

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ХИМИИ

Лекции для студентов 3-го курса дневного отделения
химического факультета ННГУ им. Н.И. Лобачевского

Лекция 17. Масс-спектрометрия

Лектор: д.х.н., профессор кафедры химии твердого тела ХФ ННГУ
Сулейманов Евгений Владимирович

Литература (специализированная)

1. Браун Д., Флойд А., Сейнзбери М. Спектроскопия органических веществ. М.: Мир. 1992. 300 с.
2. Иоффе Б.В., Костиков Р.Р., Разин В.В. Физические методы определения строения органических соединений. М.: Высшая школа. 1984. 336 с.
3. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. 493 с.
4. Заикин В.Г., Варламов А.В., Микая А.И., Простаков Н.С. Основы масс-спектрометрии органических соединений. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. – 286 с.
5. Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. Хромато-масс-спектрометрия (Методы аналитической химии). М.: Химия, 1984. – 216 с.
6. Презентации лекций по масс-спектрометрии, Новосибирский госуниверситет (<http://fen.nsu.ru/posob/organic/physmethods/ms.html>)
7. <http://www.ionsource.com/>

Примечание: см. также общую литературу по ФМИ

История открытий

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. - Коити Танака изобрел метод мягкой лазерной десорбции (Нобелевская премия по химии 2002 г.)

Схема простейшего эксперимента

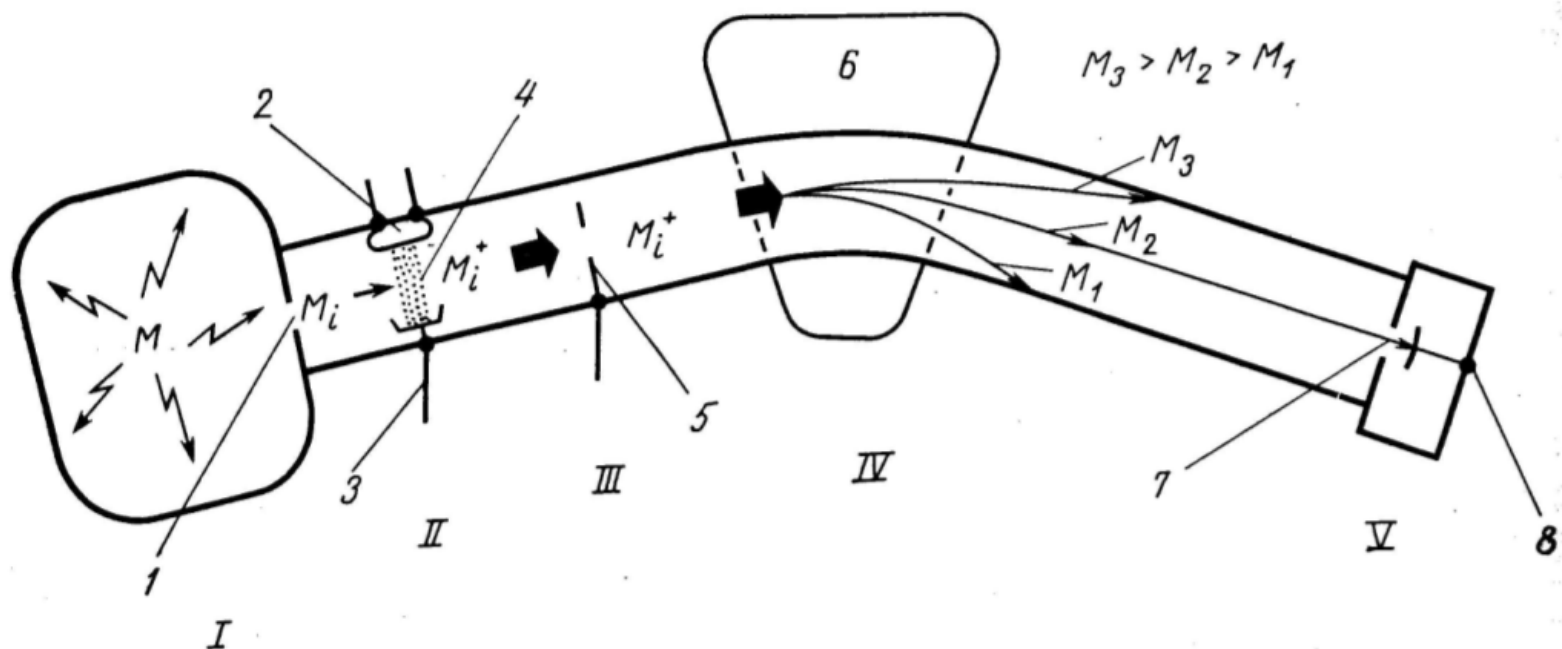


Схема магнитного масс-спектрометра с однократной фокусировкой: I – резервуар с образцом, II – зона ионизации, III – зона ускорения, IV – анализатор, V – детектор.

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

Задачи решаемые масс-спектрометрией

Идентификация веществ

Химический анализ смесей

Элементный анализ

Изотопный анализ

Разделение изотопов

Основы метода

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

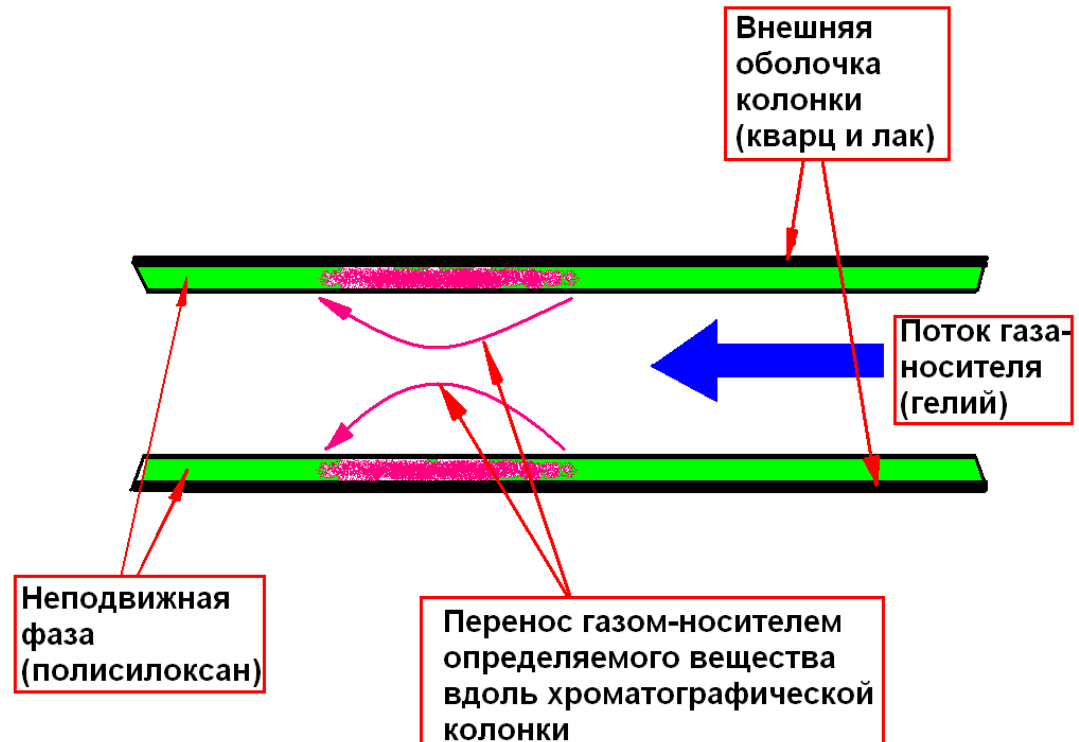
Стадии эксперимента:

