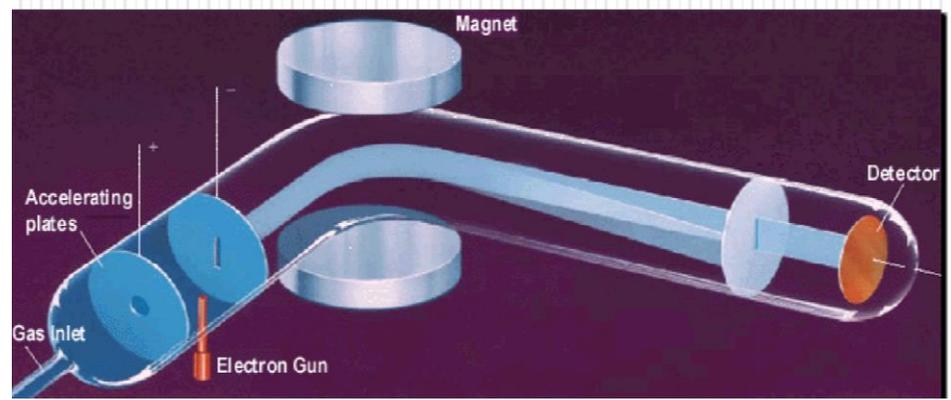


# Масс-спектрометрия



# Масс-спектрометрия (МС)

**Метод МС** - метод исследования и анализа веществ

**основан** на ионизации атомов и молекул вещества и последующем разделении образующихся ионов в соответствии с их массовым числом  $m/z$  - отношением массы иона к его заряду - в электрическом или магнитном поле

- Первые масс-спектры были получены в Великобритании в 1910 г. (Томсон) и 1919 г. (Астон)



**Джозеф Джон Томсон**  
(18.12.1856 – 30.08.1940)

**Преимущество метода** в том, что для анализа достаточно очень малое количество вещества, **основной недостаток** – метод является разрушающим, т. е. исследуется не само вещество, а продукты его превращения

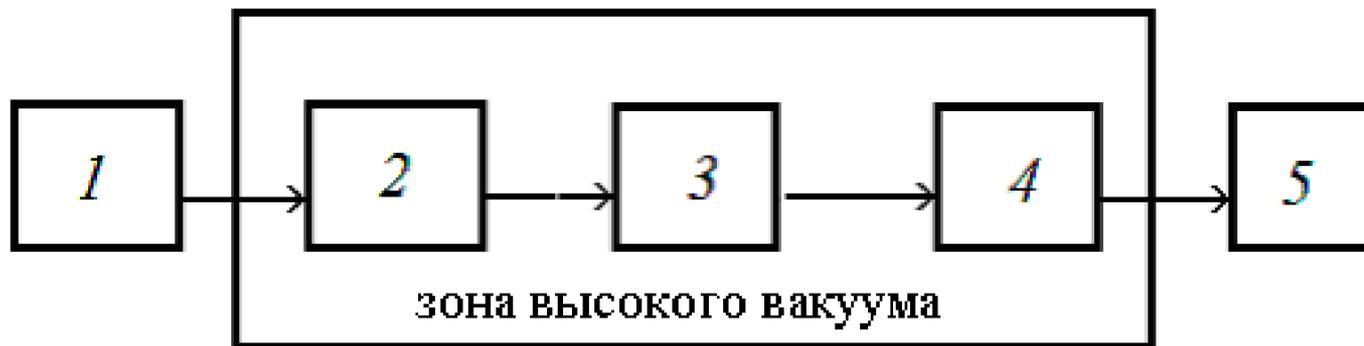
Строго говоря, метод МС не относится к спектроскопическим, поскольку в его основе нет взаимодействия вещества с электромагнитным излучением,

но **внешний вид** графического распределения ионов по массовым числам - зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду - **напоминает спектр** и получил название масс-спектр, а сам метод - масс-спектрометрия

**Масс-спектрометр** — это вакуумный прибор, использующий физические законы движения заряженных частиц в магнитных и электрических полях, и необходимый для получения масс-спектра



# Блок-схема масс-спектрометра



1- система ввода образца

2- источник ионизации с ускорителем ионов

3- масс-анализатор (устройство для разделения ионов)

4- детектор

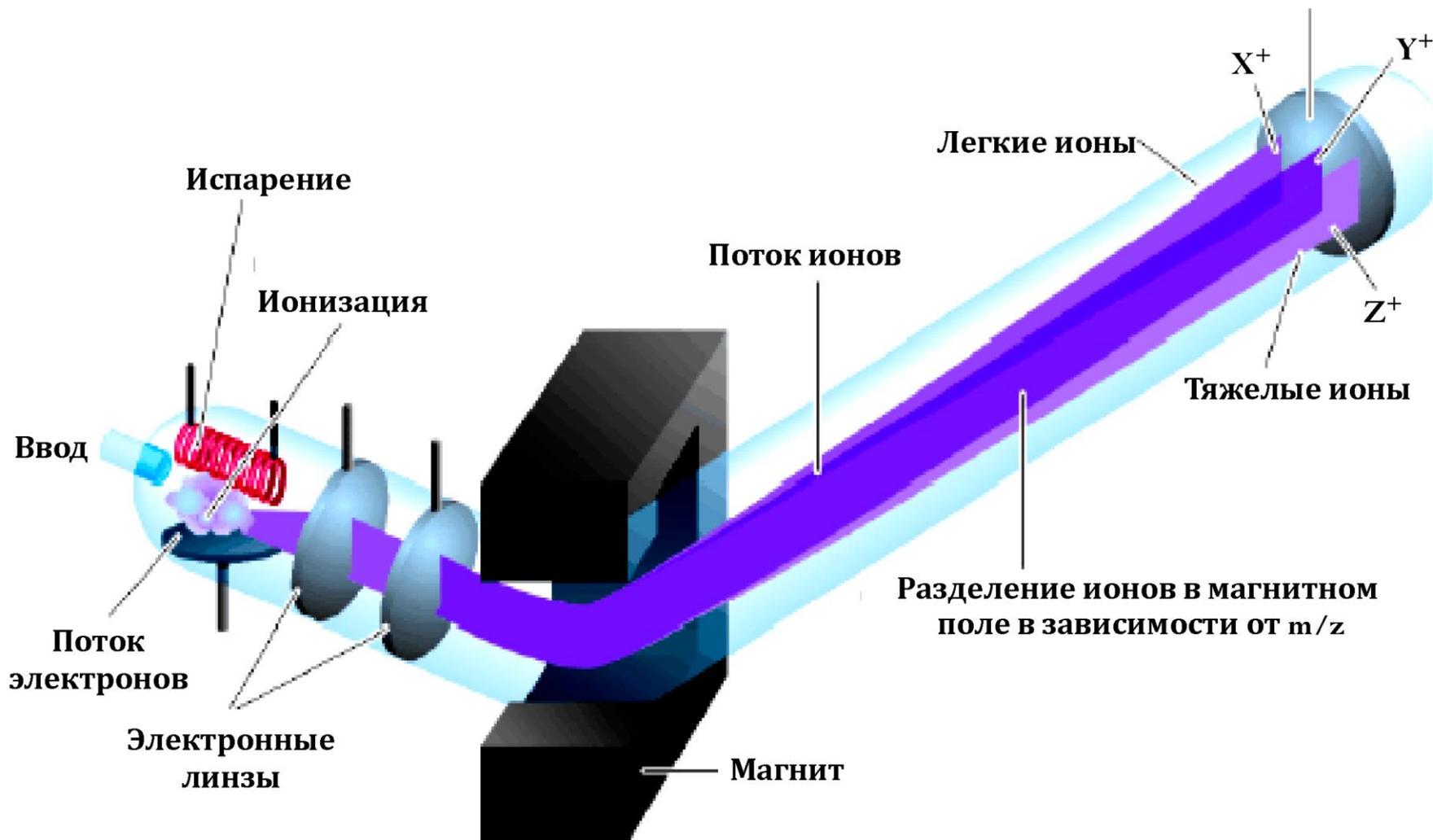
5- измерительное или регистрирующее устройство

Чтобы исключить соударение ионов с другими атомами или молекулами, *анализ происходит в вакууме* (в ионизаторе давление  $10^{-3}$  -  $10^{-4}$  Па, в масс-анализаторе  $10^{-3}$  -  $10^{-8}$  Па)

# Принцип метода

- Пробу вводят в источник ионизации, где молекулы ионизируются
- Образующиеся положительные ионы выводятся из зоны ионизации, ускоряются электрическим полем и одновременно фокусируются в пучок. Нейтральные молекулы удаляются вакуум-насосом
- Поток ускоренных ионов попадает в масс-анализатор, где ионы разделяются по массе
- Разделенные пучки ионов попадают в детектор, где ионный ток преобразуется в электрический сигнал, который усиливается и регистрируется

