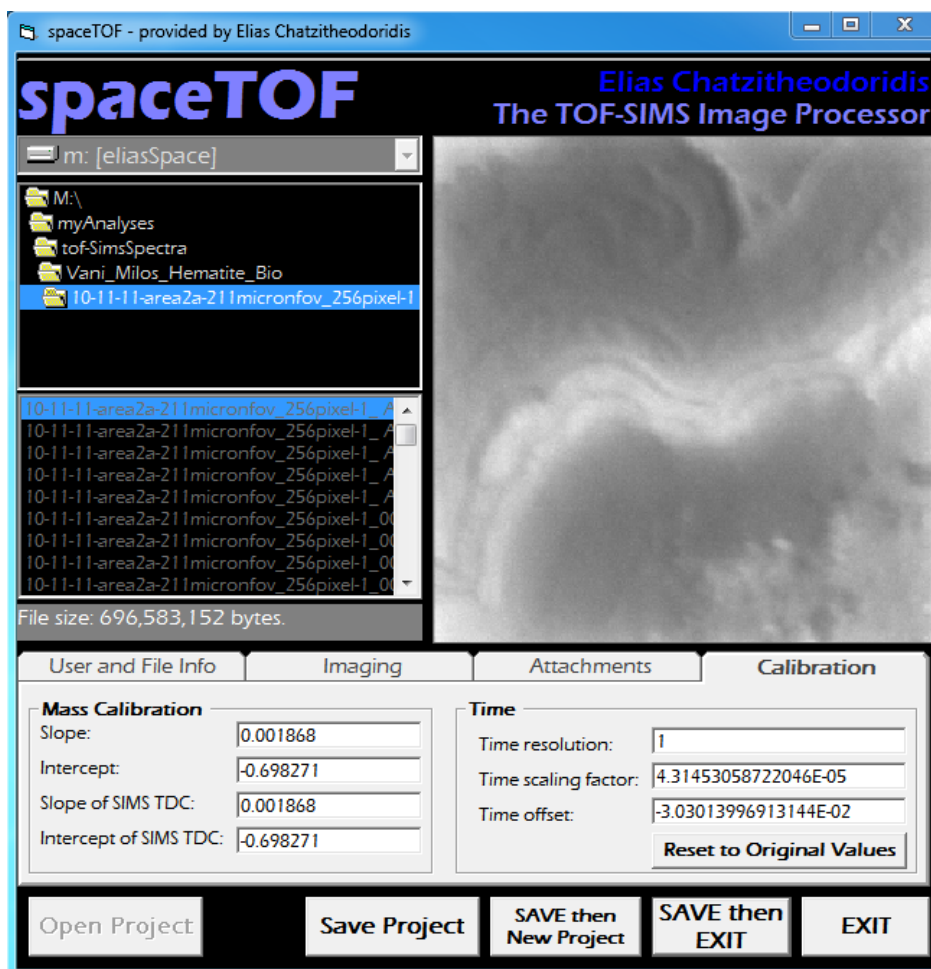
Κάθε ανάλυση με την τεχνική ToF-SIMS καταλήγει σε ένα ψηφιακό αρχείο αποτελεσμάτων μεγάλου όγκου και περιλαμβάνει ένα τρισδιάστατο πίνακα με αριθμούς (XYT), μία διάσταση εκ των οποίων αντιστοιχεί στο φάσμα μαζών που προκύπτει από την ανάλυση των σημείων της επιφάνειας του δείγματος, δηλαδή τις άλλες δύο διαστάσεις του πίνακα. Η τεχνική της σάρωσης σε συνδυασμό με το προφίλ βάθους (depth profile) οδηγεί σε έναν πίνακα αριθμών τεσσάρων διαστάσεων XYZT. Τα XYZ αντιστοιχούν σε συντεταγμένες σημείων από τον αναλυόμενο όγκο του δείγματος, που συνήθως είναι πολύ μικρός. Η τέταρτη διάσταση T αντιστοιχεί στο φάσμα των μαζών και έχει διαστάσεις χρόνου. Ο χρόνος μετατρέπεται σε μάζα με τον παρακάτω τύπο:

$$t = \frac{D}{\sqrt{2E}} * \sqrt{m}$$

(11)

Όπου t είναι ο χρόνος, D η απόσταση που διανύουν τα ιόντα από το δείγμα μέχρι το συλλέκτη και εξαρτάται από την σχεδίαση του αναλυτικού οργάνου, E η ένταση του πεδίου επιτάχυνσης των ιόντων και m η μάζα των ιόντων.

Ο πίνακας δεδομένων αποθηκεύεται σε ψηφιακά αρχεία ηλεκτρονικών υπολογιστών που το μέγεθός του πολλές φορές ξεπερνά το 0.5 Gigabyte. Η επεξεργασία τους γίνεται με ειδικά σχεδιασμένο λογισμικό που μπορεί να διαχειριστεί το μέγεθος αυτών των δεδομένων. Δύο τέτοια λογισμικά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία είναι το BioTOF (Winograd, Pennsylvania State University) με το οποίο έγινε η απόκτηση των δεδομένων από τον φασματογράφο μάζας και το spaceTOF (Εικόνα 20) το οποίο βοηθά στην επεξεργασία και την ερμηνεία των αναλύσεων.

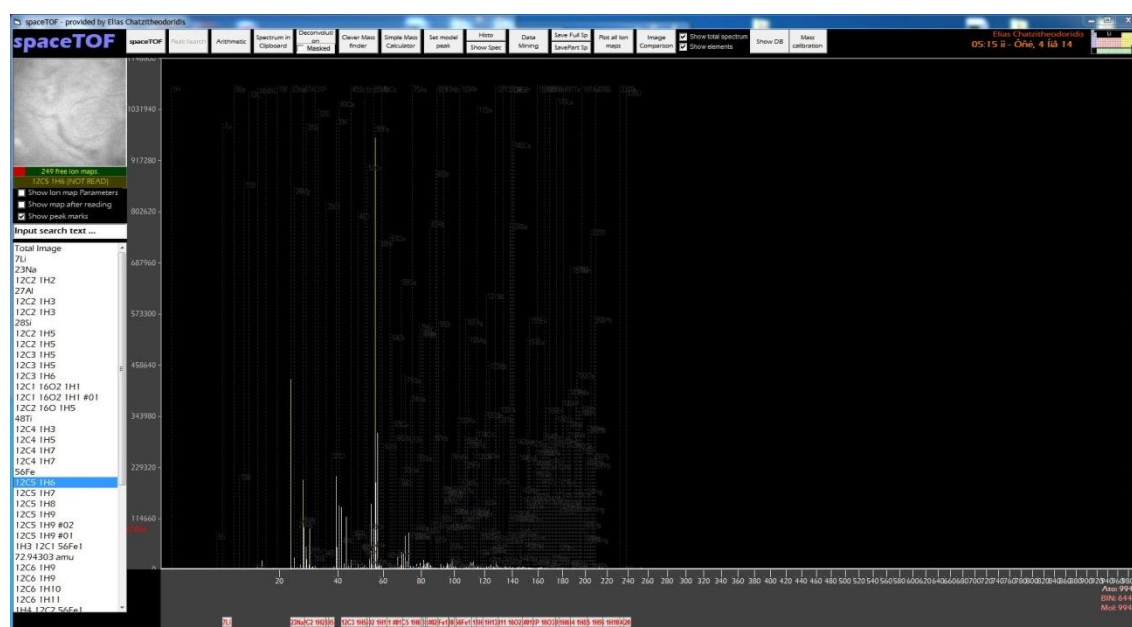


Εικόνα 20. Αρχικό παράθυρο προγράμματος spaceTOF με απεικόνιση του αματίτη της Μήλου.

Η επεξεργασία και η ερμηνεία γίνεται με το λογισμικό spaceTOF. Περιλαμβάνει την εξαγωγή και την εμφάνιση στην οθόνη του υπολογιστή ιοντικών χαρτών, δηλαδή δισδιάστατων απεικονίσεων της κατανομής ιόντων χημικών στοιχείων και των ενώσεών τους με τη μορφή εικόνων σε αποχρώσεις του γκρι, ή με κλίμακα ψευδοχρωμάτων. Δηλαδή, γίνεται εφικτή πλέον η απεικόνιση, σε νέους χάρτες, αναλογιών στοιχείων και των ισοτόπων τους έτσι ώστε να είναι δυνατή η εξαγωγή χρήσιμων τεχνολογικών, γεωχημικών και άλλων ερμηνειών, ανάλογα με το δείγμα που αναλύεται. Εργαλεία όπως ο καθορισμός μασκών (επιλογής συγκεκριμένης περιοχής του χάρτη), η δημιουργία γραφημάτων κατανομών στοιχείων και η δυνατότητα μαθηματικών πράξεων μεταξύ χαρτών, βοηθούν στον διαχωρισμό των διαφόρων φάσεων του δείγματος σε μικροκλίμακα και στην τελική ερμηνεία αυτού.

6.2. Περιγραφή και δυνατότητες του λογισμικού

Το συγκεκριμένο λογισμικό όπως αναφέρθηκε, βοηθάει στην επεξεργασία των φασμάτων που λαμβάνονται από το όργανο και τελικά στην εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων για το προς ανάλυση υλικό. Για την περιγραφή του συγκεκριμένου λογισμικού επιλέχθηκε ένα ορυκτολογικά μονοφασικό δείγμα, ένας αιματίτης από τη Μήλο. Το φάσμα των θετικών δευτερογενών ιόντων προκύπτει από τον βομβαρδισμό του δείγματος με μία πρωτογενή δέσμη ιόντων χρυσού ($^{197}\text{Au}^+$). Στο φάσμα μαζών του δείγματος, αποτυπώνονται τα χημικά στοιχεία που περιέχει σε ένα εύρος μαζών από 1, δηλαδή το υδρογόνο, έως περίπου 240 amu (Εικόνα 21).

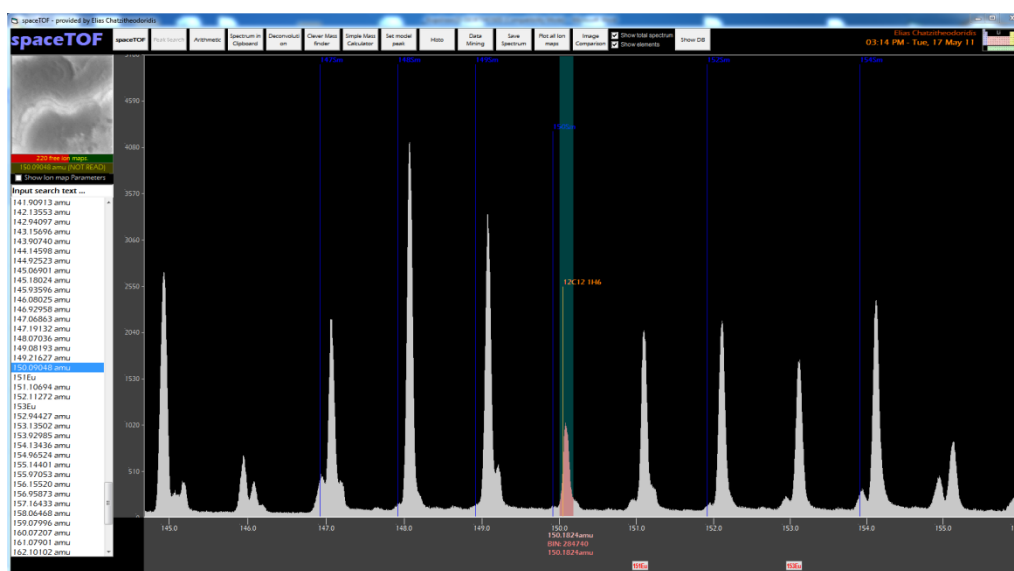


Εικόνα 21. Φάσμα αιματίτη.

Η απεικόνιση των φασμάτων γίνεται σε δύο διαστάσεις, με τον κάθετο άξονα να αντιπροσωπεύει τον αριθμό των ιόντων (ατομικών και μοριακών) που καταμετρήθηκαν από τον συλλέκτη στο συγκεκριμένο χρόνο καταμερισμού (20ns) που αντιστοιχεί στον οριζόντιο άξονα και έχουμε μετατρέψει σε μονάδες μάζας (amu –atomic mass units), ή ακριβέστερα μάζας προς φορτίο (m/z). Στην Εικόνα 21 παρουσιάζεται το φάσμα κατά μάζα του αιματίτη. Το λογισμικό έχει σημαντικό αριθμό εργαλείων για να υποβοηθή τον χρήστη σε πραγματικό χρόνο στην ερμηνεία των φασμάτων. Ένα τέτοιο εργαλείο είναι οι άσπρες κατακόρυφες γραμμές που αντιστοιχούν στα ατομικά ισότοπα των στοιχείων του περιοδικού πίνακα, αυτά που είναι κατά μάζα κοντύτερα στη μάζα που

βρίσκεται ο δείκτης του ποντικιού του υπολογιστή. Τα σχετικά τους ύψη αντιστοιχούν στην σχετική περιεκτικότητά τους στην φύση (natural abundance). Αντίστοιχα οι κίτρινες κατακόρυφες γραμμές αντιπροσωπεύουν κατά παρόμοιο τρόπο τα ιόντα των μορίων που έχουν καταχωρηθεί σε μια βάση δεδομένων, η οποία εμπλουτίζεται συνεχώς μιας και ο χρήστης κατά την εργασία του μπορεί να εισάγει σταδιακά νέες μάζες που αντιστοιχούν σε μοριακά ιόντα. Η βάση δεδομένων αυτή και η οργάνωσή της αποτελούν και μέρος της παρούσας έρευνας, και σε μεγάλο μέρος τους αντιστοιχούν σε αλληλοεπικαλύψεις ισοβαρών ατομικών ή μοριακών ιόντων (παρόμοια μάζα).

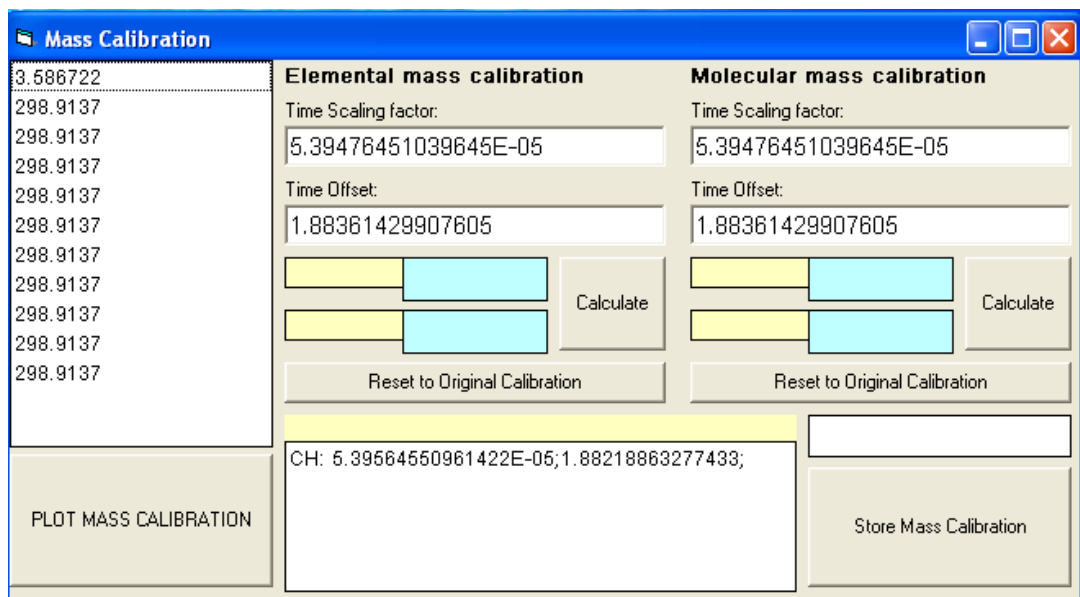
Από το παράδειγμα του φάσματος στην Εικόνα 22 παρατηρείται ότι η διακριτική ικανότητα του οργάνου περιορίζεται στις μεγάλες μάζες. Αυτό προκύπτει εύκολα από τον τύπο μετατροπής χρόνου πτήσης σε μάζα όπου φαίνεται η εξάρτηση της μάζας και του χρόνου από τη δύναμη του δύο. Στις μεγαλύτερες μάζες δηλαδή η σχετική διαφορά του χρόνου διαδρομής των βαρέων ιόντων μικραίνει με αποτέλεσμα τη συμπίκνωση των μαζών σε ένα συγκεκριμένο διάστημα χρόνου (time slot) των ηλεκτρονικών καταμέτρησης του οργάνου.



Εικόνα 22. Περιοχή φάσματος από 145 μέχρι 155 amu.

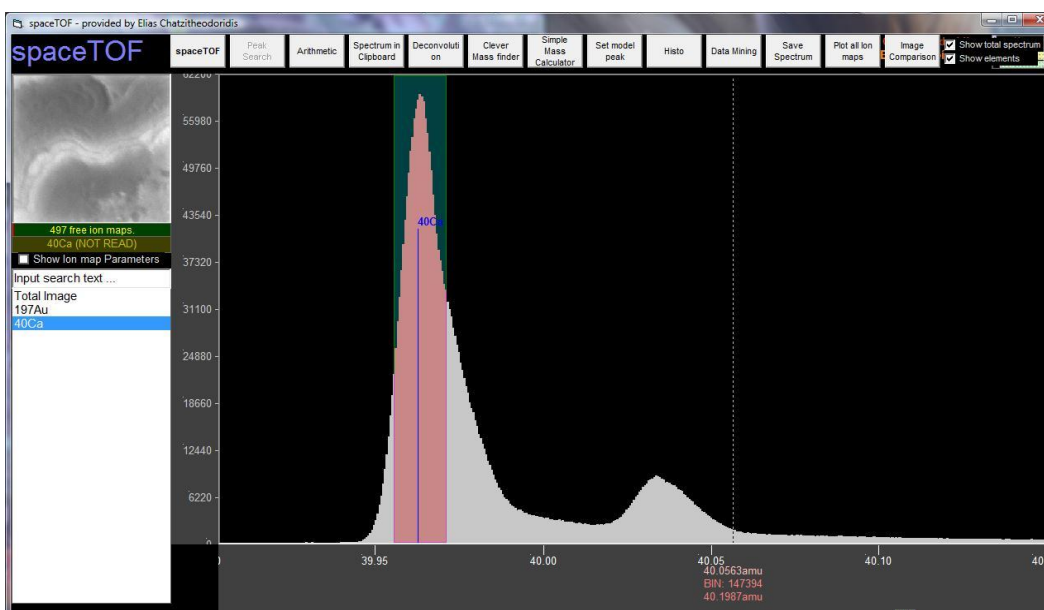
Η μετατροπή του οριζόντιου άξονα σε μάζα απαιτεί επιπλέον τη βαθμονόμηση (calibration) του φάσματος, ώστε να τοποθετούνται οι κορυφές των αναλυόμενων

ιόντων στην πραγματική τους μάζα (πάντα με βάση την αναλογία μάζας προς το φορτίο). Αυτό συνήθως εξασφαλίζεται με την επιλογή δύο στοιχείων τα οποία ταυτοποιούνται εύκολα, κυρίως γιατί δεν παρουσιάζουν παρεμβολές, ή γιατί αναγνωρίζονται εύκολα από τα ισότοπά τους και την σχετική αναλογία τους. Συνήθως η βαθμονόμηση που γίνεται σε διάφορα φάσματα, όπως επίσης και στο συγκεκριμένο φάσμα του αιματίτη, παρουσιάζει μία ιδιομορφία. Παρόλο που η επιλογή των δύο κορυφών και η ταυτοποίησή τους είναι σωστή, δεν σημαίνει ότι τα άλλα ιόντα ταυτοποιούνται πάντα πολύ εύκολα γιατί και πάλι δεν θα βρίσκονται ακριβώς στη μάζα που αναμένεται μετά τη βαθμονόμηση. Αυτό οφείλεται κυρίως στις ρυθμίσεις του οργάνου και ιδιαίτερα στον χρονισμό βομβαρδισμού και εξαγωγής των δευτερογενών ιόντων. Ταυτόχρονα, έχει παρατηρηθεί ότι η βαθμονόμηση που γίνεται με τη χρήση μονοατομικών ιόντων δεν ισχύει πάντα για τα πολυατομικά / μοριακά ιόντα. Από τα παραπάνω είναι προφανές ότι για την εύκολη ερμηνεία του φάσματος απαιτείται πολλαπλή βαθμονόμηση. Αυτό πιθανότατα εξαρτάται από τον τρόπο εξαγωγής και επιτάχυνσης των δευτερογενών ιόντων και μπορεί να διορθωθεί την ώρα της ανάλυσης. Κατά τη διάρκεια της εργασίας αυτής έγινε βελτίωση στο λογισμικό ώστε να είναι δυνατή η ξεχωριστή βαθμονόμηση των μοριακών από τα ατομικά ιόντα προκειμένου να είναι ορθότερη και ευκολότερη η ερμηνεία του φάσματος. Ακόμη προστέθηκε η δυνατότητα αποθήκευσης διαφορετικών μοριακών βαθμονομήσεων όπως φαίνεται και στην Εικόνα 23, όπου έχει αποθηκευτεί ξεχωριστή μοριακή βαθμονόμηση για τους υδρογονάνθρακες. Ειδικά για τη δεύτερη περίπτωση, ο χρήστης έχει την δυνατότητα αποθήκευσης και χρήσης πολλών διαφορετικών μοριακών βαθμονομήσεων κατά μάζα. Αυτό το εργαλείο αποδείχθηκε ιδιαίτερα χρήσιμο στην παρούσα εργασία όπου τα φάσματα απαιτούσαν πολλαπλές βαθμονομήσεις.