1. Предподготовка пробы
2. Подготовка, ввод и ионизация пробы
3. Ускорение ионов
4. Разделение ионов
5. Детектирование ионов
6. Обработка сигналов

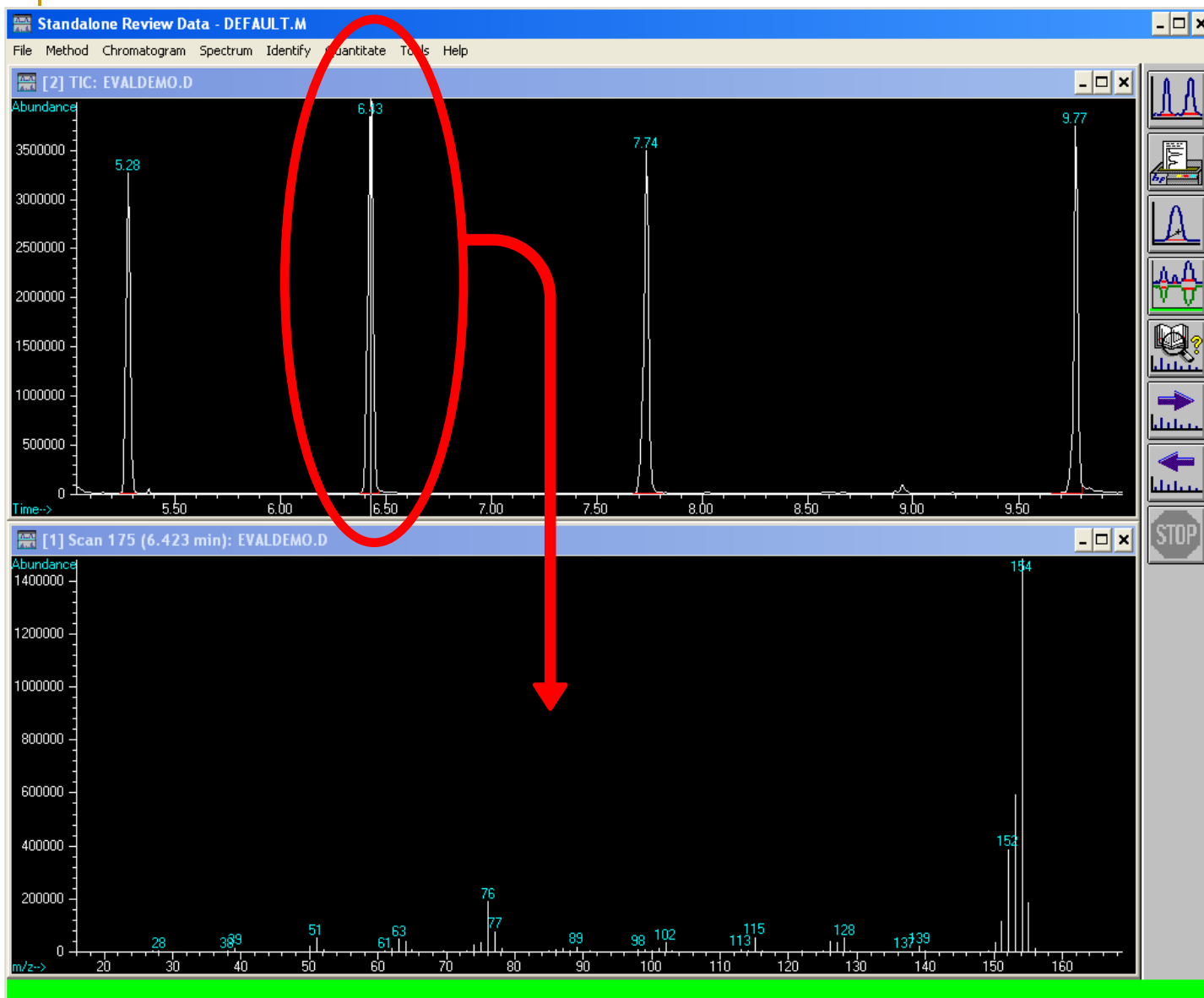
Стадия 1. Подготовка пробы (хроматографическое разделение компонентов смеси)

Хроматография – метод разделения веществ, основанный на разности распределения веществ между двумя фазами – **подвижной (элюентом)** и **неподвижной** (обычно сорбент с развитой поверхностью).

В зависимости от агрегатного состояния элюента (подвижной фазы) хроматографию делят на газовую и жидкостную. В хромато-масс-спектрометрии применяются оба типа хроматографирования.



Хроматографическое разделение компонентов смеси



Хроматограмма

Масс-спектр
компонента
при 6.42 мин.

Стадия 2. Методы ионизации пробы

Газовая фаза

- электронная ионизация (EI)
- химическая ионизация (CI)
- электронный захват (EC)
- ионизация в электрическом поле (FI)

Жидкая фаза

- фотоионизация при атмосферном давлении (APPI)
- электроспрей (APESI)
- термоспрей
- ионизация при атмосферном давлении (AP)
- химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)

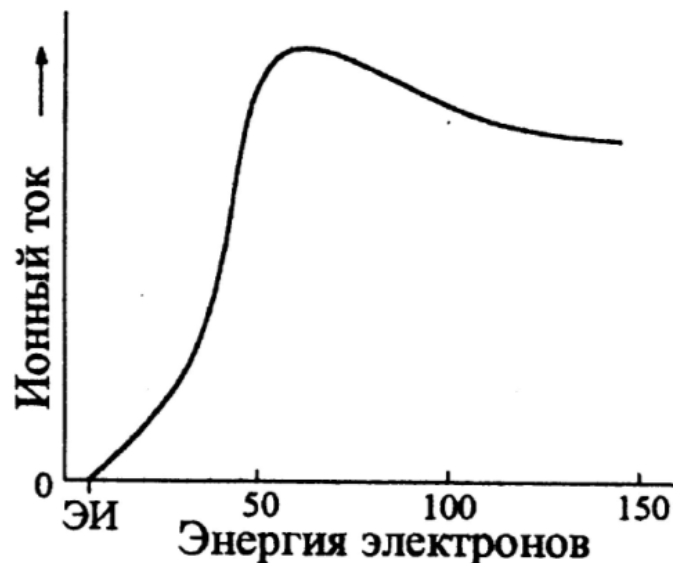
Твёрдая фаза

- 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)
- ионизация в индуктивно-связанной плазме (ICP)
- термоионизация или поверхностная ионизация
- ионизация в тлеющем разряде и искровая ионизация
- ионизация в процессе лазерной абляции

