



*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова*  
*Химический факультет*

# **Масс-спектрометрия: краткая история, общие принципы и современная аппаратура**

**С.В.Абрамов**

**Лекция 1 из 3**

# Краткая история

# Лауреаты Нобелевской премии за разработки в области масс-спектрометрии

## 2002 год (химия)

**John B. Fenn** Virginia Commonwealth University, Richmond, USA  
**Koichi Tanaka** Shimadzu Corp., Kyoto, Japan

За разработку мягких методов десорбции/ионизации для масс-спектрометрического анализа биологических макромолекул



## 1989 год (физика)

**Wolfgang Paul** University of Bonn, Bonn, Federal Republic of Germany  
**Hans G. Dehmelt** University of Washington Seattle, WA, USA

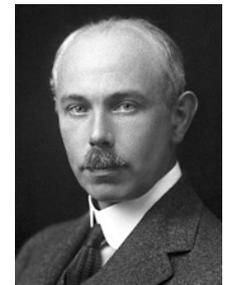
За разработку ионной ловушки



## 1922 год (химия)

**Francis William Aston** University of Cambridge Cambridge, United Kingdom

За открытие с помощью своего масс-спектрографа изотопов и большого числа нерадиоактивных элементов



## 1906 год (физика)

**Joseph John Thomson** University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom

За признание важности его теоретических и экспериментальных исследований электропроводимости газов



# Методы ионизации

EI	до 1912
CI	1966
APCI	1974
FT-ICR	1974
PD	1976
ICP	1980
FAB	1981
TSP	1983
MALDI	1987
ESI	1988
Наноспрей	1994

# Масс-анализаторы

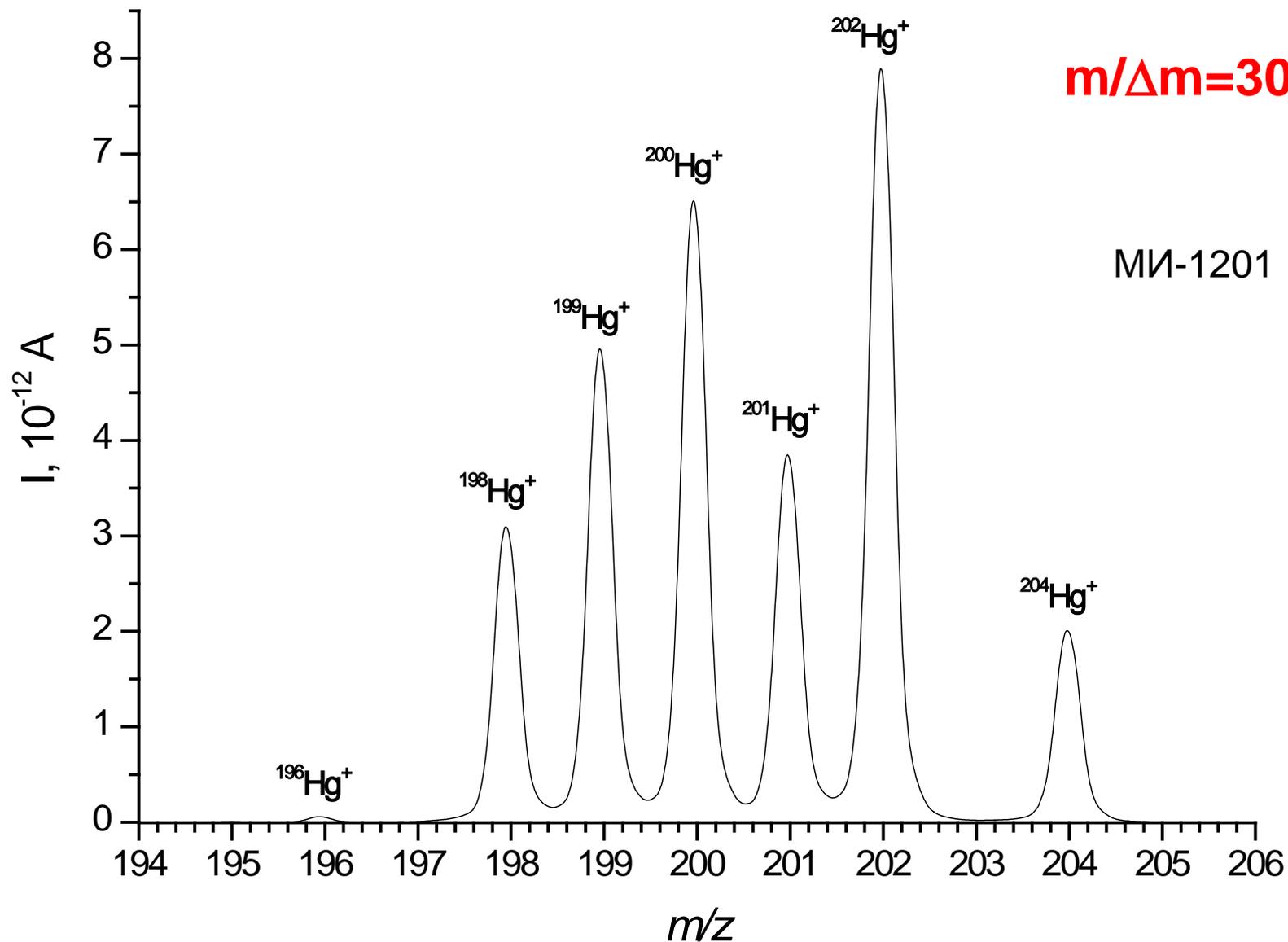
TOF	1946 концепция 1948 реальная конструкция 1955 ключевые улучшения конструкции 1958 коммерческий прибор 1972 рефлектрон
ICR	1949 первое применение
Двойная фокусировка	1935 концепция 1952 разработка 1957 коммерческий прибор
Квадрупольный анализатор	1953 первое описание 1968 коммерческий прибор
GC/MS	1975 коммерческий прибор
Orbitrap	2005 коммерческий прибор

