

В. А. Винарский Р. А. Юрченко

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ И ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

*Рекомендовано Учебно-методическим объединением
по естественнонаучному образованию в качестве пособия
для студентов высших учебных заведений, обучающихся
по специальности 1-31 05 01 «Химия (по направлениям)»*

УДК 543.544(075.8)

ББК 24.46я73

В48

Р е ц е н з е н т ы:

кафедра химии БГПУ имени Максима Танка
(заведующий кафедрой кандидат химических наук,
доцент *Н. В. Суханкина*);
кандидат химических наук, доцент *Л. Я. Крисько*

В48 Винарский, В. А.

Масс-спектрометрия и хромато-масс-спектральный анализ : пособие / В. А. Винарский, Р. А. Юрченко. — Минск : БГУ, 2013. — 135 с.
ISBN 978-985-518-890-3.

Рассмотрены вопросы современной масс-спектрометрии органических соединений: методы ионизации и разделения ионов, физико-химические основы процесса масс-спектрометрического распада молекул исследуемых соединений, использование различных типов масс-детекторов для идентификации и установления количественного содержания компонентов в сложных по составу объектах после их разделения методами газовой, жидкостной, сверхкритической флюидной хроматографии и капиллярного электрофореза.

Предназначено для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности 1-31 05 01 «Химия (по направлениям)».

УДК 543.544(075.8)

ББК 24.46я73

ISBN 978-985-518-890-3

© Винарский В. А.,
Юрченко Р. А., 2013
© БГУ, 2013

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время среди используемых в экспериментальных исследованиях инструментальных физико-химических методов анализа наиболее мощными и многоцелевыми являются спектральные методы, такие как: инфракрасная спектроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния, спектроскопия в ультрафиолетовой области спектра, спектроскопия ядерного магнитного резонанса и масс-спектрометрия, активно применяемые в химии, биологии, медицине, экологии, при контроле технологических процессов, в криминалистике и других областях научных исследований.

Масс-спектрометрия — один из самых востребованных методов физико-химического анализа, который предполагает перевод молекул исследуемых компонентов анализируемого образца в ионизированное состояние, последующее эффективное разделение образовавшихся как положительных, так и отрицательных ионов и их надежную регистрацию.

Масс-спектрометрия появилась в 1901 г., когда немецкий физик В. Кауфман создал первый прототип параболического масс-спектрографа, использованного им для изучения «катодных лучей». В 1913 г. Дж. Томсон впервые спектрально зарегистрировал изотопы неона, а в 1918 г. А. Демпстер сконструировал первый магнитный масс-спектрометр с источниками для электронной и термической ионизации.

На протяжении последующих 50 лет масс-спектроскопия оставалась прерогативой исключительно физиков и физико-химиков, которые успешно применяли ее для измерения таких характеристик атомов и молекул, как энергия ионизации, прочность связей в молекуле, точные массы атомов элементов, природная распространенность нуклидов химических элементов, и только после 1950 г. этот метод стал применяться для идентификации достаточно сложных по своей структуре органических соединений по набору характеристических фрагментных ионов.

Знание классических химических реакций с участием органических соединений и привлечение теории устойчивости органических ионов позволили приписать отдельным фрагментам конкретные структуры.

Традиционная органическая масс-спектропия первоначально использовалась для решения двух задач:

- 1) идентификации веществ;
- 2) изучения особенностей фрагментации ионизированных молекул органических соединений в газовой фазе в ионном источнике.

Возможности классической органической масс-спектропии значительно расширились с появлением метода хромато-масс-спектрального анализа, а последовавшее за ним соединение масс-спектрометра с жидкостным хроматографом еще в большей степени расширило круг изучаемых соединений. Оснащение же масс-спектрометра одновременно несколькими анализаторами привело к тому, что сегодня этот метод можно использовать при исследовании практически любых соединений самых разнообразных структур.

В этой связи один из первых масс-спектропистов Ф. Мак-Лафферти в шутку отметил, что если химическую задачу нельзя решить с помощью масс-спектрометрии, то ее вообще нельзя решить.

Признанием важности масс-спектрометрии для развития современной науки стало присуждение в 2002 г. Нобелевской премии Д. Фенну и К. Танаке за разработку методов ионизации биоорганических молекул, молекулярные массы которых составляют миллионы дальтон.

Из главных достоинств масс-спектрометрии необходимо отметить высокую чувствительность, экспрессность, информативность, надежность, меньшую зависимость, а в ряде случаев и полное отсутствие необходимости в использовании веществ-стандартов.

Кроме отмеченного, масс-спектрометрия имеет явное преимущество перед другими физико-химическими методами анализа, поскольку оперирует с простейшими характеристиками исследуемых соединений: массой молекулы и ее основных фрагментов, а также с отношением количеств этих фрагментов.

Для получения достоверного масс-спектра индивидуального соединения оказывается достаточным 10^{-9} – 10^{-10} г вещества даже при применении простейшего по своему устройству масс-спектрометра.

При необходимости выполнения операции простого детектирования только одного конкретного соединения в сложной по составу анализируемой смеси порог обнаружения может быть снижен до величин 10^{-12} – 10^{-14} г.

Использование современного оборудования и методов ионизации исследуемых соединений часто позволяет увеличить чувствительность метода еще на несколько порядков.

При применении даже простейших приемов для ионизации индивидуального соединения и последующего получения обычного масс-спектра необходимо затратить всего 1–2 мин, а время анализа сложной по составу смеси соединений в режиме хромато-масс-спектрометрии определяется исключительно численным значением времени удерживания каждого конкретного компонента анализируемой смеси в процессе их хроматографического разделения.

Компьютер, являющийся неотъемлемой составной частью современного хромато-масс-спектрометрического комплекса, позволяет обеспечить управление процессом проведения анализа, надежную регистрацию получаемых данных, их сбор и обработку с необходимой для конкретного анализа скоростью, а также получить полную информацию обо всех компонентах анализируемой смеси.

Поскольку масс-спектр — это реальная характеристика конкретного соединения, отражающая его структурные особенности, надежность использования метода масс-спектрального анализа для идентификации этого соединения оказывается очень высокой.

Следовательно, располагая только 1 мкл раствора анализируемой пробы, при использовании приемов газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием и при наличии соответствующих компьютерных баз данных можно получить абсолютно исчерпывающую информацию о ее качественном и количественном составе.

Ни один другой из применяемых сегодня методов анализа не сочетает в себе такой же универсальности, экспрессности и информативности.

Глава 1

ОСНОВЫ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

1.1. ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИОНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ И РАСПАДА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ИОНОВ

После ввода исследуемого вещества в масс-спектрометр необходимо обязательно осуществить процесс ионизации молекул анализируемого образца.

Ионизация — это процесс превращения нейтрального атома или молекулы в заряженную частицу. В результате этого процесса при удалении электрона будет иметь место образование положительных ионов, а при присоединении электрона — образование отрицательных ионов.

Первичный ион, образующийся при удалении (или присоединении) электрона, имеет массу, равную молекулярной массе исследуемого соединения, и называется *первичным молекулярным ионом с нечетным числом электронов, или катион-радикалом*:



К процессам ионизации следует относить и процессы, связанные с отщеплением гидрид-иона (H^{-}) или присоединением катиона (протон, катион металла, органический или неорганический катион) либо аниона. В этом случае массы первичных ионов отличаются от молекулярной массы исследуемых веществ на массу отщепляемой или присоединяемой заряженной частицы.

Образовавшиеся в процессе ионизации первичные молекулярные ионы в зависимости от природы исследуемого соединения, способа ионизации и величины избытка внутренней энергии находятся в разнообразных возбужденных состояниях, что обуславливает разное время их жизни и степень вероятности процессов их дальнейшего превращения, приводящих к образованию *фрагментных ионов*.

Процессы фрагментации протекают обычно за время 10^{-13} с. При этом *первоначальные (родоначальные, исходные) ионы* в результате простых разрывов связей превращаются в *осколочные (фрагментные) ионы* с более низкой величиной внутренней энергии. Если образовавшиеся осколочные ионы обладают все еще достаточным избытком внутренней энергии, то и они претерпевают дальнейший распад. Этот процесс будет продолжаться до тех пор, пока не будет израсходован весь избыток внутренней энергии, присущий исходному иону.

Процессы фрагментации характеризуются значительным числом последовательных и конкурирующих направлений распада, вероятность которых определяется природой молекулы и элементов, ее составляющих, энергией разрывающихся связей, внутренней энергией образующихся ионов, стабильностью ионов и отделяемых нейтральных частиц, а также величиной временного интервала между образованием ионов и их детектированием.

Вероятность образования того или иного типа ионов во многом определяется используемым способом ионизации молекул исследуемых соединений.

Сегодня существует уже несколько десятков способов ионизации, из которых наиболее часто на практике используются следующие:

- электронный удар (ионизация электронами);
- фотоионизация;
- химическая ионизация;
- ионизация полем;
- десорбция полем;
- бомбардировка быстрыми атомами или ионами;
- десорбция плазмой;
- ионизация термораспылением;
- ионизация электрораспылением;
- матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация;
- ионизация при десорбции лазером без матрицы;
- термическая ионизация;
- ионизация в искровом источнике;
- ионизация в источнике с индуктивно-связанной плазмой.

При ионизации молекул исследуемых соединений *электронами* образуются *положительные и отрицательные ионы*. Для регистрации ионов обеих полярностей в современных масс-спектрометрах предусмотрены устройства, обеспечивающие изменение полюсов ионно-оптической системы, масс-анализаторов и детекторов.

При ионизации молекул исследуемых соединений *электронами, электрораспылением*, если из них удаляется два и более электронов, образуются *многозарядные ионы*. Это характерно для молекул ароматических со-

единений, а также соединений с разделенными центрами, способными локализовать заряд.

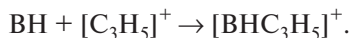
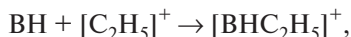
При ионизации молекул *электронами, фотоионизации, ионизации или десорбции полем образуются молекулярные ионы*: $M^{+\bullet}$ — при удалении электрона, $M^{\bullet-}$ — при захвате электрона.

Если образовавшиеся молекулярные ионы имеют время жизни порядка 10^{-5} с, что достаточно для преодоления ими расстояния от ионного источника до детектора, то они могут быть зарегистрированы в масс-спектре. Наибольшей стабильностью обладают молекулярные катион-радикалы, образующиеся при ионизации электронами соединений, имеющих сопряженные π -электронные или ароматические системы связей.

Масс-спектры *химической ионизации* с регистрацией положительных ионов содержат пики *протонированных молекул* $[M + H]^+$.

Для масс-спектров *химической ионизации* с регистрацией отрицательных ионов характерны *псевдомолекулярные ионы* $[M - H]^{-\bullet}$.

В масс-спектрах *химической ионизации* могут регистрироваться *кластерные ионы или аддукты*. Например, если в качестве газа-реагента используется метан, то в плазме газа-реагента присутствуют ионы $[C_2H_5]^+$, $[C_3H_5]^+$, которые с молекулами анализируемого соединения ВН могут образовывать кластерные ионы:



К кластерным ионам можно отнести и ионы $[M + Met]^+$ (Met — металл или неорганический катион), регистрируемые при *десорбции полем, бомбардировке быстрыми атомами*, а также ионы $[M + Hal]^+$, образующиеся при *химической ионизации* в присутствии газа-реагента, содержащего галоген.

Для ионизации *электрораспылением* характерны *многозарядные протонированные молекулы* $[M + nH]^{n+}$.

При распаде молекулярных, псевдомолекулярных и кластерных ионов образуются *осколочные ионы*. Распад молекулярных катион-радикалов может протекать в результате гомолитических и гетеролитических разрывов связи, а также в результате перегруппировочных процессов.

Образование *метастабильных* ионов обусловлено следующими процессами.

Все ионы, образующиеся непосредственно в ионизационной камере в результате ускорения приобретают одинаковую кинетическую энергию. Если образовавшиеся ионы имеют достаточное время жизни для того, чтобы успеть долететь до детектора (для секторных приборов с магнитными и электростатическими анализаторами это время составляет около

10^{-6} с), то они фиксируются в регистрируемом спектре в виде нормальных симметричных пиков.

Очевидно, что ионы с меньшим временем жизни по пути из ионного источника до детектора могут распадаться. Особый интерес представляет распад таких ионов в области между источником ионизации и анализатором масс, которая носит название *бесполевого пространства*, поскольку в этой области на образовавшиеся ионы не действуют никакие электромагнитные поля. При распаде ионов в этой области каждый новый ион будет иметь меньшую кинетическую энергию и по этой причине окажется расфокусированным по сравнению с другими ионами, имеющими одинаковую энергию. Такие ионы регистрируются в спектре в виде размытых (диффузных) пиков и являются следствием образования метастабильных ионов.

Регистрация в спектре пиков *нуклидных ионов* объясняется тем, что в природе многие элементы существуют в виде нескольких нуклидов, т. е. *полинуклидные*, а *мононуклидными* являются только малое число элементов.

Полинуклидные элементы условно делятся на две группы:

- элементы с большим содержанием одного из нуклидов;
- элементы, содержащие соизмеримые количества двух и более нуклидов.

У элементов с большим содержанием одного из нуклидов в спектре наряду с интенсивным пиком молекулярного иона M всегда присутствуют малоинтенсивные пики ионов $M + 1$ и даже $M + 2$. Их появление связано с присутствием в природе наряду с основным нуклидом ^{12}C , нуклида ^{13}C (распространенность которого равна 1,08 %).

По мере увеличения содержания атомов углерода в исследуемой молекуле, вероятность появления в ней одного, двух и даже трех атомов ^{13}C возрастает.

Именно по этой причине для исследуемого соединения с 10 атомами углерода в молекуле соотношение интенсивностей пиков M , $M + 1$, $M + 2$ и $M + 3$ составляет 100 : 10 : 0,45 : 0,01.

1.2. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ПРОЦЕССОВ ОБРАЗОВАНИЯ И РАСПАДА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ИОНОВ

Существует ряд более или менее строгих теоретических подходов к описанию процессов образования и распада молекулярных ионов. Однако на сегодня ни один из них не может достаточно точно предсказать массовые числа и интенсивности пиков всех ионов в масс-спектре даже достаточно простых органических соединений.

Практически любой процесс образования заряженной частицы обусловлен передачей ей дополнительной внутренней энергии. В зависимости от используемого способа ионизации образующиеся молекулярные ионы могут характеризоваться величиной избыточной энергии в диапазоне от 0 до 20 эВ. Учитывая, что $1 \text{ эВ} = 96,48 \text{ кДж}$, наиболее «горячие» ионы имеют энергию порядка 2000 кДж, которая значительно превышает энергию таких же реакционных частиц, образующихся в растворах.

Предположим, что молекулярный ион исследуемого соединения $ABXY$ может распадаться или с разрывом центральной связи $B-X$, или претерпевать перегруппировку с образованием химической связи между ранее не связанными атомами A и Y в соответствии с уравнениями:



Будем считать, что возможное распределение образовавшихся молекулярных ионов по энергиям характеризуется вероятностной функцией $P-E$, приведенной на рис. 1.

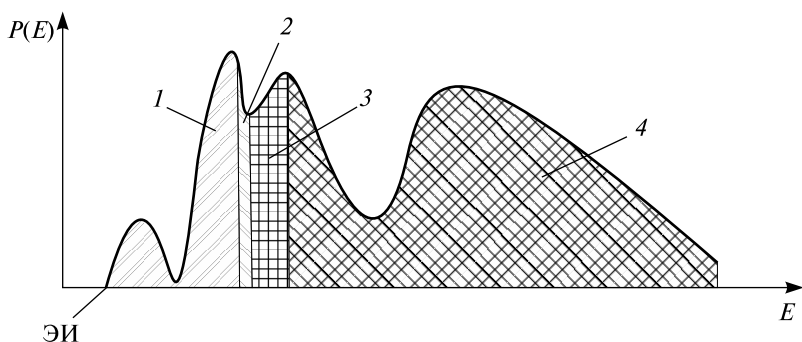


Рис. 1. Вероятностная функция распределения образовавшихся молекулярных ионов по энергиям:

ЭИ – величина энергии ионизации; 1 – область энергий молекулярных ионов $ABXY^{+\bullet}$; 2 – область энергий стабильных ионов m^+ ; 3 – область энергий молекулярных ионов $AY^{+\bullet}$; 4 – область энергий молекулярных ионов AB^+

Эта кривая в определенной степени похожа на фотоэлектронный спектр поглощения молекулы исследуемого соединения.

Если частицы, обладающие дополнительной внутренней энергией, находятся в растворе, то в результате реализации частых столкновений очень быстро происходит усреднение их энергии.

В ионизационной камере масс-спектрометра все будет определяться используемым методом ионизации. Так, при химической ионизации существующее достаточно высокое давление в источнике ионизации при-

водит к многочисленным столкновениям ионов, радикалов и молекул и можно предполагать определенное усреднение их внутренней энергии.

При ионизации электронами условия высокого вакуума препятствуют столкновениям частиц, и судьба образовавшегося иона будет зависеть исключительно от той внутренней энергии, которую он приобрел в результате процесса ионизации. Именно величина этой энергии и определяет то, что только одна часть всех ионов достигнет детектора без фрагментации, другая часть — в виде каких-либо перегруппировочных ионов, третья — в виде каких-либо осколочных ионов, четвертая — в виде фрагментных ионов второго поколения и т. д.

В этой связи следует учитывать, что поскольку речь идет о мономолекулярных реакциях изолированных частиц, живущих очень короткое время, набор и количество продуктов реакции определяется, прежде всего, кинетическими, а не термодинамическими факторами.

В 1952 г. практически одновременно возникли две теории, направленные на интерпретацию мономолекулярных реакций в газовой фазе в условиях глубокого вакуума.

Первая из них была названа *квазиравновесной теорией (КРТ)* и основывалась на том, что приобретенная избыточная энергия равномерно распределяется по всем связям в молекуле, а точнее по всем энергетическим состояниям молекулярного иона за время, равное 10^{-12} с. Таким образом, квазиравновесие между этими состояниями достигается уже до того, как начнется процесс распада молекулярного иона.

В этом случае вероятности путей фрагментации определяются только энергией и структурой каждого конкретного иона, а не способом ионизации, механизмом образования или структурой предшественника (для осколочных ионов).

Возможные исключения, как правило, наблюдаются с простейшими молекулами в случаях сильно отличающихся друг от друга по энергии возбужденных электронных состояний и очень быстрыми процессами распада, характеризующимися константами скоростей $k > 10^{11}$.

Вторая теория, близкая к квазиравновесной и отличающаяся тем, что описывает процессы, происходящие в нейтральных молекулах, носит название *РРКМ*, по фамилиям ее авторов — *О. Райса, Х. Рампсберга, Л. Касселя и Р. Маркуса*.

Основной задачей этих теорий является расчет скоростей распада частиц с разрывом любой химической связи в зависимости от количества избыточной внутренней энергии.

Обе эти теории базируются на следующих четырех допущениях:

- вращательные, колебательные, электронные и поступательные движения частиц независимы друг от друга;

- движения ядер могут быть описаны уравнениями классической механики, хотя и с учетом квантово-механических коррекций;
- все микросостояния частиц равновероятны, т. е. избыточная энергия равновероятно распределяется по всем степеням свободы иона;
- существует энергетическая граничная поверхность, разделяющая родительские и дочерние ионы. Эта поверхность может пересекаться только в одном направлении, т. е. для любого родительского иона достижение этого переходного состояния означает необратимый распад с образованием продуктов.

Так, например, при ионизации электронами сам процесс потери электрона нейтральной молекулой протекает за время 10^{-16} с и расстояния между ядрами при этом не изменяются. Колебания ядер могут начаться только через 10^{-12} – 10^{-13} с.

В возбужденном состоянии ионы находятся не более 10^{-8} с и в течение этого времени могут оказаться на любых уровнях всех возможных возбужденных состояний — вращательных, колебательных, электронных. За это время в результате протекания излучательных или безызлучательных процессов ион из возбужденного состояния либо переходит в основное электронное состояние, либо распадается.

Время нахождения иона в источнике ионизации составляет 10^{-6} с, следовательно, около 99 % всего этого времени ион будет находиться в основном электронном состоянии.

Вероятность какой-либо трансформации молекулярного иона зависит от величины его внутренней энергии и связана с величиной константы скорости k каждого конкретного процесса.

Возможный характер изменения логарифмов констант скоростей различных превращений молекулярного иона $ABXY^{+*}$ от величины его внутренней энергии приведен на рис. 2.

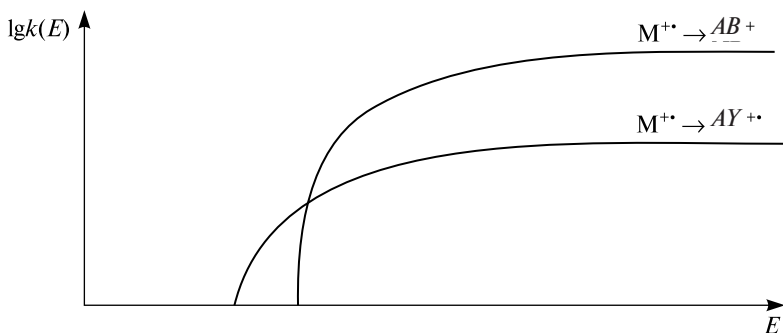


Рис. 2. Изменение величины логарифма константы скорости превращения молекулярного иона от величины его внутренней энергии:

1 — для превращения $M^{+*} \rightarrow AB^+$; 2 — для превращения $M^{+*} \rightarrow AY^{+*}$

Молекулярные ионы, энергия которых ниже критической энергии для самой низкоэнергетической реакции распада E_0 , регистрируются в виде $M^{+\bullet}$.

Предположим, что молекулярный ион соединения $ABXY$ может распадаться или с разрывом центральной связи $B-X$, или претерпевать перегруппировку с образованием химической связи между ранее не связанными атомами A и Y в соответствии с уравнениями:



Если энергия иона $M^{+\bullet}$ меньше энергии иона $AY^{+\bullet}$, то ион стабилен и регистрируется как $M^{+\bullet}$.

Обозначим через $E_{1/2}(AY^{+\bullet})$ такую энергию, при которой ровно одна половина количества ионов $M^{+\bullet}$ распадается с образованием $AY^{+\bullet}$, а другая половина остается в виде $M^{+\bullet}$.

Точно таким же образом $E_{1/2}(AB^+)$ будет соответствовать энергии, при которой половина $M^{+\bullet}$ распадается с образованием $AY^{+\bullet}$, а половина — с образованием AB^+ .

Следовательно, для случая, представленного на рис. 1, 2, все молекулярные ионы с энергией выше $E_{1/2}(AB^+)$ будут распадаться с образованием AB^+ , так как в этой точке скорость образования AB^+ становится выше скорости образования $AY^{+\bullet}$.

Получается, что формально площади под кривыми на рис. 1 с обозначениями $M^{+\bullet}$, $AY^{+\bullet}$, AB^+ соответствуют начальным долям токов этих ионов в регистрируемом полном ионном токе.

Для вычисления же реальной интенсивности соответствующих пиков в масс-спектре следует обязательно учитывать вторичные процессы распада этих первичных ионов.

При изменении внутренней энергии молекулярного иона $M^{+\bullet}$ изменяется и характер функции вероятностного распределения образовавшихся молекулярных ионов по энергиям $P-E$, и вид регистрируемого масс-спектра, поскольку некоторые реакции будут частично или полностью подавляться более эффективными для данной энергии реакциями. Именно изменением характера функции распределения $P-E$ объясняется изменение регистрируемого масс-спектра при снижении энергии ионизирующих электронов.

Один из возможных вариантов записи масс-спектрометрической информации в графической форме представлен на рис. 3.

Пусть молекулярный ион $ABXY^{+\bullet}$ распадается в соответствии с ранее приведенной схемой или с простым разрывом связи с образованием иона AB^+ , или с перегруппировкой, приводящей к образованию иона $AY^{+\bullet}$.

Вертикальное сечение графических зависимостей, приведенных на рис. 3, позволяет оценить изменения интенсивностей пиков в регистрируемом масс-спектре при каждом конкретном значении энергии молекулярного иона $M^{+\bullet}$.

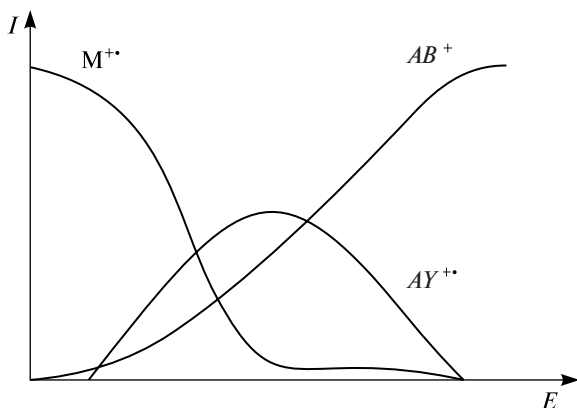


Рис. 3. Зависимость интенсивности пиков ионов в спектре от величины внутренней энергии молекулярного иона $M^{+\bullet}$.

Следует отметить, что предложенные строгие математизированные теории не применимы к реальным органическим молекулам, поскольку за исключением простейших молекул все другие случаи требуют очень больших временных затрат даже при использовании современного компьютерного оборудования.

Кроме этого, значительные ошибки могут быть вызваны незнанием реальных структур ни родительских ионов, ни дочерних ионов, ни переходного состояния.

Распределение энергии по связям в исследуемой молекуле также не очевидно.

По вышеперечисленным причинам самым большим успехом этих строгих физических теорий на сегодня можно считать расчеты спектров легких алканов (пропан, бутан), являющихся простейшими молекулами с одним типом химических связей между атомами.

Существует, однако, и *упрощенный подход* для полуколичественного описания процессов фрагментации сложных органических молекул, основанный на использовании для расчета численных значений констант скоростей реакций распада следующего уравнения:

$$k = v \left[\frac{E - E_0}{E} \right]^{N-1},$$

где k — константа скорости; ν — частотный фактор; E — избыток внутренней энергии; E_0 — критическая энергия конкретной реакции; N — число осцилляторов.

Частотный фактор обратно пропорционален мере стерических затруднений в активированном комплексе (переходном состоянии) и фактически является численной характеристикой изменения энтропии в процессе, и для простого разрыва связи он принимается равным ее колебательной частоте. Для перегруппировочного процесса требуется абсолютно конкретное расположение атомов в пространстве, что приводит к уменьшению величины частотного фактора.

Число осцилляторов в молекуле, содержащей n атомов, рассчитывается из соотношения

$$N = 3n - 6.$$

При этом следует учитывать, что на практике не все осцилляторы равноценны и величина константы скорости реакции распада завышается. По этой причине число осцилляторов обычно уменьшается в три раза.

При использовании этой упрощенной теории для расчета интенсивностей фрагментных ионов в регистрируемом масс-спектре не следует исключать возможности протекания вторичных процессов распада этих ионов при наличии у них достаточной внутренней энергии, а также и те обстоятельства, что интенсивность пика иона в спектре зависит как от скорости его образования, так и от скорости его распада.

1.3. ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ БЛОК-СХЕМА МАСС-СПЕКТРОМЕТРА

Принципиальная блок-схема масс-спектрометра приведена на рис. 4 и включает специальные системы и устройства, последовательно обеспечивающие выполнение всех необходимых операций анализа, такие как:

- система ввода анализируемой пробы;
- система ионизации исследуемых соединений анализируемой пробы;
- анализатор масс — устройство для разделения образовавшихся ионов — компонентов пробы — на индивидуальные зоны;
- детектор ионов — система регистрации индивидуальных зон ионов — компонентов пробы;
- система обработки полученных данных по разделению индивидуальных зон ионов — компонентов пробы — и их регистрации;
- система представления результатов анализа в виде таблицы и (или) спектра.

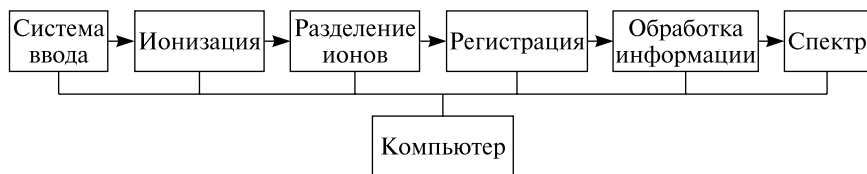


Рис. 4. Принципиальная блок-схема масс-спектрометра

В соответствии с особенностями их устройства и функционирования существующие масс-спектрометры принято характеризовать следующими основными показателями:

- типом применяемого метода ионизации;
- типом используемого анализатора масс;
- количеством используемых анализаторов одного или нескольких типов;
- величиной разрешающей способности;
- чувствительностью, которая зависит от метода ионизации и типа используемого детектирующего устройства;
- диапазоном определяемых масс.

Результаты масс-спектрального анализа могут регистрироваться в виде зависимости, отражающей изменение величины полного ионного тока от времени при различных скоростях съемки, и как масс-спектр.

При регистрации результатов анализа в координатах, отражающих изменение величины полного ионного тока от времени, форма получаемой графической зависимости, приведенной на рис. 5, аналогична форме классической хроматограммы.

При графическом изображении результатов анализа в виде масс-спектра, по оси абсцисс откладывается величина отношения массы иона к его заряду, а по оси ординат — их интенсивности, т. е. относительное количество ионов данного вида.

На рис. 6 приведен масс-спектр, регистрируемый для этилбензола при его ионизации электронами.

Величину интенсивности принято выражать или в процентах по отношению к полному ионному току (суммарной интенсивности всех ионов в спектре), или в процентах к величине интенсивности максимального иона.

В качестве единицы массы могут быть использованы:

- атомные единицы массы (а. е. м.);
- дальтоны (Да).

$$1 \text{ а. е. м.} = 1 \text{ Да} \approx 1,6605402 \cdot 10^{-27} \text{ кг.}$$

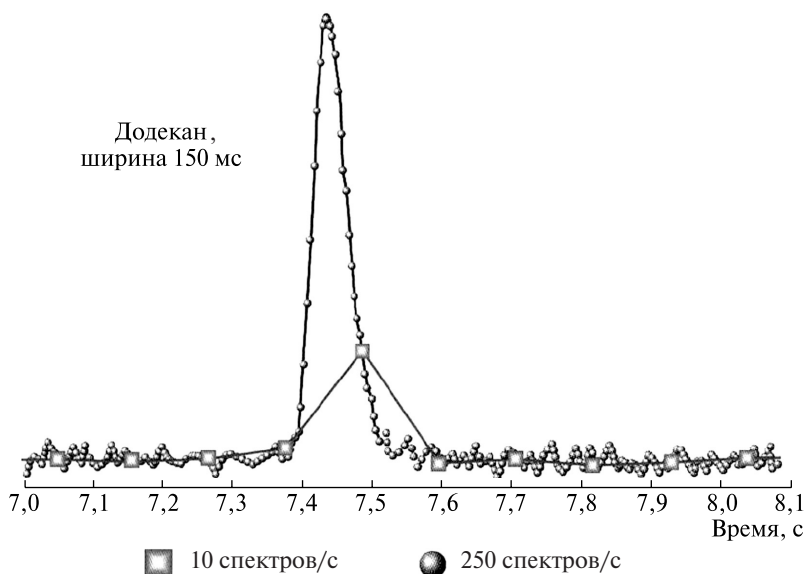


Рис. 5. Форма сигнала додекана на хроматограмме, регистрируемая по полному ионному току при различных скоростях съемки

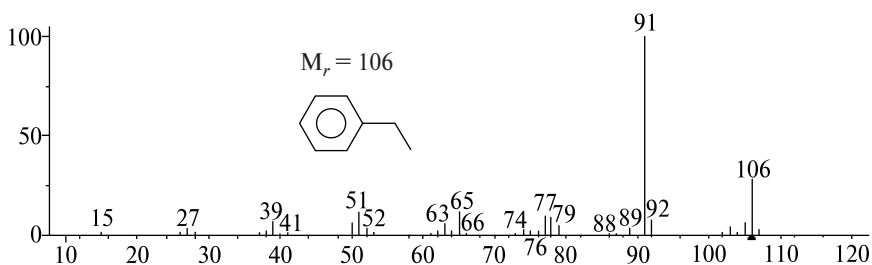


Рис. 6. Масс-спектр этилбензола

Необходимо различать следующие понятия:

- номинальная молекулярная масса — масса, рассчитанная суммированием целочисленных атомных масс наиболее распространенных нуклидов элементов;
- мононуклидная молекулярная масса — масса, рассчитанная суммированием точных атомных масс наиболее распространенных нуклидов элементов;
- средняя молекулярная масса — масса, рассчитанная суммированием усредненных атомных масс элементов.

1.4. СИСТЕМЫ ВВОДА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ПРОБ

Системы ввода необходимы для подачи достаточного количества образца в ионный источник таким образом, чтобы его состав максимально точно отвечал составу анализируемого образца.

В классической масс-спектрометрии процедура ввода анализируемого образца уже сама является самостоятельной и достаточно сложной технической задачей.

Объясняется это тем, что анализируемая проба находится, как правило, при атмосферном давлении, а для устранения возможности нежелательных химических реакций между молекулами или ионами исследуемых соединений во внутреннем объеме источника ионизации масс-спектрометра в нем постоянно поддерживается высокий вакуум порядка 10^{-6} – 10^{-7} кПа.

В качестве одной из первых систем ввода анализируемых проб газов, жидкостей, твердых веществ, имеющих достаточно высокое давление пара при комнатной температуре или при температурах до 350 °С, служил *баллон напуска*, объемом 50–2000 см³, внутренняя поверхность которого выполнена из стекла или металла. Баллон напуска прогревается до необходимой температуры, и анализируемые вещества находятся во внутреннем объеме баллона в газообразном состоянии при давлении порядка 10^{-2} – 10^{-3} кПа.

Процесс переноса анализируемого образца из баллона напуска в систему ионизации, названный процессом *молекулярного натекания*, осуществляется через *молекулярный натекатель*, представляющий собой золотую или стальную фольгу толщиной 0,25 мм, в которой содержится несколько отверстий диаметром 0,005–0,02 мм.

Вместо такого соединительного устройства могут использоваться капилляры малого внутреннего диаметра, а также мембраны, проницаемые только для компонентов анализируемого образца.

Основное требование к этой системе ввода пробы заключается в том, чтобы скорость напуска паров анализируемого образца в источник ионизации оставалась постоянной в течение всего времени анализа, а химический состав образца не изменялся в результате протекания каких-либо термических или каталитических превращений. В случае анализа многокомпонентных смесей величина парциального давления каждого из индивидуальных компонентов должна быть независимой от присутствия других компонентов.

Устройства такого рода использовались на начальных этапах развития масс-спектрометрии, когда применялись малоэффективные вакуумные системы, а скорость развертки масс-спектра была невысокой и составляла минуты.

Основной недостаток этой системы ввода анализируемой пробы — необходимость осуществления перевода вещества в газовую фазу в условиях недостаточно глубокого вакуума, что оказывается весьма проблематичным для большого числа исследуемых образцов.

В настоящее время при исследовании твердых, а также жидких веществ с очень низким давлением пара, общепринятым является способ *прямого ввода* анализируемой пробы в устройство ионизации.

Принципиальное устройство одного из возможных типов системы прямого ввода изображено на рис. 7.

Анализируемый образец в виде пылинки или раствора в подходящем растворителе помещается в маленькую ампулу, изготовленную из стекла, кварца, алюминия или платины, которая укрепляется на конце штока.

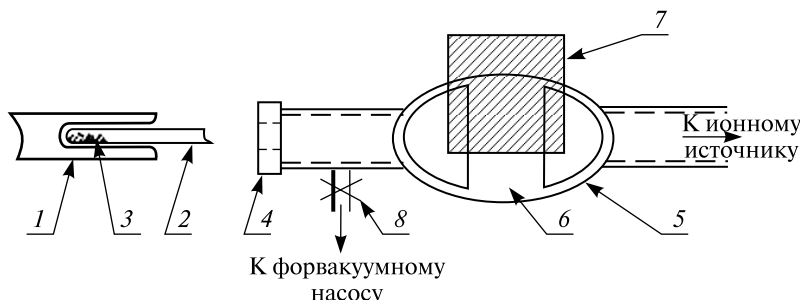


Рис. 7. Устройство системы прямого ввода пробы:

- 1 — металлический шток; 2 — кварцевая (стеклянная) ампула;
3 — исследуемый образец; 4 — уплотняющая гайка; 5 — запорно-проходной кран;
6 — отверстие в кране; 7 — ручка крана; 8 — вентиль

Чтобы не нарушить вакуум в источнике ионов, в конструкции системы ввода пробы специально предусмотрены шлюзовая камера и проходной кран. После введения штока с пробой в шлюзовую камеру, происходит процесс ее вакуумирования до величины давления 10^2 – 10^3 кПа. Если анализируемая проба вводится в виде раствора, то используемый растворитель испаряется.