Электронная ионизация

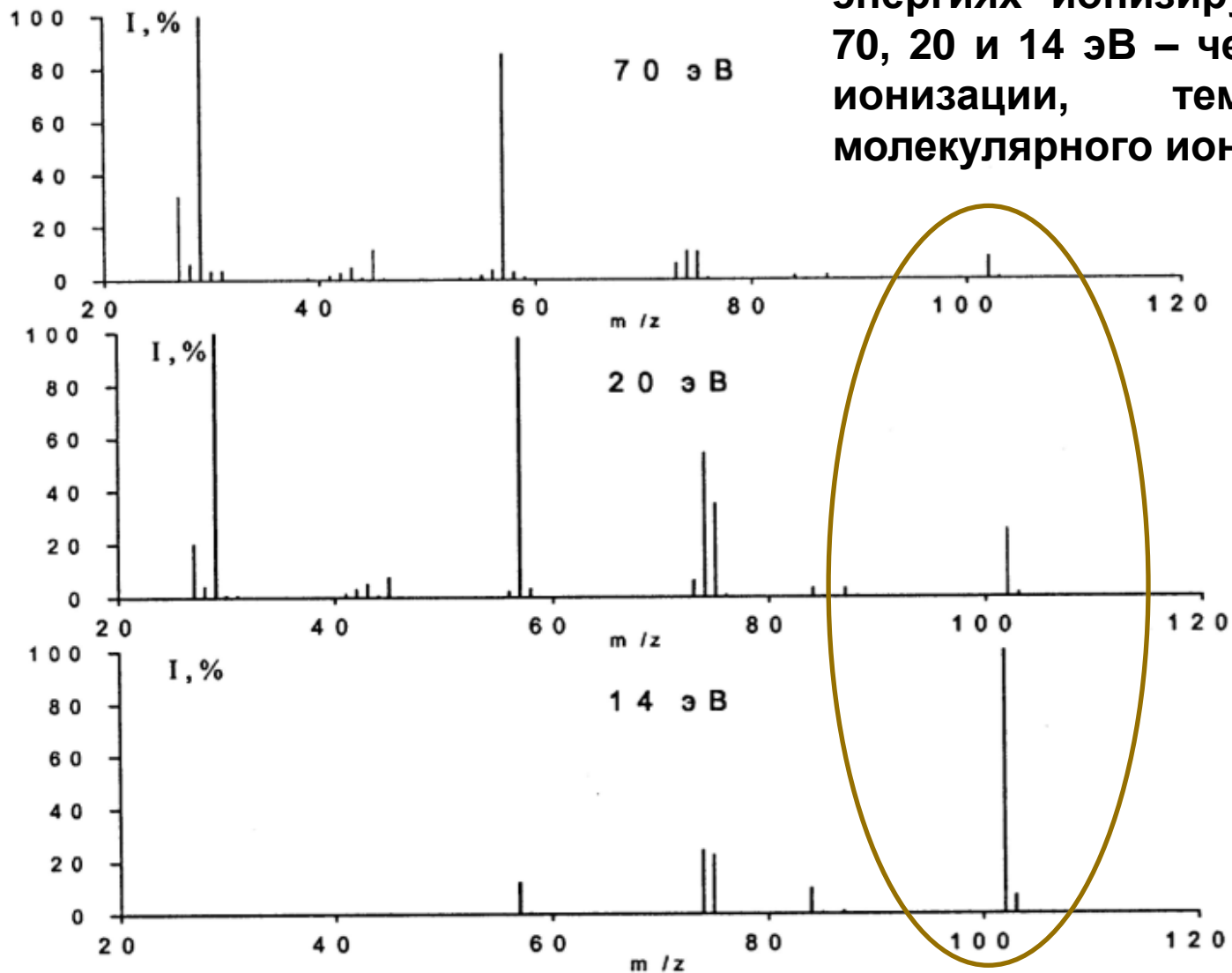
Электронная ионизация – это ионизация паров вещества потоком электронов, разогнанных в электрическом поле. При этом электрон, пролетая рядом или через молекулу ионизируемого вещества, не захватывается ею, а передает часть своей энергии, что приводит к «возбуждению» молекулы, отрыву от нее одного или нескольких электронов с образованием положительного иона M^+ (молекулярный ион), а также, в зависимости от энергии ионизирующих электронов, к разрыву связей в ионизируемой молекуле – к ее фрагментации.

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



Электронная ионизация

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 – чем меньше энергия ионизации, тем выше пик молекулярного иона



Электронная ионизация

Энергия в 70 эВ для ионизирующих электронов в настоящее время принята за стандарт, приборы с электронной ионизацией образца, выпускаемые промышленностью, как правило, имеют именно эту величину энергии ионизации, либо позволяют ее установить. Также базы данных масс-спектров содержат масс-спектры, записанные на приборах с электронной ионизацией образца и энергией ионизации в 70 эВ. Масс-спектры в научных изданиях приводятся, как правило, именно с энергией ионизации образца в 70 эВ.

Достоинства:

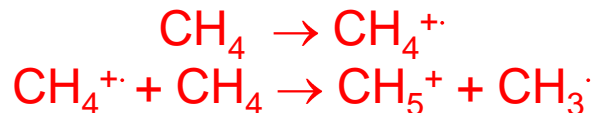
1. Наиболее распространенный и простой в реализации метод ионизации
2. Богатый фрагментами масс-спектр соединений, что позволяет проводить структурные исследования
3. Наличие больших баз данных масс-спектров, позволяющих быстро производить идентификацию соединений

Недостатки:

1. Не всегда можно получить молекулярный ион
2. Большая фрагментация образца, иногда трудно по фрагментации проследить направление превращения иона
3. Невозможность работы с образцами, которые нельзя перевести в газовую фазу.

Химическая ионизация

Химическая ионизация – это ионизация образца пучком предварительно ионизированных молекул газа, например, метана или аммиака. Ионизация молекул газа происходит при помощи электронной ионизации при 150-200 эВ и дальнейшего химического превращения газа-ионизатора.



Сталкиваясь с молекулами образца, ионизированные молекулы газа передают свой заряд в виде протона:



Достоинства:

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.

Недостатки:

1. Отсутствие фрагментации, что не позволяет судить о структуре вещества и сравнить спектр с базами масс-спектральных данных.
2. Невозможность работы с образцами, которые нельзя перевести в газовую фазу.

Фотоионизация

Фотоионизация – это ионизация монохроматическими пучками фотонов с разбросом по энергии 0.01-0.02 эВ. Пучки могут быть получены излучением молекул инертных газов в газоразрядных трубках либо при помощи лазеров. Энергии самих фотонов лежат в диапазоне 10-40 эВ, что позволяет ионизировать любые органические соединения.

Достоинства:

1. Полная передача энергии фотона молекуле вещества.
2. Удобен для установления энергетических характеристик молекул, радикалов, ионов.

Недостатки:

1. Незначительная фрагментация молекулярных ионов.
2. Зависимость фрагментации от энергии фотонов.
3. Невозможность работы с образцами, которые нельзя перевести в газовую фазу.

Электроспрей

Электроспрей (электрораспыление) – это метод, в котором вещество на ионизацию поступает в растворе полярного растворителя (им может быть вода, ацетонитрил, метанол и т.д.), при этом в растворе присутствуют катионы водорода или щелочных металлов, натрия или калия. Небольшая капля раствора подается в металлический специальный капилляр-«небьюлайзер» («распылитель»), к которому одновременно приложено высокое (несколько кВ) электрическое напряжение, в результате чего капля с раствором образца, срываясь с конца капилляра, имеет положительный заряд. Далее, продвигаясь в электрическом поле, капля испаряется под действием нагретого потока инертного газа (чаще всего азота). Объем капли уменьшается, заряд ее поверхностный растет – и капля «взрывается» на ряд мелких капель, заряженных положительно, и продолжающих испарять молекулы растворителя под действием нагретого сухого инертного газа. Далее через узкие отверстия сепараторов, где происходит постепенное снижение давления с примерно атмосферного до глубокого вакуума, ионизированные частицы, состоящие из молекул исследуемого вещества и катиона (H^+ , Na^+ , K^+), попадают в ионную оптику.