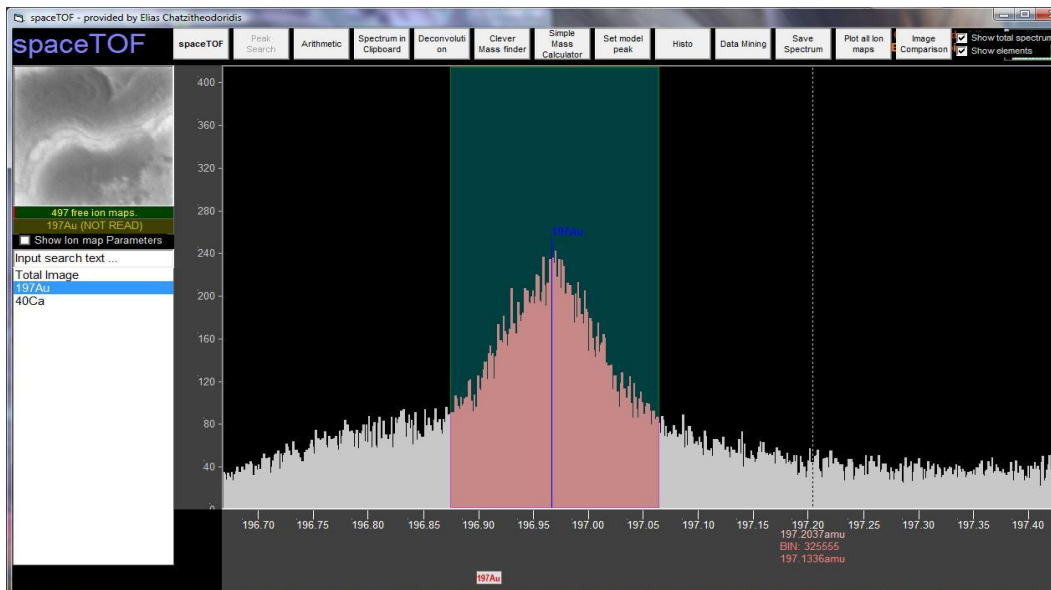


Εικόνα 23. Ατομική (αριστερά) και μοριακή (δεξιά) βαθμονόμηση μάζας.

Παρακάτω δίνεται ένα παράδειγμα για τον τρόπο επιλογής της βαθμονόμησης καθώς και η διαδικασία που ακολουθείται. Στη συγκεκριμένη περίπτωση επιλέχθηκε για τη βαθμονόμηση του φάσματος ένα ισότοπο του στοιχείου του ασβεστίου, ^{40}Ca (Εικόνα 24) και ο ^{197}Au , της πρωτογενούς δέσμης (Εικόνα 25).



Εικόνα 24. Η κορυφή του ^{40}Ca σύμφωνα με την οποία έγινε η βαθμονόμηση.



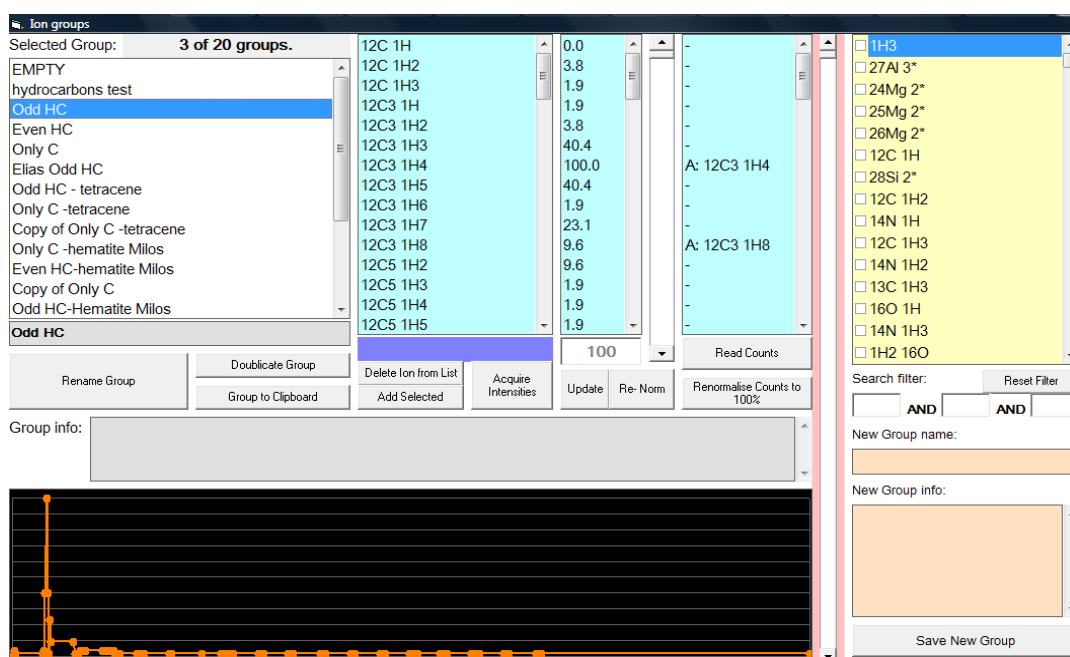
Εικόνα 25. Η κορυφή του ^{197}Au σύμφωνα με την οποία έγινε η βαθμονόμηση.

Αφού επιτευχθεί η βέλτιστη βαθμονόμηση, ακολουθεί μία από τις κύριες εργασίες, δηλαδή η ερμηνεία των φασμάτων με στόχο την ποιοτική ανάλυση του δείγματος. Το λογισμικό διαθέτει πληθώρα εργαλείων για αυτόν το σκοπό, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί κατά την διάρκεια της έρευνας αυτής. Πλέον, είναι δυνατόν να ταυτοποιηθούν τα ατομικά και μοριακά ιόντα που υπάρχουν στο αναλυόμενο υλικό. Αυτό γίνεται με τη βάση δεδομένων μοριακών ιόντων ή ατομικών ιόντων πολλαπλού φορτίου, η οποία εμπλουτίζεται συνεχώς. Μέρος της εργασίας αυτής ήταν και ο εμπλουτισμός της βάσης με δεδομένα από τη βιβλιογραφία.

Έχει παρατηρηθεί ότι χημικά όμοιες φάσεις δίνουν παρόμοιους συνδυασμούς πολυατομικών ιόντων, που αποτελούν θραύσματα των αρχικών φάσεων. Αποτελεί κεντρική ιδέα αυτής της εργασίας η διερεύνηση του εάν η αναζήτηση τέτοιων σχέσεων μπορεί να οδηγήσει στην ευκολότερη ερμηνεία και κατ' επέκταση στην ευκολότερη ταυτοποίηση των φάσεων των αναλυόμενων δειγμάτων. Δηλαδή, εάν ενισχύοντας την υπάρχουσα βάση δεδομένων, ώστε αυτή να αναζητά ομάδες ιόντων που αντιστοιχούν σε ομάδες κορυφών στο διάγραμμα μαζών και των σχετικών τους υψών, γίνεται η ταυτοποίηση φάσεων με μεγαλύτερη ακρίβεια, ταχύτητα και ευκολία.

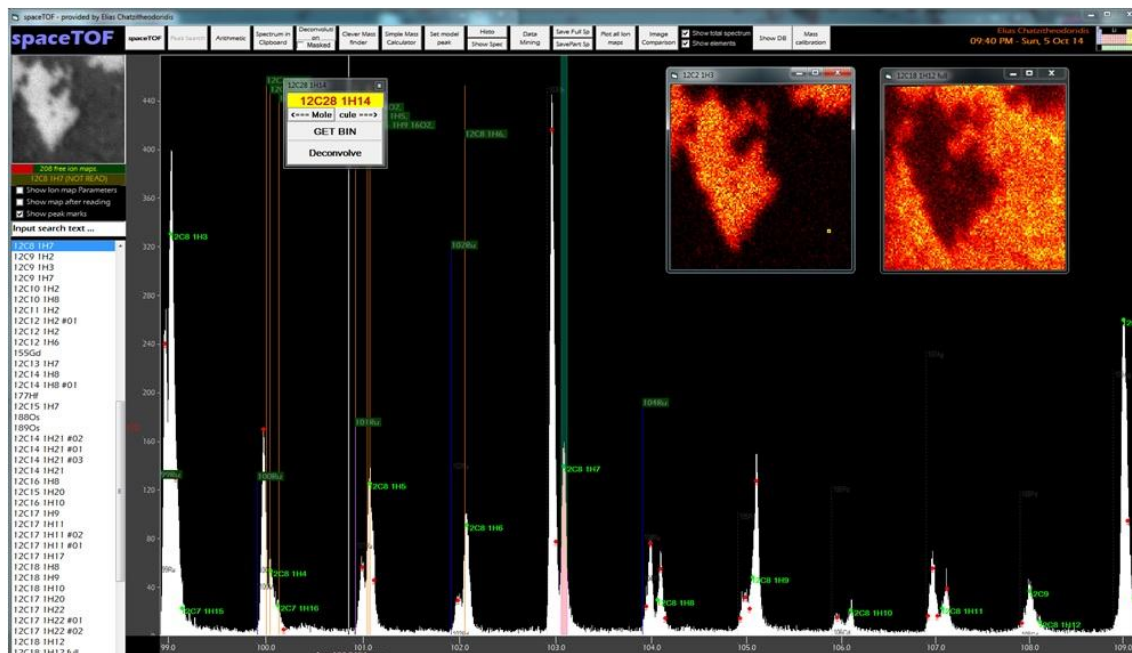
Ο παραπάνω στόχος οδήγησε στην ανάπτυξη και προσθήκη στο υπάρχον λογισμικό ενός ακόμη εργαλείου που να δίνει τη δυνατότητα δημιουργίας ομάδων μέσα

από τη βάση δεδομένων, τις οποίες καθορίζει ο χρήστης (Εικόνα 26). Οι ομάδες των ιόντων που δημιουργούνται, μπορούν και υφίστανται επεξεργασία ώστε να ρυθμίζονται οι σχετικές περιεκτικότητες των μελών της κάθε ομάδας σαν κορυφές με σχετικά ύψη επί τοις εκατό. Παράλληλα, η ίδια εφαρμογή εμφανίζει την κατανομή των ιόντων της επιλεγμένης ομάδας σε ένα ιστόγραμμα. Με βάση αυτά τα μοτίβα που εξάγονται είναι εφικτές οι συγκρίσεις των ίδιων ομάδων στα διαφορετικά δείγματα.



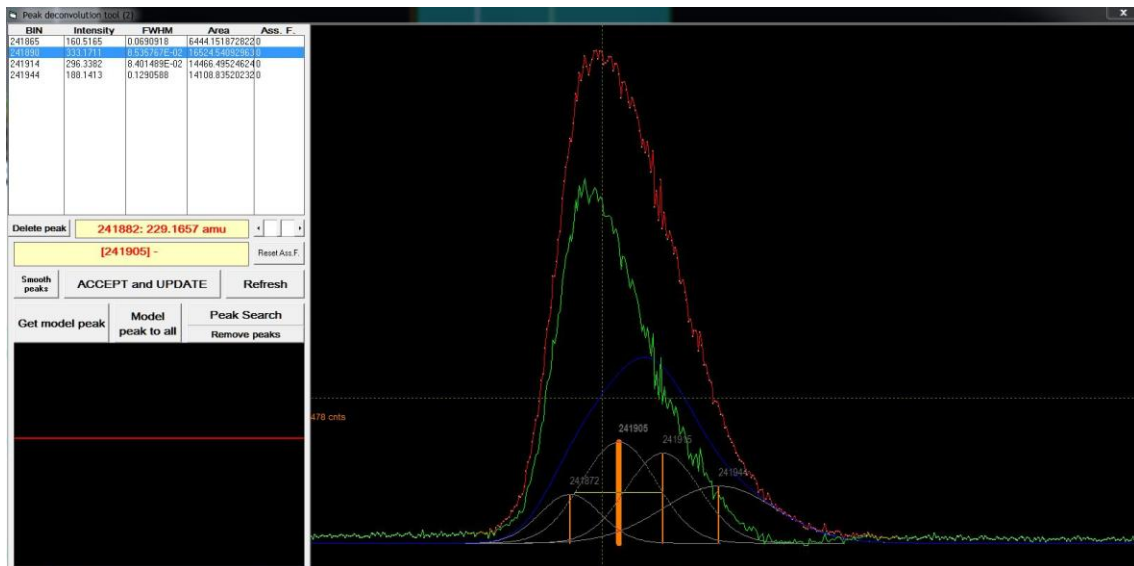
Εικόνα 26. Βάση δεδομένων όπου γίνεται ομαδοποίηση ιόντων.

Άλλη σημαντική λειτουργία του προγράμματος είναι η εξαγωγή ιοντικών χαρτών (ion maps) (Εικόνα 27). Οι χάρτες αυτοί είναι δύο διαστάσεων και η εικόνα η οποία δημιουργείται στην οθόνη του υπολογιστή εμφανίζεται αρχικά σε διαβαθμίσεις του γκρι ή εάν το ορίσει ο χρήστης σε άλλα συγκεκριμένα χρώματα (ψευδοχρώματα). Οι διαβαθμίσεις των χρωμάτων δείχνουν τη σχετική περιεκτικότητα του δείγματος στο εκάστοτε ιόν (ατομικό ή μοριακό). Για τη βέβαιη ύπαρξη ενός στοιχείου στο δείγμα μπορεί να γίνει χρήση των ιοντικών χαρτών, παρατηρώντας την ομοιότητα των εικόνων των ισοτόπων του.

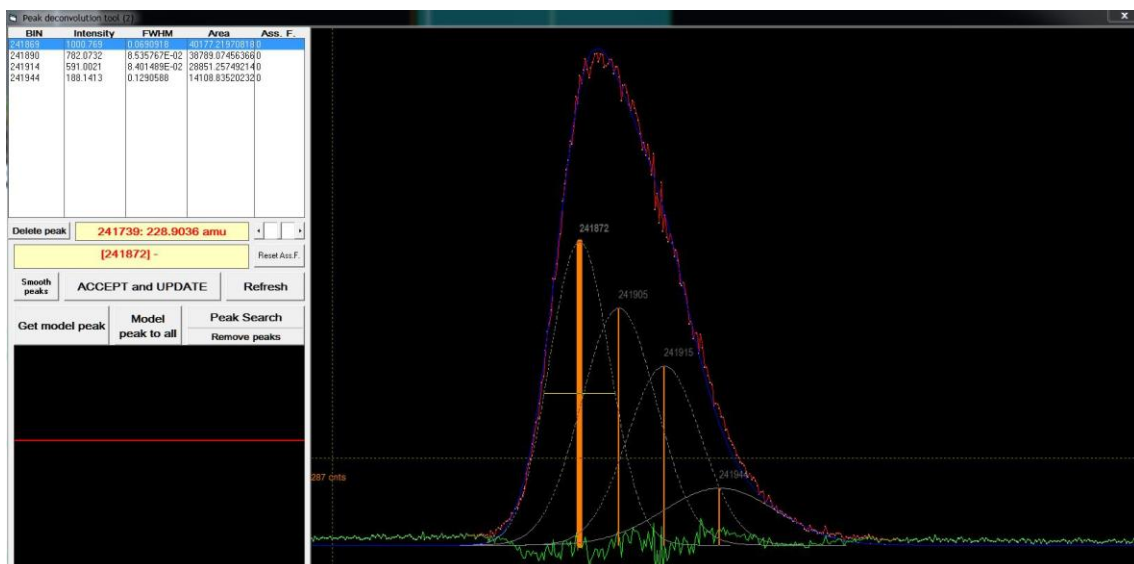


Εικόνα 27. Ιοντικοί χάρτες των $^{12}\text{C}_2\text{H}_3$ και $^{12}\text{C}_{18}\text{H}_{12}$.

Σημαντική δυνατότητα του προγράμματος για την επεξεργασία των φασμάτων είναι η τεχνική του deconvolution. Μέσω αυτής της διαδικασίας, διαχωρίζονται αλληλεπικαλυπτόμενες κορυφές και διαπιστώνεται σε πιο ακριβώς σημείο του φάσματος αντιστοιχεί το στοιχείο που επιλέγεται ως υποψήφιο για προσδιορισμό. Είναι σημαντικό βεβαίως για την ερμηνεία των φασμάτων να μπορεί να εξακριβωθεί εάν η εκάστοτε καμπύλη που εξετάζεται είναι τελικά ένας συνδυασμός ενός ή περισσότερων κορυφών και μάλιστα σε τι απόσταση βρίσκονται αυτές μεταξύ τους και ποια είναι η ένταση και το πλάτος της κάθε κορυφής. Στις παρακάτω εικόνες 28 & 29 φαίνονται 4 επιλεγμένες κορυφές, κατά την διάρκεια της τεχνικής του deconvolution και μετά την ολοκλήρωση του deconvolution αντίστοιχα.



Εικόνα 28. Οι 4 επιλεγμένες κορυφές κατά την διάρκεια της τεχνικής του deconvolution.



Εικόνα 29. Οι 4 επιλεγμένες κορυφές μετά την ολοκλήρωση της τεχνικής του deconvolution.

Η τεχνική του deconvolution σε συνδυασμό με την επεξεργασία των εικόνων βοηθά τελικά στον ουσιαστικό προσδιορισμό των κορυφών των στοιχείων στο φάσμα και στη διάκρισή τους από τις επικαλύψεις τους.

Μία επιπλέον λειτουργία είναι το «clever mass finder» όπου προσδιορίζονται συνδυασμοί στοιχείων και ενώσεων που πιθανόν περιέχονται στο συγκεκριμένο δείγμα. Το λογισμικό συνδυάζει τις μάζες αυτών των στοιχείων και δημιουργεί - επιλέγει τα

μοριακά ιόντα με μάζες μέσα σε ένα στενό εύρος της ζητούμενης μάζας. Έπειτα, ο χρήστης επιλέγει από την λίστα των αποτελεσμάτων συνδυασμούς που είναι λογικοί, σύμφωνα με την εμπειρία του και σε σχέση πάντα με την αναμενόμενη χημεία του δείγματος και τις σώζει στη βάση δεδομένων, ώστε να μπορεί να τις χρησιμοποιήσει στο μέλλον. Η συγκεκριμένη λειτουργία είναι ιδιαίτερα εύχρηστη.

6.3. Παράδειγμα επεξεργασίας του φάσματος ζirkονίου

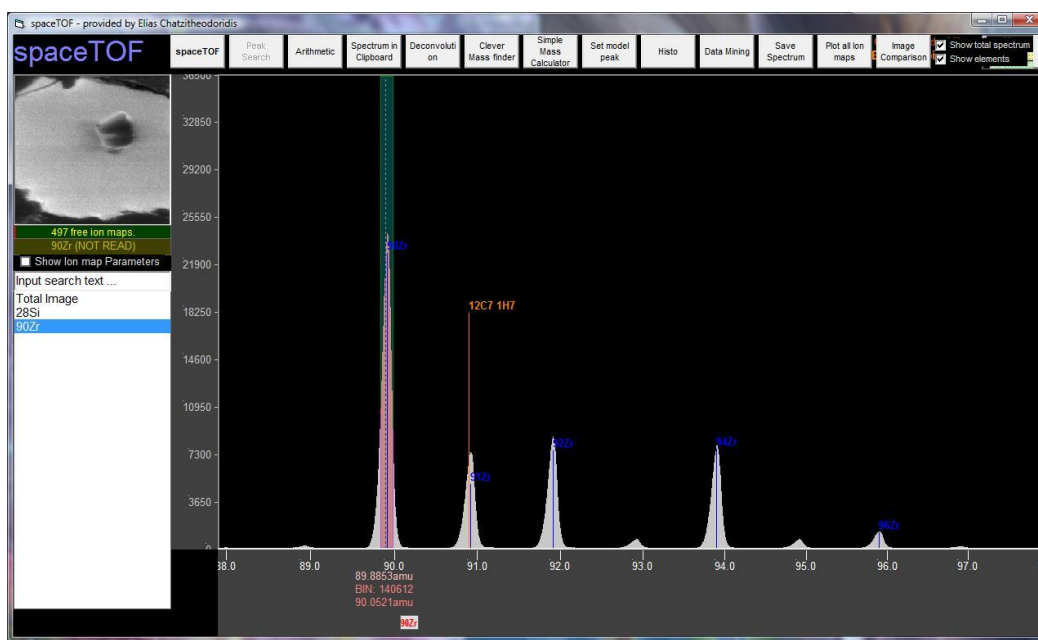
Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η τεχνική ToF-SIMS είναι μία αναπτυσσόμενη μέθοδος ανάλυσης. Οι πληροφορίες που δίνει, δεν είναι μέχρι στιγμής εύκολα ερμηνεύσιμες. Αυτό φαίνεται καθαρά σε όλα τα φάσματα μάζας που μελετάμε. Όπως αναφέρθηκε ήδη στο θεωρητικό μέρος της εργασίας αυτής στην ίδια μάζα, μπορεί να εμφανίζονται πάνω από ένα ιόντα, κάτι πολύ συχνό. Έτσι οι παρεμβολές σε ένα φάσμα παραμορφώνουν τις κύριες κορυφές είτε αυξάνοντας το πλάτος αυτών ή το ύψος ή και τα δύο. Ο διαχωρισμός και η απόφαση για το πόσες και ποιες κορυφές ανήκουν στα αντίστοιχα ιόντα αποτελούν μία περίπλοκη διαδικασία που μπορεί σε απόλυτα συμμετρικές κορυφές να αντιμετωπιστεί με μαθηματικό τρόπο (π.χ. με ανάλυση Fourier). Ωστόσο η συχνή ασυμμετρία των κορυφών δεν δίνει πάντα σωστά αποτελέσματα και ο διαχωρισμός πρέπει να γίνει αναλύοντας το σχήμα γειτονικών κορυφών χωρίς παρεμβολές και συγκρίνοντας με την προς ανάλυση περιοχή κορυφών. Αυτή η δυνατότητα δίνεται από το λογισμικό spaceTOF.

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το φάσμα του ζirkονίου. Οι κορυφές τόσο των ισοτόπων του ζirkονίου όσο και των οξειδίων τους και των υδριδίων τους δεν είναι καθαρές αλλά ενισχύονται από τις κορυφές και άλλων ενώσεων. Αρχικά γνωρίζοντας την έντονη παρουσία του ζirkονίου στο δείγμα, αναζητούμε στο φάσμα τις κορυφές των ισοτόπων του ζirkονίου προκειμένου να προσδιοριστούν τα συγκεκριμένα εμβαδά και μέσω της αφαίρεσης τους από το ολικό, να παρθεί απόφαση για το ποιο ιόν ή ποια ιόντα αντιστοιχούν στην εναπομένουσα κορυφή.