# Схема масс-спектрометра

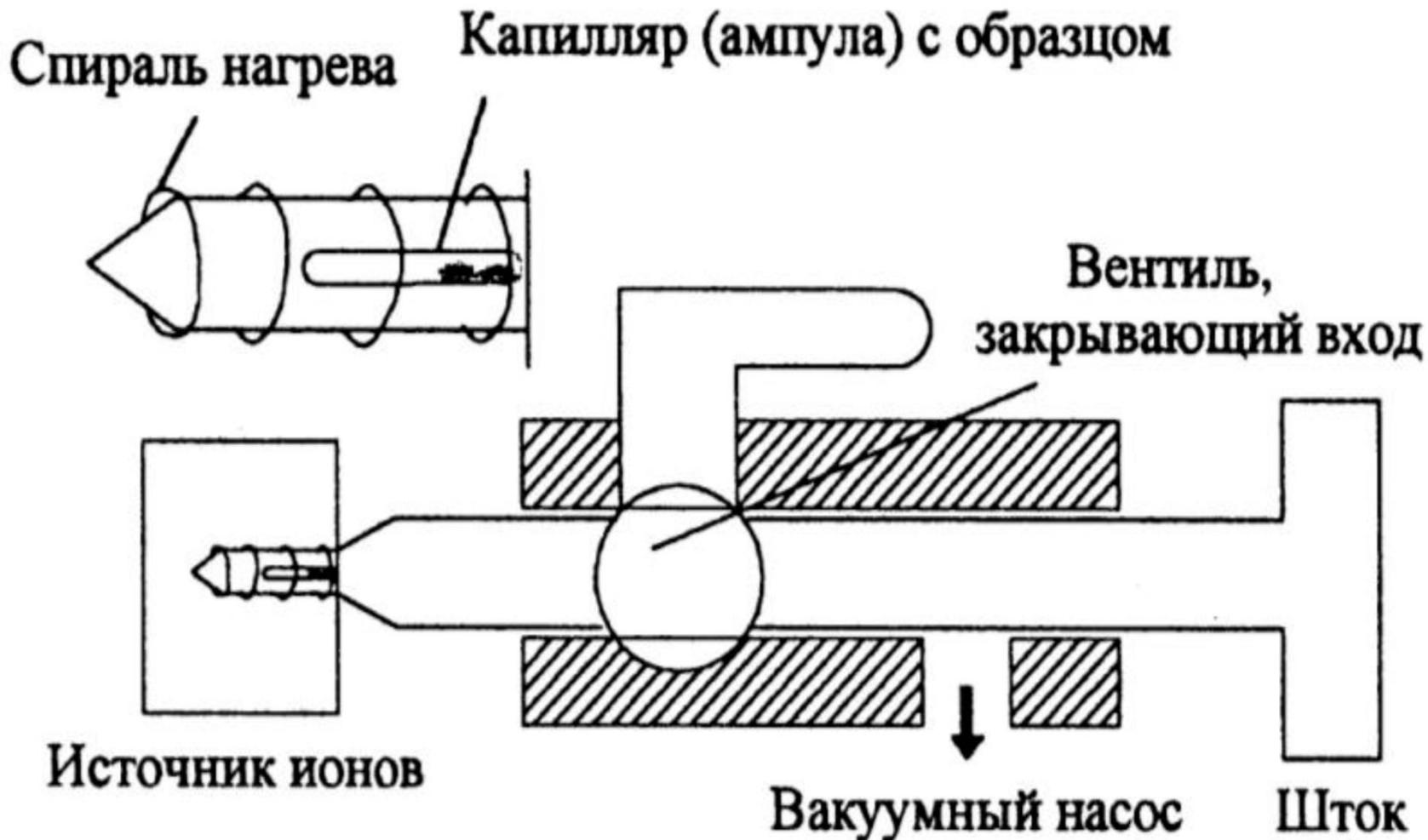


# Система ввода пробы

- **1. Непрямой способ** - пробу вводят в ионизатор в газообразном состоянии
  - Жидкие и твердые пробы испаряют (~500 °С) в вакуумной камере, и пары через специальное отверстие поступают в ионизатор
- **2. Прямой способ** - используется для труднолетучих проб
  - Образец непосредственно вводят в ионизатор с помощью штанги через систему шлюзовых камер
  - В этом случае потери вещества значительно меньше, масса пробы - несколько нг
- **3. Анализируемое вещество поступает в масс-спектрометр из другого прибора**
  - В настоящее время сочетание газовой и жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС, ЖХ-МС) используют для рутинного анализа во многих областях аналитической химии

**Количество вводимой пробы не превышает нескольких микромолей, чтобы не нарушить вакуум внутри прибора**

# Схема прямого ввода образца в масс-спектрометр:



# Способы ионизации

***Способы ионизации атомов и молекул зависят от конкретной цели анализа***

Способ ионизации	Аналитическое использование
Электронный удар (электронная ионизация)	Изотопный анализ, молекулярный анализ неорганических ионов
Химическая ионизация	Анализ органических соединений
Электроспрей (электрораспыление)	Анализ крупных молекул
Лазерное излучение	Анализ атомов
Бомбардировка пучком ионов	Анализ ионов

# Методы ионизации пробы

- **Газовая фаза**
- электронная ионизация – электронный удар (EI)
- химическая ионизация (CI)
- электронный захват (EC)
- ионизация в электрическом поле (FI)
- **Жидкая фаза**
- ионизация при атмосферном давлении (AP)
  - фотоионизация при атмосферном давлении (APPI)
  - электроспрей (APESI)
  - химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)
- термоспрей
- **Твёрдая фаза**
- прямая лазерная десорбция - масс-спектрометрия (LDMS)
- матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI)
- масс-спектрометрия вторичных ионов (SIMS)
- бомбардировка быстрыми атомами (FAB)
- десорбция в электрическом поле (FD)
- плазменная десорбция (PD)

- В неорганической химии для анализа элементного состава применяются жёсткие методы ионизации, так как энергии связи атомов в твёрдом теле гораздо больше
- ионизация в индуктивно связанной плазме (ICP)
  - термоионизация или поверхностная ионизация
  - ионизация в тлеющем разряде и искровая ионизация
  - ионизация в процессе лазерной абляции

**Исторически первые методы ионизации были разработаны для газовой фазы**

## Специальные методы ионизации органических соединений, которые разлагаются раньше, чем испаряются

- **1. ионизация при атмосферном давлении** и её подвиды -
  - электроспрей (ESI)
  - химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)
  - фотоионизация при атмосферном давлении (APPI)
- **2. ионизация лазерной десорбцией** (MALDI)

*Форма получаемого масс-спектра сильно зависит от способа ионизации*

Наиболее часто используют ионизацию электронным ударом

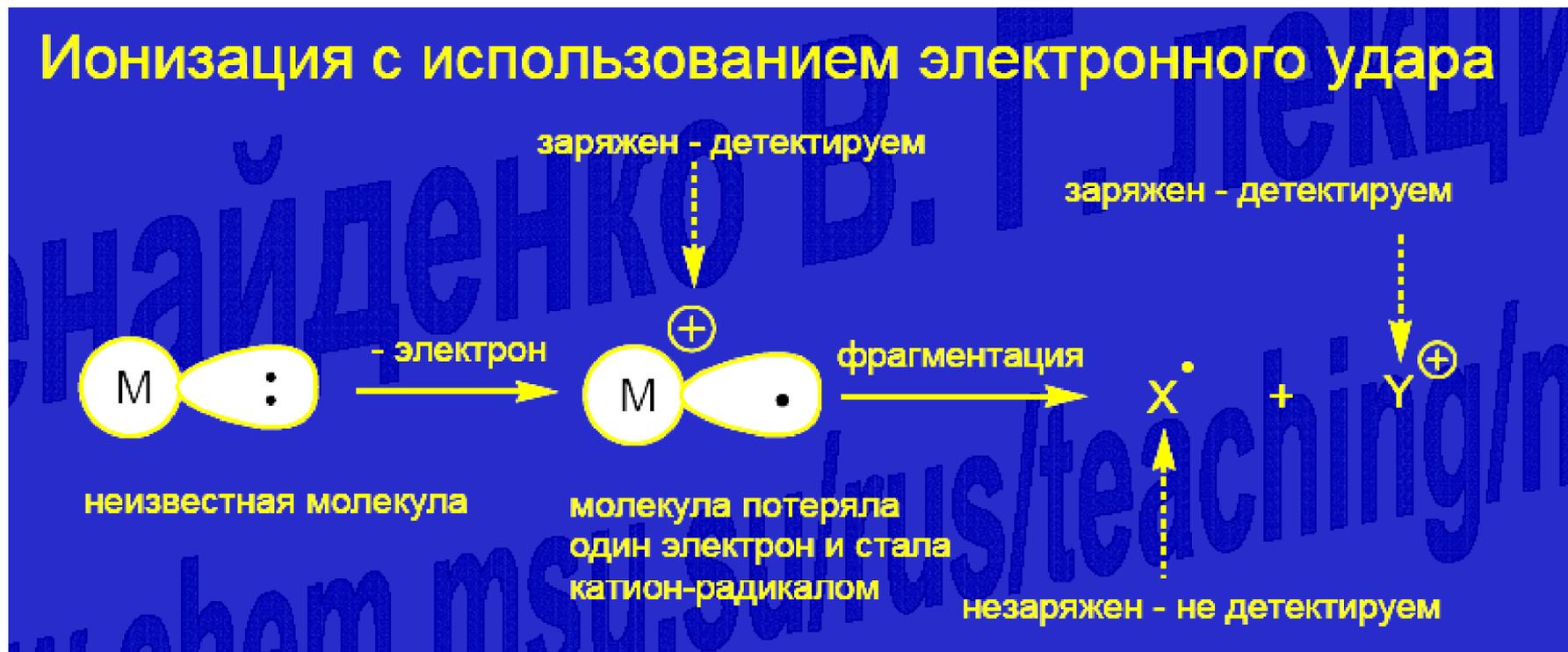
**Электронный удар** - метод широко применяется для ионизации соединений