Электроспрей

Достоинства:

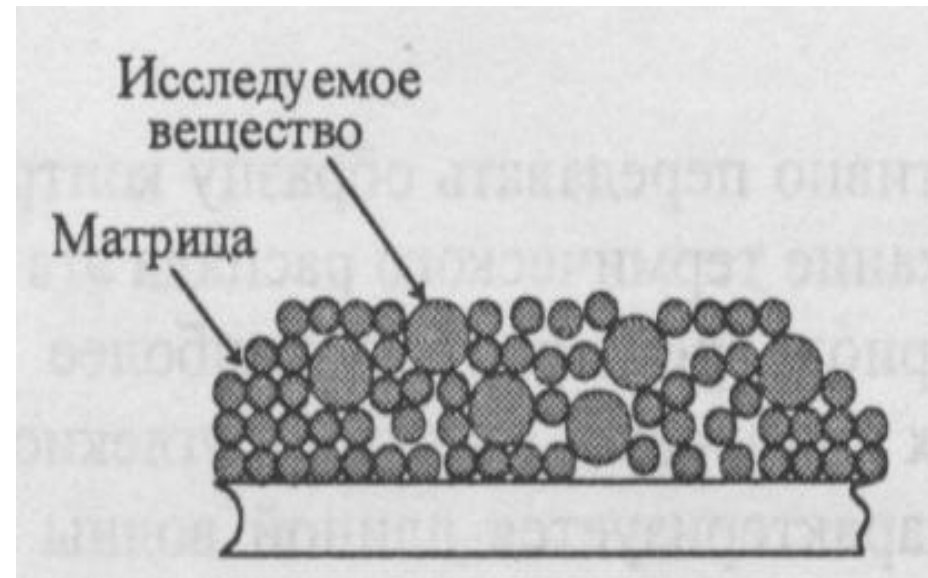
1. Возможность работать с веществами, которые нельзя перевести в газовую фазу
2. Метод практически идеально подходит для стыковки масс-спектрометра и жидкостного хроматографа
3. Возможность анализа крупных (до нескольких миллионов дальтон) молекул
4. Мягкое (низкоэнергетическое) ионизационное воздействие

Недостатки:

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

Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI)

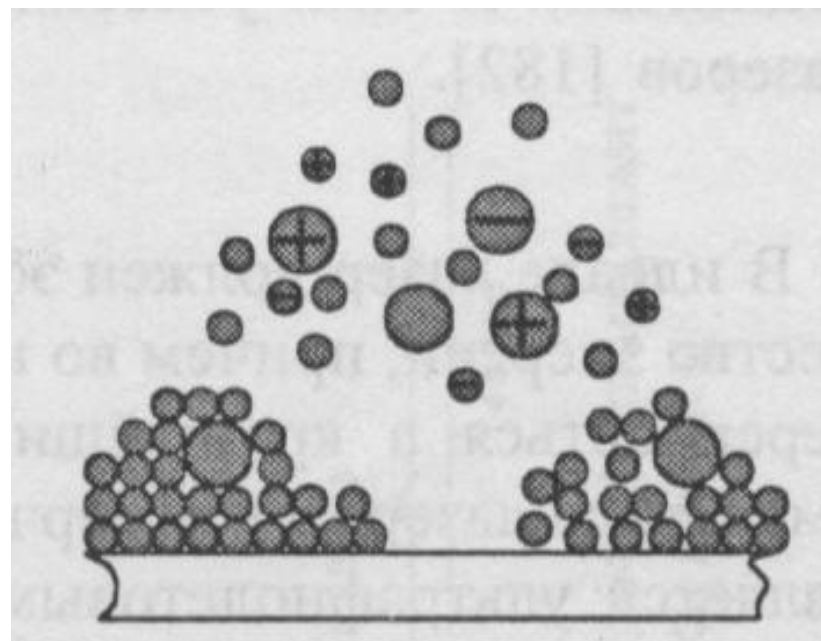
Матричная лазерная десорбция – это метод, при котором исследуемое вещество помещают в «матрицу» - перемешивают с веществом, имеющим меньший молекулярный вес и отличающимся высокой способностью поглощать лазерное излучение (например, коричная кислота, 3-гидроксипиколиновая кислота, 6,7-гидроксикумарин и т.д.).



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

Матричная лазерная десорбция

Далее подложка с матрицей помещается в ионный источник, где в качестве ионизатора выступает короткий импульс (0.1 нс...1 мкс) лазерного излучения. Луч, попадая на подложку с матрицей, вызывает испарение вещества матрицы, молекулы которой ухватывают за собой молекулы исследуемого вещества. В процессе испарения часть молекул ионизируется и далее увлекается электрическим полем в сторону анализатора.



Матричная лазерная десорбция

Достоинства:

1. Возможность анализа крупных молекул (массой до 100 000 дальтон и выше)
2. Мягкая ионизация образца
3. Возможность анализа загрязненных примесями образцов

Недостатки:

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

Ионизация в электрическом поле

Ионизация путем взаимодействия вещества с эмиттером (электродом, оформленным в виде узких пучка игл), на котором создается высокая напряженность электрического поля (до 1 В/Å). В результате происходит переход (туннелирование) электрона от молекулы органического вещества к эмиттеру. После этого высокий положительный потенциал эмиттера резко выталкивает образовавшийся катион из источника.

Достоинства:

1. Мягкий метод ионизации, в результате чего спектр представляет собой, как правило, единственный пик, принадлежащий молекулярному иону.
2. Возможность работы с как с газообразными образцами, так и с веществами, которые сложно перевести в газовую фазу (сахаров, пептидов, нуклеотидов, солей, кислот).

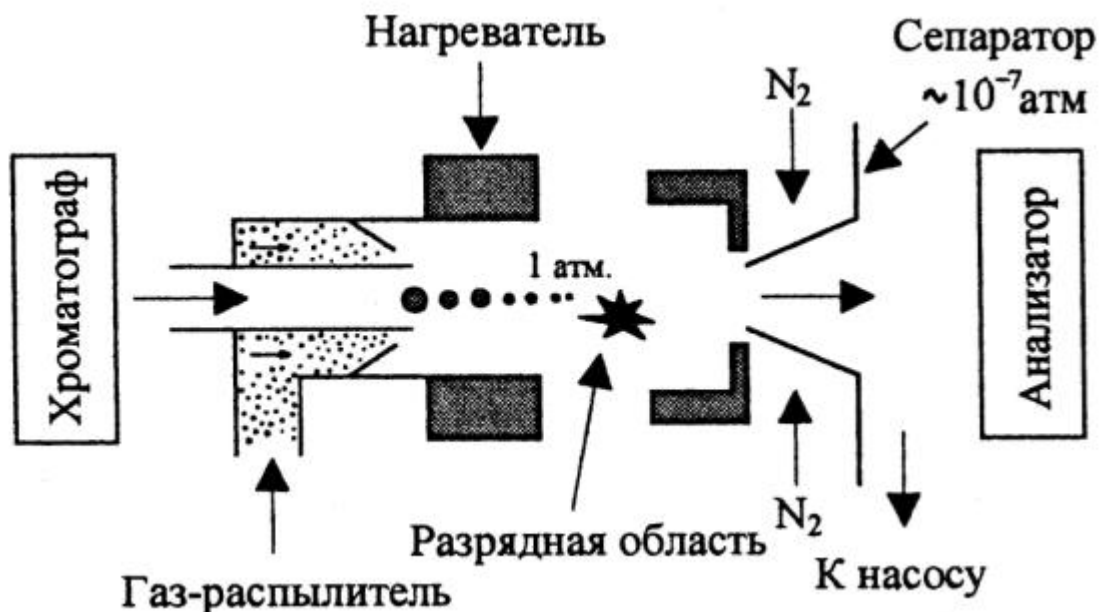
Недостатки:

1. Отсутствие фрагментации.
2. Малая интенсивность спектров.