Τα ισότοπα του ζirkονίου είναι τα ακόλουθα με τις αντίστοιχες αναλογίες τους στη φύση: ^{90}Zr (51,45 %), ^{91}Zr (11,32 %), ^{92}Zr (17,19 %), ^{94}Zr (17,28 %) και ^{96}Zr (2,76 %). Αν και το ισότοπο με τη μεγαλύτερη αναλογία στη φύση είναι το ^{90}Zr ,

επιλέγοντας την κορυφή που του αντιστοιχεί, παρατηρείται ότι οι κορυφές των υπόλοιπων ισοτόπων δεν ταυτίζονται με τις αντίστοιχες αναλογίες τους στη φύση. Μάλιστα είναι τόσο μεγάλες που δεν δικαιολογούν κλασμάτωση κάτω από φυσικές διαδικασίες. Αυτές οι διαφορές απαιτούν την αυξομείωση των αναλογιών μέσω λειτουργίας του λογισμικού spaceToF προκειμένου να βρεθεί η κατάλληλη αναλογία μεταξύ των ισοτόπων. Στο συγκεκριμένο φάσμα αυτό συμβαίνει όταν υπάρχει ταύτιση των φυσικών αναλογιών των ^{94}Zr και ^{96}Zr με το ύψος των αντίστοιχων κορυφών.

Αν λοιπόν γίνει αποδεκτό ότι όντως οι κορυφές του φάσματος για τις μάζες 94 και 96 amu αντίστοιχα ανήκουν αποκλειστικά στα δύο αυτά ισότοπα του ζirkονίου, τότε διαπιστώνεται ότι η κορυφή για το ^{90}Zr περιέχει και κάποιο άλλο ιόν, μιας και είναι μεγαλύτερη από αυτή που θα αναμενόταν (Εικόνα 30).

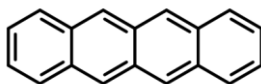


Εικόνα 30. Περιοχή του φάσματος όπου φαίνονται όλα τα ισότοπα του ζirkονίου. Διακρίνονται τα ^{94}Zr και ^{96}Zr χωρίς παρεμβολές και επομένως στην κορυφή του ισοτόπου με τη μεγαλύτερη αναλογία στη φύση, του ^{90}Zr , φαίνεται πως παρεμβάλλεται κάποιο άλλο ιόν.

7. Περιγραφή Δειγμάτων


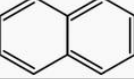
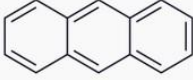
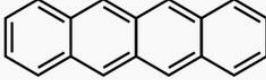
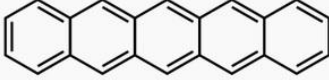
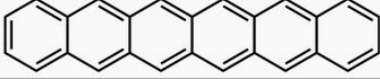
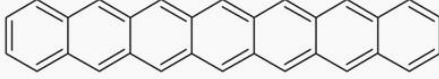
7.1. Tetracene

Το tetracene ή naphthacene είναι ένας πολύ-κυκλικός αρωματικός υδρογονάνθρακας (PAH) με χημικό τύπο $C_{18}H_{12}$. Η μέση μοριακή του μάζα είναι 228.288 Da. Χρησιμοποιείται σαν οργανικός μοριακός ημιαγωγός σε οργανικά τρανσίστορς (OFETs) και σε οργανικές φωτεινές πηγές (OLEDs). Ο συντακτικός-δομικός τύπος του φαίνεται στην Εικόνα 31. [69] Αποτελείται από 4 δακτυλίους βενζολίου.



Εικόνα 31. Συντακτικός τύπος Tetracene [69]

Ανήκει στα acenes ή polyacenes τα οποία είναι μία τάξη οργανικών στοιχείων και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων αποτελούμενα από γραμμικά συγχωνευμένους δακτυλίους βενζολίου (κύριο χαρακτηριστικό είναι η γραμμική διάταξη των δακτυλίων). Στην παρακάτω Εικόνα 32 κατηγοριοποιούνται τα πρώτα 7 acenes.

Name	Molecular formula	Number of rings	Molar mass	CAS number	Structural formula
Benzene	C_6H_6	1	78.11 g/mol	71-43-2	
Naphthalene	$C_{10}H_8$	2	128.17 g/mol	91-20-3	
Anthracene	$C_{14}H_{10}$	3	178.23 g/mol	120-12-7	
Tetracene	$C_{18}H_{12}$	4	228.29 g/mol	92-24-0	
Pentacene	$C_{22}H_{14}$	5	278.35 g/mol	135-48-8	
Hexacene	$C_{26}H_{16}$	6	328.41 g/mol	258-31-1	
Heptacene	$C_{30}H_{18}$	7	378.46 g/mol	258-38-8	

Εικόνα 32. Τα πρώτα 7 μέλη των Acenes με βάση τον αριθμό των δακτυλίων βενζολίου.

Οι κρύσταλλοι Tetracene έχουν μία όψη κίτρινο-πορτοκαλί σκόνης όπως φαίνεται στην παρακάτω Εικόνα 33.



Εικόνα 33. Σκόνη κρυστάλλων Tetracene.

Η επιλογή του υλικού αυτού έγινε γιατί είναι πλέον γνωστό πως οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες έχουν σχηματιστεί ήδη στο σύμπαν από την αρχή της γένεσής του και συσχετίζονται με νέα αστέρια και εξωπλανήτες. Η NASA έχει ήδη ανιχνεύσει πλήθος τέτοιων ενώσεων στο διάστημα και πιστεύεται ότι το 20% των ενώσεων άνθρακα στο σύμπαν είναι πιθανώς PAHs. Επίσης είναι πιθανό να αποτελούν και τα αρχικά υλικά για τον σχηματισμό της ζωής.

7.2. Αιματίτης

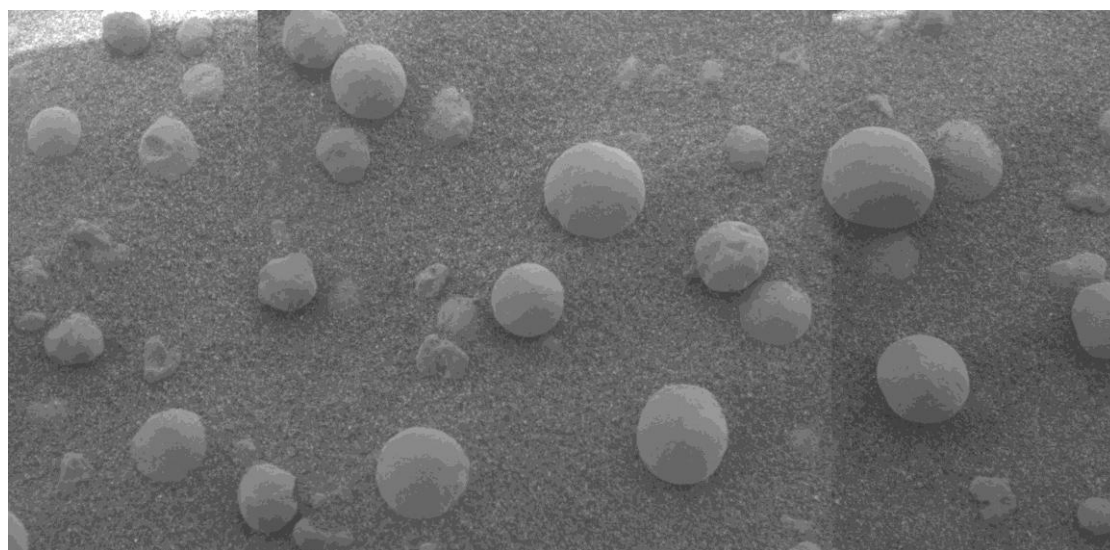
Ο αιματίτης που μελετήθηκε προέρχεται από το Ακρωτήριο Βάνι της Νήσου Μήλου (στην Ελλάδα), ένα ακρωτήριο στα βόρειο-δυτικά του νησιού. (Εικόνα)



Εικόνα 34. Η Νήσος Μήλος στην Ελλάδα, το ακρωτήριο (Cape) Βάνι στον χάρτη της Μήλου & φωτογραφία από μεταλλεία μαγγανίου στο Βάνι. (από Google maps)

Οι βιολογικές ή αβιοτικές διεργασίες της γένεσης ιζηματογενών πετρωμάτων πλούσιων σε σίδηρο, κυρίως αποτελούμενο από αιματίτη, έναν σημαντικό δείκτη για την «εξωβιολογία» (Exobiology), παραμένουν άλυτο επιστημονικό πρόβλημα [54, 55]. Σε έναν σχηματισμό σιδηρούχου κοιτάσματος, ο αιματίτης είναι κυρίως αποτέλεσμα μετά-αποθετικών ή διαγενετικών αργών διαδικασιών. Πάραυτα, οι μηχανισμοί οξείδωσης του σιδήρου (βιολογικών έναντι μή-βιολογικών) κατά την παρούσα περίοδο δεν έχουν προσδιοριστεί με βεβαιότητα [56, 57]. Επίσης, είναι γνωστό ότι γκρί σφαιρολιθικός αιματίτης νανοφάσης (μέγεθος-nm), που έχει σχηματιστεί ταυτόχρονα από βιοτικές και αβιοτικές διεργασίες υδατικών ρευστών στην Γή, έχει προσδιοριστεί

φασματοσκοπικά στην επιφάνεια του πλανήτη Άρη, και αύξησε την πιθανότητα ρευστού νερού και βιολογικής δραστηριότητας στον πλανήτη [55]. (Εικόνα 35) [53]

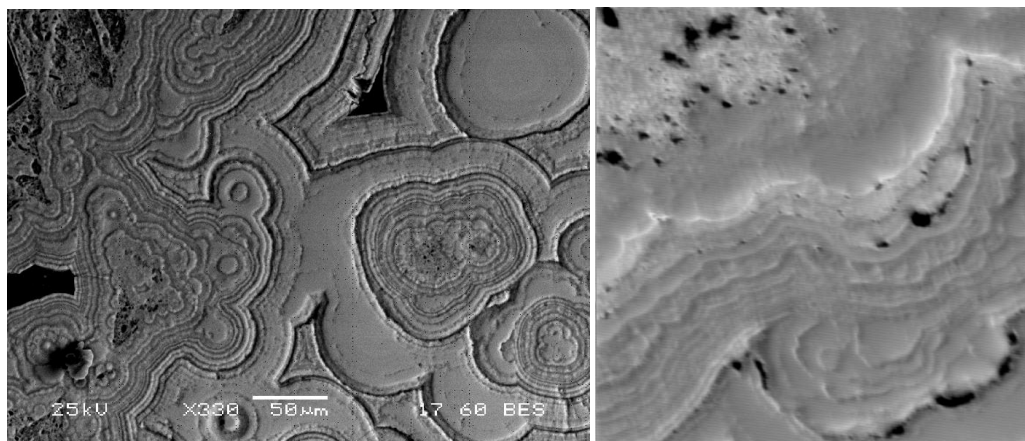


Εικόνα 35. Μωσαϊκό εικόνων από το Mars Exploration Rover Microscopic Imager απεικονίζει Σφαιρίδια Αιματίτη (Hematite Spherules) ή “Berries” μερικώς ενσωματωμένα στο πέτρωμα στο σημείο προσεδάφισης του Opportunity (2003). Η εικόνα δείχνει μια περιοχή 5cm σε πλάτος. [53]

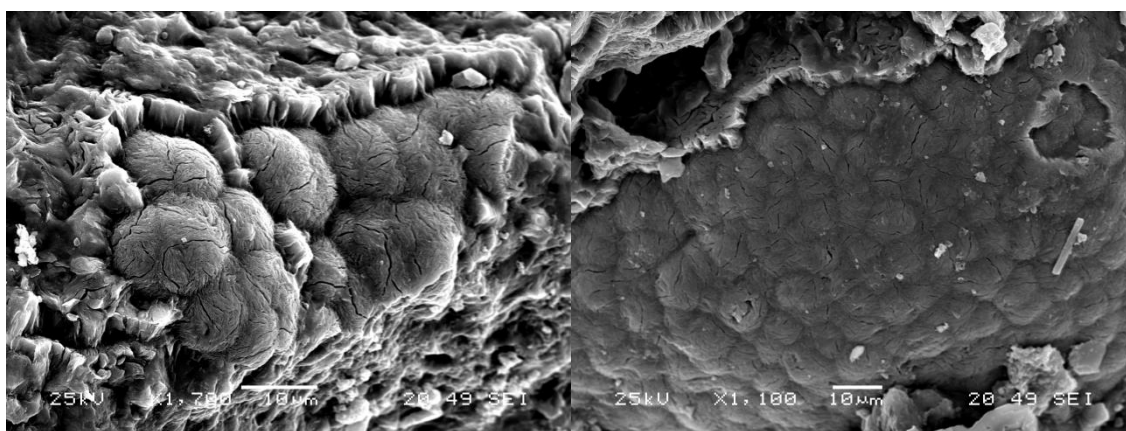
Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκε ένας συνδυασμός αναλυτικών μεθόδων με σκοπό τον προσδιορισμό της χωρικής κατανομής και της σύστασης εν δυνάμει γεωβιολογικών δεικτών (π.χ. μικροβιακά μικροαπολιθώματα, ιχνοστοιχεία, οργανικές ιοντικές ενώσεις) σε αιματιτικούς μικροστρωματόλιθους και μικροδομές από αιματίτη που μοιάζουν με oncolites (ονκόλιθους) [58]. Οι μικροδομές αυτές προσδιορίστηκαν σε υλικό πλούσιο σε σίδηρο που αποτελεί συνδεδετικό υλικό παράλιου κροκαλοπαγούς Τεταρτογενούς ηλικίας από την ευρύτερη περιοχή του ακρωτηρίου Βάνι, στη ΒΔ Μήλο.

Οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν συμπεριλαμβάνουν οπτική μικροσκοπία, ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης και μικροανάλυση (SEM-EDS) (Εικόνες 36 & 37), φασματοσκοπία micro-Raman (Εικόνα 38) και φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης δευτερογενών ηλεκτρονίων (TOF-SIMS). Στην Εικόν δίνονται δύο φωτογραφίες οπισθοσκεδαζόμενων δευτερογενών ηλεκτρονίων, εκ των οποίων η αριστερή έγινε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Jeol 6480LV της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων-Μεταλλουργών), ενώ η δεξιά προέκυψε από τον βομβαρδισμό με την ιοντική δέσμη του οργάνου ToF-SIMS και τον αντίστοιχο αισθητήρα δευτερογενών ηλεκτρονίων που είναι εγκατεστημένος σε αυτό. Περαιτέρω ανάλυση & ερμηνεία του φάσματος που εξήχθη από το όργανο ToF-SIMS γίνεται σε επόμενο κεφάλαιο. Το

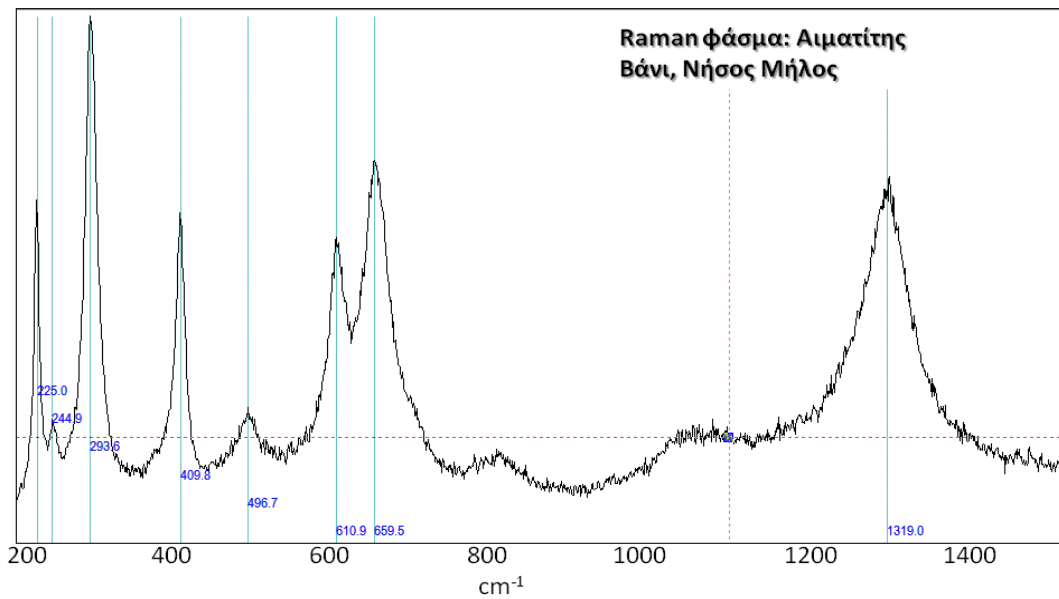
δείγμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν στιλπνές τομές συνδεδετικού Τεταρτογενούς αιματίτη από το κοίτασμα Mn- Fe (Ba) στο Cape Vani, της Νήσου Μήλου στην Ελλάδα, το οποίο έχει απολιθωμένες αποικίες κυανοβακτηρίων. (Εικόνα 37)



Εικόνα 36. Αριστερά: Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου από στιλπνή τομή του αιματίτη από το Βάνι Μήλου που δείχνει έντονη μορφολογία βιογενούς προέλευσης. Δεξιά: εικόνα δευτερογενών ηλεκτρονίων από τον ίδιο αιματίτη που παράχθηκε με το όργανο ToF-SIMS.



Εικόνα 37: Εικόνες SEM από βακτηριακές αποικίες , απολιθωμένων με αιματίτη (Βάνι, Μήλος)



Εικόνα 38. Φάσμα Raman του αιματίτη από το Βάνι, Μήλου.

Η μελέτη των αιματιτικών μικροστρωματόλιθων του ακρωτηρίου Βάνι μπορεί να συμβάλει α) στην κατανόηση των λειτουργιών των μικροοργανισμών στην γένεση τόσο σύγχρονων όσο και παλαιών κοιτασμάτων σιδήρου και β) στο να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για τη ύπαρξη σιδηρούχων βίο-υλικών στη Γη, και για την ανίχνευση τους σε εξωγήινα υλικά.

8. Ερμηνεία Φασμάτων Δειγμάτων

Η ερμηνεία των φασμάτων που λαμβάνονται από αναλυτές ToF-SIMS απαιτεί προσπάθεια επειδή τα φάσματα μάζας έχουν πολύ μεγάλο αριθμό κορυφών. Επίσης είναι αρκετά περίπλοκη λόγω εξωγενών παραγόντων όπως για παράδειγμα η λανθασμένη ρύθμιση του οργάνου που έκανε την ανάλυση του δείγματος, αλλά και ενδογενών όπως οι παρεμβολές μάζας και το μεγάλο πλήθος κορυφών που εμφανίζονται γύρω από κάθε ακέραια μονάδα μάζας.

Προηγούμενες μελέτες συμπερασματικά κατέληξαν ότι είναι δυνατή η ερμηνεία με λεπτομέρεια φασμάτων μάζας TOF-SIMS, όμως η ερμηνεία απαιτεί ισχυρό αποκλειστικό λογισμικό που θα διαχειριστεί τις πληροφορίες [18] και μια τέλεια βαθμονόμηση (calibration) μαζών [59]. Μόνον τότε η πλήρως αυτόματη ερμηνεία μπορεί να επιτευχθεί και να καταλήξει επίσης σε λεπτομερειακά χημικά μοτίβα (chemical patterns) τα οποία θα μπορούν να είναι χρήσιμα στην ερμηνεία βιοϋπογραφών.

Προς το παρόν, στην βιβλιογραφία, η ερμηνεία των βιοϋπογραφών εκτελείται χρησιμοποιώντας έναν μικρό αριθμό χαρακτηριστικών κορυφών οι οποίες συγκρίνονται με καθαρές, ανόθευτες, απομονωμένες βιοχημικές φάσεις, συχνά υποβοηθούμενες από τεχνικές στατιστικής, ή από χαρακτηρισμό-ταυτοποίηση συγκεκριμένων μορίων. Οι βιοχημικές φάσεις για τις οποίες έχει διεξαχθεί συστηματική έρευνα στην βιβλιογραφία περιλαμβάνουν πρωτεΐνες και αμινοξέα [60], εξωκυτταρικά πολυμερή συστατικά [62], λιπίδια σε ιστούς και κύτταρα [63, 64, 65, 66, 67], και PAHs (πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες) σε μετεωρίτες [68, 61].

Έχουμε συγκεντρώσει όλες τις διαθέσιμες κατά την παρούσα περίοδο πληροφορίες από την βιβλιογραφία και τις έχουμε συνδυάσει με την υπάρχουσα βάση δεδομένων η οποία έχει αναπτυχθεί στο εργαστήριο μας. Η προσπέλαση αυτής της βάσης δεδομένων γίνεται δια του αποκλειστικού προγράμματος “spaceTOF” το οποίο διαχειρίζεται τα φάσματα μάζας ToF-SIMS και βοηθά στην ερμηνεία [18]. Αυτή είναι μία αξιόλογη προσπάθεια, ειδικά όταν αναλογίζεται κάποιος την έλλειψη δεδομένων

αναφοράς και ποιο συγκεκριμένα των συστατικών που θα είχαν ενδιαφέρον για την αστροβιολογία [66]. Στο Παράρτημα 3 επισυνάπτεται το νέο μέρος της βάσης δεδομένων που συλλέχθηκε από την βιβλιογραφία για την παρούσα εργασία.

Δοκιμάζουμε την βάση δεδομένων σε νέα, υψηλής ανάλυσης δεδομένα που έχουν αποκτηθεί από:

A) το δείγμα Tetracene, το οποίο χρησιμοποιούμε ως δοκιμαστικό δείγμα.

B) στιλπνές τομές συνδεδετικού Τεταρτογενούς αιματίτη από το κοίτασμα Mn- Fe (Ba) στο Cape Vani, της Νήσου Μήλου στην Ελλάδα [58], το οποίο έχει απολιθωμένες αποικίες κυανοβακτηρίων.

