

Лекция № 9

**Масс-спектрометрические
методы анализа
(часть 1)**

Масс-спектрометрия –
метод исследования вещества
путём определения масс ионов
этого вещества (чаще отношений
масс ионов к их зарядам) и их
количеств

В.Л. Тальрозе.

Большая советская энциклопедия



ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Масс-спектральный анализ для определения характеристик веществ давно и успешно применяется в химическом анализе. Еще в 1910 году Томпсону удалось записать масс-спектр обоих изотопов неона (^{20}Ne и ^{22}Ne).



Ф.Астон из Кембриджа получил в 1922 г. Нобелевскую премию по химии за открытие с помощью масс-спектрографа ряда изотопов нерадиоактивных элементов.

1912 г. — Дж. Дж. Томсон (Великобритания) создает первый масс-спектрограф и получает масс-спектры молекул O_2 , N_2 и др.

Джозеф Джон Томсон
(18.12.1856 –30.08.1940)

Некоторые из важнейших достижений:

Середина 1950-х годов - Вольфганг Пол разработал квадрупольный масс-анализатор (Нобелевская премия по физике 1989 г.)

1985 г.-КоитиТанакаи изобрел метод мягкой лазерной десорбции (Нобелевская премия по химии 2002 г.)

Лишь с 1960 г. началось реальное практическое внедрение масс-спектрометрии, вскоре ставшей стандартным методом современной аналитики.

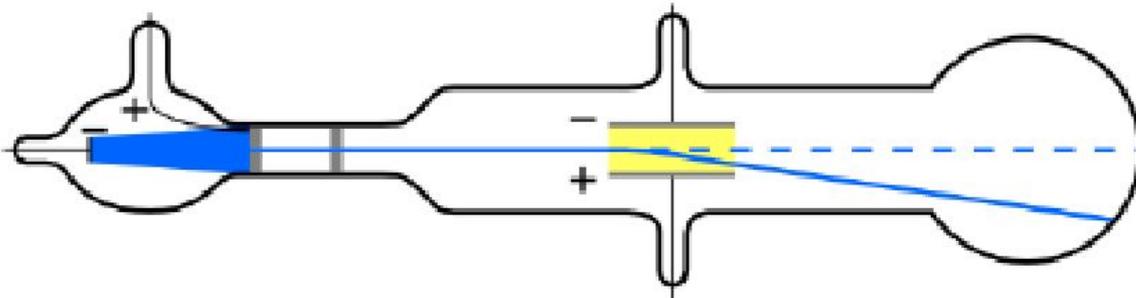
На данный момент масс-спектрометрия считается одним из наиболее эффективных способов абсолютного измерения атомной и молекулярной массы, она отличается высокой чувствительностью и большой информативностью спектров. Использование масс-спектрометрии весьма многообразно. Она находит применение не только в органической аналитике, но также и неорганической химии, в биологии, физике и других науках.

► Масс-спектрометрия подходит для проведения качественного и количественного анализа смесей, а также следового и изотопного анализов.

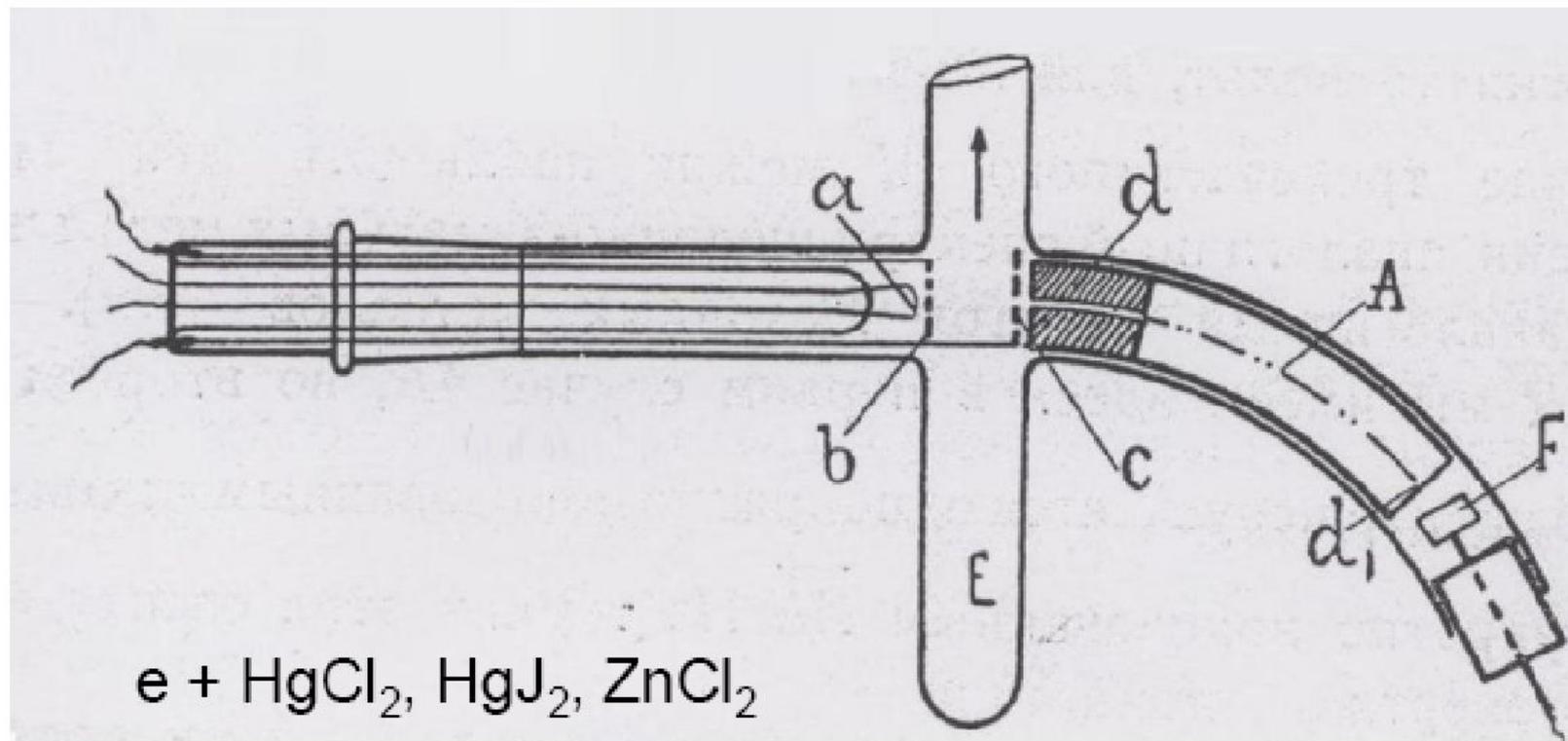
► С помощью масс-спектрометрии можно получить сведения об элементном составе, а следовательно и о структуре нового соединения.

► Можно доказать идентичность двух соединений.

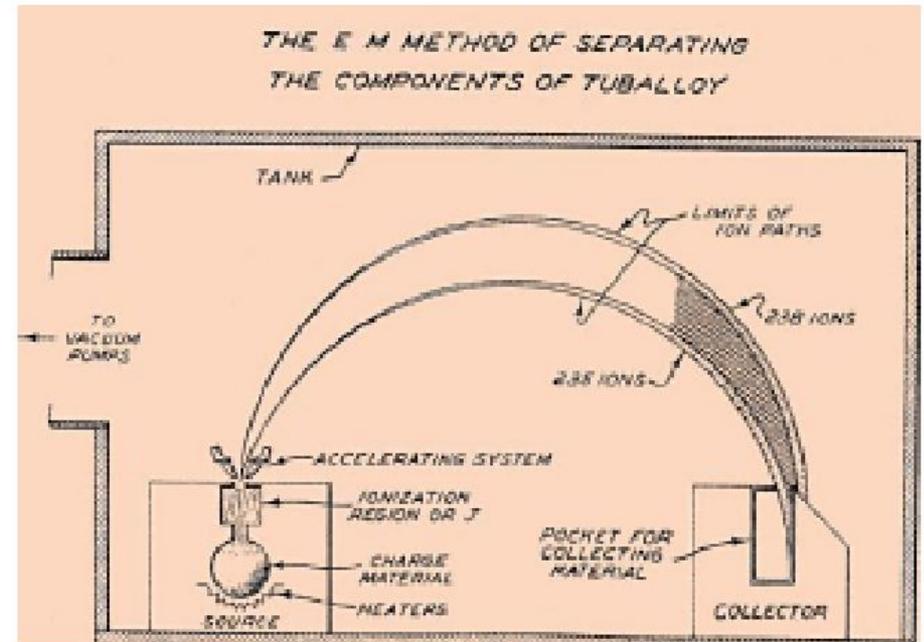
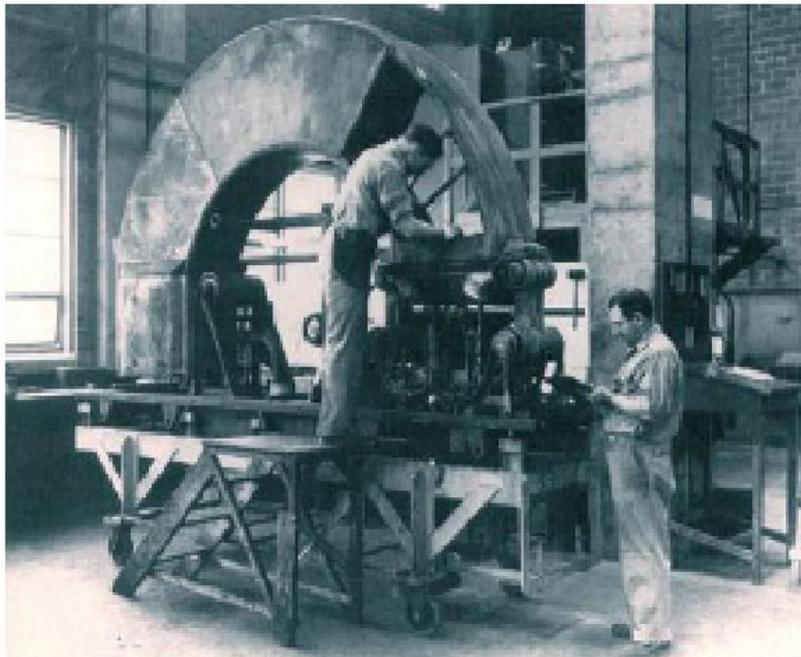
Deflection of *canal rays*



Первый в СССР масс-спектрометр
Н.Н. Семенов, В.Н.Кондратьев 1924



Н.Н.Семенов Электронные явления (под редакцией А.Ф.Иоффе)
Ленинград 1928



The Calutron, a three-story-high version of Nier's sector instrument, separated uranium-235
December 1941



Alpha Track Calutron at the Y-12 Plant at Oak Ridge, Tennessee from the Manhattan Project, used for uranium enrichment.

