

Масс-спектрометрия (МС)

(масс-спектроскопия, масс-спектрография, масс-спектральный анализ, масс-спектрометрический анализ)

- Один из мощнейших способов качественной идентификации веществ, допускающий также и количественное определение. Можно сказать, что масс-спектрометрия — это «взвешивание» молекул, находящихся в пробе.

Масс-спектрометрия

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

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



Джозеф Джон Томсон
(18.12.1856 – 30.08.1940)

- Середина 1950-х гг. – Вольфганг Пол разработал квадрупольный масс-анализатор (Нобелевская премия по физике 1989 г.)
- 1985 г. – Коити Танака разработал метод мягкой лазерной десорбции (Нобелевская премия по химии 2002 г.)

- **Преимущество метода** в том, что для анализа достаточно очень малое количество вещества, **основной недостаток** – метод является разрушающим, т. е. исследуется не само вещество, а продукты его превращения
- Строго говоря, метод МС не относится к спектроскопическим, поскольку в его основе нет взаимодействия вещества с электромагнитным излучением,
- но **внешний вид** графического распределения ионов по массовым числам - зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду - **напоминает спектр** и получил название масс-спектр, а сам метод - масс-спектрометрия

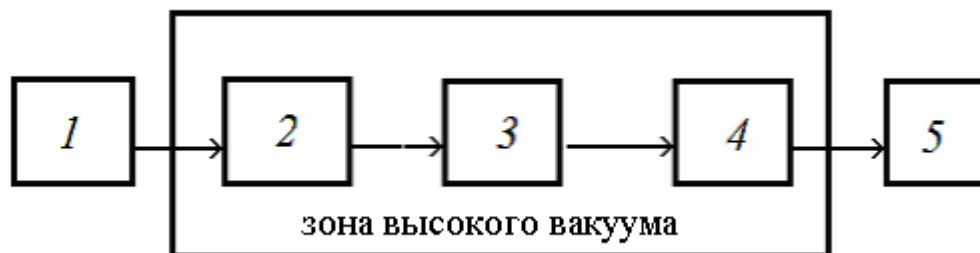
Задачи, решаемые МС

- Идентификация веществ
- Химический анализ смесей
- Элементный анализ
- Изотопный анализ
- Разделение изотопов

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



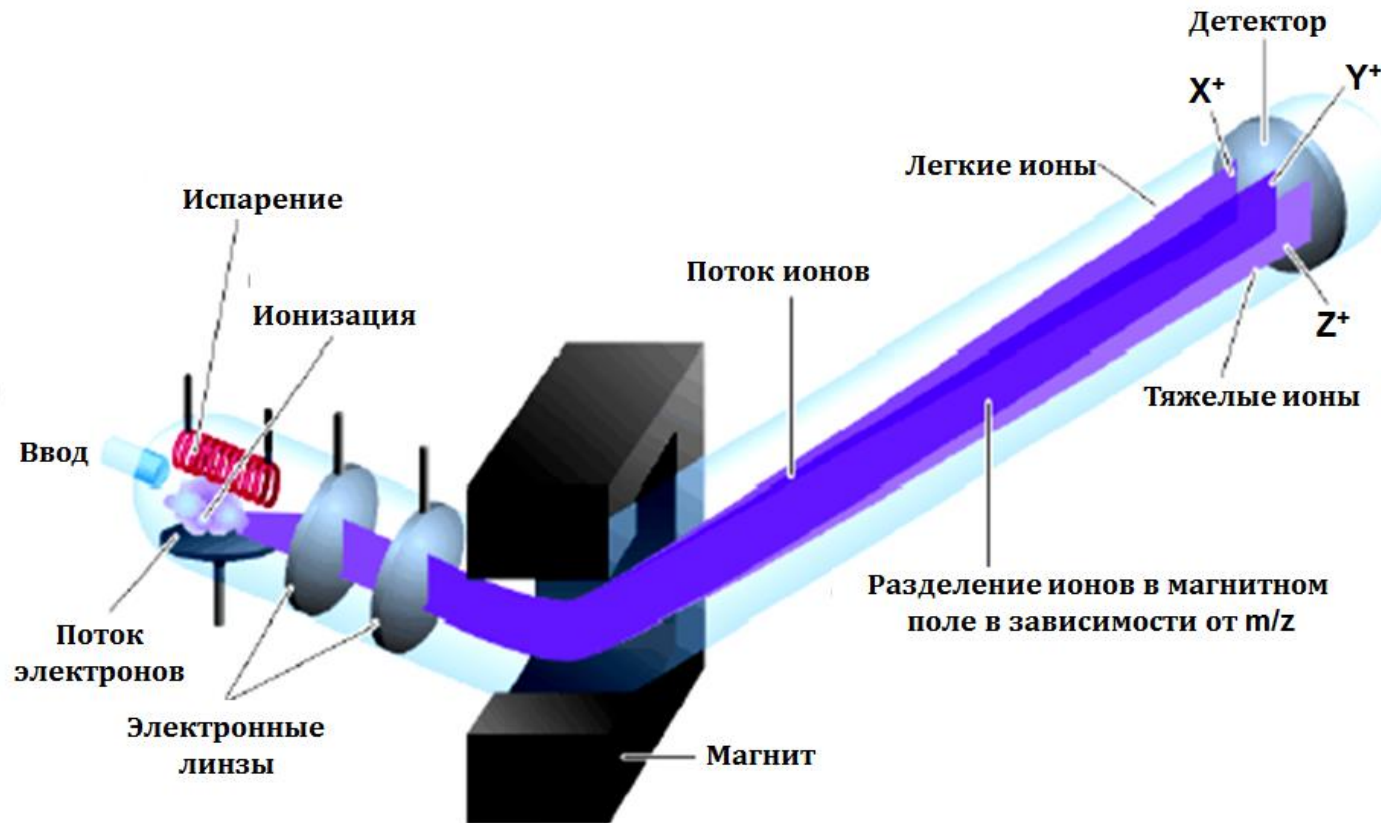
Блок-схема масс-спектрометра



- 1 – система ввода образца
- 2 – источник ионизации с ускорителем ионов
- 3 – масс-анализатор (устройство для разделения ионов)
- 4 – детектор
- 5 – измерительное или регистрирующее устройство
- Чтобы исключить соударение ионов с другими атомами или молекулами, анализ происходит в вакууме (в ионизаторе давление $10^{-3} - 10^{-4}$ Па, в масс-анализаторе - $10^{-3} - 10^{-8}$ Па)

Принцип метода

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

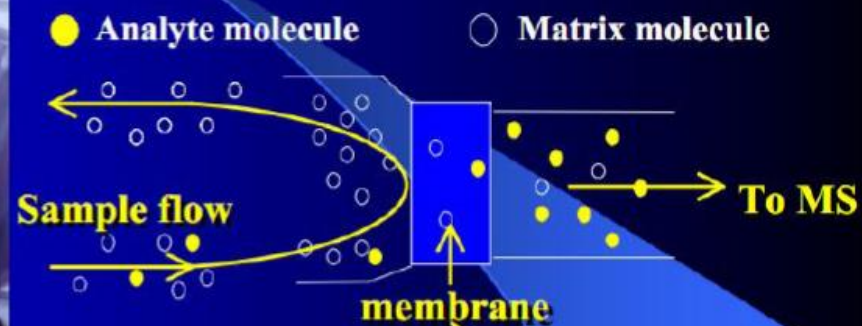


Система ввода пробы

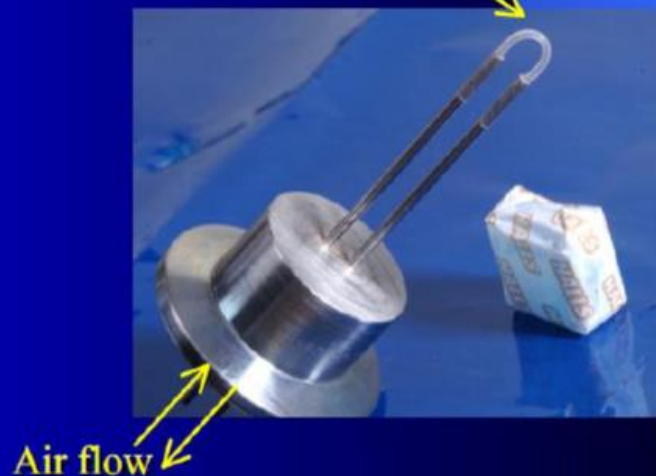
- **Непрямой способ** - пробу вводят в ионизатор в газообразном состоянии. Жидкие и твердые пробы испаряют ($\sim 500\text{ }^{\circ}\text{C}$) в вакуумной камере, и пары через специальное отверстие поступают в ионизатор
 - ! Количество вводимой пробы не превышает нескольких микромолей, чтобы не нарушить вакуум внутри прибора !
- **Прямой способ** - используется для труднолетучих проб. Образец непосредственно вводят в ионизатор с помощью штанги через систему шлюзовых камер
 - ! В этом случае потери вещества значительно меньше, масса пробы - несколько нг !
- Анализируемое вещество поступает в масс-спектрометр в ходе **хроматографического разделения**
 - ! В настоящее время сочетание газовой и жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС, ЖХ-МС) в режиме *on-line* используют для рутинного анализа во многих областях аналитической химии !

Sampling Methods: MIMS

M*



On-line мониторинг сложных веществ таких как например, дыхание человека (газовая смесь)



Способы ионизации

Способы ионизации атомов и молекул зависят от конкретной цели анализа

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

Методы ионизации пробы

Газовая фаза

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

Жидкая фаза

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

Твёрдая фаза

- прямая лазерная десорбция - масс-спектрометрия (LDMS)
- матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI)
- масс-спектрометрия вторичных ионов (SIMS)
- бомбардировка быстрыми атомами (FAB)
- десорбция в электрическом поле (FD)
- плазменная десорбция (PD)
- ионизация в индуктивно-связанной плазме (ICP)
- термоионизация или поверхностная ионизация
- ионизация в тлеющем разряде и искровая ионизация
- ионизация в процессе лазерной абляции

- В неорганической химии для анализа элементного состава применяются жёсткие методы ионизации, так как энергии связи атомов в твёрдом теле гораздо больше и значительно более жёсткие методы необходимо использовать для того, чтобы разорвать эти связи и получить ионы
- ионизация в индуктивно связанной плазме (ICP)
 - термоионизация или поверхностная ионизация
 - ионизация в тлеющем разряде и искровая ионизация
 - ионизация в процессе лазерной абляции
- Исторически первые методы ионизации были разработаны для газовой фазы
- К сожалению, очень многие органические вещества невозможно испарить, то есть перевести в газовую фазу, без разложения, а это значит, что их нельзя ионизовать электронным ударом

К таким веществам относят почти всё, что составляет живую ткань (*белки, ДНК и т. д.*), физиологически активные вещества, полимеры, то есть всё то, что сегодня представляет особый интерес

Масс-спектрометрия не стояла на месте и последние годы были разработаны специальные методы ионизации таких органических соединений

Сегодня используются, в основном, **два** из них

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

Электронный удар

метод широко применяется для ионизации органических соединений

- Пары образца бомбардируют ускоренными электронами
- При столкновении электронов с органической молекулой вначале образуется катион-радикал $M + e \rightarrow M^{+\cdot} + 2e$
- затем происходит его распад (фрагментация), и образуются дочерние ионы с меньшими массами



То есть

Ионизация

Усиление

Разделение

+4000 V 0 V

Магнитное и/или
электрическое
поле

e^-

e^-

e^-

e^-

e^-

Перевод в
газообразное
состояние

В
а
к
у
у
м

heavy

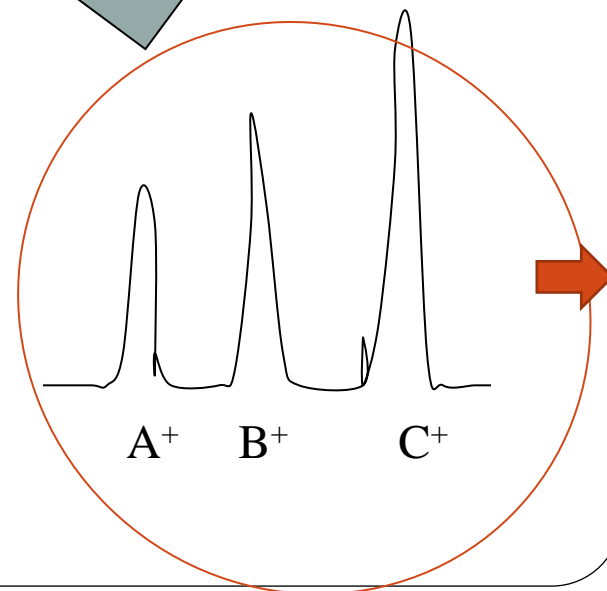
light

A⁺

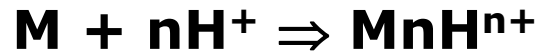
B⁺

C⁺

образец

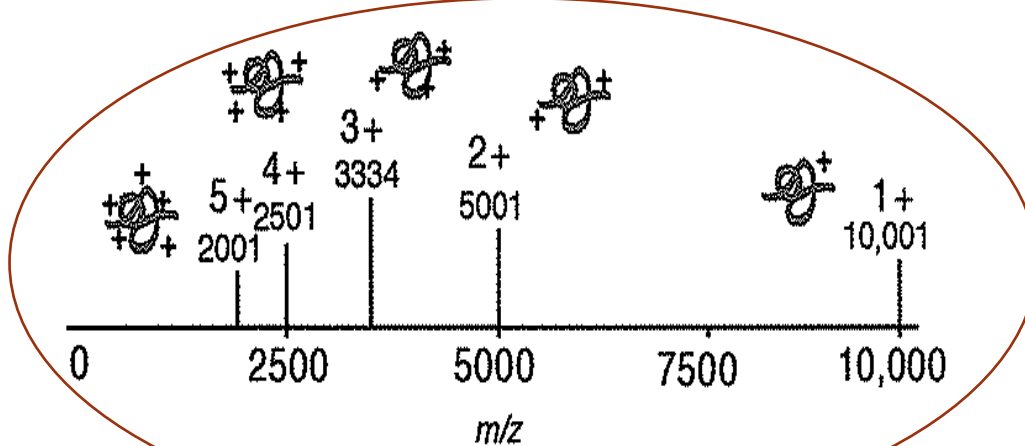


Формирование ионов при ионизации электронным ударом подчиняется следующему закону:



Рассмотрим пептид с ММ 10000 Да

В результате ионизации могут образоваться ионы:



При $z = 1$

$$m/z = (10000+1)/1 = 10001$$

При $z = 2$

$$m/z = (10000+2)/2 = 5002$$

При $z = 3$

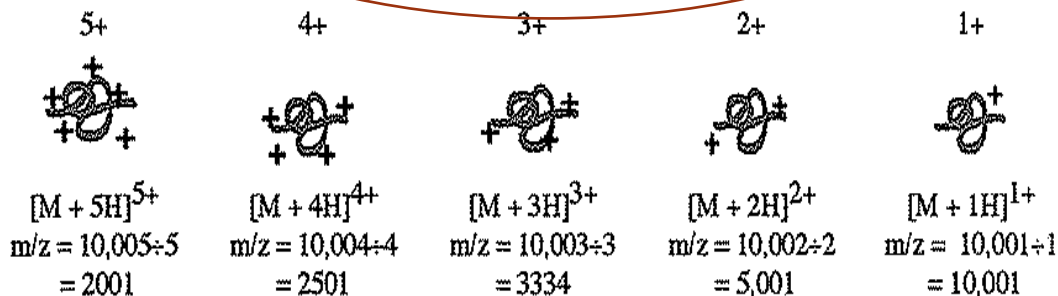
$$m/z = (10000+3)/3 = 3334.3$$

При $z = 4$

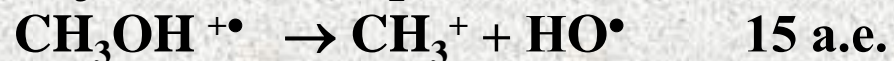
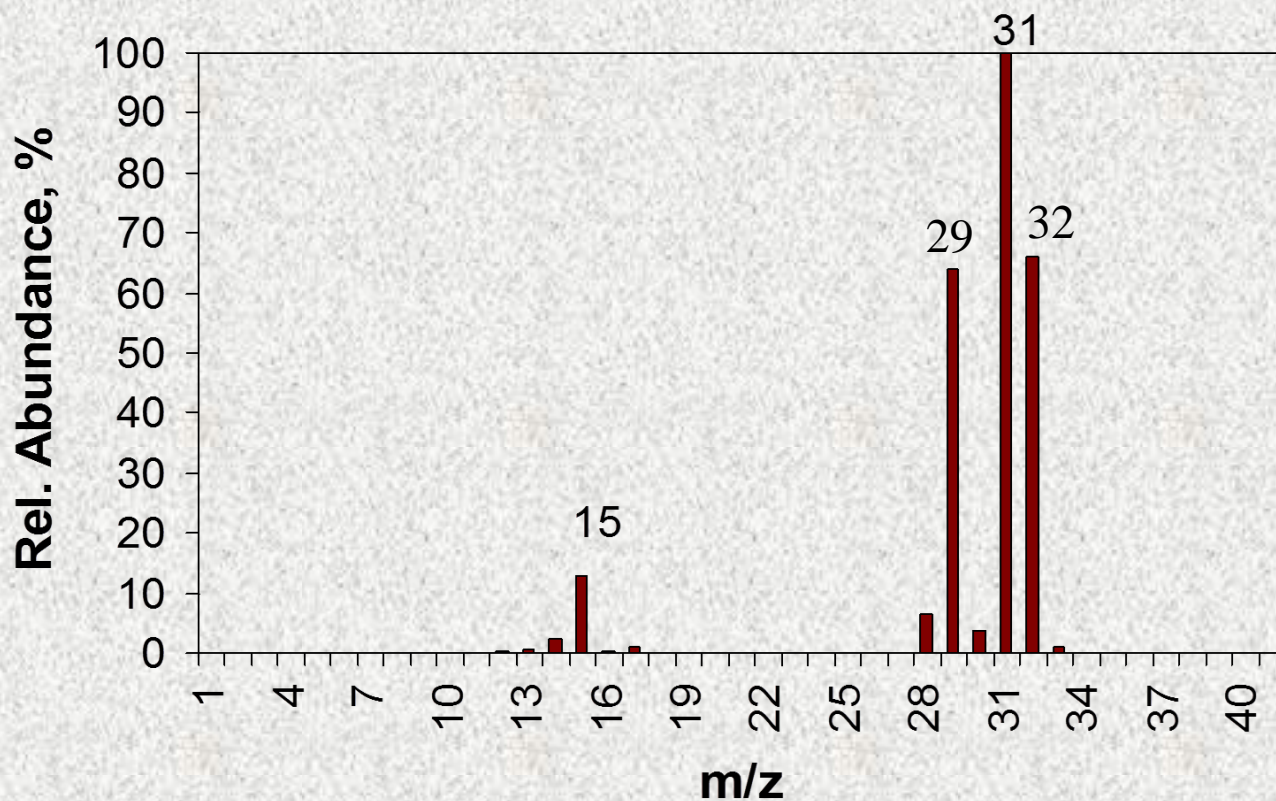
$$m/z = (10000+4)/4 = 2501$$

При $z = 5$

$$m/z = (10000+5)/5 = 2001$$



Масс-спектр метанола (CH₃OH)



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

Достоинства метода

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

Недостатки метода:

- Молекулярные ионы образуются лишь у *20% органических соединений*
- Метод применим только для определения *легколетучих термически стабильных соединений*;
- Ионы с большими значениями m/z , дающие информацию о молекулярной массе и наличии функциональных групп обеспечивают небольшой вклад в значения полного ионного тока
- Отрицательно заряженные ионы, имеющие большое значение в структурном анализе, образуются в очень небольшом количестве и ограниченным числом органических соединений

Химическая ионизация

более мягкий способ ионизации

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

Ионизация молекул газа происходит за счет электронной ионизации с дальнейшим химическим превращением газа-ионизатора. Сталкиваясь с молекулами образца, ионизированные молекулы газа передают свой заряд в виде протона исследуемой молекуле:

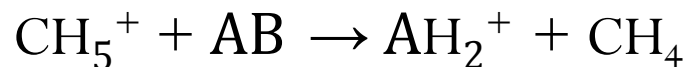
- CH_4 : CH_4^+ , CH_3^+ , CH_2^+
- $\text{CH}_4^+ + \text{CH}_4 = \text{CH}_5^+ + \text{CH}_3$
- $\text{CH}_3^+ + \text{CH}_4 = \text{CH}_5^+ + \text{H}_2$
- $\text{CH}_2^+ + \text{CH}_4 = \text{C}_2\text{H}_3^+ + \text{H}_2 + \text{H}$
- $\text{C}_2\text{H}_3^+ + \text{CH}_4 = \text{C}_3\text{H}_5^+ + \text{H}_2 \dots$



В.Л. Тальрозе
(1922-2004)

За успехи в использовании и развитии масс-спектрометрии награжден Международной медалью Дж. Дж. Томсона за 2003 год.

- Определяемые молекулы АВ ионизируются непосредственно ионами реагентного газа за счет ряда реакций, например:



- Далее протонированная молекула образца выталкивается электрическим полем в сторону масс-анализатора

- *Достоинства:*

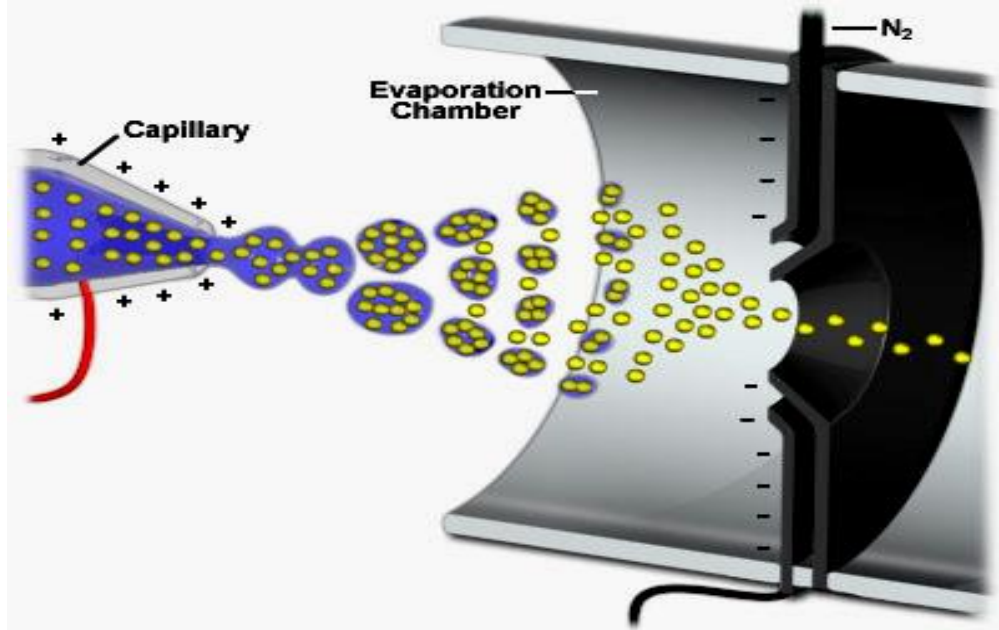
1. Мягкий метод ионизации, молекуле образца передается около 5 эВ избыточной энергии, что препятствует процессам фрагментации и позволяет подвергать анализу нестойкие молекулы
2. Интенсивный пик молекулярного иона, что позволяет определить молекулярную массу

- *Недостатки:*

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

Электроспрей (электрораспыление)

- Вещество на ионизацию поступает **в полярном растворителе** (вода, метанол, ацетонитрил и др.), содержащем ионы водорода и катионы щелочных металлов (натрий, калий), через металлический капилляр (распылитель), к которому приложено высокое напряжение
- Продвигаясь в электрическом поле капля раствора испаряется под действием нагретого потока инертного газа (азот) и распадается на ряд мелких положительно заряженных капель, которые попадают в масс-анализатор



• Достоинства:

- Метод позволяет работать с веществами, которые нельзя перевести в газовую фазу
- Удобен для сочетания масс-спектрометра с жидкостным хроматографом
- Возможность анализа крупных молекул (до нескольких млн Да)
- Мягкое (низкоэнергетическое) ионизационное воздействие

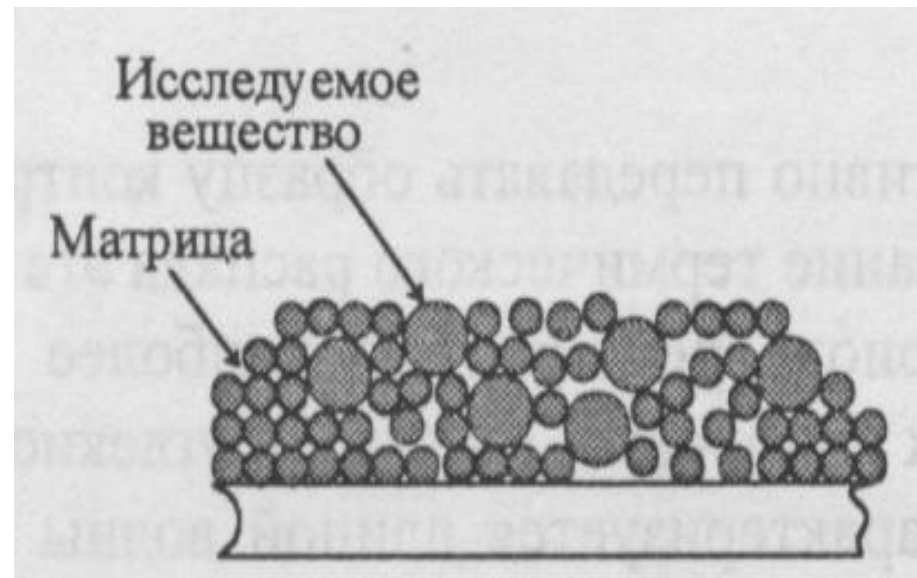
• Недостатки:

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

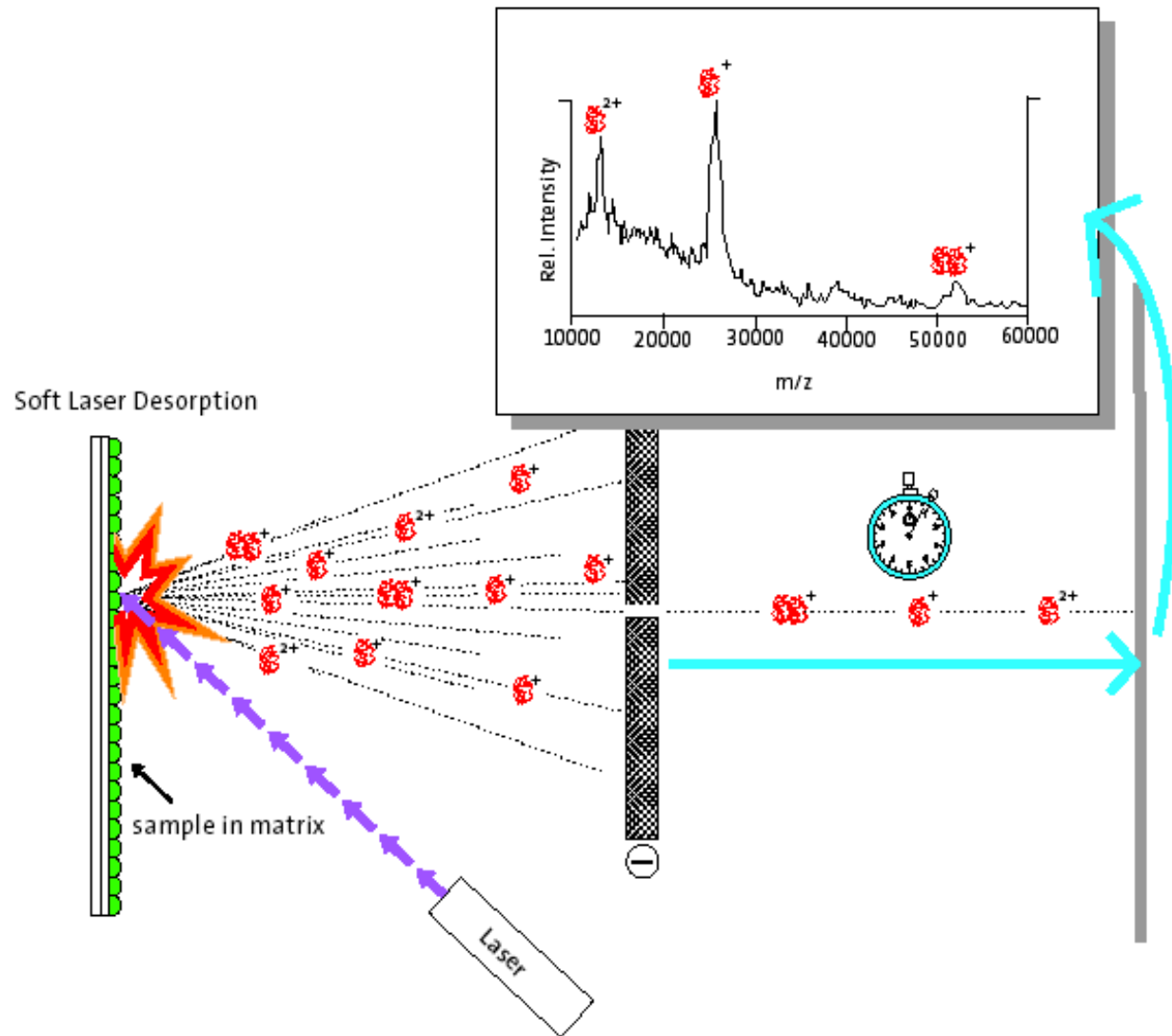
Лазерная десорбция (MALDI)

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

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



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



Матрица	Применение
α -циано-4-гидроксикоричная кислота (ССА)	пептиды
3,5-Диметокси-4-гидроксикоричная кислота (sinapinic acid)	белки
2,5 Дигидроксибензойная кислота (DHB)	пептиды, белки, полимеры, сахара
3-гидроксипиколиновая кислота (HRA)	олигонуклеотиды
дитранол (антралин)	полимеры

Достоинства:

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

Недостатки:

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

Полевая ионизация

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

Бомбардировка быстрыми атомами

- При **бомбардировке быстрыми атомами** пробу помещают в ионизатор непосредственно или предварительно, растворяют в подходящей нелетучей матрице (обычно, в глицерине)
- Затем пробу облучают потоком нейтральных высокоэнергетических (около 8кэВ) атомов, например, Ag или Xe
- Бомбардировка пробы приводит к образованию **+** и **-** ионов, которые в результате десорбции отрываются от поверхности
- Выход ионов анализируемого образца тем больше, чем больше масса ускоренных атомов

Масс-анализаторы

- **Масс –анализатор** – устройство для разделения ионов в соответствии с отношением m/z
- Существует более 10 типов динамических масс-анализаторов
- **Основные типы** масс-анализаторов
 - *магнитные*
 - *квадрупольные*
 - *времяпролетные*
 - *«ионная ловушка»*

Магнитный масс-анализатор

для разделения ионов используют однородное магнитное поле

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

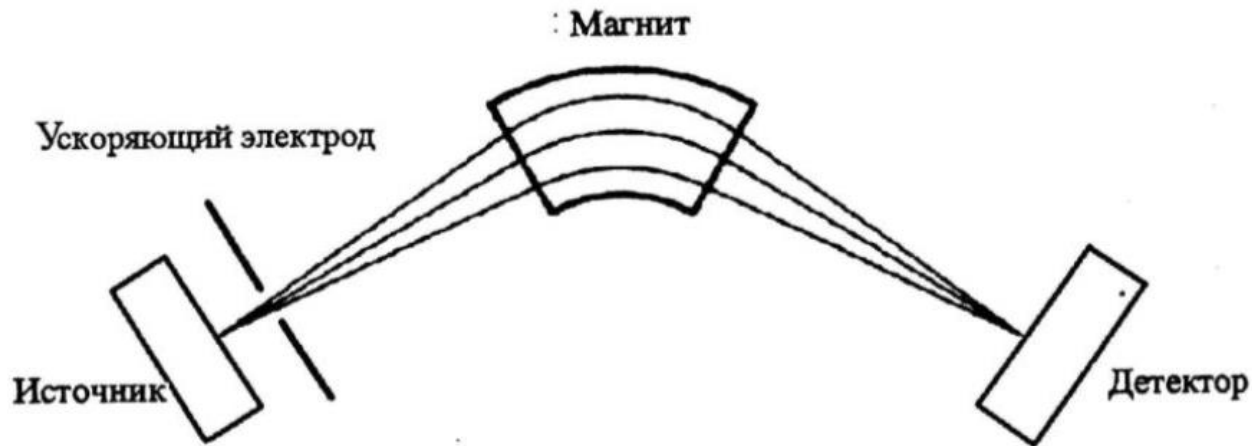


Схема масс-спектрометра с магнитным анализатором

- Согласно законам физики, траектория заряженных частиц в магнитном поле искривляется, причем радиус кривизны зависит от их массы и заряда

- Именно этот факт и используется для анализа масс ионов
- **Достоинство** магнитных масс-спектрометров
 - высокое разрешение,
 - чувствительность,
 - большой диапазон детектируемых масс
- основной **недостаток** – большой размер приборов и высокая стоимость

Электрический (электростатический) МА

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

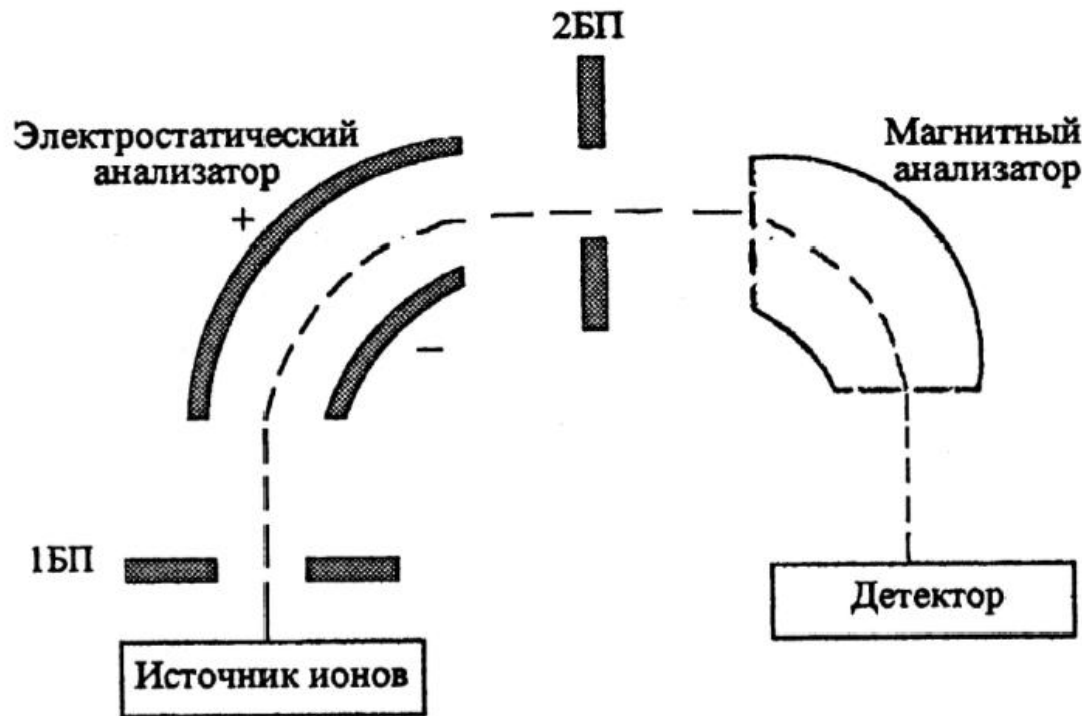
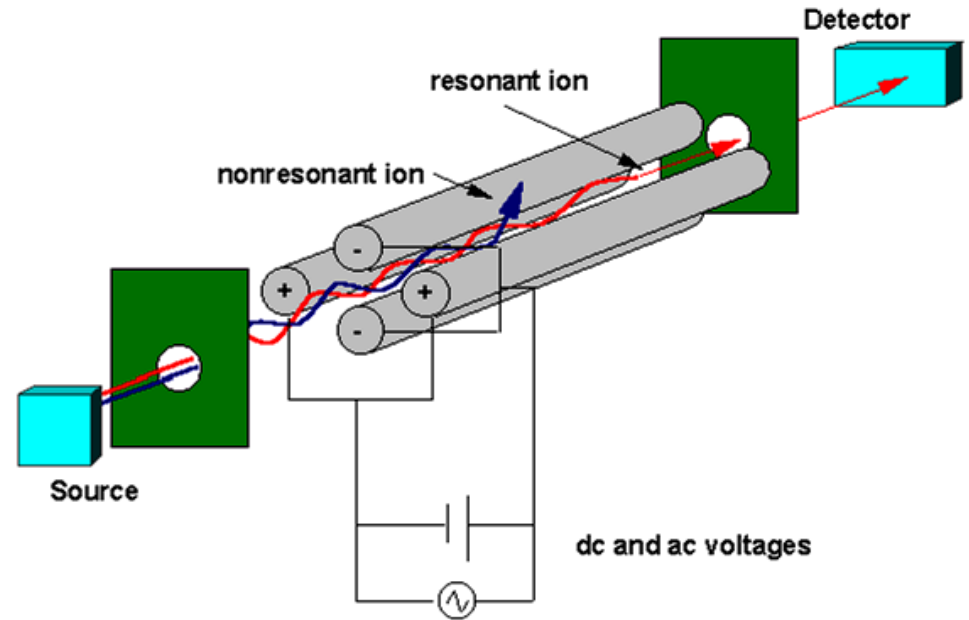


Схема масс-спектрометра с двойной фокусировкой ионов (БП – бесполеное пространство)

Квадрупольный масс-анализатор

- Ионный пучок направляют в пространство между четырьмя параллельными электродами
- Это стержни (0,6 x15 см) из нержавеющей стали, одна пара по диагонали противоположных стержней заряжена положительно, другая - отрицательно
- Одновременно на электроды наложено высокочастотное переменное напряжение