# Разрешение прибора

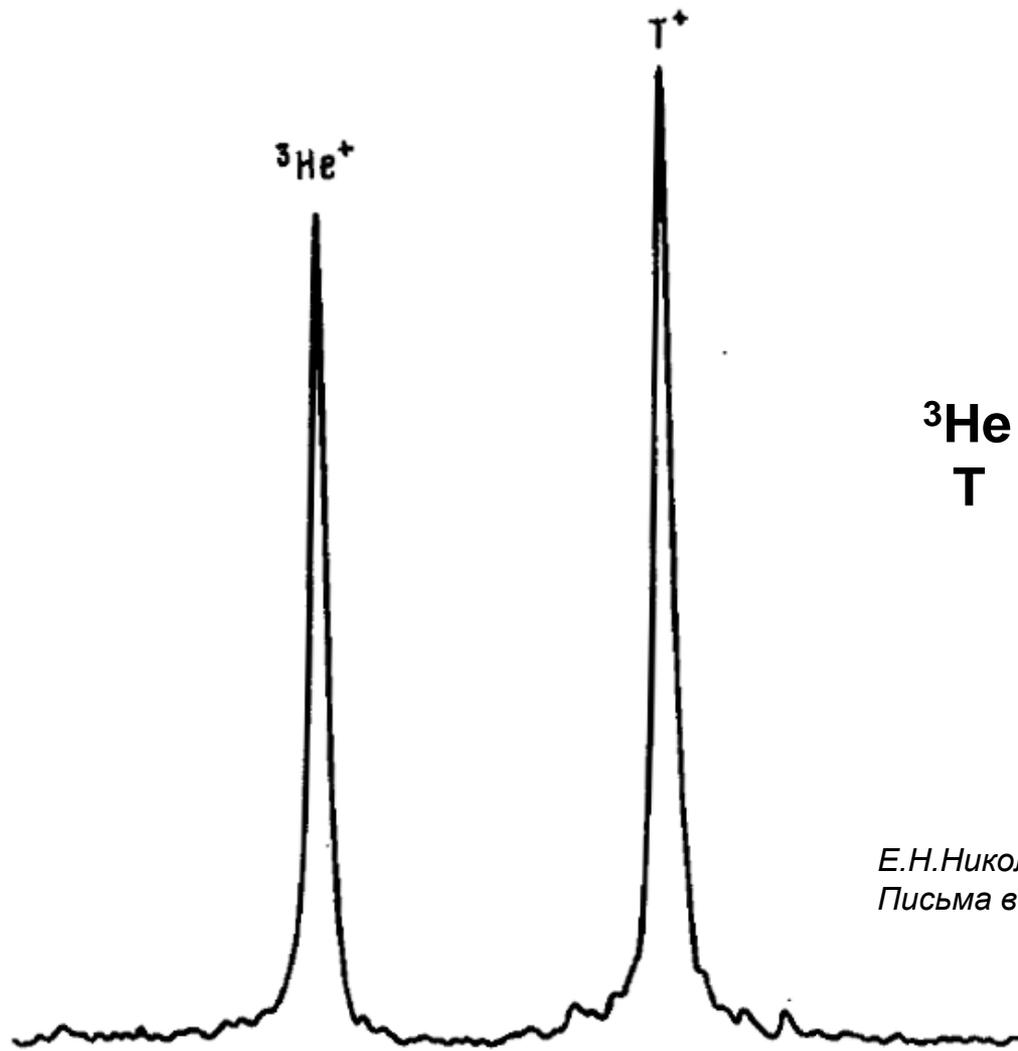
m/ $\delta$ m

1913	13	Thompson
1918	100	Dempster
1919	130	Aston
1937	2000	Aston
1998	8000000	Marshall

# Типичный масс-спектр низкого разрешения (В)



# Масс-спектр дублета «тритий/гелий-3» (FT-ICR)



**$m/\Delta m = 2000000$**

${}^3\text{He}$     3,0160293191 а.е.м.

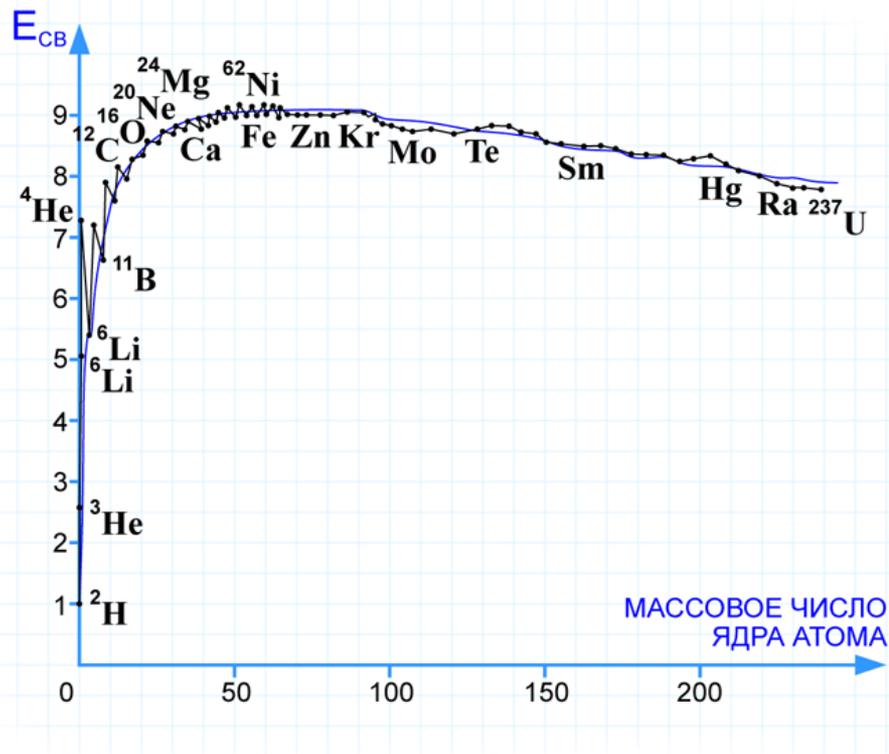
$\text{T}$         3,0160492777 а.е.м.