Затем проходной кран поворачивают и открывают отверстие для перемещения ампулы с образцом уже непосредственно в источник ионов.

При таком способе ввода пробы процесс испарения исследуемого образца осуществляется в условиях глубокого вакуума в самом источнике ионов.

При необходимости малолетучий анализируемый образец может быть нагрет по специальной температурной программе до $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$, а

для прямого ввода высоколетучих веществ разработан вариант, предусматривающий предварительное охлаждение исследуемого образца жидким азотом.

Осуществление процесса абсолютно полного испарения всей анализируемой пробы позволяет измерить достоверное содержание в ней каждого из компонентов и наряду с качественным анализом проводить количественные определения.

При прямом вводе пробы следует обращать особое внимание не только на величину температуры испарителя, но и на величину температуры самого источника ионизации. Если исследуемое вещество труднолетучее, а испаритель прямого ввода перегрет, то при низкой температуре источника ионизации компоненты пробы могут конденсироваться на стенках источника ионов, что приводит к его быстрому загрязнению.

Кроме этого, последовательно повторяющиеся процессы испарения и конденсации приводят к повышению влияния образующихся продуктов термической деструкции компонентов анализируемой пробы на процесс ионизации и, как следствие, к искажению масс-спектра.

Возможность осуществления на практике операций программируемого нагревания анализируемого образца в вакууме позволяет одновременно решить следующие задачи:

- перевести в газовую фазу широкий круг органических соединений включая и низколетучие;
- подобрать оптимальную температуру для регистрации наиболее качественного масс-спектра;
- осуществить анализ смеси соединений с разной степенью летучести.

Реализуемое на практике фракционное испарение позволяет в некоторых случаях провести достаточно быстрый качественный и количественный анализ смеси без ее предварительного разделения.

Важной характеристикой прямого ввода пробы является существенное уменьшение количества образца, необходимого для получения масс-спектра. Избыточное количество образца может привести к искажению масс-спектра из-за возможного протекания ионно-молекулярных реакций и вызвать быстрое загрязнение источника ионов. Предпочтительным является нанесение вещества на шток из раствора и ввод штока с анализируемым образцом в источник ионов только после операции предварительного испарения растворителя.

В настоящее время достаточно перспективным является мембранный ввод анализируемых проб, особенно при анализе летучих органических веществ, находящихся в полярных растворителях.

Один из типов устройства прямого мембранного ввода приведен на рис. 8.

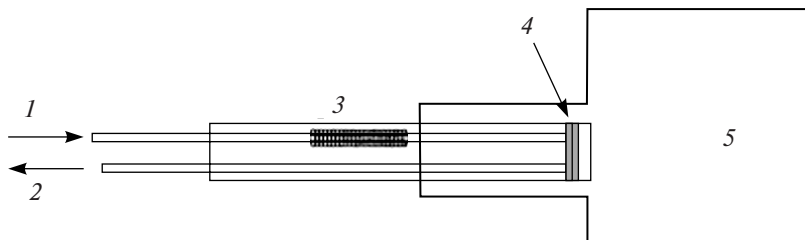


Рис. 8. Схема устройства прямого мембранного ввода анализируемой пробы в источник ионизации:

- 1 — подача раствора анализируемой пробы в воде к мембране;
- 2 — отвод анализируемого раствора от мембраны; 3 — обогреватель;
- 4 — мембрана; 5 — масс-спектрометр

Мембрана закрепляется на конце штока, который может либо размещаться вне источника ионов, либо находиться непосредственно в источнике ионов.

Раствор анализируемого вещества в воде подается по трубке к той стороне мембраны, которая не контактирует с источником ионов. При этом другая сторона мембраны находится в области высокого вакуума уже внутри ионного источника. Существующий перепад давлений на разных сторонах мембраны обеспечивает прохождение неполярных молекул через мембрану в ионный источник, тогда как полярные молекулы растворителя через мембрану не проникают.

При этом анализируемые соединения должны быть достаточно летучими, чтобы легко испаряться на вакуумируемой стороне мембраны.

Для изготовления мембран используются органические материалы, способные пропускать в источник ионов масс-спектрометра только те соединения, которые или достаточно хорошо растворяются в материале мембраны, или достаточно хорошо адсорбируются мембраной и характеризуются при этом высокими коэффициентами диффузии внутри мембраны.

Примером являются силиконовые эластомеры и полифосфазены, обладающие высокой проницаемостью для неполярных веществ и полностью непроницаемы для полярных соединений. Такая мембрана не пропускает воду, неорганические газы, газообразные соединения и соли.

Величина предела обнаружения широкого круга органических соединений с молекулярной массой менее 300 Да составляет несколько нанogramмов в дм^3 .

1.5. ОСНОВНЫЕ СПОСОБЫ ИОНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ ИССЛЕДУЕМЫХ СОЕДИНЕНИЙ

1.5.1. Электронный удар, электронная ионизация, или ионизация электронами

Среди различных методов ионизации исследуемых соединений особое положение занимает *электронный удар* (*электронная ионизация*, или *ионизация электронами*). Исторически это был первый метод, использованный на практике для ионизации органических соединений в 1918 г. Он же остается наиболее распространенным и на сегодня.

Основными достоинствами данного метода ионизации являются *надежность* и *универсальность*. Кроме того, в существующих в настоящее время компьютерных библиотеках масс-спектров (Wiley, NIST, AIPISIN) используются спектры, регистрируемые при применении в качестве метода ионизации именно электронного удара.

Название метода «электронный удар» несколько не соответствует действительности. Реального удара электронов по молекуле исследуемого соединения не происходит. Электрон, пролетая вблизи молекулы исследуемого соединения, возбуждает ее электронную оболочку, и электроны молекулы могут перемещаться на более высокие электронные орбитали, а могут и вообще покинуть молекулу.

Принципиальная схема устройства для ионизации электронами приведена на рис. 9.

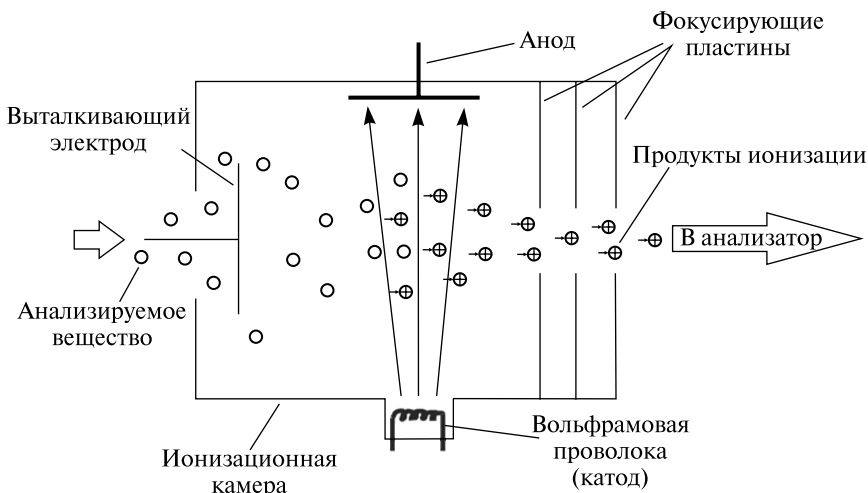


Рис. 9. Схема источника ионизации электронами

Пучок электронов генерируется в источнике ионизации масс-спектрометра раскаленным катодом (*филаментом*), изготовленным из рения или вольфрама и конструктивно выполненным, как правило, в виде проволоки или пластины. Этот пучок электронов, разностью потенциалов величиной порядка 12–70, ускоряется по направлению к аноду, в область ионизации.

Перпендикулярно пучку электронов из системы напуска в эту же область ионизации подаются молекулы анализируемого образца, находящиеся в парообразном состоянии.

Молекулы исследуемых соединений, находясь в источнике ионизации в газообразном состоянии при давлении 10^{-5} – 10^{-6} мм рт. ст., возбуждаются электронами и ионизируются. Образующиеся положительные ионы вытягиваются электрическим полем из зоны ионизации и формируются в пучок с силой тока 10^{-7} – 10^{-14} А, который обычно ускоряется до энергии 1–10 кэВ и затем направляется в масс-анализатор.

В таких условиях исключается возможное взаимодействие образовавшихся ионов с молекулами исследуемых соединений и, следовательно, исключается расфокусировка пучка ионов, а также возможность протекания мешающих анализу ионно-молекулярных реакций.

Низкое давление в источнике ионизации дополнительно позволяет обеспечить более продолжительную эксплуатацию филамента, который при повышенном давлении обычно быстро выходит из строя.

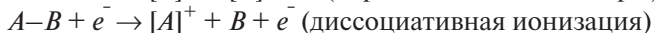
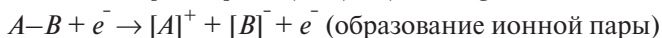
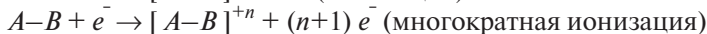
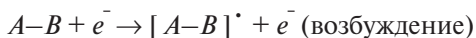
Источник ионизации для предотвращения конденсации образца на его поверхностях, как правило, термостатируется в диапазоне температур 200–250 °С.

Существующие источники ионизации подразделяются на *источники закрытого* и *открытого типов*.

В *источниках закрытого типа* (источники Нира) фокусировка электронных и ионных пучков осуществляется с помощью системы щелей. Область источника, где непосредственно происходит ионизация, может быть заключена в специальный корпус — камеру ионизации, в которую анализируемый образец в газообразном состоянии поступает по подводным трубкам, а щели в корпусе служат для ввода электронного пучка и вывода пучка образовавшихся ионов.

В *источнике открытого типа* область ионизации не ограждена стенками и вместо фокусировки с помощью щелей используется электростатическая фокусировка электронных и ионных пучков, которая на практике является более стабильной и простой.

В источнике ионизации под действием ионизирующих электронов молекулы исследуемых соединений могут претерпевать следующие возможные типы превращений:



Вероятность протекания того или иного из приведенных выше процессов напрямую зависит от величины энергии ионизирующих электронов, которая выражается в электронвольтах и равна произведению заряда электрона на величину разности потенциалов между катодом и анодом.

Сам процесс взаимодействия электрона с молекулой исследуемого соединения происходит, как правило, за время 10^{-17} с. В результате этого взаимодействия молекула приобретает энергию, которая одновременно с ионизацией дополнительно вызывает ее вращательное, колебательное и электронное возбуждение.

Все существующие теории масс-спектрометрического распада молекул исследуемых соединений и подходы к интерпретации получаемых масс-спектров базируются в основном на первоначальном образовании, полученном в результате протекания процесса электронной ионизации, так называемом *молекулярном катион-радикале*.

Формально процесс ионизации можно представить следующим уравнением:



В результате этого процесса и образуется молекулярный ион ($M^{+\cdot}$). Этот молекулярный ион носит также название — *нечетноэлектронный ион*, или *катион-радикал*.

Для того чтобы исследуемая молекула потеряла свой электрон, необходима такая величина энергии ионизирующих частиц, которая будет выше какого-то определенного критического значения. Эта энергия является характеристичной для каждого индивидуального соединения и называется *энергией ионизации* (ЭИ). Поскольку каждая из молекулярных или атомных орбиталей в исследуемой молекуле имеет свою собственную энергию, то каждая молекула имеет несколько значений энергий ионизации.

В масс-спектрометрии под энергией ионизации, как правило, подразумевается первый потенциал ионизации, т. е. энергия, соответствующая высшей занятой молекулярной орбитали.

Величина энергии ионизации для большинства органических соединений чаще всего находится в диапазоне 6—12 В. Следовательно, если энергия электронов, излучаемых катодом, ниже требуемых величин, ионизация молекул анализируемого образца невозможна, и масс-спектр не будет получен.

Эффективность процесса ионизации молекул исследуемых соединений, наблюдаемая на практике, оказывается очень низкой. Как правило, фактически ионизируется примерно одна из десяти тысяч молекул исследуемого образца. Более 99,99 % молекул исследуемых соединений остаются неионизированными и откачиваются из внутреннего объема источника ионизации вакуумными насосами.

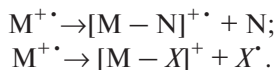
Этот факт позволяет еще раз подчеркнуть реализуемую на практике уникальную чувствительность масс-спектрометрии, свидетельствующую о том, что для получения масс-спектра исследуемого соединения достаточно всего лишь его нано- или пикограммовые количества.

Степень вероятности протекания процесса ионизации изменяется при переходе от одного исследуемого вещества к другому. Эта характеристика для каждого исследуемого соединения имеет свой количественный показатель, называемый *сечением ионизации*.

Если энергия ионизации достаточно низкая и лишь незначительно превышает потенциал ионизации молекул исследуемого соединения, масс-спектр содержит, в основном, пики молекулярных ионов. Если же энергия ионизирующих электронов значительно превышает потенциал ионизации молекул исследуемого соединения, то эти молекулы получают при ионизации некоторую избыточную энергию (обычно это 2–3 В), которая может либо высвободиться путем испускания фотона, либо перейти в энергию колебательного движения. В результате этого может происходить разрыв межатомных связей в молекуле и будет иметь место образование осколочных ионов, т. е. *протекает процесс фрагментации молекулы*.

Минимальная энергия ионизирующих электронов, при которой в масс-спектре помимо молекулярного будет регистрироваться и осколочный ион, называется *энергией появления* данного иона. Чем выше энергия ионизирующих электронов, тем большее число направлений распада $M^{+\bullet}$ реализуется, причем если избыточная энергия образовавшегося осколочного иона остается достаточно высокой, то могут идти и вторичные процессы его распада.

В результате фрагментации происходит распад молекулярного иона на две частицы, одна из которых — ион с меньшей массой (осколочный ион), вторая — радикал или нейтральный фрагмент:



Незаряженные радикалы $X^{\bullet}$ и нейтральные частицы N детектором не регистрируются.

Схема образования фрагментных ионов при ионизации электронами молекулы анизола представлена на рис. 10.

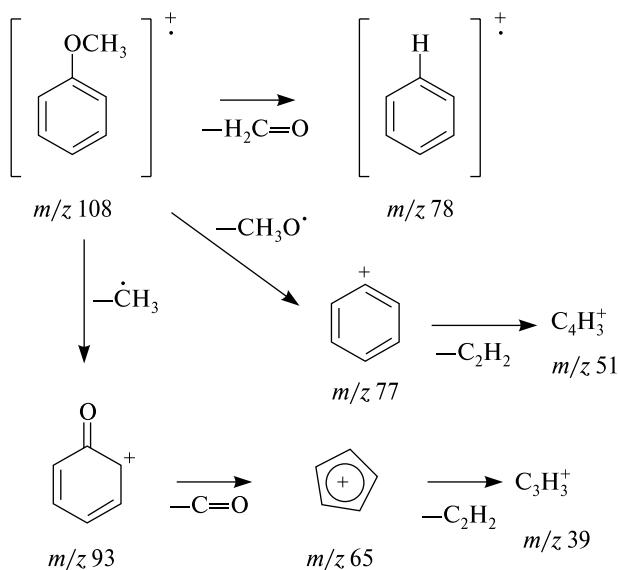


Рис. 10. Схема образования фрагментных ионов при ионизации электронами молекулы анизоль

Регистрируемый при этом масс-спектр представлен на рис. 11.

В приведенном примере пик молекулярного иона является в масс-спектре самым интенсивным, что свидетельствует о высокой устойчивости образующегося катион-радикала.

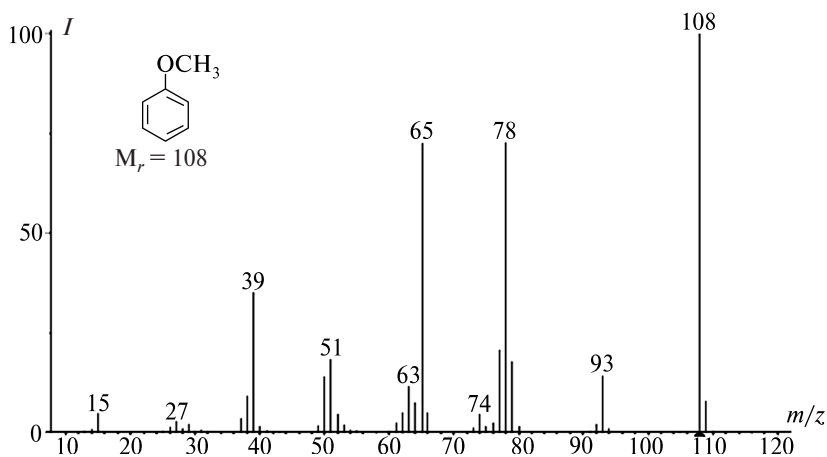


Рис. 11. Масс-спектр анизоль при его ионизации электронами

По мере увеличения склонности молекулярного иона к фрагментации его интенсивность в масс-спектре относительно осколочных ионов будет падать и крайним случаем является полное отсутствие молекулярного пика в масс-спектре.

Масс-спектр циклического эфира 18-краун-6, самым тяжелым ионом в котором является частица с массой 177 а. е. м. $[(C_2H_4)_4O_4H]^+$, приведен на рис. 12.

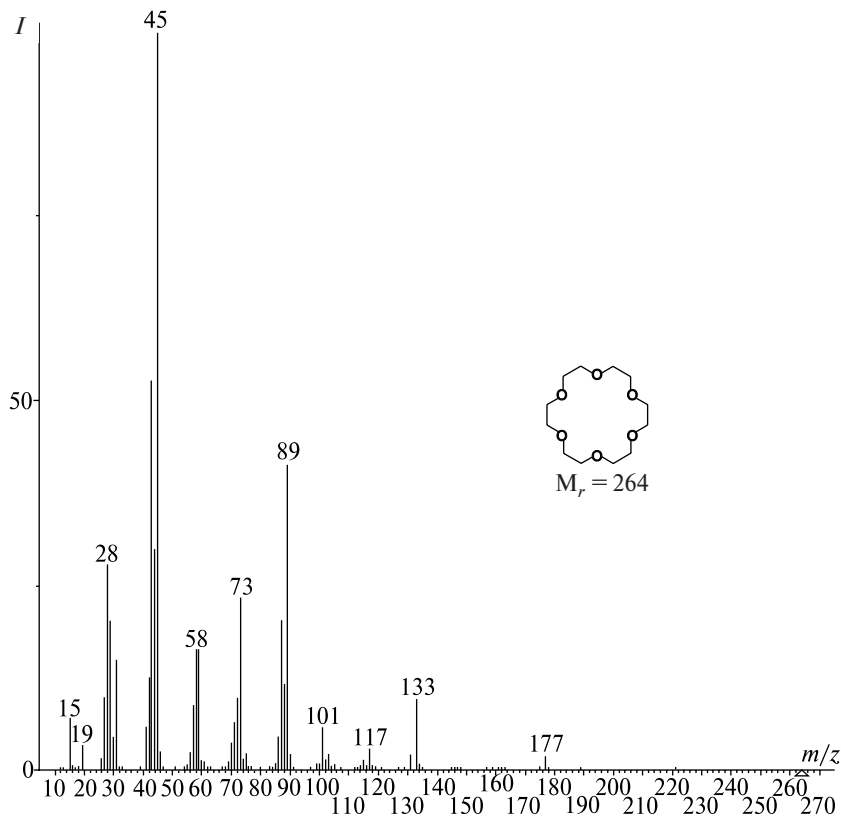


Рис. 12. Масс-спектр циклического эфира 18-краун-6

В подобных случаях в масс-спектре отсутствует достоверная информация относительно реальной молекулярной массы исследуемого соединения, что существенно затрудняет его идентификацию.

Поскольку пучок электронов не является монохроматичным, причем разброс по энергиям, как правило, очень велик и может достигать 5 эВ, это приводит к тому, что условия взаимодействия молекул исследуемого

образца с низкоэнергетическими электронами оказываются не стабильными, соответственно не стабилен и регистрируемый масс-спектр.

На практике для ионизации обычно используется либо близпороговый интервал энергии ионизации (8–15 эВ), либо энергии ионизации порядка 30–70 эВ. Как правило, при понижении энергии электронов относительная интенсивность пиков молекулярных ионов увеличивается, а интенсивность пиков осколочных ионов уменьшается.

Масс-спектры пропанола-1 ($M_r = 60$), регистрируемые при энергиях ионизирующих электронов 70 эВ, 20 эВ, 14 эВ и 11 эВ, приведены на рис. 13.

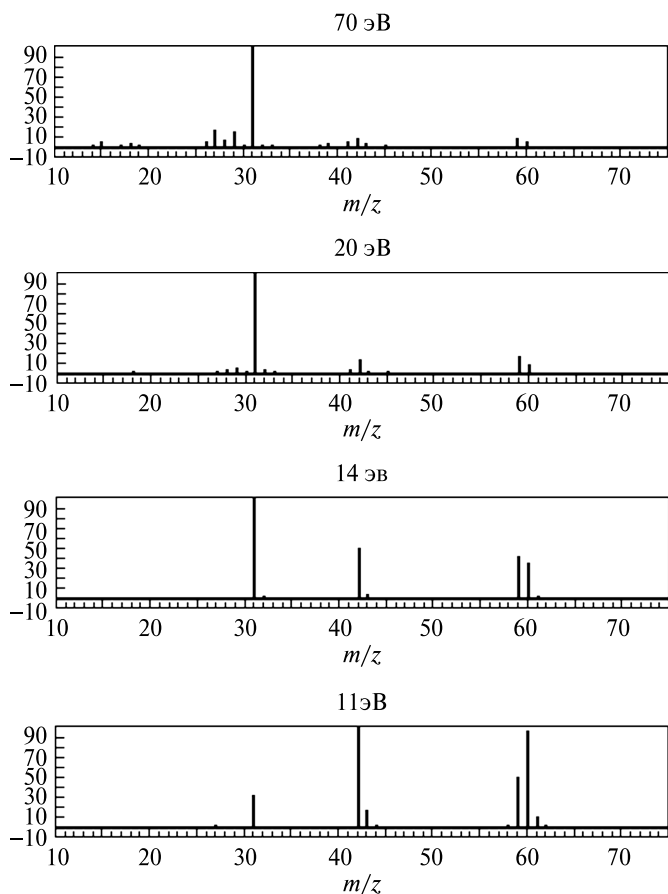


Рис. 13. Масс-спектры пропанола-1 ($M_r = 60$), регистрируемые при различных энергиях ионизирующих электронов

Однако следует учитывать, что эффективность ионизации при высоких энергиях электронов на несколько порядков больше, чем в близпороговой области.

Исследование зависимости величины ионного тока от величины энергии ионизирующих электронов свидетельствует о том, что полный ионный ток достигает максимума лишь при энергиях электронов около 50 эВ (рис. 14).

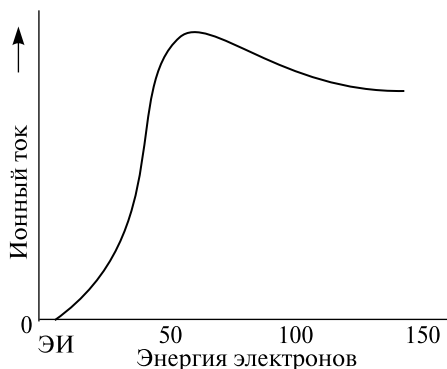


Рис. 14. Зависимость величины ионного тока от энергии ионизирующих электронов

Наряду с однозарядными в процессе ионизации образуются двух- и более зарядные ионы. Количество многозарядных ионов существенно меньше, чем однозарядных, и зависит, прежде всего, от структуры молекул образца, а также от условий эксперимента. Например, повышенным выходом многозарядных ионов характеризуются полициклические ароматические углеводороды.

В некоторых случаях, когда хотят увеличить интенсивность пика $M^{+ \cdot}$, снимают спектр, используя ионизирующие электроны с энергией 12–20 эВ. Следует подчеркнуть, что в этом случае возрастает только относительная интенсивность пика $M^{+ \cdot}$ и пиков перегруппировочных ионов по отношению к интенсивности пиков осколочных ионов, тогда как абсолютная интенсивность всех пиков в спектре падает.

Кроме того, происходит потеря определенной части информации, так как многие направления фрагментации в таких условиях не реализуются. Установлено, что при уменьшении энергии ионизирующих электронов уменьшается число и интенсивность пиков в спектре, хотя доля молекулярного иона возрастает.

Существует важный вывод, о котором следует всегда помнить: *если пик молекулярного иона отсутствует в масс-спектре, полученном при энергии ионизирующих электронов 70 эВ, его не будет и при меньшей энергии электронов.*

В этом случае следует говорить о нестабильности молекулярного иона данного соединения. Установлено, что значительное число органических соединений характеризуется нестабильными молекулярными ионами в условиях электронного удара. Это один из существенных недостатков данного метода ионизации.

Наряду с положительными ионами в условиях электронного удара образуются и отрицательные ионы (*молекулярные анион-радикалы*). К сожалению, качество спектров отрицательных ионов в этом случае оставляет желать лучшего. В частности, доминирующий пик в спектре зачастую обусловлен малоинформативным ионом (Cl^- , F^- , CN^-). Кроме того, выход отрицательных ионов значительно меньше, чем положительных. Тем не менее информация, заключенная в масс-спектрах отрицательных ионов, может служить хорошим дополнением к информации, полученной по спектрам положительных ионов.

Качество и информативность спектров отрицательных ионов можно повысить при использовании электронов с малыми (тепловыми) энергиями. Такой метод называется *методом резонансного захвата электрона* и заключается в ассоциации электрона одной из молекулярных орбиталей молекулы анализируемого образца.

Как правило, отрицательные ионы образуются в нескольких резонансных областях с энергиями электронов 0–10 эВ. Эти области могут характеризоваться разными выходами ионов и разными направлениями фрагментации молекулярных анион-радикалов. Наличие нескольких резонансных областей придает масс-спектру дополнительное измерение, поскольку одно и то же химическое соединение характеризуется несколькими масс-спектрами. Этот факт открывает хорошие перспективы по масс-спектрометрической идентификации структурно близких соединений.

Масс-спектры положительных ионов, получаемые в условиях ионизации электронами, являются очень информативными для исследования структуры органических соединений. К настоящему времени такие масс-спектры измерены для очень большого числа соединений и представлены в форме баз данных, позволяющих по любым пикам, фрагментам молекул идентифицировать анализируемое вещество.

Ионизация электронами используется для исследования веществ с молекулярными массами до 1,2 кДа, которые испаряются без разложения.

Важнейшими достоинствами метода ионизации электронами являются:

- простота экспериментальных установок;
- высокая воспроизводимость масс-спектров;
- применимость к большинству летучих веществ;
- большой объем структурной информации, заключенной в масс-спектрах;
- наличие объемных высокоэффективных баз масс-спектров, пригодных для быстрой идентификации веществ;
- высокая чувствительность;
- возможность измерения высокоточных масс ионов.

Тем не менее для анализа термолабильных, высокомолекулярных и труднолетучих соединений этот метод ионизации не пригоден.

В спектрах электронного удара многих таких веществ пик M^{+} имеет низкую интенсивность либо вообще отсутствует. Широкий разброс по энергиям ионизирующих электронов не позволяет с достаточной точностью определять характеристики молекул и ионов (энергии появления и ионизации). Работа над устранением основных недостатков ионизации электронами привела к созданию представительного ряда альтернативных методов ионизации.

1.5.2. Ионизация фотонами

На практике получить монохроматический пучок фотонов значительно проще, чем пучок электронов. Поэтому метод фотоионизации позволяет устранить разброс ионизирующих частиц по энергиям, который присущ электронному удару. В коммерческих приборах используются монохроматические пучки фотонов с разбросом энергий в диапазоне 0,01–0,02 эВ, в то время как при ионизации электронами этот разброс энергий составляет до 5 эВ.

Энергия фотонов обратно пропорциональна длине их волны. Так, энергии в 1 эВ соответствует длина волны 12395 Å.

Основными источниками фотонов для масс-спектральных исследований являются благородные газы.

Так, например, характеристики гелиевого и аргонового источников следующие:

тип He 1: $He \rightarrow He^* \rightarrow He + h\nu$, $E = 21,22 \text{ эВ}$ $\lambda = 584,3 \text{ Å}$;

тип Ar 1: $Ar \rightarrow Ar^* \rightarrow Ar + h\nu$, $E = 11,62 \text{ эВ}$ $\lambda = 1066,7 \text{ Å}$.

Поскольку энергии фотонов, излучаемых различными инертными газами в условиях тлеющего разряда, лежат в диапазоне 1–40 эВ, это позволяет ионизировать практически любые органические соединения.

Конструктивно устройство источника ионов, применяемого для фотоионизации, практически такое же, как и для ионизации электронами.

Однако принципиальной особенностью этого устройства является отсутствие в нем катода, вместо которого используется источник УФ-света (газоразрядная лампа, чаще всего водородная), дающий интенсивное излучение света с энергией фотонов в диапазоне 7–13 эВ.

Сама газоразрядная лампа, используемая для получения фотонов, располагается вне камеры ионизации. Фотоны проникают в камеру ионизации через окошко, изготовленное из фторида лития.

Поскольку энергия фотонов обычно лежит в пределах ионизации исследуемых органических молекул, регистрируемые масс-спектры похожи на низковольтные масс-спектры ионизации электронами и содержат преимущественно пики молекулярных ионов.

Существенным достоинством метода ионизации фотонами является полная передача их энергии при взаимодействии излучения с молекулами исследуемых соединений.

В настоящее время доля работ с использованием классической фотоионизации (за исключением процессов с применением лазера) невелика. Это связано с экспериментальными сложностями, незначительной фрагментацией молекулярных ионов, зависимостью фрагментации от энергии фотонов, а также необходимостью переводить анализируемый образец в газовую фазу, как и в случае электронного удара.

В последнее время для осуществления процесса фотоионизации стали использовать лазерное излучение со строго фиксированной длиной волны света.

Метод оказывается чрезвычайно полезным для установления энергетических характеристик (потенциалы ионизации и появления) исследуемых молекул, радикалов, ионов.

Чувствительность определений при использовании этого метода ионизации довольно низка.

Разновидностью этого метода является *фотохимическая ионизация при атмосферном давлении*, когда образование первичных ионов происходит под воздействием фотонов УФ-света.

Принципиальная схема источника фотохимической ионизации при атмосферном давлении приведена на рис. 15.

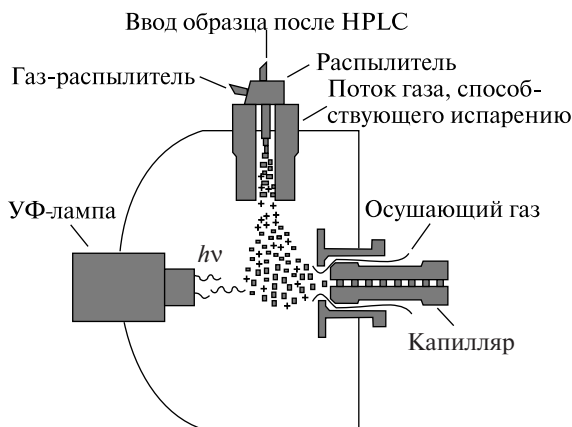


Рис. 15. Схема источника фотохимической ионизации при атмосферном давлении

При использовании криптоновой лампы испаренный исследуемый образец облучается фотонами с энергией до 10,6 эВ. Поскольку молекулы большинства используемых в жидкостной хроматографии подвижных растворителей имеют гораздо большие потенциалы ионизации, этот метод эффективен при проведении анализа веществ, потенциал ионизации которых ниже 10,6 эВ.

1.5.3. Химическая ионизация

В 1966 г. М. Мансон и Ф. Филд описали новую технику получения масс-спектра — химическую ионизацию, являющуюся в настоящее время вторым по значимости методом ионизации.

Это «мягкий» метод ионизации. Поскольку избыточная энергия молекулярных ионов в этом случае не превышает 5 эВ, то, как следствие, фрагментация оказывается весьма незначительной. Иногда спектр представляет собой только пик молекулярного иона.

Таким образом, основное достоинство этого метода ионизации заключается в его способности предоставлять информацию о молекулярной массе анализируемых соединений в тех случаях, когда электронный удар не в состоянии этого сделать.

Принципиальная схема устройства для химической ионизации приведена на рис. 16.

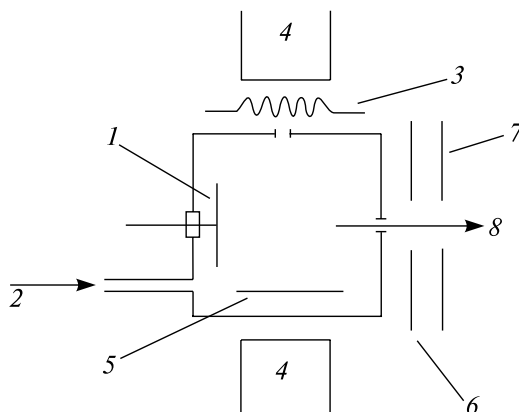


Рис. 16. Схема источника химической ионизации:

- 1 — анализируемый образец; 2 — газ-реагент; 3 — нить накала; 4 — магниты;
 5 — выталкивающий электрод; 6 — фокусирующие линзы;
 7 — ускоряющие пластины; 8 — поток исследуемых ионов

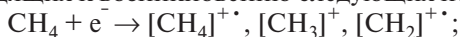
Главным отличием ионного источника при химической ионизации от источника ионизации электронами является более высокое давление в источнике ионизации, достигающее до 0,1 кПа, которое создается за счет присутствия в источнике ионизации так называемого газа-реагента. В качестве такого газа-реагента может служить практически любое летучее вещество — гелий, вода, метан, аммиак, сероуглерод, бензол, этилендиамин, изобутан.

Желательно, но не строго обязательно, чтобы этот газ-реагент был способен образовывать при взаимодействии с электронами или в результате протекания различных ионно-молекулярных реакций один или несколько ионов с высокой реакционной способностью.

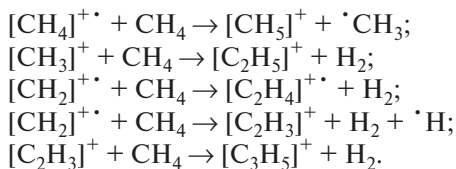
Само анализируемое соединение вносится в источник ионизации, как и в случае электронного удара, в микроколичествах с парциальным давлением на уровне 10^{-6} кПа.

Процесс химической ионизации осуществляется в основном в результате следующих ионно-молекулярных реакций:

- сначала в источнике ионизации, содержащем используемый газ-реагент, при ионизации электронами с энергией 70—200 эВ создается плазма с преобладанием в ее составе каких-либо *первичных ионов*, которые называются *ионами-реагентами*. Например, при использовании в качестве газа-реагента метана в источнике ионизации возможно протекание превращений, приводящих к возникновению следующих ионов:



• при увеличении давления в источнике ионизации происходят столкновения между первичными ионами и нейтральными молекулами газа-реагента и могут образовываться следующие *вторичные ионы*:



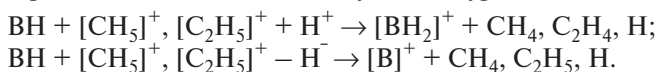
При давлении 0,1 кПа плазма газа-реагента на 95 % состоит из ионов $[\text{CH}_5]^+$, $[\text{C}_2\text{H}_5]^+$ и $[\text{C}_3\text{H}_5]^+$. Именно эти частицы и являются основными ионами-реагентами химической ионизации метаном.

Если в условиях электронного удара образующиеся ионы не претерпевают столкновений с молекулами анализируемых соединений в связи с высоким вакуумом в источнике ионизации, то в случае химической ионизации такие столкновения оказываются неизбежными.

Таким образом, при введении в плазму газа-реагента даже 0,1 % исследуемого вещества уже могут протекать ионно-молекулярные реакции с участием молекул исследуемого образца и вторичных ионов.

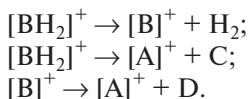
Так, например, в плазме газа-реагента метана, в которой присутствуют ионы метония $[\text{CH}_5]^+$, являющиеся наиболее сильными донорами протона, может происходить процесс переноса протона от вторичного иона на молекулу исследуемого соединения, а также процесс отщепления гидрид-иона от молекулы исследуемого соединения и его перенос на вторичный ион.

Эти процессы описываются следующими уравнениями:



Образовавшиеся ионы $[\text{ВН}_2]^+$ являются *протонированными молекулами* и называются также *псевдомолекулярными ионами*. Ионы $[\text{В}]^+$ получили название *квазимолекулярных ионов*.