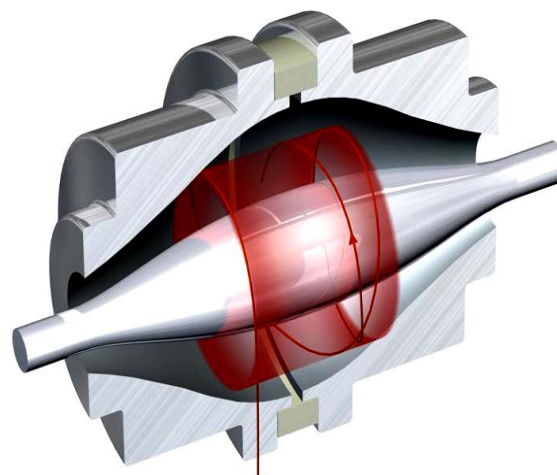
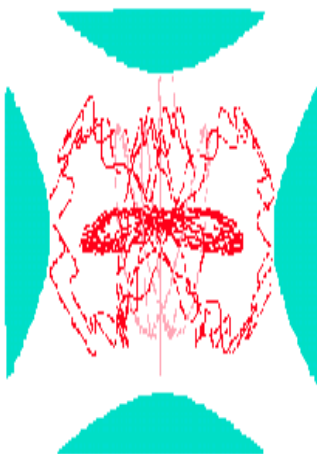
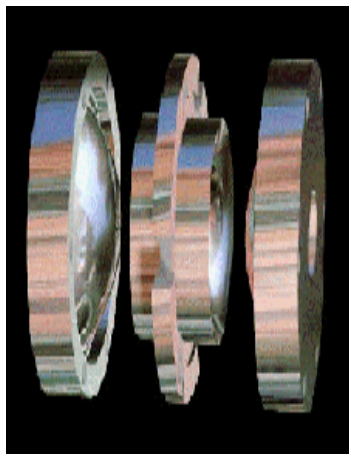
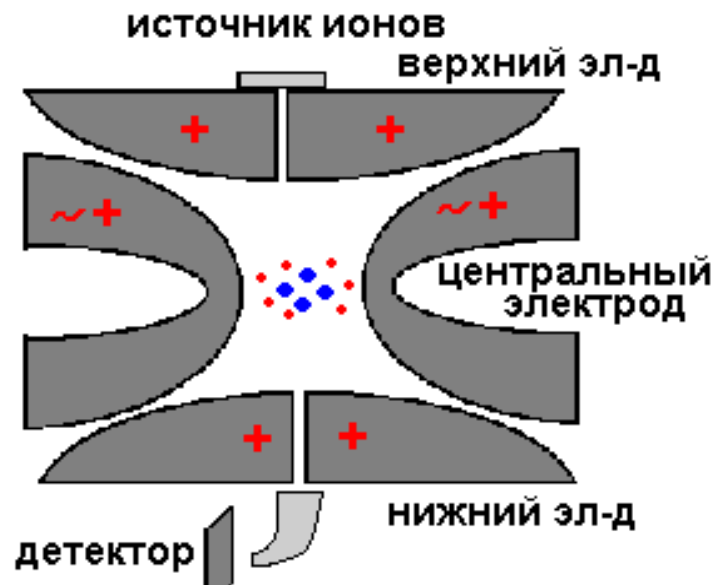
- Под действием электрических полей заряженные частицы колеблются и при фиксированном значении частоты и амплитуды переменного поля только ионы с определенным значением m/z проходят через квадруполь
- Частицы с другими значениями масс сталкиваются со стержнями и выбывают из потока. При этом происходит своеобразная фильтрация ионов
- Чтобы зафиксировать ионы с другим массовым числом, меняют либо частоту, либо амплитуду переменного поля. Так формируется масс-спектр
- **Недостаток** приборов этого типа: верхний предел пропускания находится между m/z 1000 и 2000
- **Достоинства:** высокая чувствительность, небольшие размеры, невысокая цена, удобство в эксплуатации; время регистрации спектра до 0,1 с, что очень важно в сочетании прибора с хроматографией



Трехмерная ионная ловушка (Ion trap)

Разновидность квадрупольного масс-анализатора

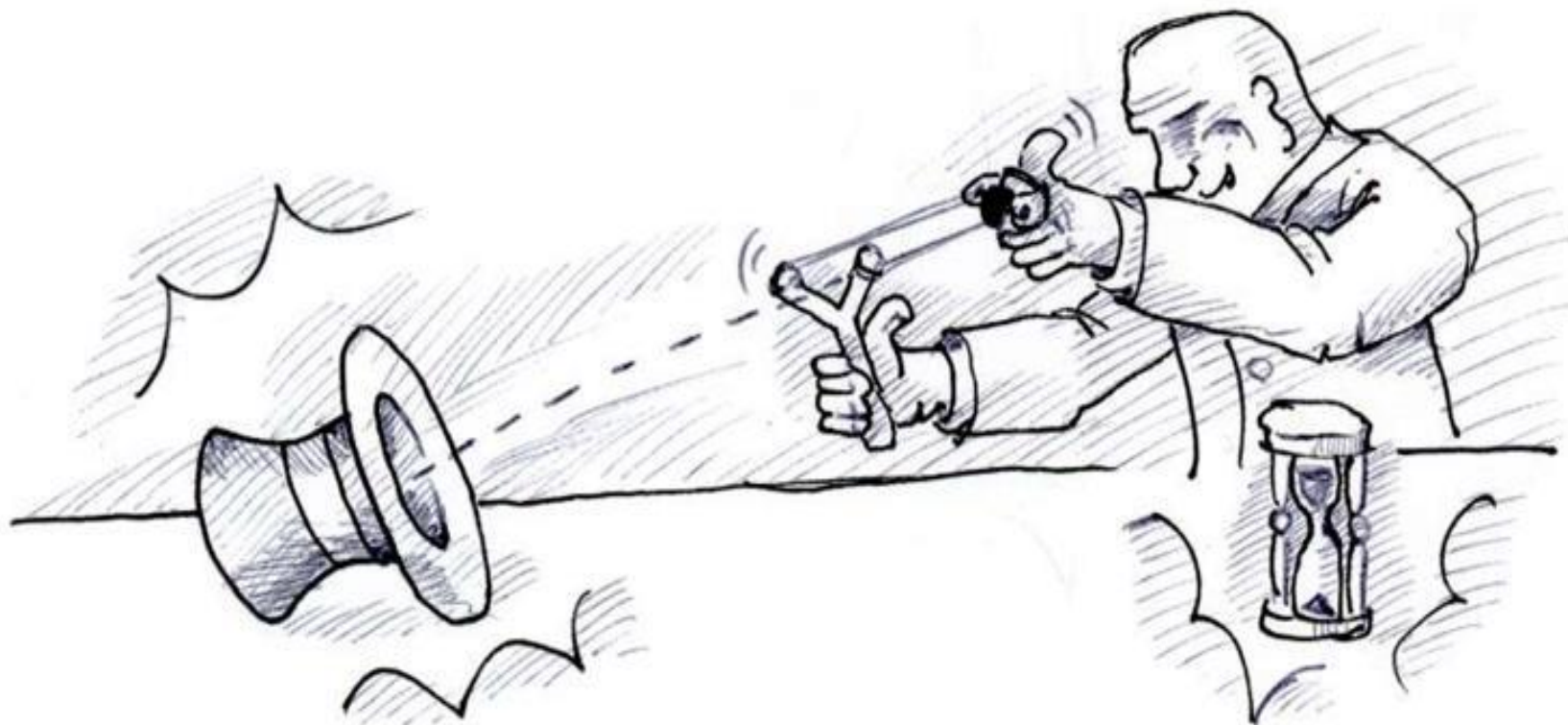
Два концевых (**полюсных**) гиперболических по форме электрода заземлены, между ними располагается **электрод кольцевой формы**, на который подается радиочастотное напряжение мегагерцового диапазона



- Эта система электродов создает поле, позволяющее удерживать ионы достаточно долгое время
- Для ионизации образца используется электронная или химическая ионизация в импульсном режиме (0,1 – 10 мс)
- Импульсное изменение амплитуды радиочастотного напряжения на центральном электроде заставляет ионы с определенным m/z переходить на нестабильные траектории и покинуть ловушку (образованную полем центрального электрода), попадая в систему регистрации - на **электронный умножитель**

Времяпролетный масс-спектрометр

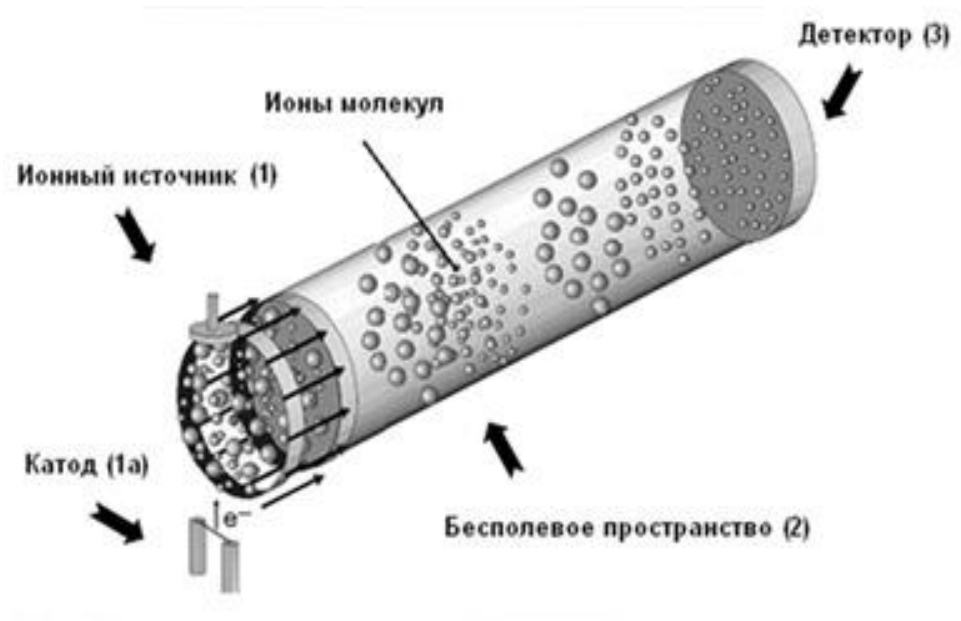
Time of Flight (ToF)

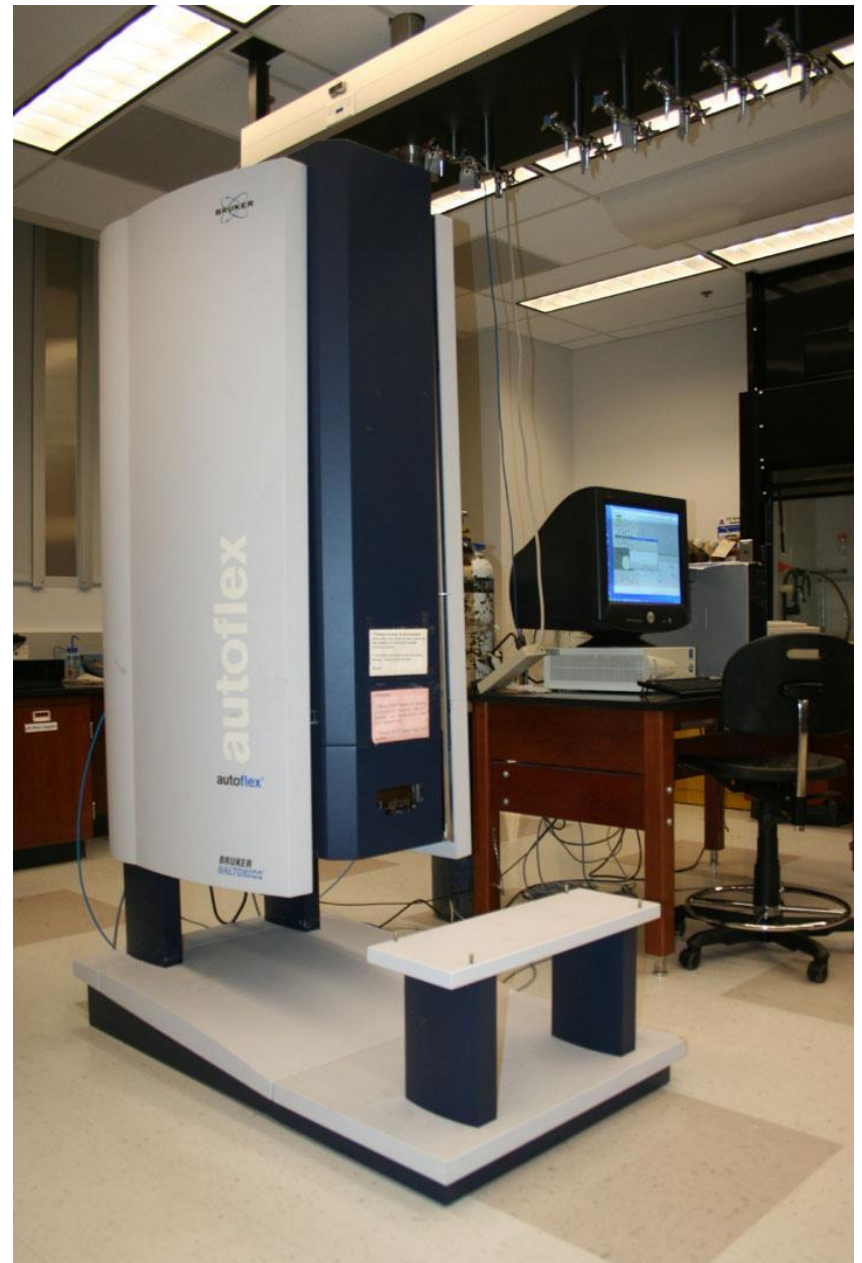
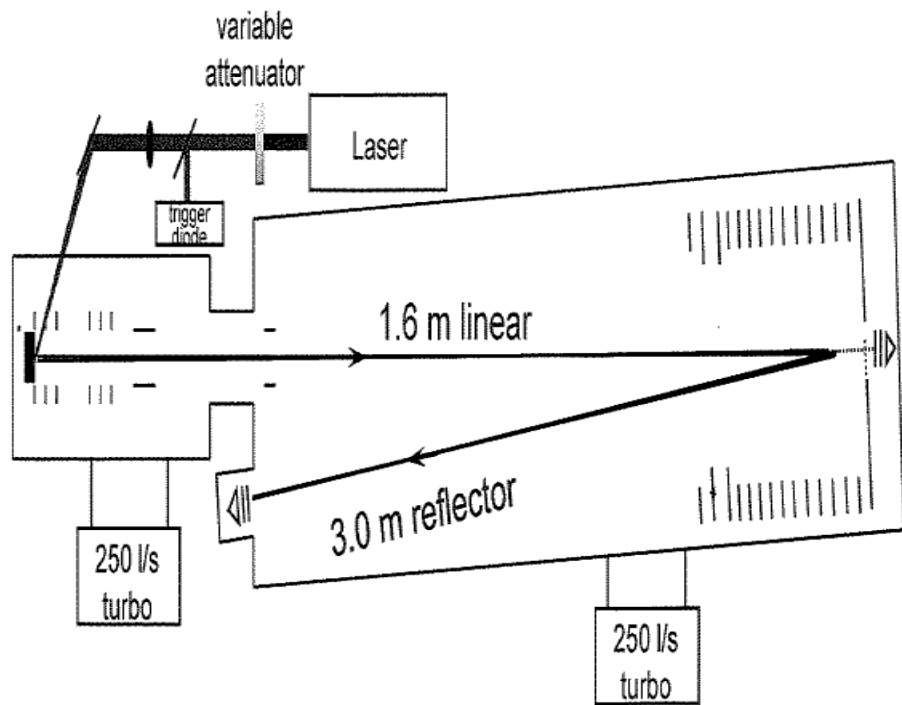