Пары образца бомбардируют ускоренными электронами

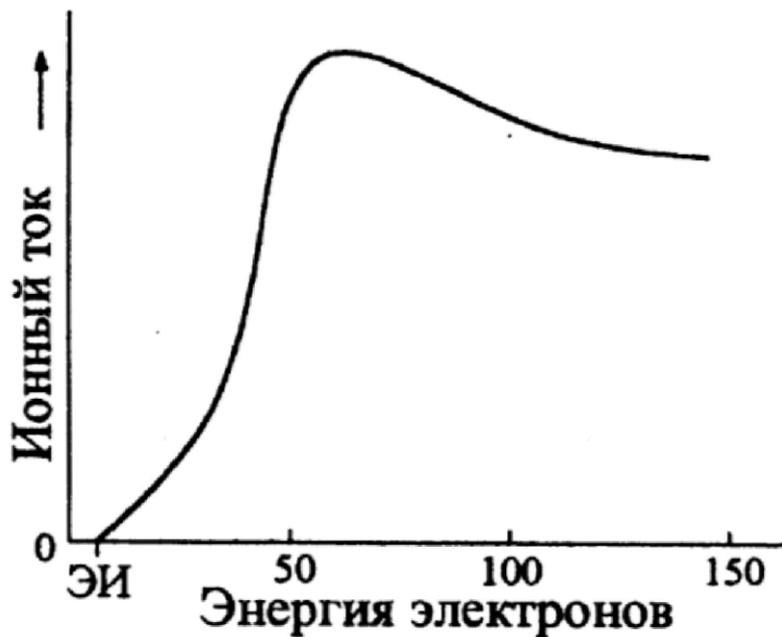
При столкновении электронов с органической молекулой вначале образуется катион-радикал



затем происходит его распад (фрагментация), и образуются дочерние ионы с меньшими массами

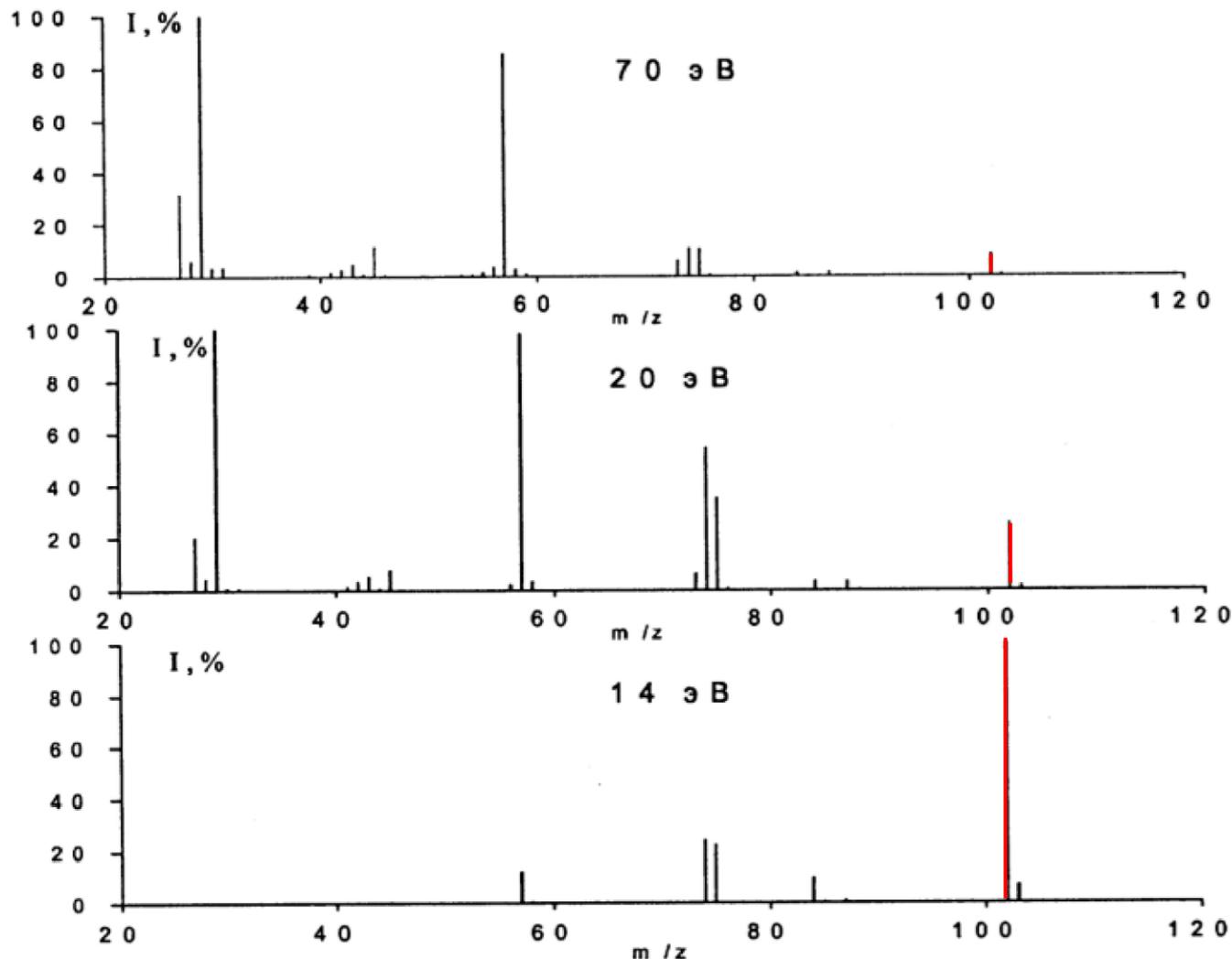


- Эффективность ионизации зависит от энергии ионизирующих электронов, максимум эффективности достигается при энергии примерно в **70 эВ**



Зависимость  
величины ионного  
тока от энергии  
ионизирующих  
электронов

**Ионизация электронным ударом** - зависимость интенсивности пика молекулярного иона от величины энергии ионизации:



Чем меньше энергия ионизации, тем выше пик молекулярного иона

Масс-спектр электронного удара этилпропионата  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C(=O)-O-CH}_2\text{-CH}_3$  (молекулярная масса 102) при энергиях ионизирующих электронов 70, 20 и 14 эВ

**Масс-спектрометр регистрирует лишь положительные ионы, отрицательные ионы, нейтральные радикалы и молекулы не регистрируются**

**Достоинства метода ионизации электронным ударом :**

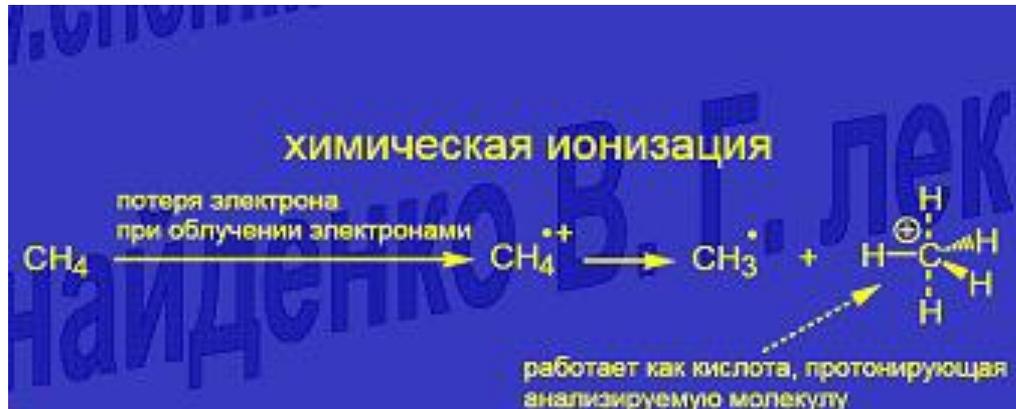
- Метод ионизации электронным ударом дает богатые фрагментами масс-спектры, которые однозначно характеризуют структуру молекулы, что **удобно для идентификации веществ**
- Масс-спектрометрия электронного удара - **высокочувствительный метод анализа**, позволяет анализировать пикомольные количества вещества
- Существуют "библиотеки" масс-спектров, содержащие спектры более 70000 органических соединений, по которым можно проводить их идентификацию с применением ЭВМ

**Недостатки метода ионизации электронным ударом :**

- Молекулярные ионы образуются лишь у **20% органических соединений**
- метод применим только **для определения легколетучих термически стабильных соединений;**

**Химическая ионизация**- более мягкий способ ионизации

Пары пробы смешивают с большим избытком газа- реагента (метан, изобутан, аммиак или NO), газ- реагент и ионизируют действием электронного удара



- Определяемые **молекулы ионизируются** непосредственно **ионами реагентного газа** за счет ряда реакций
- Протонированная молекула образца выталкивается электрическим полем в сторону масс-анализатора

## **Достоинства метода химической ионизации :**

- **1. Мягкий метод ионизации**
  - молекуле образца передается около 5 эВ избыточной энергии, что препятствует процессам фрагментации и позволяет подвергать анализу нестойкие молекулы
- **2. Интенсивный пик молекулярного иона**
  - позволяет определить молекулярную массу