$m/\Delta m = 150000$

*Е.Н.Николаев, Ю.И.Неронов, М.В.Горшков, В.Л.Тальрозе  
Письма в ЖЭТФ. 1984. Т.39. В.9. С.442.*

# Для чего нам нужно большое разрешение?

- M = 28:
- N<sub>2</sub> 28.0062
- CHO 27.9949
- CH<sub>2</sub>N 28.0181
- C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 28.0313
- Si 27.9769
  
- M = 92:
- N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 91.9858
- CH<sub>2</sub>NO<sub>4</sub> 91.9983
- C<sub>7</sub>H<sub>8</sub> 92.0626
- Mo 91.9068



$$\Delta m = E_{CB} / c^2$$

# Основные принципы

# ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ

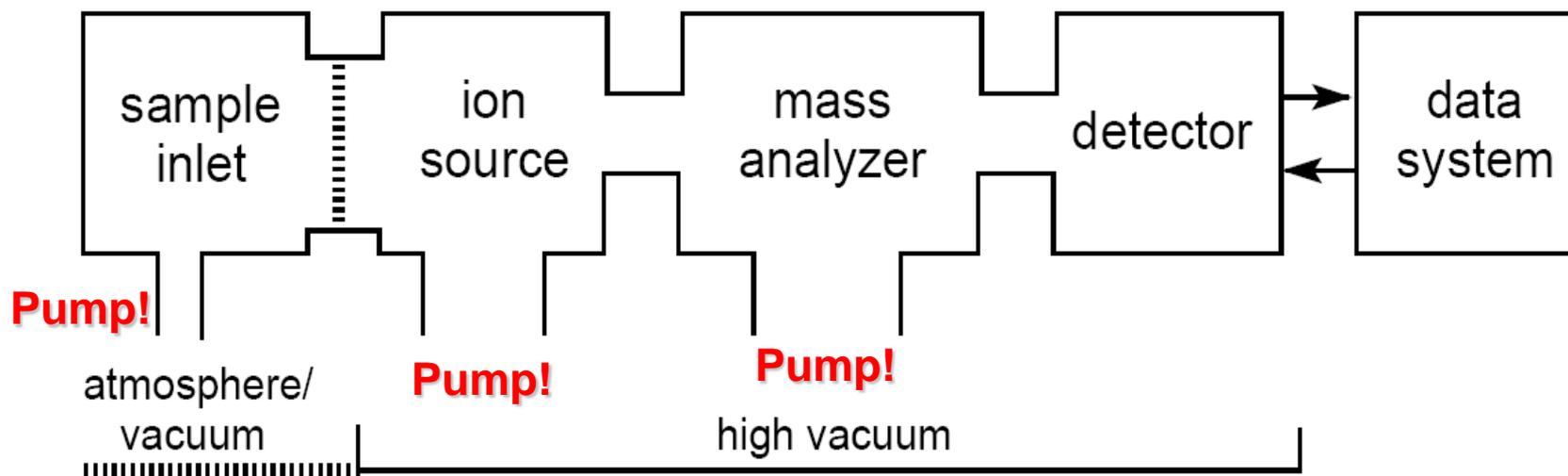
- **Вещество** – форма материи, состоящая из кварков и лептонов (ядер и электронов)
- **Ион** – заряженная частица вещества
- **Масс-спектрометрия** – метод исследования вещества при помощи разделения ионов по отношениям массы к заряду ( $m/z$ )
- **Масс-спектр** – зависимость интенсивности ионного сигнала от  $m/z$  (график или таблица)
- **Масс-спектрометр** – прибор для получения масс-спектра