Оба этих типа ионов могут претерпевать дальнейший распад в соответствии с уравнениями:



Вероятность протонирования молекулы исследуемого соединения зависит от величины ее сродства к протону и сродства к протону используемого газа-реагента. Установлено, что чем выше сродство к протону молекулы исследуемого соединения, тем больше вероятность протекания реакции ее протонирования.

При использовании в качестве газа-реагента изобутана ионом-реагентом выступает трет-бутилкатион, который образуется при отщеплении атома водорода от молекулярного иона.

Среди других достаточно часто используемых газов-реагентов можно выделить воду и аммиак. Тогда в первом случае ионом-реагентом является H_3O^+ , а во втором — NH_4^+ .

В качестве газа-реагента используется и водород, причем образование иона-реагента H_3^+ было впервые описано А. Демпстером еще в 1916 г.

Хорошие результаты получены при использовании в качестве газа-реагента диметилового эфира. Основным ионом-реагентом в этом случае служит катион $\text{CH}_3\text{OCH}_2^+$, при взаимодействии которого с молекулой анализируемого вещества возможно образование следующих трех продуктов: $[\text{M} + \text{CH}_3\text{OCH}_2]^+$, $[\text{M} + \text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}]^+$, $[\text{M} + \text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}]^+$.

Интенсивности пиков этих ионов зависят от структуры соединений, включая тонкие стереохимические различия.

Химическая ионизация диметиловым эфиром позволяет различать дизамещенные изомерные бензолы, определять длину цепочки полиэтиленгликолей.

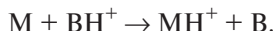
Триметилборат в качестве газа-реагента приводит к возникновению реакционно способного иона-реагента $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{B}^+$, с помощью которого удастся различать изомерные диолы и полиолы, получать структурную информацию об амидах.

Полезный ион-реагент $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2^+$ образуется при использовании в качестве газа-реагента 2-метоксиэтанола. Хорошие результаты получены при его использовании для анализа нуклеозидных антибиотиков.

Ионом-реагентом при использовании ацетофенона или его замещенных аналогов служит ароил-катион. Его можно с успехом использовать для анализа гидроксилсодержащих соединений (например, метаболитов).

Реакции между ионами-реагентами и молекулами анализируемого образца можно разделить на следующих четыре типа: *протонирования, перезарядки, электрофильного присоединения, отрыва аниона.*

Реакция протонирования исследуемого соединения М описывается уравнением



Способность или неспособность иона реагента BH^+ протонировать молекулу образца легко установить при сравнении количественных характеристик сродства к протону соединений В и М. Если сродство к протону вещества М больше сродства к протону вещества В, идет реакция протонирования М.

Чем больше разность в величинах сродства к протону (СП) веществ М и В, тем большей избыточной энергией будет обладать протонированный молекулярный ион MH^+ :

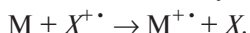
$$E = \text{СП}(M) - \text{СП}(B).$$

Величины сродства к протону наиболее часто используемых газов-реактивов лежат в диапазоне от 423 кДж/моль для водорода до 936 кДж/моль для этилендиамина. Следовательно, при использовании водорода в качестве газа-реагента уровень фрагментации будет максимальным, а при использовании этилендиамина — минимальным.

Следует подчеркнуть, что в результате реакций этого типа образуются четноэлектронные ионы.

Для газов-реактивов, не содержащих доступных атомов водорода, важнейшей альтернативой переносу протона становится перенос электрона, т. е. *процесс перезарядки*.

Процесс перезарядки описывается следующим уравнением:



Избыточная внутренняя энергия образующегося молекулярного иона рассчитывается по уравнению

$$E = \text{ЭР}(X^{+\cdot}) - \text{ЭИ}(M),$$

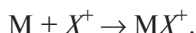
где ЭР — энергия рекомбинации, а ЭИ — энергия ионизации.

Вновь, как и в случае протонирования, чем меньше разность между этими двумя величинами в приведенном уравнении, тем меньшей избыточной энергией будет обладать молекулярный ион.

С учетом, что энергия ионизации большинства органических молекул лежит в диапазоне 6—12 эВ, а энергии рекомбинации типичных газов-реактивов — в диапазоне от 9,2 эВ (бензол) до 24,6 эВ (гелий), можно подобрать такой газ-реагент, чтобы образующийся молекулярный ион обладал необходимой для каждого конкретного случая энергией.

Таким образом, реакция перезарядки позволяет получать нечетноэлектронные молекулярные ионы, аналогичные образующимся при электронном ударе, но уже с заданной внутренней энергией.

Реакция электрофильного присоединения описывается уравнением

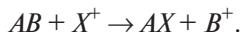


Так, если исследуемая молекула имеет достаточно высокую величину сродства к протону, она протонируется ионом аммония, если же она является слабым основанием с низким сродством к протону, в результате присоединения иона аммония возникает стабильный комплекс, причем электроны для его образования предоставляются гетероатомами или центрами ненасыщенности в молекуле.

Наиболее наглядным примером этой реакции является образование интенсивных пиков ионов $[M+NH_4]^+$ широким кругом органических соединений при использовании в качестве газа-реактанта аммиака.

Аналогичные аддукты образуются и при использовании других газов-реактентов: для ионизации метаном характерны ионы $[M+C_2H_5]^+$ и $[M+C_3H_5]^+$, для ионизации монооксидом азота — ионы $[M+NO]^+$.

Реакция отрыва аниона описывается уравнением



Этот процесс характерен для взаимодействия молекул, обладающих низкой величиной сродства к протону, с протонирующими реагентами или для реагентов перезарядки с образцами, для которых перенос заряда является эндотермическим процессом.

Примером служит образование ионов $[MH]^+$ при ионизации метаном алифатических углеводородов.

Большинство ионов реагентов способно участвовать более чем в одной из указанных реакций. Выше уже упоминался ион аммония. Аналогично ион NO^+ может вести себя и как реагент перезарядки, и как реагент отрыва аниона, и как электрофильная частица.

Иногда желаемый эффект достигается при использовании смеси газов-реагентов. Так, применение влажного аргона приводит к образованию ионов реагентов Ar^{++} и H_3O^+ . Первый вызывает перезарядку с последующей интенсивной фрагментацией, а второй действует как мягкий протонирующий агент, генерируя стабильные ионы MH^+ .

Химическая ионизация обычно используется для получения интенсивных пиков молекулярных ионов.

Масс-спектры три-*n*-бутиламина ($M_r = 185$), записанные в условиях электронной и химической ионизации, приведены на рис. 17.

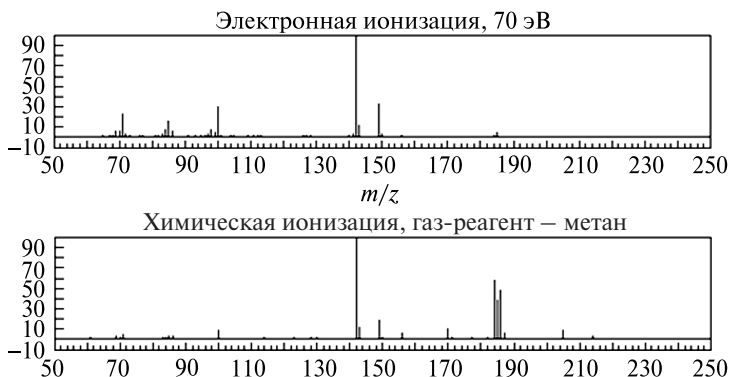


Рис. 17. Масс-спектры три-*n*-бутиламина ($M_r = 185$), полученные в условиях ионизации электронами и химической ионизации

Недостатком метода химической ионизации является, как и в случае электронного удара, необходимость перевода образца в газовую фазу, что не позволяет анализировать малолетучие и термолабильные соединения.

Для получения структурной информации в условиях химической ионизации очень удобно использовать *тандемную масс-спектрометрию* с активацией соударением.

Еще одно направление использования химической ионизации — это изучение Н/D-обмена. Таким образом можно сосчитать число активных атомов водорода в молекулах анализируемых образцов. В качестве газов-реагентов используются CH_3OD , D_2O , ND_3 . Помимо подсчета активных атомов водорода *метод иногда позволяет различать изомеры*, а также генерировать в газовой фазе изотопные аналоги, меченные по определенным положениям.

Очень эффективными ионами-реагентами оказались катионы металлов. Впервые об использовании для масс-спектрометрического анализа катионов щелочных металлов было заявлено в 1976 г. Следует упомянуть использование ионов железа Fe^+ для установления положения кратных связей в алкенах, алкинах и кислотах, а также катионов меди Cu^+ для анализа карбонилсодержащих соединений.

Наиболее важные достоинства метода химической ионизации:

- наличие пиков протонированных молекул, пригодных для определения молекулярной массы;

- простота спектров;
- малое число пиков осколочных ионов;
- достаточно высокая чувствительность.

Недостатки метода химической ионизации:

- сильная зависимость спектров от природы образца и газа-реагента;
- применимость только к летучим и термически устойчивым веществам;
- ограниченная информативность получаемых масс-спектров;
- отсутствие универсальных баз данных масс-спектров.

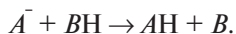
Химическая ионизация отрицательных ионов. В стандартных условиях химической ионизации в ионизационной камере присутствуют низкоэнергетичные тепловые электроны, а из молекулы газа-реагента помимо положительных ионов образуются также и отрицательные ионы.

Молекулы исследуемого образца могут захватывать электроны с образованием анион-радикалов (резонансный захват электронов) или вступать во взаимодействие с ионами-реагентами.

При взаимодействии молекул исследуемых соединений с ионами-реагентами могут протекать следующие типы ионно-молекулярных реакций:

- депротонирования;
- перезарядки;
- нуклеофильного присоединения;
- нуклеофильного замещения.

Реакции депротонирования описываются уравнением



Этот процесс, как и для положительных ионов, контролируется величинами сродства к протону. Если величина сродства к протону иона реагента A^- выше, чем иона B^- , реакция оказывается экзотермичной, и процесс идет.

Величины сродства к протону наиболее часто используемых ионов-реагентов лежат в диапазоне от 1689 кДж/моль для NH_2^- до 1395 кДж/моль для Cl^- . Сильное основание NH_2^- будет депротонировать практически любое органическое соединение, тогда как мягкий ион Cl^- реагирует с весьма ограниченным кругом субстратов.

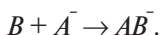
Процесс перезарядки может протекать в том случае, если величина сродства к электрону анализируемой молекулы выше, чем молекулы газа-реагента:



Например, молекула кислорода характеризуется низкой величиной сродства к электрону. Реагируя с органическими субстратами, ион $O_2^{\cdot-}$ приводит к образованию в результате перезарядки молекулярных анион-радикалов.

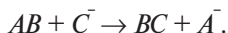
Перезарядка может вести и к потере характеристических ионов. В частности, если в ионном источнике в результате какого-либо процесса образуются атомы фтора, обладающие очень высоким сродством к электрону, они могут, реагируя с анион-радикалами образца, превращать последние в нейтральные частицы.

Реакции нуклеофильного присоединения будут иметь место в тех случаях, когда анионы-реагенты с низкой величиной сродства к протону могут реагировать с молекулами исследуемых соединений с образованием стабильных аддуктов:



Один из наиболее активных в этом отношении ионов-реагентов Cl^- . В результате нуклеофильного присоединения он образует комплексы с широким кругом органических молекул.

Реакции нуклеофильного замещения могут наблюдаться по той причине, что любое основание является одновременно нуклеофилом, т. е. наряду с атакой на атом водорода возможна атака и на атом углерода:



Наиболее активно вступают в реакцию нуклеофильного замещения ионы OH^- и $O_2^{\cdot-}$. Последний столь активный нуклеофил, что может вытеснять атом водорода из ароматических соединений.

Пульсирующая химическая ионизация. Этот метод позволяет одновременно получать масс-спектры химической ионизации положительных и отрицательных ионов. Два вида спектров удачно дополняют друг друга, что важно и для целей структурного определения, и для количественных расчетов, поскольку пределы обнаружения для разных соединений зависят от заряда ионов.

Метод успешно используется на квадрупольных приборах, поскольку анализатор этого типа легко пропускает и катионы, и анионы. Для магнитных секторных приборов такой вариант неприемлем.

В данном режиме полярность вытягивающего потенциала переключается со скоростью примерно 10 000 раз в секунду, поэтому ионы сгруппированы в «пакеты» с чередованием положительных и отрицательных. После прохождения анализатора положительные ионы направляются на один детектор, а отрицательные — на другой. Происходит регистрация сразу двух типов спектров.

Важным моментом является природа газа-реактанта, который должен «работать» в обоих режимах. Например, хорошим вариантом является смесь метана с монооксидом азота, в которой роль основных ионов-реактентов выполняют CH_5^+ и OH^- .

Десорбционная (прямая) химическая ионизация. Скорости испарения и деструкции органических веществ имеют разные температурные зависимости. Установлено, что при низких температурах предпочтительна деструкция исследуемых соединений, а при высоких температурах — их испарение.

Типичный характер изменения логарифмов скоростей процессов испарения и деструкции органических соединений от температуры приведен на рис. 18.

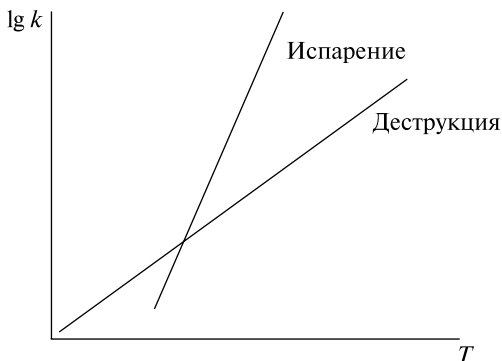


Рис. 18. Зависимость скоростей испарения и деструкции от температуры образца

Следовательно, испарение труднолетучего вещества можно осуществить при его быстром нагревании до такой температуры, при которой испарение осуществляется наиболее эффективно.

В настоящее время для прямой химической ионизации используют обогреваемые электрические эмиттеры. Очень хорошо зарекомендовали себя эмиттеры полевой ионизации, но поскольку они сложны в изготовлении, обычно используется вольфрамовая, ренийевая или платиновая проволока диаметром 50–200 мкм.

Для увеличения выхода молекулярных ионов проволока покрывается нанесенным с помощью электрофореза полиимидным слоем. После снятия спектра для повторного использования эмиттера желательна его термическая обработка. Как правило, эмиттеры с полиимидным слоем могут быть использованы для исследования не более чем 10 образцов.

Метод десорбционной химической ионизации используется для анализа термолабильных и нелетучих соединений: сахаров, пептидов, солей, кислот. Масс-спектр представляет собой интенсивный пик молекулярного иона и ряд пиков фрагментных ионов, часть из которых может быть обусловлена не фрагментацией молекулярного иона, а термодеструкцией исходной молекулы.

Зачастую десорбционную химическую ионизацию используют для увеличения выхода молекулярных ионов. В этом случае полезно несколько повысить давление в ионизационной камере за счет газа-реагента. Некоторое снижение абсолютной чувствительности компенсируется определенным подавлением фрагментации.

Очень важную роль играет газ-реагент. Так, фрагментация аскорбиновой кислоты при использовании метана интенсивнее, чем при использовании аммиака (ионы $[M + NH_4]^+$). Еще лучшие результаты получаются при применении анионов Cl^- . В этом случае спектр представлен исключительно пиками иона $[M + Cl]^-$. Таким образом, для снижения фрагментации предпочтительно использовать «мягкие» ионы-реагенты (NH_4^+ , Cl^- , OH^-).

Для каждого вещества существует оптимальная температура регистрации спектра. По этой причине сначала анализируемое неизвестное соединение нагревают со скоростью 10 град./мин, и затем находят оптимальное значение температуры испарения. При повторном определении резко нагревают исследуемое вещество до этой температуры.

Существенным недостатком метода является быстрое ухудшение качества масс-спектра во времени. Это связано с процессами термодеструкции, которые все-таки идут с заметной скоростью. Некоторого улучшения можно добиться при быстрой развертке спектра.

Химическая ионизация при атмосферном давлении. Экспериментально этот способ ионизации позволяет ионизировать молекулы исследуемых соединений вне вакуумной системы масс-спектрометра при атмосферном давлении в среде азота или аргона.

Принципиальная схема источника ионизации приведена на рис. 19.

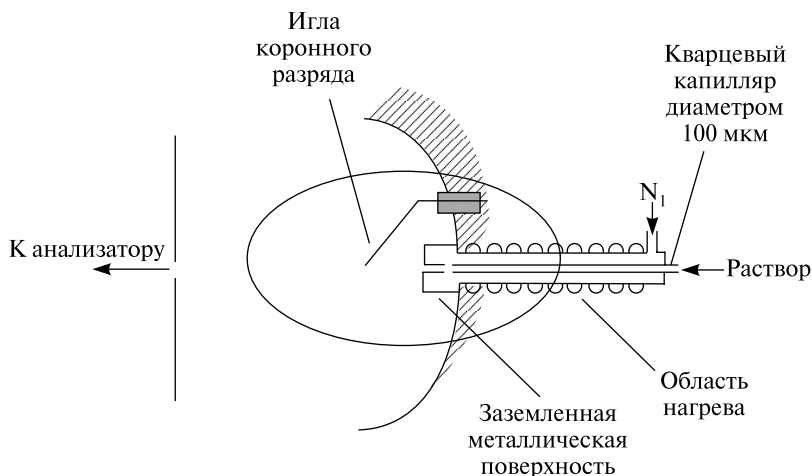


Рис. 19. Схема источника химической ионизации при атмосферном давлении

В качестве источника ионизирующего излучения используется или коронный разряд, или источник β -частиц ^{62}Ni .

Образующиеся ионы через узкую диафрагму поступают в аналитическую часть масс-спектрометра.

В общем случае масс-спектры, полученные этим методом, близки к спектрам, регистрируемым при химической ионизации.

Другой вариант этого метода заключается в том, что ионизации подвергается распыленный раствор анализируемого образца, выходящего из хроматографической колонки жидкостного хроматографа.

При этом исследуемый раствор через тонкую трубку подается в устройство, где он распыляется до туманообразного состояния, смешивается с воздухом или азотом и с большой скоростью поступает в высокотемпературную зону, в которой происходит испарение используемого для хроматографического разделения подвижного растворителя, а анализируемые вещества переходят в газообразное состояние.

Образовавшийся газ поступает в область ионизации, причем пары растворителя выступают в качестве газа-реагента. По механизму химической ионизации происходит взаимодействие образующихся ионов с молекулами исследуемого образца, что приводит к их протонированию или

отщеплению от них протона. В этих условиях возможен и захват электронов с образованием отрицательных ионов.

На выходе из источника ионов расположен ряд последовательных сепараторов с узкими входными отверстиями. Здесь происходит откачка легких молекул для снижения избыточного давления. В результате в анализатор, работающий в условиях глубокого вакуума, поступают в основном ионы анализируемого вещества.

Метод хорошо зарекомендовал себя для анализа небольших, как полярных, так и неполярных, молекул (< 1200 Да).

Для анализа веществ с более высоким потенциалом ионизации используются специальные фотоионизируемые присадки, которые передают заряд молекулам исследуемых соединений.

Основным достоинством метода является высокая чувствительность.

1.5.4. Полевая ионизация

Еще один метод получения интенсивного пика молекулярного иона — полевая ионизация.

Ионный источник состоит из двух главных элементов — анода (эмиттера) и катода, разность потенциалов между которыми составляет порядка 10 кВ. Эмиттер представляет собой ренийевую или вольфрамовую проволоку, поверхность которой покрыта большим количеством микроигл из пиролитического углерода с радиусом кривизны около 10^{-5} см (рис. 20).

В простейшем случае эмиттером могут служить острие иглы или лезвие бритвы. Оба электрода располагаются настолько близко друг к другу, что достигается градиент потенциала порядка 10^8 В/см.

Молекула образца, находящаяся в газовой фазе, оказываясь в непосредственной близости от эмиттера, подвергается воздействию этого поля.

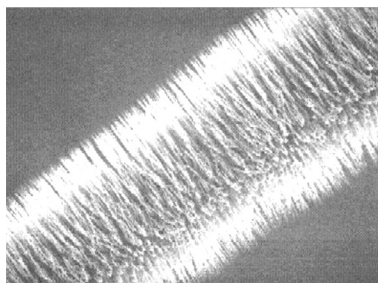


Рис. 20. Проволочный эмиттер, покрытый слоем микроигл

Основным механизмом ионизации служит туннельный переход электрона из молекулы органического соединения на эмиттер. Энергия, переносимая в результате такого процесса, составляет доли электронвольта, т. е. избыточная энергия молекулярного иона $M^{+\bullet}$ значительно ниже, чем даже в условиях химической ионизации. Кроме того, другие электроны ионизирующейся молекулы не возбуждаются, и $M^{+\bullet}$ оказывается в основном (невозбужденном) электронном состоянии.

Высокий положительный потенциал эмиттера резко выталкивает образовавшийся катион из источника. Среднее время присутствия $M^{+\bullet}$ в источнике полевой ионизации составляет 10^{-12} с, тогда как в случае электронного удара это время составляет 10^{-6} с. В результате этого даже возможные низкоэнергетические процессы фрагментации не успевают реализоваться в полной мере, и *спектр зачастую представляет собой единственный пик, принадлежащий молекулярному иону*.

Полевая ионизация, являясь наиболее мягким методом, в то же время не устраняет недостатка химической ионизации и электронного удара, связанного с необходимостью перевода образца в газовую фазу. Для его преодоления была предложена модификация метода, получившая широкое признание и названная полевой десорбцией.

1.5.5. Полевая десорбция

Единственное, но принципиальное отличие полевой десорбции от полевой ионизации — это нанесение раствора образца непосредственно на эмиттер, который также изготавливается из ренийевой или вольфрамовой проволоки, покрытой большим числом микроигл из пиролитического углерода. Образец наносится на эмиттер путем упаривания анализируемого раствора. После испарения растворителя эмиттер помещается в источник ионов. Эмиттер может подогреваться во время анализа. Благодаря высокому градиенту потенциала (10^7 – 10^8 В/см) на микроиглах в результате туннельного перехода происходит ионизации молекул. В результате туннелирования электрона из молекулы образца ион образуется непосредственно в конденсированной фазе.

Поскольку энергия десорбции иона с поверхности одноименно заряженного эмиттера значительно ниже, чем энергия десорбции исходной нейтральной молекулы, ион переходит в газовую фазу.

Принципиальная схема источника ионизации при полевой десорбции приведена на рис. 21.

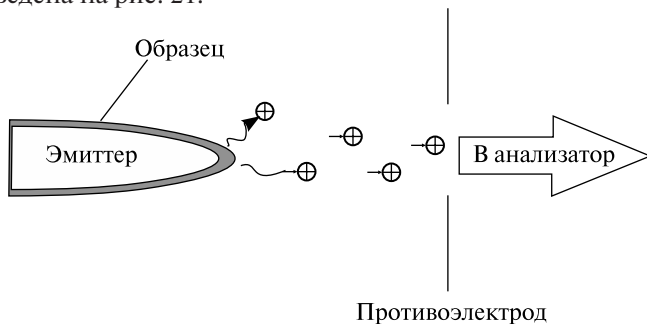


Рис. 21. Принципиальная схема источника ионизации полевой десорбцией

В отличие от полевой ионизации здесь образуются в основном четно-электронные протонированные молекулярные ионы MH^+ . Добавка к анализируемому образцу кислот или неорганических солей облегчает процесс ионизации с образованием ионов MH^+ и $[M + \text{катион}]^+$. В этом случае, поскольку ионы присутствуют уже в конденсированной фазе, для их извлечения требуется меньший потенциал (около 10^{-2} В/Å).

Определенные проблемы полевой десорбции (как и полевой ионизации) связаны с изготовлением эмиттеров и нанесением на них образца. Тонкие углеродные иглы обычно наносят на эмиттер пиролизом бензонитрила в специальной камере. Длинные иглы требуют тщательного изготовления, а короткие затрудняют нанесение образца. Спектры часто получаются неинтенсивными.

Для преодоления этого недостатка используется многократное сканирование внутри узкого интервала масс с последующим интегрированием. В результате устраняется нестабильность спектра и улучшается отношение сигнал / шум.

Следует отметить, что с увеличением разности потенциалов между эмиттером и катодом может возрастать фрагментация молекул, что приводит к искажению результатов.

1.5.6. Плазменная десорбционная масс-спектрометрия

В основе метода десорбции плазмой лежит принцип сверхбыстрого нагрева образца для предотвращения его разложения перед испарением и ионизацией.

Анализируемое вещество помещают на никелевую или алюминизированную нейлоновую фольгу, которую с обратной стороны облучают продуктами самопроизвольного распада ядер ^{252}Cf (например, ^{142}Ba и ^{106}Tc).

Многочисленные продукты деления изотопа ^{252}Cf обладают энергиями в сотни мегаэлектронвольт. Когда они проходят через металлическую фольгу, на которую нанесен анализируемый образец, создается быстрый локальный разогрев (до 10 000 К).

В результате наблюдается процесс, аналогичный десорбционной химической ионизации, при котором скорость десорбции (испарения) органических молекул оказывается выше скорости их разложения.

Метод десорбции плазмой позволяет получать ионы, обусловленные присоединением протона к молекуле либо отщепления от нее в результате ионно-молекулярных реакций или образования ионных пар. Дальнейший распад образующихся ионов минимален.

Метод характеризуется очень высокой чувствительностью и позволяет получать спектры полярных соединений. Этим методом можно определять массы молекул около $10^4 - 10^5$ Да. *Однако в связи с низкими ионными токами, он может использоваться только с времяпролетным анализатором в импульсном режиме.*

Еще одним недостатком является необходимость работы с радиоактивными продуктами распада. Эти ограничения не позволили плазменной десорбции успешно конкурировать с другими методами анализа подобных соединений.

1.5.7. Лазерная десорбционная масс-спектрометрия

Еще один метод анализа нелетучих больших молекул органических соединений — это лазерная десорбция/ионизация.

В первых работах облучались чистые образцы, однако имея большие ограничения, этот метод был вытеснен методом десорбции/ионизации лазером образцов, растворенных или диспергированных в матрице. В простейшем случае разбавленный раствор исследуемого образца смешивается с разбавленным раствором матрицы, причем массовое соотношение образца и матрицы варьируется в диапазоне от 1 : 100 до 1 : 50 000.

Матрицу обычно подбирают по ее способности поглощать лазерную энергию, которая затем передается молекулам исследуемого образца, не разлагая их.

Индивидуальные соединения, использующиеся как наиболее распространенные матрицы, приведены на рис. 22.

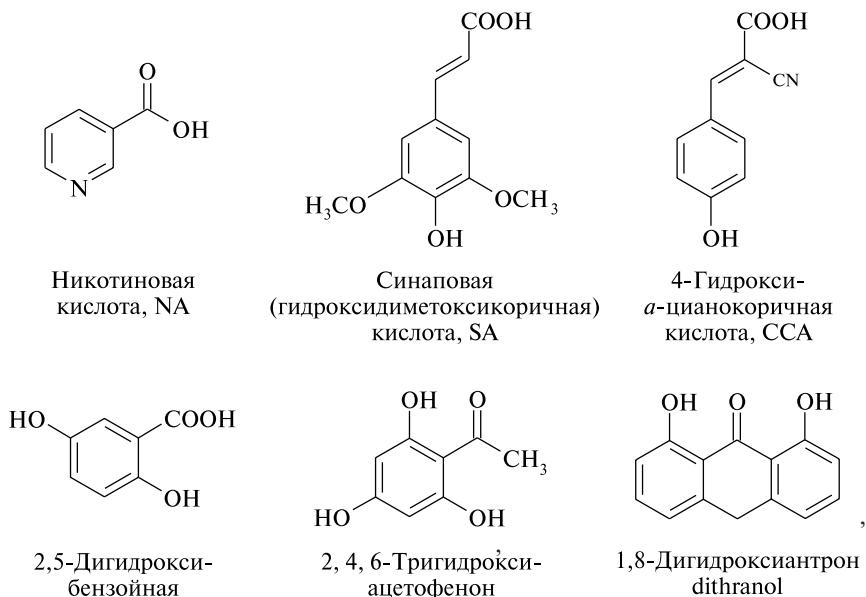


Рис. 22. Наиболее распространенные матрицы
(с указанием общепринятых сокращений названий)

Матрица и образец перед смешением растворяются в совместимых растворителях. При этом важным является подбор оптимальных соотношений образца и матрицы и выполнение следующих требований, предъявляемых к растворителю и матрице:

- растворитель должен хорошо распределять молекулы образца, чтобы исключить возможность взаимодействий между ними;
- матрица должна сохранять молекулы образца в изолированном состоянии;
- матрица должна поглощать энергию, подающуюся на образец (обычно это излучение с длиной волны 337 нм);
- матрица должна обеспечить расход энергии лазера на перевод анализируемых молекул в газовую фазу;
- матрица должна обеспечивать протекание процесса ионизации молекул исследуемых соединений.

Один из методов приготовления образцов предполагает растворение анализируемого образца в подходящем растворителе и последующее смешение полученного раствора с более концентрированным раствором матрицы в этом же растворителе. Полученная смесь наносится на мишень, и растворитель испаряется.

По другому варианту на мишень сначала наносится раствор матрицы и высушивается. Затем на полученную твердую поверхность наносится раствор анализируемого образца и также высушивается.

В обоих случаях рекомендуется использовать распыление растворов на мишень.

Принципиальная схема устройства источника ионизации для лазерной десорбционной масс-спектропии приведена на рис. 23.

Мишень вводится в ионный источник масс-спектрометра и облучается импульсным лазером, азотным лазером с длиной волны излучения 337 нм или Nd : YAG-лазером с длинами волн излучения 254 или 266 нм. Продолжительность импульса составляет менее 10 нс.

Если для ионизации используется УФ-лазер, молекулы исследуемого образца становятся электронно-возбужденными и ионизируются. При применении ИК-лазера происходит колебательное возбуждение, сопровождающееся ионизацией. Все образующиеся ионы затем переносятся в масс-анализатор.

Механизм ионизации молекул исследуемых соединений этим методом изучен еще не достаточно. Считается, что он во многом сродни десорбционной химической ионизации и плазменной десорбции и связан с испарением и ионизацией вещества в результате быстрого локального нагрева, когда скорость десорбции превосходит скорость деструкции.

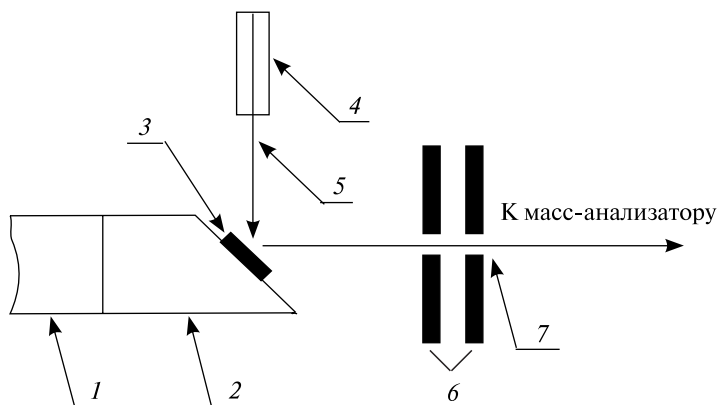


Рис. 23. Схема устройства источника ионизации

для лазерной десорбционной масс-спектропии:

- 1 – шток; 2 – медный наконечник (мишень); 3 – анализируемый образец; 4 – лазер;
5 – световой импульс; 6 – система фокусировки и ускорения ионов;
7 – пучок ионов анализируемого образца

Исходят из того, что короткий световой импульс лазера поглощается молекулами матрицы и разрушает ее кристаллическую структуру. Часть молекул матрицы отрывается от поверхности и образует зону высокотемпературного суперплотного газа (зона шлейфа), в котором помимо молекул, ионов и ассоциатов матрицы присутствуют и молекулы исследуемого соединения (рис. 24).

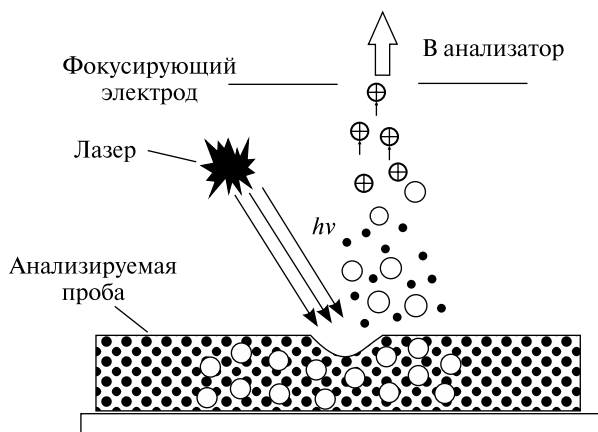


Рис. 24. Схема ионизации молекул исследуемых соединений

в условиях ионизации лазерной десорбцией при содействии матрицы

В этих условиях, поскольку энергия лазера поглощается матрицей, молекулы исследуемого образца оказываются в газовой фазе, в зоне шлейфа, практически без приращения внутренней энергии, т. е. с сохранением своей исходной структуры.

Установлено, что в процессе облучения лазером происходит присоединение протона или катиона металла к молекуле и образуются положительно заряженные ионы. Источником протонов служит сама матрица, вернее, протон ее карбоксильной группы. Возможно также и отщепление протона от молекулы исследуемого соединения, в результате чего образуются отрицательные ионы.

Метод высокочувствительный, экспрессный и прост в управлении используемым оборудованием. Является «мягким», и ионизированные молекулы почти не распадаются далее, в результате чего регистрируются исключительно простые масс-спектры.

Неудобство заключается в том, что всякий раз необходимо подбирать подходящую матрицу.

Основной недостаток, как и при плазменной десорбции, — необходимость использования времяпролетных приборов, поскольку масс-спектрометры других типов плохо сочетаются с импульсным лазером.

1.5.8. Бомбардировка быстрыми атомами. Вторично-ионная масс-спектрометрия

Этот метод ионизации также использует принцип бомбардировки образца энергетическими частицами.

Пучок ускоренных атомов (обычно благородные газы) направляется на раствор вещества, нанесенный на металлическую подложку, расположенную на конце штока прямого ввода. Взаимодействуя с веществом, атомы создают интенсивный локальный разогрев, в результате чего молекулы поверхностных слоев отрываются в виде плотного газа, содержащего положительные и отрицательные ионы, а также нейтральные частицы, которые также могут ионизироваться непосредственно над поверхностью образца.

Принципиальная схема используемого для этого устройства приведена на рис. 25.

Для получения пучка атомов применяется «атомная пушка». Сначала получают ионы благородного газа, которые далее ускоряются потенциалом 6—8 кВ.

Разогнанные ионы взаимодействуют с атомами газа путем переноса заряда. Этот процесс протекает без заметного изменения кинетической энергии. Непрореагировавшие ионы отклоняются специальной линзой,



Рис. 25. Схема устройства источника ионизации быстрыми атомами

а образовавшиеся в результате перезарядки ускоренные атомы с энергией 6–8 кэВ направляются под углом $60\text{--}70^\circ$ на поверхность образца.

На выход ионов анализируемого образца существенно влияет масса разогнанных частиц первичного пучка. Например, пучок атомов Хе эффективнее, чем Ag и тем более Ne.

Если на шток нанесено сухое вещество, то через короткий промежуток времени наблюдается резкое падение интенсивности пучка генерируемых ионов, так как разрушается поверхностный слой кристаллической решетки вещества.

По этой причине чаще всего используют растворенный образец. Диффузия в жидкой матрице протекает достаточно быстро для того, чтобы обеспечить постоянную концентрацию молекул образца на поверхности. В этом случае пучки ионов образца необходимой интенсивности могут генерироваться в течение длительного времени (20 и более минут).

В качестве растворителя (матрицы) может использоваться широкий круг нелетучих соединений. Среди них наиболее распространен глицерин. Температурный диапазон работы с глицерином составляет от -20 до $+40^\circ\text{C}$ при оптимальной температуре 25°C . Вторым соединением по частоте использования в качестве матрицы является *м*-нитробензиловый спирт.

Важно, чтобы образец был именно растворен в матрице. Если равномерного растворения нет, качество спектров значительно ухудшается. Помочь может добавление солюбилизаторов.

Метод бомбардировки быстрыми атомами — модификация вторично-ионной масс-спектрометрии, которая заключается в бомбардиров-

ке образца разогнанными ионами, например Cs^+ . Попытки анализировать органические соединения хотя и позволили получить спектры ряда труднолетучих веществ, но не привели к серьезным успехам. Причина заключалась в том, что анализу подвергалось сухое вещество, а быстрое деформирование поверхности его кристаллической решетки приводило к получению некачественных масс-спектров.