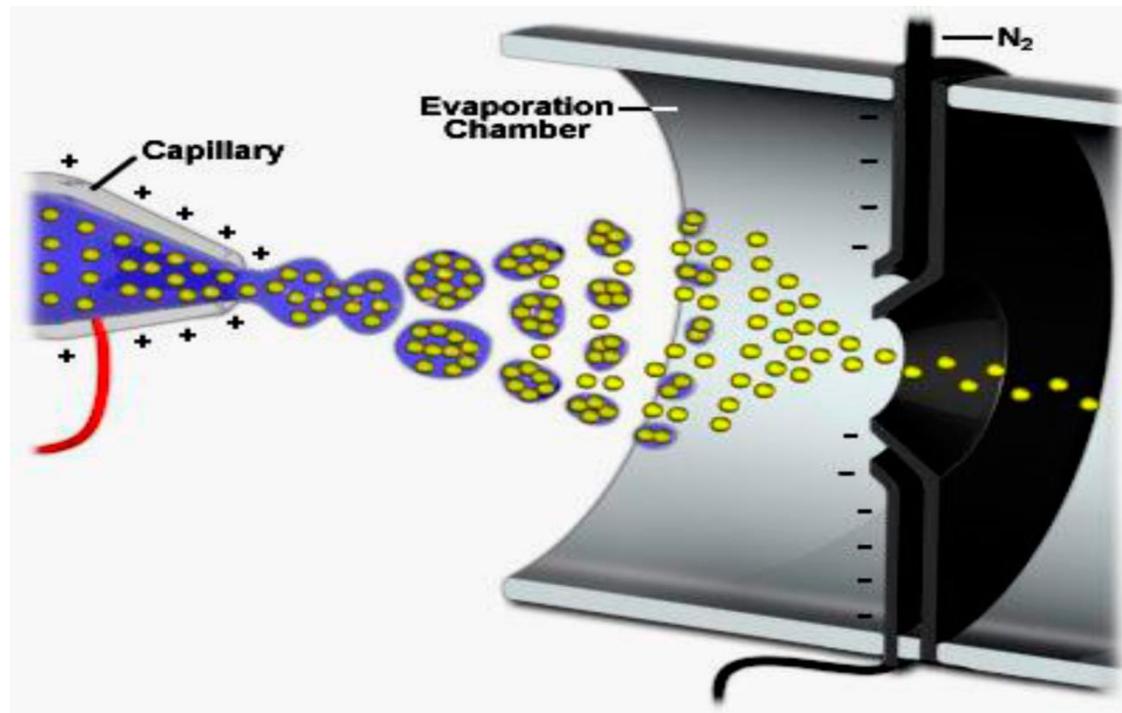
## **Недостатки метода химической ионизации :**

- **1. очень простые масс-спектры,**
  - не позволяет судить о структуре вещества и сравнить спектр с базами масс-спектральных данных
- **2. Возможно провести анализ только тех соединений, которые можно перенести в газовую фазу (испарить)**

# Электроспрей (электрораспыление)

Вещество на ионизацию поступает в полярном растворителе (вода, метанол, ацетонитрил и др.), содержащем ионы водорода и катионы щелочных металлов (натрий, калий), через металлический капилляр (распылитель), к которому приложено **высокое напряжение**

Продвигаясь в электрическом поле **капля раствора испаряется** под действием нагретого потока инертного газа (азот) и **распадается на ряд мелких положительно заряженных капель**, которые попадают в масс-анализатор



## **Достоинства электроспрея:**

- Метод позволяет работать с веществами, которые нельзя перевести в газовую фазу
- Удобен для сочетания масс-спектрометра с жидкостным хроматографом
- **Возможность анализа крупных** (до нескольких миллионов а.е.м.) молекул

## **Недостатки электроспрея:**

- **Вещество должно быть растворимо** в полярных растворителях
- **Масс-спектр малоинформативен**, как правило, присутствуют лишь пики комплексов молекулярного иона с катионом ( $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ), многозарядных ионов таких комплексов

Приставка для электроспрей-ионизации, подключенная к времяпролетному масс-спектрометру

**Bruker micrOTOF**



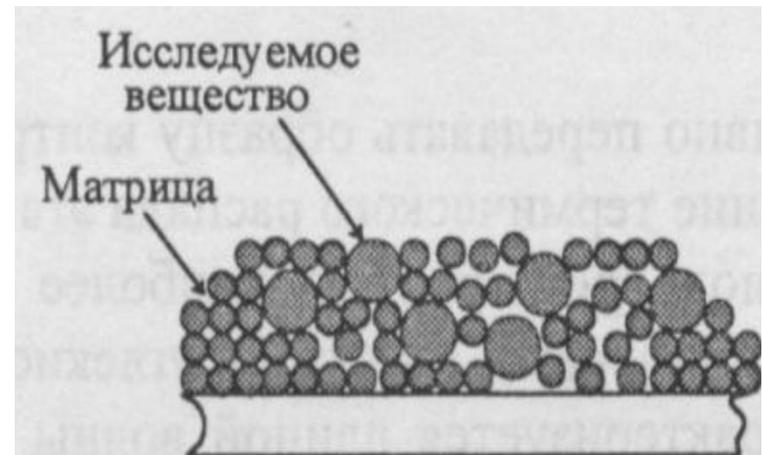
# Лазерная десорбция

**Матричная лазерная десорбция** - метод, при котором исследуемое вещество помещают в «матрицу» - перемешивают с веществом, имеющим меньший молекулярный вес и обладающим высокой способностью поглощать лазерное излучение.

## Матрицы

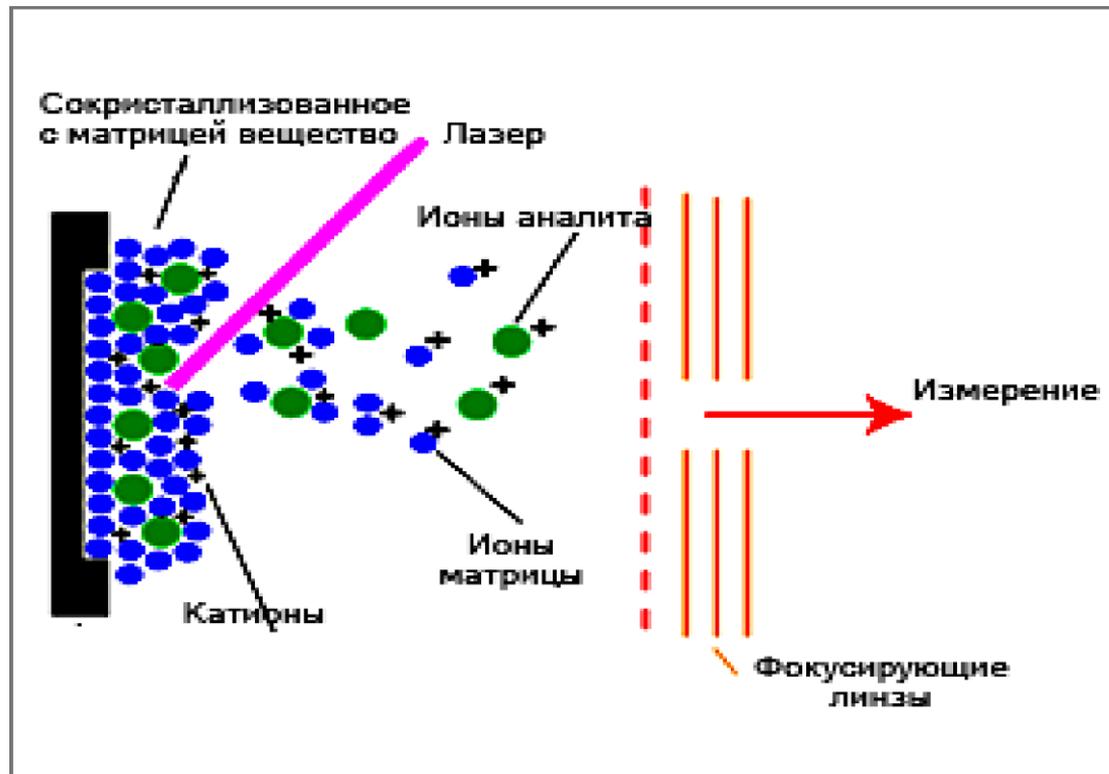
(органические растворители):

- коричная кислота ( $C_6H_5CH=CHCOOH$ ),
- 3-гидроксипиколиновая кислота,
- 6,7-гидроксикумарин и т.д.).



**Перемешивание** происходит при помощи растворения вещества-образца и вещества матрицы в одном растворителе и **последующем испарении растворителя** на специальной подложке.