Στην συνέχεια ομαδοποιούμε τα οργανικά μόρια παρόμοιας φύσης και συγκρίνουμε τα αποκτηθέντα μοτίβα έντασης. Αυτά τα μοτίβα στην γενική τους εμφάνιση είναι πολύ συστηματικά μεταξύ διαφορετικών δειγμάτων. Εντούτοις, υπάρχει προοπτική για μια ποιο επακριβή ερμηνεία όταν ψάχνουμε για μικρές διαφορές στο πλήρες σύνολο των κορυφών των μαζών από τα μοριακά είδη.

Σε αυτό το κεφάλαιο θα αναλυθούν τα φάσματα από τα δείγματα Tetracene και Αιματίτη που έχουν περιγραφεί στο προηγούμενο κεφάλαιο. Στόχος είναι η σύγκριση ομάδων ομοειδών μοριακών ιόντων μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων που μπορούν να αποτελέσουν ερμηνεύσιμη χημική υπογραφή, ή πιθανότατα βιοϋπογραφή, λόγω της κοινής τους προέλευσης, π.χ. μόλυνση, ή παγιδευμένη οργανική ύλη από τη διάσπαση μικρο-οργανισμών.

Το όργανο TOF-SIMS που χρησιμοποιήθηκε σε αυτήν την μελέτη είναι το όργανο "IDLE" και περιγράφεται με λεπτομέρεια από τον Henkel et al. (2006). Η ανάλυση του φάσματος μάζας του αιματίτη αποκτήθηκε από το sputtering με παλλόμενη δέσμη πρωτογενούς ιόντος χρυσού ($^{197}\text{Au}^+$) ρυθμισμένου στα 25kV επιταχυνόμενης τάσης. Η αντίστοιχη δέσμη πρωτογενούς ιόντος για το δείγμα του Tetracene ήταν Fullerene C_{60} species. Το μέγεθος της δέσμης ήταν περίπου 1μm, καθορίζοντας την χωρική ανάλυση των αποκτηθέντων ιοντικών χαρτών. Το πρόγραμμα χειρισμού και δημιουργίας των ιοντικών χαρτών είναι το "spaceTOF" [18] του οποίου οι δυνατότητες ταυτοποίησης των περισσότερων ατομικών και μοριακών ιόντων που εμπεριέχονται στο εκάστοτε φάσμα έχουν ήδη περιγραφεί. Σε κάθε φάσμα

επισημαίνονται οι παρεμβολές μάζας καθώς και το εμβαδόν κάθε ιόντος με αξιοποιήσιμη ένταση κορυφής. Η επιφάνεια των δειγμάτων πάντα καθαριζόταν επιμελώς πριν από την ανάλυση με sputtering συνεχούς ιοντικής δέσμης σε κατάσταση σάρωσης (scanning mode).

Με τη μέθοδο διαχωρισμού εμβαδών παραπλήσιων κορυφών, βρέθηκαν οι κυριότερες, από πλευράς έντασης κορυφών, παρεμβολές μάζας σε ατομικά ιόντα σε ένα φάσμα για κάθε ένα από τα δείγματά μας. Δόθηκε έμφαση στις εντάσεις των υδρογονανθράκων και στις υπογραφές τους. Επίσης κρίθηκε σκόπιμος ο διαχωρισμός υδρογονανθράκων με μονό και με ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα μιας και τα αποτελέσματα του deconvolution ήταν αρκετά ενδιαφέροντα.

Στην συνέχεια τα φάσματα μάζας αναλύθηκαν και με τη βοήθεια δύο νέων εργαλείων του λογισμικού “spaceTOF”. Τα εργαλεία αυτά είναι η σωστή και ξεχωριστή βαθμονόμηση για τα ατομικά και τα μοριακά ιόντα και η ομαδοποίηση των ιόντων (ion groups) π.χ. υδρογονάνθρακες.

Η ανάλυση των μοριακών θραυσμάτων επικεντρώνεται σε τρεις ομάδες:

A) Ομάδες ατόμων άνθρακα C_n

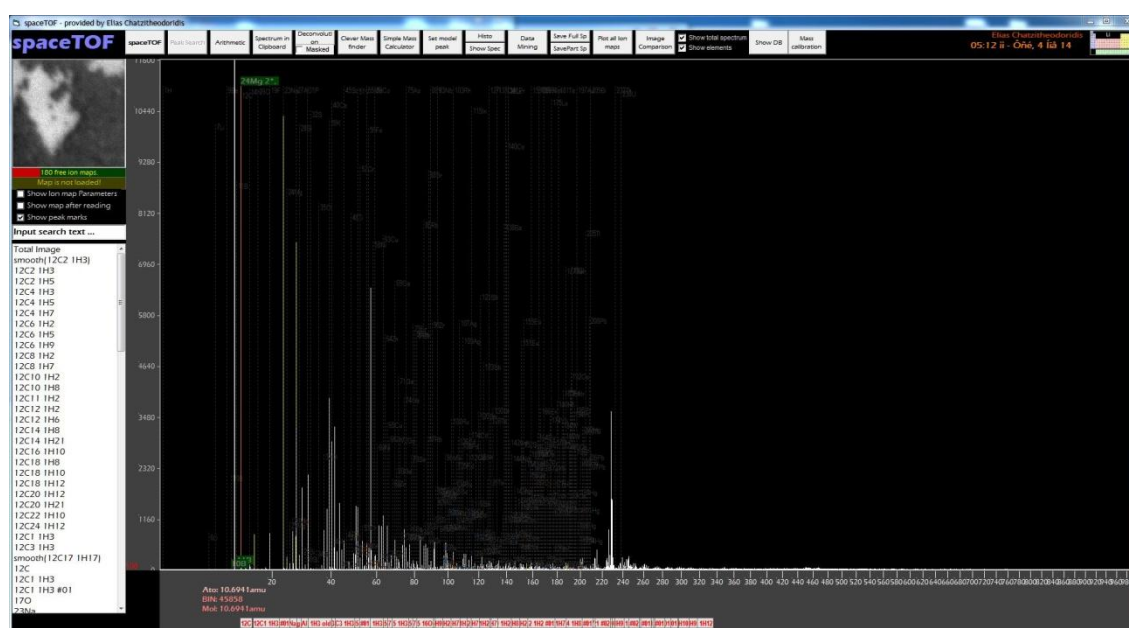
B) Θραύσματα με ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα $C_{2n}H_x$ για $n = 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10\dots$

Γ) Θραύσματα με μονό αριθμό ατόμων άνθρακα $C_{2n+1}H_x$ για $n = 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10\dots$

Για τη χρήση της δυνατότητας ομαδοποίησης ιόντων απαιτείται κυρίως η βαθμονόμηση μάζας των υδρογονανθράκων. Η ξεχωριστή βαθμονόμηση των υδρογονανθράκων διαπιστώθηκε ότι είναι απαραίτητη. Στη βάση δεδομένων δημιουργήθηκαν δύο διαφορετικές ομάδες υδρογονανθράκων, μία με μονό αριθμό ατόμων άνθρακα και μία με ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα, καθώς και μία ομάδα ανθράκων για κάθε δείγμα ξεχωριστά. Οι σχετικές περιεκτικότητες των μελών της κάθε ομάδας ρυθμίστηκαν σαν κορυφές με σχετικά ύψη επί τοις εκατό. Η κατανομή των ιόντων της κάθε ομάδας εμφανίστηκε σε ένα ιστόγραμμα και βάσει αυτών των υπογραφών έγιναν συγκρίσεις των ίδιων ομάδων στα διαφορετικά δείγματα.

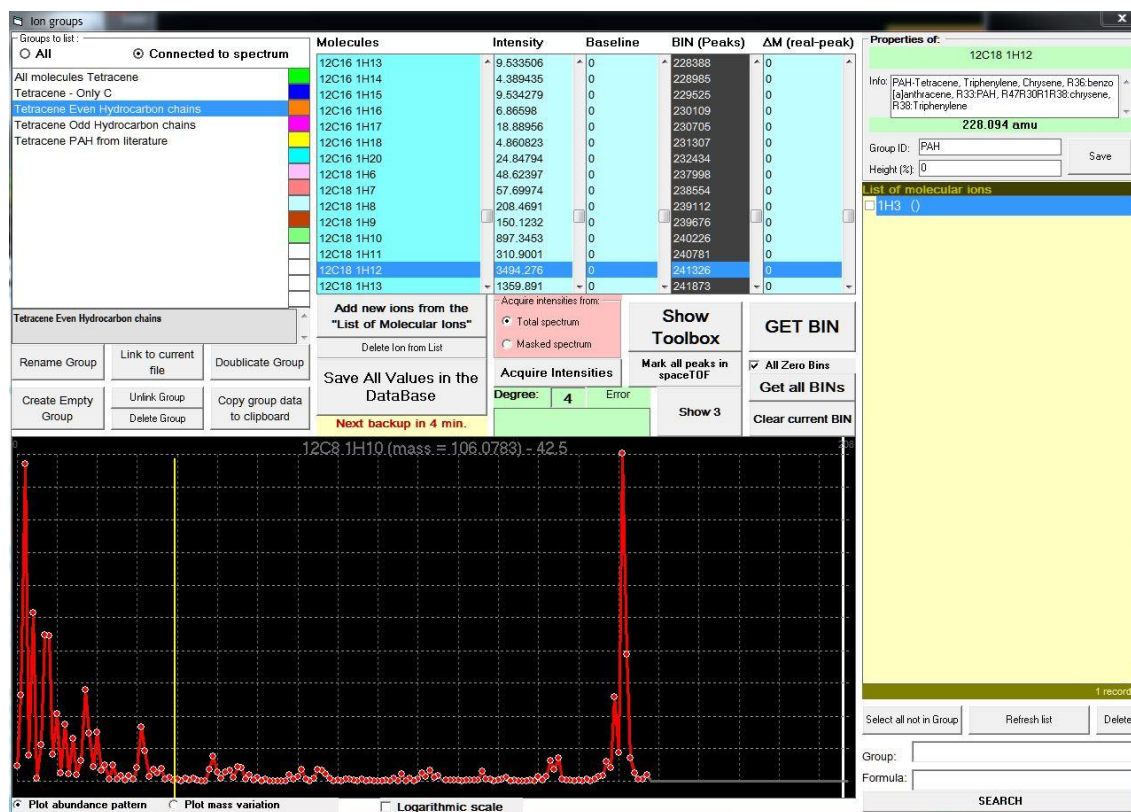
8.1. Φάσμα Tetracene – C₁₈ H₁₂

Αναλύθηκε ένα φάσμα του Tetracene που αποτελεί το δοκιμαστικό μας υλικό. Έγινε διαχωρισμός των μαζών για κάθε κορυφή του φάσματος ξεχωριστά με αποτέλεσμα την εύρεση των σπουδαιότερων παρεμβολών μάζας αλλά και αρκετά καλές προσεγγίσεις κυρίως των εμβადών των υδρογονανθράκων που αποτελούν και το καίριο ενδιαφέρον της ερμηνείας. Το φάσμα του Tetracene φαίνεται ενδεικτικά στην Εικόνα 39. Για τη βαθμονόμηση κατά μάζα των ατομικών ιόντων έγινε χρήση της πρωτογενούς δέσμης fullerene C₆₀ species, με τη μεθοδολογία που έχει ήδη αναφερθεί.



Εικόνα 39. Φάσμα του δείγματος Tetracene.

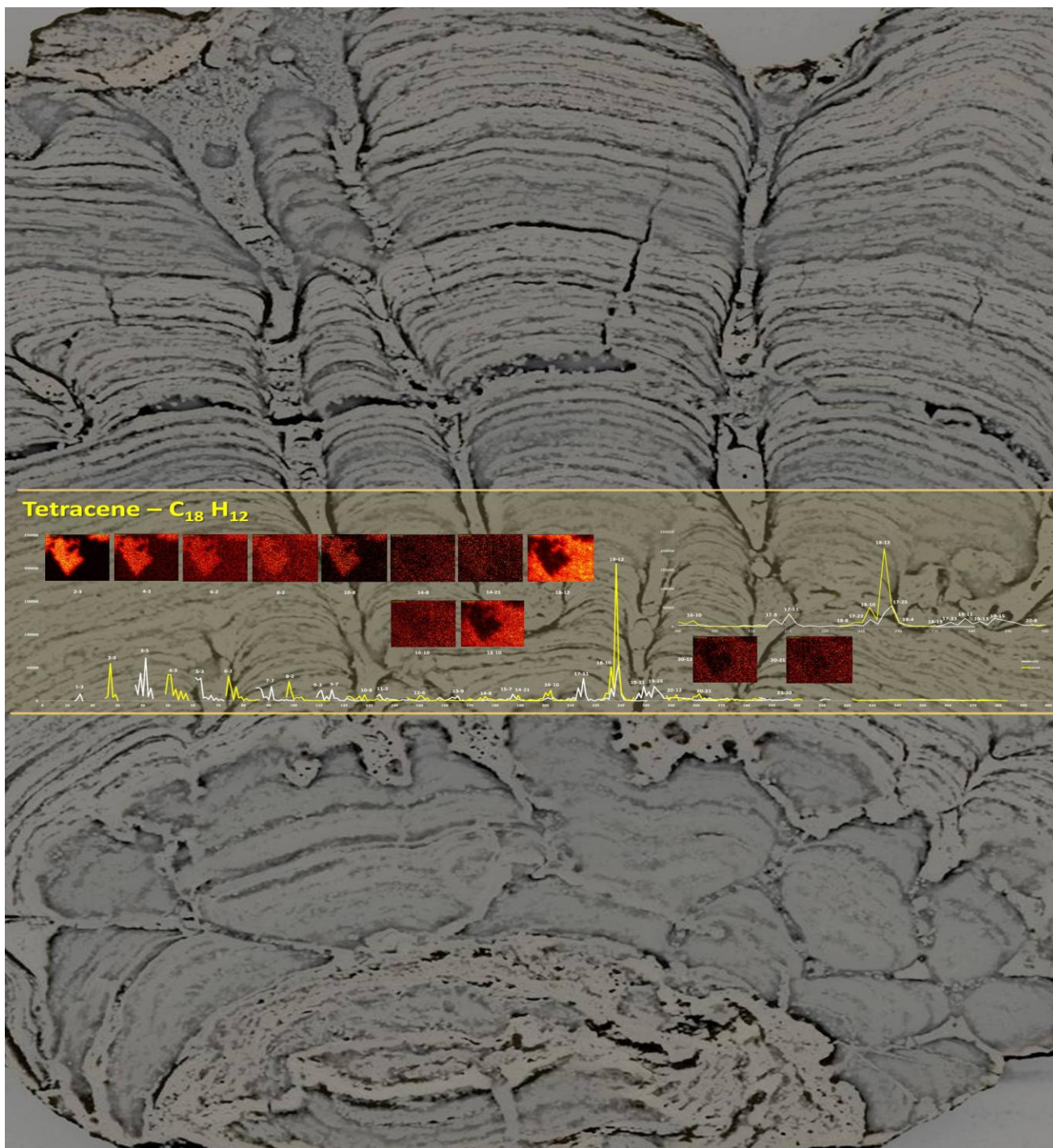
Στην παρακάτω Εικόνα 40, φαίνεται ένα μέρος της βάσης δεδομένων που έχει δημιουργηθεί όπου γίνεται η ομαδοποίηση των ιόντων με βάση τον ζυγό ή μονό αριθμό ατόμων άνθρακα, με την μέθοδο που αναλύθηκε σε παραπάνω παράγραφο.



Εικόνα 40. Βάση δεδομένων όπου γίνεται ομαδοποίηση ιόντων

Παρακάτω έχει δημιουργηθεί ένα Διάγραμμα στην Εικόνα 41 όπου φαίνεται η σύνθεση των χημικών/ισοτοπικών χαρτών των κύριων στοιχείων από το δείγμα Tetracene. Όλες οι κορυφές έχουν προσαρμοστεί με την Γκαουσιανή καμπύλη και έχει γίνει η γραφική παράσταση των μαζών (οριζόντιος άξονας) έναντι των εμβαδών των κορυφών (κάθετος άξονας).

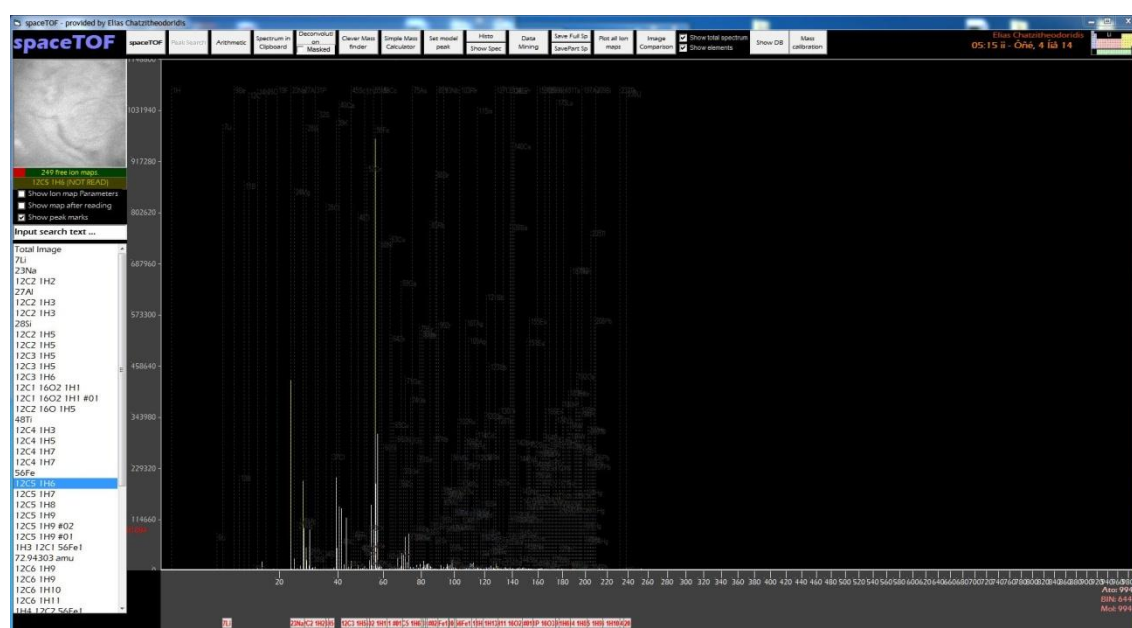
Οι εικόνες ιόντων (ιοντικοί χάρτες) και τα μοτίβα ιόντων (διαγράμματα) φανερώνουν μία μείξη μεταξύ των θραυσμάτων του Tetracene (κεντραρισμένα στο $^{12}\text{C}_{18}\text{H}_{12}$) και υδρογονανθράκων (κεντραρισμένοι στο $^{12}\text{C}_3\text{H}_5$). Οι υδρογονάνθρακες σχηματίζονται πιθανότατα από την διαίρεση των Fullerene C_{60} species, το οποίο χρησιμοποιείται ως ιόν βομβαρδισμού (πρωτογενής πηγή). Κάποια μόλυνση δεν πρέπει να αποκλείεται, μολονότι δεν είναι πρόδηλη σε αυτό το διάγραμμα.



Εικόνα 41. Διάγραμμα μαζών και ονοματολογία υδρογονανθράκων με ζυγό (κίτρινη γραμμή) και μονό (άσπρη γραμμή) αριθμό ατόμων άνθρακα. Οι ιοντικοί χάρτες δείχνουν την διαφοροποίηση μεταξύ υδρογονανθράκων που προκύπτουν από δύο διαφορετικές πηγές (π.χ. μόλυνση περιβάλλοντος για τις χαμηλές μάζες, και tetracene για τις υψηλές μάζες π.χ. στη θέση 18-12). Το ένθετο διάγραμμα είναι μεγέθυνση του φάσματος στην θέση μαζών που εμφανίζεται η ουσία tetracene.

8.2. Φάσμα αιματίτη

Αναλύθηκε ένα φάσμα αιματίτη από το ακρωτήρι Βάνι της Μήλου. Έγινε διαχωρισμός των μαζών για κάθε κορυφή του φάσματος ξεχωριστά με αποτέλεσμα την εύρεση των σπουδαιότερων παρεμβολών μάζας αλλά και αρκετά καλές προσεγγίσεις κυρίως των εμβαδών των υδρογονανθράκων που αποτελούν και το καίριο ενδιαφέρον της ερμηνείας. Το φάσμα του αιματίτη φαίνεται ενδεικτικά στην Εικόνα 42. Για τη βαθμονόμηση κατά μάζα των ατομικών ιόντων έγινε χρήση της πρωτογενούς δέσμης του χρυσού (Au) με τη μεθοδολογία που έχει ήδη αναφερθεί.