Когда после успешного применения бомбардировки быстрыми атомами провели эксперименты по бомбардировке растворенного образца ионами, спектры оказались не хуже, чем при бомбардировке атомами. В частности, ионы Cs^+ с энергией 6 кэВ и атомы Хе с энергией 8 кэВ позволяют получать идентичные спектры.

Хотя важнейшим достоинством бомбардировки быстрыми атомами является возможность получать масс-спектры соединений с массами в несколько тысяч дальтон, это не мягкий метод ионизации типа полевой десорбции. Бомбардировка образца быстрыми атомами обеспечивает передачу молекулам энергии в широком диапазоне. *В результате, наряду с пиками молекулярных ионов, в спектре наблюдаются интенсивные пики осколочных ионов, что позволяет в ряде случаев не прибегать к активации соударением для изучения фрагментации и структуры анализируемых молекул.*

В качестве иллюстрации на рис. 26 приведен масс-спектр аминифульвенальдимины.

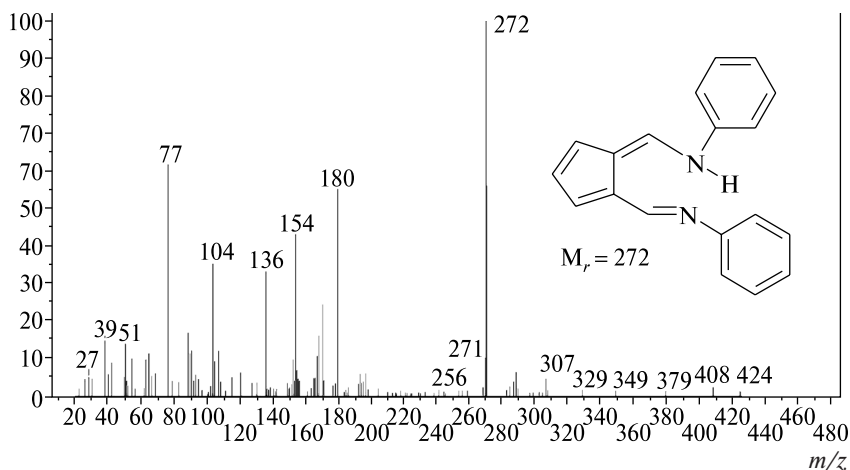


Рис. 26. Масс-спектр аминифульвенальдимины

Следует отметить принципиальное сходство спектров бомбардировки быстрыми атомами и химической ионизации. Оба вида характеризуются четноэлектронными ионами типа $[M + H]^+$ и $[M - H]^-$, но не $M^{+\cdot}$ и $M^{-\cdot}$. Отчасти это является результатом ионно-молекулярных реакций, протекающих в плазме над поверхностью образца, частично перенос протона идет еще в жидкой матрице.

В качестве примера на рис. 27 приведен масс-спектр тетраметил-тилпорфирина.

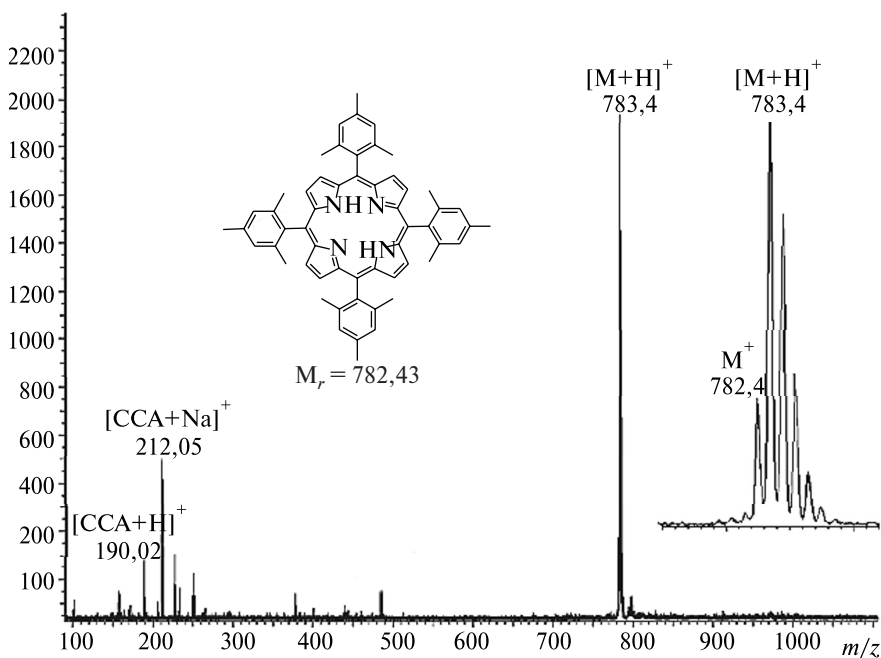


Рис. 27. Масс-спектр тетраметилтилпорфирина (матрица CCA)

Использование в качестве растворителя материалов с большей основностью приводит к образованию ионов $[M + \text{матрица}]^+$.

Качество спектров можно повышать добавками, вызывающими образование ионов непосредственно в жидкой фазе. Добавки кислот приводят к увеличению интенсивности пиков в спектрах положительных ионов соединений с центрами основности, а добавки щелочей используются для увеличения выхода отрицательных ионов в спектрах соединений с кислотными группами.

Иногда полезно добавлять к образцу неорганические соли. Например, добавка NaCl к образцам олигосахаридов или полипептидов в гли-

цериновой матрице приводит к образованию интенсивных пиков ионов $[M + Na]^+$.

Модификацией бомбардировки быстрыми атомами является *метод бомбардировки тяжелыми кластерами*. В этом случае в качестве энергетических частиц используются кластеры ионов аммония с глицерином. В результате их взаимодействия с образцом формируются многозарядные ионы биополимеров, т. е. появляется возможность получать спектры более тяжелых биополимеров, чем в случае классической бомбардировки быстрыми атомами. Использование кластеров увеличивает также чувствительность анализа.

Проточный (динамический) вариант бомбардировки быстрыми атомами используется для ионизации молекул исследуемых соединений после их предварительного разделения в хроматографической колонке.

Принципиальная схема источника ионизации приведена на рис. 28.

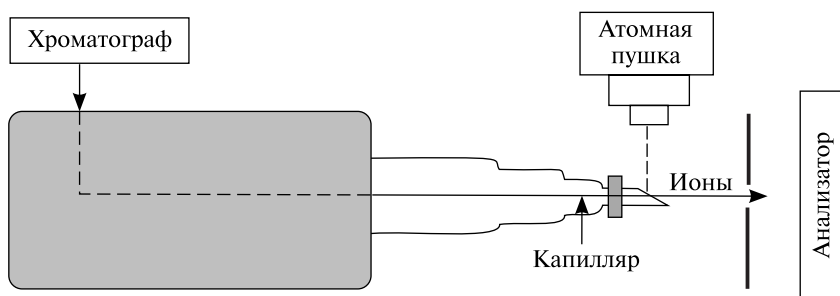


Рис. 28. Проточный вариант источника ионизации бомбардировкой быстрыми атомами

В этом методе поток из колонки хроматографа направляется через капилляр штока ввода в источник ионизации. Капилляр заканчивается сеткой или медной пластинкой, применяемой в качестве подложки в статическом варианте метода, в которой высверливается отверстие для поступления образца. Раствор подается в источник ионизации со скоростью не более $10 \text{ мкдм}^3/\text{мин}$. Температура подложки поддерживается на уровне $40\text{--}60^\circ\text{C}$, что позволяет избежать замораживания образца в результате активного испарения растворителя в условиях высокого вакуума.

Низкие приемлемые скорости потока заставляют проводить его деление на выходе из колонки хроматографа, что, безусловно, ухудшает чувствительность метода, которая, тем не менее, в благоприятных случаях может достигать уровня пикомолей.

Еще одной конструктивной особенностью метода является подача в поток глицерина в количестве $1\text{--}5\%$. Глицерин, необходимый для эффективной ионизации, служит матрицей. Его можно добавлять непосредст-

венно в жидкую фазу перед хроматографированием. Однако в этом случае может наблюдаться ухудшение разделения компонентов. Поэтому чаще глицерин вводят на выходе из колонки хроматографа.

1.5.9. Электрораспыление, электроспрей

Ионизация электрораспылением также относится к группе методов ионизации при атмосферном давлении, реализуемых в условиях выталкивания раствора анализируемого образца через капилляр в присутствии сильного электрического поля.

Схема источника ионизации с электрораспылением приведена на рис. 29.

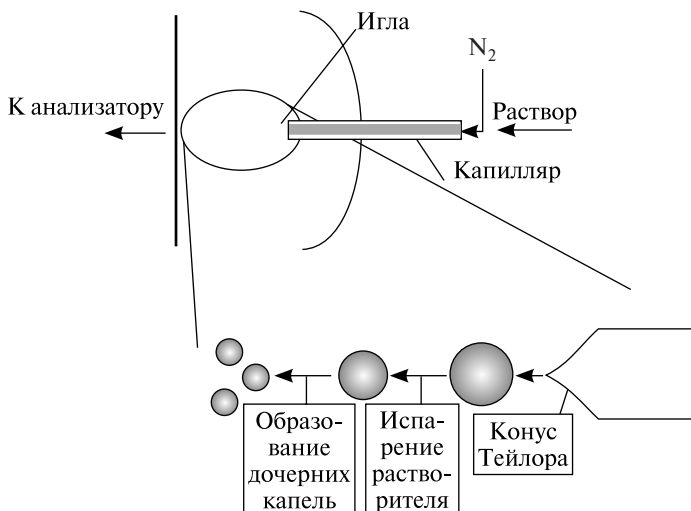


Рис. 29. Схема источника ионов с электрораспылением

Поток из жидкостного хроматографа направляется в распылительную иглу-капилляр с внутренним диаметром 0,1 мм, на которую подается высокое напряжение порядка 6 кВ.

Появление ионов рассматривается как процесс, состоящий из трех следующих этапов:

- образование заряженных капель вблизи выхода из капилляра;
- быстрое уменьшение размеров капель за счет испарения растворителя и последующего образования более мелких капель;
- образование ионов в газовой фазе из маленьких заряженных капель.

Предполагается, что на выходе из иглы-распылителя в источнике ионов образуется аэрозоль из заряженных капель с высоким поверхностным

зарядом. Эти капли движутся к противоэлектроду, имеющему потенциал Земли. В этом же направлении уменьшается и давление, хотя в этой части ионного источника (до противоэлектроды) давление поддерживается на уровне атмосферного.

По мере движения к входному отверстию первого сепаратора капли уменьшаются в размере за счет испарения растворителя. Достигая критического размера (предел Релея), капля «взрывается» с образованием более мелких капелек.

Этот процесс многократно повторяется. В итоге возникают микро-капли, содержащие всего одну заряженную частицу, которая может оказаться в газовой фазе после испарения остаточных молекул растворителя.

Альтернативный механизм предусматривает выброс заряженной молекулы с поверхности одноименно заряженной капли.

В обоих случаях в газовой фазе оказываются несольватированные молекулы анализируемого вещества, которые проходят через сепаратор и оказываются в анализаторе.

Поскольку ионизация формально протекает из раствора, присутствующие в нем частицы могут давать с молекулами анализируемого вещества различные аддукты. По этой причине в масс-спектре вместо молекулярного иона присутствуют ионы $[M + H]^+$, а если в растворитель для повышения ионизирующей способности добавлены соли щелочных металлов или аммония, то регистрируются ионы $[M + Na]^+$ или $[M + NH_4]^+$ (рис. 30).

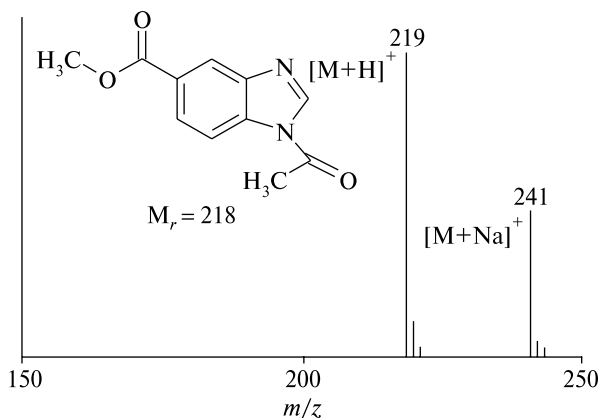


Рис. 30. Масс-спектр производного бензимидазола, снятый в условиях ионизации распылением в электрическом поле, растворитель — ацетонитрил

Поток газа (как правило, азота), подающийся между противoeлектродом и первым сепаратором, а также коаксиально капилляру (газ-распылитель), приводит к повышению эффективности распыления потока жидкости и созданию лучших условий для десольватирования ионов.

Такая модификация метода часто называется *ионспреем*. Этот вариант позволяет также увеличивать скорость потока жидкости в прибор до $200 \text{ мкдм}^3/\text{мин}$, тогда как в обычном варианте скорость потока составляет $1\text{--}40 \text{ мкдм}^3/\text{мин}$.

Дополнительные модификации этого интерфейса позволяют работать с потоками даже из обычных хроматографических колонок (до $2 \text{ см}^3/\text{мин}$).

Наряду с попытками увеличения потока велись работы по уменьшению потока жидкости. В результате был создан метод, названный «*наноспреем*». Эта модификация электроспрея оперирует потоками со скоростями в несколько ндм³/мин и позволяет повысить эффективность образования ионов анализируемого вещества почти на два порядка.

Тем не менее чувствительность метода при использовании обычных потоков (до $20 \text{ мкдм}^3/\text{мин}$) пока остается непревзойденной.

Качественный масс-спектр можно получить при вводе в прибор менее одного аттомоля (10^{-18} М) вещества.

Помимо высочайшей чувствительности и возможности работы с термолabileльными и нелетучими соединениями электроспрей предоставил исследователям возможность анализировать высокомолекулярные соединения с молекулярными массами до миллиона дальтон и выше.

Поскольку ионы, образующиеся в условиях электроспрея, обладают значительно меньшей внутренней энергией, чем, например, в случае бомбардировки быстрыми атомами, их фрагментация практически отсутствует, а масс-спектр зачастую представляет собой набор пиков, обусловленных молекулярными ионами с различными зарядами (точнее $[M + nH]^{n+}$). Это обстоятельство оказывается крайне важным при выполнении анализа сложных молекул, например, белков.

Поскольку анализатор масс-спектрометра осуществляет разделение ионов не по массам, а по отношению массы к заряду, то ион с массой 100 тыс. Да и зарядом в 100 будет регистрироваться при значении $m/z = 1000$.

Электроспрей может эффективно использоваться для анализа соединений с массой до ~ 150 тыс. Да, а зарегистрированный на сегодня рекорд составляет 110 млн Да.

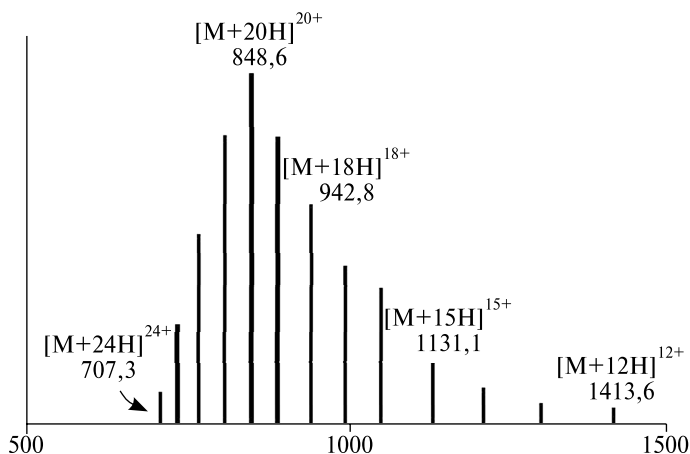


Рис. 31. Масс-спектр миоглобина ($M_r = 16951,5$ Да),
растворитель — смесь «ацетонитрил — вода» (1 : 1)

В случае более тяжелых молекул спектры становятся слишком сложными для расшифровки, так как очень большое число пиков многозарядных ионов располагается в сравнительно небольшом диапазоне (от m/z 500 до m/z 3000) (рис. 31).

1.5.10. Десорбционная электрораспылительная ионизация

В 2004 г. появились первые сообщения о новом методе масс-спектрометрического анализа — *десорбционной электрораспылительной ионизации*, основанной на бомбардировке непосредственно на воздухе любой поверхности струей заряженных электрораспыленных капель растворителя.

Принципиальная схема устройства для реализации метода десорбционной электрораспылительной ионизации представлена на рис. 32.

Микрокапли растворителя, разбиваясь о поверхность исследуемого образца, десорбируют с нее ионы самых разнообразных органических соединений (от низкомолекулярных до белков) в результате реализующихся в этих условиях различных электростатических и пневматических взаимодействий. Получающиеся при этом газофазные ионы всасываются атмосферным интерфейсом масс-спектрометра и анализируются в заданном режиме.

Достоинством этого метода является полное отсутствие процедур пробоподготовки. В качестве подложки для исследуемого образца может быть использована любая поверхность (металл, пластик, бумага). Анализ

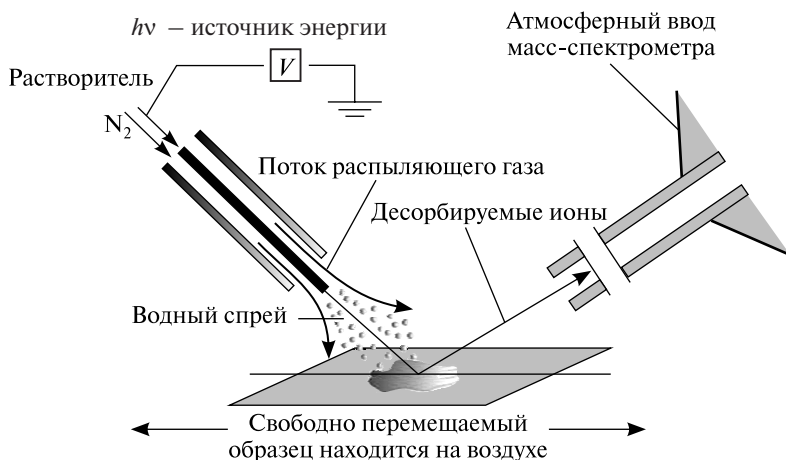


Рис. 32. Принципиальная схема метода десорбционной электрораспылительной ионизации

можно вести и непосредственно с поверхности земли, органов и тканей растений и животных. Метод позволяет определять содержание лекарственных препаратов в организме человека, например, путем простого направления заряженных капель водно-спиртовой смеси на его палец.

1.5.11. Ультразвуковое распыление

Этот метод позволяет получить спектры нелетучих термолабильных полярных молекул при стыковке масс-спектрометра с жидкостным хроматографом или системой для капиллярного электрофореза.

Принципиальная схема используемого источника ионизации приведена на рис. 33.

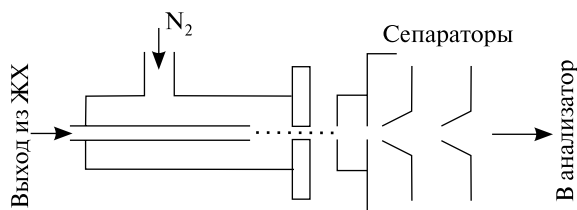


Рис. 33. Схема источника ионизации ультразвуковым распылением

В этом случае капилляр, соединяющий хроматографическую систему с источником масс-спектрометра, не обогревается, и на него не подается высокий электрический потенциал.

Ключевую роль играет поток азота, который подается в систему с очень высокой скоростью коаксиально капилляру с анализируемой пробой. Прибор регистрирует образовавшиеся ионы, начиная с определенной скорости потока. Именно скорость потока имеет первостепенную важность. Механизм ионизации, а точнее десольватирования имеющих в растворе ионов, пока не изучен.

Метод хорошо зарекомендовал себя для анализа лекарственных препаратов и их метаболитов. Его чувствительность иногда на 2 порядка превосходит чувствительность традиционно используемой для этих целей химической ионизации при атмосферном давлении.

1.5.12. Ионизация термораспылением

Метод ионизации исследуемых соединений термораспылением является «мягким» ионизационным методом, который заключается в том, что водный раствор анализируемого образца, содержащий небольшое количество соли щелочного металла, пропускается под давлением через нагретый капилляр.

Часть растворителя исследуемого образца испаряется и со сверхзвуковой скоростью попадает в вакуумируемую камеру. Образовавшиеся пары растворителя обеспечивают пневматическое распыление оставшегося раствора анализируемого образца в мелкие капли, которые благодаря присутствию в них ионов соли приобретают либо положительный, либо отрицательный заряд. Вдоль капель из-за их очень малого размера создается высокий градиент электрического поля, который возрастает по мере уменьшения размера капель.

В результате приведенных процессов происходит десорбция из капель ионов типа $[M + H]^+$, а также кластерных ионов типа $[M + Kat]^+$, в которых в качестве катионов выступают катионы используемой соли (NH_4^+ , Na^+ , K^+ и др.).

1.5.13. Пиролитическая масс-спектрометрия

Основная задача пиролитической масс-спектрометрии — это быстрое и эффективное термическое разложение веществ на более простые, которые подвергаются последующему анализу. Сейчас, когда методы электрораспыления, или матричной лазерной десорбционной ионизации, позволяют получать масс-спектры соединений с молекулярной массой в сотни тысяч и миллионы дальтон, метод пиролитической масс-спектрометрии используется в основном для анализа неразделимых смесей соединений: горючие сланцы, синтетические полимеры, гуминовые кислоты, микроорганизмы, другие биологические и геологические материалы.

Пиролиз можно осуществить в самостоятельном приборе, а пиролизат затем перенести (например, в ловушке, охлаждаемой жидким азотом) в

масс-спектрометр. Можно также проводить пиролиз перед колонкой хроматографа или даже непосредственно в ионном источнике масс-спектрометра. В последнем случае получается только интегральный спектр, являющийся суперпозицией спектров всех соединений, образовавшихся в результате температурного разложения исследуемого образца.

Во избежание появления продуктов окисления, маскирующих реальную картину, пиролиз принято проводить в среде благородного газа или в вакууме. В качестве метода ионизации наиболее часто используют электронный удар, химическую ионизацию, полевую ионизацию, ионизацию лазером.

Пиролитическая масс-спектрометрия, как правило, направлена на решение одной из следующих задач:

- установление структурных фрагментов очень сложных соединений;
- сравнение образцов друг с другом (доказательство идентичности).

В первом случае желательно использовать комплексный метод, типа ГХ-МС или ЖХ-МС, а во втором — предпочтительнее получать интегральный спектр.

Такой подход отлично зарекомендовал себя, в частности, для сравнения микроорганизмов. В этом случае структуры отдельных продуктов распада не важны, тогда как интегральный спектр можно рассматривать как «отпечатки пальцев» данного вида бактерий, вирусов, грибов и т. д. Идентичность двух образцов микроорганизмов устанавливают таким образом очень быстро и эффективно. Важно лишь во избежание ошибок строго контролировать условия проведения эксперимента. Они должны быть абсолютно одинаковы по скорости нагрева, типу разогрева образца и температуре пиролиза.

Для осуществления детального сравнения интегральных масс-спектров предложен целый ряд математических подходов.

Использование масс-спектрометра как термогравиметрического детектора позволяет надежно доказать, какое именно соединение выделяется образцом в каждом из зарегистрированных по уменьшению массы процессов. Температуру в этом случае медленно поднимают до нескольких сотен градусов.

Несколько большими скоростями нагрева характеризуется метод катодного разогрева (с помощью сопротивления). Для проведения такого анализа образец наносится непосредственно на проволоку из благородного металла. Проволока с образцом электрически программируемо нагревается до нужной температуры с нужной скоростью. Иногда для увеличения объема пробы ее помещают непосредственно не на проволоку, а в нагреваемую от нее кварцевую трубку. Такой подход хорошо зарекомендовал себя для анализа полимерных материалов.

Для получения спектров типа отпечатков пальцев наилучшие результаты получены при использовании индуктивного нагрева в точке Кюри.

Точкой Кюри называется температура, при которой ферромагнетики теряют свои магнитные свойства. Например, для железа это происходит при температуре 770 °С, для никеля — 358 °С, для кобальта — 1120 °С.

Когда проволока (фольга), изготовленная из ферромагнитного материала, помещается в радиочастотное электромагнитное поле, происходит ее быстрый разогрев со скоростью до 104 К/с. Точка Кюри достигается за доли секунды. В этот момент материал теряет свои магнитные свойства, и нагрев прекращается. Однако как только температура упадет на долю градуса, нагрев возобновляется. Если на проволоку (фольгу) нанести образец анализируемого материала, его пиролиз будет проходить при точно известной температуре.

Несколько пиролитических способов основано на лазерном нагреве образца. Использование постоянного лазера, работающего в инфракрасном или видимом диапазоне, позволяет проводить нагрев со скоростями, аналогичными достигаемым пиролизом в точке Кюри. Пятно лазера обычно имеет диаметр 150–200 мкм, а перемещая лазерный луч по поверхности образца, можно определять неоднородности его состава.

Максимальными скоростями нагрева характеризуется метод, который можно рассматривать как *взрывной пиролиз*. Пятно импульсного ультрафиолетового лазера диаметром 10–25 мкм вызывает локальный разогрев образца со скоростью до 106 К/с. Образующаяся над поверхностью плазма состоит не только из молекул. В ней присутствуют радикалы, положительные и отрицательные ионы. При этом можно получить масс-спектр без дополнительной ионизации.

Тем не менее в пиролитической масс-спектрометрии для получения полной картины используют дополнительный метод ионизации. Перемещение луча по поверхности позволяет получить информацию о поверхностной неоднородности материала. Поскольку в результате первичного воздействия лазером молекулы поверхностного слоя образца переходят в газовую фазу, повторный импульс лазера, направленный в то же место, захватит молекулы второго слоя, затем третьего и т. д. Таким образом можно получить информацию об изменениях состава образца от поверхности в глубину.

1.6. РАЗДЕЛЕНИЕ ИОНОВ

После того как проведена ионизация молекул исследуемого образца, необходимо разделить газообразные ионы, образовавшиеся в источнике ионов в результате самых разнообразных процессов, а также обеспечить фокусировку выделенного пучка ионов, подающегося на детектор.

Разделение ионов исследуемых соединений, образовавшихся в источнике ионов по величине отношения их массы к заряду происходит в *масс-анализаторах*.

От характера используемого масс-анализатора зависят:

- разрешающая способность масс-спектрометра, которая в свою очередь определяет точность измерения массы;
- так называемая скорость сканирования, т. е. скорость, с которой регистрируется масс-спектр;
- фокусировка выделенного пучка ионов, подающегося на детектор.

Обычно скорость сканирования масс-спектрометров с магнитным анализатором выражается в секундах на декаду масс. Таким образом, масс-спектрометр с характеристикой скорости регистрации, равной 1 с/декаду, зарегистрирует масс-спектр до массы 1000 за 3 с. При этом 1 с будет затрачена на регистрацию области спектра с отношением массы к заряду до 10, еще 1 с – на регистрацию области спектра с отношением массы к заряду от 10 до 100 и еще 1 с – на регистрацию области спектра с отношением массы к заряду от 100 до 1000.

Большинство из существующих анализаторов масс являются сканирующими, когда при непрерывном изменении какого-нибудь параметра прибора происходит поочередная фокусировка ионов или возрастающей, или убывающей массы на детектор ионов.

Недостатком этого типа анализаторов масс является их пониженная чувствительность, так как только ограниченное число ионов в каждый конкретный момент регистрируется детектором.

Анализаторы масс, представляющие группу несканирующих анализаторов, более чувствительны, так как способны собирать все ионы определенной массы.

В практике масс-спектроскопии в настоящее время используются следующие типы анализаторов масс:

- магнитный секторный;
- двухфокусные, с прямой и обратной геометрией;
- квадрупольный;
- ионная ловушка;
- времяпролетный;
- с ионным циклотронным резонансом;
- с ионным циклотронным резонансом с преобразованием Фурье;
- гибридные и тандемные;
- «Орбитрэп».

Каждый тип анализатора масс имеет свои преимущества и недостатки.

1.6.1. Магнитный секторный анализатор масс

Хронологически первым анализатором масс был магнитный, принцип работы которого заключается в следующем:

- вылетающие из источника ионов заряженные частицы попадают в магнитное поле анализатора, силовые линии которого направлены перпендикулярно движению частиц;
- под действием магнитного поля траектория движения частиц искривляется и каждый из ионов начинает двигаться по окружности, радиус которой пропорционален величине отношения массы частицы к ее заряду m/z . Ионы с меньшим значением m/z отклоняются сильнее, чем более тяжелые (рис. 34).

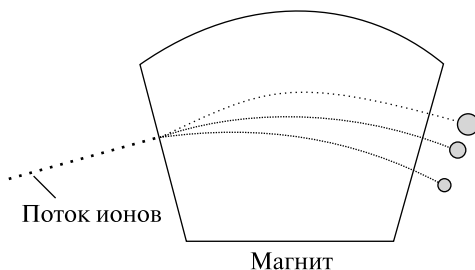


Рис. 34. Действие магнитного поля на траекторию движения ионов

Принципиальная схема устройства магнитного секторного анализатора масс представлена на рис. 35.

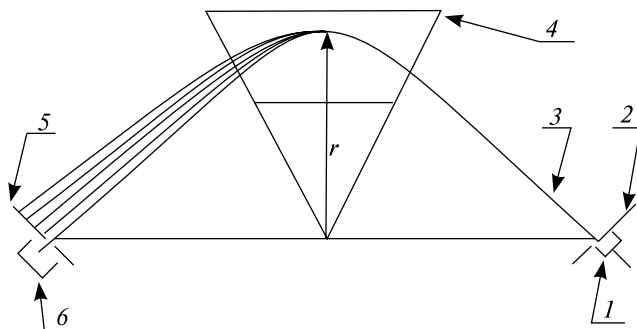


Рис. 35. Схема масс-спектрометра с магнитным секторным анализатором:
1 – источник ионов; 2 – выходная фокусирующая щель источника ионов;
3 – ионный луч; 4 – магнит; 5 – щель коллектора; 6 – детектор ионов

Ионы исследуемых соединений, образовавшиеся в источнике ионов, выводятся оттуда благодаря системе электродов и ускоряются потенциалом V (2–8 кВ) по направлению к анализатору, приобретая при этом одинаковую кинетическую энергию, равную zV (где z – заряд иона).

На входе в магнитный анализатор кинетическая энергия такого иона будет выражаться следующим уравнением:

$$zeV = \frac{mv^2}{2},$$

где m — масса иона; e — единичный заряд; z — число таких зарядов у иона; v — скорость иона.

Попавшая перпендикулярно магнитным силовым линиям в зону действия магнитного поля с напряженностью B , этот ион будет двигаться по окружности с радиусом кривизны траектории, равным R , причем сила Лоренца при этом уравнивается центробежной силой:

$$Bzev = \frac{mv^2}{R}.$$

Уравнение, представленное в форме

$$BzeR = mv,$$

наглядно демонстрирует тот факт, что магнит является анализатором именно моментов, а не масс.

Комбинация уравнений приводит к основному уравнению разделения ионов в магнитном анализаторе:

$$\frac{m}{ze} = \frac{B^2 R^2}{2V}.$$

Изменяя величины ускоряющего напряжения или напряжения магнитного поля, можно изменять радиус кривизны траектории ионов, причем при непрерывном их изменении ионы с последовательными значениями отношений массы к заряду по очереди попадают в детектор ионов.

Процесс изменения этих напряженностей и называется *сканированием*.

Для получения масс-спектра можно сканировать либо ускоряющее напряжение, либо напряженность магнитного поля.

Если в масс-спектрографе осуществляется разделение ионов по радиусам их траекторий в постоянном магнитном поле, то в этом случае все ионы одновременно достигают фотопластинки, расположенной в фокальной плоскости, и засвечивают ее.

Исходя из расположения сигналов на пластинке и интенсивности засветки, можно устанавливать массы ионов и их количество, т. е. получать масс-спектр.

Однако следует учитывать, что изменение величины ускоряющего напряжения всего в два раза вызывает некоторую дефокусировку ионного пучка и потерю чувствительности. При этом изменяется и разрешающая способность детектора.

Поэтому масс-спектры чаще всего принято получать сканированием напряженности магнитного поля при сохранении постоянной величины ускоряющего напряжения V .

Магнитные анализаторы обычно имеют низкое или среднее разрешение.

1.6.2. Двухфокусный секторный масс-спектрометр

Масс-спектрометры только с одним магнитным анализатором называются однофокусными, и в них происходит лишь компенсация неоднородности в направлении ионов, выходящих из ионного источника.

Однако поскольку секторный магнит является анализатором моментов, а не масс, то ионы с одинаковой массой, но с различной кинетической энергией не собираются в точечном фокусе однофокусного магнитного прибора. Разброс кинетической энергии ионов в несколько электронвольт ограничивает достижимое разрешение детектора. Для преодоления этого недостатка на пути ионов дополнительно устанавливают второй анализатор — электростатический, обеспечивающий фокусировку ионов по энергии.

Электростатический анализатор может располагаться до или после магнитного анализатора. Если электростатический анализатор установлен между ионным источником и магнитным анализатором, то принято говорить о *прямой геометрии* прибора. Если первым анализатором является магнитный, вторым — электростатический, то говорят об *обратной геометрии* прибора.

Для большинства масс-спектрометрических задач расположение анализаторов не принципиально, однако при работе в некоторых режимах tandemной масс-спектрометрии необходим прибор обратной геометрии.

Принципиальная схема магнитного секторного анализатора масс двойной фокусировки прямой геометрии приведена на рис. 36.

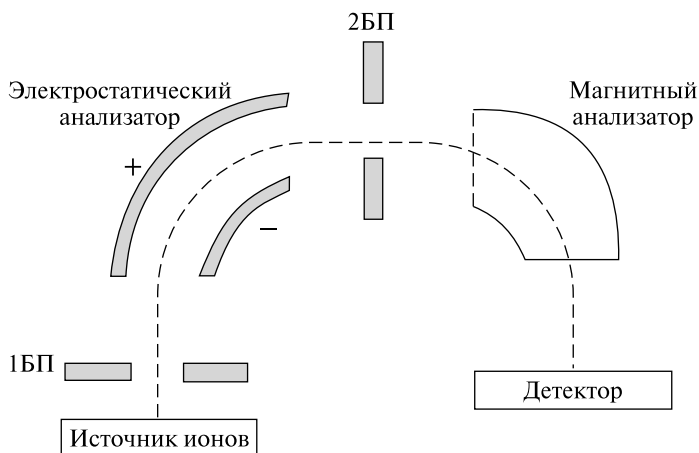


Рис. 36. Схема магнитного секторного анализатора масс двойной фокусировки прямой геометрии:

1БП — бесполовое пространство 1, 2БП — бесполовое пространство 2

Следует подчеркнуть, что секторные приборы характеризуются диапазоном величин m/z до 10 000, наивысшей точностью измерения масс (< 5 м. д.) и непревзойденным динамическим диапазоном (10^7).

Давление в анализаторе секторного прибора не должно превышать 10^{-7} кПа.

Приборы с двойной фокусировкой характеризуются большей величиной разрешающей способности и позволяют добиться разрешающей способности масс-спектрометра до 150 000.

Под разрешением (R) понимается способность получать на данном приборе раздельное изображение двух ионов с массами m и $(m + \Delta m)$, которое, например, приведено на рис. 37.

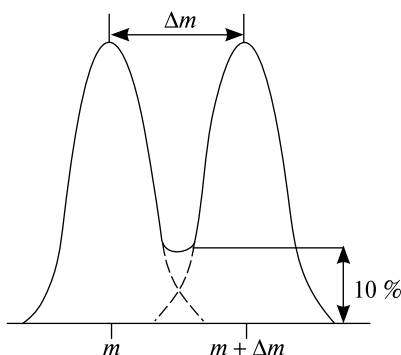


Рис. 37. Определение величины разрешающей способности анализатора масс

Идеальная форма пиков 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.

Так, например, разрешение 1000 для магнитных приборов означает, что пики с массами 100,0 и 100,1 Да на масс-спектре отделяются друг от друга, т. е. не накладываются друг на друга вплоть до 10 % их высоты.

Численное значение величины разрешения рассчитывается по уравнению

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

Так, например, разрешение, необходимое для того, чтобы отличить ион N_2^+ , точная относительная масса которого равна 28,006158, от иона CO^+ , точная относительная масса которого равна 27,994915, оказывается равной следующему отношению:

$$R = \frac{28}{28,006158 - 27,994915} = \frac{28}{0,011243} = 2490.$$

Если $\Delta m = 1$, то R теоретически является максимальной массой, регистрируемой прибором, когда пики остаются разделенными.