Химическая ионизация при атмосферном давлении

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



Химическая ионизация при атмосферном давлении

Ионизация происходит при атмосферном давлении либо коронным разрядом, либо бета-излучателями. Далее электрическое поле и поток увлекает ионизированные частицы в последовательные сепараторы, где происходит быстрая откачка легких молекул (газ, растворитель), а ионизированные частицы образца попадают в анализатор с глубоким вакуумом.

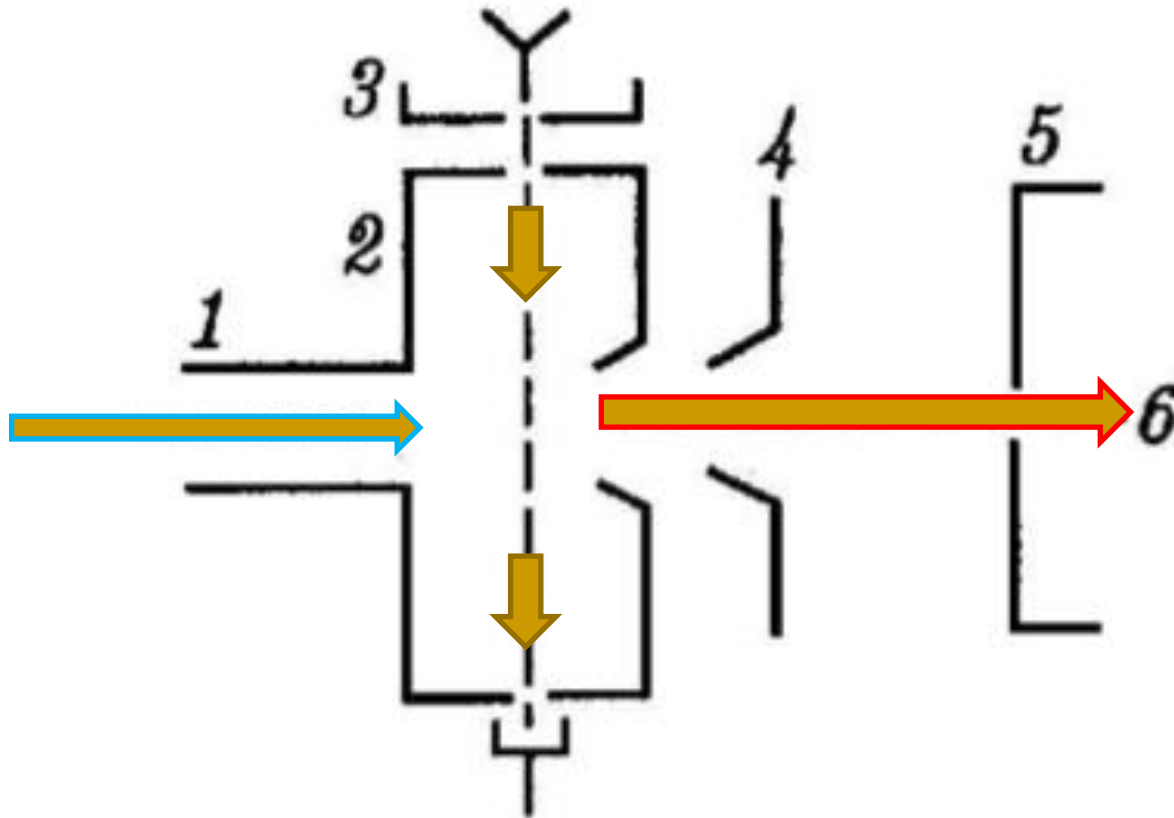
Достоинства:

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:

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 (мало линий).

Ст.3. Ускорение ионов в электрическом поле



1 – напускной канал, 2 – ионизационная камера, 3 – электронная пушка, 4 – вытягивающая линза, 5 – фокусирующая линза, 6 – ионный пучок

Система должна быть вакуумирована.

Стадия 4. Разделение ионов

- 1. Магнитный анализатор**
- 2. Электрический анализатор**
- 3. Квадрупольный анализатор**
- 4. Времяпролетный анализатор**
- 5. Ионная ловушка**
- 6. Анализатор ион-циклотронного резонанса**

Магнитный анализатор

Исторически первый тип анализатора (Демпстер, 1918 г.).
Физическая основа – изменение траектории заряженной частицы под действием магнитного поля.

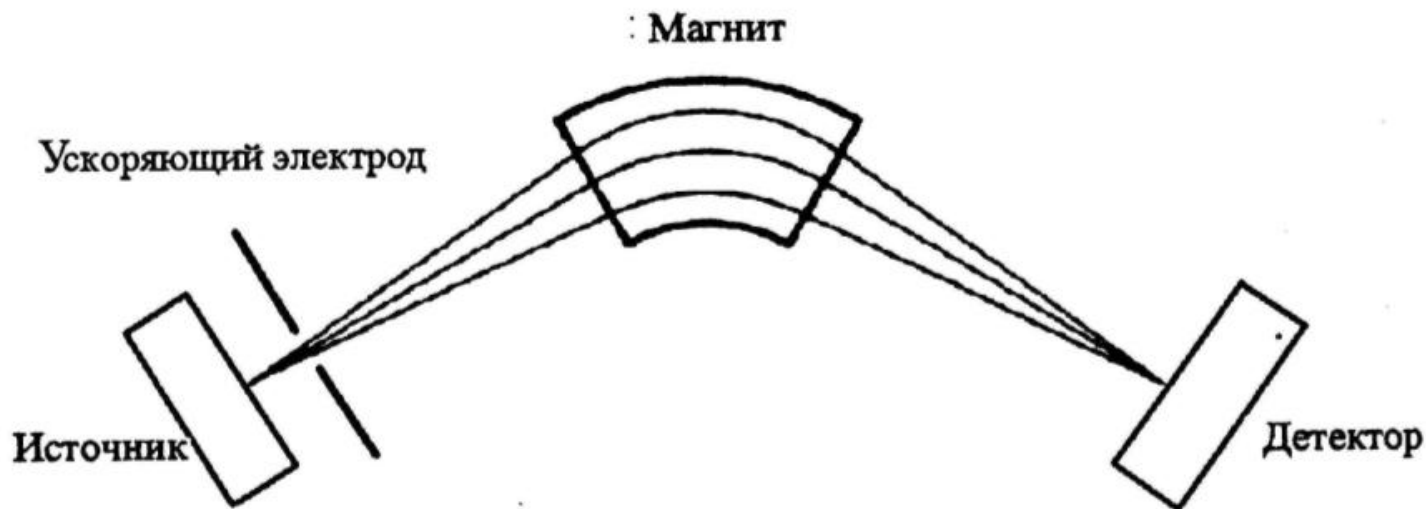
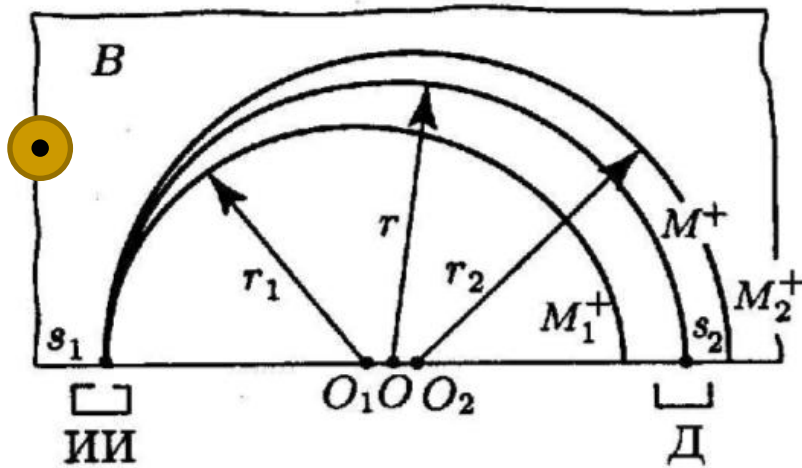