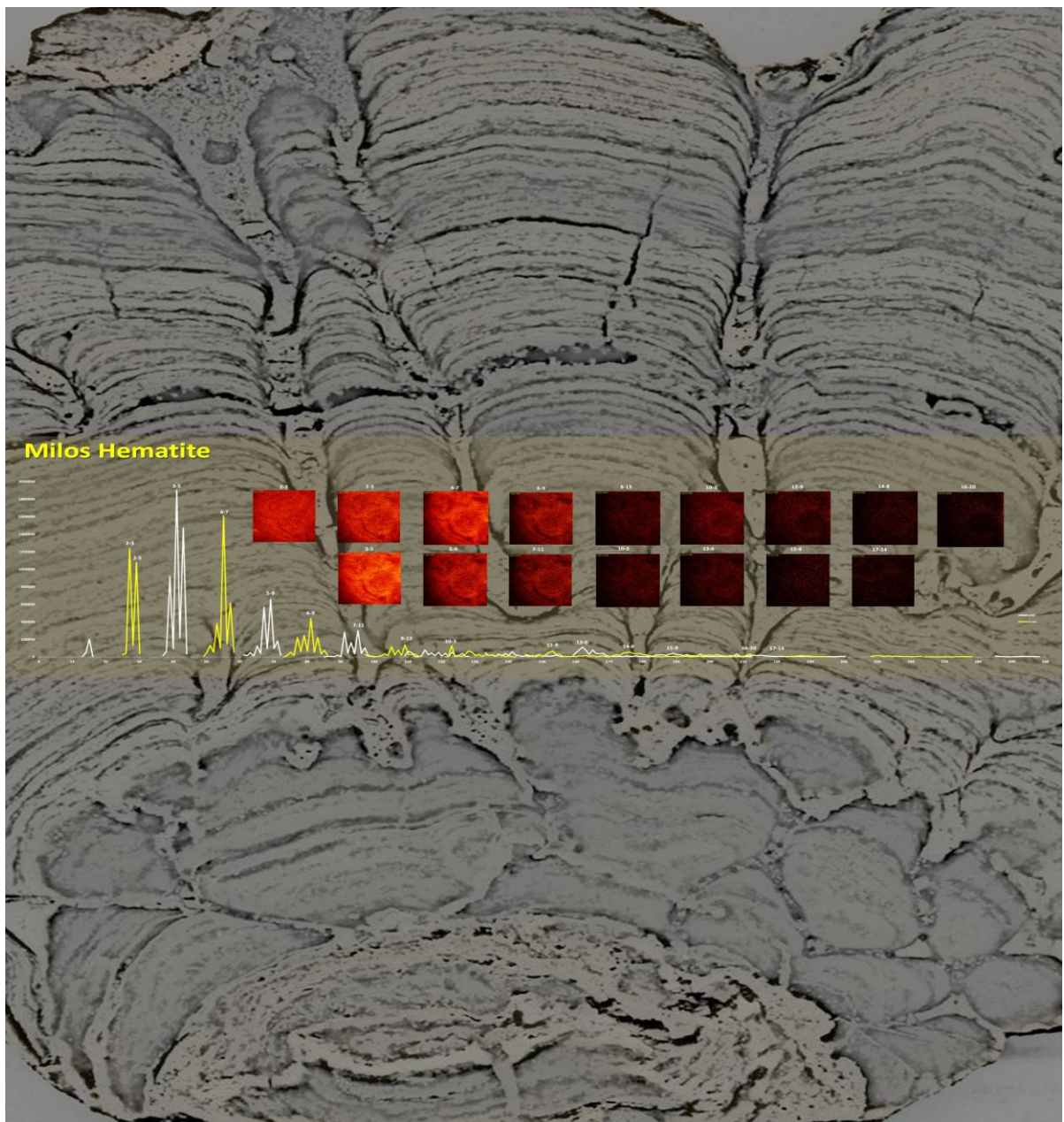
Εικόνα 42. Φάσμα του δείγματος Αιματίτη.

Για τα οργανικά θραύσματα, μετά από σειρά ελέγχων και ταυτοποιήσεων καταλήξαμε σε δεύτερη βαθμονόμηση ειδικά για αυτά, κάνοντας χρήση των υψηλότερων και ποιο απομακρυσμένων κορυφών του φάσματος. Έτσι στα φάσματα αιματίτη τα κυριότερα μοριακά θραύσματα που αναγνωρίστηκαν ήταν: C_2H_3 , C_2H_5 , C_3H_3 , C_3H_4 , C_3H_5 , C_3H_6 , C_3H_7 , C_4H_5 , C_4H_6 , C_4H_7 , C_4H_8 , C_4H_9 , C_5H_8 , C_5H_9 , C_5H_{10} , C_6H_9 , C_7H_9 , C_7H_{11} , C_8H_{13} , $C_{10}H_3$, όπως φαίνεται στο διάγραμμα της Εικόνας 43. Επίσης στο ίδιο διάγραμμα φαίνεται η σύνθεση των χημικών/ισοτοπικών χαρτών των κύριων στοιχείων από το δείγμα αιματίτη. Όλες οι κορυφές έχουν προσαρμοστεί με την Γκαουσιανή καμπύλη και έχει γίνει η γραφική παράσταση των μαζών (οριζόντιος άξονας) έναντι των εμβαδών των κορυφών (κάθετος άξονας).

Στο διάγραμμα του αιματίτη παρατηρείται ένα πλήρες σετ υδρογονανθράκων τόσο με μονό όσο και με ζυγό αριθμό ανθράκων. Παρατηρούνται υπολογίσιμα ποσοστά υδρογονανθράκων και στα ελαφριά θραύσματα αλλά και στα πιο βάρια. Τα ελαφριά θραύσματα συνήθως αποτελούν μόλυνση, αλλά η ύπαρξη υδρογονανθράκων στην περιοχή μάζας 20amu με 150amu δηλώνει την παρουσία οργανικής ύλης, όπως οργανικά μακρομόρια, πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) κ.α.. Σε αυτήν την περιοχή αλλά και σε μεγαλύτερες μάζες θα γίνει και η αναζήτηση βιοϋπογραφών πιο εμπειριστατωμένα στο μέλλον, μιας και μέχρι στιγμής με την υπάρχουσα τεχνολογία λαμβάνονται μόνο ενδείξεις από την ερμηνεία των φασμάτων και όχι αποδείξεις.

Συγκρίνοντας τις σχετικές εντάσεις του φάσματος συμπεραίνεται ότι ο αιματίτης αποτελείται από υδρογονάνθρακες με μέχρι και έξι άνθρακες. Παρατηρούνται ακόμη θραύσματα υδρογονανθράκων και μετά τη μάζα των 60amu (βαριά θραύσματα υδρογονανθράκων), δηλαδή είναι πιθανή η ύπαρξη οργανικών μακρομορίων αλλά και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs). Τα μεγάλα οργανικά μόρια αποτελούν ενδείξεις βιοϋπογραφών, δηλαδή ενδείξεις για την ύπαρξη ζωής στο συγκεκριμένο δείγμα είτε στο παρόν είτε και στο παρελθόν. Αυτό το συμπέρασμα μπορεί να οδηγήσει στο μέλλον στην επιβεβαίωση της ένδειξης βιοϋπογραφών.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα της Εικόνας 43, ο συνδυασμός εικόνων ιόντων (ion images) και μοτίβων ιόντων (ion patterns) καταδεικνύει μία μονή πηγή για τους υδρογονάνθρακες, η οποία κεντράρεται στο $^{12}\text{C}_3^1\text{H}_5$. Σε αυτήν την περίπτωση, δεν αναμενόταν καμία συνεισφορά από την πρωτεύουσα δέσμη, καθώς αυτή ήταν χρυσός (Au). Η δομή από τις εικόνες των ιόντων υποδηλώνει ότι οι υδρογονάνθρακες είναι εγγενείς (εσωτερικοί) στο δείγμα και κατά πάσα πιθανότητα δεν είναι μόλυνση.



Εικόνα 43. Διάγραμμα μαζών και ονοματολογία υδρογονανθράκων με ζυγό (κίτρινη γραμμή) και μονό (άσπρη γραμμή) αριθμό ατόμων άνθρακα. Οι ιοντικοί χάρτες δείχνουν ότι δεν υπάρχει διαφοροποίηση μεταξύ των δύο ομάδων υδρογονανθράκων, άρα προέρχονται από την ίδια πηγή.

Συμπεράσματα

Η παρούσα εργασία είχε τους επόμενους βασικούς στόχους διερεύνησης:

- Να βρει τον καταλληλότερο τρόπο για να βαθμονομεί τα φάσματα μάζας που προκύπτουν από την τεχνική ανάλυσης ToF-SIMS. Αυτό διευκολύνει ιδιαίτερα στην ερμηνεία των φασμάτων, οπότε οι επόμενοι στόχοι επίσης διευκολύνονται σημαντικά.
- Να εμπλουτίσει την βάση δεδομένων του λογισμικού spaceTOF με μοριακά ιόντα, συνήθεις παρεμβολές στα υπό μελέτη φάσματα, από βιβλιογραφικά δεδομένα, ώστε να υποβοηθήσει ακόμη περισσότερο στην ερμηνεία των φασμάτων και να καταχωρήσει ερμηνευτικά στοιχεία όπως αυτά αναφέρονται στην βιβλιογραφία.
- Να διερευνήσει συστηματικά και με λεπτομέρεια μοτίβα σε συνήθεις οργανικές παρεμβολές, όπως π.χ. θραύσματα υδρογονανθράκων, που μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση μόλυνσης των δειγμάτων από διάφορα περιβάλλοντα (π.χ. μετεωριτών από την είσοδό τους στην γη) ή την αναγνώριση βιοϋπογραφών άμεσου ενδιαφέροντος στην έρευνα της επίδρασης της ζωής σε ανόργανες διαδικασίες αλλά και της πιθανής ύπαρξης ζωής σε εξωγήινα υλικά, όπως οι μετεωρίτες ή σε δείγματα που στο μέλλον θα εξεταστούν σε άλλους πλανήτες.

Κατά τη διάρκεια της εργασίας αυτής βελτιώθηκε το λογισμικό spaceTOF σημαντικά όσον αφορά στην λειτουργικότητά του αλλά και στην επέκταση της βάσης δεδομένων ιοντικών παρεμβολών από βιβλιογραφικά δεδομένα. Η διερεύνηση για την κατάλληλη βαθμονόμηση κατά μάζα κατέληξε στην μεταβολή του λογισμικού έτσι ώστε να χειρίζεται αρχικά με διαφορετικό τρόπο τα ατομικά από τα μοριακά ιόντα σε πραγματικό χρόνο την ώρα λειτουργίας του. Ιδιαίτερα για τα μοριακά ιόντα φαίνεται ότι θα πρέπει να χειριζόμαστε με διαφορετικό τρόπο τα ιόντα που προκύπτουν από ομάδες ατόμων του ίδιου είδους (clusters) από ιόντα άλλης γεωμετρίας, π.χ.

μακρομόρια υδρογονανθράκων αλλά και πολύπλοκους συνδυασμούς κυκλικών υδρογονανθράκων όπως είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs). Η διαφορά αυτή είναι έντονη μεταξύ ατομικών και μοριακών ιόντων, ωστόσο η ποιότητα της βαθμονόμησης κατά μάζα δεν ήταν ικανή ώστε να διακρίνει πιθανές διαφορές μεταξύ π.χ. αρωματικών (κυκλικών) και αλειφατικών (γραμμικών) υδρογονανθράκων.

Η μελέτη των μοτίβων θραυσμάτων υδρογονανθράκων έδωσε αποτελέσματα που ενισχύουν την χρήση τους για χημικές ή βιολογικές υπογραφές. Και τα δύο δείγματα δείχνουν διακριτά και ερμηνεύσιμα μοτίβα.

Τα γενικά συμπεράσματα είναι:

- Καμία μοναδική κορυφή δεν είναι χαρακτηριστική των διαφορετικών βιολογικών δειγμάτων. Δηλαδή, ενώ σε καθαρές φάσεις όπως αυτή της Tetracene φαίνεται ότι μπορεί η κορυφή 18-12 να χρησιμοποιηθεί σαν χαρακτηριστική της ουσίας αυτής, σε φυσικά δείγματα είναι δύσκολο να ερμηνεύσουμε με βεβαιότητα την προέλευση των ενώσεων αυτών. Ωστόσο, εάν θεωρήσουμε ότι αυτό μπορεί να γίνει, τότε η κορυφή 13-6 του αιματίτη θα έπρεπε να είναι χαρακτηριστική μιας άλλης φάσης, διαφορετικής από αυτή που φαίνεται να προέρχονται τα μοριακά ιόντα χαμηλότερων μαζών. Αυτό όμως δεν είναι εύκολο να επιβεβαιωθεί από τους ιοντικούς χάρτες, οι οποίοι δείχνουν σχετικά όμοια κατανομή για το 13-6 με τους χάρτες που προκύπτουν από κορυφές χαμηλότερων μαζών. Οι διαφορές είναι μικρές ώστε να οδηγήσουν σε ασφαλή συμπεράσματα.
- Από την βιβλιογραφία, στην περιοχή μαζών του μοριακού ιόντος 13-6 (γύρω από την μάζα 162), οι κορυφές είναι πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες. Δεν είναι όμως δυνατό με βεβαιότητα να μιλήσουμε για πιθανή βιογενή προέλευση αυτών.
- Τα φάσματα μάζας γενικά γίνονται επί πλέον περίπλοκα από τον μεγάλο αριθμό μοριακών θραυσμάτων, την έλλειψη επαναληψιμότητας και από τα τεχνητά στοιχεία (Artifacts)- [60]. Παρόλα αυτά, σε απλά μονοφασικά υλικά όπως τα δείγματα που μελετήσαμε, δεν φαίνεται αυτό να ισχύει. Η ταυτοποίηση των κορυφών σε μάζες και μοριακά ιόντα ήταν εύκολη,

όμως δύσκολη παραμένει η ερμηνεία προέλευσης αυτών κυρίως λόγω της έλλειψης πλούσιων βάσεων δεδομένων φασμάτων από δείγματα αναφοράς.

- Η μόλυνση είναι επίσης συνήθης στα δείγματα, και πρέπει να λαμβάνονται υπόψη όταν μελετώνται γεωβιολογικά και αστροβιολογικά δείγματα [66], συνεπώς οι υπογραφές των μολύνσεων πρέπει επίσης να συμπεριλαμβάνονται στις βάσεις δεδομένων. Και στα δύο δείγματά μας φαίνεται ότι υπάρχει μια ομοιότητα στην κατανομή μοριακών ιόντων στην περιοχή 3-5, ενώ διαφοροποιήσεις φαίνονται σε μεγαλύτερες μάζες. Είναι πιθανό, παρ' όλη την προσπάθεια καθαρισμού της επιφάνειας των υλικών από προσκολλημένα οργανικά από το περιβάλλον (μόλυνση), αυτά πράγματι να παραμένουν στην επιφάνεια ακόμη. Σε μεγαλύτερες μάζες υπάρχει διαφοροποίηση που όμως για τον αιματίτη δεν είναι καθόλου εύκολα διακριτή από τους ιοντικούς χάρτες, όπως είναι για την Tetracene.
- Τα αποτελέσματα από το φάσμα μάζας ToF-SIMS του Tetracene δείχνει ότι η ερμηνευτική μεθοδολογία μας είναι σίγουρα υλοποιήσιμη. Για άγνωστα δείγματα όμως απαιτείται μια καλή βάση δεδομένων, με ιδιαίτερα καλή κατανόηση των πιθανών πηγών μόλυνσης και των μοτίβων αυτών.
- Μία επαρκώς προσεγμένη βαθμονόμηση (calibration) των φασμάτων κατά μάζα ωφελεί ολοκληρωτικά στην πλήρως αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση κορυφών και πιθανότατα στην αυτόματη ερμηνεία των φασμάτων.

Βιβλιογραφία

1. Tascon Gmbh, Analytical Services and Consulting.
<http://www.tascon.eu/en/contract-analysis/analytical-methods/tof-sims.php>
2. Herman J. Borg and J.W. (Hans) Niemantsverdriet, (2006), Applications of Secondary Ion Mass Spectrometry in Catalysis and Surface Chemistry.
3. <http://en.wikipedia.org/wiki/Sputtering>
4. Millbrook Instruments Limited, (2004).
http://www.minisims.com/docs/introduction_to_sims.pdf
5. http://en.wikipedia.org/wiki/Secondary_ion_mass_spectrometry
6. Thomas Stephan, (1999), TOF-SIMS in Cosmochemistry, habilitationsschrift, Department of Geosciences, Mathematics and Natural Sciences, Faculty of Westfälische Wilhelms University of Münster, Germany.
7. Benninghoven A., Rudenauer F. G., and Werner H. W., Wiley, New York, (1987) (1227 pages), "Secondary Ion Mass Spectrometry Theory Tutorial", pp 1-24.
8. Benninghoven A., Rudenauer F. G, and Werner H. W., Wiley, New York, (1987), " Secondary Ion Mass Spectrometry: Basic Concepts, Instrumental Aspects, Applications and Trends", pp. 24-89.
9. <http://pprco.tripod.com/SIMS/Theory.htm>

10. H. W. Werner and A. E. Morgan, (1976), Charging of insulators by ion bombardment and its minimization for secondary ion mass spectrometry (SIMS) measurements, *Applied Physics* 47, 1232-1242.
11. H. W. Werner and N. Warmoltz, (1984), Beam techniques for the analysis of poorly conducting materials, *Vac. Sci. Technol. A* 2, 726-731.
12. G. Blaise, (1994), New description of the charge mechanism of insulators. *Secondary Ion Mass Spectrometry, Proc. SIMS IX* (eds. A. Benninghoven, Y. Nihei, R. Shimizu and H. W. Werner), pp. 45–48. Wiley, Chichester.
13. E. Zinner (1989), Isotopic measurements with the ion microprobe. *Proc. Workshop on New Frontiers in Stable Isotope Research, USGS Bulletin* 1890, 145-162.
14. K. D. McKeegan, R. M. Walker and E. Zinner, (1985), Ion microprobe isotopic measurements of individual interplanetary dust particles. *Geochim. Cosmochim. Acta* 49, 1971-1987.
15. B. Hagenhoff, D. Van Leyen, E. Niehuis and A. Benninghoven, (1989), Time-of-flight secondary ion mass spectrometry of insulators with pulsed charge compensation by low-energy electrons, *J. Vac. Sci. Technol. A* 7, 3056–3064.
16. Chatzitheodoridis E., I.C. Lyon, A. Godelitsas, M. Samouchos, A. Vgenopoulos, (2008), "TOF-SIMS mass spectrometry: Applications in mineralogy, petrology and cosmochemistry", *Mineral Wealth*, no. 146/2008, pp. 37-48.
17. Daniel J. Graham, Matthew S. Wagner, David G. Castner, (2005), *Information from Complexity: Challenges of TOF-SIMS Data Interpretation*.
18. Chatzitheodoridis E., Lyon I.C., Vgenopoulos A., (2005), "Interactive geochemistry in the micro- and submicron scale: a visual software tool for ion map extraction, manipulation and analysis from TOF-SIMS spectra", *IMA05: The 4th*

International Conference on Instrumental Methods of Analysis, Modern Trends and Applications, held in Iraklion, Crete, Greece, 2-6 October 2005. (poster).

19. E. Niehuis, T. Heller, H. Feld and A. Benninghoven, (1987), Design and performance of a reflectron based time-of-flight secondary ion mass spectrometer with electrodynamic primary ion mass separation, *J. Vac. Sci. Technol. A* 5, 1243–1246.

20. B. A. Mamyurin, V. I. Krataev, D. V. Shmikk and V. A. Zagulin, (1973), The mass-reflectron, a new nonmagnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution. *Sov. Phys. JETP* 37, 45–48.

21. Henkel T., Tizard J., Blagburn D.J., Lyon I., (2007), "Interstellar dust laser explorer: A new instrument for elemental and isotopic analysis and imaging of interstellar and interplanetary dust", *Review of Scientific Instruments*, vol. 78, pp. 055107/1-9.

22. Hill R., (2004), "The development of C60⁺ and gold cluster ion guns for static SIMS analysis", *Applied Surface Science*, vol. 231-232, pp. 936-93.

23. L. I. Schiff, (1936), Statistical analysis of counter data. *Phys. Rev.* 50, 88–96.

24. F. Esposito, N. Spinelli, R. Velotte and V. Berardi, (1991), Dead time correction of time distribution measurements, *Rev. Sci. Instrum.* 62, 2822–2827.

25. W. G. Mook, (2000), *Environmental Isotopes in the Hydrological Cycle Principles and Applications*, V, I: Introduction–Theory, Methods, Review, UNESCO/IAEA, Geneva.

26. P.W. Rundel, J.R. Ehleringer, K.A. Nagy, (1989), *Stable isotopes in ecological research*, Ecological Studies, volume 68, Springer – Verlag, New York.