- Далее смесь на подложке помещают в прибор и **облучают короткими лазерными импульсами**
- Вещество матрицы испаряется и захватывает с собой молекулы исследуемого **вещества**, которые **частично ионизируются** и **увлекаются электрическим полем** в масс-анализатор



### *Достоинства лазерной десорбции :*

- 1. Возможность анализа **крупных молекул** (массой до 100 000 а.е.м. и выше)
- 2. **Мягкая ионизация** образца
- 3. Возможность анализа **загрязненных** примесями **образцов**

### *Недостатки лазерной десорбции :*

- 1. **Малоинформативный масс-спектр** - присутствуют лишь пики молекулярного иона и его «мультимеров» - частиц, состоящих из нескольких молекул образца с зарядом +1
- 2. **Долгая пробоподготовка** и необходимость подбора условий под образец - подбирать вещество для матрицы

# Полевая ионизация

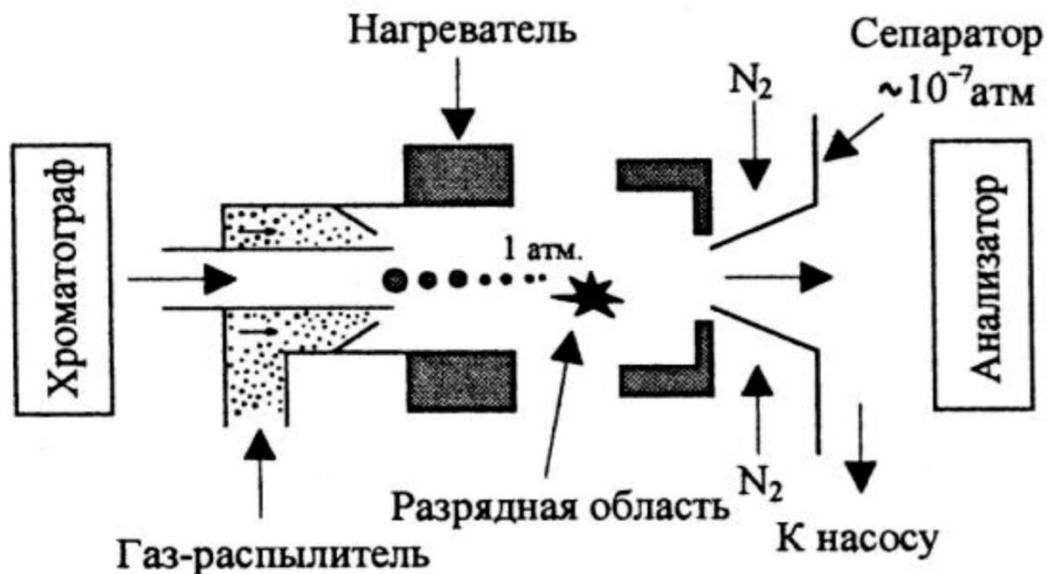
- В этом методе ионизация происходит под действием электрического поля высокой напряженности (до  $10^8$  В/см)
- Ионизация происходит на **эмиттере** - *вольфрамовой проволоке, покрытой пиролитическим углеродом*. Частицы углерода образуют на поверхности проволоки микроскопические острия, они увеличивают локальную напряженность поля и способствуют ионизации
- метод относится к **мягким способам ионизации**
- Количество образующихся фрагментов невелико, спектр достаточно простой и содержит молекулярный пик
- Рассмотренные способы ионизации требуют предварительного испарения пробы ( **$\sim 500$  °C**) и применимы для изучения молекул с молекулярными массами менее 1000

**Химическая ионизация при атмосферном давлении** - метод, похожий на электрораспыление. Используется для стыковки жидкостного хроматографа с масс-анализатором.

**Поток из колонки жидкостного хроматографа** направляется в распылитель, где он превращается в мелкодисперсный аэрозоль и **смешивается с большим количеством нагретого газа** (азота или воздуха), далее капли аэрозоля **перемещаются в область испарения**, где в газовую фазу переходит большая часть молекул растворителя. Далее на пути уже газообразного образца следует область ионизации

Ионизация происходит при атмосферном давлении либо коронным разрядом, либо бета-излучателями.

Далее ионизированные частицы образца попадают в анализатор с глубоким вакуумом



### **Достоинства *химической ионизации при атмосферном давлении* :**

- 1. Работа ионного источника при атмосферном давлении
- 2. Необязательно использовать только полярные растворители для образца (как в случае электрораспыления)
- 3. Возможность работы с образцами, которые сложно перевести в газовую фазу обычными методами

### **Недостатки *химической ионизации при атмосферном давлении* :**

- 1. Возможен анализ образцов с массой примерно до 1500 дальтон, что относительно немного
- 2. Полученные масс-спектры малоинформативны и не позволяют использовать их для структурных исследований

# Масс-анализаторы

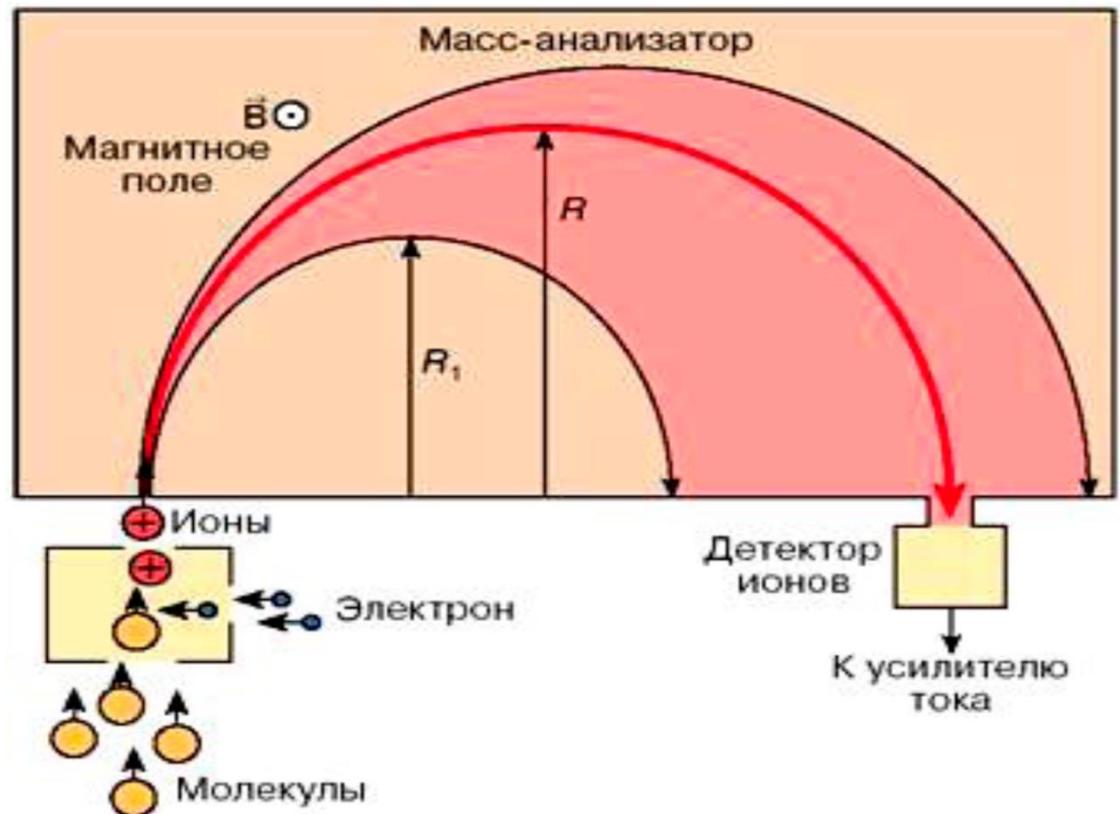
**Масс -анализатор** - устройство для разделения ионов в соответствии с отношением  $m/z$

- Существует более 10 типов динамических масс-анализаторов
- Основные типы масс-анализаторов:
  - *магнитные*
  - *квадрупольные*
  - *времяпролетные*
  - *«ионная ловушка»*

- В **магнитном масс-анализаторе** для разделения ионов используют однородное магнитное поле. Траектория заряженных частиц в магнитном поле искривляется, причем радиус кривизны зависит от их массы и заряда.

$$r = \frac{1}{H} \sqrt{2U_0 \cdot \frac{m}{z}}$$

$z$  - заряд иона,  
 $m$  - масса иона,  
 $U_0$  - ускоряющий потенциал,  
 $H$  - напряженность магнитного поля

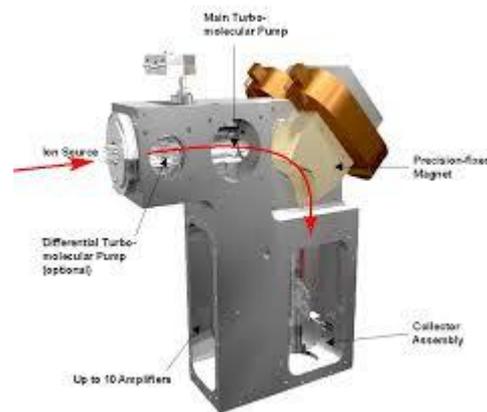
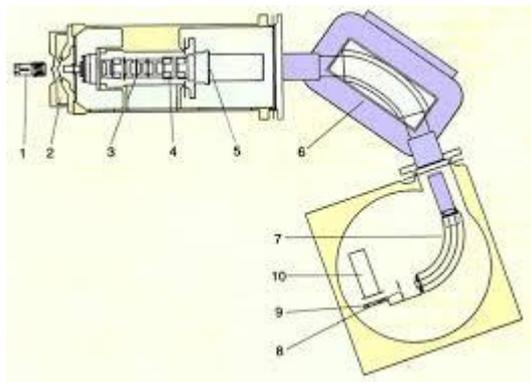