ОСНОВЫ МЕТОДА

Метод основан на переводе частиц исследуемого вещества в состояние ионизированного газа с последующим их разделением и детектированием.

Стадии эксперимента:

1. Предподготовка пробы (например: хроматографическое разделение)
2. Подготовка, ввод и ионизация пробы
3. Ускорение ионов
4. Разделение ионов
5. Детектирование ионов
6. Обработка сигналов

Блок-схема масс-спектрометра

(Основные шаги при измерении масс-спектра)



Состав масс-спектра

Масс-спектр может включать пики нескольких типов ионов (продуктов ионизации):

1. Молекулярный ион
2. Перегруппировочные ионы
3. Фрагментные ионы
4. Многозарядные ионы
5. Метастабильные ионы

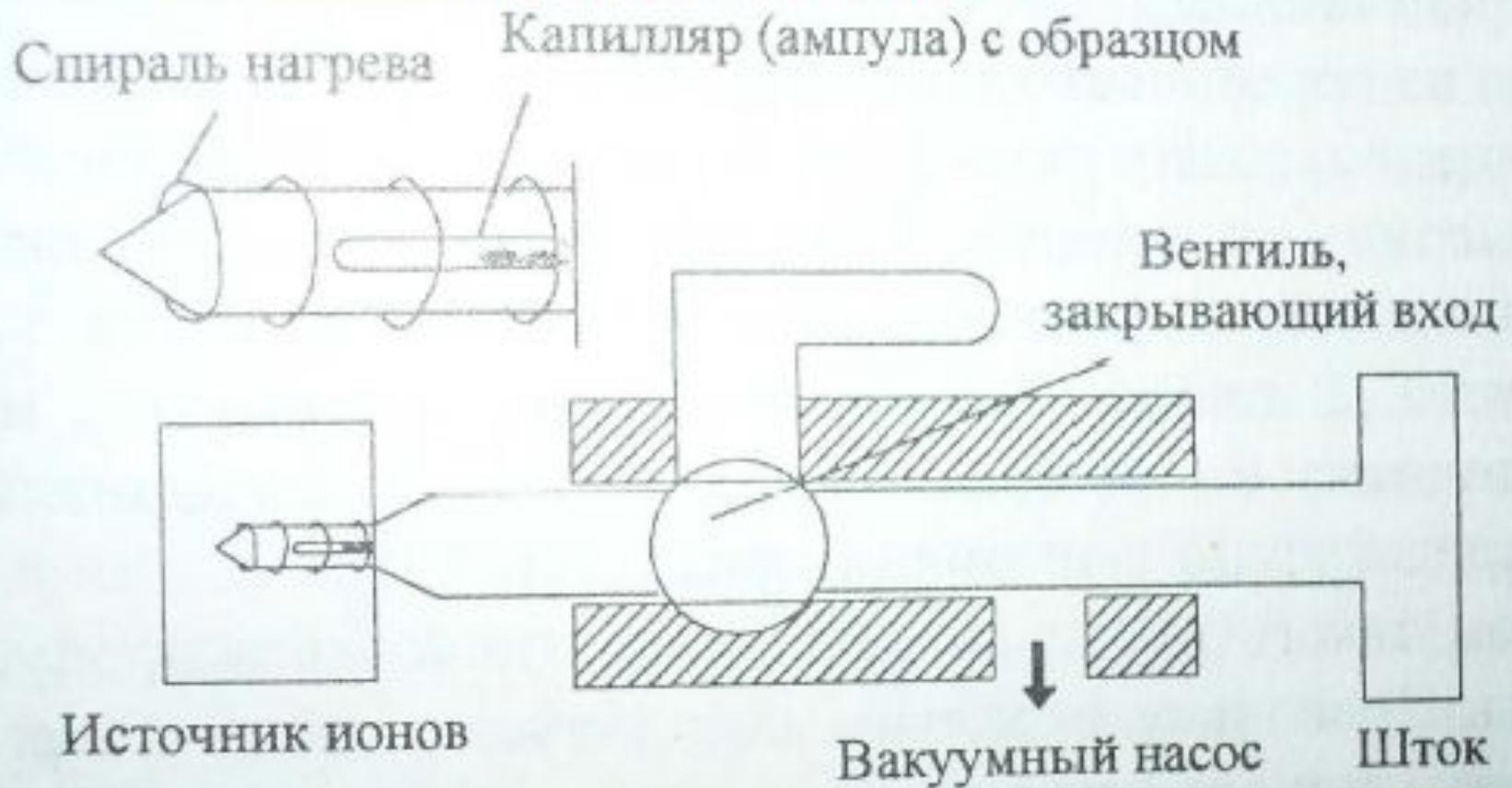
I Система напуска пробы

Важное условие напуска пробы – количество вводимой пробы не должно превышать нескольких микромолей, чтобы не нарушить вакуум внутри прибора.

Существуют **прямой** и **непрямой** способы ввода пробы:

- при **непрямом** способе пробу вводят в масс-спектрометр в газообразном состоянии (жидкие и твердые образцы необходимо предварительно перевести в пар путем нагревания в специальной камере до температур порядка 500°C в условиях вакуума $\sim 10^{-4}$ Па)
- **прямой** ввод используют тогда, когда проба труднолетуча, образец вводят непосредственно в ионизатор с помощью штанги через систему шлюзовых камер, это обеспечивает резкое уменьшение потери вещества
- существует способ ввода пробы непосредственно после хроматографического разделения, такое сочетание масс-спектрометрии с хроматографией называется хромато-масс-спектрометрией

Схема прямого ввода образца в масс-спектрометр:



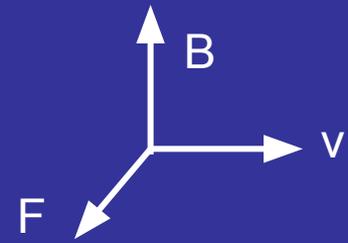
Теоретические основы метода

Физический принцип масс-спектрального анализа основан на законе лоренцевой силы \mathbf{F} , согласно которому заряженные частицы отклоняются под действием внешнего магнитного поля. Формула Лоренца:

$$\mathbf{F} = q \cdot \mathbf{E} + \frac{q}{c} \cdot (\mathbf{v} \times \mathbf{B})$$

- ▶ Заряд q , движущийся со скоростью \mathbf{v} под действием электрического поля \mathbf{E} и магнитного поля с индукцией \mathbf{B} будет испытывать силу, перпендикулярную его скорости.
- ▶ Таким образом, первым условием получения масс-спектра является ионизация анализируемых частиц (атомы, молекулы, молекулярные фрагменты).
- ▶ Заряженные частицы совершают в магнитно поле движение по круговым траекториям, радиусы которых пропорциональны корню квадратному от величины масс этих частиц.

Вывод уравнения движения в масс-спектрометрии



Кинетическая энергия заряженной частицы массы m , движущейся под действием разности потенциалов V со скоростью v

$$\Rightarrow \frac{m \cdot v^2}{2} = e \cdot V$$

Величина и направление силы Лоренца для заряженной частицы массы m , движущейся со скоростью v в магнитном поле B , приложенном перпендикулярно к направлению движения.....

$$\Rightarrow \vec{F} = e [\vec{v} \times \vec{B}]$$

Величина силы Лоренца.....

$$\Rightarrow F = e \cdot v \cdot B$$

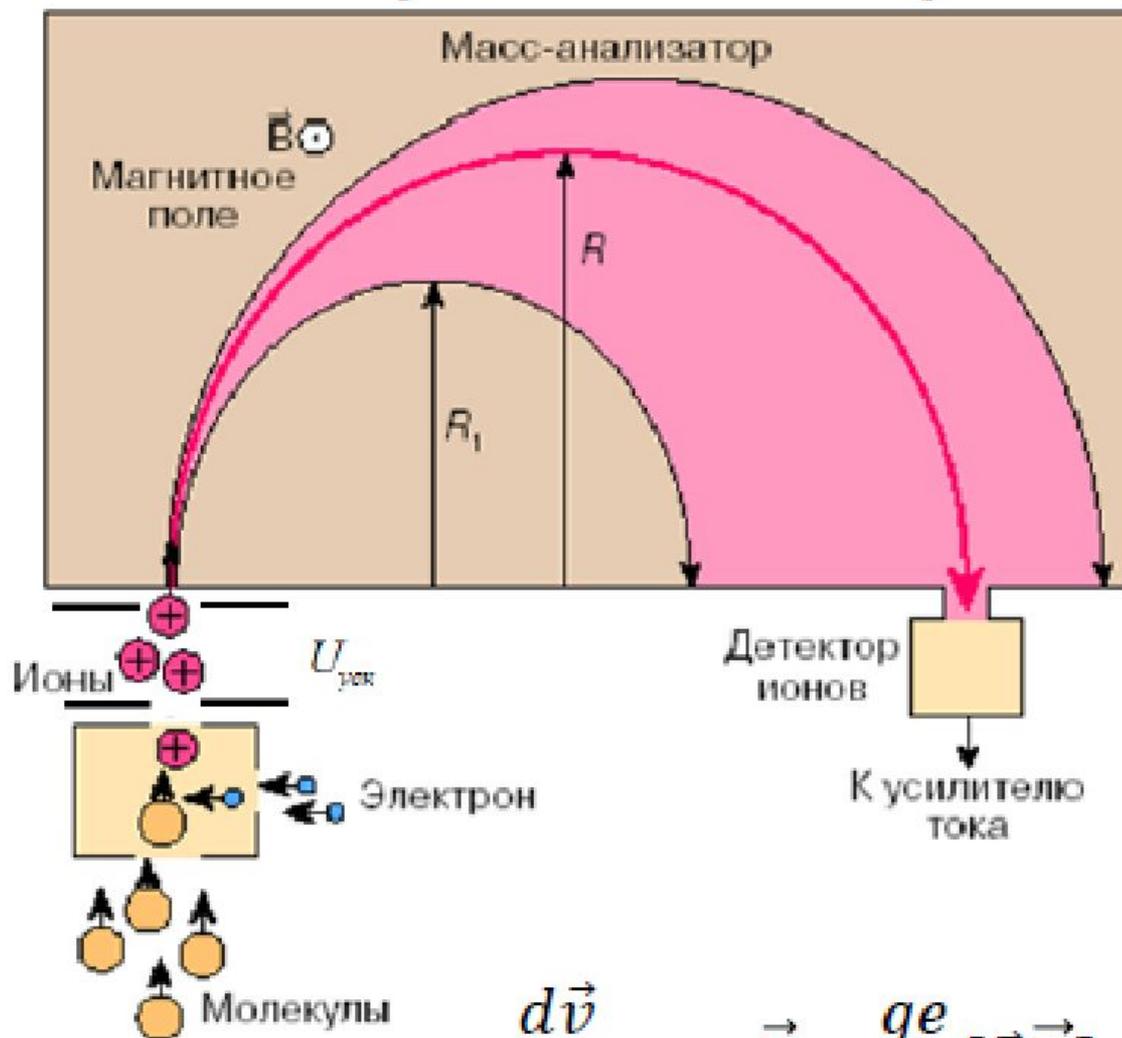
Величина центростремительной силы.....