27. Σπυρίδωνας Π. Λυκούδης, (2010), Σταθερά Ισότοπα ($\delta^2\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$) στον Υετό: Ανάλυση των Ισοτοπικών Υπογραφών στην Ελλάδα και Κλιματολογική Ανάλυση στην Περιοχή της Κεντρικής και Ανατολικής Μεσογείου, Εργαστήριο Φυσικής της Ατμόσφαιρας, τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Πατρών.
28. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/296583/isotope/48255/Mass-fractionation>
29. E. Anders and N. Grevesse, (1989), Abundances of the elements: Meteoritic and solar, *Geochim, Cosmochim, Acta* 53, 197–214.
30. B. Hagenhoff, (1997), Quantification in molecular SIMS. Secondary Ion Mass Spectrometry, *Proc. SIMS X* (eds. A. Benninghoven, B. Hagenhoff and H. W. Werner), pp. 81–88. Wiley, Chichester.
31. B. Hagenhoff, R. Kock, M. Deimel, A. Benninghoven and H.-J. Bauch, (1992), Quantification of molecular SIMS by internal standards, *Secondary Ion Mass Spectrometry, Proc. SIMS VIII* (eds. A. Benninghoven, T. F. Janssen, J. Tümpner and H. W. Werner), pp. 831–834, Wiley, Chichester.
32. A. Steele, D. Beaty et al., (2006), Final report of the MEPAG Astrobiology Field Laboratory Science Steering Group (AFL-SSG), Astrobiology Field Laboratory, U.S.A.: the Mars Exploration Program Analysis Group (MEPAG) – NASA, pp. 72.
33. <http://en.wikipedia.org/wiki/Biosignature>
34. Christine Nora Heim, (2010), An integrated approach to the study of biosignatures in mineralizing biofilms and microbial mats, Dissertation, Geowissenschaftliches Zentrum der Georg-August-Universität Göttingen (GZG)

35. Wladyslaw Altermann, (2008), Accretion, Trapping and Binding of Sediment in Archean Stromatolites – Morphological Expression of the Antiquity of Life, Journal Space Science Reviews, Volume 135, Nos 1-4.
36. Frances Westall, (2008), Morphological Biosignatures in Early Terrestrial and Extraterrestrial Materials, Journal Space Science Reviews, Volume 135, Nos 1-4.
37. Roger E. Summons, Pierre Albrecht, Gene McDonald, J. Michael Moldowan, (2007), Molecular Biosignatures, Journal Space Science Reviews, Volume 135, Nos 1-4.
38. <http://en.wikipedia.org/wiki/Isomer>
39. Mark van Zuilen, (2007), Stable Isotope Ratios as a Biomarker on Mars, Journal Space Science Reviews, Volume 135, Nos 1-4.
40. <http://en.wikipedia.org/wiki/Biomineralization>
41. Fitzsimons I.C.W., Harte B., Clark R.M., (2000), "SIMS stable isotope measurement: counting statistics and analytical precision", Mineralogical Magazine, vol. 64(1), pp. 59-83.
42. Gilmore IS, Seah MP (1996) Surf Interface Anal 24 : 746
43. Briggs D, Fletcher IW (1997) Surf Interface Anal 25 : 167
44. Odom RW (1994) Appl Spectr Rev 29 :67
45. Schueler BW (1992) Microsc Microanal Microstruct 3 :119
46. Mathieu H-J, Léonard D (1998) High Temp Mater Process 17 :29
47. Benninghoven A, Hagenhoff B, Werner HW (eds) (1997) Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS X). Wiley, Chichester; Gillen G, Lareau R, Bennett J, Stevie F (eds) (1998) Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS XI). Wiley, Chichester

48. D. Léonard, H. J. Mathieu (1999) "Characterisation of biomaterials using ToF-SIMS" *Fresenius J Anal Chem* 365: 3–11
49. Francisco Lopez, Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS): principles and applications, Unitat SIMS, CCiTUB, Universitat de Barcelona., s/n. 08028 Barcelona. Spain.
50. McDonnell L. & Heeren R. (2007) "Imaging mass spectrometry" FOM Institute for Atomic and Molecular Physics, Kruislaan 407, 1098 SJ, Amsterdam, The Netherlands
51. Belu A., Graham D., Castner D. (2003) "Time-of-flight secondary ion mass spectrometry: techniques and applications for the characterization of biomaterial surfaces" Departments of Chemical Engineering and Bioengineering, University of Washington, Review – Biomaterials 24 (2003) 3635-3653
52. Jones E., Lockyer N., Vickerman J. (2006) "Mass spectral analysis and imaging of tissue by ToF-SIMS—The role of buckminsterfullerene, C₆₀+, primary ions" Surface Analysis Research Centre, The University of Manchester, UK, International Journal of Mass Spectrometry 260 (2007) 146–157
53. "Hematite Spherules" NASA/JPL/Cornell/USGS ,
http://mars.nasa.gov/mer/gallery/press/opportunity/20040212a/07-ml-3-soil-mosaic-B019R1_br.jpg
54. Bekker, A., Slack, J.F., Planavsky, N., Krapež, B., Hofmann, A., Konhauser, K.O. Rouxel, O.J. 2010. Iron formation: the sedimentary product of a complex interplay among mantle, tectonic, oceanic, and biospheric processes, *Economic Geology*, 105, 467-508.
55. Bishop, J.L. 1998. Biogenic catalysis of soil formation on Mars? *Orig. Life Evol. Biosph.*, 28(4-6), 449-459.

56. Ohmoto, H., Watanabe, Y., Yamaguchi, K.E., Naraoka, H., Haruna, M., Kakegawa, T., Hayashi, K., and Kato, Y. 2006. Chemical and biological evolution of early Earth: Constraints from banded iron formations, *Geological Society of America Memoir*, 198, 291–331.
57. Beukes, N.J., and Gutzmer, J. 2008. Origin and paleoenvironmental significance of major iron formations at the Archean-Paleoproterozoic boundary, *Reviews in Economic Geology*, 15, 5–47.
58. Kiliyas, S.P. 2012. Microbial-mat related structures in the Quaternary Cape Vani manganese oxide(-barite) deposit, NW Milos island-Greece. In Noffke N., and Chafetz, H., (Eds.) *Microbial Mats in Siliciclastic Depositional Systems Through Time*, SEPM (Society for Sedimentary Geology) Special Publication, 101, 97-100.
59. Antonopoulou-Athera, N., Mavrogiannidou, I., Chatzitheodoridis, E., Lyon, I., and Kiliyas, S. (2011) Interactive handling of biosignature patterns for the interpretation of TOF-SIMS mass spectra. Poster presented at the 11th European Workshop on Astrobiology (EANAI1), 11-14 July 2011, Köln, Germany
60. Quong, J.N., Quong, A.A., Wu, K.J., and Kercher, J.R. (2005) A Signature-Based Method to Distinguish Time-Of-Flight Secondary-Ion Mass Spectra from Biological Samples. In *Chemistry & Biodiversity*, 2:1495–1502.
61. Thiel, V. and Sjövall, P. (2011) Using time-of-flight secondary ion mass spectrometry to study biomarkers. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 39:125–156.
62. De Brouwer, J.F.C., Cooksey, K.E., Wigglesworth-Cooksey, B., Staal, M.J., Stal, L.J., and Avci, R. (2006) Time of Flight-Secondary Ion Mass Spectrometry on isolated extracellular fractions and intact biofilms of three species of benthic diatoms. *J. of Microbiological Methods*, 65:562–572.
63. Altelaar, A.F.M., Klinkert, I., Jalink, K., de Lange, R.P.J., Adan, R.A.H., Heeren, R.M.A., and Piersma, S.R. (2006) Gold-enhanced biomolecular surface imaging of cells

and tissue by SIMS and MALDI mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 78:734–742.

64. Biesinger, M.C., Miller, D.J., Harbottle, R.R., Possmayer, F., McIntyre, N.S., and Petersen, N.O. (2006) Imaging lipid distributions in model monolayers by ToF-SIMS with selectively deuterated components and principal components analysis. *Applied Surface Science*, 252:6957–6965

65. Thiel, V., Heim, C., Arp, G., Hahmann, U., Sjövall, P., and Lausmaa, J. (2007b) Biomarkers at the microscopic range: ToF-SIMS molecular imaging of Archaea-derived lipids in a microbial mat. *Geobiology*, 5:413–421.

66. Thiel, V., Toporski, J., Schumann, G., Sjövall, P., and Lausmaa, J. (2007a) Analysis of archaeal core ether lipids using Time of Flight–Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS): Exploring a new prospect for the study of biomarkers in geobiology. *Geobiology*, 5:75–83

67. Leefmann, T., Heim, C., Kryvenda, A., Siljeström, S., Sjövall, P., Thiel, V. (2013) Biomarker imaging of single diatom cells in a microbial mat using time-of-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS). *Organic Geochemistry*, 57:23–33

68. Stephan, T., Jessberger, E.K., Heiss, C.H., and Rost, D. (2003) TOF-SIMS analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in Allan Hills 84001. *Meteoritics & Planetary Science*, 38:109–116

69. CSID:6813, <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6813.html> (accessed Sept, 2014)

70. Toporski, Jan, and Andrew Steele. "Characterization of Purified Biomarker Compounds Using Time of Flight-secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS)." *Organic Geochemistry* 35.7 (2004): 793-811.

71. Toporski, J. K. W.; Steele, A.; Westall, F.; Avci, R.; McKay, D. S. "The Combined Detection of Morphological and Molecular Biomarkers: Implications for Astrobiology" *32nd Annual Lunar and Planetary Science Conference, March 12-16, 2001, Houston, Texas, abstract no.1667*
72. Léonard, D., and H. J. Mathieu. "Characterisation of Biomaterials Using ToF-SIMS." *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 365.1-3 (1999): 3-11.
73. S.A. Guidry¹, H.S. Chafetz¹, A. Steele^{2,3}, and J.K.W. Toporski². "A PRELIMINARY ToF-SIMS ASSESSMENT OF PRESERVATION POTENTIAL OF ORGANIC BIOMARKERS IN MODERN SILICEOUS SINTER AND CORE, YELLOWSTONE NATIONAL PARK, WYOMING." ¹University of Houston, Dept. of Geosciences, Houston, TX 77204-5503; ²University of Portsmouth, Portsmouth, U.K.; ³NASA, Lyndon B. Johnson Space Center, Houston, TX, USA.
74. Parry, Shawn, and Nicholas Winograd. "High-Resolution TOF-SIMS Imaging of Eukaryotic Cells Preserved in a Trehalose Matrix." *Analytical Chemistry* 77.24 (2005): 7950-957.
75. Quong, Judy N., Andrew A. Quong, Kuang Jen Wu, and James R. Kercher. "A Signature-Based Method to Distinguish Time-Of-Flight Secondary-Ion Mass Spectra from Biological Samples." *Chemistry & Biodiversity* 2.11 (2005): 1495-502.
76. Brouwer, J.f.c. De, K.e. Cooksey, B. Wigglesworth-Cooksey, M.j. Staal, L.j. Stal, and R. Avci. "Time of Flight-Secondary Ion Mass Spectrometry on Isolated Extracellular Fractions and Intact Biofilms of Three Species of Benthic Diatoms." *Journal of Microbiological Methods* 65.3 (2006): 562-72.
77. Altelaar, A. F. Maarten, Ivo Klinkert, Kees Jalink, Robert P. J. De Lange, Roger A. H. Adan, Ron M. A. Heeren, and Sander R. Piersma. "Gold-Enhanced Biomolecular Surface Imaging of Cells and Tissue by SIMS and MALDI Mass Spectrometry." *Analytical Chemistry* 78.3 (2006): 734-42.
78. Touboul, David, Felix Kollmer, Ewald Niehuis, Alain Brunelle, and Olivier Lapr evote. "Improvement of Biological Time-of-flight-secondary Ion Mass

Spectrometry Imaging with a Bismuth Cluster Ion Source." *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 16.10 (2005): 1608-618

79. Thompson, C.e., H. Jungnickel, N.p. Lockyer, G.m. Stephens, and J.c. Vickerman. "ToF-SIMS Studies as a Tool to Discriminate between Spores and Vegetative Cells of Bacteria." *Applied Surface Science* 231-232 (2004): 420-23.

80. Henkel, T., J. Tizard, D. Blagburn, and I. Lyon. "Interstellar Dust Laser Explorer (IDLE): A New Instrument for Submicron Analyses of Stardust-quantification of Laser SNMS." *Applied Surface Science* 252.19 (2006): 7117-119.

81. Jones, Emrys A., John S. Fletcher, Charlotte E. Thompson, Dean A. Jackson, Nicholas P. Lockyer, and John C. Vickerman. "ToF-SIMS Analysis of Bio-systems: Are Polyatomic Primary Ions the Solution?" *Applied Surface Science* 252.19 (2006): 6844-854.

82. Biesinger, Mark C., David J. Miller, Robert R. Harbottle, Fred Possmayer, N. Stewart McIntyre, and Nils O. Petersen. "Imaging Lipid Distributions in Model Monolayers by ToF-SIMS with Selectively Deuterated Components and Principal Components Analysis." *Applied Surface Science* 252.19 (2006): 6957-965.

83. Cliff, J.b., D.j. Gaspar, P.j. Bottomley, and D.d. Myrold. "Peak Fitting to Resolve CN- Isotope Ratios in Biological and Environmental Samples Using TOF-SIMS." *Applied Surface Science* 231-232 (2004): 912-16.

84. Winograd, N. "Prospects for Imaging TOF-SIMS: From Fundamentals to Biotechnology." *Applied Surface Science* 203-204 (2003): 13-19.

85. Fletcher, John S., Alexander Henderson, Roger M. Jarvis, Nicholas P. Lockyer, John C. Vickerman, and Royston Goodacre. "Rapid Discrimination of the Causal Agents of Urinary Tract Infection Using ToF-SIMS with Chemometric Cluster Analysis." *Applied Surface Science* 252.19 (2006): 6869-874.

86. Thiel, V., J. Toporski, G. Schumann, P. Sjövall, and J. Lausmaa. "Analysis of Archaeal Core Ether Lipids Using Time of Flight?Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS): Exploring a New Prospect for the Study of Biomarkers in Geobiology." *Geobiology* 0.0 (2006): 061221060249003

87. Kroto, H. W., J. R. Heath, S. C. O'brien, R. F. Curl, and R. E. Smalley. "C60: Buckminsterfullerene." *Nature* 318.6042 (1985): 162-63.
88. Johansson, Björn. "ToF-SIMS Imaging of Lipids in Cell Membranes." *Surface and Interface Analysis* 38.11 (2006): 1401-412
89. Thiel, V., C. Heim, G. Arp, U. Hahmann, P. Sjövall, and J. Lausmaa. "Biomarkers at the Microscopic Range: ToF-SIMS Molecular Imaging of Archaea-derived Lipids in a Microbial Mat." *Geobiology* 5.4 (2007): 413-21.
90. Roberson, S., A. Sehgal, A. Fahey, and A. Karim. "Time-of-flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS) for High-throughput Characterization of Biosurfaces." *Applied Surface Science* 203-204 (2003): 855-58.
91. Szyrkowska, M.i., A. Pawlaczyk, and J. Rogowski. "ToF-SIMS and SEM-EDS Analysis of the Surface of Chosen Bioindicators." *Applied Surface Science* 255.4 (2008): 1165-169.
92. Torrisi, A., V. Torrisi, N. Tuccitto, M.g. Gandolfi, C. Prati, and A. Licciardello. "ToF-SIMS Images and Spectra of Biomimetic Calcium Silicate-based Cements after Storage in Solutions Simulating the Effects of Human Biological Fluids." *International Journal of Mass Spectrometry* 289.2-3 (2010): 150-61.
93. Stephan, Thomas. "TOF-SIMS in Cosmochemistry." *Planetary and Space Science* 49.9 (2001): 859-906
94. Stephan, Thomas, Elmar K. Jessberger, Christian H. Heiss, and Detlef Rost. "TOF-SIMS Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Allan Hills 84001." *Meteoritics & Planetary Science* 38.1 (2003): 109-16.
95. Leitner, Jan, Thomas Stephan, Anton T. Kearsley, Friedrich Hörz, George J. Flynn, and Scott A. Sandford. "TOF-SIMS Analysis of Crater Residues from Wild 2 Cometary Particles on Stardust Aluminum Foil." *Meteoritics & Planetary Science* 43.1-2 (2008): 161-85

96. Stephan, Thomas, George J. Flynn, Scott A. Sandford, and Michael E. Zolensky. "TOF-SIMS Analysis of Cometary Particles Extracted from Stardust Aerogel." *Meteoritics & Planetary Science* 43.1-2 (2008): 285-98.
97. Stephan, Thomas, Detlef Rost, Edward P. Vicenzi, Emma S. Bullock, Glenn J. Macpherson, Andrew J. Westphal, Christopher J. Snead, George J. Flynn, Scott A. Sandford, and Michael E. Zolensky. "TOF-SIMS Analysis of Cometary Matter in Stardust Aerogel Tracks." *Meteoritics & Planetary Science* 43.1-2 (2008): 233-46.
98. Delcorte, A., B.g. Segda, and P. Bertrand. "ToF-SIMS Analyses of Polystyrene and Dibenzanthracene: Evidence for Fragmentation and Metastable Decay Processes in Molecular Secondary Ion Emission." *Surface Science* 381.1 (1997): 18-32
99. Becker, Luann, Brian Popp, Terri Rust, and Jeffrey L. Bada. "The Origin of Organic Matter in the Martian Meteorite ALH84001." *Earth and Planetary Science Letters* 167.1-2 (1999): 71-79.
100. T. Stephan, C. H. Heiss, D. Rost and E. K. Jessberger. "POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN METEORITES: ALLAN HILLS 84001, MURCHISON, AND ORGUEIL." Institut für Planetologie/ Interdisciplinary Center for Electron Microscopy and Microanalysis,
101. T. Stephan and E. K. Jessberger, "POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN ALLAN HILLS 84001 – IMPLICATIONS FROM TIME-OF-FLIGHT SECONDARY ION MASS SPECTROMETRY ANALYSES", Institut für Planetologie/Interdisciplinary Center for Electron Microscopy and Microanalysis.
102. T. Stephan¹, D. Rost¹, E. K. Jessberger¹, and A. Greshake, "POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN ALH84001 ANALYZED WITH TIME-OF-FLIGHT SECONDARY ION MASS SPECTROMETRY" Institut für Planetologie/ICEM*, Westfälische Wilhelms-Universität Münster.
103. Guo, Ying, Xibin Gu, Fangtong Zhang, Alexander M. Mebel, and Ralf I. Kaiser. "A Crossed Molecular Beam Study on the Formation of Hexenediynyl Radicals (H₂CCCCCCH; C₆H₃ (X₂A?)) via Reactions of Tricarbon Molecules, C₃(X₁?g), with Allene (H₂CCCH₂; X₁A1) and Methylacetylene (CH₃CCH; X₁A1)." *Physical Chemistry Chemical Physics* 9.16 (2007): 1972

104. Peterson, Richard E., and Bonnie J. Tyler. "Analysis of Organic and Inorganic Species on the Surface of Atmospheric Aerosol Using Time-of-flight Secondary Ion Mass Spectrometry (TOF-SIMS)." *Atmospheric Environment* 36.39-40 (2002): 6041-049.
105. Sakamoto, Tetsuo, Azusa Yamamoto, Masanori Owari, and Yoshimasa Nihei. "Supercritical Fluid Clean-Up of Environmental Samples for the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry." *Analytical Sciences* 20.10 (2004): 1379-382.
106. Rietmeijer, Frans J.m. "The Earliest Chemical Dust Evolution in the Solar Nebula." *Chemie Der Erde - Geochemistry* 62.1 (2002): 1-45.
107. Zolotov, Mikhail, and Everett Shock. "Abiotic Synthesis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Mars." *Journal of Geophysical Research* 104.E6 (1999): 14033-4049.
108. Greenwood, P.f., J.j. Brocks, K. Grice, L. Schwark, C.m.b. Jaraula, J.m. Dick, and K.a. Evans. "Organic Geochemistry and Mineralogy. I. Characterisation of Organic Matter Associated with Metal Deposits." *Ore Geology Reviews* 50 (2013): 1-27.
109. Toporski, J.k.w, A. Steele, F. Westall, R. Avci, D.m Martill, and D.s Mckay. "Morphologic and Spectral Investigation of Exceptionally Well-preserved Bacterial Biofilms from the Oligocene Enspel Formation, Germany." *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 66.10 (2002): 1773-791
110. Oran, U., E. Ünveren, T. Wirth, and W.e.s Unger. "Poly-dimethyl-siloxane (PDMS) Contamination of Polystyrene (PS) Oligomers Samples: A Comparison of Time-of-flight Static Secondary Ion Mass Spectrometry (TOF-SSIMS) and X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) Results." *Applied Surface Science* 227.1-4 (2004): 318-24.
111. Leefmann, Tim, Christine Heim, Anastasiia Kryvenda, Sandra Siljeström, Peter Sjövall, and Volker Thiel. "Biomarker Imaging of Single Diatom Cells in a Microbial

Mat Using Time-of-flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS)." *Organic Geochemistry* 57 (2013): 23-33.

112. Heindel, Katrin, Daniel Birgel, Benjamin Brunner, Volker Thiel, Hildegard Westphal, Eberhard Gischler, Simone B. Ziegenbalg, Guy Cabioch, Peter Sjövall, and Jörn Peckmann. "Post-glacial Microbialite Formation in Coral Reefs of the Pacific, Atlantic, and Indian Oceans." *Chemical Geology* 304-305 (2012): 117-30.

113. Schouten, Stefan, Ellen C. Hopmans, and Jaap S. Sinninghe Damsté. "The Organic Geochemistry of Glycerol Dialkyl Glycerol Tetraether Lipids: A Review." *Organic Geochemistry* 54 (2013): 19-61

114. Oliveira, Cristiane R., Cleverson J.f. Oliveira, Alexandre A. Ferreira, Débora A. Azevedo, and Francisco R. Aquino Neto. "Characterization of Aromatic Steroids and Hopanoids in Marine and Lacustrine Crude Oils Using Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography Coupled to Time-of-flight Mass Spectrometry (GCxGC-TOFMS)." *Organic Geochemistry* 53 (2012): 131-36.

115. Kiepper, A., Casilli, A. and Azevedo, D. (2014). Depositional paleoenvironment of Brazilian crude oils from unusual biomarkers revealed using comprehensive two dimensional gas chromatography coupled to time of flight mass spectrometry. *Organic Geochemistry*, 70, pp.62-75.

116. Siljeström, Sandra, Tomas Hode, Jukka Lausmaa, Peter Sjövall, Jan Toporski, and Volker Thiel. "Detection of Organic Biomarkers in Crude Oils Using ToF-SIMS." *Organic Geochemistry* 40.1 (2009): 135-43.

117. Steele, A., J.k.w. Toporski, R. Avci, S. Guidry, and D.s. Mckay. "Time of Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToFSIMS) of a Number of Hopanoids." *Organic Geochemistry* 32.7 (2001): 905-11.

118. Belu, A., Graham, D. and Castner, D. (2003). Time-of-flight secondary ion mass spectrometry: techniques and applications for the characterization of biomaterial surfaces. *Biomaterials*, 24(21), pp.3635-3653.

119. Jones, Emrys A., Nicholas P. Lockyer, and John C. Vickerman. "Mass Spectral Analysis and Imaging of Tissue by ToF-SIMS—The Role of Buckminsterfullerene, C60, Primary Ions." *International Journal of Mass Spectrometry* 260.2-3 (2007): 146-57.
120. Malmberg, Per, Katrin Börner, Yun Chen, Peter Friberg, Birgit Hagenhoff, Jan-Erik Månsson, and Håkan Nygren. "Localization of Lipids in the Aortic Wall with Imaging TOF-SIMS." *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1771.2 (2007): 185-95.
121. Passarelli, Melissa K., and Nicholas Winograd. "Lipid Imaging with Time-of-flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS)." *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1811.11 (2011): 976-90.
122. Thiel, Volker, and Peter Sjövall. "Using Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry to Study Biomarkers." *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 39.1 (2011): 125-56.

Παραρτήματα

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 - ABSTRACT EANA 2014

How to increase the credibility and ease the investigation of biosignatures in TOF-SIMS mass spectra?