# Принцип масс-спектрометрии

- 1) ввод пробы
- 2) ионизация
- 3) формирование моноэнергетического ионного пучка
- 4) разделение ионов по отношению  $m/z$
- 5) регистрация ионных фракций на детекторе с получением масс-спектра

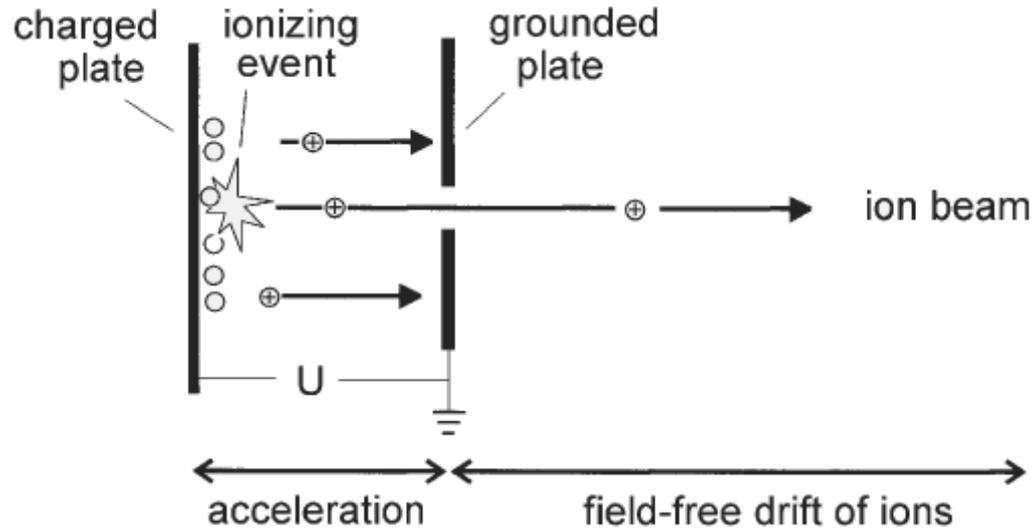
# Масс-спектрометр – вакуумный прибор

## Блок-схема



При недостаточном вакууме ионный пучок существовать не может.  
Ионы рассеиваются на молекулах остаточных газов.  
Длина свободного пробега  $l \approx kT/p\sigma$ .

# Что происходит до масс-анализатора?



$E_{эл} = qU$ ;  $q = ez$ , где  $E_{эл}$  – энергия работы электростатических сил,  $q$  – заряд иона,  $e$  – элементарный заряд,  $z$  – число элементарных зарядов у иона;  $U = \text{const} \Rightarrow E_{эл} = \text{const}$

$E_{кин} = E_{эл}$ ;  $mV^2/2 = ezU$ , где  $E_{кин}$  – кинетическая энергия иона,  $V$  – скорость иона;  $U = \text{const} \Rightarrow E_{кин} = \text{const}$