$$\Rightarrow \frac{m \cdot v^2}{R} = e \cdot v \cdot B$$

Основное уравнение описывающее траекторию движения заряженной частицы массой m в поле B под действием ускоряющего напряжения V

$$\Rightarrow \frac{m}{e} = \frac{R^2 B^2}{2V}$$

Секторный MS. Принцип работы



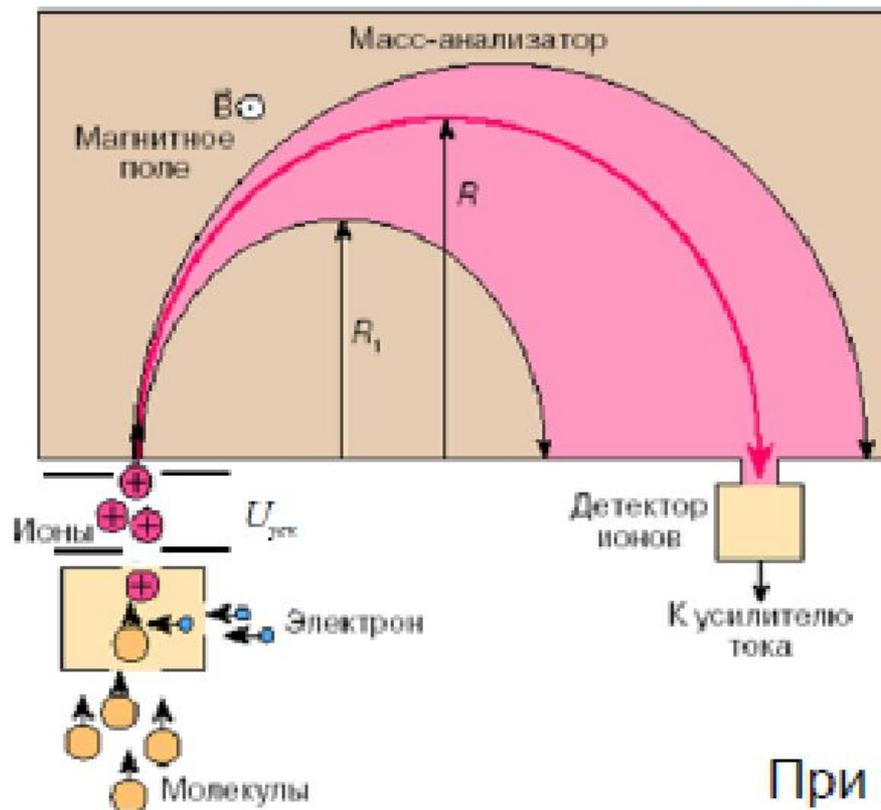
$$m \frac{d\vec{v}}{dt} = qe\vec{E} + \frac{qe}{c} [\vec{v}\vec{H}]$$

$$\frac{1}{2} mv^2 = qU$$

$$\frac{mv^2}{r} = qvB$$

$$r = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2Um}{q}}$$

Секторный масс-спектрометр как масс-фильтр



Сканирование по

- ✓ магнитному полю
- ✓ величине ускоряющей разности потенциалов

Обычно применяется временная развертка:

$$I = I(t)$$

$$B = B(t)$$

⇓

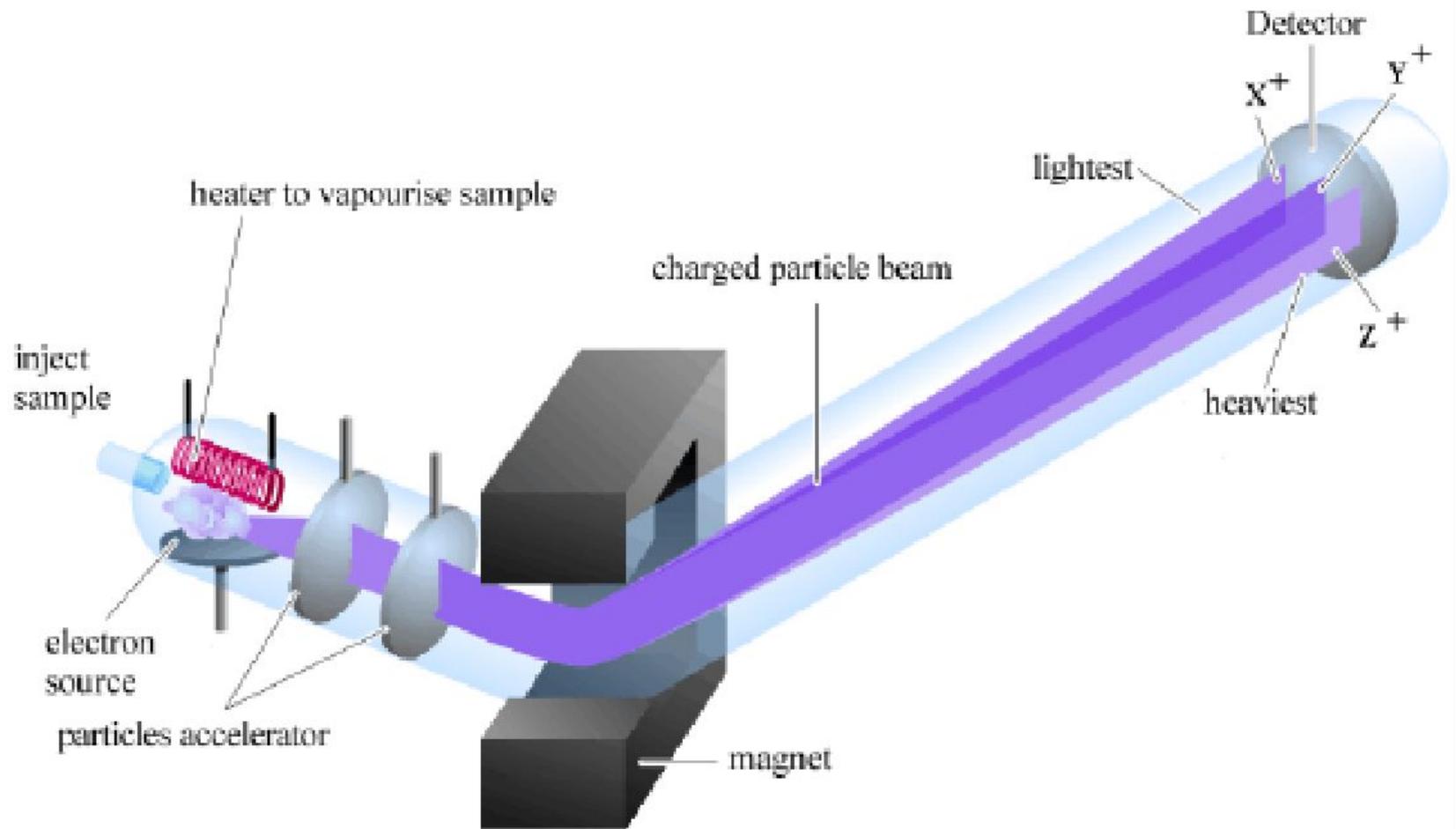
$$MS : I = I(B)$$

При фиксированных значениях B и U такое устройство работает как **масс-фильтр** – пропускает только ионы с фиксированным в некотором диапазоне m/z

$$r = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2 \cdot U \cdot m}{q}}$$

Высокоинформативное детектирование

Масс-спектрометрические детекторы



Принципиальная схема магнитного масс-спектрометра

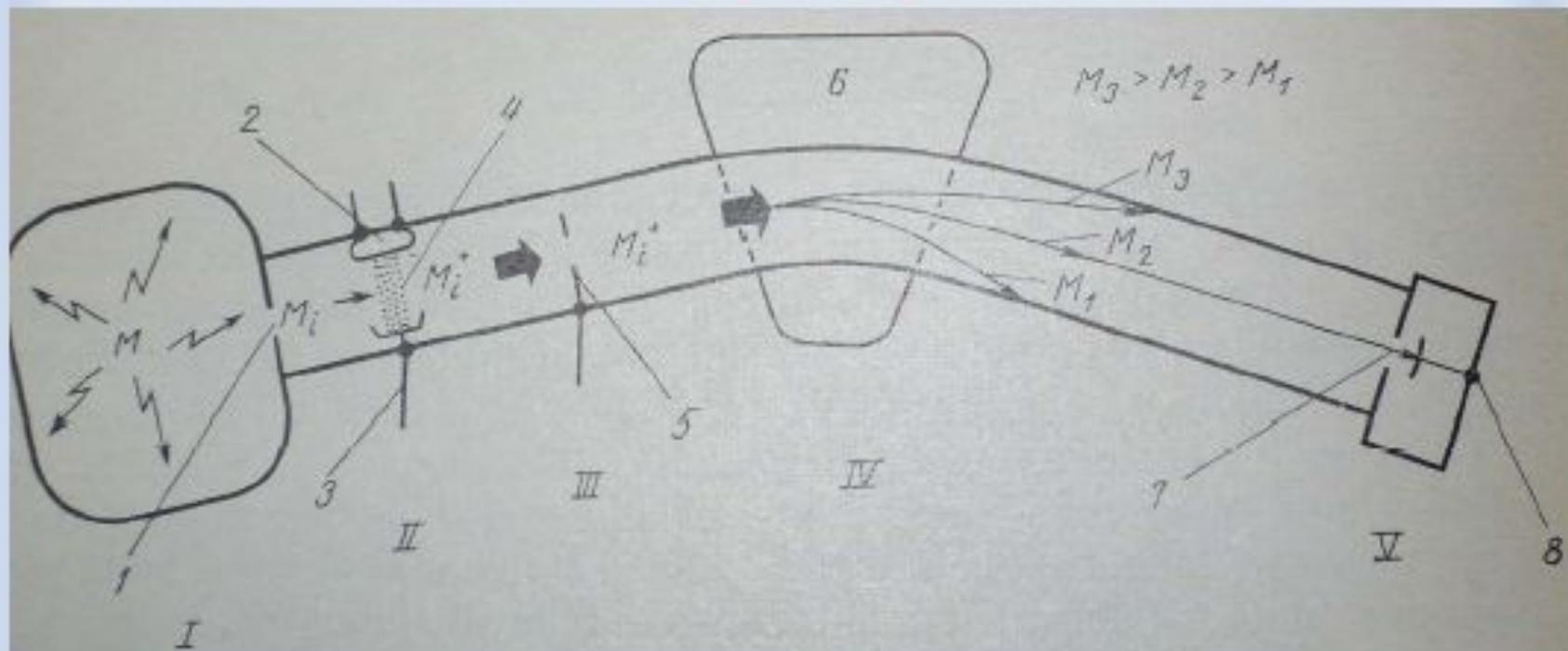


Схема магнитного масс-спектрометра с однократной фокусировкой: I – резервуар с образцом, II – зона ионизации, III – зона ускорения, IV – анализатор, V – детектор.