Схема масс-спектрометра с магнитным анализатором

Магнитный анализатор



ИИ – ионный источник, Д – детектор ионов, s_1 и s_2 – входная и выходная щели, B – магнитное поле, перпендикулярное плоскости рисунка, O_1 , O , O_2 – центры и r_1 , r , r_2 – радиусы окружностей, по которым двигаются ионы M_1^+ , M^+ и M_2^+ .

Кинетическая энергия иона после выхода из ионизационной камеры:

$$\frac{mv^2}{2} = eV$$

Сила Лоренца: $F = evB$

Центростремительная сила:

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

Приравнивая, получаем:

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

Итоговая формула:

$$m/e = \frac{r^2 B^2}{2V}$$

Электрический (электростатический) анализатор

Как правило, этот вид анализатора применяется в дополнение к магнитному анализатору для обеспечения большего разрешения прибора (такие приборы называются «приборами с двойной фокусировкой») и для облегчения измерения точных масс, т.к. электрическое поле возможно варьировать более точно, чем магнитное.

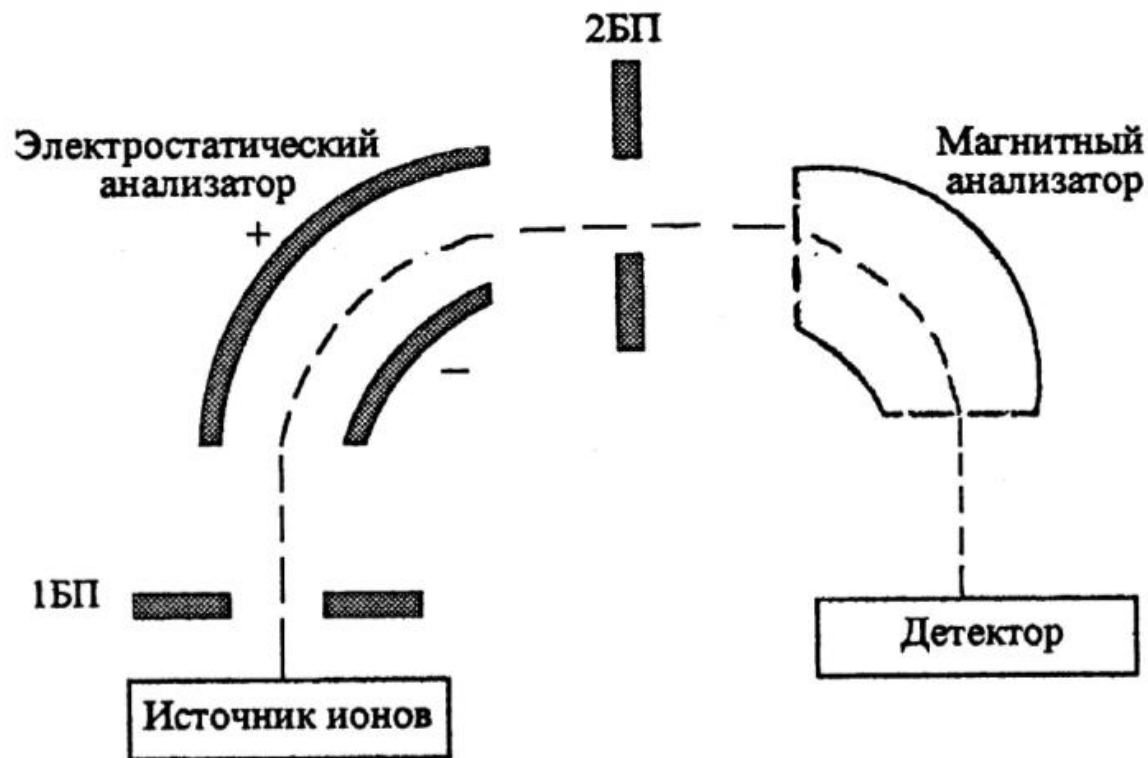


Схема масс-спектрометра с двойной фокусировкой ионов (БП) — бесполевого пространства