Для расчета разрешающей способности можно использовать только один пик и нет необходимости снимать масс-спектр двух ионов с очень близкими массами. В этом случае в качестве Δm используется полуширина пика с массой m .

Разрешение 80 000 не означает, что на приборе можно получить разрешенный пик однозарядных ионов с такой относительной массой. Регистрируемая масса пропорциональна B^2/V , но безграничное увеличение B сопряжено с техническими сложностями и нецелесообразно, а уменьшение V понижает и разрешающую способность.

Что же означают тогда величины разрешающей способности масс-спектрометров в десятки и сотни тысяч?

Дело в том, что каждый нуклид любого химического элемента имеет уникальный характеристический дефект массы. Поскольку за стандарт принят основной нуклид углерода ^{12}C (12,000000), массы всех остальных нуклидов элементов не являются целыми числами. Так, относительная масса основного нуклида водорода (^1H) — 1,00782506, азота (^{14}N) — 14,00307407, кислорода (^{16}O) — 15,99491475 и т. д.

Измерение точной относительной массы иона (4–6 знаков после запятой) однозначно определяет его элементный и изотопный состав. Проведение измерений с такой точностью называется *масс-спектрометрией высокого разрешения*. Измерения проводят вручную или с помощью компьютера, совмещая положение пика неизвестного иона на шкале масс с ближайшим пиком иона известного состава.

В качестве реперов масс можно использовать любое соединение, характеризующееся интенсивным пиком с величиной m/z , близкой измеряемой. Наиболее распространенными для этой цели являются перфторкеросин, перфтортрибутиламин, другие полностью фторированные соединения.

Использование перфторированных соединений объясняется их летучестью, а также тем, что фтор — мононуклидный элемент. В спектрах таких соединений регистрируются интенсивные сигналы фрагментных ионов, равномерно перекрывающие весь диапазон значений от $m/z = 19$ до M^{+} .

Простейшим примером использования масс-спектрометрии высокого разрешения может служить разделение мультиплета с целочисленной массой 28 Да. Три соединения с такой массой практически всегда присутствуют на уровне фона при съемке масс-спектров. Это азот, оксид углерода (II) и этилен.

На однофокусном приборе с разрешением 500 молекулярные ионы всех трех соединений проявятся в виде одного общего пика (рис. 38, *а*). Повышение разрешения изменяет характер регистрируемого спектра (рис. 38, *б, в, г*).

Действительно, для разделения пиков ионов CO и C_2H_4 с относительными массами 27,994915 и 28,03300 Да необходимо разрешение $R = 28 / (28,03300 - 27,994915) = 770$, тогда как для разделения пиков ионов CO и N_2 с относительной массой 28,006158 Да — уже 2490.

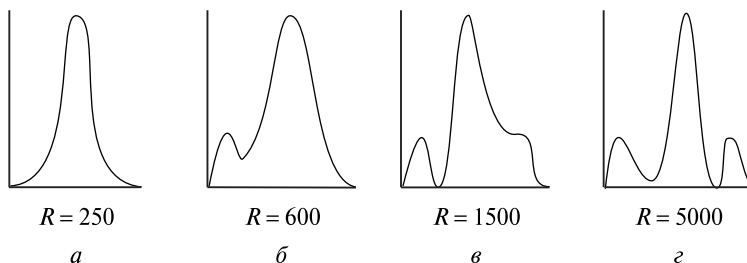


Рис. 38. Зависимость формы пика ионов с целочисленной массой 28 Да от разрешающей способности R анализатора масс:

а — $R = 250$; *б* — $R = 600$; *в* — $R = 1500$; *г* — $R = 5000$

Если учесть, что число ионов с одинаковой целочисленной массой резко возрастает с увеличением массы, то важность масс-спектрометрии высокого разрешения и, естественно, увеличения разрешающей способности приборов становится очевидной.

Современные секторные приборы обладают разрешающей способностью 60 000–80 000, в некоторых случаях до 150 000. Сверхвысокое разрешение достижимо при использовании масс-спектрометрии с преобразованиями Фурье.

Неправильно считать, что увеличение разрешающей способности однозначно ведет к увеличению точности измерения массы. Как только разрешения оказывается достаточно для получения индивидуальных пиков с одной целочисленной массой, которые принадлежат образцу и стандарту, бессмысленно повышать разрешение далее, поскольку при этом падают и точность измерения, и чувствительность анализа.

1.6.3. Квадрупольный анализатор

Квадрупольный анализатор, часто называемый квадрупольным фильтром масс, состоит из четырех параллельных стержней (монополя) круглого или гиперболического сечения.

Принципиальная схема квадрупольного анализатора приведена на рис. 39.

Противоположные стержни электрически попарно соединены и находятся под напряжением, складывающимся из компоненты постоянного тока U и высокочастотной компоненты $V_0 \cos \omega t$. Вторая пара стержней имеет равную по величине, но противоположную по знаку компоненту постоянного тока, а фаза высокочастотной компоненты сдвинута на 180° .

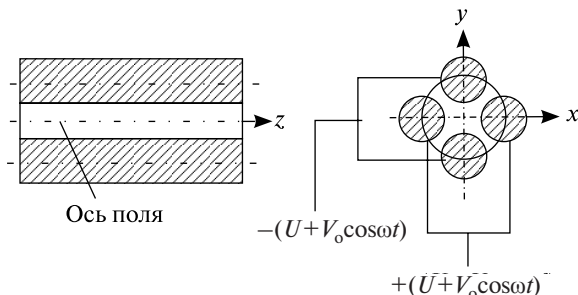


Рис. 39. Схема квадрупольного анализатора (вертикальное сечение)

Ионы, вводимые в промежуток между полями действием небольшого ускоряющего напряжения (10–20 В), под действием электрического поля колеблются относительно осей x и y с возрастающей амплитудой, сохраняя направление движения вдоль электродов. Ионы, получившие большую амплитуду, могут нейтрализоваться на электродах.

Однако при определенных соотношениях напряжений U/V , специфичных для каждого значения отношения массы к заряду, ионы соответствующей массы будут иметь ограниченную амплитуду колебаний и, двигаясь вдоль электродов, попадут в выходную щель и затем на коллектор ионов, где и происходит их детектирование.

Таким образом, поскольку каждый ион имеет свою собственную частоту, зависящую от массы, через квадруполь пролетают лишь те частицы, частота которых находится в резонансе с радиочастотой квадруполья.

На практике масс-спектр генерируется сканированием U и V_0 при сохранении постоянной величины отношения U/V_0 . Регистрируемая масса m пропорциональна V_0 , т. е. линейное изменение V_0 предоставляет калибруемую линейную шкалу масс.

Квадруполь легко управляется компьютером, имеет хороший динамический диапазон (10^5), обеспечивает высокую скорость записи масс-спектров (до 0,1 с/декада), стыкуется со всеми системами ввода, способен без модифицирования разделять и положительные, и отрицательные ионы.

Его достоинствами являются также быстрота сканирования, небольшие размеры, дешевизна и возможность работы при повышенном (до $5 \cdot 10^{-6}$ кПа) давлении.

Эти факторы обусловили широчайшее распространение квадрупольных приборов, начиная с 70-х гг. XX в., особенно для серийных стандартных анализов, съемки рутинных спектров электронного удара или химической ионизации.

Еще один импульс для использования приборов этого типа связан с созданием метода электрораспыления. Современные квадрупольные приборы работают в диапазоне величин m/z до 3000–4000, что делает их чрезвычайно удобными для анализа белков, пептидов, других биомолекул с применением электрораспыления, когда образование многозарядных ионов происходит в условиях атмосферного давления.

Квадрупольные анализаторы отлично зарекомендовали себя также в приборах гибридной геометрии для tandemной масс-спектрометрии. Для этих же целей широко используются системы из трех или пяти квадруполов.

К недостаткам анализаторов этого типа можно отнести не самый широкий диапазон масс (до m/z 3000–4000), низкую разрешающую способность (точность измерения массы при отношении массы к заряду, равному 1000, составляет 0,1 %) и плохие результаты при работе в режиме матричной лазерной ионизации.

Существуют также гексапольные анализаторы, в которых вместо четырех вдоль центральной оси параллельно расположено шесть монополей. Такие анализаторы обеспечивают образование более узкого пучка ионов и часто используются как интерфейсы между источником ионизации при атмосферном давлении и времяпролетными анализаторами.

1.6.4. Ионная ловушка

Ионная ловушка была впервые описана одновременно с квадрупольным анализатором, но к настоящему времени превратилась из простого детектора к газовому хроматографу в высокоэффективный хромато-масс-спектрометр с диапазоном регистрируемых ионных (молекулярных) масс в десятки тысяч дальтон, разрешающей способностью до 25 000, возможностью работы в режиме tandemной масс-спектрометрии с регистрацией до 10 поколений фрагментных ионов и высочайшей чувствительностью.

Основой прибора являются три электрода: два концевых (полюсных) гиперболической формы, обычно имеющие потенциал Земли, и один центральный кольцевой электрод диаметром 0,5–1,5 см между ними, на который подается дополнительное высокочастотное осциллирующее электрическое поле.

Принципиальная схема ионной ловушки приведена на рис. 40.

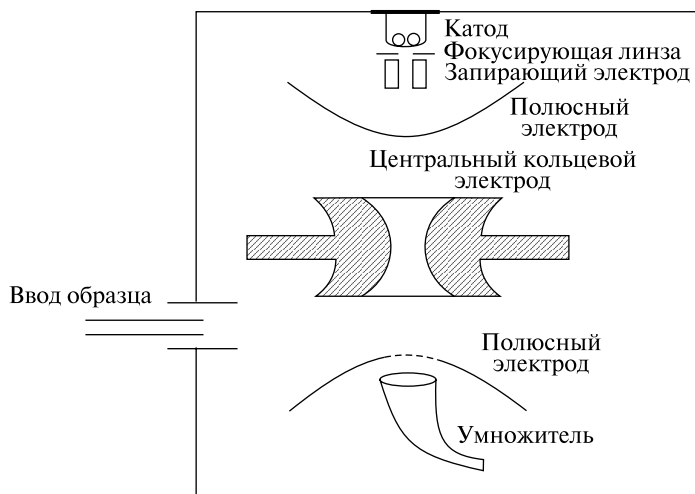


Рис. 40. Принципиальная схема устройства ионной ловушки

Эта система электродов создает некое подобие ячейки, или ловушки, ионов. Ионы в таких ловушках движутся в трехмерном пространстве и могут продолжительное время удерживаться в объеме между электродами обычно около центра ловушки, претерпевая синусоидальное движение на стабильных во времени траекториях.

Образовавшиеся в ионном источнике ионы исследуемых соединений какое-то время удерживаются полем центрального электрода. В классическом варианте нестабильного масс-селективного сканирования импульсное изменение амплитуды радиочастотного напряжения, приложенного к кольцевому электроду, заставляет ионы с определенным значением m/z переходить на нестабильные траектории и покидать ловушку, попадая на электронный умножитель. В результате это и генерируется в масс-спектр.

Ионная ловушка может действовать одновременно как источник ионов, как камера для ионно-молекулярных реакций и как анализатор масс.

Для ионизации образца используют электронный удар или химическую ионизацию. Работа ведется в импульсном режиме. Например, импульсная подача электронов в ловушку (0,1–10 мс) вызывает ионизацию необходимого числа молекул образца.

Ионные ловушки характеризуются исключительно высокой чувствительностью, обеспечивают высокую скорость сканирования, быстрое переключение регистрации с положительных ионов на отрицательные. Разрешающая способность ионных ловушек – около 1500, а верхний предел измеряемых ионных (молекулярных) масс – 4 кДа.

Вариант этого метода — резонансное извлечение. В обычных условиях работы ионы в зависимости от величины m/z имеют характеристические частоты движения. Эти частоты зависят от многих параметров. Можно создать условия резонанса для конкретных ионов благодаря дополнительному радиочастотному сигналу, приложенному к концевым электродам.

В условиях резонанса ионы поглощают достаточную энергию для того, чтобы покинуть ловушку, после чего они регистрируются внешним детектором. В этом случае ионы можно извлечь из ловушки, приложив более низкое напряжение, чем в классическом варианте. Основным достижением метода является возможность расширения диапазона регистрируемых масс. Например, прибор с верхним диапазоном ионных масс 650 Да при работе в обычном режиме может регистрировать соединения с ионной массой до 70 000 Да в режиме резонансного извлечения ионов.

Возможность удаления мешающих ионов на разных стадиях ускорения и замедления движения ионов, индуцирование фрагментации ионов при их столкновениях с атомами гелия позволяют успешно использовать ионные ловушки для работы в режиме тандемной масс-спектрометрии, причем можно получить информацию о нескольких последовательных поколениях фрагментных ионов.

Показана также возможность достижения разрешающей способности 25 000.

К достоинствам ионных ловушек следует добавить также небольшие размеры и самую низкую среди масс-спектрометров стоимость прибора.

К недостаткам можно отнести протекание в ловушке ионно-молекулярных реакций, что приводит к искажениям стандартного масс-спектра. В результате использование стандартных компьютерных библиотек NIST и Wiley для идентификации соединений по масс-спектрам оказывается менее эффективным, чем в случае магнитных или квадрупольных анализаторов.

В последнее время предложена новая версия ионной ловушки, которая объединяет классическую линейную ионную ловушку с новым типом анализатора, получившего название «орбитрэп», через квадрупольную накопительную ловушку. При этом удалось обеспечить разрешающую способность выше 100 000, что по конструкционной простоте и стоимости составляет серьезную конкуренцию масс-спектрокопии с преобразованием Фурье.

1.6.5. Времяпролетный анализатор масс

Принцип функционирования времяпролетных анализаторов масс основан на измерении времени, необходимого для пролета ионов от ионного источника до детектора, которые расположены друг от друга на расстоянии 1–2 м.

При использовании ионных источников с ионизацией электронами, все образующиеся ионы под действием ускоряющего потенциала получают одинаковую кинетическую энергию. Но поскольку ионы с разными массами характеризуются различной скоростью перемещения в бесполом пространстве, то они пролетают свой путь до детектора за разное время. Наиболее легкие ионы достигают детектора за время в несколько микросекунд, более тяжелые ионы — на доли микросекунд позднее.

Кинетическая энергия ионов, образующихся в источнике ионов, описывается соотношением

$$\frac{mv^2}{2} = zeV,$$

где z — число зарядов, e — заряд электрона, m — масса иона, V — величина потенциала, ускоряющего ионы, покидающие ионный источник, v — скорость иона.

Время, необходимое для преодоления ионом расстояния до детектора, определяется соотношением

$$t = \frac{l}{v}.$$

Из этих соотношений получаем:

$$t^2 = \frac{m}{z \left(\frac{l^2}{2Ve} \right)}.$$

Величины, приведенные в скобках, являются постоянными и известными величинами. Следовательно, измерив значение времени t , можно определить величину отношения массы иона к его заряду.

Принципиальная схема линейного варианта времяпролетного анализатора представлена на рис. 41.

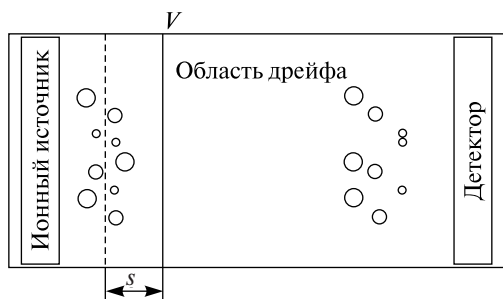


Рис. 41. Схема линейного времяпролетного масс-спектрометра

При разности потенциалов 3 кВ и длине дрейфа 0,5 м ион с величиной отношения $m/z = 500$ достигает детектора за 15 мкс, а ион с величиной отношения $m/z = 50$ — за 4,6 мкс, т. е. масс-спектр в диапазоне от 50 до 500 Да можно зарегистрировать за время около 10 мкс.

Очевидно, что это время можно увеличивать, уменьшая разность потенциалов или увеличивая длину дрейфа.

Анализатор такого типа крайне прост и дешев, а его диапазон масс практически не лимитирован. Однако широкому использованию времяпролетных приборов мешала низкая разрешающая способность и невозможность их применения с непрерывными методами ионизации.

Основные проблемы времяпролетных приборов — это разброс ионов с одной массой по времени, по скорости (энергии) и в пространстве.

Ионы, образовавшиеся в левой части источника, ускоряются разностью потенциалов между стенкой источника и сеткой по направлению к детектору. В области дрейфа происходит разделение ионов по скоростям (следовательно, по массам).

Детектор регистрирует интенсивность пучков изобарных ионов. В результате генерируется масс-спектр.

Следует отметить, что на детектор поступают все ионы, что существенно улучшает чувствительность метода по сравнению со сканирующими анализаторами, в которых фактически достигает детектора менее 1 % от всех ионов.

Разброс по энергиям связан с тем, что ионы уже изначально (до ускорения) имеют различную кинетическую энергию ΔU . В результате полная энергия движения ионов в области дрейфа будет $(eV + \Delta U)$.

Пространственный разброс связан с тем, что ионы в источнике находятся не на одной линии, а занимают конкретный объем. Часть их оказывается ближе к сетке, часть — дальше. Если обозначить это отклонение в пространстве от среднего значения Δs , и, учитывая, что $V = Es$, получается, что энергия ионов в области дрейфа равна $eE(s \pm \Delta s)$. Таким образом, происходит уширение сигнала и соответственно потеря разрешения.

Прибор, представленный на рис. 41, может быть использован для работы в сочетании с классическими непрерывными методами ионизации органических молекул (ионизация электронами, химическая ионизация, полевая ионизация, электрораспыление), поскольку в этом случае разброс во времени появления ионов бесконечен, что означает нулевую разрешающую способность.

Тем не менее использование импульсных методов генерирования ионов (лазерная десорбционная масс-спектрометрия, масс-спектрометрия вторичных ионов и др.) позволяет достаточно эффективно работать на

линейных времяпролетных приборах. В этом случае время генерирования ионного пучка ограничивается временем импульса, т. е. разброс ионов по времени имеет конечное значение, причем чем короче импульс, тем меньше разброс.

Указанные методы ионизации, а также матричная лазерная десорбционная ионизация связаны с генерированием ионов с поверхности. В результате помимо разброса образования ионов во времени одновременно устраняется и пространственный разброс, наблюдающийся при использовании методов ионизации молекул в газовой фазе.

Для устранения разброса по энергиям и повышения разрешающей способности линейных анализаторов было предложено использование двух сеток, а также метод задержки извлечения ионов из источника импульсной подачей напряжения.

Однако революционным решением стало использование отражателя (рефлектрон, ионное зеркало).

Схема времяпролетного масс-спектрометра с рефлектроном представлена на рис. 42.

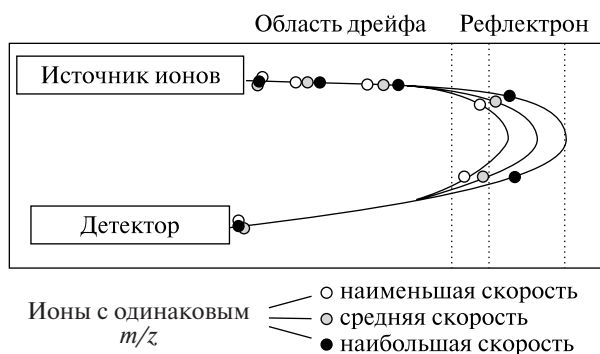


Рис. 42. Схема времяпролетного масс-спектрометра с рефлектроном

Из группы ионов с одной массой частицы с большей кинетической энергией проникают глубже внутрь отражающего поля рефлектрона, тем самым затрачивая больше времени на замедление и последующее ускорение. Достигая ионного зеркала первыми, они последними покидают его и догоняют более медленные ионы в фокальной плоскости, в которой располагается детектор.

Такой принцип позволил проводить корректировку разброса по энергиям и повысить разрешающую способность времяпролетных приборов до 10 000.

Еще одним замечательным нововведением в масс-спектрометрию было использование принципа ортогонального ускорения. Благодаря

этому методу удалось состыковать времяпролетный анализатор с непрерывными источниками ионов.

Принципиальная схема устройства масс-спектрометра с ортогональным ускорением приведена на рис. 43.

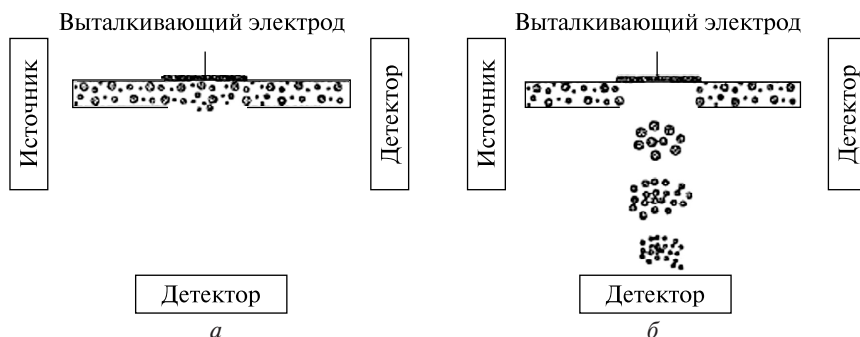


Рис. 43. Принципиальная схема метода ортогонального ускорения:

а — выталкивающий электрод выключен; б — выталкивающий электрод включен

В приборах этого типа импульсное приложение потенциала к линзе, расположенной параллельно движению ионов от источника к детектору, ускоряет сегмент коллимированного пучка ионов в направлении, перпендикулярном их движению. В итоге ионы достигают второго детектора в соответствии со своей массой.

После того как самые тяжелые ионы достигнут детектора, ортогональный импульс может быть повторен. В этом случае разброс в скоростях в ортогональном направлении отсутствует, а пространственный разброс невелик и определяется только шириной пучка коллимированных ионов.

Важным достоинством времяпролетного анализатора является более высокая чувствительность по сравнению со сканирующими приборами. Все ионы, образовавшиеся в результате импульса ионизации или оказавшиеся в зоне действия импульса ортогонального ускорения, достигают детектора. Следующий импульс можно осуществить, как только самый тяжелый ион достигнет детектора. В реальной ситуации, например в экспериментах с ортогональным ускорением, детектируется один из семи ионов каждой массы, образовавшихся в источнике.

Для сканирующих приборов, напротив, характерно одномоментное пропускание только ионов с конкретной массой. Например, если за одну секунду сканируется диапазон ионных масс от 10 до 1000 Да, то ионы с конкретной величиной m/z достигают детектора лишь в течение 0,001 с, т. е. детектируется 0,1 % образовавшихся в источнике ионов.

Таким образом, выигрыш в чувствительности при переходе от сканирующего к времяпролетному анализатору составляет примерно два порядка.

В заключение следует отметить такие достоинства масс-спектрометра с времяпролетным анализатором, как:

- более высокая чувствительность по сравнению со сканирующими приборами;
- очень высокая скорость записи спектра (до нескольких сотен спектров в секунду);
- практически неограниченный диапазон масс;
- разрешающая способность более 10 000;
- самые разнообразные источники ионов;
- идеальный второй анализатор для работы в режиме тандемной масс-спектрометрии;
- небольшие размеры.

1.6.6. Анализаторы масс с ионным циклотронным резонансом

Физические основы функционирования этого метода, основанные на принципе ионно-циклотронного резонанса, были разработаны в 30-х гг. XX в., а первый масс-спектрометр этого типа построен уже в 1950-х гг.

Основным конструктивным элементом прибора является находящаяся в скрещенных магнитном и электрическом полях ячейка небольшого объема, имеющая разнообразные формы, простейшей из которых является куб.

Для создания магнитного поля применяют постоянные магниты и электромагниты. Поскольку характеристики прибора улучшаются при увеличении напряженности поля, то наилучших результатов удалось достичь при использовании сверхпроводящих магнитов силой 3–9 Т.

В целях обеспечения высокой разрешающей способности в ячейке поддерживается высокий вакуум (до 10^{-10} кПа).

Ионы исследуемого образца, генерированные любым известным методом, направляются в ячейку, в которой и протекают все процессы их активации и детектирования. Входное отверстие в ячейку расположено на пластине, перпендикулярной силовым линиям магнитного поля. Можно генерировать ионы и непосредственно в самой ячейке.

Оказываясь в ячейке, ион, обладающий определенной скоростью теплового движения, испытывает на себе силу Лоренца, отклоняющую заряженную частицу от ее прямолинейного движения. Эта сила перпендикулярна направлению магнитного поля и скорости иона. Она уравнивается центробежной силой.

В результате такого воздействия заряженная частица приобретает траекторию с некоторым определенным радиусом кривизны.

Установлено, что чем меньше скорость частицы и чем выше напряженность приложенного магнитного поля, тем меньше этот радиус.

Таким образом, можно добиться такой ситуации, когда частица получит круговую траекторию и будет удерживаться в некотором определенном объеме пространства, вращаясь в нем с определенной частотой.

Изменение характера циклотронного движения ионов отражено на рис. 44.

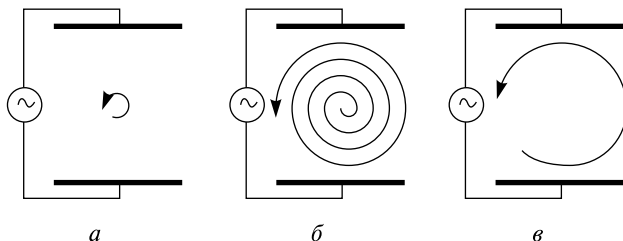


Рис. 44. Циклотронное движение ионов:

- а — циклотронное движение ионов до возбуждения;
 б — возбуждение ионов резонансным радиочастотным импульсом;
 в — циклотронное движение ионов после возбуждения

При большой величине напряженности магнитного поля ион описывает окружность радиусом r , величина которого определяется соотношением

$$F = ma = \frac{mv^2}{r} = ze\nu B,$$

где m — масса иона; v — компонента скорости иона в направлении, перпендикулярном магнитному полю; r — радиус траектории кругового движения иона; e — единичный заряд; z — число единичных зарядов у иона; B — напряженность магнитного поля.

Если выразить угловую (циклотронную) частоту ионов ω_c в радианах в секунду, то уравнение можно представить следующим образом:

$$\frac{mv}{r} = m\omega_c = zeB$$

или

$$\omega_c = \frac{zeB}{m}.$$

Обычно используется выражение для циклотронной частоты иона в герцах:

$$\nu_c = \frac{\omega_c}{2\pi} = \frac{zeB}{2\pi m}$$

или

$$\frac{m}{ze} = \frac{B}{2\pi\nu_c}.$$

В частности, циклотронная частота иона N_2^{+} в магнитном поле напряженностью 1,0 Т составляет:

$$\frac{1,6 \cdot 10^{-19} \text{ Кл} \cdot 1,0 \text{ Т}}{6,28 \cdot 28 \text{ Да} \cdot 1,66 \cdot 10^{-27} \text{ кг/Да}} = 570 \text{ кГц},$$

т. е. $5,7 \cdot 10^5$ циклов в секунду.

В соответствии с приведенным соотношением по величине частоты может быть определено отношение массы иона к величине его заряда, а следовательно, и сама масса иона.

Если исследуемый ион облучать электромагнитным излучением той же самой частоты, что и циклотронная частота, то ион приобретает резонансную энергию, которая приводит к увеличению его кинетической энергии. В соответствии с этим будет увеличиваться и радиус траектории, который может превышать размеры измерительной ячейки.

Таким образом, если в ячейке установить детектор, то исследуемые ионы, приобретая соответствующий радиус своей траектории, могут попадать на детектор и разряжаться. Следовательно, появляется возможность поочередно зарегистрировать все ионы, находящиеся в ячейке.

1.6.7. Анализаторы масс с ионным циклотронным резонансом с преобразованием Фурье

Масс-спектрометрия с преобразованиями Фурье основана на принципе ионно-циклотронного резонанса, и в настоящее время данный метод является одним из наиболее популярных в масс-спектрометрии.

Магнитное поле в масс-спектрометрах с преобразованиями Фурье, как правило, не изменяется, а масса иона определяется при измерении его циклотронной частоты. Следует подчеркнуть, что циклотронная частота не зависит от скорости, а следовательно, кинетической энергии иона. Поэтому появляется возможность достигать сверхвысокого разрешения (до сотен миллионов), которая уменьшается с увеличением массы иона и для достаточно тяжелых ионов она становится равной или даже уступает разрешающей способности магнитных анализаторов.

Удержание иона в ячейке осуществляется при подаче на задерживающие пластины, перпендикулярные силовым линиям магнитного поля, небольшого равного напряжения. Если исследуются положительные ионы, на пластины подается напряжение +3 В, если отрицательные –3 В. В результате ионы в ячейке претерпевают гармонические колебания между задерживающими пластинами. Комбинация магнитного и электрического полей создает трехмерную ловушку, в которой ионы могут существовать часами. Столь длительное время жизни ионов существенно отличает ионно-циклотронный резонанс от других масс-спектрометрических методов, когда ионы живут мили- и микросекунды.

Следует отметить, что масс-спектрометрия с преобразованиями Фурье имеет более строгие вакуумные ограничения. Для нормальной работы прибора в условиях высокого разрешения требуется давление на уровне 10^{-10} – 10^{-11} кПа. Такое давление достигается при использовании мощных криогенных или турбомолекулярных насосов.

Суперпозиция циклотронного движения и колебаний между задерживающими пластинами, формально независимых друг от друга, приводит к возникновению *магнетронного движения ионов*.

Магнетронная частота зависит от формы ячейки, расстояния между пластинами, напряженностей магнитного и электрического полей и не зависит от массы ионов. Эта частота имеет величину порядка 1–100 Гц, т. е. существенно ниже частоты циклотронного движения, которая лежит в кило- и мегагерцевом диапазоне. Магнетронный радиус иона определяется также начальным положением иона относительно основной оси ячейки. Для достижения максимального разрешения и максимальной точности определения массы магнетронный радиус должен быть минимизирован. Это достигается генерированием или вводом ионов в ячейку вдоль основной оси параллельно магнитным силовым линиям.

Простейшая последовательность событий для получения масс-спектра может быть представлена следующим образом: очистка ячейки – ионизация – возбуждение ионов – детектирование ионов.

Для очистки ячейки от ионов к задерживающим пластинам прикладывается асимметричное напряжение (например, +10 и –10 В). В результате все ионы, находившиеся в ячейке, покидают ее за несколько миллисекунд.

Процесс ионизации может включать образование ионов непосредственно в ячейке (электронный удар), рядом с ячейкой в условиях глубокого вакуума (матричная лазерная десорбционная ионизация), вне магнитного поля. В последнем случае образовавшиеся ионы направляются в ячейку с помощью системы электродов.

Для возбуждения и детектирования ионов их облучают приложением радиочастотного поля к паре противоположащих пластин, расположен-

ных параллельно линиям магнитного поля. Когда собственная частота иона оказывается в резонансе с частотой возбуждающего импульса, радиус траектории иона увеличивается по спирали. Поскольку скорость и радиус движения иона увеличиваются синхронно, угловая частота не изменяется и ион остается в резонансе. Ионы с другими массами продолжают при этом двигаться по своим нерезонансным орбитам. Если возбуждение продолжается в течение длительного времени, ускоренные ионы достигают боковых пластин и гибнут. Этот эффект можно также использовать для удаления ионов определенной массы из ячейки, например, работая в режиме тандемной масс-спектрометрии. Если же вовремя прекратить подачу радиочастотной энергии, ионы будут продолжать вращаться по орбите с большим радиусом.

В идеальных вакуумных условиях при отсутствии столкновений ионы теоретически должны оставаться на этих орбитах неограниченное время.

Процесс детектирования ионов представлен на рис. 45.

Циклотронное когерентное движение пучка разогнанных положительных ионов между детектирующими пластинами, имеющими потенциал Земли и соединенными друг с другом через сопротивление, обуславливает следующее. Когда положительные ионы движутся от левой к правой пластине, их электрическое поле заставляет электроны перемещаться в том же направлении по внешней цепи через сопротивление.

Во второй части циклотронного движения ионов электроны перемещаются в обратном направлении. Это движение электронов называют наведенным током.

Это переменный ток с частотой, равной разности частот циклотронного и магнетронного движения, а его амплитуда пропорциональна числу ионов данной массы в ячейке. Наведенный ток создает небольшое переменное напряжение на сопротивлении, которое может быть усилено и измерено. Таким образом, можно регистрировать ионы, не удаляя их из ячейки.

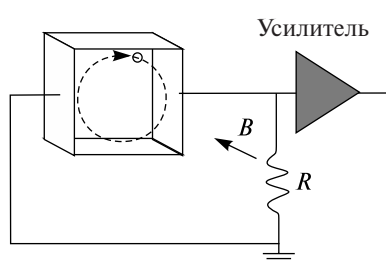


Рис. 45. Детектирование резонансно ускоренных ионов

но и измерено. Таким образом, можно регистрировать ионы, не удаляя их из ячейки.

В классическом варианте ионно-циклотронного резонанса для получения спектра необходимо было линейно сканировать частоту или напряженность магнитного поля. Это требовало значительного времени и большого количества образца.

Сущность масс-спектрометрии с преобразованиями Фурье заключается в возбуждении сразу всех ионов в результате приложения широкого радиочастотного импульса.

Существующие синтезаторы частот способны активировать ионы с собственными частотами от 10 кГц до 1 МГц за 1 мс.

Регистрируемый наведенный ток является комплексом синусоид с различной частотой и амплитудой.

Математические операции, основанные на преобразованиях Фурье, позволяют перейти от временного сигнала к масс-спектру в обычном виде (рис. 46).

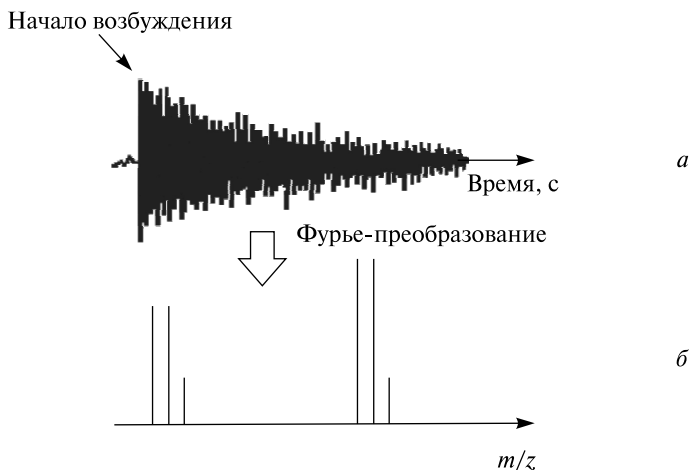


Рис. 46. Регистрируемый временной сигнал (а) и полученный после Фурье-преобразования масс-спектр (б)

Хотя вся необходимая информация о массовых числах ионов содержится в любом коротком сегменте временного сигнала, полезно записать сигнал полностью. Дело в том, что разрешающая способность анализатора масс прямо пропорциональна продолжительности зарегистрированного временного сигнала.

Если обозначить это время T , то разрешение в спектре можно рассчитывать по уравнению

$$R = \frac{T\nu_c}{2}.$$

К сожалению, T имеет ограничения. Амплитуда временного сигнала уменьшается во времени, поскольку когерентность ионного пучка на-

рушается в результате столкновений ионов с нейтральными частицами. Использование более глубокого вакуума будет способствовать увеличению разрешающей способности. В частности, временной сигнал до 60 с получают в вакууме 10^{-11} кПа.

Хорошие результаты получены при использовании масс-спектрометрии с преобразованиями Фурье для анализа соединений большой массы (особенно в сочетании с матричной лазерной десорбционной ионизацией). Особенно ценно сверхвысокое разрешение метода, позволяющее устанавливать точные массы ионов. Также хорошие результаты были получены при работе в режиме тандемной масс-спектрометрии.

В начале 80-х гг. XX в. казалось, что масс-спектрометрия с преобразованиями Фурье позволит анализировать ионы любой массы, однако существуют не только практические, но и теоретические пределы. Прежде всего, следует отметить, что, начиная с определенной массы, сила радиального электрического поля начинает превосходить силу Лоренца. Кроме того, радиус циклотронной орбиты ионов, движущихся со скоростями теплового движения, растет с увеличением их массы, т. е. теоретический предел масс для каждой ячейки определяется ее размерами. Первый фактор является более важным, чем второй.

В ячейке размером 2,5 см с задерживающим напряжением 1 В в магнитном поле $3T$, радиальное электрическое поле не позволяет анализировать однозарядные ионы тяжелее 40 000 Да.

Термический радиус циклотронной орбиты анализируемого иона играет значительно меньшую роль. Для указанных параметров анализа предел по этому показателю составит 10 000 000 Да.