1 – натекатель; 2 – накаливаемый катод; 3 – анод; 4 – пучок ионизирующих электронов; 5 – электроды; 6 – магнит; 7 щель коллектора; 8 – электрический датчик

Thermo Electron DFS – прибор с двойной фокусировкой ионного пучка:

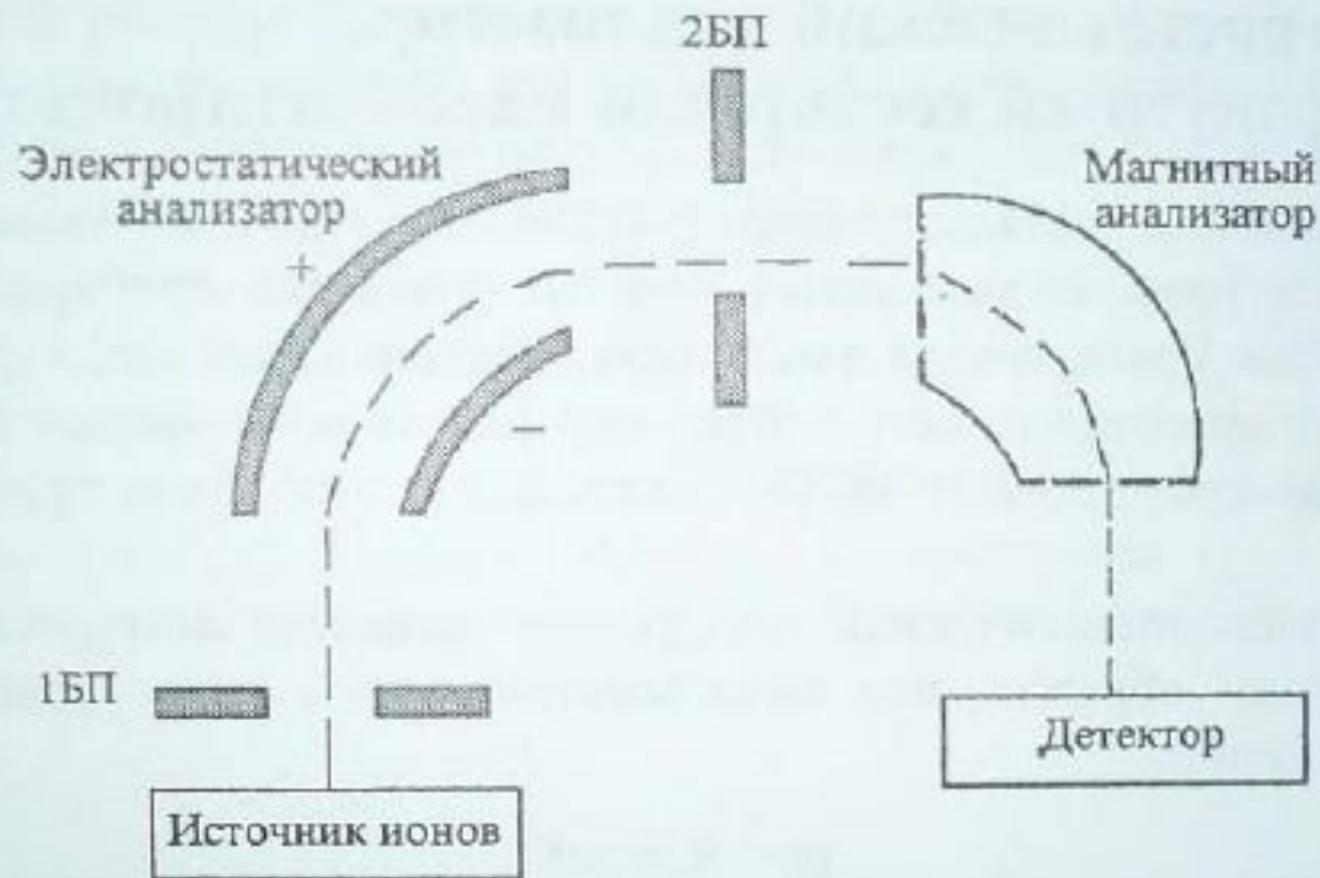
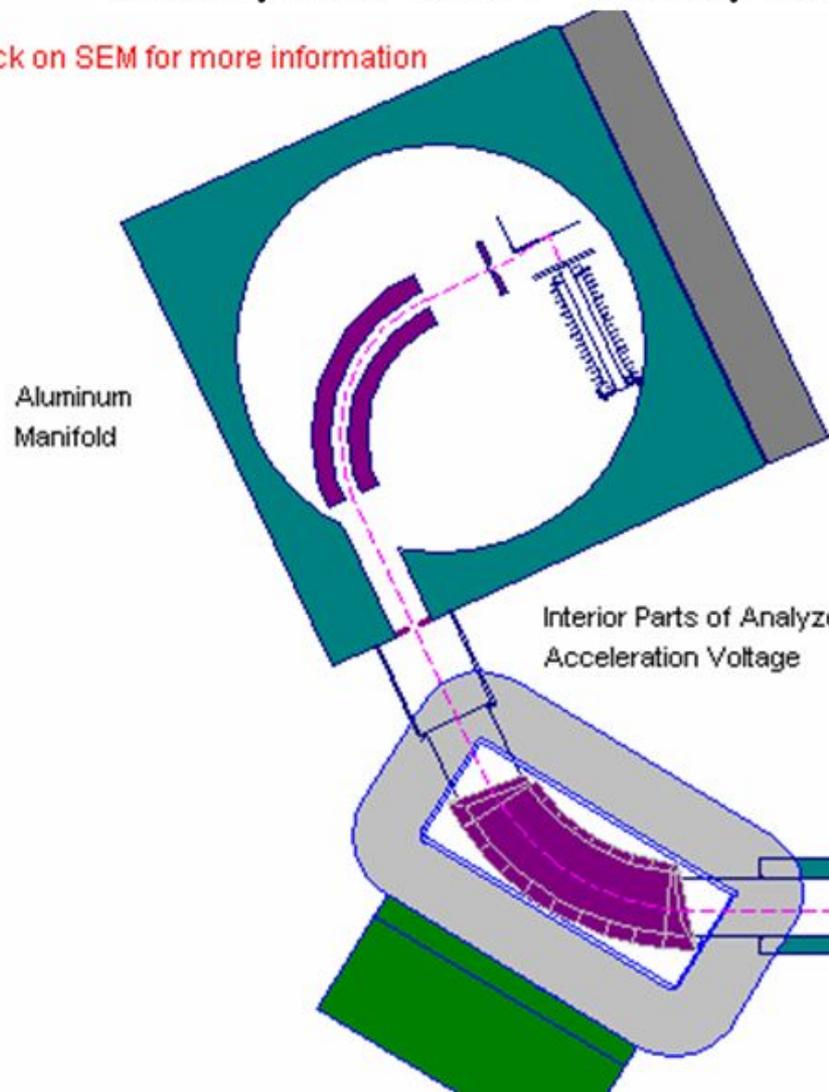


Схема масс-спектрометра с двойной фокусировкой

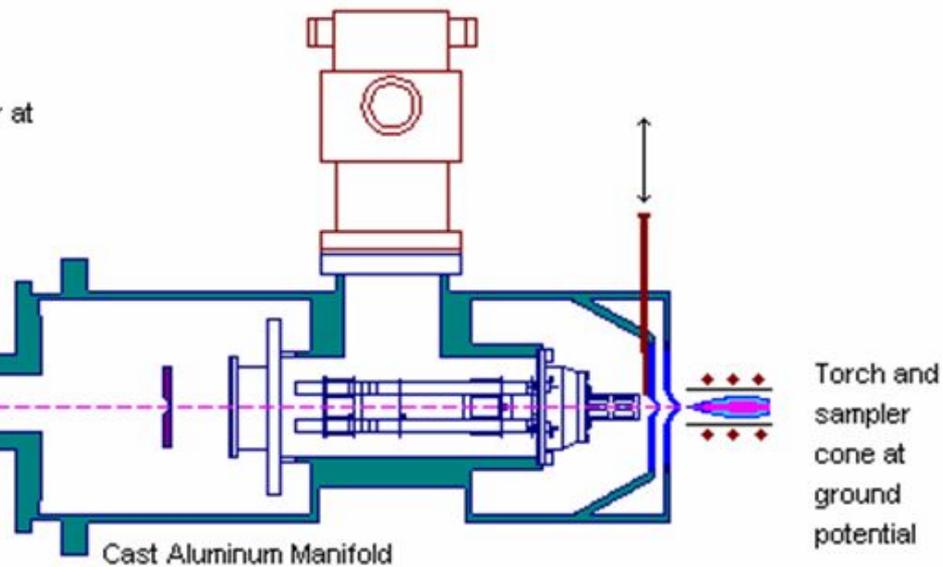
Секторный масс-спектрометр с двойной фокусировкой

[Click on SEM for more information](#)



The magnetic sector field focuses ions with diverging angles of motion from the entrance slit to the intermediate (beta) slit. The magnetic sector field is dispersive with respect to ion energy and mass (exactly : momentum $[m \cdot v]$).

The electric sector field (ESA) focuses ions with diverging angles of motion from the beta slit on to the exit slit. It is dispersive with respect to ion energy ($S \cdot m \cdot v$) only. Together, if the energy dispersion of magnet and ESA are equal in magnitude but of opposite direction, magnet and ESA focus both ion angles (first focusing) and ion energies (double focusing), while being dispersive for m/z : a mass spectrometer ! The order of fields used with the ELEMENT2 is called a reverse geometry .