- Действие **времяпролетных масс-анализаторов** основано на зависимости *скорости движения ионов от их массы*. Их особенность: ионы движутся в бесполовом пространстве
- После ускорителя все ионы обладают одинаковой кинетической энергией $E = mv^2/2$, следовательно, чем больше их масса, тем меньше скорость,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

$$t = L\sqrt{m / 2zU}$$

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

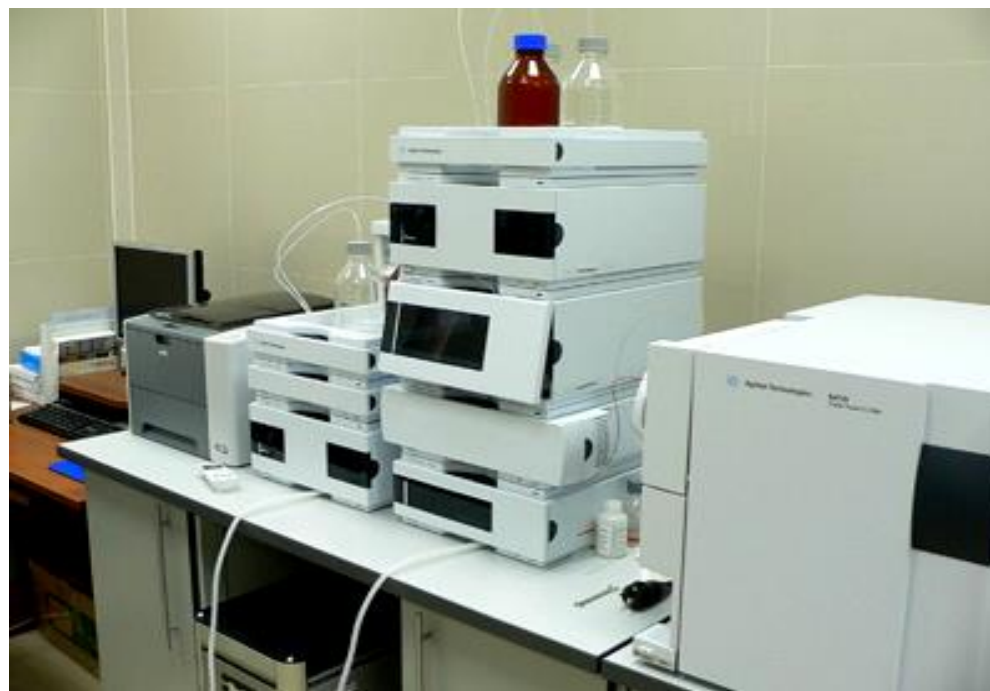




ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ

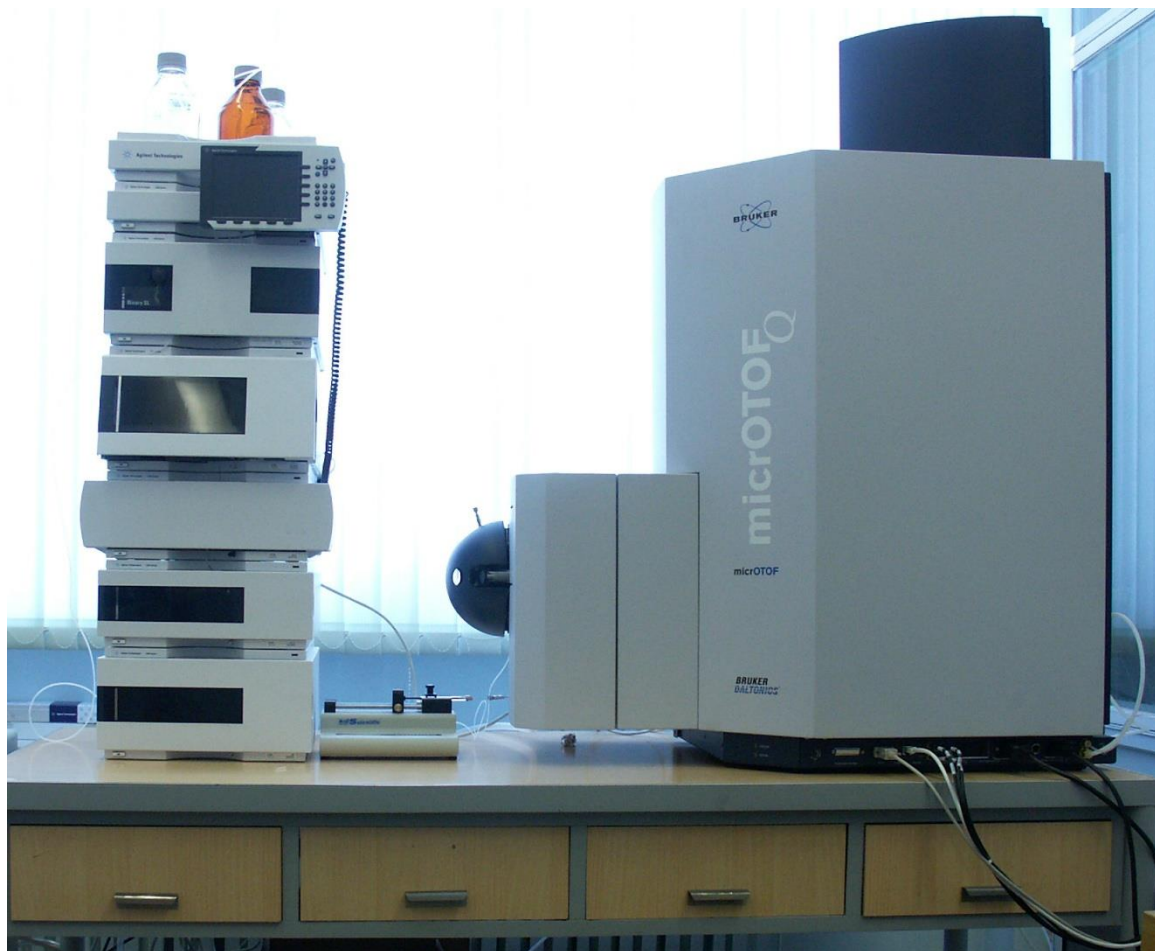
Другой вариант масс-спектрометрии - сочетание ВЭЖХ и МС.

Метод предназначен для анализа смесей труднолетучих, полярных веществ, не поддающихся анализу методом газожидкостной хроматографии. В этом случае часть жидкого потока пропускают через капилляр диаметром в несколько микрон, в результате чего образуются капли, которые далее попадают в обогреваемую зону, где большая часть растворителя испаряется, а оставшаяся вместе с веществом попадает в ионный источник и ионизируется



Возможности жидкостных хромато-масс-спектрометров

1. Автоматический и ручной ввод образца/
Серии образцов.
2. Диапазон измеряемых масс от 20 до
20000 а.е.м. и выше.
3. Программируемое изменение температуры
хроматографической колонки до
температуры кипения растворителя
(обычно 25 - 100 °С).
4. Анализ жидких проб – веществ в растворе.
5. Возможность анализа полимеров, олигомеров, биологических объектов,
полярных соединений, веществ, содержащих много ОН- и других ионогенных
групп и т. д., т. е. тех веществ, которые не проходят через хроматографическую
колонку газового хроматографа.
6. Возможность подбора хроматографической колонки под
узкоспециализированные задачи: анализ нефтепродуктов, ароматических
соединений, полярных веществ, лекарственных препаратов и т. д.

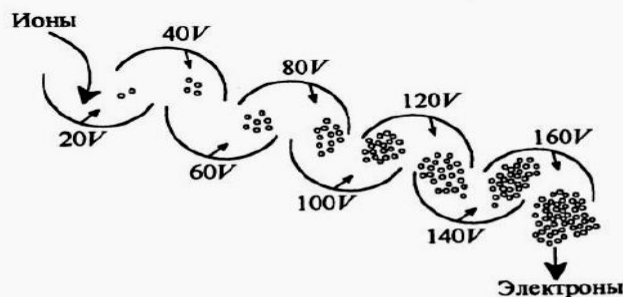


- Времяпролетный масс-спектрометр высокого разрешения Bruker microTOF_Q с жидкостным хроматографом Agilent 1100

Детекторы ионов

- Сначала в качестве детектора использовалась **фотопластинка**
- В настоящее время применяют **диодные вторично-электронные умножители**, в которых ион, попадая на первый диод (т.е. электрод, в фотоэлектронном умножителе, служащий для усиления потока электронов за счет их вторичной эмиссии (испускания электронов поверхностью Me)), выбивает из него пучок электронов, которые в свою очередь, попадая на следующий диод, выбивают из него ещё большее количество электронов и т. д.
- **микроданальные умножители**, системы типа диодных матриц и коллекторы, собирающие все ионы, попавшие в данную точку пространства (коллекторы Фарадея)

Схема действия электронного умножителя (ЭУ):



Электронный умножитель
масс-спектрометра
Thermo Electron DFS



Представление масс-спектров

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

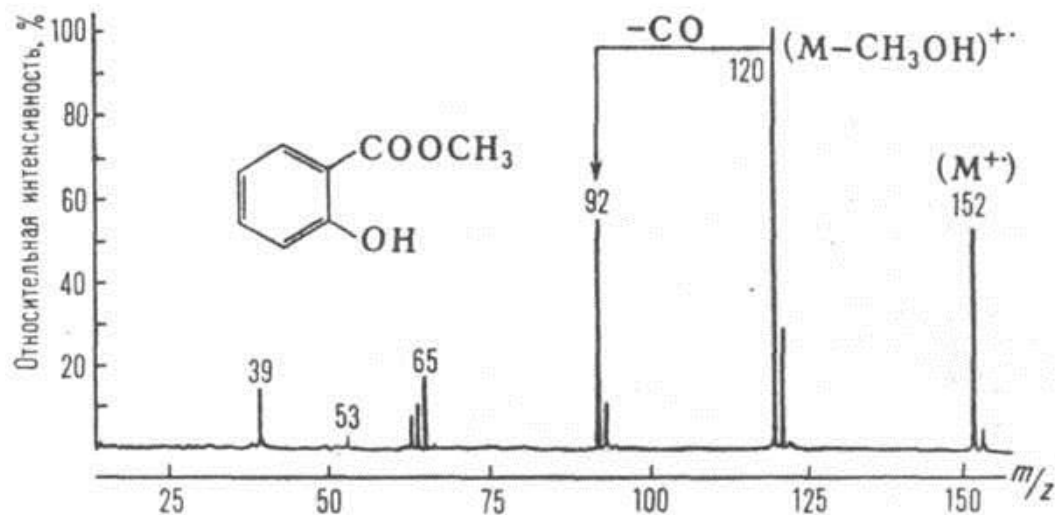


Рис. 1. Масс-спектр метилсалицилата.