1.6.8. Анализатор нового типа «Орбитрэп»

Установлено, что при использовании непрерывных источников ионов, обладающих широким диапазоном масс, высокой чувствительностью и большим динамическим диапазоном, электростатические ловушки оказываются недостаточно эффективными.

В целях устранения отмеченных недостатков предложен прибор, соединяющий классическую линейную квадрупольную ловушку с анализатором нового типа, получившего название «Орбитрэп», через квадрупольную накопительную ловушку (С-ловушку).

Эта дополнительная квадрупольная ловушка служит для накопления и «охлаждения» ионов перед их вводом в анализатор «Орбитрэп».

Последовательность перемещения ионов в этом устройстве представлена на рис. 47.

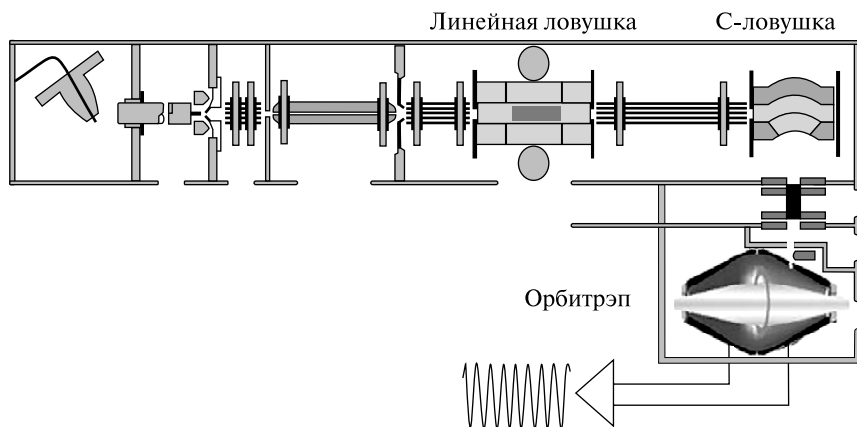


Рис. 47. Принципиальная схема устройства масс-анализатора «Орбитрэп»

Ионы собираются в линейной ловушке, аксиально выталкиваются, запираются в С-ловушке, где сжимаются до небольшого объема, и направляются в «Орбитрэп».

Для анализа ионов в «Орбитрэпе» между внутренним и внешним электродами создается симметричное статическое электрическое поле специальной формы. Попадающие в это поле ионы начинают двигаться по стабильным циклическим траекториям вокруг центрального электрода и одновременно осциллировать вдоль его оси.

Вращаясь вокруг центрального электрода и совершая аксиальные колебания, ионы создают наведенный ток на внешних половинках «Орбитрэпа», который детектируется дифференциальным умножителем.

Ионы каждой массы генерируют соответствующую синусоидальную волну.

Заканчивается процедура получения спектра преобразованиями Фурье, благодаря которым частотный спектр трансформируется в классический масс-спектр. Разрешающая способность при скорости отбора данных 1 спектр/с составляет 60 000, а максимальная разрешающая способность превышает 100 000. Точность измерения массы при использовании внутреннего стандарта — меньше 2 млн^{-1} (частей на миллион), а при использовании внешнего стандарта — меньше 5 млн^{-1} .

Учитывая отсутствие сверхпроводящих магнитов на жидком гелии, данный масс-спектрометр становится серьезным конкурентом наиболее дорогостоящему на сегодняшний день масс-спектрометрическому методу — масс-спектрометрии ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье.

1.6.9. Гибридные (комбинированные) и tandemные анализаторы масс

При использовании «мягких» методов ионизации из исходных молекул образуются первичные ионы, обладающие, как правило, незначительной внутренней энергией и по этой причине не претерпевающие дальнейшей фрагментации. Для того чтобы получить информацию о структуре молекул, используют *проведение процедуры принудительной диссоциации этих первичных ионов, что и является отличительным признаком tandemной масс-спектрометрии.*

Метод tandemной масс-спектрометрии основан на использовании масс-спектрометров как минимум с двумя масс-анализаторами, между которыми располагается так называемая ячейка столкновения.

Последовательность протекающих при этом процессов приведена на рис. 48.

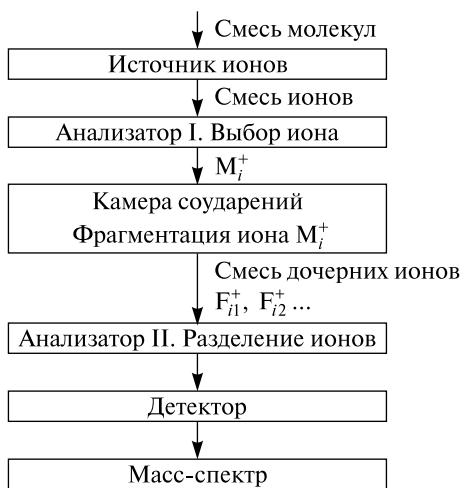


Рис. 48. Схема реализации метода tandemной спектрометрии

Образовавшиеся в ионном источнике ионы исследуемых соединений разделяются по своим массам в первом анализаторе. Далее выбранный пучок ионов с одинаковой массой, получивших название *ионов-предшественников*, попадает в ячейку столкновений, заполненную благородным газом.

Ячейка столкновений выполняет роль второго источника ионов, в котором при столкновении с атомами газа ионы-предшественники исследуемого соединения, соответствующим образом выделенные из ионного пучка, получают приращение внутренней энергии и вследствие протекания

процессов диссоциации, индуцированной столкновениями, распадаются на фрагменты, т. е. происходят процессы фрагментации ионов-предшественников, в результате которых образуются новые ионы — *ионы-продукты*. Образовавшиеся ионы-продукты направляются во второй анализатор, в котором происходит их разделение и последующее детектирование.

Основная суть процессов фрагментации ионов-предшественников, происходящих в ячейке столкновений, состоит в следующем.

По времени жизни все ионы, образующиеся в ионном источнике и вылетающие из него, делятся на три группы:

- со временем жизни менее 10^{-7} с. Эта группа ионов полностью распадается, находясь еще в объеме источника ионов и только их осколки покидают источник;
- со временем жизни более 10^{-6} с. Ионы этой группы способны достичь детектора до их разложения;
- со временем жизни в диапазоне 10^{-6} – 10^{-7} с. Это группа так называемых метастабильных ионов, которые оказываются достаточно стабильными, чтобы миновать область действия первого анализатора, но обладают еще достаточной энергией, чтобы разложиться на пути следования ко второму анализатору.

Именно эта, последняя категория ионов, и является объектом взаимодействий в ячейке столкновений.

В ячейку столкновений напускают газ (гелий, аргон) с атомами которого и сталкиваются метастабильные ионы. За время столкновений, которое составляет 10^{-14} – 10^{-16} с, происходит возбуждение иона и его последующий распад.

Столкновения, реализуемые в ячейке, подразделяются на две группы — высокоэнергетические (несколько килоэлектронвольт) и низкоэнергетические (сотни электронвольт).

Высокоэнергетические столкновения осуществляются в ячейках, расположенных между магнитным и электростатическим анализаторами или между обратной последовательностью этих анализаторов.

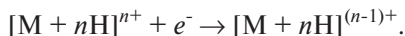
Низкоэнергетические столкновения реализуются в ячейках масс-спектрометров с тройными квадрулями, где средний квадруполь выполняет роль ячейки столкновений.

Поскольку величина энергии, передающейся ионам при низкоэнергетических столкновениях ниже, чем при высокоэнергетических столкновениях, для заполнения ячейки используются более легкие газы — аргон, ксенон, криптон.

Для проведения активированной диссоциации ионов-предшественников в ячейке столкновений используются возможности электронного или фотонного пучка лучей, а также столкновение с поверхностью.

Еще одним вариантом диссоциации является взаимодействие положительных ионов-предшественников с тепловыми электронами, энергия которых меньше 0,2 эВ. В этом случае протекают процессы захвата электронов и образующиеся ионы претерпевают характеристический распад.

Сечение данной реакции сильно возрастает с увеличением заряда иона:



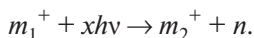
Возникающий радикальный центр инициирует специфическую фрагментацию молекул.

Данный метод особенно широко применяется для определения последовательности звеньев в биополимерах методом ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье, источником ионов для которого служит электроспрей.

Известен также и так называемый *метод распада после источника*, который заключается в том, что метастабильные ионы, вылетевшие из источника ионов, могут распадаться во втором анализаторе масс, но образовавшиеся продукты распада будут регистрироваться при этих же значениях отношений массы к заряду, что и их предшественники.

Если дополнительно применять специальное устройство, рефлектрон, то анализатор становится способным разделить ионы-предшественники и продукты их распада по их кинетическим энергиям. Такой подход позволяет получить масс-спектры, содержащие большое число пиков фрагментных ионов, полезных при структурных отношениях.

Следует отметить еще один метод, *метод инфракрасной мультифотонной диссоциации*, который основан на диссоциации ионов, активированной поглощенными фотонами:



Энергию фотонов можно изменять. Метод удобен для использования с масс-спектрометрией ионного циклотронного резонанса, когда ионы можно удерживать в ячейке при возбуждении фотонами длительное время.

1.7. ДЕТЕКТИРОВАНИЕ ИОНОВ

Последним звеном получения масс-спектра является процесс детектирования ионов.

Основные требования, предъявляемые к детектору, сводятся к следующему:

- минимальное снижение разрешающей способности, которую позволяют получить выбранный анализатор и источник ионов;
- максимальная чувствительность;

- обеспечение заданной точности анализа;
- обеспечение необходимой скорости записи спектров;
- стабильность характеристик во времени;
- временное разрешение детектора, обеспечивающее необходимую разрешающую способность и точность измерений.

В зависимости от сложности решаемой задачи для детектирования ионов используются:

- фотопластинки;
- электрометры;
- детекторы Фарадея;
- решетчатые детекторы;
- вторичные электронные умножители;
- фотоумножители.

В ранних масс-спектрометрах детектирование ионов производилось с использованием *фотопластинки*, расположенной в фокальной плоскости ионного луча за масс-анализатором.

Бомбардировка фотопластинок ионным пучком приводит к образованию скрытого изображения на зернах галогенидов серебра, диспергированных в желатине. Поскольку пробег ионов с энергией до 20 кэВ в эмульсии небольшой, толщина эмульсионного слоя должна быть очень маленькой, а содержание галогенида серебра выше, чем в эмульсиях для регистрации обычных световых пучков.

Пластинка затем проявлялась, обрабатывалась с помощью денситометра и по величине ее затемненности устанавливалась относительная интенсивность каждого конкретного иона. Подобные устройства для детектирования ионов получили название *масс-спектрографов*.

Масс-спектрограмма положительных ионов приведена на рис. 49.

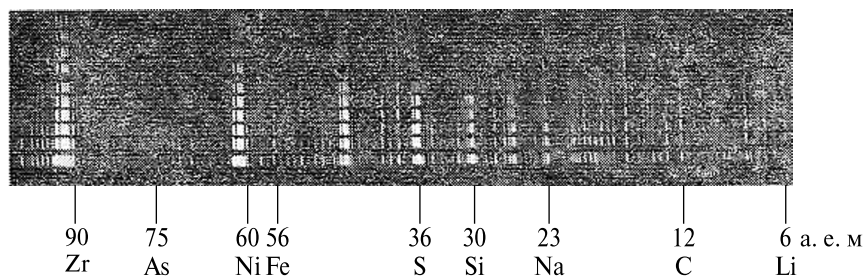


Рис. 49. Масс-спектрограмма положительных ионов

Разрешение такой системы оставляло желать много лучшего, а интенсивность засветки была не прямо пропорциональна количеству ионов.

Из существующих способов повышения чувствительности, целесообразно отметить следующие:

- удаление желатина из ионочувствительного слоя, что уменьшает различия в глубине внедрения ионов и приводит к выравниванию чувствительности эмульсии для легких и тяжелых ионов;
- введение в эмульсию люминесцентных веществ, что приводит к усилению вторичного механизма почернения;
- добавление серы в эмульсию при ее изготовлении для образования соединения Ag_2S ;
- введение AgI в кристаллы бромида серебра для увеличения центров чувствительности;
- увеличение энергии ионов.

Для измерения ионных токов используют также *электрометры*, действие которых основано на измерении постоянного напряжения, создаваемого либо за счет протекания ионного тока по высокоомному сопротивлению, либо за счет накопления заряда на емкости, подключенной к коллектору.

Электрометры, измеряющие падение напряжения за счет протекания тока на высокоомном сопротивлении, получили название *электрометрических усилителей постоянного тока* (УПТ), а электрометры, использующие явление накопления заряда на емкости, называются интеграторами тока. В масс-спектрометрии в основном используют электрометрические усилители постоянного тока, которые характеризуются чувствительностью 10^{-15} А при сопротивлении на входе $10^{11} - 10^{12}$ Ом.

Принципиальная схема устройства приемника ионного тока приведена на рис. 50.

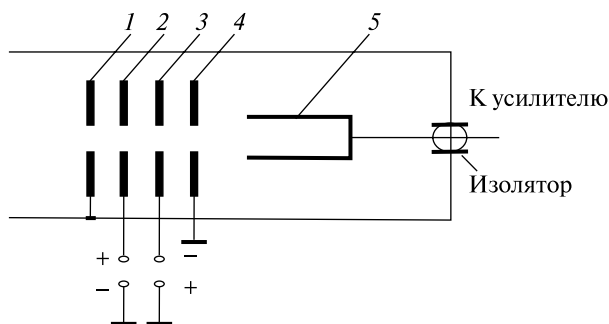


Рис. 50. Принципиальная схема устройства приемника ионного тока:
 1 – приемная щель; 2 – электрод задержки; 3 – антидинаatronный электрод;
 4 – экранирующий электрод; 5 – коллектор

При регистрации спектра масс разрешающая способность и чувствительность масс-спектрометра будут зависеть от ширины входной щели приемника и ее пространственного расположения. Для обеспечения большей разрешающей способности ширину входной щели приемника следует выбирать существенно меньшей, чем ширина пучка в плоскости щели.

Для измерения ионных токов, обусловленных наличием изотопов, используются двухколлекторные (двухлучевые) приемники А. Нира.

Принципиальная схема устройства такого приемника приведена на рис. 51.

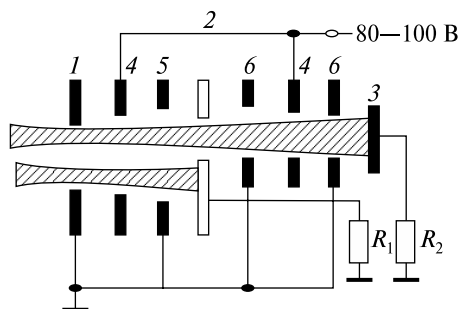


Рис. 51. Двухлучевой приемник ионов Нира для измерения концентрации изотопов относительным методом

Следует учитывать существование возможных причин погрешностей измерения ионных токов, таких как:

- динаatronный эффект;
- вторичная эмиссия ионов и электронов из краев щелей и попадание их на коллектор;
- неполное собиpание ионов при ширине входной щели приемника меньшей, чем ширина ионного пучка в ее плоскости;
- недостаточное разрешение и, следовательно, наложение соседних ионных пучков из-за слишком большой ширины входной щели приемника и непараллельности входной щели приемника и выходной щели источника;
- попадание на коллектор рассеянных ионов соседних пучков;
- выбивание вторичных ионов из коллектора;
- дрейф нуля и шумы электpометрического усилителя;
- погрешности измерительных приборов и элементов электронных схем;
- нелинейность характеристики усилителя постоянного тока.

В некоторых масс-спектрометрах для детектиpования ионов применяются так называемые *чашки Фарадея*, в которых ионы попадают на электpод, соединенный непосредственно с чувствительным усилителем.

Детектор Фарадея целесообразно использовать при выполнении точных количественных определений, поскольку минимальный измеряемый ток в отсутствие фона равен $1,4 \cdot 10^{-15}$ А, при точности измерения до 10 % минимальный измеряемый ток равен $0,7 \cdot 10^{-14}$ А, а при точности измерения до 1 % – $0,7 \cdot 10^{-13}$ А.

Принципиальная схема устройства *решетчатого детектора*, который представляет собой пластинку с просверленными в ней цилиндрическими отверстиями диаметром 15–20 мкм, приведена на рис. 52. Расстояние между центрами отверстий составляет 10–30 мкм.

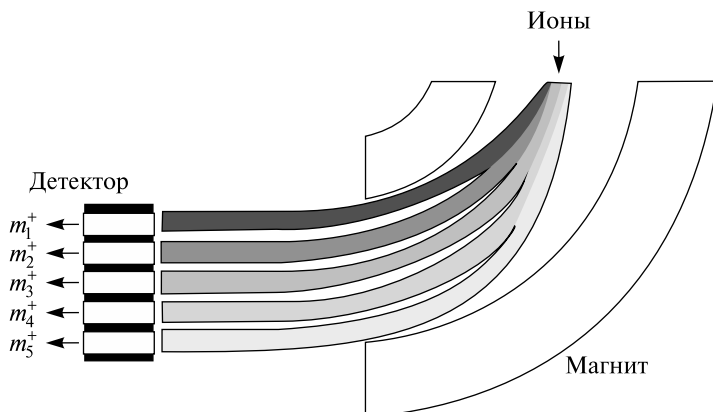


Рис. 52. Принципиальная схема решетчатого детектора

Сторона входа пластинок имеет отрицательный потенциал (~ 1 кВ) относительно стороны выхода. Внутренняя поверхность каналов покрыта полупроводниковым материалом, благодаря которому осуществляется эмиссия вторичных электронов. Коэффициент умножения такого устройства равен 10^5 . При использовании 2–3 пластинок коэффициент можно повысить до 10^8 .

Выходя из канала, поток вторичных электронов попадает на анод, и сигнал передается на процессор. Такое устройство напоминает фотографическую пластинку. Ионы с разной величиной отношения массы к заряду при сканировании параметров анализатора направляются на разные каналы и могут детектироваться одновременно.

Решеточный детектор, безусловно, более чувствителен, однако и стоимость его выше.

Токи, создаваемые незначительным количеством ионов с одним и тем же значением отношения массы к заряду, как правило, составляют

величины порядка $10^{-9} - 10^{-17}$ А и являются слишком малыми для их непосредственного измерения.

Поэтому после прохождения анализатора, пучок первичных ионов направляется на специальное устройство, выполняющее роль умножителя, которое должно перевести образовавшийся поток ионов в соответствующий усиленный поток фотонов или электронов.

В настоящее время для детектирования ионов чаще всего используются *вторичные электронные умножители и фотоумножители*.

Вторичные электронные умножители состоят из серии электродов (динодов), к которым приложена разность потенциалов, причем потенциал каждого последующего динода несколько выше, чем предыдущего.

Принципиальная схема устройства электронного умножителя приведена на рис. 53.

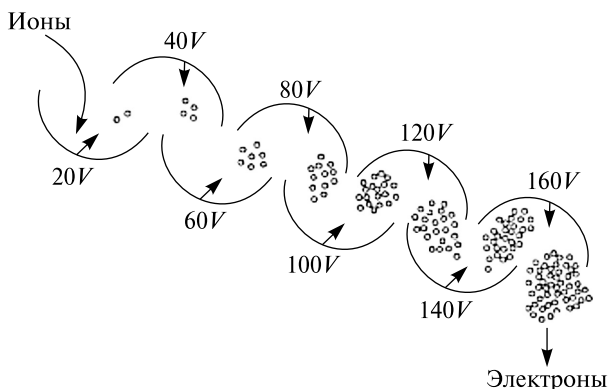


Рис. 53. Принципиальная схема электронного умножителя

Единичный ион, выходя из анализатора масс, ударяется о поверхность первого динода и выбивает из него несколько электронов, которые под действием разности потенциалов ускоряются и попадают на следующий электрод.

Среднее число выбитых на диноде электронов на один ион характеризуется коэффициентом ионно-электронной эмиссии A , который определяется из соотношения

$$A = I_e / I,$$

где I_e — величина тока, обусловленная выбитыми электронами; I — величина первичного ионного тока.

Величина A чаще всего может достигать значения от 1 до 10, а в некоторых случаях до 19 единиц.

Таким образом, с поверхности каждого последующего динода выбрасывается большее число электронов, чем на него попадает, что и приводит к лавинообразному возрастанию эмиссии электронов.

В результате такого каскадного процесса очень слабый электрический ток, создаваемый первичными ионами, резко усиливается.

Если число динодов в электронном умножителе равно n , а коэффициент электрон-электронной эмиссии на каждом диноде равен B , то коэффициент усиления всей системы будет определяться выражением

$$K = AB^n.$$

Коэффициент усиления характеризует среднее число электронов на аноде вторичного электронного умножителя при попадании одного иона на его катод. Коэффициент усиления такой системы, который пропорционален разности потенциалов между первым и последним динодами, может превышать 10^6 .

Последний динод соединен с предусилителем, который преобразует регистрируемый ток в напряжение, как наиболее удобную для цифровой компьютерной регистрации форму.

При коэффициенте усиления, равном 10^6 – 10^7 , при использовании усилителя постоянного тока с чувствительностью 10^{-11} – 10^{-12} А чувствительность вторичного электронного умножителя может достигать величины 10^{-17} – 10^{-18} А.

Диноды вторичных электронных умножителей обычно изготавливаются из материалов с большим коэффициентом вторичной ионно- и электрон-электронной эмиссии и слабо подвергающихся «отравлению» под действием пучка ионов и при напуске атмосферного воздуха. Этим условиям хорошо удовлетворяют 2 % медно-бериллиевый сплав, 2 % серебряно-магниевый сплав, а также сплавы никеля.

Коэффициент усиления некоторых вторичных электронных умножителей из-за контакта с атмосферой может снижаться на 2–3 порядка.

Срок службы такого электронного умножителя составляет, как правило, 1–2 года, что связано с загрязнением поверхности динодов в результате взаимодействия с ионами, а также с работой в условиях высокого вакуума.

В соответствии с их конструктивными особенностями чаще всего используются следующие типы вторичных электронных усилителей: коробчатые, ковшеобразные, жалюзийные, тороидальные, каналные.

В некоторых приборах пучок ионов ускоряется перед первым динодом электростатическим полем. Поскольку увеличение энергии ионов приводит к увеличению выхода вторичных электронов, то будет иметь место и увеличение чувствительности.

Для регистрации ионов используются также *фотоумножители*, действие которых основано на принципе регистрации фотонов, являющихся результатом протекания процесса сцинтилляции, кратковременной (10^{-4} – 10^{-9} с) световой вспышки (вспышка люминесценции), возникающей в сцинтилляторах под действием ионизирующих излучений. Сцинтилляторами могут выступать кристаллофосфоры (например, ZnS, NaI), органические кристаллы (например, антрацен, стильбен), растворы пластмасс, благородные газы.

Принципиальная схема устройства фотоумножителя приведена на рис. 54.

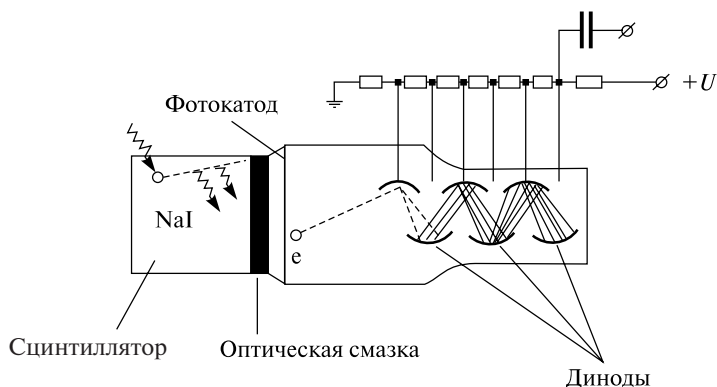


Рис. 54. Принципиальная схема фотоумножителя

Поток ионов направляется на конверсионный динод и вызывает эмиссию вторичных электронов. Электроны направляются на сцинтилляционный экран, где происходит эмиссия фотонов, которые далее попадают на каскадный умножитель, аналогичный описанной выше динодной системе. Усиленный поток фотонов регистрируется. Обладая таким же коэффициентом усиления, что и электронный умножитель, фотоумножитель имеет срок службы до 5 лет, так как фотоны в отличие от электронов проходят через стекло, т. е. умножитель может функционировать в запаянной трубке в условиях глубокого вакуума.

Необходимо отметить следующие недостатки сцинтилляционного детектора:

- для получения высокой чувствительности необходимо ускорение ионов до энергии 50–70 кэВ, в то время как в масс-спектрометрах энергия ионов составляет величину порядка 10–20 кэВ;
- при высоких энергиях, особенно в случае попадания довольно интенсивных пучков, сцинтиллятор быстро разрушается и не регенерируется;

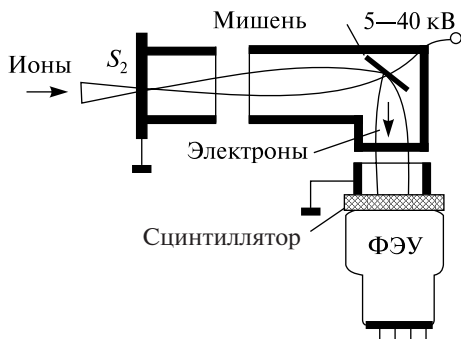


Рис. 55. Принципиальная схема сцинтилляционного детектора с ионно-электронным преобразователем

- существует неопределенность в зависимости интенсивности сцинтилляции от массы, энергии, заряда и состава регистрируемых ионов;
- фотоумножители обычно имеют значительный «темновой» ток;
- при продолжительном воздействии положительных ионов на люминофор его чувствительность снижается;
- к легким массам люминофоры имеют большую чувствительность, чем к тяжелым;
- спектр излучения люминофора должен соответствовать спектральной чувствительности фотокатода умножителя.

Некоторые из отмеченных недостатков сцинтилляционного детектора удается устранить путем его комбинации с ионно-электронным преобразователем. Принципиальная схема такого устройства приведена на рис. 55.

1.8. ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА И ПОДХОДЫ К ИНТЕРПРЕТАЦИИ МАСС-СПЕКТРОВ

Среди качественных теорий масс-спектрометрического распада наиболее признанными являются концепции:

- оценки стабильности ионов и нейтральных частиц;
- локализации заряда и неспаренного электрона.

В каждом из этих случаев используется принцип минимальных структурных изменений на каждой стадии распада, а структура молекулярного иона принимается равной структуре исходной молекулы, если какие-либо процессы изомеризации первичного молекулярного иона M^{+} не отмечены особо.

Однако сами по себе обе эти теории позволяют сделать лишь качественные выводы и только использование их в комплексе помогает успешно интерпретировать масс-спектры разнообразных органических соединений.

1.8.1. Стабильность ионов и нейтральных частиц

В подавляющем большинстве случаев можно считать, что энергия активации реакции, обратной реакции распада, отсутствует или очень мала, и можно предположить, что для эндотермической фрагментации переходное состояние будет значительно ближе к продуктам реакции, чем к исходной частице.

Следовательно, степень стабильности этих продуктов будет в значительной мере определять эффективность процесса фрагментации. При этом следует учитывать стабильность не только дочернего иона, но и отщепляющейся нейтральной частицы.

При оценке стабильности можно использовать обычные критерии.

Например, третичный алкильный карбокатион устойчивее вторичного, а вторичный — устойчивее первичного. Для карбанионов этого типа порядок стабильности обратный.

Бензильный и аллильный ионы устойчивы благодаря резонансной стабилизации, причем для бензильного катиона помимо четырех резонансных форм существует возможность энергетически выгодной в газовой фазе трансформации в катион тропилия, который имеет уже семь резонансных форм.

Напротив, sp^2 -гибридизованные фенильный и винильный катионы менее устойчивы по сравнению с их sp^3 -гибридизованными аналогами.

Резонансная стабилизация также приводит к значительному усилению стабильности в случае возможного участия π -электронов гетероатомов, присутствующих в составе молекулы исследуемого соединения.

При образовании нейтральных продуктов фрагментации распад по определенному направлению может осуществляться благодаря удобной делокализации в нем электрона. Так, делокализация электрона вследствие эффекта резонанса увеличивает стабильность аллильного и бензильного радикалов. При этом следует учитывать, что стабилизация заряда более существенна, чем стабилизация неспаренного электрона. Так, например, если *трет*- $C_4H_9^+$ стабильнее *н*- $C_4H_9^+$ на 1,5 эВ, то *трет*- $C_4H_9^\bullet$ стабильнее *н*- $C_4H_9^\bullet$ всего только на 0,4 эВ.

Достаточно часто ионы распадаются с выбросом небольших нейтральных молекул: водорода, метана, воды, оксида углерода (II) и диоксида углерода, монооксида азота, хлороводорода, сероводорода, метанола и др.

Большая отрицательная величина теплоты образования этих молекул создает преимущества для реализации соответствующего направления распада.

Правило выброса максимального алкильного радикала. Важнейшим исключением, когда интенсивность пика ионов падает с увеличением их термодинамической стабильности, является предпочтительное отщепление большего алкильного радикала.

Этот эффект называется *правилом выброса максимального алкильного радикала*. Это правило применимо к отщеплению радикалов не меньше этильного, а интенсивности пиков вторичных ионов должны суммироваться с интенсивностью пика соответствующего первичного иона.

Правило Стивенсона. Разрыв простой связи в нечетноэлектронном ионе может привести к двум парам ионов и радикалов:



В правиле, сформулированном Д. Стивенсоном, утверждается, что поскольку фрагмент с большей энергией ионизации имеет большую склонность к удержанию неспаренного электрона, то вероятность образования иона с меньшей энергией ионизации будет больше. Поскольку такой ион, как правило, и более стабилен, его пик в масс-спектре будет интенсивнее, чем пик альтернативного иона (табл. 1, 2).

Таблица 1

Энергии ионизации фрагментов и интенсивности пиков комплементарных ионов

Соединение $AB-XY$	Энергия ионизации (AB), эВ	Интенсивность AB^+ (% к макс.)	Энергия ионизации (XY), эВ	Интенсивность XY^+ (% к макс.)
$\text{HOCH}_2 - \text{CH}_2\text{NH}_2$	$\approx 7,6$	2,3	$\approx 6,2$	100
$(\text{CH}_3)_2\text{CH} - \text{CH}_2\text{OH}$	7,55	100	$\approx 7,6$	67
$(\text{CH}_3)_3\text{C} - \text{CH}_2\text{OH}$	6,93	100	$\approx 7,6$	7,4
$(\text{CH}_3)_3\text{C} - \text{CH}_2\text{NH}_2$	6,93	7,7	$\approx 6,2$	100
$\text{ClCH}_2 - \text{CH}_2\text{OH}$	9,3	4,0	$\approx 7,6$	100
$\text{BrCH}_2 - \text{CH}_2\text{OH}$	8,6	15,2	$\approx 7,6$	100

**Энергии ионизации фрагментов и интенсивности пиков
в масс-спектрах альдегидов**

Соединение	Фрагмент, энергия ионизации (эВ)	Интенсив- ность (% к макс.)	Фрагмент, энергия иониза- ции (эВ)	Интенсив- ность (% к макс.)
Бутаналь	$C_2H_4 - 10,5$	3,4	$C_2H_4O - 9,5$	16,5
Пентаналь	$C_3H_6 - 9,8$	2,4	$C_2H_4O - 9,5$	26,4
Гексаналь	$C_4H_8 - 9,6$	16,1	$C_2H_4O - 9,5$	15,0
2-метилпентаналь	$C_3H_6 - 9,8$	1,7	$C_3H_6O - 9,0$	25,1
3-метилпентаналь	$C_4H_8 - 9,3$	27,0	$C_2H_4O - 9,5$	5,9

Установлено, что если разница в энергиях ионизации альтернативных радикалов составляет более 0,3 эВ, пик иона с меньшей энергией ионизации доминирует в масс-спектре. Если же различия в энергиях ионизации составляют менее 0,3 эВ, интенсивности пиков примерно равны.

Правило Стивенсона выполняется и для распада с перегруппировкой:



В этом случае в результате реакции образуются нейтральная молекула и катион-радикал, т. е. за заряд конкурируют две молекулы. Катион-радикалом становится та молекула, энергия ионизации которой ниже.

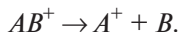
Следует учитывать, что правило Стивенсона описывает реакции с термодинамическим контролем и не применимо для реакций с кинетическим контролем.

Правило распада четноэлектронных ионов. В соответствии с правилом распада четноэлектронных ионов они распадаются в основном с выбросом молекул, а не радикалов. Таким образом, из катионов образуются прежде всего катионы, а не катион-радикалы.

Это связано с тем, что процесс разрыва связи с образованием двух радикалов наиболее энергоемкий. Учитывая также, что стабильность радикальных частиц меньше, чем молекул или катионов, такой процесс не может конкурировать с альтернативным отщеплением молекул.

В результате фрагментации заряд четноэлектронного иона может сохраняться на том же атоме, что и у предшественника, а может и мигрировать.

В общем виде реакция распада четноэлектронного иона выражается следующим уравнением:



Выгодность обратной реакции, идущей практически без энергии активации, зависит от сродства молекул B к катиону A^+ . Чем выше это сродство, тем активнее протекает реакция. Поскольку сродство к катиону должно изменяться параллельно сродству к протону, то вероятность того, что разные катионы AB^+ будут распадаться с образованием идентичного иона A^+ , обратно пропорциональна величинам сродства к протону для соответствующих молекул B .

Подтверждением этого служит сравнение выгодности отщепления молекул аммиака, воды и хлороводорода протонированными молекулярными ионами соответствующих аминов, спиртов и алкилхлоридов. Так, аммиак (сродство к протону 9,1 эВ) практически не отщепляется из MH^+ аминов, пик, обусловленный выбросом молекулы воды (сродство к протону 7,7 эВ) из MH^+ спиртов, весьма интенсивен в их масс-спектрах химической ионизации, а отщепление хлороводорода (сродство к протону 6,4 эВ) из MH^+ алкилхлорида является доминирующим процессом.

Правило степеней свободы. Еще одно правило, которое носит название «правило степеней свободы», связывает интенсивность пика метастабильного иона для вторичного распада фрагментного иона с размером молекулярного иона.

Для гомологического ряда установлено, что десятичный логарифм отношения интенсивности пика метастабильного иона для последующего распада первичного фрагмента к интенсивности пика этого первичного фрагмента линейно связан обратно пропорциональной зависимостью с числом колебательных степеней свободы в исходном молекулярном ионе.

При этом следует исходить из того, что избыточная энергия молекулярного иона распределяется пропорционально числу колебательных степеней свободы в образующихся ионе и нейтральном фрагменте. Следовательно, чем больший нейтральный фрагмент отщепился, тем меньшим будет разброс избыточной энергии фрагментного иона. Именно эта энергия и обуславливает вторичные процессы распада.

Прочность химических связей. Энергия образования фрагментного иона из нейтральной молекулы может быть представлена в виде суммы энергии гомолитического разрыва конкретной связи в молекуле и энергии ионизации соответствующего образовавшегося радикала.

Энергия связей атомов в молекуле органического соединения лежит, как правило, в диапазоне 2–4 эВ, а энергия ионизации равна, как пра-

вило, 6–12 эВ. Следовательно, энергия ионизации является более важным фактором и влияние ее величины для различных фрагментов на интенсивность пиков ионов в масс-спектрах регламентируется правилом Д. Стивенсона. Однако в тех случаях, когда конкурирующие процессы приводят к ионам с близкой стабильностью, прочность связи становится решающим фактором.

Структурные и стереохимические факторы. Высокие энергии ионов в масс-спектрометрии не всегда нивелируют различия, вызываемые пространственными характеристиками молекулы, и *стерические факторы* оказывают максимальное влияние на структуру активированного комплекса, наиболее наглядно проявляясь в перегруппировочных процессах.

При этом увеличение внутренней энергии $M^{+\cdot}$ приводит к уменьшению количеств продуктов перегруппировки, а уменьшение энергии молекулярных ионов, например, при использовании ионизирующих электронов с энергией 12–20 эВ, напротив, приводит к возрастанию относительных интенсивностей пиков перегруппировочных ионов в ущерб пикам осколочных ионов.

Ортоэффект. Одно из наиболее известных проявлений влияния структурных различий — это *ортоэффект*. Оказалось, что масс-спектры подавляющего большинства ортозамещенных органических соединений существенно отличаются от их *мета*- и *пара*-изомеров. Примером масс-спектрометрического ортоэффекта служит фрагментация молекулярных ионов алкилсалициловой кислоты, в спектрах ионизации электронами которых наблюдаются интенсивные пики ионов, образующиеся в результате отщепления молекулы спирта. Масс-спектры *мета*- и *пара*-изомеров алкилсалицилатов пиков таких ионов не содержат.