## Достоинство магнитных масс-спектрометров

- высокое разрешение,
- чувствительность,
- большой диапазон детектируемых масс

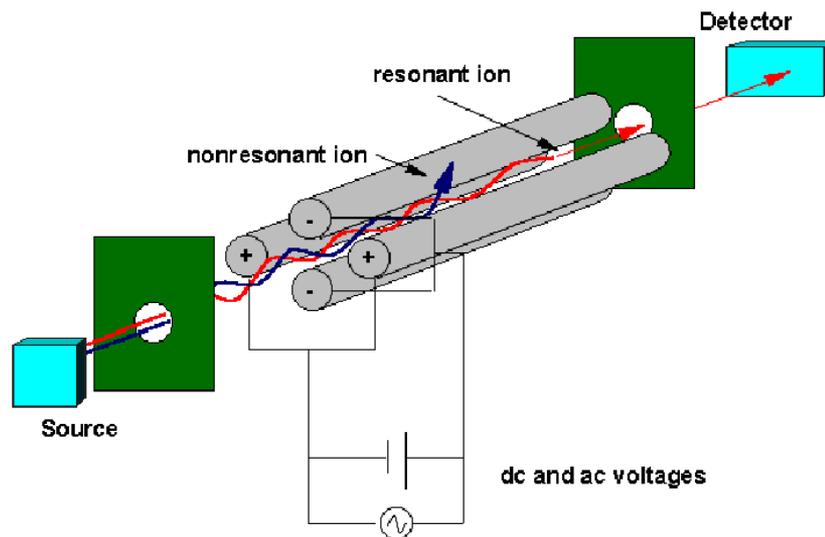
## Основной недостаток :

- большой размер приборов и высокая стоимость



# Квадрупольные масс-анализаторы

- В **квадрупольном масс-анализаторе** ионный пучок направляют в пространство между *четырьмя параллельными электродами*
- Это стержни из нержавеющей стали, одна пара по диагонали противоположных стержней заряжена *положительно*, другая - *отрицательно*
- Одновременно на электроды наложено *высокочастотное переменное напряжение*



**Недостаток** приборов этого типа: верхний предел пропускания находится между  $m/z$  1000 и 2000

**Достоинства:** высокая чувствительность, небольшие размеры, невысокая цена, удобство в эксплуатации; время регистрации спектра до 0,1 с, что очень важно в сочетании прибора с хроматографией

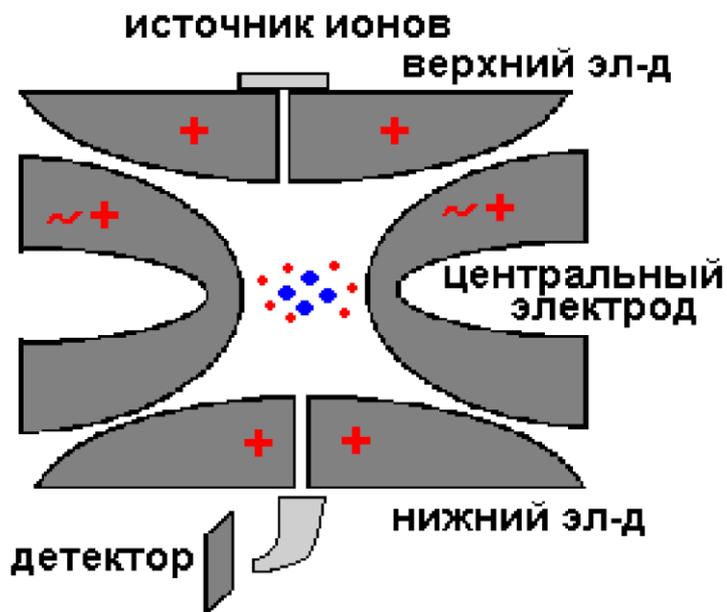
Под действием электрических полей заряженные частицы колеблются и при фиксированном значении частоты и амплитуды переменного поля только ионы с определенным значением  $m/z$  проходят через квадруполь



Квадрупольный **масс**-спектрометр вторичных ионов (PHI ADEPT - 1010 D - SIMS).

## Разновидность квадрупольного масс-анализатора - **трехмерная ионная ловушка**

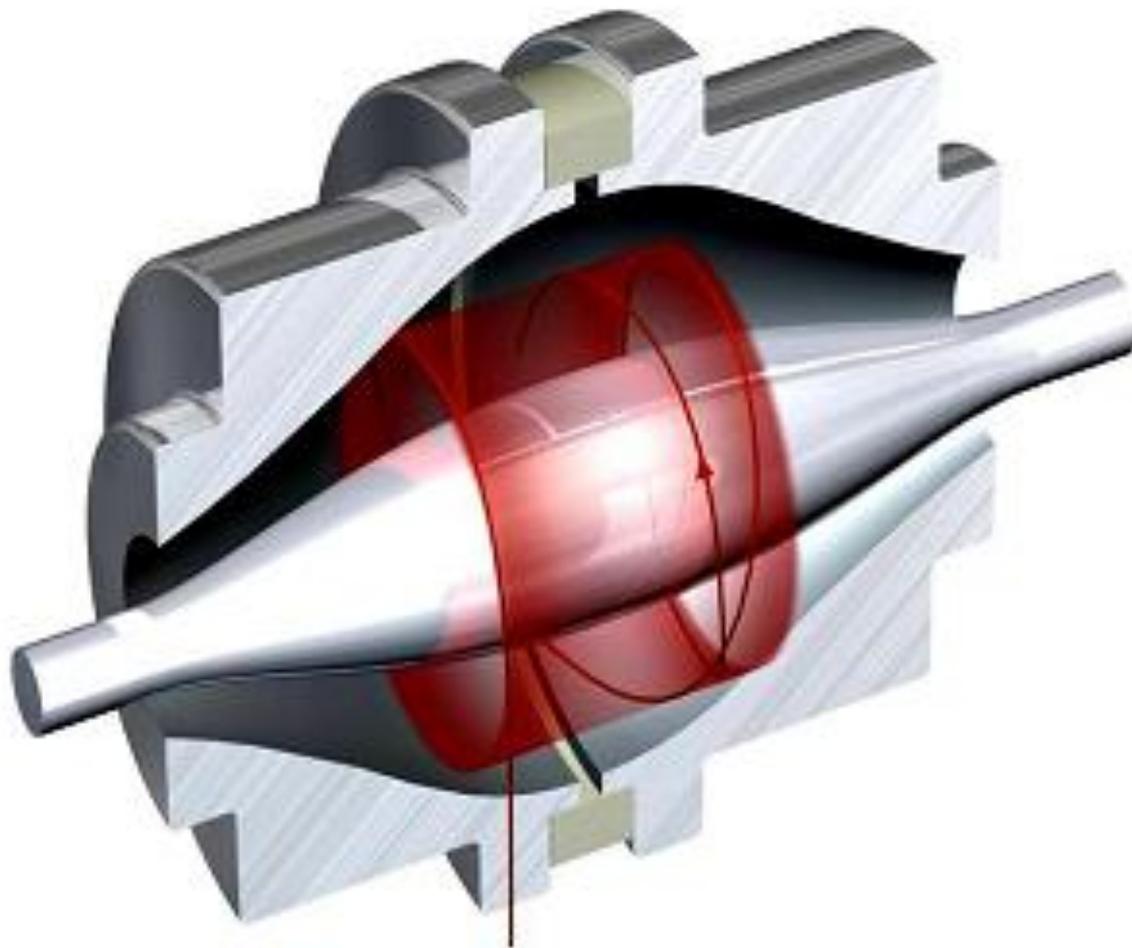
- Два концевых (полюсных) гиперболических по форме электрода заземлены, между ними располагается электрод кольцевой формы, на который подается импульсное напряжение мегагерцового диапазона



Эта система электродов создает поле, позволяющее удерживать ионы достаточно долгое время

Для ионизации образца используется электронная или химическая ионизация в импульсном режиме (0,1 - 10 мс)  
Селективная регистрация ионов позволяет существенно повысить чувствительность измерений

# Ионная ловушка Orbi-trap



# Времяпролетные масс-анализаторы

- Действие **времяпролетных масс-анализаторов** основано на зависимости скорости движения ионов от их массы.
  - Их особенность: ионы движутся в **бесполевом пространстве**
- После ускорителя все ионы обладают одинаковой кинетической энергией  $E = mv^2/2$ , следовательно
  - **чем больше их масса, тем меньше скорость, тем больше время пролета иона через анализатор**

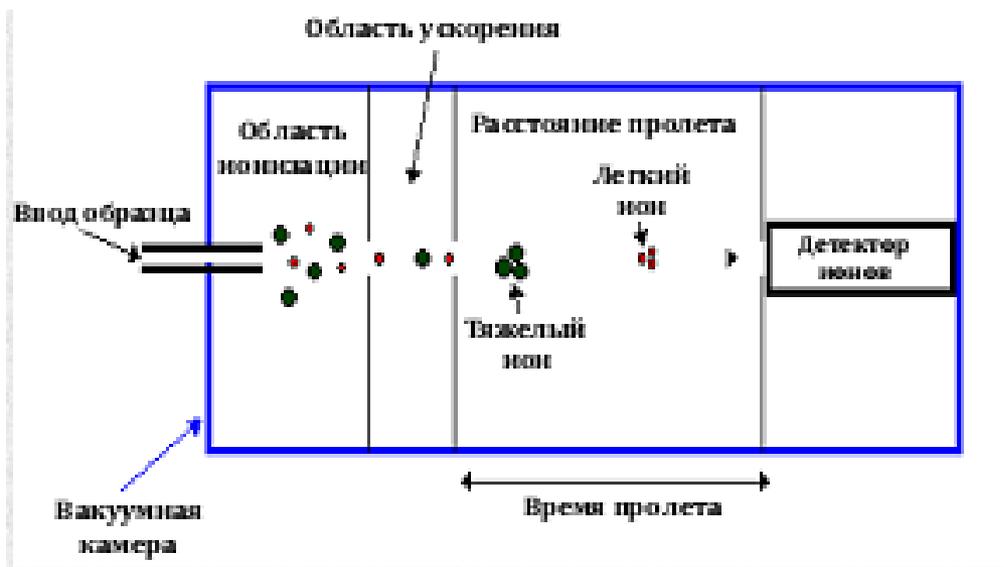
$$t = L\sqrt{m / 2zU} \quad L - \text{длина детектора}$$