Анализ по масс-спектрам

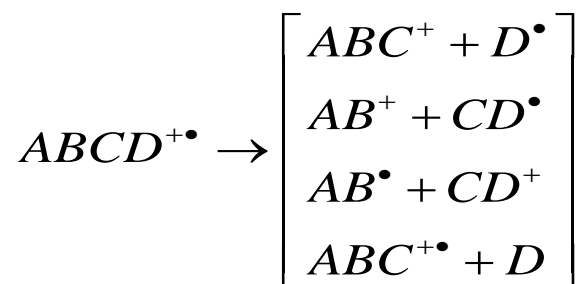
- **1. Определение молярной массы**

Источник информации – положение молекулярного пика M^+ или его производных $(M+1)^+$ $(M-1)^+$

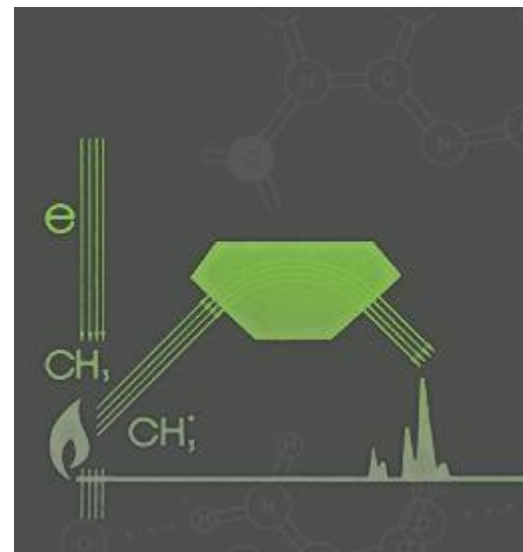
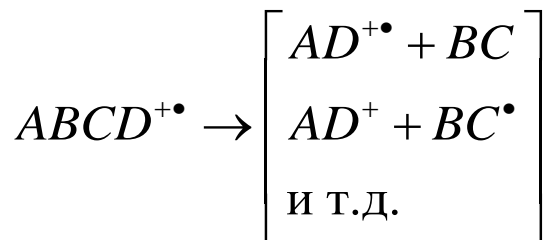
- **2. Определение брутто-формулы** – используют соотношение интенсивностей пиков изотопов элементов

Например, число атомов углерода в молекуле определяют по интенсивности пика иона с массой $(M+1)^+$ - он имеет такую же структуру, но содержит атомы ^{13}C . Содержание этого изотопа в природе - 1,1%, поэтому интенсивность пика иона с изотопом ^{13}C равна $1,1n\%$, где n – число атомов углерода

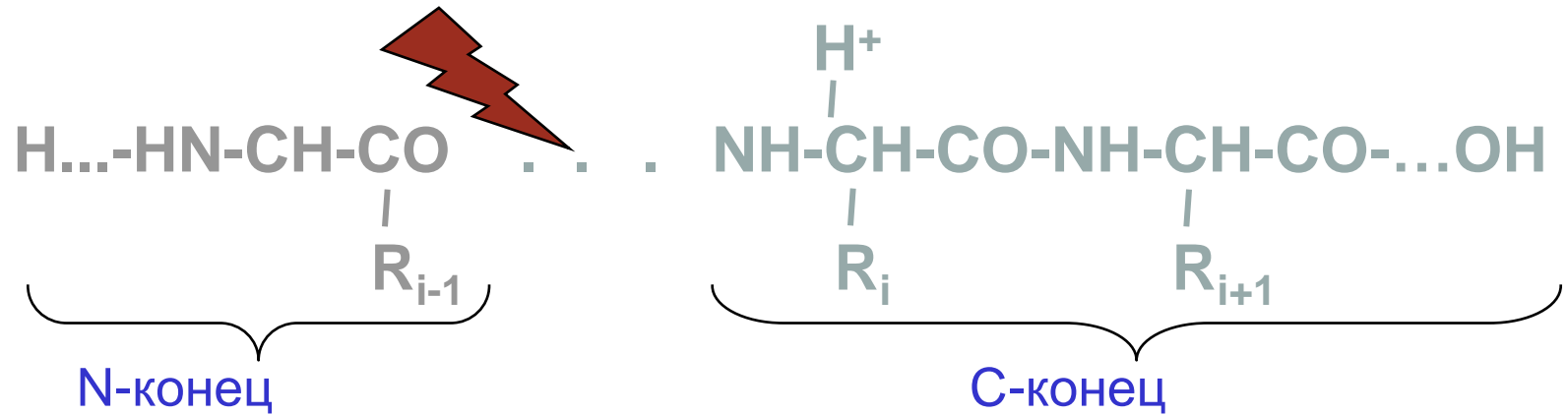
- **3. Определение структуры** органических соединений - основано на изучении пиков «ОСКОЛОЧНЫХ» ИОНОВ (образующихся с начальной кинетической энергией, но изменяющих величину эффективного угла собирания, что приводит к изменению формы пика)
- При столкновении электронов с органической молекулой вначале образуется катион-радикал
- $ABCD + e \rightarrow ABCD^{+\bullet} + 2e$
- С увеличением энергии электронов происходит его распад, фрагментация



- Одновременно происходят внутримолекулярные перегруппировки

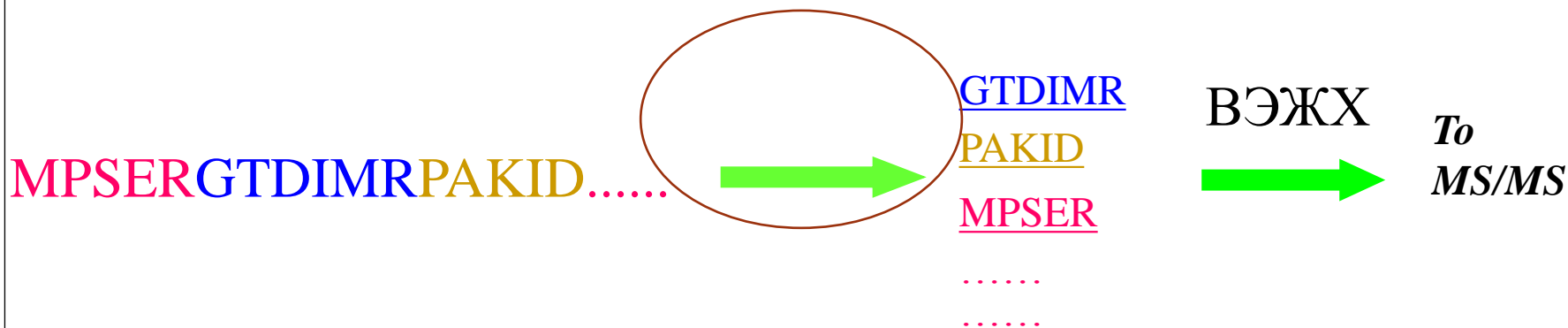


Фрагментация белка



- В белках разрушается пептидная связь

Использование химических агентов

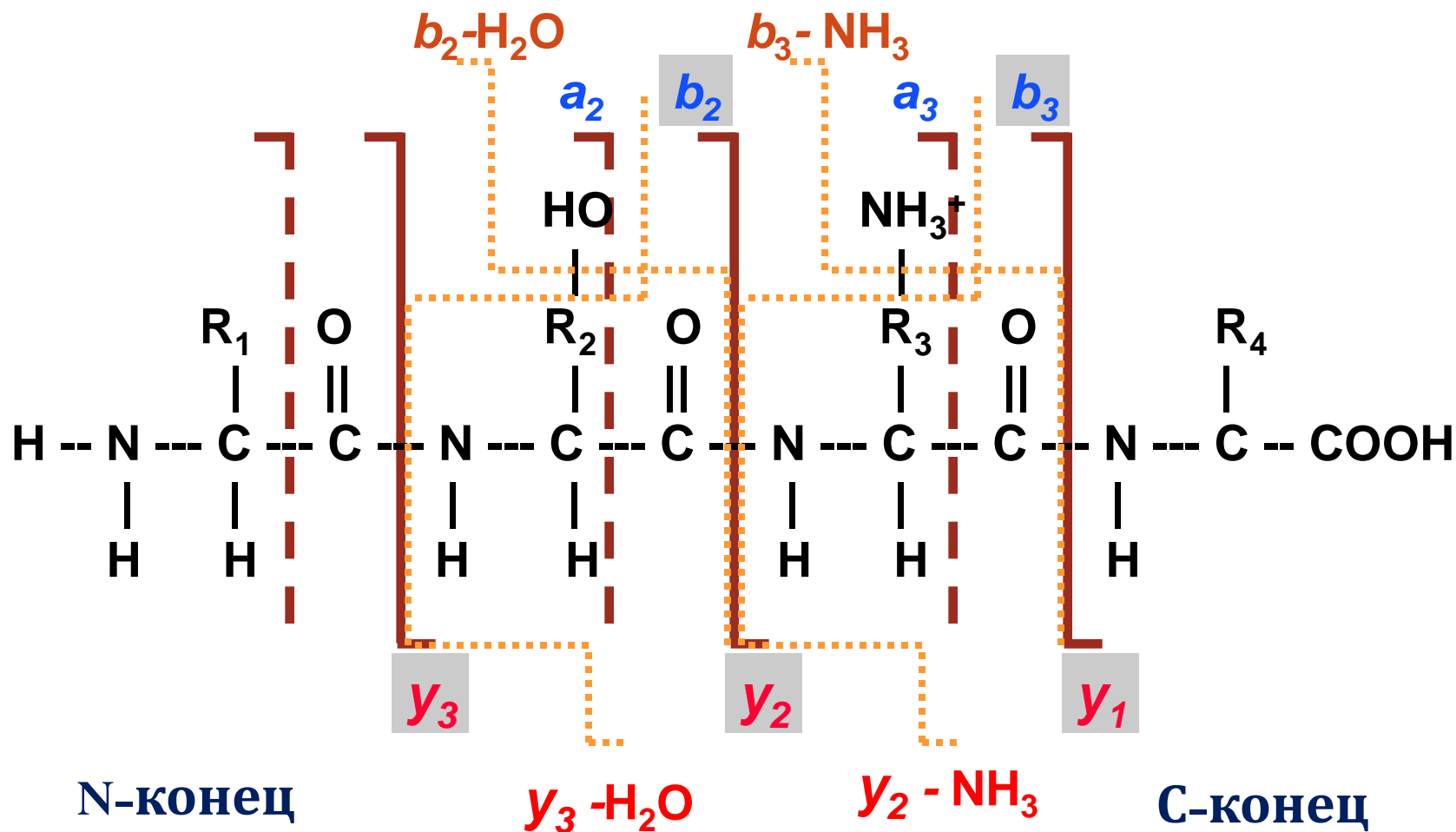


белок

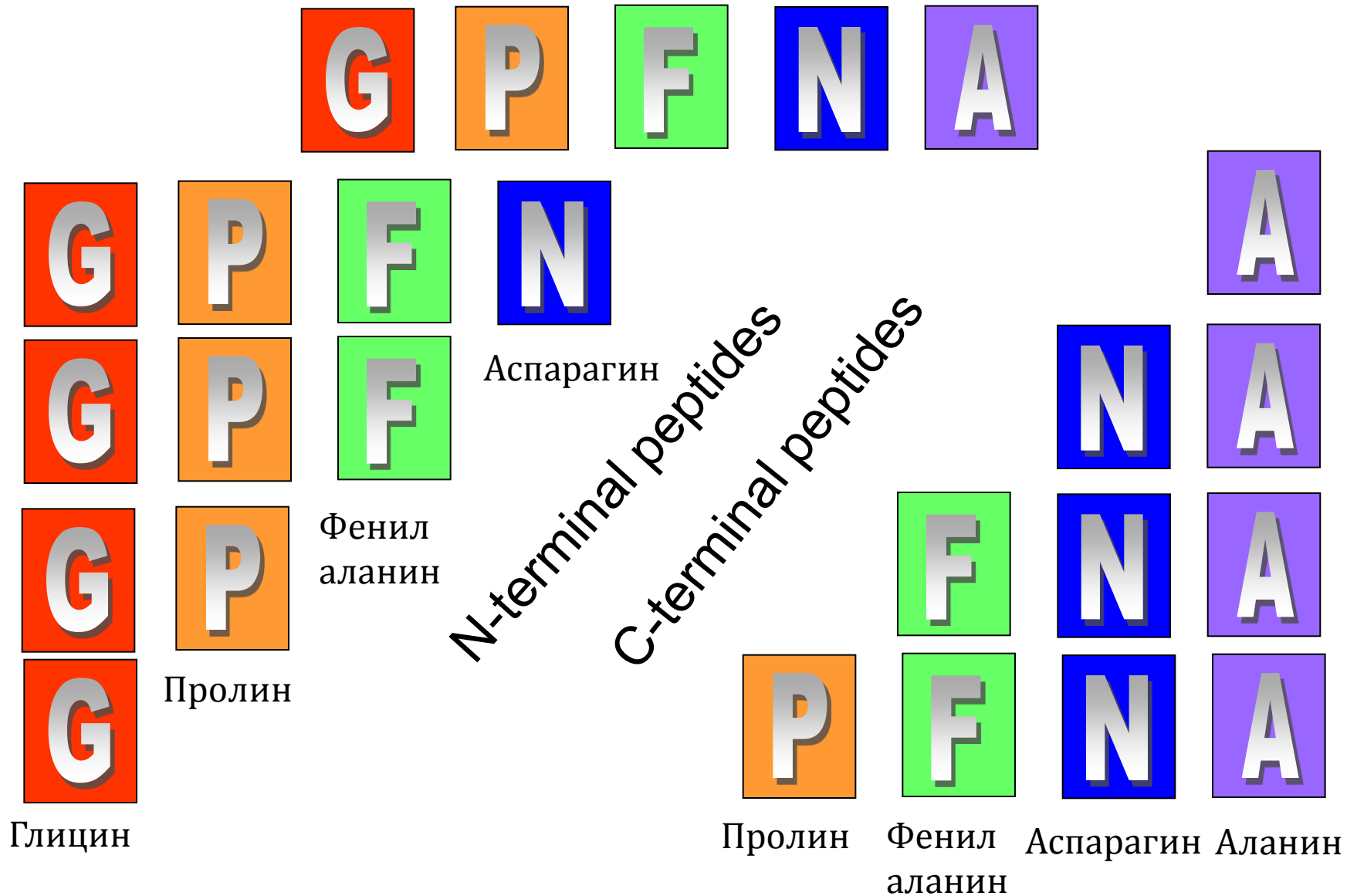
пептиды

Фрагменты пептидов также могут «терять» нейтральные NH_3 и H_2O группы.