1.8.2. Концепция локализации заряда и неспаренного электрона

Вариантом интерпретации процессов распада в масс-спектрометрии служит предположение о том, что в сложной молекуле распад инициируется зарядом или неспаренным электроном, локализованными в наиболее благоприятном месте молекулы.

Если рассматривать молекулярный ион, то для него необходимо выделить основное, невозбужденное, состояние, т. е. удалить электрон с высшей занятой молекулярной орбитали. Следовательно, наиболее благоприятные для неспаренного электрона и заряда места в молекулярном ионе связаны с потерей электрона с минимальной энергией ионизации,

а энергетические требования в этом случае аналогичны известным в УФ-спектроскопии для электронных переходов: $\sigma < \pi < n$.

Концепция локализации заряда и электрона становится тем более справедливой, чем уже разброс избыточной энергии в $M^{+\bullet}$. В этом случае увеличивается и доля низкоэнергетических реакций, логарифмы констант скоростей которых меньше 8.

Радикальный центр и центр, несущий заряд, могут располагаться как на одном атоме (например, удаление n -электрона), так и на разных атомах (например, удаление электрона π -связи). Во фрагментных ионах эти центры могут оказаться на значительном расстоянии друг от друга.

Фрагментация, удаленная от места локализации заряда. Существуют также и случаи *фрагментации, удаленной от места локализации заряда*. Примером является фрагментация анионов жирных кислот, когда отщепляются молекулы водорода и алкена. Для протекания такого процесса необходима цепочка не менее чем из четырех атомов углерода в молекуле, причем интенсивность процессов фрагментации возрастает с увеличением длины алкильной цепи.

1.8.3. Практические основы интерпретации масс-спектров

Интерпретация масс-спектрометрических данных зачастую оказывается проще по сравнению с интерпретацией в других спектральных методах. Во многих случаях для установления структуры исследуемого соединения достаточно обычных химических знаний.

Так, например, на рис. 56 приведен масс-спектр электронной ионизации исследуемого соединения.

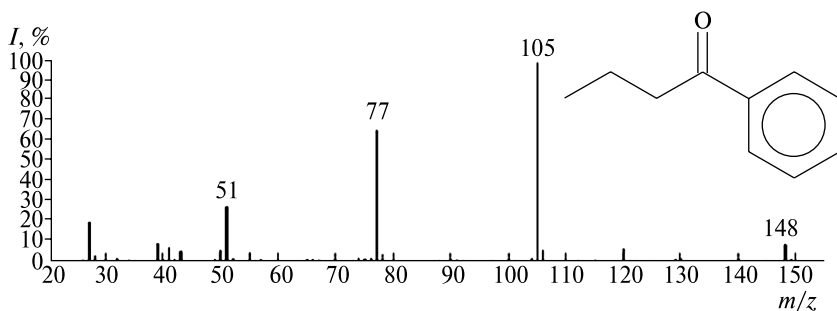


Рис. 56. Масс-спектр электронной ионизации исследуемого соединения

Видно, что самый тяжелый ион, зарегистрированный масс-спектрометром, имеет массу 148 Да, что соответствует молекулярной массе соединения. Масс-спектрометрия высокого разрешения позволяет установить его точную массу, равную 148,0888 дальтон, что соответствует элементному составу $C_{10}H_{12}O$.

Небольшое количество пиков фрагментных ионов в масс-спектре свидетельствует об их сравнительно высокой устойчивости и энергетической выгодности образования, что обычно является характерным для ароматических соединений.

Интенсивные пики ионов со значениями отношений массы к заряду, равными 105 и 77, почти однозначно указывают на присутствие в составе исследуемого соединения фрагмента C_6H_5CO- , что подтверждается также присутствием пика иона с отношением $m/z = 51$ и отсутствием пика иона с отношением $m/z = 91$ [$C_6H_5CH_2$] $^+$.

Оставшиеся 43 единицы массы могут быть обусловлены только наличием в молекуле исследуемого соединения пропильной или изопропильной групп.

Далее пик иона с величиной отношения массы к заряду, равной 120, свидетельствует об отщеплении из молекулярного иона молекулы этилена, что возможно только в случае наличия в молекуле пропильного заместителя.

Таким образом, на рис. 56 представлен масс-спектр бутирофенона.

Для осуществления еще одного варианта расшифровки полученного масс-спектра целесообразно прежде всего свериться с компьютерными библиотеками масс-спектров. В идеале поставленная задача может быть полностью решена уже на этой стадии.

Если библиотека масс-спектров не предоставляет однозначного ответа, следует обратить внимание на общий вид спектра: отметить параметры съемки, наиболее интенсивные пики, характерные группы пиков. Если, например, спектр характеризуется большим числом фрагментов, пики которых имеют все большую интенсивность при движении вниз по шкале масс, скорее всего исследуемый образец является алифатическим соединением. Напротив, редкие интенсивные пики характерны для ароматических структур.

Однако основную работу со спектром следует начинать с установления пика молекулярного иона.

Для того чтобы считаться молекулярным, ион должен удовлетворять следующим четырем необходимым, но не достаточным, условиям:

- иметь самую большую массу в спектре;
- быть нечетноэлектронным;
- быть способным образовывать важнейшие ионы с большой массой за счет выброса реальных нейтральных частиц;
- включать все группы атомов элементов, наличие которых в анализируемом образце можно увидеть по фрагментным ионам.

Если хотя бы одно из этих условий не выполняется, ион не молекулярный, а если выполняются все четыре условия, то ион может быть молекулярным.

Анализируя область молекулярного иона можно получить следующую информацию:

- масса молекулярного иона — это молекулярная масса исследуемого соединения;
- соотношение пиков нуклидов позволяет установить примерный элементный состав исследуемого соединения;
- измерение точной массы молекулярного иона с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения позволяет установить точный элементный состав исследуемого соединения;
- относительная интенсивность пика молекулярного иона позволяет сделать определенные предположения о структуре и принадлежности исследуемого соединения к тому или иному классу. Например, для углеводов относительная интенсивность пика молекулярного иона в полном ионном токе увеличивается по мере увеличения степени ненасыщенности соединения.

Благодаря тому, что большинство химических элементов имеют несколько стабильных нуклидов, элементный состав ионов можно с определенной степенью надежности установить даже по обычным спектрам низкого разрешения.

В табл. 3 представлены данные по природной распространенности нуклидов важнейших для органических соединений элементов. Названия элементов A , $A + 1$, $A + 2$ указывают на то, какой нуклид кроме основного эти элементы имеют.

Таблица 3

Природная распространенность изотопов химических элементов

Элемент	Нуклид	Тип нуклида	Интенсивность, % (относительно суммы нуклидов)	Интенсивность, % (относительно наиболее распространенного нуклида)	Тип элемента
Водород	^1H	A	99,985	100,00	A
	^2D	$A + 1$	0,015	0,02	
Углерод	^{12}C	A	98,89	100,00	$A + 1$
	^{13}C	$A + 1$	1,11	1,12	
Азот	^{14}N	A	99,64	100,00	$A + 1$
	^{15}N	$A + 1$	0,36	0,37	

Окончание табл. 3

Элемент	Нуклид	Тип нуклида	Интенсивность, % (относительно суммы нуклидов)	Интенсивность, % (относительно наиболее распространенного нуклида)	Тип элемента
Кислород	^{16}O	A	99,76	100,00	$A + 2$
	^{17}O	$A + 1$	0,04	0,04	
	^{18}O	$A + 2$	0,20	0,20	
Фтор	^{19}F	A	100,00	100,00	A
Кремний	^{28}Si	A	92,18	100,00	$A + 2$
	^{29}Si	$A + 1$	4,71	5,11	
	^{30}Si	$A + 2$	3,12	3,38	
Фосфор	^{31}P	A	100,00	100,00	A
Сера	^{32}S	A	95,02	100,00	$A + 2$
	^{33}S	$A + 1$	0,75	0,79	
	^{34}S	$A + 2$	4,21	4,44	
	^{36}S	$A + 4$	0,11	0,11	
Хлор	^{35}Cl	A	75,40	100,00	$A + 2$
	^{37}Cl	$A + 2$	24,60	32,63	
Бром	^{79}Br	A	50,57	100,00	$A + 2$
	^{81}Br	$A + 2$	49,43	97,75	
Иод	^{127}I	A	100,00	100,00	A

Определение элементного состава соединения следует начинать с пика $M + 2$, учитывая при этом, что в случае присутствия в молекуле нескольких атомов ($A + 2$)-элементов в спектре могут проявиться интенсивные пики $M + 4$, $M + 6$ и т. д.

Правило, для проверки наличия в составе исследуемой молекулы основных ($A + 2$)-элементов формулируется следующим образом: если интенсивность пика $M + 2$ составляет менее 3 % от интенсивности пика M , исследуемое соединение не содержит атомов хлора, брома, серы и кремния.

После этого следует перейти к определению присутствия в молекуле исследуемого соединения ($A + 1$)-элементов путем рассмотрения интенсивности пика $M + 1$, а также интенсивности пика $\Phi + 1$ для фрагментных ионов.

К ($A + 1$)-элементам в органических соединениях относятся углерод, водород и азот. Поскольку природное содержание дейтерия очень мало и начинает проявляться в спектрах соединений только при его очень высо-

ком содержании, присутствие дейтерия в исследуемом соединении можно исключить.

Углерод — важнейший элемент органических соединений и в зависимости от источника получения анализируемого образца содержание нуклида ^{13}C может колебаться от содержания ^{12}C в диапазоне значений 1,08–1,12 %. На практике, при интерпретации масс-спектров обычно используется величина отношения ^{13}C к ^{12}C , равная 1,1 %.

Так, наличие одного атома углерода в молекуле метана приводит к появлению наряду с пиком $\text{M}^{+ \cdot}$ с величиной отношения массы к заряду, равного 16, пика иона с отношением массы к заряду, равным 17, и интенсивностью 1,1 % от $\text{M}^{+ \cdot}$ за счет молекул $^{13}\text{CH}_4$, количество которых в природе составляет 11 молекул на каждые 1000 молекул $^{12}\text{CH}_4$.

Увеличение числа атомов углерода в молекуле приводит к увеличению интенсивности пика $\text{M} + 1$ до величины 1,1 n %, где n — число атомов углерода в молекуле. Следовательно, для определения числа атомов углерода в исследуемой молекуле необходимо разделить интенсивность пика $\text{M} + 1$ в процентах от M на 1,1.

Для большинства элементов, входящих в состав органических соединений, установлено следующее соответствие между валентностью и массой наиболее распространенного нуклида: либо оба числа четные, либо — нечетные. Исключение из этого — азот, что позволило сформулировать следующее азотное правило:

- если исследуемое соединение содержит четное число атомов азота или атомов азота в его составе нет, то его молекулярная масса четная;
- если число атомов азота нечетное, молекулярная масса исследуемого соединения тоже нечетная.

Азот является $(A + 1)$ -элементом, причем природная распространенность нуклида ^{15}N составляет примерно 0,4 % от ^{14}N . Поскольку помимо азота только углерод вносит заметный вклад в интенсивность пика $A + 1$, пользуясь различиями в интенсивностях нуклидов ^{13}C и ^{15}N и азотным правилом, можно оценить число атомов азота в молекуле.

Когда получена исчерпывающая информация о молекулярном ионе, следует перейти к рассмотрению фрагментных ионов в соответствии со следующей их классификацией:

- наиболее тяжелые ионы, образующиеся из $\text{M}^{+ \cdot}$ в результате выброса простейших частиц, т. е. без существенной перестройки структуры исходной молекулы;
- ионы, имеющие наиболее интенсивные пики в масс-спектре, характеризуют серии ионов, различающихся на гомологическую разность, равную 14 а.е.м.

В табл. 4 представлены гомологические серии ионов наиболее распространенных классов органических соединений.

Таблица 4

Гомологические серии ионов некоторых классов органических соединений

Класс соединения	Формула	m/z
Алканы	$C_nH^+_{2n+1}$	15, 29, 43, 57, 71, 85 ...
Алкены, нафтенy	$C_nH^+_{2n-1}$	27, 41, 55, 69, 83 ...
Алкины, диены	$C_nH^+_{2n-3}$	25, 39, 53, 67, 81 ...
Спирты, простые эфиры	$C_nH_{2n+1}O^+$	31, 45, 59, 73, 87 ...
Альдегиды, кетоны	$C_nH_{2n-1}O^+$	29, 43, 57, 71, 85 ...
Кислоты, сложные эфиры	$C_nH_{2n-1}O_2^+$	45, 59, 73, 87, 101 ...
Тиолы, сульфиды	$C_nH_{2n+1}S^+$	47, 61, 75, 89, 103 ... (по ^{32}S)
Амины	$C_nH_{2n+2}N^+$	30, 44, 58, 72, 86, 100 ...
Алкилхлориды	$C_nH_{2n}Cl^+$	35, 49, 63, 77, 91, 105 ... (по ^{35}Cl)
Алкилфториды	$C_nH_{2n}F^+$	19, 33, 47, 61, 75 ...
Алкилбромиды	$C_nH_{2n}Br^+$	79, 93, 107, 121 ... (по ^{79}Br)
Алкилиодиды	$C_nH_{2n}I^+$	127, 141, 155, 169 ...
Нитрилы	$C_nH_{2n-2}N^+$	40, 54, 68, 82, 96 ...
Алкилбензолы		38, 39, 50-52, 63-65, 75-78, 91, 105, 119

Необходимо учитывать, что интенсивности пиков фрагментных ионов первого и третьего типов могут быть незначительными.

При расшифровке масс-спектров, полученных в режиме «газовая хроматография–масс-спектрометрия», часто сталкиваются с хроматографическими пиками ионов с массами 73, 147, 207, 281, 355 и т. д. Этот набор обусловлен выбросами фрагментов наиболее распространенных полидиметилсилоксановых неподвижных жидких фаз из используемой для разделения хроматографической колонки в источник ионизации масс-спектрометра.

Глава 2

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

Использование масс-спектрометра в качестве детектора при хроматографических разделениях дало толчок интенсивному развитию таких комбинированных методов, как:

- газовая хроматография с масс-селективным детектированием;
- высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектированием;
- сверхкритическая флюидная хроматография с масс-селективным детектированием;
- капиллярный электрофорез с масс-селективным детектированием.

Каждый из перечисленных методов имеет свои специфические особенности, связанные с характеристиками агрегатного состояния фаз хроматографической системы и состыковки разделительного устройства с масс-спектрометром.

2.1. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ С МАСС-СЕЛЕКТИВНЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

На современном этапе применения масс-спектрометрического детектирования в газовой хроматографии является наиболее распространенной разновидностью органической масс-спектрометрии.

Использование масс-селективного детектора в газовой хроматографии абсолютно логично, поскольку оба метода применяются для анализа смесей органических соединений, находящихся в газообразном состоянии, и обладают приблизительно одинаковой чувствительностью.

Единственная проблема для объединения этих двух методов в одном приборе — это существенное различие в величинах их рабочих давлений: газовая хроматография работает при атмосферном давлении (100 кПа и выше), а масс-спектрометрия — в условиях глубокого вакуума (10^{-6} – 10^{-7} кПа).

В 1957 г. были сформулированы, а затем и реализованы на практике основные принципы стыковки газового хроматографа и масс-спектрометра путем создания специальных устройств — *интерфейсов*.

Интерфейс должен выполнять следующие функции:

- понижение давления на выходе из газохроматографической колонки от атмосферного до 10^4 – 10^5 кПа;
- удаление из газового потока избытка газа-носителя.

Существуют два основных типа соединительных устройств-интерфейсов:

- интерфейс с непосредственным соединением;
- интерфейс — молекулярный сепаратор.

В системах первого типа газовый хроматограф — масс-спектрометр, роль интерфейса с непосредственным соединением выполняет делитель потока, позволяющий направлять в масс-спектрометр через игольчатый вентиль или узкий капилляр-ограничитель только небольшую часть общего газового потока, выходящего из хроматографической колонки.

В основе функционирования этих устройств лежит уравнение, связывающее величину массового потока Q с величиной давления P и величиной пропускания C :

$$Q = PC.$$

Так, для одного и того же потока при уменьшении давления P от атмосферного до 17 кПа, величина пропускания C увеличивается в 760 раз.

Принципиальная схема устройства игольчатого вентиля приведена на рис. 57.

Игольчатые вентили, как правило, характеризуются значительными мертвыми объемами, до величины $V = 0,1 \text{ см}^3$. Поскольку откачка мертвого объема V происходит по экспоненциальному закону с постоянной времени $\tau = V/C$, то с увеличением пропускания C постоянная времени τ соответственно уменьшается почти на три порядка. Благодаря этому уменьшается расширение хроматографических пиков, обусловленное наличием мертвого объема, что особенно существенно для капиллярных колонок, для которых длительность пиков составляет всего 6–10 с. Для потока $20 \text{ см}^3/\text{мин}$ и мертвого объема $0,1 \text{ см}^3$ постоянная времени равна 0,3 с, что приемлемо для насадочных колонок, но слишком велико для капиллярных.

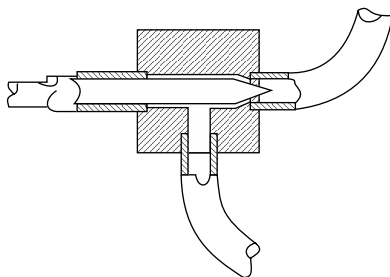


Рис. 57. Игольчатый вентиль для соединения газохроматографической колонки с масс-детектором

При использовании игольчатых вентилей желательно присоединять их так, чтобы пространство возле стебля иглы находилось в области высокого вакуума, где пропускание увеличивается на 2–3 порядка.

Соединительные линии до и после игольчатого вентиля обычно выполнены из остеклованных металлических трубок.

При использовании *капилляров-ограничителей* их размеры выбирают в соответствии с желаемой величиной потока. Так, например, если для ионизации исследуемых соединений используется способ химической ионизации, то поток газа-реагента метана может быть до $15 \text{ см}^3/\text{мин}$. Такой поток обеспечивает капилляр длиной 30–40 см с величиной внутреннего диаметра 0,12 мм. Для потока $1\text{--}2 \text{ см}^3/\text{мин}$ внутренний диаметр капиллярного ограничителя должен быть около 0,06 мм.

Материалом для капилляра часто служит платина, однако следует учитывать возможное проявление платиновой поверхностью повышенной активности, которая может зависеть от условий хроматографического разделения и от свойств используемой неподвижной жидкой фазы.

Ограничителем может служить и сама капиллярная колонка, которая соединяется с масс-детектором через отрезок капилляра с внутренним диаметром 0,3 мм. В этом случае, давление газового потока на выходе из колонки снижается примерно до 13 кПа.

Эффективность такой системы достаточно низкая (1–10 %), и обогащения исследуемого образца не происходит. Однако этот способ очень прост, удобен для всех типов колонок, и масс-спектрометр в этом случае не оказывает влияния на работу хроматографической колонки.

Еще одним вариантом интерфейса этого типа является соединение с *открытым разделительным устройством*.

В интерфейсе такого типа строго постоянная часть газового потока из капиллярной колонки вводится в масс-спектрометр, а остальная избыточная часть сбрасывается в атмосферу. Входной линией и ограничителем обычно служит платиновый капилляр, присоединенный к источнику ионов масс-спектрометра через отрезок тефлоновой трубки. Чтобы не допустить попадания кислорода из атмосферы в масс-спектрометр, соединительное устройство заключают в специальный кожух, постоянно продуваемый потоком благородного газа со скоростью $10\text{--}15 \text{ см}^3/\text{мин}$.

Принципиальная схема интерфейса с открытым делителем потока, позволяющая работать как с капиллярными, так и насадочными колонками, приведена на рис. 58.

Разделительное устройство выполнено из двух стеклянных капилляров, концы которых расположены друг от друга на расстоянии около 2 мм. Ограничительный капилляр имеет длину 27 см, внутренний диаметр 0,57 мм и обеспечивает поток $1,5\text{--}1,8 \text{ см}^3/\text{мин}$.

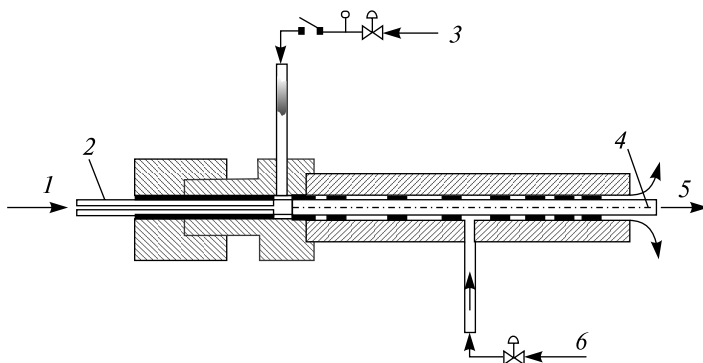


Рис. 58. Интерфейс с открытым делителем потока:

1 — поток из хроматографической колонки; 2 — остеклованная стальная трубка;
3 — газ для регулировки величины потока в масс-спектрометр (He); 4 — капилляр;
5 — поток в масс-спектрометр; 6 — газ для продувки (He)

В этих условиях конец хроматографической колонки находится при атмосферном давлении и ее разделительная способность не нарушается.

Недостатком таких устройств является большая длина входной и ограничительной линий, что может приводить к потерям лабильных соединений, особенно в случае использования металлических капилляров.

Соединение хроматографической колонки с масс-спектрометром через обогатительные устройства — *сепараторы* — позволяет осуществить концентрирование компонентов исследуемого образца перед вводом в источник ионизации и тем самым повысить чувствительность определения.

К настоящему времени предложено много разных типов молекулярных сепараторов, из которых наибольшее распространение получили следующие три системы:

- эффузионный сепаратор;
- струйный сепаратор;
- мембранный сепаратор.

В *эффузионном сепараторе* газовый поток из хроматографической колонки проходит через ограничитель давления в трубку со стенками из спекшейся стеклянной крошки со сверхтонкими порами среднего диаметра около 10^{-4} см. Трубка окружена вакуумной камерой, откачиваемой форвакуумным насосом.

Принципиальная схема эффузионного одноступенчатого молекулярного сепаратора приведена на рис. 59.

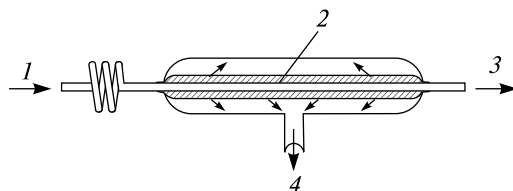


Рис. 59. Эффузионный одноступенчатый молекулярный сепаратор:
1 — поток из газового хроматографа; 2 — пористая стеклянная трубка;
3 — поток в масс-спектрометр; 4 — откачка

Во внутреннем объеме пористой трубки газовый поток может идти в двух направлениях: или в масс-спектрометр, или откачиваться через поры в вакуумную камеру.

При этом обогащение исследуемыми соединениями газового потока, поступающего в масс-спектрометр, будет иметь место когда в пористой трубке поддерживается давление в диапазоне 65–650 Па. При таких давлениях средняя длина свободного пробега молекул составляет около 10^{-3} см, что превышает величину среднего диаметра пор. В этих условиях каждая из молекул газа-носителя диффундирует через поры независимо от других, и таким образом реализуется *молекулярный поток*.

Через капилляр в масс-спектрометр идет *вязкостный поток*, так как величина внутреннего диаметра капилляра, равная, как правило, $2 \cdot 10^{-2}$ см, больше средней длины свободного пробега молекул, и по этой причине обеспечивается одинаковая пропускная способность капилляра абсолютно для всех молекул.

В том случае, если давление в пористой трубке слишком велико, поток через поры не будет молекулярным, а если давление будет слишком низким, поток в масс-спектрометр не будет вязкостным, и, следовательно, поток в обоих направлениях будет молекулярным, и обогащения не произойдет.

Рабочие параметры сепаратора оцениваются с помощью таких характеристик, как *фактор обогащения* и *фактор эффективности*.

Фактор обогащения рассчитывается как отношение величины концентрации анализируемого образца в газовом потоке, поступающем в масс-спектрометр, к его концентрации в газовом потоке, выходящем из хроматографической колонки:

$$N = \frac{C_{MC}}{C_{ГХ}}.$$

Эффективность интерфейса оценивается величиной Y , представляющей собой часть образца, поступающую в масс-спектрометр:

$$Y = \frac{Q_{\text{МС}}}{Q_{\text{ГХ}}} 100 \, \%.$$

Величины фактора обогащения и эффективности связаны между собой соотношением

$$N = \frac{Y}{100} \cdot \frac{V_{\text{ГХ}}}{V_{\text{МС}}},$$

где $V_{\text{ГХ}}$ — объемная скорость газового потока на выходе из колонки; $V_{\text{МС}}$ — объемная скорость газового потока в масс-спектрометре.

На практике численные значения величин эффективности и фактора обогащения рассчитываются с помощью следующих соотношений:

$$Y = \frac{1}{1 + \frac{V_{\text{пор}}}{V_{\text{МС}}} \sqrt{\frac{M_{\text{He}}}{M_{\text{O}}}}},$$

$$N = \frac{V_{\text{ГХ}}}{V_{\text{МС}} + V_{\text{пор}} \sqrt{\frac{M_{\text{He}}}{M_{\text{O}}}}},$$

где $V_{\text{ГХ}}$, $V_{\text{пор}}$, $V_{\text{МС}}$ — объемы газового потока из хроматографической колонки, проходящего через поры сепаратора и поступающего в масс-спектрометр соответственно; M_{He} , M_{O} — молекулярные массы гелия и исследуемого соединения.

Так, например, если исследуемое соединение характеризуется молекулярной массой, равной 200 Да, а объемы газовых потоков, выходящих из колонки, прошедших через поры и попадающих в масс-спектрометр, равны 20 см³/мин, 19 см³/мин и 1 см³/мин соответственно, то величина фактора обогащения будет равна 5,4, а величина фактора эффективности — 27 %.

При обычном делении потока в этом же соотношении 20 : 1 величина фактора эффективности оказывается равной только 5 %.

Основными недостатками эффузионных сепараторов являются следующие:

- оптимизация только в узком интервале скоростей потоков;
- возможность сорбции и разложения нестабильных исследуемых веществ на пористой поверхности;
- более низкая эффективность, чем в других типах сепараторов.

Отдельные модификации эффузионного сепаратора позволяют устранить некоторые из отмеченных недостатков. Стеклопорошковая пористая трубка заменялась на керамическую, серебряную или из нержавеющей стали. Для придания металлическим поверхностям инертных свойств их подвергали предварительной силанизации.

В металлических и керамических пористых элементах размеры пор изменяются в диапазоне от $5 \cdot 10^{-4}$ до 10^{-5} см, что обеспечивает расширение диапазона проводимости эффузионной части.

Разработанный вариант сепаратора *со сменными или регулируемыми элементами* позволил расширить интервал скоростей газового потока до диапазона от 1 до $50 \text{ см}^3/\text{мин}$.

Принципиальная схема устройства такого сепаратора приведена на рис. 60.

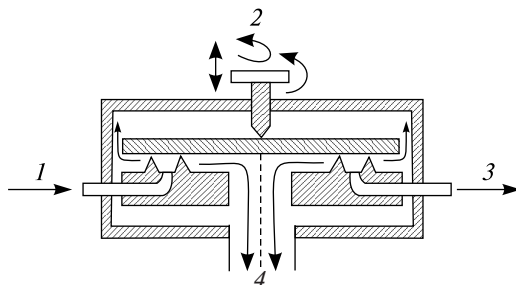


Рис. 60. Щелевой молекулярный сепаратор с регулируемой проводимостью:

1 — поток из газового хроматографа; 2 — регулирующий винт;

3 — поток в масс-спектрометр; 4 — откачка

Эффузия происходит через регулируемую щель, существующую между острыми краями двух concentрических колец и накрывающей их пластиной диаметром около 2 см.

С помощью микрометрического винта размер щели может меняться в диапазоне от 0 до $5 \cdot 10^{-3}$ см. При полностью закрытой щели весь газовый поток поступает в масс-спектрометр, при полностью открытой щели сепаратор работает как вентиль, отводящий часть потока.

Действие струйного сепаратора основано на различии скоростей диффузии разных газов в расширяющейся со сверхзвуковой скоростью газовой струе, что обеспечивает протекание процесса фракционирования газовой смеси.

Принципиальная схема устройства струйного сепаратора приведена на рис. 61.

Газовый поток из хроматографической колонки проходит через ограничитель и быстро расширяется в вакуумной камере. В свободно расширяющейся струе устанавливается градиент давления, направленный к середине струи. Скорость диффузии молекул в этой области зависит от их молекулярных масс и пропорциональна их коэффициентам диффузии, и таким образом эффект разделения оказывается связанным с условиями вязкостного потока.

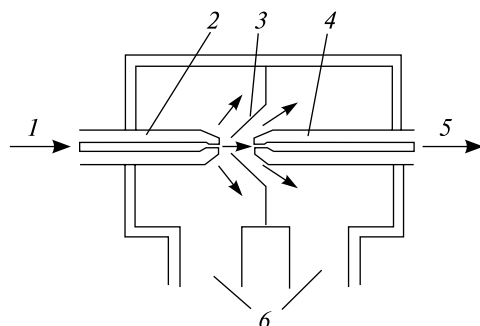


Рис. 61. Струйный одноступенчатый молекулярный сепаратор:
1 — поток из газового хроматографа; 2 — выходное сопло; 3 — диафрагма;
4 — входное сопло; 5 — поток в масс-спектрометр; 6 — откачка

Середина струи, обогащенная более тяжелыми компонентами, входит в приемное сопло источника ионизации масс-спектрометра, а периферическая часть струи, обогащенная более легкими компонентами, не попадает в него и откачивается вакуумным насосом.

При использовании двухступенчатого струйного сепаратора первая ступень откачивается форвакуумным насосом и остаточное давление в ней составляет около 10–20 Па, вторая ступень откачивается диффузионным насосом до величины давления около 0,1 Па.

Если на вход сепаратора поступает поток в $30 \text{ см}^3/\text{мин}$, то после первой ступени он уменьшается до $2\text{--}4 \text{ см}^3/\text{мин}$, а после второй ступени — до $0,25 \text{ см}^3/\text{мин}$. В таких условиях через первую ступень проходит 80 % от общего количества анализируемого образца, через вторую — 50 %, а общая эффективность системы составляет 40 %.

Величина среднего давления в расширяющейся струе должна быть достаточной для обеспечения условия существования вязкостного потока в середине струи. Если это условие не соблюдается, разделение компонентов газового потока не происходит.

Как правило, коэффициент разделения для первой ступени равен 12, для второй ступени этот коэффициент равен 4, а для всей системы он равен 48.

Струйный сепаратор наиболее эффективен при скоростях потока выше 10 мл/мин, если же поток менее $3\text{--}4 \text{ см}^3/\text{мин}$, давление в струе может быть слишком мало для поддержания сверхзвуковой скорости потока, и коэффициент разделения резко уменьшается.

Струйные сепараторы обычно изготавливают из нержавеющей стали, проводя предварительную силанизацию их внутренней поверхности,

а для анализа термически нестабильных соединений используются стеклянные сепараторы.

Достоинством струйного сепаратора является отсутствие мертвых объемов, что позволяет избежать размывания хроматографических зон исследуемых соединений.

Принципиальный недостаток струйного сепаратора заключается в том, что весьма важным оказывается устройство и взаимное расположение сопел, и небольшие отклонения от оптимальных размеров могут отрицательно сказаться на эффективности.

Большинство систем конструируется с фиксированным расширительным соплом для потока до $20 \text{ см}^3/\text{мин}$ при атмосферном давлении. При создании конструкции регулируемого струйного сепаратора изменение расстояния между двумя соплами в диапазоне $0\text{--}1,4 \text{ мм}$ позволило достичь эффективности до 80 %.

В *мембранном сепараторе* камера, в которую вводится газовый поток из хроматографической колонки, отделяется от вакуумной системы масс-спектрометра мембраной из силиконовой резины толщиной $0,025\text{--}0,040 \text{ мм}$.

Принципиальная схема устройства мембранного сепаратора приведена на рис. 62.

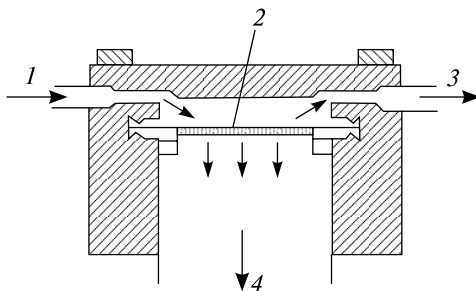


Рис. 62. Мембранный молекулярный сепаратор:

1 — поток из газового хроматографа; 2 — мембрана из силиконовой резины;
3 — поток в масс-спектрометр; 4 — откачка

Молекулы газа-носителя и исследуемых соединений, проходя над мембраной, диффундируют сквозь нее в масс-спектрометр. Проницаемость мембраны для органических веществ в 20–100 раз выше, чем для гелия и других неорганических газов. По этой причине при изменении температуры от 50 до 200°C для мембраны площадью 15 см^2 и толщиной $0,0025 \text{ см}$ величина потока гелия в $30 \text{ см}^3/\text{мин}$ снижается до величин от 1 до $4 \text{ мл}/\text{мин}$. При использовании мембран площадью $1\text{--}2 \text{ см}^2$ можно получать поток в масс-спектрометр в пределах $0,3\text{--}0,6 \text{ см}^3/\text{мин}$.

Степень обогащения обычно составляет 10–20 %, а эффективность – 30–90 %.

Мембранный сепаратор может состоять из одной или двух ступеней. В одноступенчатом сепараторе давление на выходе обычно соответствует атмосферному, в двухступенчатом сепараторе давление на выходе первой ступени обычно равно атмосферному, а на выходе второй ступени создается форвакуум.

Основные достоинства мембранных сепараторов следующие:

- поскольку давление в области мембраны равно атмосферному, времена удерживания разделяемых соединений не искажаются из-за несбалансированного потока, как это может иметь место при капиллярном ограничителе;
- выходящий газовый поток, который может содержать 10–50 % от общего количества исследуемого образца, можно направить в любой другой газохроматографический детектор;
- величина мертвого объема сепаратора составляет менее 0,02 см³;
- возможность работы в большом интервале скоростей газового потока как при низких скоростях – 8–10 см³/мин, так и при высоких – 60–80 см³/мин;
- одноступенчатый сепаратор не требует никакого дополнительного насоса;
- мембранные сепараторы относительно недороги.

Однако у мембранных сепараторов существуют и достаточно серьезные недостатки:

- оптимизация рабочей температуры. Нижний предел рабочих температур – 75–80 °С, верхний – 225–230 °С. При работе в условиях высоких температур срок службы мембраны заметно уменьшается и возможна разгерметизация системы. Кроме этого, следует учитывать, что для каждого исследуемого соединения существует оптимальная температура, при которой достигается компромисс между растворимостью и диффузией этого соединения в материал мембраны. При слишком высокой температуре мала растворимость, а при слишком низкой температуре мала диффузия;
- некоторые из исследуемых соединений (например, первичные амины) могут взаимодействовать с материалом мембраны;
- может иметь место заметное расширение хроматографических зон.

Из других сепараторов известен серебряно-палладиевый сепаратор, функционирование которого основано на уникальном свойстве серебряно-палладиевой мембраны – высокой проницаемости для водорода и практически полной непроницаемости для других газов и паров исследуемых органических соединений при температуре 250 °С.

Этот сепаратор представляет собой электролитическую ячейку, состоящую из двух палладиево-серебряных трубок, между которыми находится смесь гидроксидов калия и лития. Внутренняя трубка предназначена для газа-носителя и служит анодом, внешняя трубка является катодом.

В такой ячейке используемый в качестве газа-носителя водород полностью удаляется из газового потока, и в масс-спектрометр попадают только исследуемые соединения.

Основные достоинства этого сепаратора следующие:

- эффективность, равная 100 %;
- полное удаление газа-носителя;
- отсутствие необходимости откачки интерфейса;
- отсутствие размывания хроматографических зон;
- отсутствие эффекта памяти.

Из недостатков серебрено-палладиевого сепаратора необходимо отметить:

- ограниченный интервал скоростей газового потока, зависящий от устройства интерфейса;
- ограниченный интервал рабочих температур (200–250 °С);
- возможность химических превращений анализируемых соединений;
- необходимость использования в качестве газа-носителя только водорода;
- медленное удаление газа-носителя при загрязнении палладиево-серебряной трубки соединениями серы и иода.

К мембранным сепараторам относится и тефлоновый сепаратор, действие которого основано на его высокой проницаемости для гелия при температурах выше 250 °С.

Такой сепаратор состоит из тефлонового капилляра длиной 200 см, внутреннего диаметра 0,025 см и толщиной стенок 0,01 см, который помещается в откачиваемую форвакуумным насосом вакуумную камеру. Эффективность такого сепаратора достигает 80–90 %, а коэффициент обогащения — до 200.