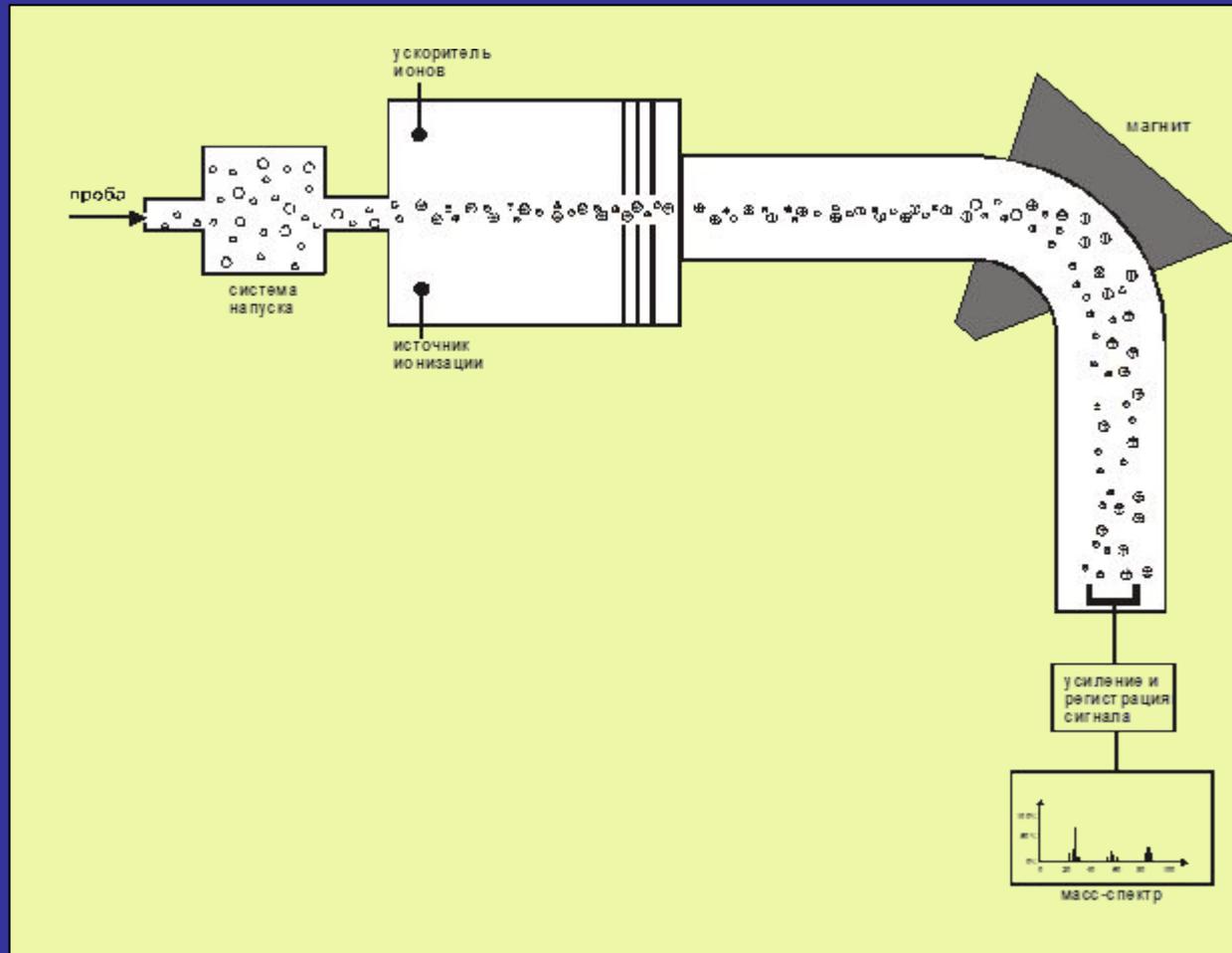


Основные составляющие масс-спектрометра и способы их реализации

1. Введение пробы/ионизация

2. Анализатор

3. Детектор/Регистрация

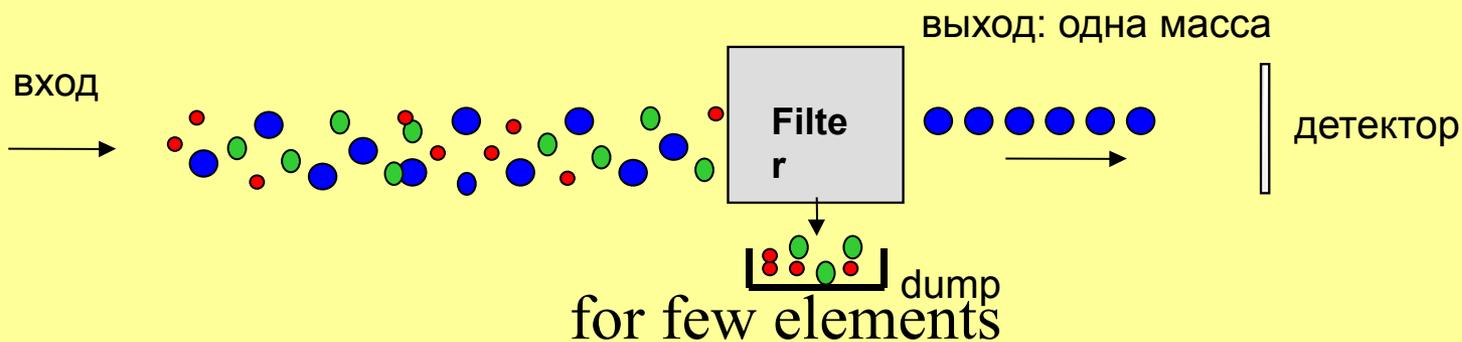


Динамические схемы масс-спектрометров

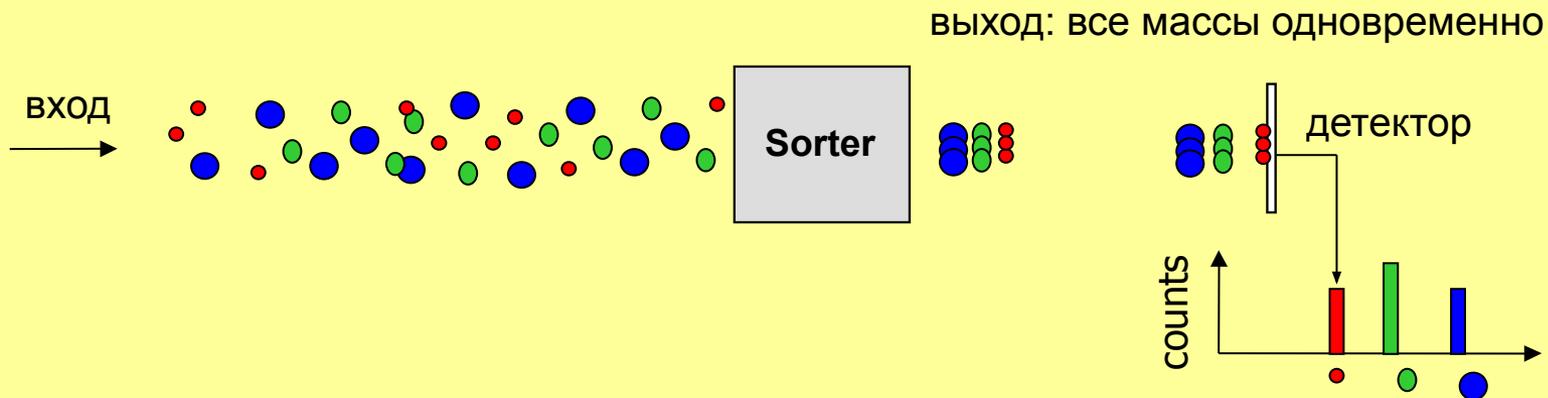
Два основных типа динамических масс-спектрометров:

- времяпролетный масс-спектрометр
- квадрупольный масс-спектрометр.

Quadrupole MS, Sector MS



TOF





Б.А. Мамырин
1919-2007

Времяпролетный масс-спектрометр с рефлектроном

$$t = (L_1 + L_2 + 4d) \sqrt{\frac{m}{2qV}}$$

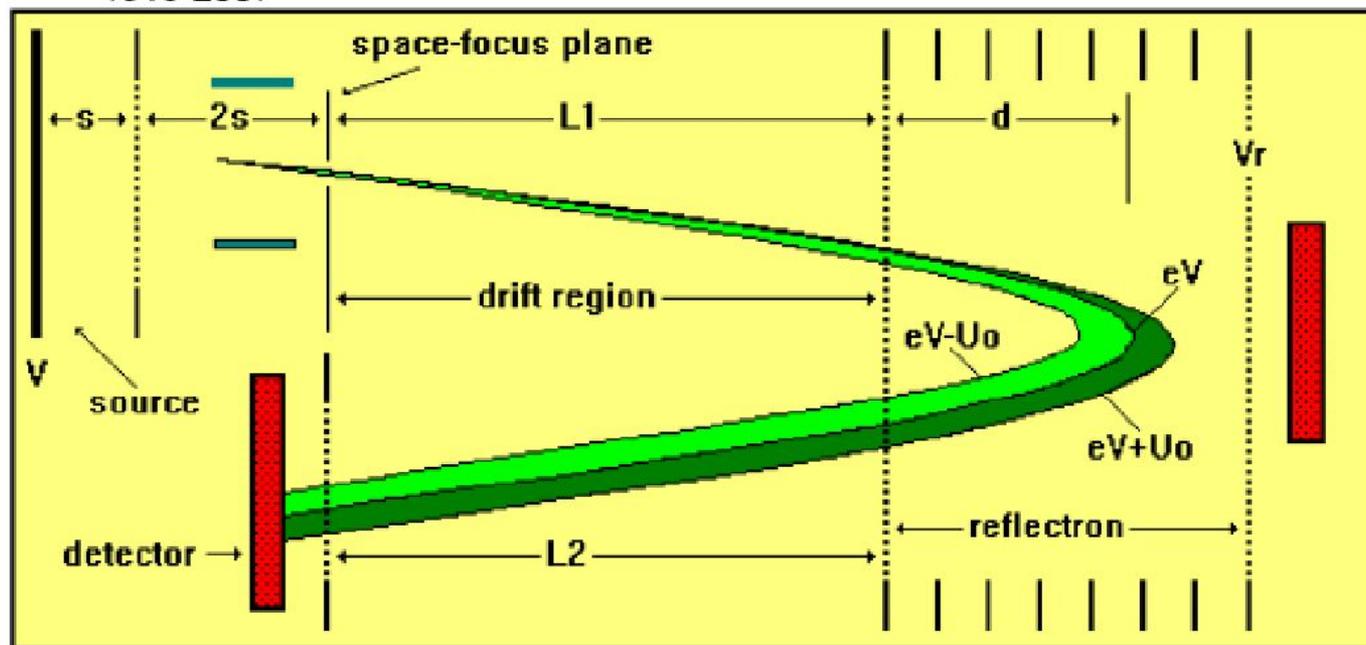


Схема время пролетного масс-спектрометра

52

A.M. Leach, G.M. Hieftje/International Journal of Mass Spectrometry 212 (2001) 49–63