*(формируется моноэнергетический пучок ионов)*

# Аппаратура

# Устройства для создания вакуума

## Вакуумные насосы



12-30 м<sup>3</sup>/ч, 10<sup>-6</sup> атм



250 м<sup>3</sup>/ч  
10<sup>-9</sup> атм



250 м<sup>3</sup>/ч  
10<sup>-9</sup> атм



250 м<sup>3</sup>/ч, 10<sup>-13</sup> атм

# Интерфейс пользователя

Instrument 1 [online]: Diagnosis DEF\_LC.M, SAMPLE1.D, ATUNES.TUN

File Diagnosis Maintenance View About Help

Diagnosis

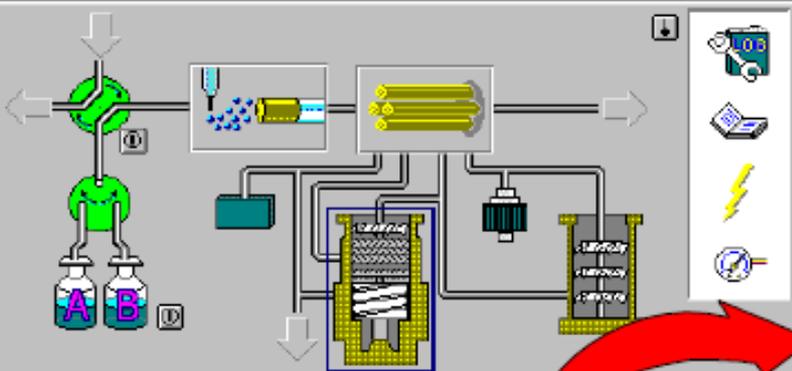
Test Results/Logbooks Observed Symptoms Possible Causes

Excessive noise

Analyzer contamination

00/PV Analytic

Memo Pad Analyzer contamination



**MSD Turbo Pump 1**

Rough Vacuum	1.68 torr	Speed Turbo 1	101.0 %
High Vacuum	0.0000093 torr	Speed Turbo 2	98.5 %
Rough Vacuum Gauge	On	Power Turbo 1	82.1 W
System State	On	Power Turbo 2	16.6 W
FW Rev. Turbo Control	PRSw1.011	Turbo Control Serial No	TURBOFMP
HW Rev. Turbo Control	TURB1.000		