Основными недостатками этого сепаратора являются:

- возможные дискриминации исследуемых органических соединений;
- возможное размывание хроматографических зон;
- возможное искажение времен удерживания анализируемых соединений.

Следует учитывать, однако, что стыковка хроматографа и масс-спектрометра представляет собой некоторый компромисс, поскольку давление в ионном источнике оказывается несколько выше его идеального рабочего давления, а выходной участок хроматографической колонки функ-

ционирует в условиях вакуума. Отмеченные обстоятельства несколько ухудшают разрешающую способность этого комбинированного метода.

Таким образом, этот метод, прежде всего, предназначен для анализа смесей органических соединений и заключается в их разделении на колонке хроматографа с последовательным выходом компонентов из колонки в ионный источник масс-спектрометра, где происходит их ионизация.

Масс-спектрометр должен проводить запись спектра (сканирование) с достаточной частотой, чтобы зарегистрировать масс-спектр каждого соединения несколько раз. Это условие важнейшее, поскольку концентрация вещества на выходе из хроматографической колонки очень быстро изменяется. Следовательно, в зависимости от того, на восходящей или нисходящей стороне хроматографического пика записывается масс-спектр, будут дискриминированы или малые, или большие массы.

Безусловно, лучшим будет спектр, зарегистрированный на вершине хроматографического пика, где максимальна концентрация вещества и минимальны ее изменения во времени. Желательно получить 5–10 спектров каждого компонента смеси, а для улучшения качества спектра часто необходимо проводить усреднения и вычитания фона.

Именно по этой причине, времяпролетные анализаторы масс, обеспечивающие регистрацию до 500 спектров в секунду, имеют преимущества по сравнению с секторными и квадрупольными анализаторами, позволяющими фиксировать не более 1–10 спектров за секунду.

Очень важна скорость сканирования и для количественного анализа. Недостаточное число сканирований приводит к значительному искажению площади хроматографического пика. Современные приборы позволяют сканировать спектр за 0,1–0,5 с, что удовлетворительно сочетается с шириной хроматографического пика, составляющей, как правило, несколько секунд. Если учесть, что средний хромото-масс-спектрометрический анализ длится 30 мин, при скорости сканирования 0,3 с, в памяти компьютера должно остаться 6000 спектров. Этот факт наглядно демонстрирует невозможность получения качественных результатов без стыковки прибора с мощным компьютером. Времяпролетные спектрометры позволяют регистрировать 100 и более полных масс-спектров в секунду. Эта особенность привела к созданию быстрой хромото-масс-спектрометрии (Rapid GC-MS), позволившей сократить время анализа смесей в 5–10 раз.

Помимо увеличения надежности качественного и количественного анализа, ускорение регистрации масс-спектров позволяет получать качественные масс-спектры даже в случае неразрешенных хроматографических пиков.

Компьютерная обработка спектров с построением масс-хроматограмм по каждому значению отношения m/z с последующим определе-

нием положения максимумов соответствующих пиков и построением реконструированной хроматограммы и реконструированных масс-спектров дает возможность математически решать хроматографические и масс-спектрометрические проблемы коэлюирования.

Возможности компьютерной обработки результатов (деконволюции) для идентификации компонентов смеси, выходящих из хроматографической колонки в виде перекрывающихся зон, представлены на рис. 63, 64.

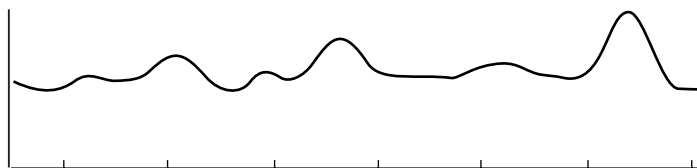


Рис. 63. Фрагмент хроматограммы без компьютерной обработки

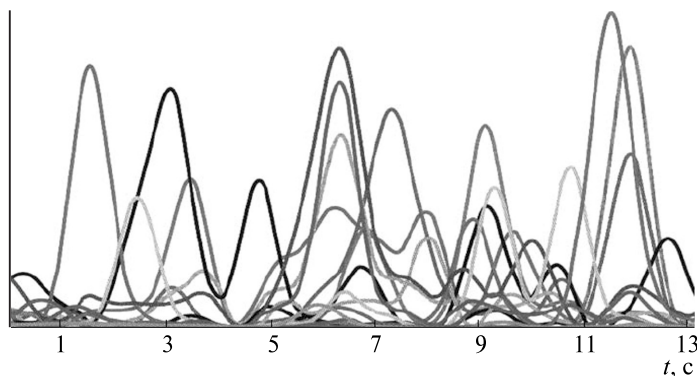


Рис. 64. Результаты компьютерной обработки
13-секундного фрагмента хроматограммы

Визуально можно выделить на представленном 13-секундном сегменте хроматограммы только 7–8 пиков. После компьютерной обработки этого сегмента хроматограммы удастся надежно обнаружить 21 индивидуальное соединение (см. рис. 64).

Хромато-масс-спектральный анализ добавляет к масс-спектрометрической информации еще один очень важный параметр — время удерживания каждого из компонентов анализируемой смеси. Именно благодаря этому параметру появляется возможность во многих случаях проводить качественный и количественный анализ изомеров, масс-спектры которых практически неразличимы.

Хромато-масс-спектральный анализ позволяет также детектировать ультрамикромпоненты на фоне высоких концентраций других соединений. Для этой цели используется мониторинг заданных ионов.

Еще одно направление метода ГХ/МС, появившееся в последнее десятилетие, — коммерческие масс-спектрометры, использующие так называемую *высокоэффективную двумерную газовую хроматографию* (ГХ/ГХ/МС). В таких приборах две капиллярные колонки, первая из которых (длиной 30 м) содержит неполярную неподвижную фазу, а вторая (длиной 1 м) — полярную неподвижную фазу, последовательно соединяются друг с другом через специальное устройство — криогенно-термический модулятор. Модулятор улавливает элюат на выходе из первой колонки в течение определенного времени, а затем коротким импульсом подает собранный материал во вторую колонку, где происходит второй этап хроматографического разделения. Затем разделенные компоненты поочередно подаются в масс-спектрометр с времяпролетным анализатором.

Такой подход позволяет разделять сложнейшие смеси соединений не только по температурам кипения, но и по полярности.

Тем не менее следует отметить, что число соединений, которые можно проанализировать методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием, значительно меньше, чем при использовании масс-спектрометра с прямым вводом. Действительно, в последнем случае можно получить масс-спектр соединения, обладающего хотя бы слабой летучестью в условиях глубокого вакуума и температуре 300–400 °С, не говоря уже об альтернативных методах ионизации (бомбардировка быстрыми атомами, полевая десорбция, десорбционная химическая ионизация).

При использовании метода ГХ/МС необходимо, чтобы вещество прошло через колонку газового хроматографа при атмосферном давлении и температуре 250–300 °С, а в некоторых случаях до 400 °С. Это обстоятельство обуславливает невозможность анализа без предварительной дериватизации труднолетучих, высокополярных, термолабильных соединений.

Для реализации этих возможностей на практике в методе *реакционной хромато-масс-спектрометрии* перед колонкой хроматографа или между колонкой и масс-спектрометром устанавливается реакционная камера, в которой можно осуществлять заданные превращения анализируемых соединений. В таком варианте дериватизация, разделение и анализ компонентов пробы осуществляются в режиме онлайн.

Реакционная хромато-масс-спектрометрия может использоваться для улучшения разделения компонентов смеси или для проведения структурных анализов. Например, дейтерирование алкенов в реакционной камере позволяет установить положение двойной связи в молекуле.

К комбинированным методам следует отнести и объединение ГХ/МС с различными деструктивными методами, которые позволяют проводить анализы в режиме реального времени.

Наибольшую распространенность получила комбинация ГХ/МС с пиролизом. Пиролитическая система в этом случае может быть подсоединена непосредственно к ГХ/МС-системе (пиролитическая ГХ/МС).

Эти методы наиболее эффективны при исследовании разнообразных полимеров, особенно синтетических, и позволяют определять их микроструктуру, пространственное строение, состав, всевозможные примеси и добавки, изучать механизм и кинетику термических процессов и многое другое.

В таких комбинированных системах, помимо пиролизеров, можно использовать различные реакционные системы, в частности, на базе гетерогенных катализаторов.

В последнее время широкое распространение получила масс-спектрометрия изотопных отношений, основанная на прецизионном измерении соотношений стабильных нуклидов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$, $^2\text{H}/^1\text{H}$ в различных органических и неорганических объектах.

Соответствующие приборы обычно включают специальную систему для превращения исследуемых веществ в газы, удобные для последующего исследования масс-спектрометрическим методом. Наиболее эффективными являются приборы, включающие специальную камеру сжигания, расположенную между газовым хроматографом и масс-спектрометром. В этом случае нуклидное соотношение можно определять для каждого из компонентов смеси, поочередно элюируемого из хроматографической колонки.

2.2. ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ С МАСС-СЕЛЕКТИВНЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Очевидно то, что уже в ближайшее время лидирующее положение в аналитической хроматографии займут многочисленные варианты комбинированного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ/МС), поскольку они могут успешно решить проблему анализа тяжелых полярных термолабильных соединений.

При всей принципиальной очевидности такого решения создать эффективный метод на основе объединения жидкостного хроматографа с масс-спектрометром оказалось не столь простой задачей.

Для нормальной работы жидкостного хроматографа желательно, чтобы соединение его с масс-спектрометром не оказывало слишком сильно-

го влияния на основные характеристики процесса хроматографического разделения, а именно:

- не накладывало ограничения на виды используемых для разделения подвижных растворителей, величину скорости потока подвижного растворителя;
- не препятствовало возможности выполнения разделений в условиях градиентного элюирования;
- не исключало возможности применения летучих и нелетучих буферных растворов;
- позволяло применять реагенты в виде ионных пар.

Само соединительное устройство, интерфейс, в свою очередь должно обеспечить:

- высокую степень обогащения анализируемого образца в газовом потоке по отношению к растворителю;
- высокую эффективность переноса образца из хроматографической колонки в источник ионизации масс-спектрометра;
- отсутствие расширения хроматографических зон;
- возможность испарения малолетучих компонентов анализируемого образца.

Для обеспечения эффективного функционирования масс-спектрометра, подключенного к жидкостному хроматографу, обязательно выполняются следующие требования:

- для поддержания необходимого вакуума величина газового потока на входе в масс-спектрометр не должна превышать $20 \text{ см}^3/\text{мин}$;
- должна существовать возможность:
 - использования как можно большего числа существующих методов ионизации анализируемых соединений;
 - обеспечения сканирования полного масс-спектра, а также при необходимости и непрерывного детектирования только выбранных ионов;
 - при использовании приемов химической ионизации применять требуемые газы-реагенты;
 - обеспечения анализа как положительных, так и отрицательных ионов;
- для получения высокой чувствительности шумов и фоновый сигнал должны быть минимизированы, наложения от используемого для хроматографического разделения подвижного растворителя и от примесей в нем должны быть малы.

Наиболее сложным моментом оказывается стыковка жидкостного хроматографа с масс-спектрометром, поскольку масс-спектрометр обычно работает в условиях глубокого вакуума (10^{-7} кПа), а скорость потока подвижной фазы через стандартную колонку жидкостного хроматографа составляет примерно 1 мл/мин.

В современной высокоэффективной жидкостной хроматографии в качестве подвижных фаз довольно часто используются метанол и вода. При испарении в источнике ионов 1 см^3 метанола образуется $0,55 \text{ дм}^3$ пара, а при испарении 1 см^3 воды — $1,24 \text{ дм}^3$ пара. Учитывая, что вакуумная система масс-спектрометра может поддерживать требуемое для работы давление только в том случае, если приток паров в ионный источник не превышает $10 \text{ см}^3/\text{мин}$, соединительный узел (интерфейс) системы «жидкостный хроматограф — масс-спектрометр» должен эффективно осуществлять обогащение анализируемым соединением примерно в 100 раз за счет удаления избытка растворителя.

При этом следует учитывать, что проводящие жидкости могут быть причиной возникновения электрической дуги в магнитных секторных приборах, работающих в условиях высокой разности потенциалов, а нелетучие неорганические соли, используемые в качестве буфера в хроматографии, приводят к проводящим отложениям на линзах источника ионов, вызывая расфокусировку прибора.

К настоящему времени существует уже значительное число интерфейсов «жидкостный хроматограф — масс-спектрометр».

Исторически первым интерфейсом можно считать *ленточный транспортер*, появившийся в 1976 г.

Принципиальная схема интерфейса с движущимся ленточным транспортером приведена на рис. 65.

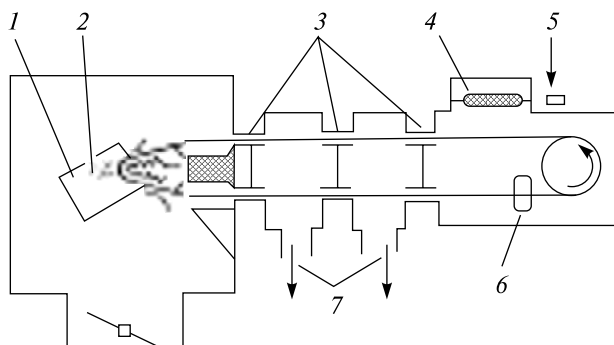


Рис. 65. Интерфейс с движущимся ленточным транспортером:

1 — ионизационная камера; 2 — область электронного пучка; 3 — вакуумные уплотнения; 4 — инфракрасный испаритель; 5 — поток из колонки жидкостного хроматографа; 6 — привод транспортера; 7 — откачка

Его основной конструкционной деталью является тонкая полиимидная кольцевая лента. Элюат из колонки хроматографа попадает на ленту, движущуюся по направлению к источнику ионов. На пути следова-

ния он проходит вдоль инфракрасных испарителей, которые переводят в газовую фазу значительную долю подвижной жидкой фазы. Далее лента проходит вакуумный замок, и в условиях вакуума остатки подвижного растворителя откачиваются насосами. В месте перегиба ленты, в ионном источнике, находится импульсный нагреватель, который переводит в газовую фазу молекулы анализируемого образца, подвергающиеся электронному удару или химической ионизации. Двигаясь в обратном направлении, лента очищается от возможных остатков анализируемого образца благодаря использованию дополнительных испарителей, а иногда и растворителей, и возвращается за новой порцией элюата в исходном (теоретически чистом) виде.

Основные достоинства этого метода заключаются в том, что:

- для идентификации исследуемых веществ можно использовать стандартные библиотеки масс-спектров электронного удара;
- существует возможность работы со стандартными колонками для жидкостной хроматографии, поскольку метод использует скорости потока до 1,5 мл/мин. Такие потоки приемлемы при распылении элюата на ленту;
- неорганические соли, используемые в качестве буфера при хроматографировании, не мешают анализу.

Тем не менее ленточные транспортеры не получили широкого признания, поскольку лишь незначительно расширяли круг органических соединений, доступных масс-спектрометрическому анализу. В ионном источнике все равно требовался термический перевод вещества в газовую фазу. Лента транспортера примерно через 10 прохождений оказывалась настолько загрязненной, что приводило к наложению масс-спектров друг на друга и мешало надежной идентификации. Качество спектров и интенсивность характеристических ионов существенно зависели от количества образца, т. е. воспроизводимость была плохой. В настоящее время ленточные транспортеры практически не используются.

Метод прямого ввода анализируемых жидких проб тоже следует рассматривать, скорее, как историю масс-спектрометрии. Он более или менее активно использовался в 80-х гг. XX в., но уступил место более прогрессивной технике, основанной на аналогичном принципе. Фактически все современные интерфейсы «жидкостный хроматограф — масс-спектрометр», за исключением проточного варианта бомбардировки быстрыми атомами, могли бы быть названы прямым вводом жидкости.

Для реализации прямого ввода жидкости на выходе из хроматографической колонки устанавливается делитель потока, позволяющий направить часть элюата через диафрагму с отверстиями 2—5 мкм в диаметре. Возникающая после прохождения диафрагмы струя мелких капель движется с большой скоростью к источнику ионов. На пути следования капли перемещаются через камеру испарения, где большая часть раство-

рителя переходит в газовую фазу и откачивается из системы. Оказываясь в ионном источнике масс-спектрометра, молекулы анализируемого вещества подвергаются химической ионизации, тогда как оставшиеся молекулы растворителя играют роль газа-реагента.

Основной недостаток метода — низкая скорость потока. При потоках более 50 мкдм³/мин давление в источнике становится слишком высоким. Поэтому требуется либо разделять поток элюента на выходе из стандартных хроматографических колонок, уменьшая тем самым чувствительность метода примерно в 20 раз, либо использовать узкие колонки.

Кроме того, узкое отверстие диафрагмы постоянно засоряется, а добавки неорганических солей к подвижной фазе приводят к быстрому ухудшению работы масс-спектрометра.

В следующем варианте интерфейса поток жидкости, выходящий из колонки хроматографа, направляется через капилляр в стеклянный распылитель, где элюат превращается в облако мелких капель, разорванных концентрическим потоком гелия. Это облако перемещается внутри стеклянной испарительной камеры, стенки которой подогреваются, а давление поддерживается на уровне чуть ниже атмосферного. При этом происходит частичное испарение используемого подвижного растворителя, и размер капель уменьшается.

Испарительная камера заканчивается узким отверстием, за которым следует сепаратор молекулярного пучка с вакуумной откачкой. Вылетая из испарительной камеры, частицы приобретают высокую скорость благодаря сужению потока. Поскольку более тяжелые молекулы анализируемого вещества менее подвержены диффузии, чем атомы гелия или молекулы растворителя, только они и проходят в узкое входное отверстие сепаратора, а из него в масс-спектрометр.

Частицы анализируемого вещества в ионном источнике подвергаются химической или электронной ионизации. Получение спектров электронного удара является преимуществом метода, поскольку позволяет использовать компьютерные библиотеки масс-спектров. Такой интерфейс может работать с потоками жидкости из хроматографа в диапазоне от 0,1 до 1,0 см³/мин. Чувствительность метода для получения полного масс-спектра лежит на уровне единиц нанограммов (10⁻⁹ г). Этот метод фактически заменил ленточный транспортер, хотя и не устранил недостатки, связанные с невозможностью работы с высокомолекулярными, нелетучими и термолабильными соединениями.

Для ввода анализируемых проб в настоящее время широко используются методы, совместимые с такими методами ионизации, как термораспыление, электрораспыление, плазмораспыление и химической ионизации при атмосферном давлении.

При этом поток, выходящий из колонки жидкостного хроматографа, направляется в *нагреваемый капилляр*. Диаметр капилляра — 0,1 мм, что значительно больше по сравнению с отверстием для метода прямого ввода жидкости. Это обстоятельство позволяет устранить случаи его закупорки, что является серьезным недостатком способа прямого ввода жидкости. Температура капилляра поддерживается на уровне температуры кипения растворителя. В результате из капилляра вырывается струя пара, которая попадает в ионизационную камеру.

При использовании плазмаспрея подача напряжения на разрядный электрод или просто пучок электронов создает условия для химической ионизации, причем роль газа-реагента играют пары растворителя.

При применении метода плазмораспыления замечено, что часто удается регистрировать ионы даже в случае выключенного электрода. Анализ этого эффекта привел к возникновению техники термораспыления. Дело в том, что некоторые анализируемые соединения уже в растворе находятся в виде положительных или отрицательных ионов. Применяемые в большинстве случаев в качестве растворителей в жидкостной хроматографии вода и метанол с добавками кислот и оснований могут протонировать или депротонировать субстрат. Появлению заряда способствуют также добавки электролитов, например ацетата аммония.

Струя пара, выходящая из капилляра, представляет собой аэрозоль небольших заряженных капель. Нагретый источник ионов и работающие вакуумные насосы заставляют эти капли при движении уменьшаться в размере. В конечном итоге градиент поля на каплях может достигать критических значений, что приводит к устранению сольватной оболочки и появлению свободных ионов в газовой фазе.

Выталкивающий потенциал направляет эти ионы в узкое отверстие, ведущее к анализатору, а избыток растворителя откачивается насосами.

Термоспрей и плазмаспрей применимы к уровням потоков жидкости из хроматографа в диапазоне от 0,5 до 2,0 см³/мин, что позволяет работать с обычными аналитическими колонками. Следует отметить нежелательность использования в качестве буфера нелетучих неорганических солей из-за возможного образования отложений в источнике ионов.

В качестве недостатка метода можно отметить его плохую воспроизводимость. Интенсивность спектра, а также наличие или отсутствие фрагментных ионов существенно зависят от состава раствора, наличия добавок, температуры капилляра и источника ионизации. В связи с этим важным становится выбор оптимальных условий регистрации спектра для каждого анализируемого вещества.

Чувствительность метода лежит в очень широком диапазоне — от нескольких нанограммов до десятков микрограммов. Увеличение доли пи-

ков фрагментных ионов в спектре достигается увеличением потенциала на вытравливающем электроде. Причиной тому становятся более эффективные столкновения разогнанных ионов с молекулами, так как в этой части ионного источника давление достаточно высоко.

Как и в случае ГХ/МС, для ЖХ/МС также актуальны задачи увеличения экспрессности и повышения чувствительности. Одним из путей повышения производительности и эффективности метода стало использование частиц неподвижной фазы размером менее 2 мкм и сверхвысокого давления для подачи элюента (до 100 мПа). В результате возник *метод ультра-эффективной жидкостной хроматографии (УЭЖХ)*.

Стыковка УЭЖХ с времяпролетным масс-спектрометром привела к существенному сокращению времени анализа, повышению его чувствительности и разрешающей способности по сравнению с уже существующим методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Возможности метода УЭЖХ/МС в сравнении с методом ВЭЖХ/МС, позволяющие сократить время анализа в 9 раз, а также повысить в 3 раза чувствительность определения, сопоставлены на рис. 66, 67.

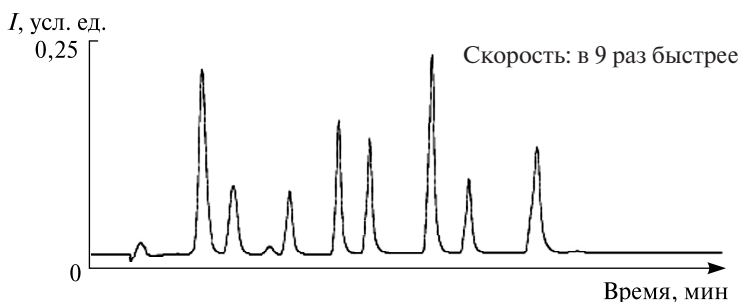


Рис. 66. Сопоставление скорости выполнения анализа методами УЭЖХ/МС и ВЭЖХ/МС

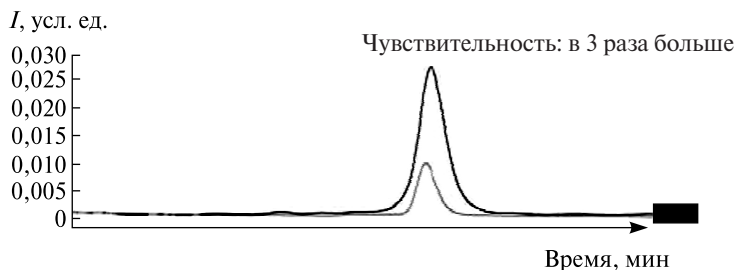


Рис. 67. Сопоставление чувствительности анализа методами УЭЖХ/МС и ВЭЖХ/МС

Возможности метода УЭЖХ/МС в сравнении с методом ВЭЖХ/МС по увеличению разрешения сопоставлены на рис. 68.

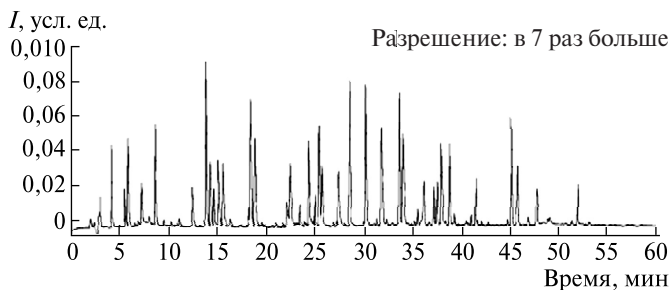


Рис. 68. Сопоставление разрешения методами УЭЖХ/МС и ВЭЖХ/МС

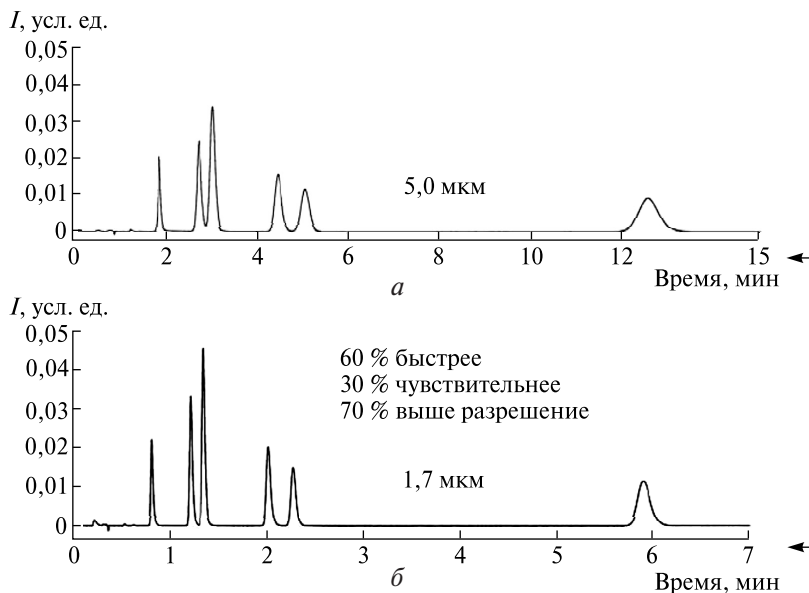


Рис. 69. Совокупные преимущества метода УЭЖХ/МС (а) над ВЭЖХ/МС (б)

Совокупные преимущества метода УЭЖХ/МС над ВЭЖХ/МС, обусловленные одновременной оптимизацией всех вышеперечисленных характеристик, представлены на рис. 69, а, б.

2.3. СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ С МАСС-СЕЛЕКТИВНЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Помимо газа или жидкости в качестве подвижной фазы для хроматографического разделения органических соединений может служить вещество, находящееся в сверхкритическом состоянии. В сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ) используемое в качестве подвижной фазы вещество можно представить как очень плотный газ. Наиболее часто используемый оксид углерода (IV) в таком состоянии имеет свойства промежуточные между жидкостью и газом, т. е. это плотный газ с высокой сольватирующей способностью. Растворение образца в таком материале можно рассматривать как процесс, родственный переводу вещества в газовую фазу, но протекающий при достаточно низкой температуре.

Как уже отмечалось, основной проблемой стыковки жидкостного хроматографа и масс-спектрометра является большой объем вещества (растворителя), поступающего в ионный источник, что трудно совместимо с условиями высокого вакуума в нем.

В СФХ поток подвижной фазы значительно меньше, чем в жидкостной хроматографии и, следовательно, комбинация СФХ/МС осуществима с меньшими сложностями по сравнению с ЖХ/МС. Фактически метод СФХ/МС промежуточный между ЖХ/МС и ГХ/МС и в плане инструментальных требований, и в плане свойств анализируемых соединений. Важно, что метод позволяет анализировать более тяжелые и более термолabile соединения по сравнению с ГХ/МС.

В 80-х гг. XX в. казалось, что этот метод может существенно потеснить ЖХ/МС благодаря большей разрешающей способности и уже существующим в то время эффективным интерфейсам. Однако изобретение электроспрея и создание метода капиллярного электрофореза отодвинули СФХ/МС на вторые позиции. Тем не менее метод по-прежнему широко используется для анализа пестицидов, силиконов, неионогенных ПАВ, природных соединений и т. д.

Еще одно преимущество СФХ/МС над ГХ/МС представляет собой тот факт, что в сверхкритическом состоянии вещество, используемое в качестве подвижной фазы, — это отличный растворитель, который очень эффективно экстрагирует органические соединения разных классов из образцов пищи, полимерных материалов, биоты, объектов окружающей среды.

Существует большое разнообразие интерфейсов для стыковки сверхкритического флюидного хроматографа с масс-спектрометром. Для этого

метода подходят практически все интерфейсы, используемые в ЖХ/МС, хотя они могут быть и немного модифицированы.

Результаты анализа проб часто улучшаются при увеличении полярности подвижной фазы. Так, например, при использовании в СФХ/МС электроспрея положительным образом сказывается добавление к подвижной фазе метанола или другого полярного органического растворителя.

Помимо электроспрея активно используется химическая ионизация при атмосферном давлении. Применение ленточного транспортера, потока частиц или специальных капиллярных ограничителей позволяет работать в режимах электронного удара и химической ионизации.

Следует подчеркнуть, что при химической ионизации газом-реагентом служит не CO_2 , а метан, изобутан или аммиак. Последний часто оказывается предпочтительным, поскольку процесс ионизации аммиаком подвержен менее значительному влиянию изменений парциального давления CO_2 в процессе анализа. Это обусловлено прежде всего очень низким сродством к протону молекулы углекислого газа. Некоторое «раскрытие» ионизационной камеры хотя и ухудшает чувствительность, но позволяет получать классические спектры электронного удара.

Ионизация молекул образца осуществляется как напрямую, при их взаимодействии с электронами, так и в результате перезарядки при взаимодействии с CO_2^+ . Такие спектры перезарядки оказываются практически аналогичными обычным спектрам электронного удара. Их даже можно использовать для поиска по компьютерным библиотекам масс-спектров.

2.4. КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ С МАСС-СЕЛЕКТИВНЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Создание капиллярного варианта электрофореза повысило характеристику разрешающей способности методов разделения компонентов смесей (до 10^7 теоретических тарелок) и, как следствие, существенно увеличило эффективность анализа, а стыковка электрофоретического капилляра с масс-спектрометром подняла этот метод на новый, более высокий уровень.

В данном случае не следует говорить о принципиально другой системе ввода образца в масс-спектрометр, потому что в качестве интерфейса используются системы ЖХ/МС. Наилучших результатов удалось достигнуть при использовании на выходе из колонки техники электрораспыления. Возможно также использование техники ультразвукового распыления.

Тем не менее сочетание капиллярного электрофореза с масс-спектрометрией по праву считается самостоятельным методом анализа прежде всего для биологических молекул (белков, аддуктов с ДНК и т. д.).

Поскольку наряду с очень малым объемом пробы (менее 10^{-9} дм³) капиллярный электрофорез позволяет проводить сверхбыстрое разделение компонентов смеси с шириной пика в несколько миллисекунд, то необходимо осуществлять и такое же быстрое сканирование спектра. Впечатляющие результаты получены при использовании времяпролетного анализатора с ортогональным ускорением и масс-спектрометрии с преобразованиями Фурье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бейнон, Дж. Масс-спектрометрия и ее применение в органической химии / Дж. Бейнон. — М. : Мир, 1964. — 701 с.

Будзикевич, Г. Интерпретация масс-спектров органических соединений / Г. Будзикевич, К. Джерасси, Д. Уильямс. — М. : Мир, 1966. — 323 с.

Вульфсон, Н. С. Масс-спектрометрия органических соединений / Н. С. Вульфсон, В. Г. Заикин, А. И. Микая. — М. : Химия, 1986. — 312 с.

Джонстон, Р. Руководство по масс-спектрометрии для химиков-органиков / Р. Джонстон. — М. : Мир, 1975. — 236 с.

Заикин, В. Г. Масс-спектрометрия малых циклов / В. Г. Заикин, А. И. Микая, В. М. Вдовин. — М. : Наука, 1983. — 159 с.

Заикин, И. Г. Масс-спектрометрия синтетических полимеров / В. Г. Заикин. — М. : ВМСО, 2009. — 332 с.

Заикин, В. Г. Химические методы в масс-спектрометрии органических соединений / В. Г. Заикин, А. И. Микая. — М. : Наука, 1987. — 200 с.

Зенкевич, И. Г. Интерпретация масс-спектров органических соединений / И. Г. Зенкевич, Б. В. Иоффе. — Л. : Химия, 1986. — 175 с.

Исидоров, В. А. Хромато-масс-спектрометрическое определение следов органических веществ в атмосфере / В. А. Исидоров, И. Г. Зенкевич. — Л. : Химия, 1982. — 136 с.

Лаваньини, И. Количественные методы в масс-спектрометрии / И. Лаваньини, Ф. Маньо, Р. Сералья. — М. : Техносфера, 2008. — 176 с.

Лебедев, А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А. Т. Лебедев. — М. : БИНОМ, Лаборатория знаний, 2010. — 493 с.

Леман, Т. А. Спектрометрия ионно-циклотронного резонанса / Т. А. Леман, М. М. Берси. — М. : Мир, 1980. — 215 с.

Масс-спектрометрия органических соединений в начале XXI века / А. Т. Лебедев [и др.] // Журн. аналит. химии. — 2008. — Т. 63, № 12. — С. 1236–1264.

Полякова, А. А. Молекулярный масс-спектральный анализ органических соединений / А. А. Полякова. — М. : Химия, 1983. — 248 с.

Полякова, А. А. Введение в масс-спектрометрию органических соединений / А. А. Полякова, Р. А. Хмельницкий. — Л. : Химия, 1966. — 204 с.

Тахистов, В. В. Органическая масс-спектрометрия / В. В. Тахистов. — Л. : Наука, 1990. — 223 с.

Тахистов, В. В. Практическая масс-спектрометрия органических соединений / В. В. Тахистов. — Л. : ЛГУ, 1977. — 278 с.

Терентьев, П. Б. Масс-спектрометрия в органической химии / П. Б. Терентьев. — М. : Высш. шк., 1979. — 223 с.

Терентьев, П. Б. Масс-спектрометрический анализ биологически активных азотистых оснований / П. Б. Терентьев, А. П. Станкявичус. — Вильнюс: Мокслас, 1987. — 280 с.

Хвостенко, В. И. Масс-спектрометрия отрицательных ионов в органической химии / В. И. Хвостенко. — М. : Наука, 1981. — 159 с.

Хмельницкий, Р. А. Масс-спектрометрия загрязнений окружающей среды / Р. А. Хмельницкий, Е. С. Бродский. — М. : Химия, 1990. — 182 с.

Хмельницкий, Р. А. Хромато-масс-спектрометрия / Р. А. Хмельницкий, Е. С. Бродский. — М. : Химия, 1984. — 216 с.

Хромато-масс-спектрометрия в России / В. Г. Заикин // Журн. аналит. химии. — 2011. — Т. 66, № 11. — С. 1205–1209.

Чепмен, Дж. Практическая органическая масс-спектрометрия / Дж. Чепмен. — М. : Мир, 1988. — 216 с.

Шеховцов, Н. А. Магнитные масс-спектрометры / Н. А. Шеховцов. — М. : Атомиздат, 1971. — 232 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Глава 1. Основы масс-спектрометрического анализа	6
1.1. Физические основы ионизации молекул и распада молекулярных ионов	6
1.2. Теоретическое описание процессов образования и распада молекулярных ионов	9
1.3. Принципиальная блок-схема масс-спектрометра	15
1.4. Системы ввода анализируемых проб	18
1.5. Основные способы ионизации молекул исследуемых соединений	22
1.6. Разделение ионов	62
1.7. Детектирование ионов	88
1.8. Основные правила и подходы к интерпретации масс-спектров	96
Глава 2. Хромато-масс-спектральный анализ	108
2.1. Газовая хроматография с масс-селективным детектированием ...	108
2.2. Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектированием	122
2.3. Сверхкритическая флюидная хроматография с масс-селективным детектированием	130
2.4. Капиллярный электрофорез с масс-селективным детектированием	131
Список литературы	133

Учебное издание

Винарский Владимир Афанасьевич
Юрченко Руслан Александрович

**МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ
И ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫЙ
АНАЛИЗ**

Пособие

Редактор *Н. Ф. Акулич*
Художник обложки *Т. Ю. Таран*
Технический редактор *Т. К. Раманович*
Компьютерная верстка *Г. И. Василевской*
Корректор *О. С. Сафронова*

Подписано в печать 30.09.2013. Формат 60×84/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 7,9.
Уч.-изд. л. 9,1. Тираж 150 экз. Заказ 672.

Белорусский государственный университет.
ЛИ № 02330/0494425 от 08.04.2009.
Пр. Независимости, 4, 220030, Минск.

Республиканское унитарное предприятие
«Издательский центр Белорусского государственного университета».
ЛП № 02330/0494178 от 03.04.2009.
Ул. Красноармейская, 6, 220030, Минск.