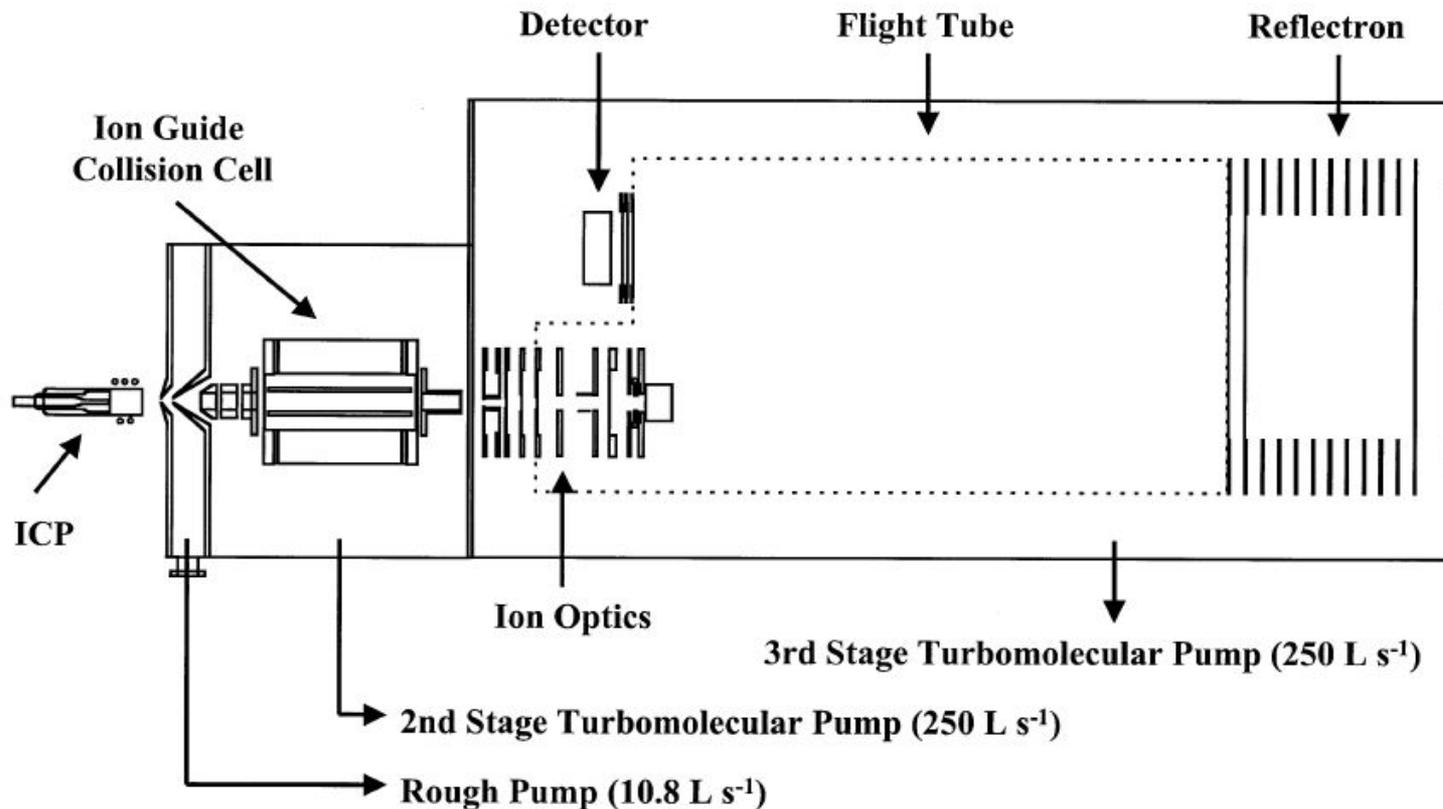


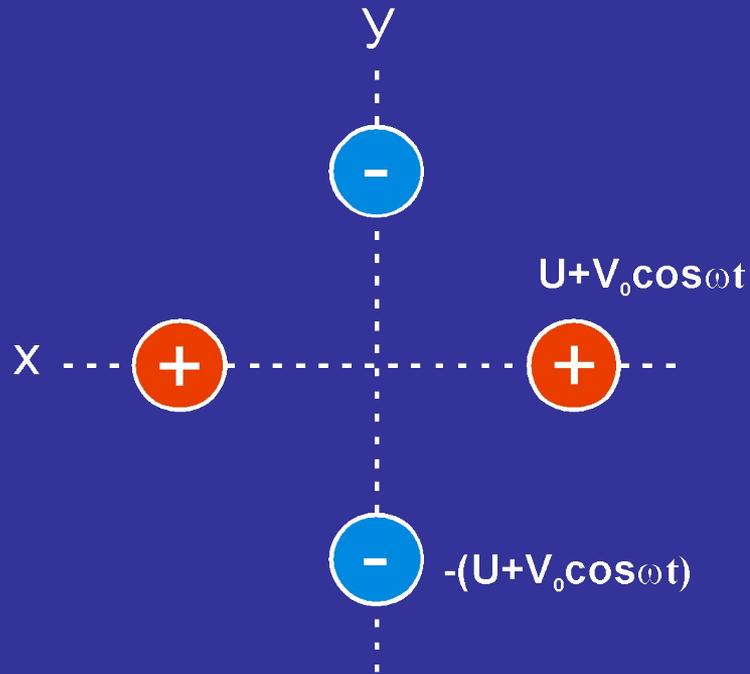
Fig. 2. Diagram of the modified axial-acceleration ICP-TOFMS. The second-stage vacuum chamber was extended to house the ion guide collision cell.

Весь спектр можно получить за 10^{-3} с. Диапазон массовых чисел практически неограничен.

Времяпролетный масс-спектрометр



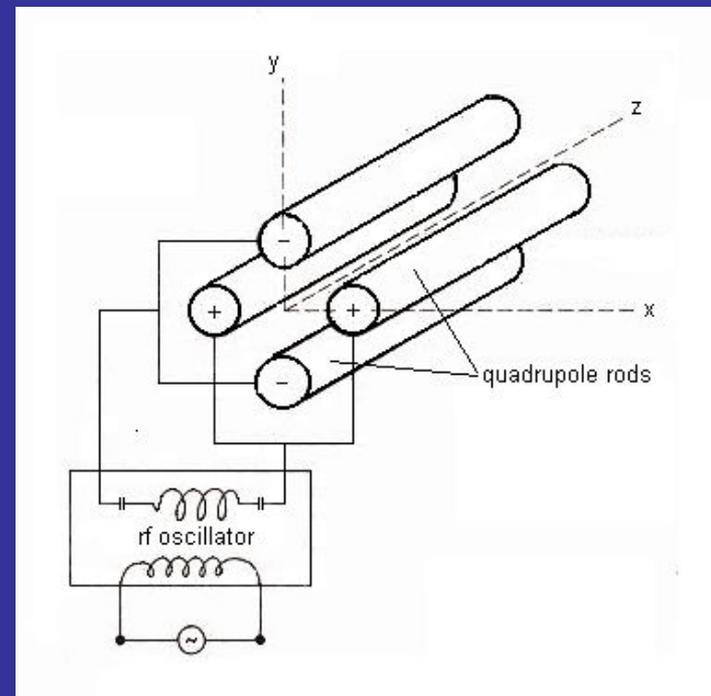
Принцип работы квадрупольного масс-спектрометра



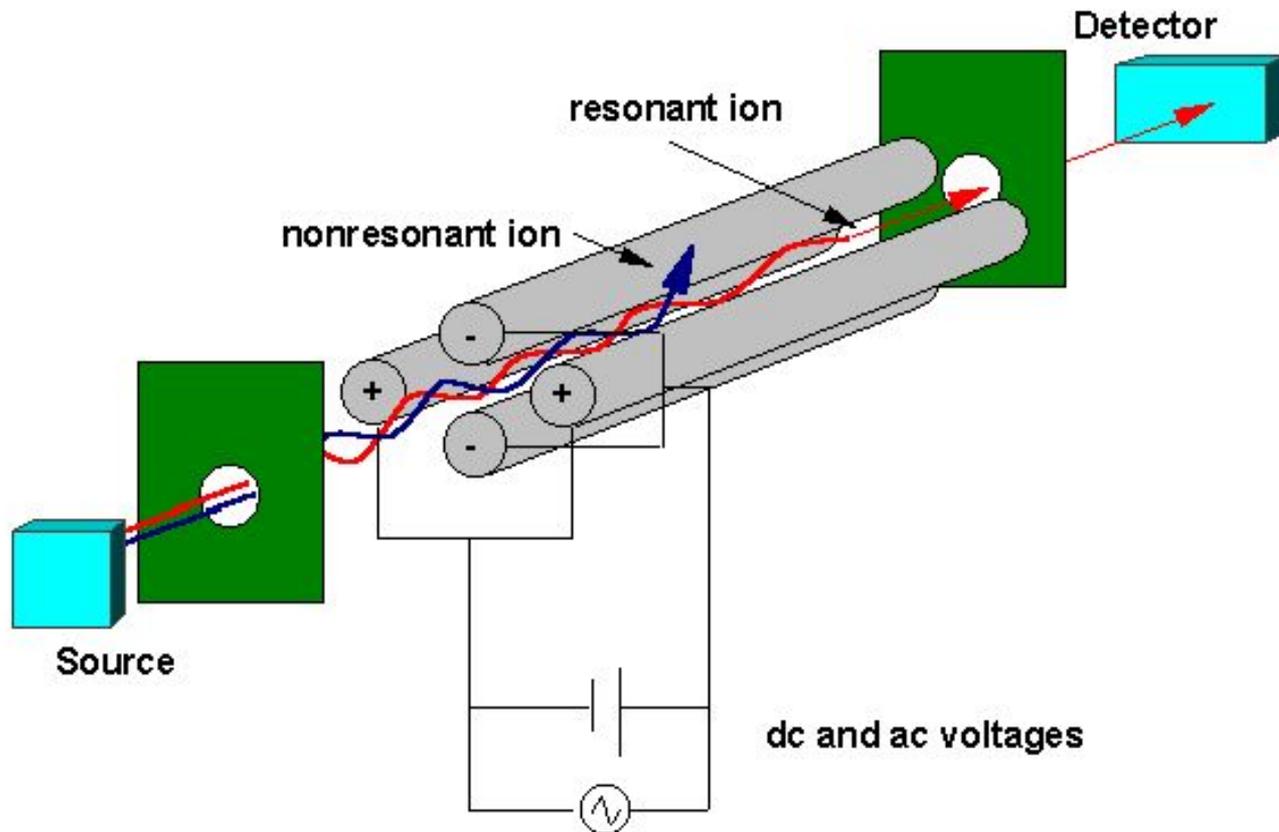
Квадруполь состоит из 4-х параллельных стержней