Электрический (электростатический) анализатор

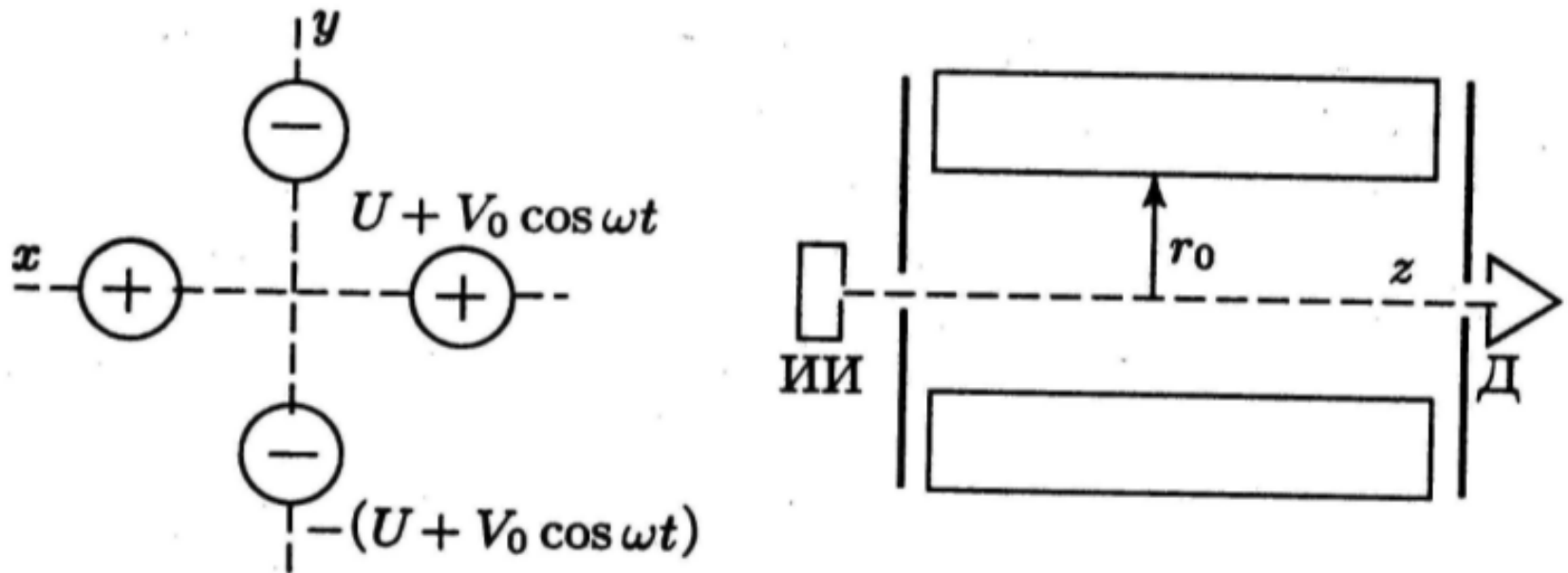
Электростатический анализатор по принципу действия примерно аналогичен магнитному, только роль магнитного поля у него выполняет электрическое поле (ионы движутся между двумя противоположно заряженными электродами), которое также может отклонять ионы тем или иным образом, причем ионы с разными массами будут отклоняться на разные углы (иметь другие траектории движения). Попадая в такой анализатор, ион движется по круговой орбите с радиусом R таким образом, чтобы сила электрического поля уравновешивалась центробежной силой:

$$\vec{F}_L = q(\vec{E} + [\vec{v}\vec{B}])$$

Варьируя величину поля, возможно пропускать через анализатор ионы с разным значением масс, т.е. производить развертку масс-спектра.

Квадрупольный анализатор

Квадрупольный анализатор представляет собой систему из четырех стержней-электродов, к которым приложены высокочастотные переменное и постоянные напряжения, изменяющиеся во времени как $U + V(\cos \omega t)$, противоположные стержни заряжены одинаково:



Квадрупольный анализатор, поперечный (слева) и продольный (справа) разрезы. Ионный пучок движется от источника ионов (ИИ) по направлению к детектору (Д).

Квадрупольный анализатор

Принцип работы анализатора состоит в том, что под действием постоянного и переменного электрических полей заряженные частицы с массой M испытывают стабильные колебания и могут пройти через квадрупольный фильтр (т.е. между электродами вдоль осевой линии) только при определенных значениях постоянного и переменного напряжения на электродах. Частицы с другими массами при этом движутся слишком далеко от главной оси системы и, сталкиваясь со стержнями, выбывают из потока. Меняя напряжения на стержнях, возможно производить развертку масс-спектра.

Времяпролетный анализатор

Времяпролетный анализатор масс основан на том, что скорость разогнанных ионов обратно пропорциональна их массам:

$$eV = mv^2 / 2 \quad \text{или} \quad m = 2eV / v^2$$

где V – ускоряющее напряжение. Если ионы движутся в полой трубе, то они достигают детектора в порядке увеличения своей массы.

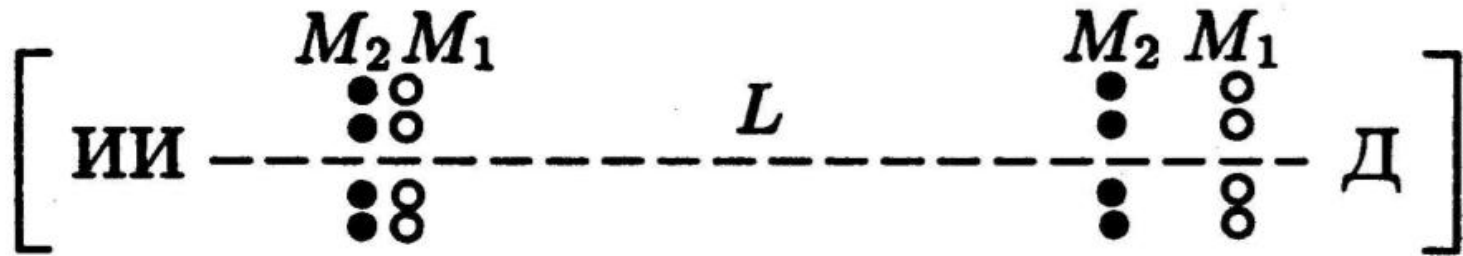
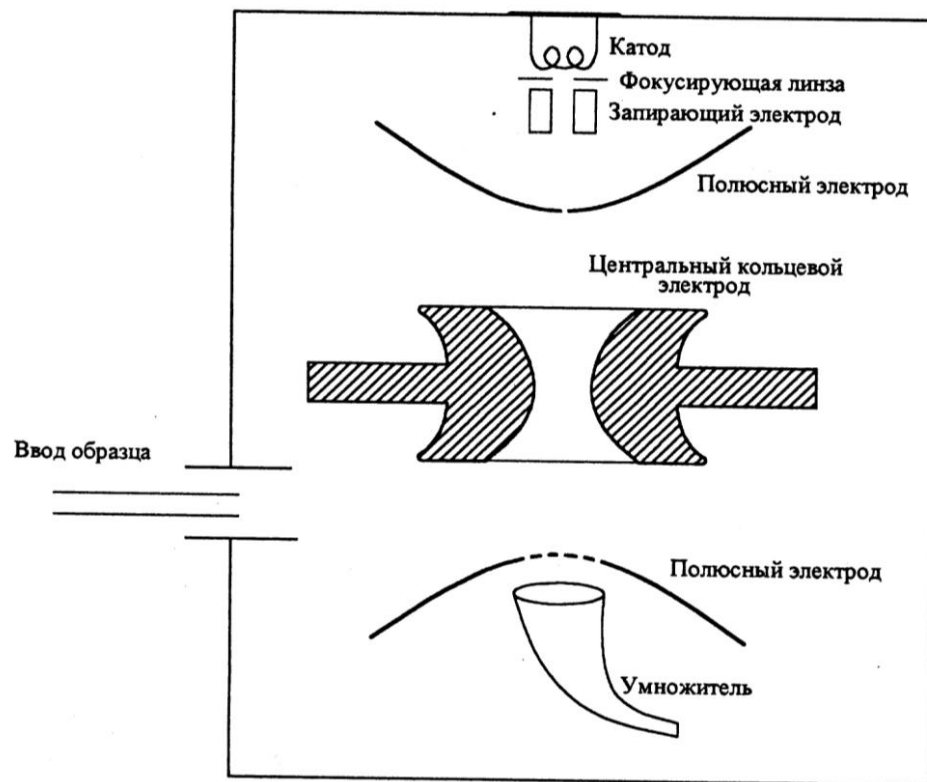


Схема действия времяпролетного масс-спектрометра (показано разделение ионов с массой M_1 и M_2 на пути от ионного источника (ИИ) до детектора (Д))

Ионная ловушка

Основой этого анализатора является ячейка с тремя электродами. Два концевых (**ПОЛЮСНЫХ**) гиперболических по форме электрода имеют потенциал Земли (заземлены), между ними располагается **электрод кольцевой формы**, на который подается радиочастотное напряжение мегагерцового диапазона.