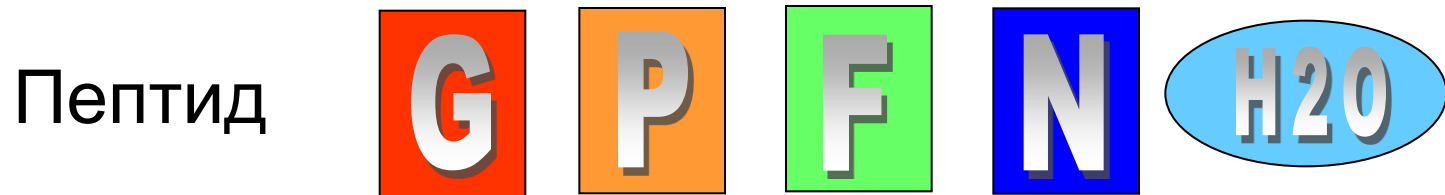
Фрагментация белка



N- and C-концевые пептиды



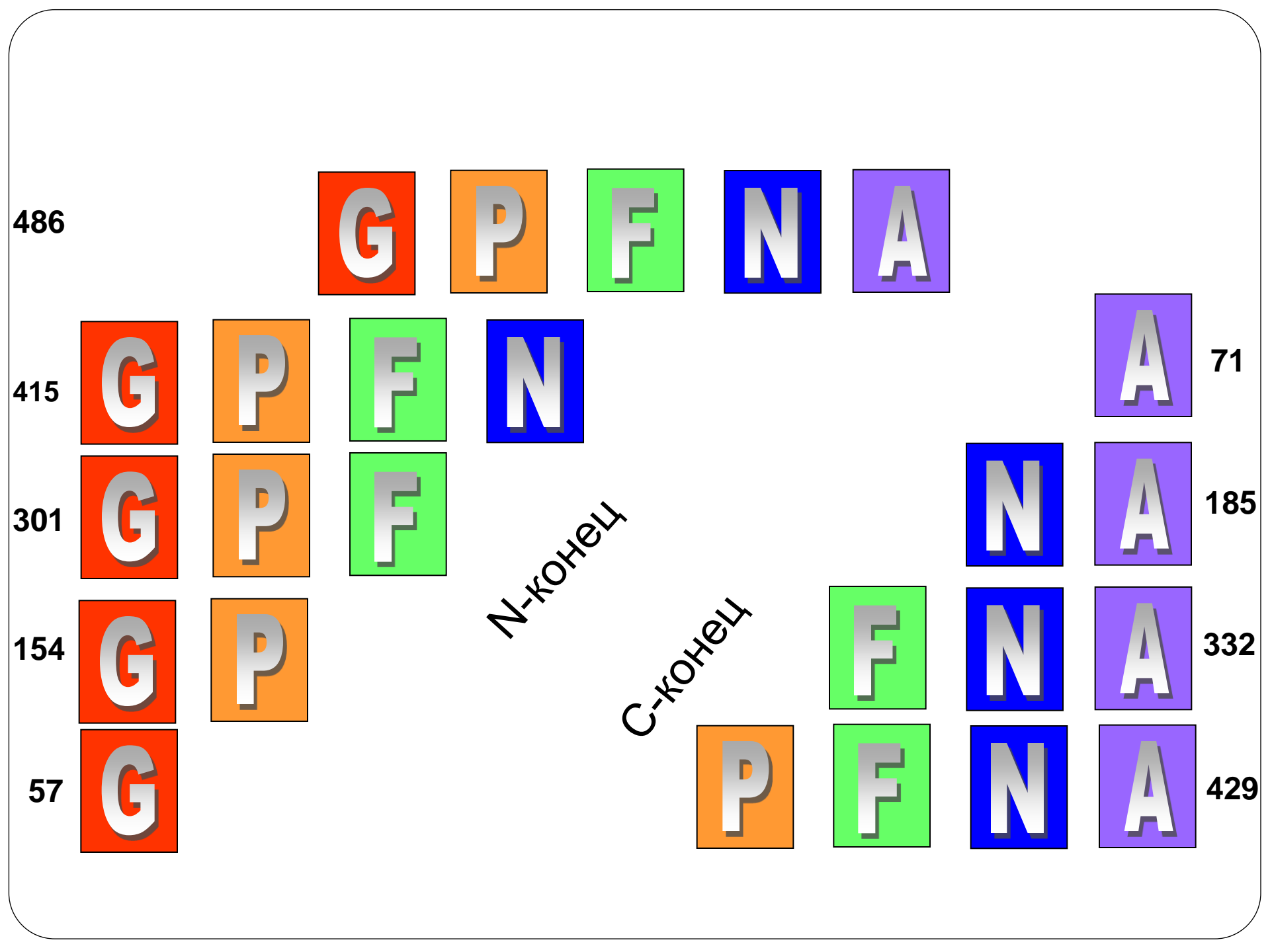
Концевые пептиды и типы ионов



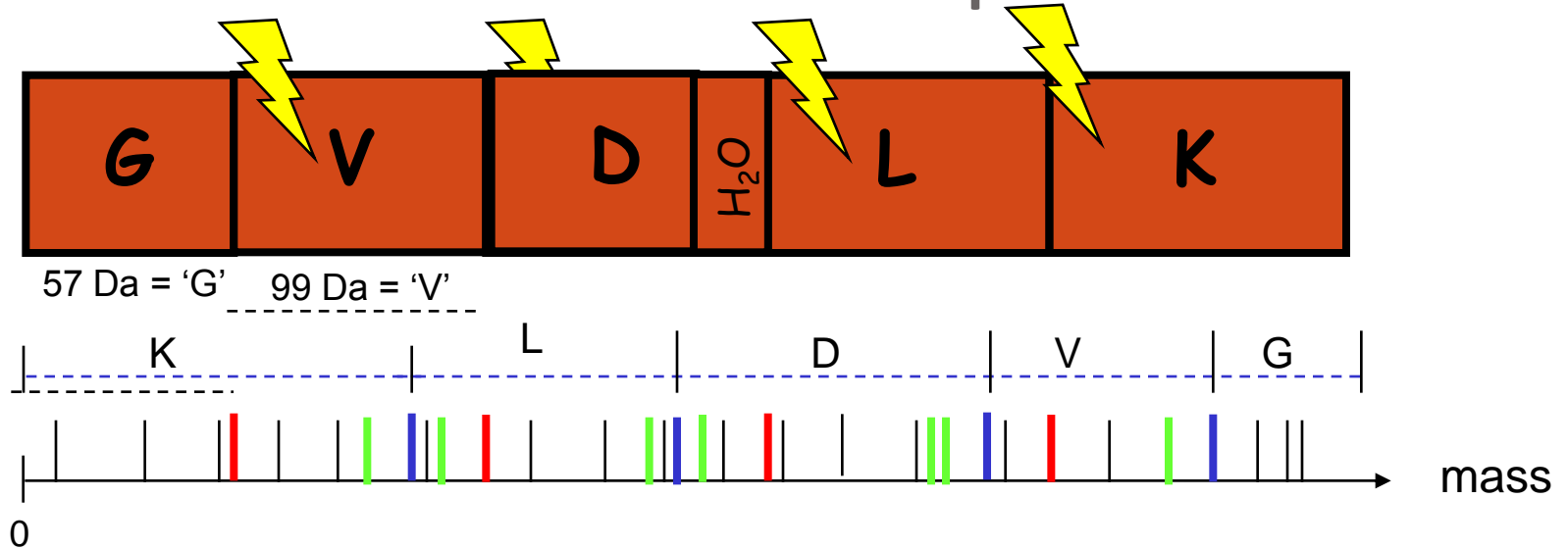
ММ (D) $57 + 97 + 147 + 114 = 415$



ММ (D) $57 + 97 + 147 + 114 - 18 = 397$



Масс-спектр



Пики на масс-спектрограмме:

- **Фрагменты N-конца**
- **Фрагменты C-конца**
- **Фрагменты с потерей нейтральных частиц (-H₂O, -NH₃)**
- «Шумы».

Качественный анализ

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

Библиотеки масс-спектральных данных

NIST 07, NIST 08 – библиотеки масс-спектральных данных, созданные и поддерживаемые Национальным институтом стандартизации и технологии США, около 300 000 масс-спектров.

WILEY 07 – библиотека масс-спектральных данных, созданная профессором Мак-Лафферти, при участии Национального бюро стандартов США, около 450 000 масс-спектров, во многом пересекается с библиотеками NIST.

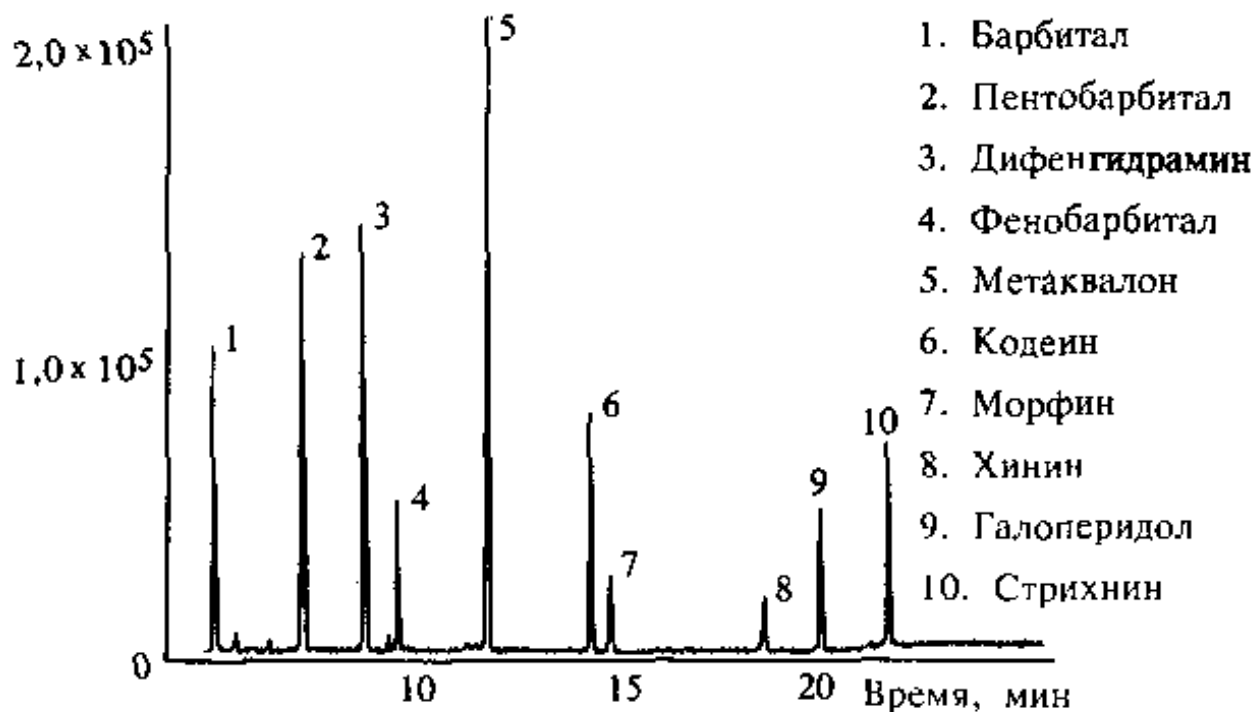
Библиотеки, созданные и поддерживаемые в НИОХ СО РАН, по природным соединениям, веществам, часто используемым в синтезах химиками НИОХ СО РАН, продуктам и полупродуктам синтезов – суммарно до 10 000 масс-спектров. Содержат, помимо самих масс-спектров, информацию о методе записи хроматограммы, из которой взят масс-спектр, время удержания или индекс удержания.

Литературный поиск при помощи РЖХ, каталогов CAS и Belstein – в редких случаях.