Обычная длина от 5 до 200 см
Обычный радиус от 4 до 20 мм

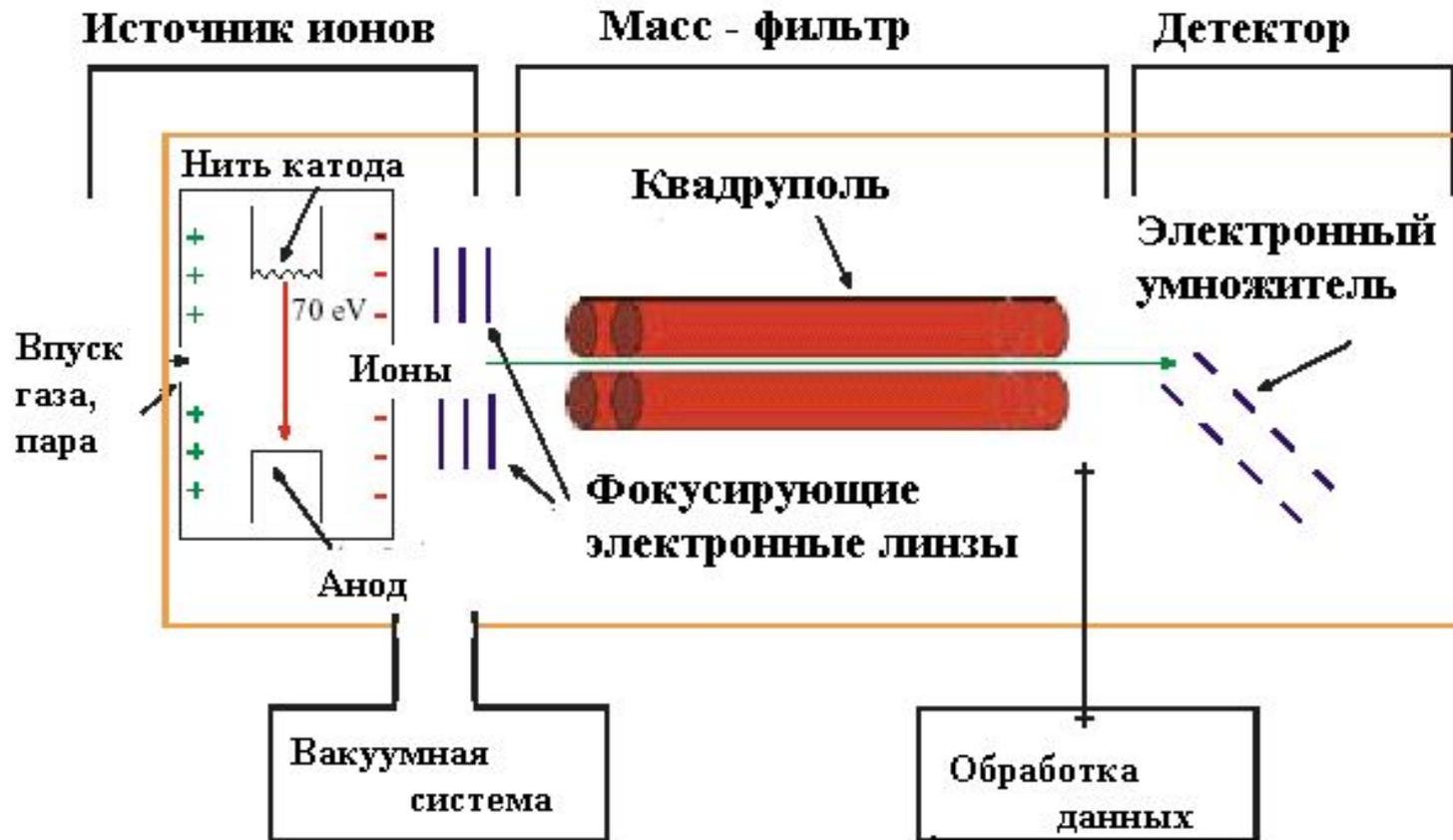
Стержни диагонально связаны с постоянным и радиочастотным источниками питания



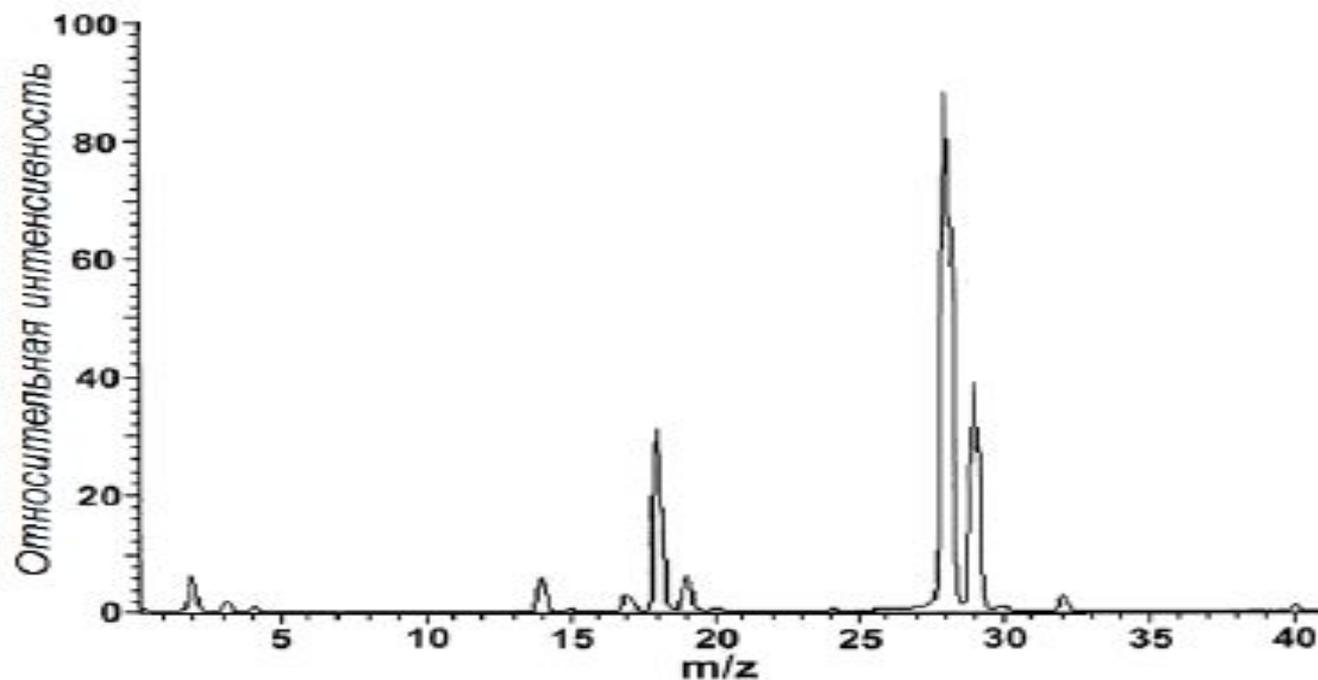
КВАДРУПОЛЬНЫЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТР



СТРУКТУРА КВАДРУПОЛЬНОГО МАСС - СПЕКТРОМЕТРА



Масс-спектр



Единицы измерения атомных и молекулярных масс

- Единицы массы:

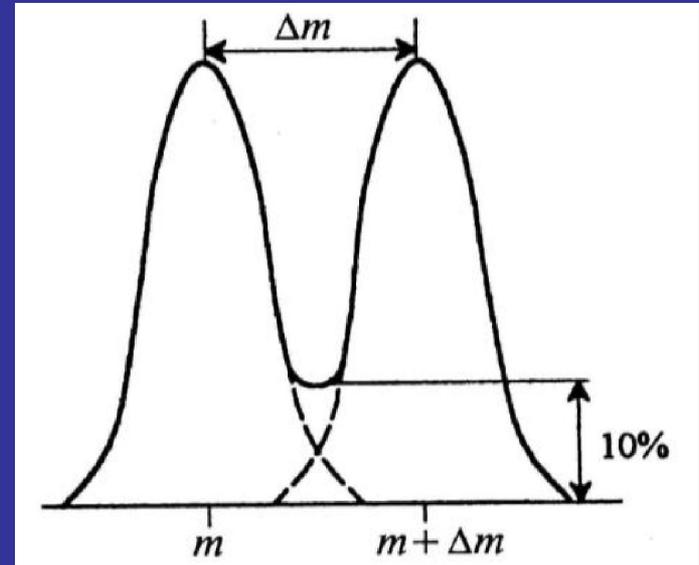
- а.е.м. (атомные) = у.е. (углеродные): $1/12 \text{ }^{12}\text{C} = \text{Да}$
(Дальтон)

- $1 \text{ Th} = 1 \text{ Da}/z$

Характеристики масс-спектрометра. Разрешающая способность.

Разрешение масс-спектрометра (R) –это возможность получать на данном приборе раздельный сигнал от двух ионов, с массами m и $(m+\Delta m)$:

$$R = \frac{m}{\Delta m}$$



Идеальная форма пика ионов – прямоугольная, реальная – гауссова. В зависимости от глубины ложбины между двумя соседними пиками принято говорить о разрешении на уровне 10% от высоты пиков для магнитных приборов и 50%-для квадрупольных.

Разрешающая способность.

$$R = \frac{m}{\Delta m}$$

Необходимые разрешающие способности для разделения пиков, имеющих массу, близкую к 400 а.е.м.

Δm	R
1	400
0.5	800
0.1	4 000
0.05	8 000
0.01	40 000
0.0066	60 000

РАЗРЕШЕНИЕ В МАСС-СПЕКТРОМЕТРАХ

Установлено, что на разрешение в масс-спектрометрии влияют в основном следующие параметры:

1. **Пространственная расходимость пучка ионов**
2. **Разброс по кинетической энергии ионов с одинаковым отношением массы к заряду**
3. **Радиус кривизны траектории движения ионов в магнитном поле**
4. **Ширина щелей ионного источника и коллектора**

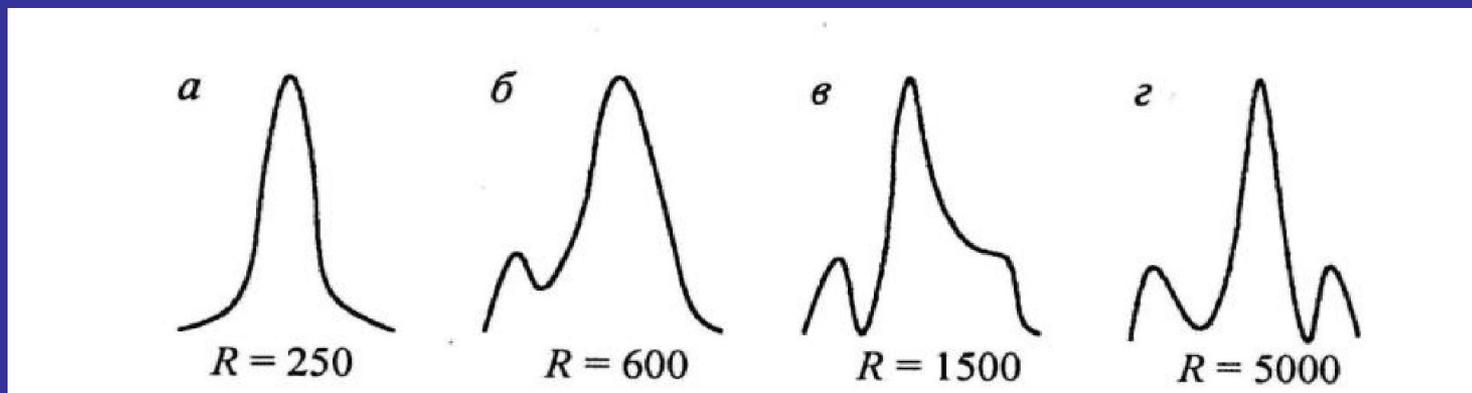
Разрешение масс-спектрометра

- $^{12}\text{C} = 12.000000000$ а.е.м.
 - $^1\text{H} = 1.00782506$ а.е.м.
 - $^{14}\text{N} = 14.00307407$ а.е.м.
 - $^{16}\text{O} = 15.99491475$ а.е.м.
-
- Азот (N_2), монооксид углерода (CO), этилен (C_2H_4):
 - $\text{CO}: 27.994915$ а.е.м.
 - $\text{N}_2: 28.006148$ а.е.м.
 - $\text{C}_2\text{H}_4: 28.03300$ а.е.м.
 - $R = 770 - \text{CO}$ и C_2H_4 ; $R = 2500 - \text{CO}$ и N_2

Характеристики масс-спектрометра. Разрешающая способность.