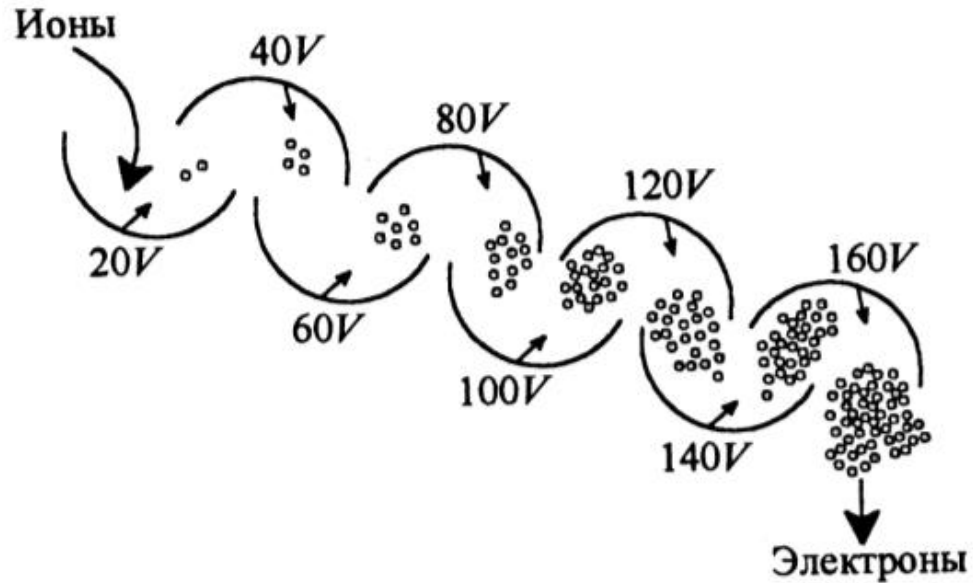
Схема ячейки



Анализатор ион-циклотронного резонанса

Стадия 5. Детектирование ионов

Схема действия электронного умножителя (ЭУ):

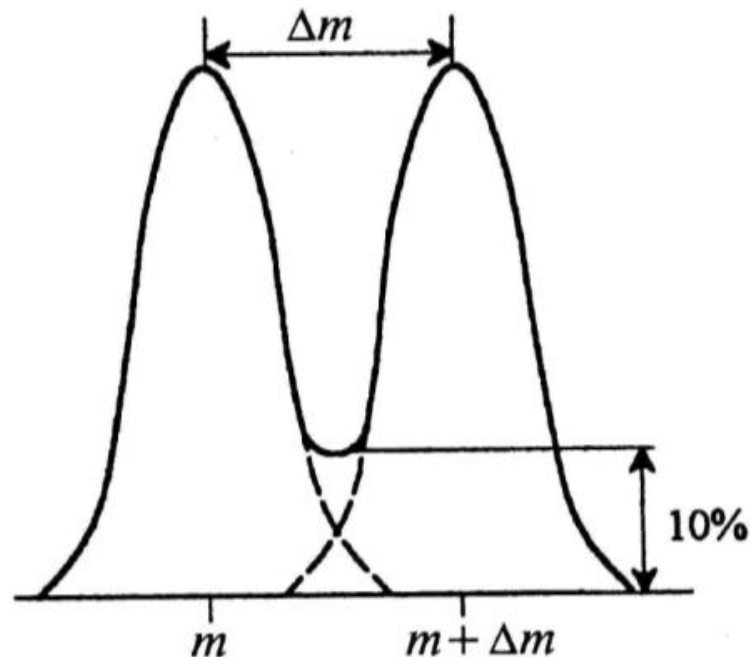


Электронный умножитель
масс-спектрометра
Thermo Electron DFS



Характеристики масс-спектрометра. Разрешающая способность.

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



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.

Характеристики масс-спектрометра. Разрешающая способность.

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

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

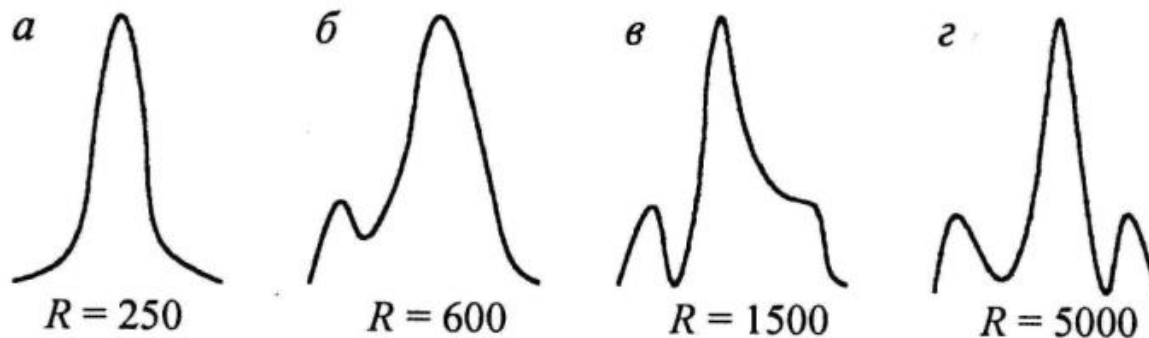
Δm	R
1	400
0.5	800
0.1	4 000
0.05	8 000
0.01	40 000
0.007	60 000

Произносятся: 1 в 400

Характеристики масс-спектрометра. Разрешающая способность.

Масс-спектрометрия высокого разрешения (МСПВ, 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 не целые числа: масса основного изотопа водорода ¹H 1.00782506, азота ¹⁴N 14.00307407, кислорода ¹⁶O 15.99491475 и т.д. Тогда массы CO - 27.9949, N₂ - 28.0061, C₂H₄ - 28.0313.



Зависимость формы пика ионов с целочисленной массой 28 Да от разрешения масс-спектрометра

Характеристики масс-спектрометра. Разрешающая способность.

Таким образом, при разрешении 5000 возможно разделить и точно измерить массовые значения пиков, соответствующих целочисленной массе 28.

Измерение точной массы иона (4-6 знаков после запятой) однозначно определяет его элементный и изотопный состав. Измерения проводят при помощи реперов – стандартов известного состава, как правило, это перфторкеросин, перфтортрибутиламин и другие полностью фторированные соединения – в масс-спектрах таких стандартов регистрируются сигналы фрагментных ионов, равномерно перекрывающих весь диапазон масс от m/z 19 до M^+ (примерно до 1500 Да).

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 произведен на основании изотопных пиков, характеру фрагментации и априорной информации об образце.

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**

Интерпретация масс-спектров

На основании масс-спектров веществ решаются аналитические и структурные задачи.

Аналитические задачи

Идентификация веществ, определение качественного и количественного состава смесей производится путем сравнения полученного спектра со спектрами, имеющимися в базе данных.

Структурные задачи

При определении структурной формулы молекулы используется три блока данных, представленных в масс-спектре:

1. Пик молекулярного иона, позволяющего определить молярную массу вещества.
2. Кластеры изотопных пиков
3. Пики ионов, полученных при трансформации молекулы (перегруппировочные, фрагментарные и пр.).

В качестве материала к этому разделу см. дополнительный файл к лекции по масс-спектрометрии.