Количественный анализ

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

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



- 2) Сочетание метода разделения и МС-определения возможно в виде **тандемной МС**
- Один масс-спектрометр служит для выделения молекулярных пиков отдельных веществ из масс-спектра их смеси
- Второй – для фрагментации выделенных веществ и дальнейшей идентификации
- 3) непосредственный анализ по масс-спектру

Для этого измеряют интенсивность пика определяемого компонента и внутреннего стандарта – обычно это меченая изотопом разновидность определяемого вещества или его гомолог

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

Аналитические возможности метода

- Позволяет определять массы ядер и атомов и оценивать распространенность изотопов в природе
- По соотношению масс изотопов материнского и дочернего излучений определяют возраст горных пород, археологических и др. объектов
- **МС применяют**
- для элементного анализа твердых неорганических веществ и материалов
- для идентификации и установления структуры органических соединений, включая определение молярной массы
- для исследования состава и структуры поверхностей твердых тел (локальный, послойный и фазовый анализ)

- Для МС характерны
- Использование небольших навесок (1 мг и меньше)
- Высокая чувствительность
 - все элементы периодической системы определяют с чувствительностью 10^{-12} г
 - при использовании лазерных источников ионизации достигается чувствительность 10^{-19} г
- Универсальность – возможность анализа широкого круга объектов от элементов до сложных белковых молекул
- Высокая специфичность и селективность
- Недостаток масс-спектрометрии: это деструктивный метод анализа, и используемый образец нельзя восстановить для дальнейшего анализа или синтеза

Области применения МС

- Ядерная энергетика
- Археология
- Нефтехимия
- Геохимия (изотопная геохронология)
- Агрохимия
- Химическая промышленность
- Анализ полупроводниковых материалов, особо чистых металлов, тонких пленок и порошков (например, оксидов U и РЗЭ)
- Фармацевтика - для контроля качества производимых лекарств и выявления фальсификатов
- Медицинская диагностика
- Биохимия – идентификация белков, исследование метаболизма лекарственных средств

Аналитический контроль в ядерной энергетике

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

- **3. Хранение отходов ядерных материалов** - во время хранения, помимо дозиметрии, должен проводиться контроль и по изотопному / элементному составу, для чего МС незаменима
- **4. Установление источников происхождения расщепляющихся материалов**
- Если мажорные компоненты материалов (например, уран или плутоний), как правило, не несут информации об источнике происхождения, то минорные компоненты на уровне микропримесей являются отпечатками технологических процессов или месторождений
- Информативными характеристиками является как микрокомпонентный примесный состав, так и соотношение изотопов в этих компонентах

- **5. Контроль окружающей среды**
- Влияние на окружающую среду - это попадание радионуклидов и токсичных элементов в воздух, почву, воду, растения
- Методы масс-спектрометрии позволяют определять содержание этих элементов в объектах окружающей среды на предельно низком уровне, определение изотопных отношений элементов в объектах окружающей среды позволяет получить информацию об источнике загрязнения и времени их попадания
- Только один показательный пример. Производимые с 1986 г. измерения ^{90}Sr в годовых кольцах деревьев Англии позволяют проводить оценку диссипации окружающей средой выброса радионуклидов в момент Чернобыльской аварии

- **6. Контроль воздействия расщепляющихся материалов на живые организмы**
- Выявление присутствия расщепляющихся материалов в живых организмах требует очень высокой чувствительности, кроме того анализ надо проводить в присутствии сложнейших биологических матриц.
- Анализ элементного и изотопного состава позволяет определить источник попадания радионуклидов или техногенных элементов в организм человека, животных или продукты питания, выяснить механизм воздействия на живые организмы

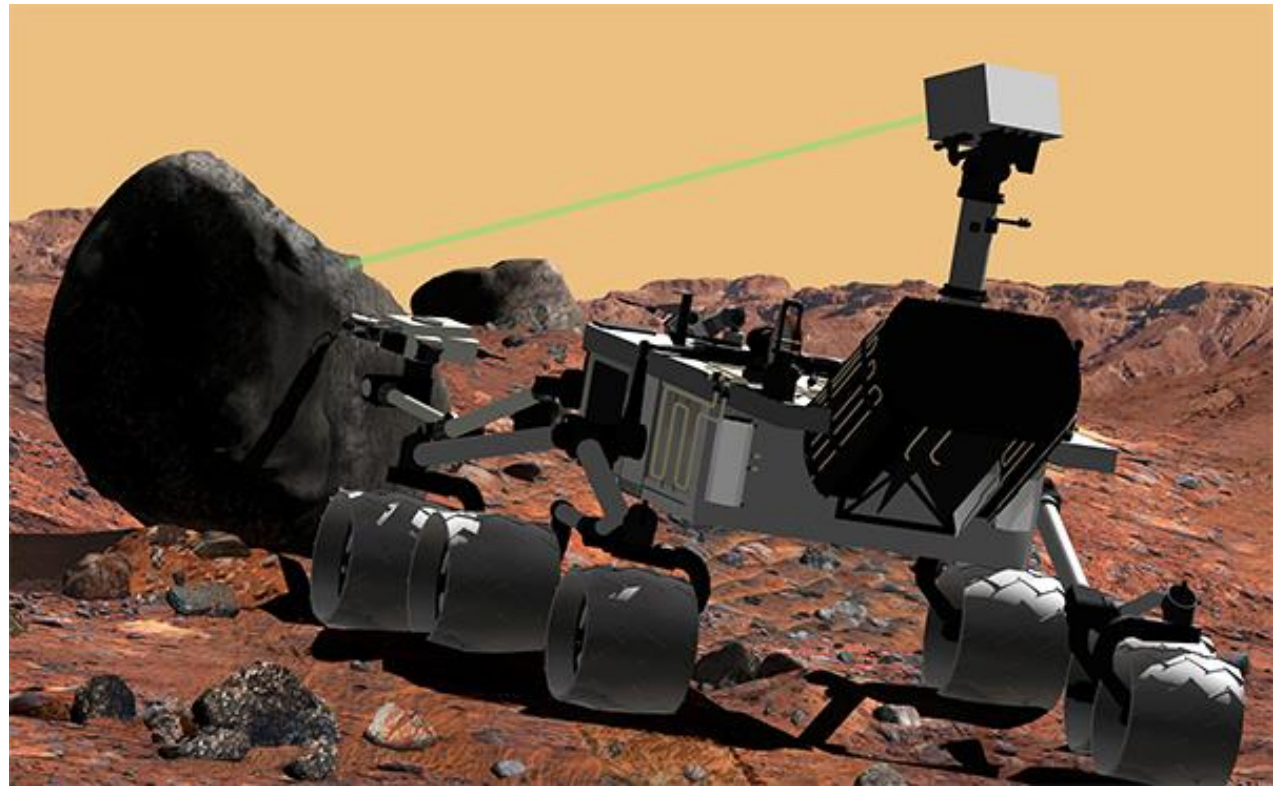
- МС изучает окаменевшие останки

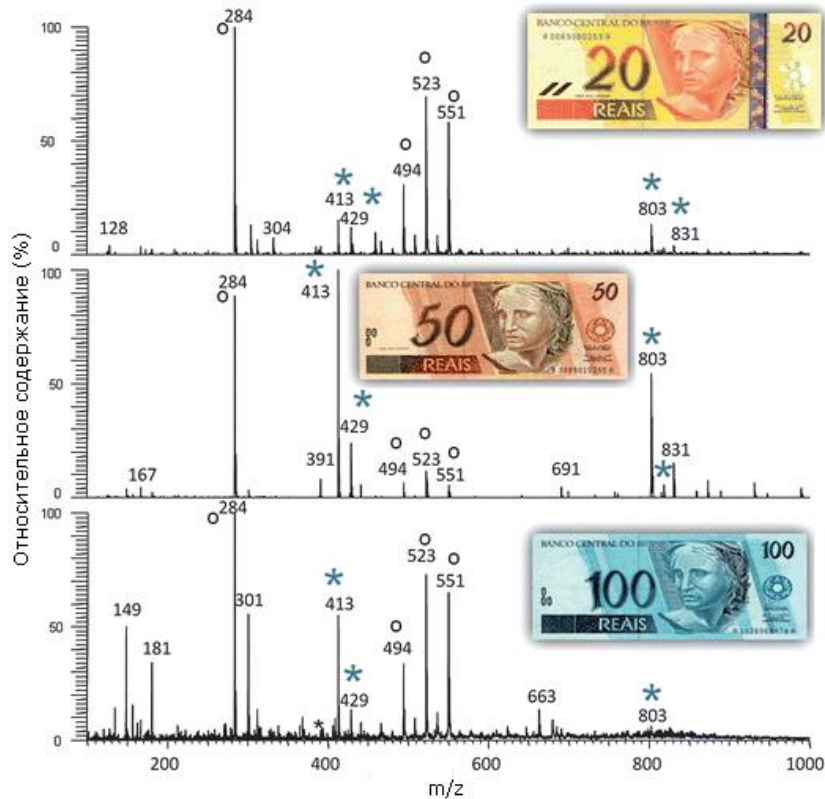


- MS поможет изучить наноалмазы



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





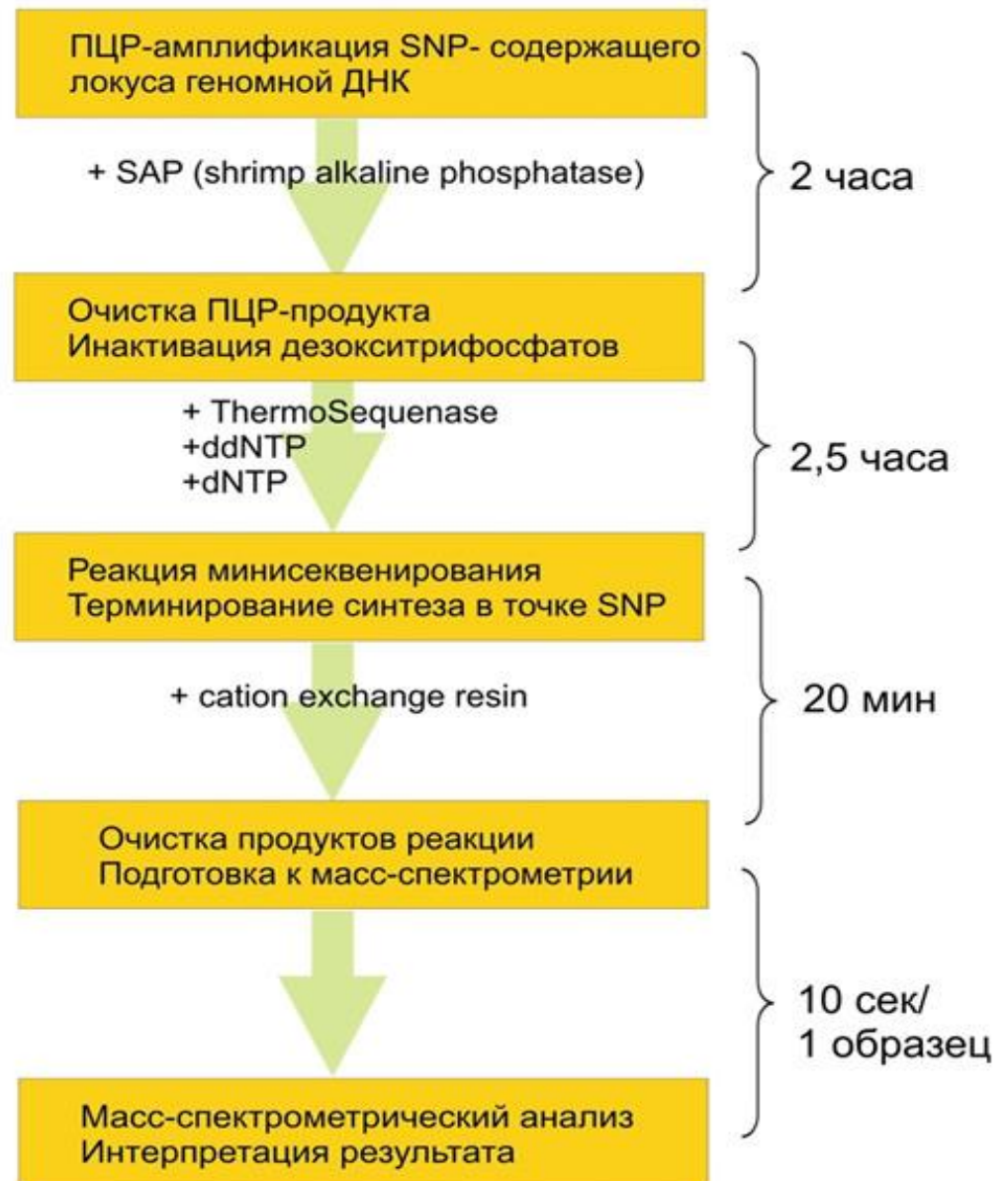
- **Метод масс-спектрометрии** позволяет выявить контрафактные ценные бумаги

- МС – экспрессный метод анализа респираторных газов



- Диагностика сахарного диабета на основе МС- регистрации $^{13}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе после приема тестовой мочевины, содержащей повышенное количество стабильного ^{13}C изотопа по сравнению с его природной распространенностью

- Гемаскрин ДНК новорожденных - диагностика наследственных особенностей (генетического полиморфизма)



- Хромато-МС - метод мониторинга изменений в определенных белках (гистонах), которые могут служить биомаркером у пациентов с хронической лейкемией



Спасибо за внимание!