$U$  - ускоряющий потенциал

- **Время пролета составляет несколько микросекунд**
- **Метод применим для определения массы больших молекул (десятки и сотни тысяч атомных единиц)**



## Схема времяпролетного масс-спектрометра



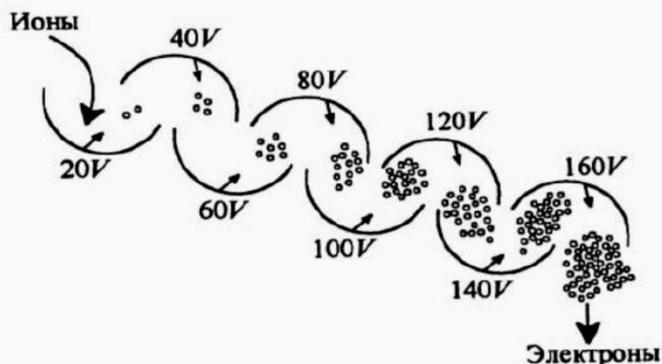
### Достоинство приборов:

- простота,
- относительно небольшая стоимости
- надежность в эксплуатации и диапазон измеряемых масс ( $10^4$ - $10^5$  а.е.м.)
- Популярны при исследовании соединений, непереводимых в газовую фазу

# Детекторы ионов

- В настоящее время применяют **диодные вторично-электронные умножители**, в которых ион, попадая на первый диод, выбивает из него пучок электронов, которые в свою очередь, попадая на следующий диод, выбивают из него ещё большее количество электронов и т. д.

Схема действия электронного умножителя (ЭУ):

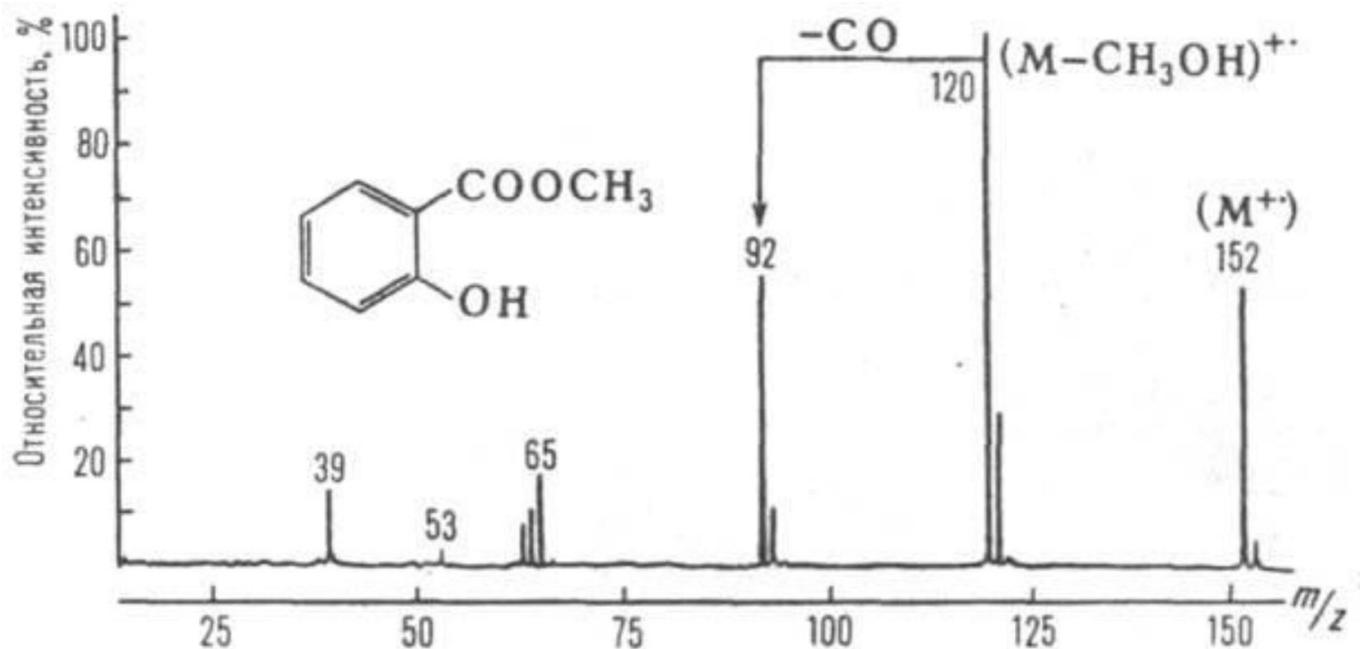


Электронный умножитель  
масс-спектрометра  
Thermo Electron DFS



# Представление масс-спектров

- На графике **по оси абсцисс** откладывается отношение массы иона к его заряду,  $m/z$ , а по **оси ординат** - **интенсивность**, характеризующая относительное количество ионов данного вида
- Интенсивность выражается в процентах по отношению к полному ионному току (суммарной интенсивности всех ионов в масс-спектре)



# Анализ по масс-спектрам

- 1. **Определение молярной массы**
  - Источник информации - положение молекулярного пика  $M^+$  или его производных  $(M+1)^+$   $(M-1)^+$
- 2. **Определение брутто-формулы**
  - используют соотношение интенсивностей пиков изотопов элементов
- 3. **Определение структуры** органических соединений
  - основано на изучении пиков осколочных ионов

# Качественный анализ

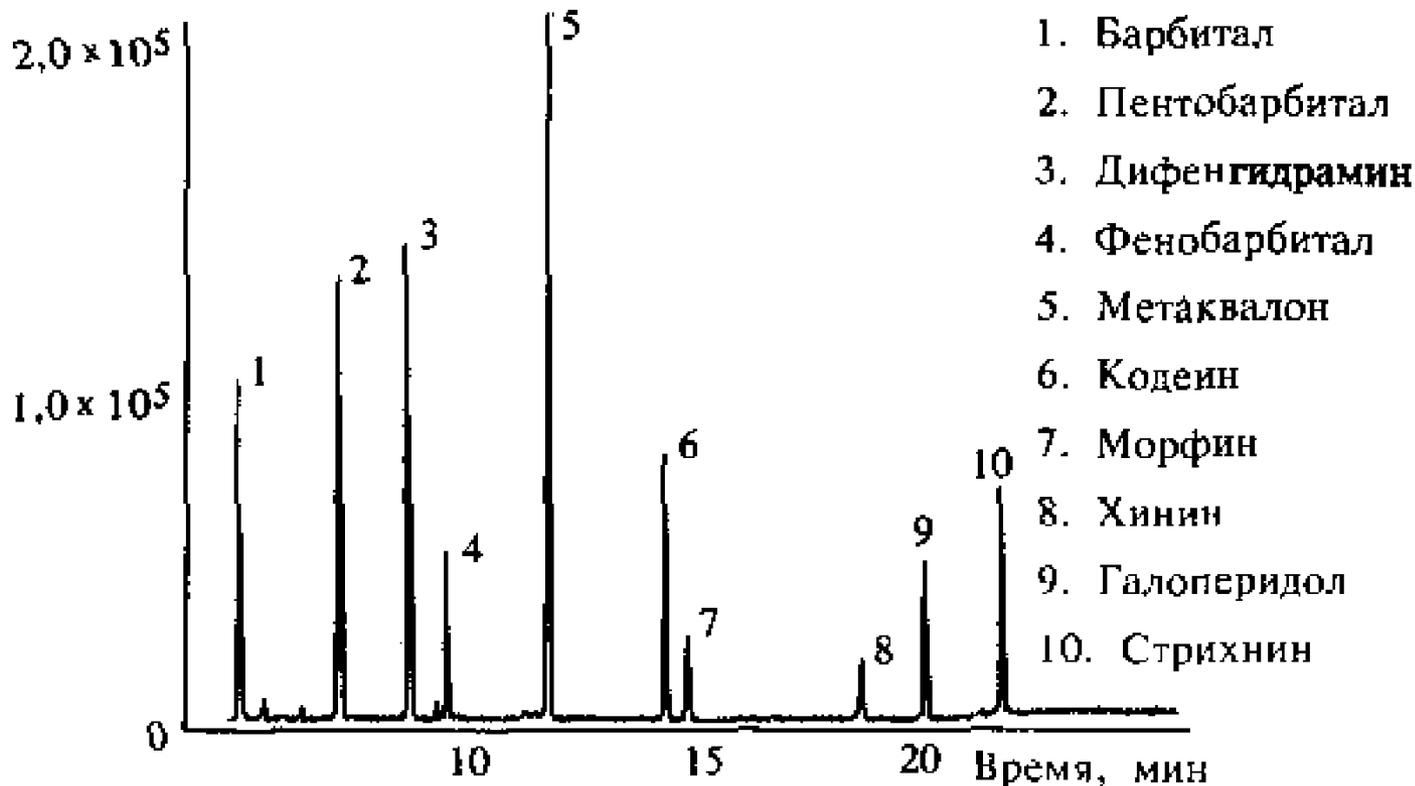
- Наиболее представительные ионы и соответствующие им структуры **помещены в таблицы**, их используют при интерпретации масс-спектров
- Кроме того **сравнивают масс-спектры** изучаемого соединения с **каталогом спектров** (до 150 000 спектров различных соединений)
- При идентификации исходят из того, что характер фрагментации неизвестного вещества и соединения с предполагаемой структурой одинаков, а спектры получены в близких экспериментальных условиях, что не всегда выполняется (например, спектры изомеров не различаются)
- В любом случае **вероятность совпадения масс-спектров одного и того же вещества выше, чем масс-спектров разных веществ**