Масс-спектрометрия высокого разрешения (МСРВ, HRMS—High Resolution Mass-Spectrometry) позволяет разделить и точно измерить массовые значения пиков, соответствующих одной целочисленной массе.

Примером такого является мультиплет с целочисленной массой 28. Это может быть монооксид углерода CO, азот N₂, этилен C₂H₄. Поскольку за стандарт принят основной изотоп углерода ¹²C (12.000000), массы всех остальных изотопов элементов нецелые числа: масса основного изотопа водорода ¹H 1.00782506, азота ¹⁴N 14.00307407, кислорода ¹⁶O 15.99491475 ит.д. Тогда массы CO-27.9949, N₂-28.0061, C₂H₄-28.0313.



С ростом молекулярной массы резко возрастает число ионов с одинаковой целочисленной массой, что приводит к необходимости увеличения разрешения масс-спектрометров.

Разрешающая способность

Например, для измеренной массы иона неизвестного состава 163.9497 возможны такие комбинации атомов:

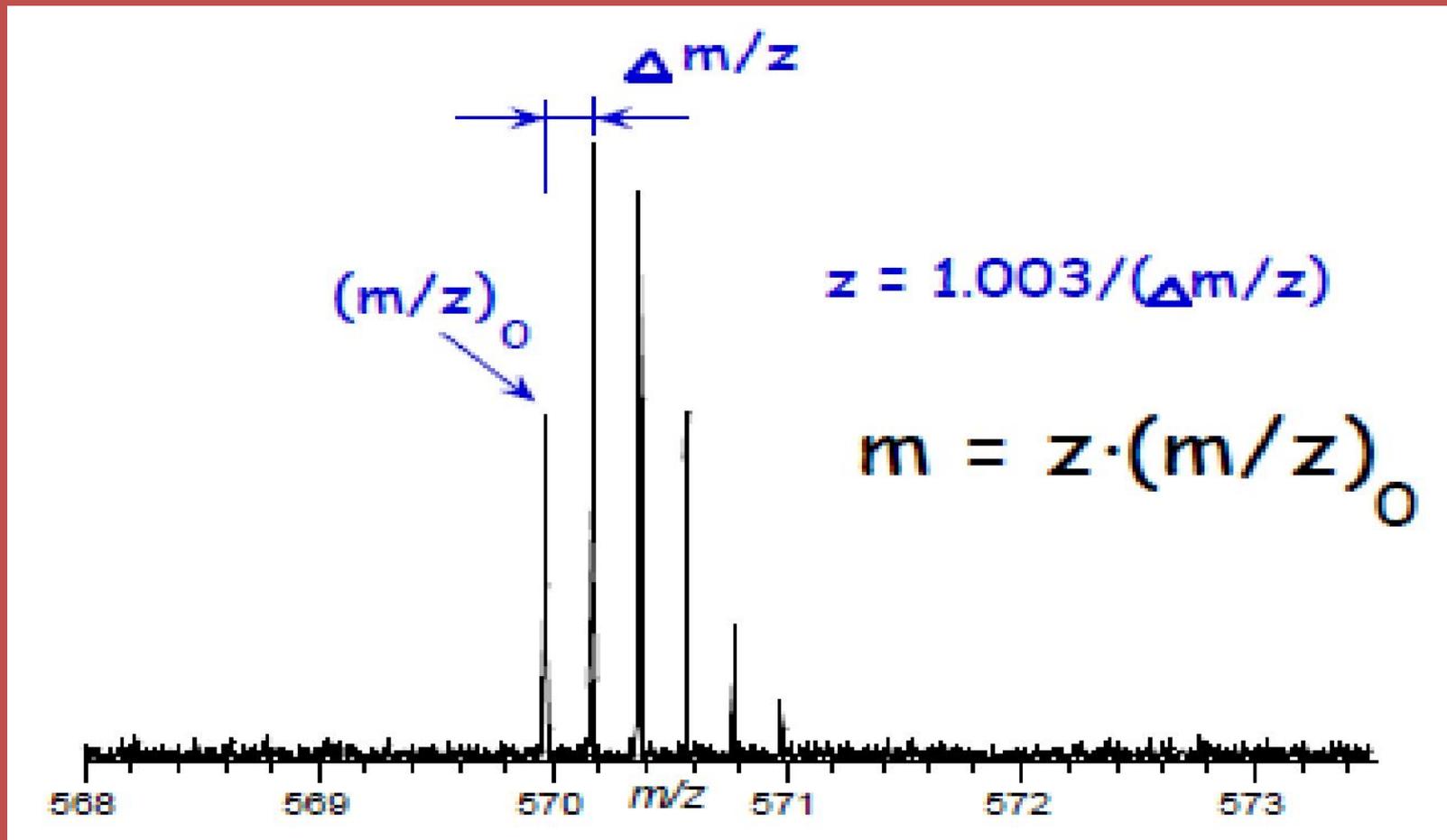
Измеренная масса иона ($M_{\text{изм}}$)	Вычисленная масса иона ($M_{\text{выч}}$)	Разность (м. д.) $M_{\text{изм}} - M_{\text{выч}}$	Элементный состав иона
163,9497	163,9503	0,6	$C_6N_2S_2$
	163,9488	-0,9	C_8HSCl
	163,9521	2,4	$C_5H_5S_2Cl$
	163,9537	4,0	$C_3H_4N_2S_3$
	163,9447	-5,0	$C_3HN_2O_2SCl$

Выбор из нескольких брутто-формул может быть произведена на основании изотопных пиков, характеру фрагментации и априорной информации об образце.

Масса и относительная распространенность изотопов некоторых элементов

Изотоп	Номинальная масса	Относительная распространенность	Точная масса	Средняя масса
¹ H	1	100	1,0078	1,008
² H	2	0,016	2,0141	
¹⁰ B	10	24,668	10,0129	10,788
¹¹ B	11	100	11,0093	
¹² C	12	100	12,0000	12,011
¹³ C	13	1,08	13,0034	
¹⁴ N	14	100	14,0031	14,007
¹⁵ N	15	0,38	15,0001	
¹⁶ O	16	100	15,9949	15,999
¹⁷ O	17	0,04	16,9991	
¹⁸ O	18	0.2	17,9992	
²⁸ Si	28	100	27,9769	28,086
²⁹ Si	29	5,110	28,9765	
³⁰ Si	30	3,385	29,9738	
³² S	32	100	31,9721	32,060
³³ S	33	0,789	32,9715	
³⁴ S	34	4,433	33,9679	
³⁵ Cl	35	100	34,9689	35,453
³⁷ Cl	37	32,399	36,9659	
⁷⁹ Br	79	100	78,9183	79,904
⁸¹ Br	81	97,940	80,9163	

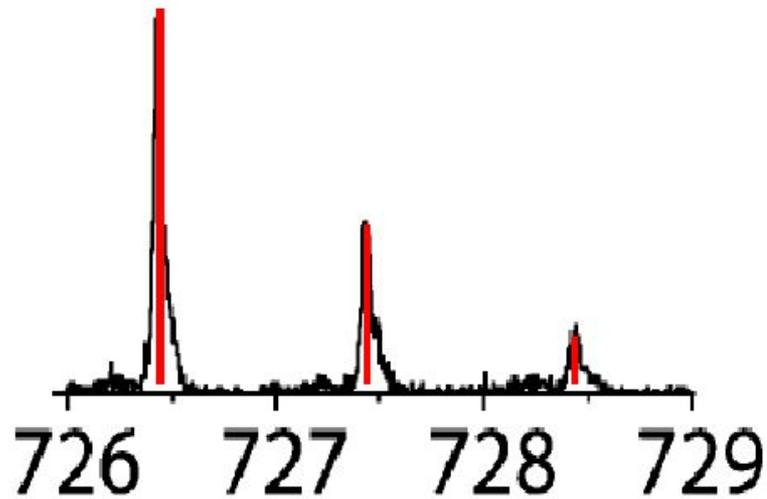
Изотопное распределение



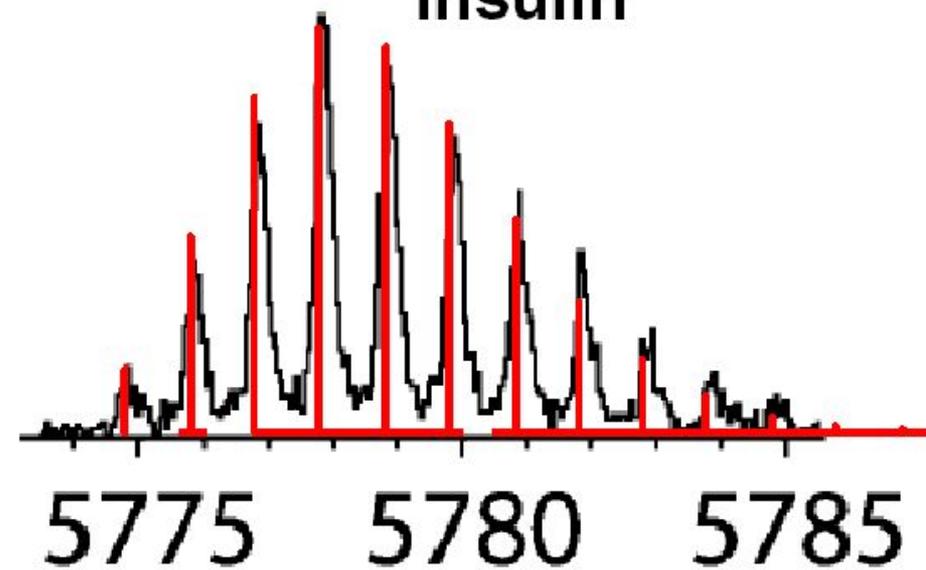
Carbon	^{12}C	12.000000	98.93
	^{13}C	13.003355	1.07
	^{14}C	14.003242	*

Isotopic Distribution

YAGFLR



Insulin



$$({}^{12}C + {}^{13}C)^m * ({}^1H + {}^2H)^n * ({}^{14}N + {}^{15}N)^o * ({}^{16}O + {}^{17}O + {}^{18}O)^p * ({}^{32}S + {}^{33}S + {}^{34}S + {}^{36}S)^q$$



$$(0.99 + 0.01)^m = 0.99 - m * 0.99 * 0.01 + \dots$$