Nikolas Tsakonas¹, Elias Chatzitheodoridis^{1,*}, Stefanos Kiliadis², and Ian Lyon³

¹Department of Geological Sciences, School of Mining and Metallurgical Engineering, National Technical University of Athens, Athens, Greece

² National Kapodistrian University of Athens, Department of Economic Geology and Geochemistry, Panepistimiopolis, Zographou, 157 84 Athens, Greece

³School of Earth, Atmospheric and Environmental Sciences, The University of Manchester, Manchester, UK

*Corresponding author: Elias Chatzitheodoridis, *email address*: eliasch@metal.ntua.gr,
telephone: +302107722092, *mobile*: +306945779492

TOF-SIMS mass spectra are labour intensive to interpret because of the very large number of peaks that are in the mass spectrum. In a previous work we concluded that it is possible to interpret TOF-SIMS mass spectra in detail, however, interpretation requires powerful proprietary software to handle the information (Chatzitheodoridis *et al.*, 2005) and a perfect mass calibration (Antonopoulou-Athera *et al.*, 2011). Only then fully automated interpretation can be performed, also resulting in detailed chemical patterns that can be useful for biosignature interpretation.

Currently, biosignature interpretation is performed using a small number of characteristic peaks that are compared with pure, isolated biochemical phases, often assisted by statistical techniques, or by labelling specific molecules. Biochemical phases that have been investigated in the literature include proteins and their aminoacids (Quong *et al.*, 2005), extracellular polymeric substances (de Brouwer *et al.*, 2006), lipids in tissues and cells (Altelaar *et al.*, 2006; Besinger *et al.*, 2006; Thiel *et al.*, 2007a and 2007b, Leefmann *et al.*, 2013), and PAHs in meteorites (Stephan *et al.*, 2003; Thiel and Sjövall, 2011). A general conclusion is that there are no unique peaks that are characteristic of the different biological samples. Mass spectra are further complicated

by the large number of molecular fragments, the absence of repeatability, and by artefacts (Quong *et al.*, 2005). Contamination is also common in the samples, and they should be considered when studying geobiological and astrobiological samples (Thiel *et al.*, 2007a), therefore its signatures should be also included in the database.

We have assembled all currently available information in the literature and have combined them with an existing database that has been developed in our lab, which is accessed through proprietary software that handles the TOF-SIMS mass spectra and assists in their interpretation (*spaceTOF*; Chatzitheodoridis *et al.*, 2005). This is a significant effort, especially when one considers the lack of reference data, especially for compounds that could be of interest to astrobiology (Thiel *et al.*, 2007a). We test the database on new, high-resolution data acquired from polished sections of Quaternary hematite cement from the Cape Vani Mn-Fe (Ba) deposit, Milos island, Greece (Kilias *et al.*, 2013), which has petrified colonies of cyanobacteria. Then, we group organic molecules of similar nature and we compare the acquired intensity patterns. These patterns in their general appearance are very systematic between different samples; however, there is potential for a more precise interpretation when searching for small differences in the full set of mass peaks of the molecular species.

Keywords: biosignatures, TOF-SIMS, spaceTOF software

References:


1. Altelaar, A.F.M., Klinkert, I., Jalink, K., de Lange, R.P.J., Adan, R.A.H., Heeren, R.M.A., and Piersma, S.R. (2006) Gold-enhanced biomolecular surface imaging of cells and tissue by SIMS and MALDI mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 78:734–742.
2. Antonopoulou-Athera, N., Mavrogiannidou, I., Chatzitheodoridis, E., Lyon, I., and Kilias, S. (2011) Interactive handling of biosignature patterns for the interpretation of TOF-SIMS mass spectra. Poster presented at the 11th *European Workshop on Astrobiology (EANA11)*, 11-14 July 2011, Köln, Germany.
3. Biesinger, M.C., Miller, D.J., Harbottle, R.R., Possmayer, F., McIntyre, N.S., and Petersen, N.O. (2006) Imaging lipid distributions in model monolayers by ToF-SIMS with selectively deuterated components and principal components analysis. *Applied Surface Science*, 252:6957–6965.
4. Chatzitheodoridis E., Lyon I., Vgenopoulos A. (2005) Interactive geochemistry in the micro and submicron scale: a visual software tool for ion map extraction,

- manipulation and analysis from TOF-SIMS spectra. IMA05, Crete, Greece, 2-6 Oct. 2005.
5. De Brouwer, J.F.C., Cooksey, K.E., Wigglesworth-Cooksey, B., Staal, M.J., Stal, L.J., and Avci, R. (2006) Time of Flight-Secondary Ion Mass Spectrometry on isolated extracellular fractions and intact biofilms of three species of benthic diatoms. *J. of Microbiological Methods*, 65:562–572.
 6. Kiliyas, S.P., Chatzitheodoridis, E., Lyon, I. (2013), “Morphological and chemical evidence of ferruginous microbialites in the Quaternary Cape Vani (Fe-Ba-)Mn-oxide deposit, Milos, Greece: implications for biomineralogy”, in *Proceedings of 13th International Conference of the Geological Society of Greece*, September 5-8 2013, Chania, Crete, Greece.
 7. Leefmann, T., Heim, C., Kryvenda, A., Siljeström, S., Sjövall, P., Thiel, V. (2013) Biomarker imaging of single diatom cells in a microbial mat using time-of-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS). *Organic Geochemistry*, 57:23–33.
 8. Quong, J.N., Quong, A.A., Wu, K.J., and Kercher, J.R. (2005) A Signature-Based Method to Distinguish Time-Of-Flight Secondary-Ion Mass Spectra from Biological Samples. In *Chemistry & Biodiversity*, 2:1495–1502.
 9. Stephan, T., Jessberger, E.K., Heiss, C.H., and Rost, D. (2003) TOF-SIMS analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in Allan Hills 84001. *Meteoritics & Planetary Science*, 38:109–116.
 10. Thiel, V. and Sjövall, P. (2011) Using time-of-flight secondary ion mass spectrometry to study biomarkers. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 39:125–156.
 11. Thiel, V., Heim, C., Arp, G., Hahmann, U., Sjövall, P., and Lausmaa, J. (2007b) Biomarkers at the microscopic range: ToF-SIMS molecular imaging of Archaea-derived lipids in a microbial mat. *Geobiology*, 5:413–421.
 12. Thiel, V., Toporski, J., Schumann, G., Sjövall, P., and Lausmaa, J. (2007a) Analysis of archaeal core ether lipids using Time of Flight–Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS): Exploring a new prospect for the study of biomarkers in geobiology. *Geobiology*, 5:75–83.


How to increase the credibility and ease the investigation of biosignatures in TOF-SIMS mass spectra?

Nikolas Tsakonas¹, Elias Chatzitheodoridis¹, Stefanos Kiliadis², and Ian Lyon³


eliasch@metal.ntua.gr



¹Dept. Geological Sciences, School of Mining and Metallurgical Engineering, National Technical University of Athens, Athens, Greece.



²National Kapodistrian Univ. of Athens, Dept. of Economic Geology and Geochemistry, Panepistimiopolis, 157 04 Athens, Greece.



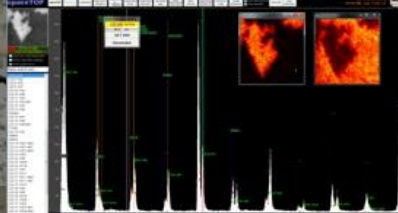
³School of Earth, Atmospheric and Environmental Sciences, The University of Manchester, Manchester, UK.

TOF-SIMS mass spectra are labour intensive to interpret because of the very large number of peaks that are in the mass spectrum. In a previous work we concluded that it is possible to interpret TOF-SIMS mass spectra in detail. However, interpretation requires powerful proprietary software to handle the information (Chatzitheodoridis et al., 2005) and a perfect mass calibration (Antonopoulou-Athera et al., 2011). Only then fully automated interpretation can be performed, also resulting in detailed chemical patterns that can be useful for biosignature interpretation. A database has been developed in our lab, which is accessed through proprietary software that the TOF-SIMS mass spectra and assists in their interpretation (spaceTOF; Chatzitheodoridis et al., 2005). This is a significant effort, especially when one considers the lack of reference data, especially for compounds that could be of interest to astrobiology (Thiel et al., 2007a).

We test the database on high mass-resolution data acquired from:

- Tetracene which we use as a test material, and
- Polished sections of Quaternary hematite cement from the Cape Vani Mn-Fe (Ba) deposit, Milos Island, Greece (Kiliadis et al., 2013), which has petrified colonies of cyanobacteria.

All peaks have been fit with a Gaussian curve and mass (horizontal axes) has been plot against peak areas (vertical axes).



The *spaceTOF* spectrum processing and interpretation software, which is developed in our lab.

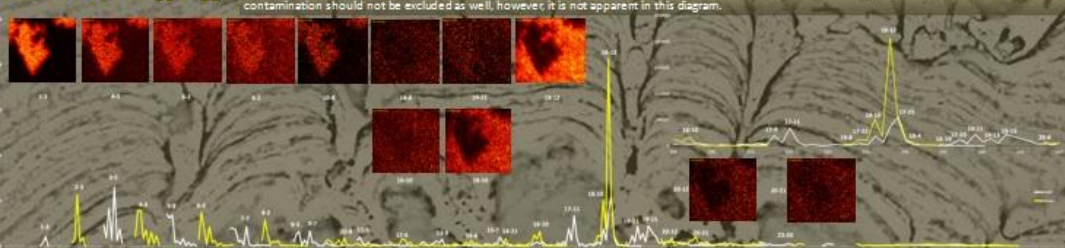
currently, biosignature interpretation is performed using a small number of characteristic peaks from reference materials, and statistical or labelling techniques. Biochemical phases that have been investigated in the literature include proteins and their aminoacids (Quong et al., 2005), extracellular polymeric substances (de Brouwer et al., 2006), lipids in tissues and cells (Altekar et al., 2006; Besinger et al., 2006; Thiel et al., 2007a and 2007b; Leeftink et al., 2013), and PAHs in meteorites (Stephan et al., 2003; Thiel and Sjövall, 2011).

However, the general conclusions are:

- No unique peaks are characteristic of the different biological samples.
- Mass spectra are further complicated by the large number of molecular fragments
- Absence of repeatability,
- Artefacts (Quong et al., 2005)
- Contamination is common in the samples, and they should be considered when studying geological and astrobiological samples (Thiel et al., 2007a), therefore its signatures should be also included in the database.

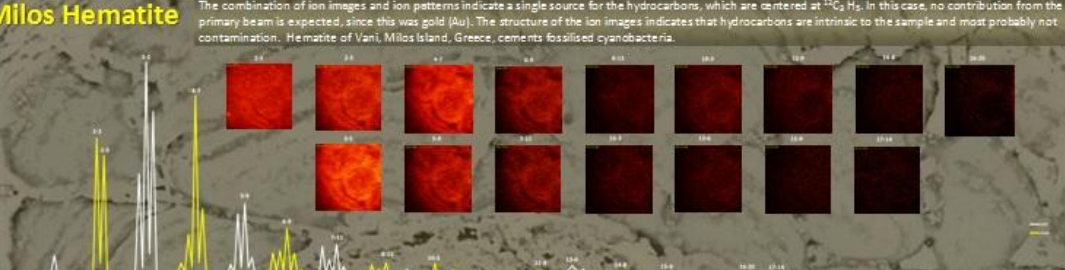
Tetracene – C₁₈ H₁₂

Ion imaging (ion maps) and the ion pattern (diagrams) reveal a mixing between Tetracene fragments (centered at ¹²C₁₈ H₁₂) and hydrocarbons (centered at ¹³C₂ H₂). Hydrocarbons are probably formed by the breakdown of fullerene C₆₀ species, which is used as bombarding ion (primary source). Some contamination should not be excluded as well, however it is not apparent in this diagram.



Milos Hematite

The combination of ion images and ion patterns indicate a single source for the hydrocarbons, which are centered at ¹³C₂ H₂. In this case, no contribution from the primary beam is expected, since this was gold (Au). The structure of the ion images indicates that hydrocarbons are intrinsic to the sample and most probably not contamination. Hematite of Vani, Milos Island, Greece, cements fossilised cyanobacteria.



SEM image of bacterial colonies fossilised with hematite (van Veen, 2005)

- The results from tetracene TOF-SIMS mass spectra show that our interpretation methodology is feasible.
- Patterns such as those presented here seem to produce distinct and detailed results, therefore they could be used as biosignatures. However, still a set of reference analytical data is required.
- A sufficient and fine Mass calibration fully benefits the total automated interpretation.

Reber, et al. (2006), Anal. Chem. 78:744-742; Antonopoulou-Athera, et al. (2011), 11th European Workshop on Astrobiology (EAWA11), 13-14 July 2011, Köln, Germany; Wang, et al. (2008), Appl. Surface Sci. 252:5071-5085; Chatzitheodoridis, et al. (2005), IMACS, Oita, Greece, 2-6 Oct 2005; Chatzitheodoridis, et al. (2006), J. Microbiological Methods 65:565-571; Kiliadis, et al. (2013), Proc. 12th Int. Conf. Geological Sci. Greece 2013, 8-9 Oct 2013, Oita, Greece; Lefterio, et al. (2012), Organic Geochem. 57:212-222; Quong, et al. (2005), Chemistry & Biodiversity 2:1468-1503; Dackiw, et al. (2002), Microbiol. & Biorevol. Sci. 28:106-112; Thiel and Sjövall, (2011), Astrobiol. Sci. 2:123-134; Thiel, et al. (2007b), Geochim. 8:419-431; Thiel, et al. (2007a), Geochim. 8:75-83.

N. Tsakonas, E. Chatzitheodoridis, S. Kiliadis, I. Lyon. (2014), How to increase the credibility and ease the investigation of biosignatures in TOF SIMS mass spectra? Η παρουσίαση έγινε στο 14th European Workshop on Astrobiology (EANA2014), 13-16 October, 2014, Edinburgh, Scotland, UK (Poster & abstract).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 - ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

n.	molecules	m/z	Compound	comments	paper n.
1	C	12			82
2	C+	12			109
3	CH	13			82
4	CH+	13.01			109
5	CH ₂	14,016			70
6	CH ₂ +	14.02			109
7	CH ₂	14			98
8	CD, CH ₂	14			82
9	CD ₂	16		POPG-d31	82
10	CD ₂ , O	16			82
11	CD ₂ H, OH	17			82
12	CD ₃	18		Deuterated fragment from POPG -d31	82
13	CD ₃ , NH ₄	18		POPG-d31, DPPC-d4	82
14	CD ₃ , H ₂ O, NH ₄			Possible cholesterol-d7, other species possible	82
15	CD ₃ C	30			82
16	(CD ₃) ₂ CD	50			82
17	CNO	42			82
18	CH ₄ N +	30	amino acid Glycine G	from oligopeptide (H-CDP-GYIGSR-NH ₂)	72
19	CH ₃ Si+	43		poly(dimethylsiloxane) (PDMS) contaminant	74
20	CH ₃ +	15.02			109
21	CH ₃	15			82
22	P, CH ₃ O	31			82
23	(COOH ⁻)	45		negative spectra	90
24	[CH ₃] ⁺	15.02		mass calibration	70
25	[C ₂ H ₅] ⁺	29.04		mass calibration	70
26	[C ₃ H ₅] ⁺	41.04		mass calibration	70
27	C ₂	24			82
28	C ₂ H ₂ , C ₂ D	26			82
29	C ₂ H ₂ +	26,016			70
30	C ₂ H ₃	27		Long chain portion of DDPC-d4	82
31	C ₂ H ₃ +	27.03		indicative of alkenes	71
32	C ₂ H ₃ +	27,024		low mass PAH and carbazoles spectra	70
33	C ₂ H ₃ +	27.02&27.03		indicates the presence of alkenes	109
34	C ₂ H ₅	29,036			117
35	C ₂ H ₅	29		Long chain portion of DDPC-d4	82
36	C ₂ H ₅ +	29.04		indicate the presence of alkenes	71
37	C ₂ H ₅ +	29.04		low mass carbazoles and n-alkanes spectra	70
38	C ₂ H ₅ +	29.04 & 29.03		indicates the presence of alkanes	109
39	C ₂ D ₃	30		POPG-d31	82
40	C ₂ D ₅	34		POPG-d31	82

41	C2H6NO +	60	amino acid Serine S	from oligopeptide (H-CDP-GYIGSR-NH ₂)	72
42	[(CaO) ₂ H] ⁺	112.96			89
43	C2H6PO4 ⁺	125		low-mass amine and hydrocarbon fragments	74
44	C2H9NPO4 ⁺	142		(PE) phosphatidylethanolamine headgroup fragment, 0-1 count	74
45	C3D5	46		POPG-d31	82
46	C3D6	48		POPG-d31	82
47	C3D7	50		POPG-d31	82
48	C3H, ³⁷ Cl	37			82
49	C3H3 ⁺	39.02		indicates aromatic organic species	109
50	C3H3 +	39.02		indicative of aromatic organic species	71
51	C3H3 +	39.02		indicative of PAHS (C/H ratios between 1 and 2)	70
52	C3H5	41,034			117
53	C3H5	41		Long chain portion of DDPC-d4 and Cholesterol-d7 fragment	82
54	C3H5 +	41.03		indicative of alkenes	71
55	C3H5 +	41.04		low mass carbazoles and n-alkanes spectra	70
56	C3H5 ⁺	41.04		indicates the presence of alkenes	109
57	C3H6NO ⁺	72			74
58	C3H7	43		Long chain portion of DDPC-d4	82
59	C3H7 +	43.06		indicate the presence of alkenes	71
60	C3H7 +	43.06		low mass carbazoles and n-alkanes spectra	70
61	C3H7 ⁺	43.06		indicates the presence of alkanes	109
62	C3H7O ⁺	59			74
63	C3H8N ⁺	58			74
64	C4 ⁺	48			103
65	C4H ⁺	49			103
66	C4H2 ⁺	50			103
67	C4H3 ⁺	51			98
68	C4H3 +	51.02		indicative of PAHS (C/H ratios between 1 and 2)	70
69	C4H5 +	53.04			70
70	C4H7	55,054			117
71	C4H7	55		Long chain portion of DDPC-d4, Strong in cholesterol-d7 spectrum	82
72	C4H7 +	55.06		indicative of alkenes	71
73	C4H7 +	55.06		low mass n-alkanes spectra	70
74	C4H7 ⁺	55.06		indicates the presence of alkenes	109
75	C4H8N +	70	amino acid Proline P	from oligopeptide (H-CDP-GYIGSR-NH ₂)	72
76	C4H8D3N	76		DPPC-d4	82
77	C4H9	57			82
78		57	n-alkanes		105
79	C4H9 +	57.07		indicate the presence of alkenes	71
80	C4H9 +	57.07		low mass n-alkanes spectra	70
81	C4H9 ⁺	57.07		indicates the presence of alkanes	109
82	C4D7	62		POPG-d31	82
83	C4D9	66		POPG-d31	82
84	C4H10N	72		POPC	82

85	C4H10N+	60	amine	74
86	C4H11NPO4+	168	(PE) phosphatidylethanolamine headgroup fragment, 0-1 count	74
87	C4H12N	74	DPPC fragment	82
88	C5+	60		103
89	C5H3+	63		103
90	C5H6N +	80.05	indicative of alkyl pyrroles	71
91	C5H6N +	80.05	indicative of alkyl pyrroles	109
92	C5H7 +	67.06		70
93	C5H9 +	69.07	indicative of alkenes	71
94	C5H9 +	69.07	low mass n-alkanes spectra	70
95	C5H9+	69.07	indicates the presence of alkenes	109
96	C5H9	69,074		117
97	C5H9D4NPO3	170	DPPC -d4	82
98	C5H9D4NOH	108	DPPC -d4	82
99	C5H9D4NPO4H2	188	DPPC -d4	82
100	C5H9D3N	89	DPPC -d4	82
101	C5H11 +	71.09	low mass n-alkanes spectra	70
102	C5H12N +	86	amino acid Isoleucine I from oligopeptide (H-CDP-GYIGSR-NH ₂)	72
103	C5H12N	86	POPC and DPPC fragment	82
104	C5H12O	88	DPPC fragment	82
105	C5H13NPO3	166	POPC, phosphocholine - H2O	82
106	C5H13NPO3+	166		74
107	C5H14NO+	104		74
108	C5H14NO	104	DPPC fragment	82
109	C5H13NOH	104	POPC-choline	82
110	C5H13NPO4H2	184	POPC, phosphocholine	82
111	C5H15NPO4	184	Cholesterol -d7 fragment and DPPC fragment	82
112		184	phosphatidylcholine head group, phospholipid fragment	81
113	C5H15NPO4 +	184	(PC) phosphocholine headgroup fragment, 0-2 counts	74
114	C5H15NPO4 +	206	(PC) phosphocholine headgroup fragment, -H+ + Na+ 0-1 count	74
115	C6+	72		103
116	C6H+	73		103
117	C6H2+	74		103
118	C6H3 radical(s)	74		103
119	C6H3+	75		103
120	C6D2+	76		103
121	C6D2H+	77		103
122	C6D3+	78		103
123	C6H3 +	75.02		70
124	C6H5+	77	phenyl PAH	98
125	C6H5 +	77.04	indicative of aromatic organic species	71
126	C6H5 +	77.04	indicative of PAHS (C/H ratios between 1 and 2)	70
127	C6H5+	77.04	indicates aromatic organic species	109

128	C6H5+	78			105
129	C6H5CH2+	91			105
130	C6H6 +	78.04		indicative of aromatic organic species	71
131	C6H6+	78.04		indicates aromatic organic species	109
132	C6H6	78.11	Benzene	PAH	107
133	C6H6N +	92.05	pyridyl-CH2		71
134	C6H6N +	92.05	pyridyl-CH2		109
135	C6H9 +	81,070			117
136	C6H9 +	81.07			70
137	C6H11 +	83.09			70
138	C6H13 +	85.10			70
139	(C6H9O2 ⁻)	113		negative spectra	90
140	C6H11O2+	115.05			109
141	(C6H11O3 ⁻)	131		negative spectra	90
142	C6H14N4O2 +	174	amino acid Arginine R	from oligopeptide (H-CDP-GYIGSR-NH ₂)	72
143	C6H17NPO4+	198		(PC) phosphocholine headgroup	74
144	C6H18NPO4+	198		(PC) phosphocholine headgroup with CH3 fragment, 0-1 count	74
145	C7H5+	89		PAH	98
146	C7H5O+	105.03			109
147	C7H7+	91	tropylium ion	PAH	98
148	C7H7	91		Strong in cholesterol-d7 spectrum	82
149	C7H7 +	91.06		indicative of alkyl pyrroles	71
150	C7H7+	91.06		indicative of alkyl pyrroles	109
151	C7H8	92.14	Toluene	PAH	107
152	C7H10N +	108.08		nitrogen-containing fragment ion observed in Benzo[c]carbazole	70
153	C7H11+	95,086			117
154	C8H7+	103		PAH	98
155	C8H9+	105		PAH	98
156	C8H9+	105.07			109
157	C8H10NO +	136	amino acid Tyrosine Y	from oligopeptide (H-CDP-GYIGSR-NH ₂)	72
158	C8H13	109,102			117
159	C8H16O2	144.1		suggests presence of saturated & unsaturated fatty acids	71
160	C8H16O2	144.1			109
161	C9H7+	115.08			109
162	C9H7+	115.05		PAH	100
163	C9H7+	115		PAH	102
164	C9H7+	115		PAH	98
165	C9H9+	117		PAH	98
166	C9H15	123,117			117
167		123		8,14-secohopanes & onoceranes	115
168		125		β-carotane	115
169		128	naphthalene		105
170	C10H8+	128		PAH	102