# Количественный анализ

- Возможны **вещественный** и **элементный** анализ
- Количественный анализ смесей органических соединений часто **ограничен сложностью масс- спектра**
- Поэтому **метод МС сочетают с различными видами хроматографии** и капиллярного зонного электрофореза
  - Для вещественного анализа используют газовую хроматографию (ГХ)
    - В ходе хроматографирования регистрируют во времени интенсивность какого-либо пика с определенным массовым числом
    - В результате получается зависимость сигнала детектора от времени

# Построение масс-хроматограммы

Для построения масс-хроматограммы берут интенсивности пиков нескольких ионов из каждого записанного масс-спектра и строят график зависимости этих интенсивностей от номера масс-спектра, соответствующего времени удерживания



# ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРЫ



## Возможности газовых хромато-масс-спектрометров

- Автоматический ввод образца/серии образцов.
- Диапазон измеряемых масс от 10 до 850 а. е. м.
- Программируемое изменение температуры хроматографической колонки от -50 до 400°C.
- Анализ содержания вещества в растворе.
- Возможность анализа легкокипящих образцов (температура кипения которых меньше температуры кипения растворителя).
- Возможность подключения других модулей (например, термоаналитической приставки).

# Элементный анализ

- Для ионизации образцов используют **электрическую искру, индуктивно связанную плазму, тлеющий разряд**
- Искровую ионизацию применяют для твердых проб, используют масс-анализатор с двойной фокусировкой
- **Абсолютный предел обнаружения  $10^{-12}$  г,** одновременно можно определять **до 60-70 элементов**
- При использовании ИСП или тлеющего разряда применяют квадрупольные масс-анализаторы
- МС с ИСП - очень важный метод анализа растворов, позволяющий **определять любые элементы** (с  $m/z$  начиная от 3) и пределом обнаружения 0,1-10 частей на миллион ( **$10^{-5}$  -  $10^{-3}\%$** )

# Аналитические возможности метода

- Позволяет определять массы ядер и атомов и оценивать распространенность изотопов в природе
- По соотношению масс изотопов материнского и дочернего излучений определяют возраст горных пород, археологических и др. объектов

## МС применяют

- **для элементного анализа** твердых неорганических веществ и материалов
- **для идентификации и установления структуры** органических соединений, включая определение молярной массы
- **для исследования состава и структуры поверхностей твердых тел** (локальный, послойный и фазовый анализ)

## Для МС характерны

- Использование небольших навесок ( 1 мг и меньше)
- **Высокая чувствительность**
  - все элементы периодической системы определяют с чувствительностью  $10^{-12}$  г
  - при использовании лазерных источников ионизации достигается чувствительность  $10^{-19}$  г
- **Универсальность** - возможность анализа широкого круга объектов от элементов до сложных белковых молекул
- Высокая специфичность и селективность

**Недостаток масс-спектрометрии:** это деструктивный метод анализа, и используемый образец нельзя восстановить для дальнейшего анализа или синтеза

# Аналитический контроль в ядерной энергетике

- Основные применения изотопной и элементной масс-спектрометрии в различных аспектах ядерной энергетики :
- 1. **Разработка и производство ядерного топлива** - определение примесей посторонних элементов и изотопного состава расщепляющихся материалов, в частности для **для анализа изотопных отношений гексафторида урана**
- 2. **Переработка вторичного ядерного топлива для повторного использования** - никакими другими методами, кроме МС невозможно установить **степень регенерации топлива**
- Разбавление ураном с природной распространенностью или обедненным ураном требует **контроля изотопного состава**, как и в случае производства нового топлива.
  - Однако, требуется проводить дополнительный тщательный контроль на предельно низком уровне содержания изотопов  $^{232}\text{U}$ ,  $^{233}\text{U}$ ,  $^{234}\text{U}$ ,  $^{236}\text{U}$  и ряда техногенных элементов, например, технеция (Тс), плутония (Pu), к появлению которых приводит нахождение материалов **в реакторе**

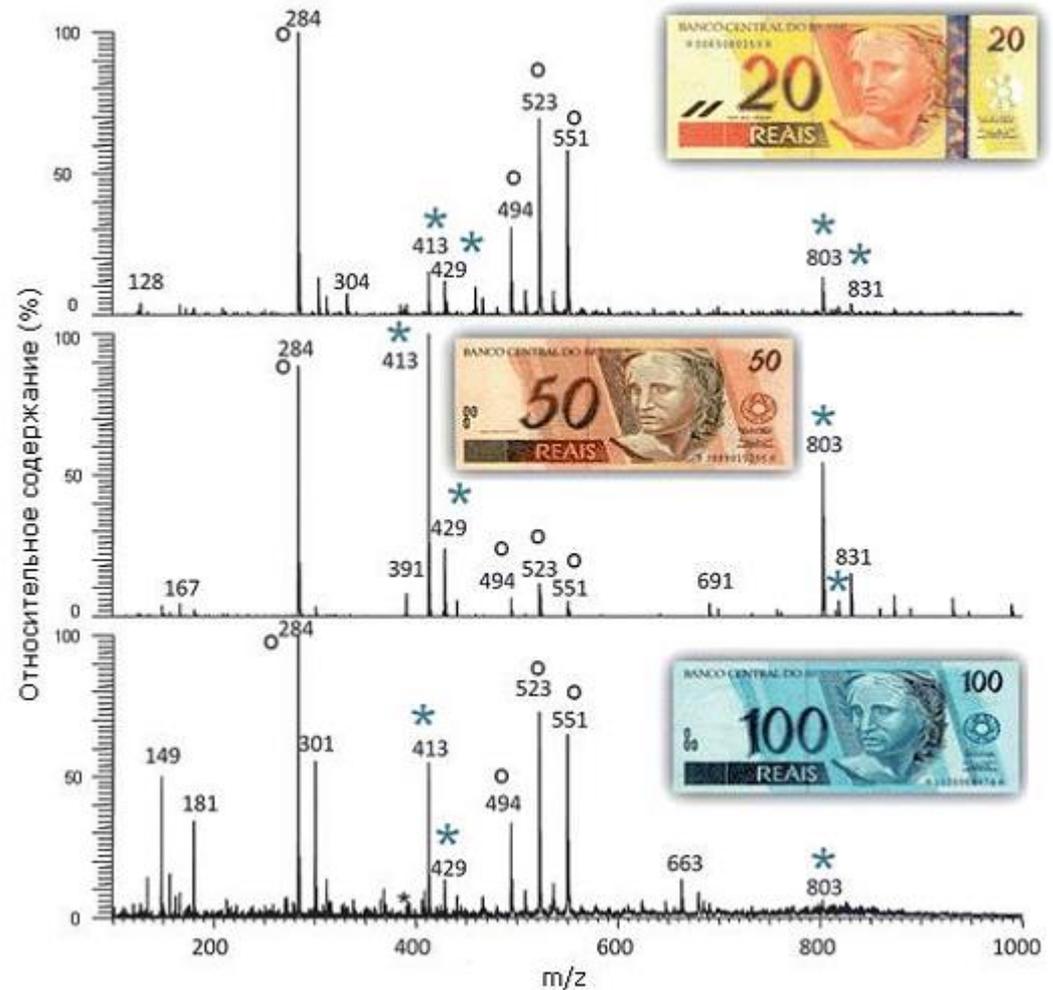
# Аналитический контроль в ядерной энергетике

- **3. Хранение отходов ядерных материалов** - во время хранения, помимо дозиметрии, должен проводиться контроль и по изотопному / элементному составу, для чего МС незаменима
- **4. Установление источников происхождения расщепляющихся материалов**
  - Информативными характеристиками является как микрокомпонентный примесный состав, так и соотношение изотопов в этих компонентах
- **5. Контроль окружающей среды**
  - Влияние на окружающую среду - это попадание радионуклидов и токсичных элементов в воздух, почву, воду, растения
- **6. Контроль воздействия расщепляющихся материалов на живые организмы**
  - Анализ элементного и изотопного состава позволяет определить источник попадания радионуклидов или техногенных элементов в организм человека, животных или продукты питания, выяснить механизм воздействия на живые организмы

- МС применялась для анализа марсианского грунта ещё в семидесятых годах прошлого века, во времена программы "Викинг"



- Метод масс-спектропии позволяет выявлять контрафактные ценные бумаги



Метод масс-спектрометрии позволяет выявить контрафактные ценные бумаги