171	C10H8 +	128	naphthalene	PAH	98
172	C10H8+	128	naphthalene	PAH	99
173	C10H8+	128.05	naphthalene	PAH	109
174	C10H8 +	128.05	naphthalene	PAH	71
175	C10H8 +	128.06	naphthalene	PAH	70
176	C10H8	128.17	naphthalene	PAH	107
177	C10H5N +	139.04		nitrogen-containing fragment ion observed in carbazole	70
178	C10H6N +	140.05		nitrogen-containing fragment ion observed in carbazole	70
179	C10H17	137,133			117
180		141	[naphthalene + CH2]+		105
181	C11H9+	141		PAH	102
182	C11H9+	141		PAH	98
183	C11H10	142.20	1-methylnaphthalene	PAH	107
184	C11H10	142.20	2-methylnaphthalene	PAH	107
185	C11H17	149,133		fragments of hopanoids	117
186	C11H17	149.14		fragment of hopanes, 17 β , 21 α -Hopane	116
187	C11H17	149.14		fragment of steranes, $\alpha\beta\beta$ 20R-Cholestane	116
188	C11H ₂₀ O2	184		suggests presence of saturated & unsaturated fatty acids	71
189	C11H ₂₀ O2	184			109
190	C12H8+	152			105
191	C12H8+	152		PAH	102
192	C12H8+	152		PAH	98
193	C12H19	163.16		fragment of steranes, $\alpha\beta\beta$ 20R-Cholestane	116
194	C12H9N +	167.07	Carbazole	Carbazoles(aromatic N-heterocyclics)	70
195	C12H10	154.21	Biphenyl	PAH	107
196	C12H12	156.22	1,2-dimethylnaphthalene	PAH	107
197	C12H12	156.22	1,3-dimethylnaphthalene	PAH	107
198	C12H12	156.22	1,4-dimethylnaphthalene	PAH	107
199	C12H12	156.22	1,8-dimethylnaphthalene	PAH	107
200	C12H12	156.22	2,3-dimethylnaphthalene	PAH	107
201	C12H12	156.22	2,6-dimethylnaphthalene	PAH	107
202	C12H19	163,149		fragments of hopanoids	117
203	C12H22O11, - Na+	365		Trehalose	74
204	C13H9+	165		PAH	102
205	C13H9+	165		PAH	98
206	C13H12	168.24	2-methylbiphenyl	PAH	107
207	C13H12	168.24	3-methylbiphenyl	PAH	107
208	C13H14	170.25	1,2,4-trimethylnaphthalene	PAH	107
209	C13H14	170.25	1,2,6-trimethylnaphthalene	PAH	107

210	C13H14	170.25	1,3,5-trimethylnaphthalene	PAH	107
211	C13H14	170.25	1,3,6-trimethylnaphthalene	PAH	107
212	C13H14	170.25	2,3,6-trimethylnaphthalene	PAH	107
213	C13H21	177,164	fragments of hopanoids		117
214		177	C-10 demethylated terpanes		115
215	C13H21	177.17	fragment of hopanes, 17 β , 21 α -Hopane		116
216	C13H28 +	184.22	tridecane	n-Alcanes	70
217	C14H10+	178	PAH		102
218	C14H10+	178	anthracene	PAH	98
219		178	phenanthrene		105
220	C14H10 +	178.08	phenanthrene	PAH	70
221	C14H10+	178	phenanthrene	PAH	99
222	C14H10	178.23	phenanthrene	PAH	107
223	C14H10	178.23	anthracene	PAH	107
224	C14H12+	180	PAH		98
225	C14H14	182.26	2,3-dimethylbiphenyl	PAH	107
226	C14H14	182.26	2,4-dimethylbiphenyl	PAH	107
227	C14H14	182.26	2,6-dimethylbiphenyl	PAH	107
228	C14H14	182.26	3,4-dimethylbiphenyl	PAH	107
229	C14H14	182.26	3,5-dimethylbiphenyl	PAH	107
230	C14D10+	188	PAH		98
231	C14H23	191,165	fragments of hopanoids		117
232	C14H23	191,180	diagnostic hopanoid		117
233	C14H23	191.19	fragment of hopanes, 17 β , 21 α -Hopane		116
234	C15H9+	189	PAH		102
235	C15H9 +	189.07	nitrogen-containing fragment ion observed in Benzo[c]carbazole		70
236	C15H11+	191	PAH		98
237		191	tri-, tetra- and pentacyclic terpanes		115
238	unknown	191.18	indicates the potential presence of bacterial hopanes		71
239		191.18	diagnostic hopane fragment		109
240		191.05	possible plasticisers (polyethylene)		109
241	C15H12	192.26	1-methylphenanthrene	PAH	107
242	C15H12	192.26	2-methylphenanthrene	PAH	107
243	C15H12	192.26	4-methylphenanthrene	PAH	107
244	C15H12	192.26	1-methylanthracene	PAH	107
245	C15H12	192.26	2-methylanthracene	PAH	107
246	C15H13+	193	PAH		98
247	C15H23	203.18	fragment of steranes, $\alpha\beta$ 20R-Cholestane		116
248	C15H25	205.20	fragment of hopanes, 17 β , 21 α -Hopane		116
249		205	3 β -methylhopane series & 2 α -methylhopane		115
250	C16H10+	202	PAH		102
251	C16H10+	202	pyrene	PAH	99

252	C16H10+	202	pyrene		105
253	C16H10 +	202.08	pyrene	PAH	70
254	C16H10	202.24	pyrene	PAH	107
255	C16H11N	217,090	benzocarbazole		117
256	C16H11N +	217.09	Benzo[c]carbazole	Carbazoles(aromatic N-heterocyclics)	70
257	C16H14	206.28	1,3-dimethylphenanthrene	PAH	107
258	C16H14	206.28	1,8-dimethylphenanthrene	PAH	107
259	C16H14	206.28	2,3-dimethylphenanthrene	PAH	107
260	C16H14	206.28	2,5-dimethylphenanthrene	PAH	107
261	C16H14	206.28	2,6-dimethylphenanthrene	PAH	107
262	C16H14	206.28	4,9-dimethylphenanthrene	PAH	107
263		217		ααα-steranes	115
264		218		αββ-steranes	115
265	C16H25	217.20		fragment of steranes, αββ 20R-Cholestane	116
266	C16H26	218.21		fragment of steranes, αββ 20R-Cholestane	116
267		218.21		indicating the possibility of differentiating sterane isomers	116
268	C16H27	219.22		fragment of hopanes, 17β, 21α -Hopane	116
269	C16H27	219,211		fragments of hopanoids	117
270	C17H11+	215		PAH	102
271	C17H12	216.28	1-methylpyrene	PAH	107
272	C17H12	216.28	2-methylpyrene	PAH	107
273	C17H27	231,211		fragments of hopanoids	117
274	C17H36 +	240.28	heptadecane	n-Alcanes	70
275	C18H10+	226		PAH	102
276	C18H10+	226			105
277		228	benzo[a]anthracene		105
278	C18H12 +	228		PAH	102
279		228,188	chrysene		117
280	C18H12 +	228	chrysene	PAH	99
281	C18H12 +	228.09	chrysene	PAH	70
282	C18H12	228.29	chrysene	PAH	107
283	C18H12	228.29	Triphenylene	PAH	107
284		231		triaromatic steroids	115
285	C18H15	231.12		diagnostic fragment for triaromatic steranes	116
286	C18H29	245,227		fragments of hopanoids	117
287	C19H9+	237		PAH	98
288	C19H10+	238		PAH	98
289	C19H11+	239		PAH	98
290	C19H11+	239		PAH	102
291	C19H13+	241		PAH	98
292	C19H14	242.32	1-methylchrysene	PAH	107
293	C19H14	242.32	2-methylchrysene	PAH	107

294		253		C ring monoaromatic steroids	115
295		259		diasteranes & tetracyclic polyprenoids	115
296		256		Palmitate from DPPC -d4 (much stronger than that from POPC)	82
297		286		Perdeuteropalmitate from POPG -d31	82
298		287		Oleate from POPC	82
299	C19H25	253.20		diagnostic fragment for monoaromatic steranes	116
300	C19H29	257.23		fragment of steranes, $\alpha\beta$ 20R-Cholestane	116
301	C19H31	259,243		fragments of hopanoids	117
302	C19H33O3	309.24	MAG 16:2	MAG, monoacylglycerol	110
303	C19H35O3	311.27	MAG 16:1	MAG, monoacylglycerol	110
304	C19H37O3	313.28	MAG 16:0	MAG, monoacylglycerol	110
305	C19H38O2	298			109
306	C19H38O2	298		suggests presence of saturated & unsaturated fatty acids	71
307	C19H40	268.31	pristane	Isoprenoids	70
308	C20H9+	249		PAH	98
309	C20H10+	250		PAH	102
310	C20H10+	250			105
311	C20H10+	250		PAH	98
312	C20H11+	251		PAH	98
313		252	benzo[a]pyrene		105
314	C20H12+	252		PAH	102
315	C20H12 +	252.09	benzo[a]pyrene	PAH	70
316	C20H12+	252	perylene or benzopyrene	PAH	99
317	C20H12+	252	Benzopyrene	PAH	98
318	C20H13+	253		PAH	98
319	C20H33	273,258		fragments of hopanoids	117
320	C20H42 +	282.33	eicosane	n-Alcanes	70
321	C21H9+	261		PAH	98
322	C21H10+	262		PAH	98
323	C21H11+	263		PAH	98
324	C21H12+	264		PAH	98
325	C21H13+	265		PAH	98
326	C21H14+	266		PAH	98
327	C21H35	287,274		fragments of hopanoids	117
328	C21H33O3	333.25	MAG 18:4	MAG, monoacylglycerol	111
329	C21H35O3	335.27	MAG 18:3	MAG, monoacylglycerol	111
330	C21H37O3	337.28	MAG 18:2	MAG, monoacylglycerol	111
331	C21H39O3	339.29	MAG 18:1	MAG, monoacylglycerol	111
332	C22H10+	274		PAH	98
333	C22H11+	275		PAH	98
334	C22H12+	276	benzoperylene or anthanthrene	PAH	99
335	C22H12+	276		PAH	98
336		276			105
337	C22H13+	277		PAH	98

338	C22H14+	278	anthanthracene	PAH	99
339	C22H14+	278		PAH	98
340	C22H15+	279		PAH	98
341	C22H16+	280		PAH	98
342	C23H13+	289		PAH	98
343	C23H15+	291		PAH	98
344	C23H16+	292		PAH	98
345	C22H14	278	pentacene	PAH	94
346		300	coronene	PAH	105
347	C24H12+	300	coronene	PAH	99
348	C24H12	300	coronene	PAH	94
349	C25H52 +	352.41	pentacosane	n-Alcanes	70
350	C26H14	?	hexacene	PAH	94
351	C27H45+	369		Cholesterol fragment, 0-1 count	74
352		369		Cholesterol fragment	81
353	C27H45	369.35		fragment of hopanes, 17 β , 21 α -Hopane	116
354	C27H46	370,360	hopanoid	17 α (H) 22,29,30-trisnorhopane	117
355	C27H47	371.37	sterane	$\alpha\beta\beta$ 20R-Cholestane	116
356	C27H48	372.38		$\alpha\alpha\alpha$ 20R-Cholestane	116
357	C26H32	344.25		triaromatic sterane	116
358	C26H45	357.36		fragment for sterane, $\alpha\beta\beta$ 20R-Cholestane	116
359	C27H34	358.27		triaromatic sterane	116
360	C27H42	366.33		C-ring monoaromatic sterane	116
361	C28H35	371.27		triaromatic sterane	116
362	C28H44	380.34		C-ring monoaromatic sterane	116
363	C28H47	383,367		fragments of hopanoids	117
364	C28H47	383.38		17 α , 21 β -30-Norhopane	116
365	C28H49	385.39	sterane	$\alpha\beta\beta$ 20R-24S-Methylcholestane	116
366	C28H50	386.39		$\alpha\beta\beta$ 20R-24S-Methylcholestane	116
367	C29H46	394.36		C-ring monoaromatic sterane	116
368	C29H49	397.40	hopane	17 α , 21 β -30-Norhopane, 17 β , 21 α -Hopane	116
369	C29H50	398,391	hopanoid	17 β 21 α (H) -30-norhopane	117
370	C29H50	398.40		17 α , 21 β -30-Norhopane	117
371	C29H51	399.40	sterane		116
372	C30	411.40	hopane		116
373	C30H50	410,391	hopanoid	hop-22(29)-ene	117
374	C30H51	411.41	hopane	17 β , 21 α -Hopane	116
375	C30H52	412,407	hopanoid	17 β 21 β (H) -hopane	117
376	C30H52	412.41		17 β , 21 α -Hopane	116
377	C30H62	422,485	squalane		117
378	C30H62	422.49	squalane	Isoprenoids	70
379	C31H53	425.42	hopane		116
380	C32H55	439.44	hopane		116
381	C33H57O4	517.44	DAG 30:3	DAG, diacylglycerol	111
382	C33H59O4	519.45	DAG 30:2	DAG, diacylglycerol	111
383	C33H61O4	521.47	DAG 30:1	DAG, diacylglycerol	111

384	C33H63O4	523.48	DAG 30:0	DAG, diacylglycerol	111
385	C34H59O4	531.46	DAG 31:3	DAG, diacylglycerol	111
386	C34H61O4	533.48	DAG 31:2	DAG, diacylglycerol	111
387	C34H63O4	535.48	DAG 31:1	DAG, diacylglycerol	111
388	C34H65O4	537.47	DAG 31:0	DAG, diacylglycerol	111
389	C35H59O4	543.46	DAG 32:4	DAG, diacylglycerol	111
390	C35H61O4	545.47	DAG 32:3	DAG, diacylglycerol	111
391	C35H63O4	547.49	DAG 32:2	DAG, diacylglycerol	111
392	C35H65O4	549.50	DAG 32:1	DAG, diacylglycerol	111
393	C35H67O4	551.51	DAG 32:0	DAG, diacylglycerol	111
394	C36H63O4	559.49	DAG 33:3	DAG, diacylglycerol	111
395	C36H65O4	561.50	DAG 33:2	DAG, diacylglycerol	111
396	C36H67O4	563.51	DAG 33:1	DAG, diacylglycerol	111
397	C36H69O4	565.50	DAG 33:0	DAG, diacylglycerol	111
398	C37H61O4	569.47	DAG 34:5	DAG, diacylglycerol	111
399	C37H63O4	571.49	DAG 34:4	DAG, diacylglycerol	111
400	C37H65O4	573.50	DAG 34:3	DAG, diacylglycerol	111
401	C37H67O4	575.51	DAG 34:2	DAG, diacylglycerol	111
402	C37H69O4	577.53	DAG 34:1	DAG, diacylglycerol	111
403	C37H71O4	579.54	DAG 34:0	DAG, diacylglycerol	111
404	C38H67O4	587.49	DAG 35:3	DAG, diacylglycerol	111
405	C38H69O4	589.50	DAG 35:2	DAG, diacylglycerol	111
406	C38H71O4	591.53	DAG 35:1	DAG, diacylglycerol	111
407	C39H63O4	595.49	DAG 36:6	DAG, diacylglycerol	111
408	C39H65O4	597.50	DAG 36:5	DAG, diacylglycerol	111
409	C39H67O4	599.52	DAG 36:4	DAG, diacylglycerol	111
410	C39H69O4	601.52	DAG 36:3	DAG, diacylglycerol	111
411	C39H71O4	603.55	DAG 36:2	DAG, diacylglycerol	111
412	C39H73O4	605.53	DAG 36:1	DAG, diacylglycerol	111
413	C40H56	536.45	Carotene	Carotenoids	111
414	C40H78	558.61	β -carotene	Isoprenoids	70
415	C40H82	562.64	lycopane	Isoprenoids	70
416	C43H88O3	[M+Na] ⁺ : 675.64	Archaeol		86
417	C43H88O3	[M+Na] ⁺ : 675.67	Archaeol	calculated (M):652.673 , [M+Na] ⁺ :675.663	89
418	C43H88O4	[M+Na] ⁺ :691.65	Hydroxyarchaeol	we also have measured [M-H] ⁻	86
419	C43H88O4	[M+Na] ⁺ : 691.67	Hydroxyarchaeol	calculated (M):668.668 , [M+Na] ⁺ :691.658	89
420	C43H88O5	[M+Na] ⁺ : 707.65	Dihydroxyarchaeol	calculated (M):684.663 , [M+Na] ⁺ :707.653	89
421	C48H88O6Na	783.69	TAG 45:2	TAG, triacylglycerol	111
422	C48H90O6Na	785.69	TAG 45:1	TAG, triacylglycerol	111
423	C49H90O6Na	797.67	TAG 46:2	TAG, triacylglycerol	111
424	C49H92O6Na	799.69	TAG 46:1	TAG, triacylglycerol	111
425	C49H94O6Na	801.70	TAG 46:0	TAG, triacylglycerol	111
426	C51H92O6Na	823.68	TAG 48:3	TAG, triacylglycerol	111
427	C51H94O6Na	825.69	TAG 48:2	TAG, triacylglycerol	111

428	C51H96O6Na	827.70	TAG 48:1	TAG, triacylglycerol	111
429	C51H98O6Na	829.73	TAG 48:0	TAG, triacylglycerol	111
430	C53H92O6Na	847.69	TAG 50:5	TAG, triacylglycerol	111
431	C53H94O6Na	849.70	TAG 50:4	TAG, triacylglycerol	111
432	C53H96O6Na	851.72	TAG 50:3	TAG, triacylglycerol	111
433	C53H98O6Na	853.72	TAG 50:2	TAG, triacylglycerol	111
434	C53H100O6Na	855.72	TAG 50:1	TAG, triacylglycerol	111
435	C53H102O6Na	857.74	TAG 50:0	TAG, triacylglycerol	111
436	C55H92O6Na	871.69	TAG 52:7	TAG, triacylglycerol	111
437	C55H94O6Na	873.70	TAG 52:6	TAG, triacylglycerol	111
438	C55H96O6Na	875.70	TAG 52:5	TAG, triacylglycerol	111
439	C55H98O6Na	877.71	TAG 52:4	TAG, triacylglycerol	111
440	C55H100O6Na	879.73	TAG 52:3	TAG, triacylglycerol	111
441	C55H102O6Na	881.76	TAG 52:2	TAG, triacylglycerol	111
442	C55H104O6Na	883.73	TAG 52:1	TAG, triacylglycerol	111
443	C55H106O6Na	885.74	TAG 52:0	TAG, triacylglycerol	111
444	C55H74N4O6	886.55	chl a derivative 1a	Chlorophyll	111
445	C56H76N4O6	900.55	chl a derivative 2a	Chlorophyll	111
446	C55H72MgN4O6	908.54	chl a derivative 1b	Chlorophyll	111
447	C56H76N4O7	916.56	chl a derivative 3a	Chlorophyll	111
448	C56H74MgN4O6	922.55	chl a derivative 2b	Chlorophyll	111
449	C56H74MgN4O7	938.55	chl a derivative 3b	Chlorophyll	111
450	C55H108O13	[M+Na] ⁺ : 999.77	Gentiobiosyl-archaeol	calculated (M):976.779 , [M+Na] ⁺ :999.769	89
451	C60H101	821.79		dimer in the spectrum of the hopane	116
452	D	2			82
453	Cl	35			82
454	PO3H	80			82
455	PO4	96			82
456	PO4H	97			82
457	PO4H2	98			82
458	PO4H3	99			82
459		355		proposed phospholipid: Cardiolipin	79
460	210	565		proposed phospholipid: Phosphatidylglycerol	79
461	28	593		proposed phospholipid: Phosphatidylglycerol	79
462	100	693		proposed phospholipid: Phosphatidylglycerol	79
463	14	707		proposed phospholipid: Phosphatidylglycerol	79
464	194	901		proposed phospholipid: Diglycosyldiacylglycerol	79
465	1	902		proposed phospholipid: Cardiolipin	79
466	11	913		proposed phospholipid: Diglycosyldiacylglycerol	79
467	2	915		proposed phospholipid: Diglycosyldiacylglycerol	79
468	1	916		proposed phospholipid: Cardiolipin	79
469	13	929		proposed phospholipid: Diglycosyldiacylglycerol	79
470	1	930		proposed phospholipid: Cardiolipin	79
471	13	943		proposed phospholipid: Diglycosyldiacylglycerol	79
472	1	944		proposed phospholipid: Cardiolipin	79

473	13	957		proposed phospholipid: Diglycosyldiacylglycerol	79
474	1	958		proposed phospholipid: Cardiolipin	79
475	1	959		proposed phospholipid: Diglycosyldiacylglycerol	79
476		147,033	(PDMS)	polydimethyl siloxane , contaminant (plasticiser)	117
477		207,033	(PDMS)	polydimethyl siloxane , contaminant (plasticiser)	117
478		221,085	(PDMS)	polydimethyl siloxane , contaminant (plasticiser)	117
479		281,088	(PDMS)	polydimethyl siloxane , contaminant (plasticiser)	117