Copy to Memo Pad Send Changes Cancel Changes

## Parameter

Rough Vacuum

High Vacuum

Speed Turbo 1

Speed Turbo 2

Power Turbo 1

Power Turbo 2

## Min - Max Spec

1.5 - 2.5 torr G1946A/B/C

2.5 - 3.5 torr G1946D

3.0 x10<sup>-6</sup> - 2.0x10<sup>-5</sup> torr

97 - 103 %

97 - 103 %

70 - 90 W G1946A/B/C

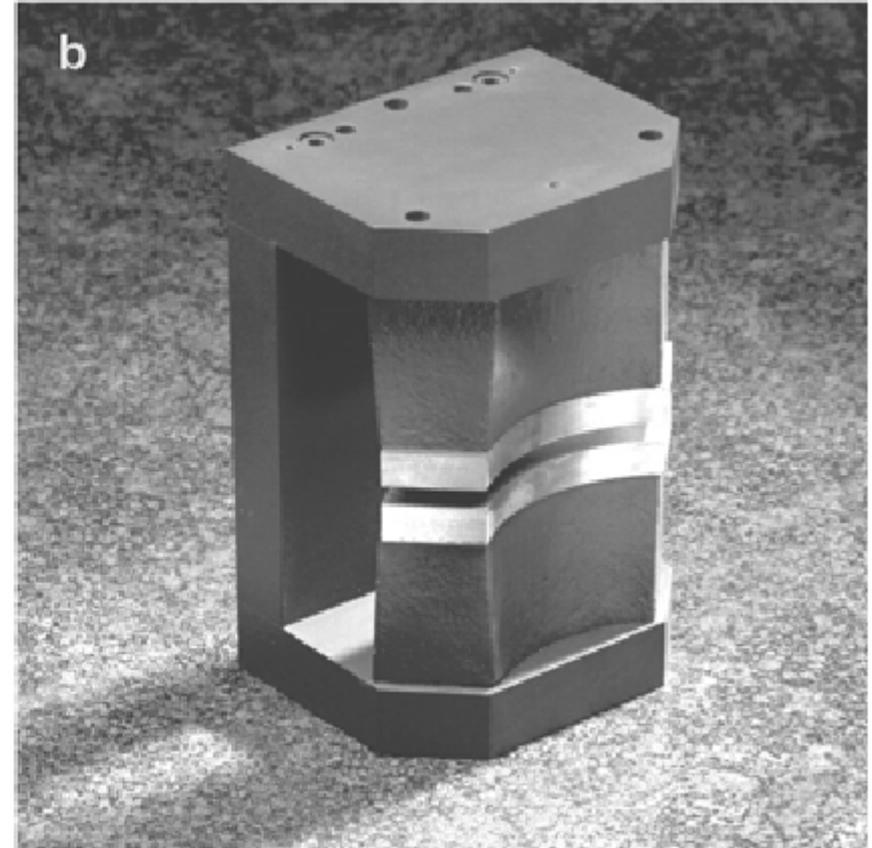
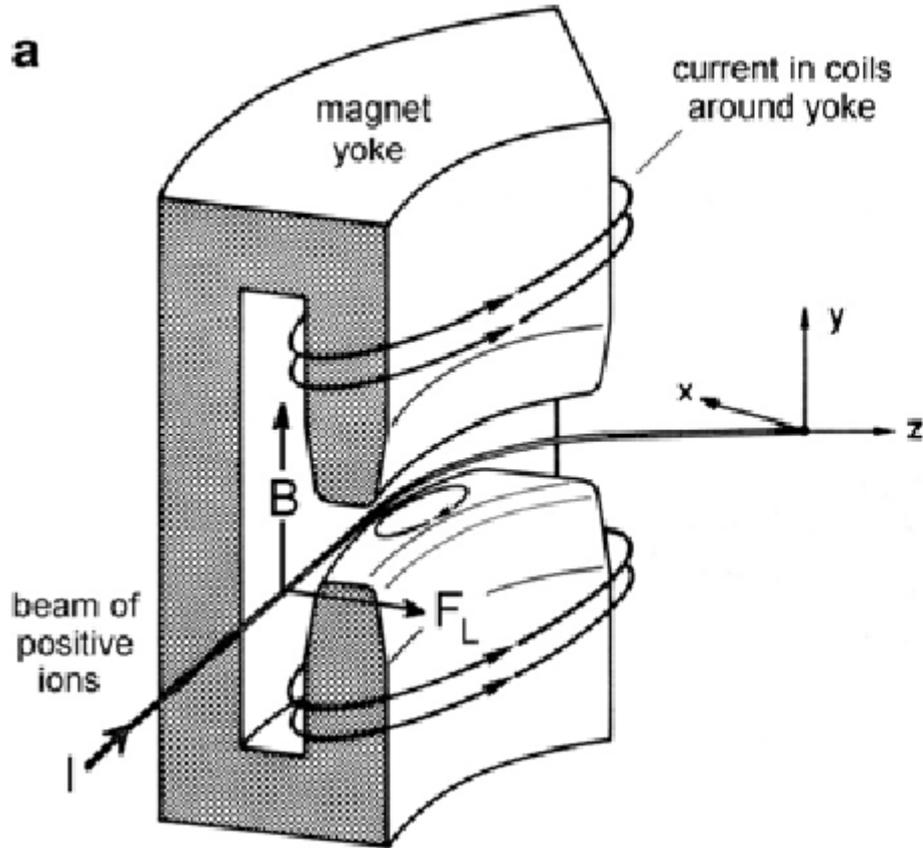
80 - 105 W G1946D

10 - 20 W

# Масс-анализаторы

- Магнитный сектор **B**
- Времяпролетный **TOF (time-of-flight)**
- Линейный квадруполь **Q (quadrupole)**
- Квадрупольная ионная ловушка **QIT (ion trap)**
- Ион-циклотронного резонанса **ICR, FT-ICR**

# Движение зарядов в магнитном поле



$$\mathbf{F}_L = q[\mathbf{V} \times \mathbf{B}]$$

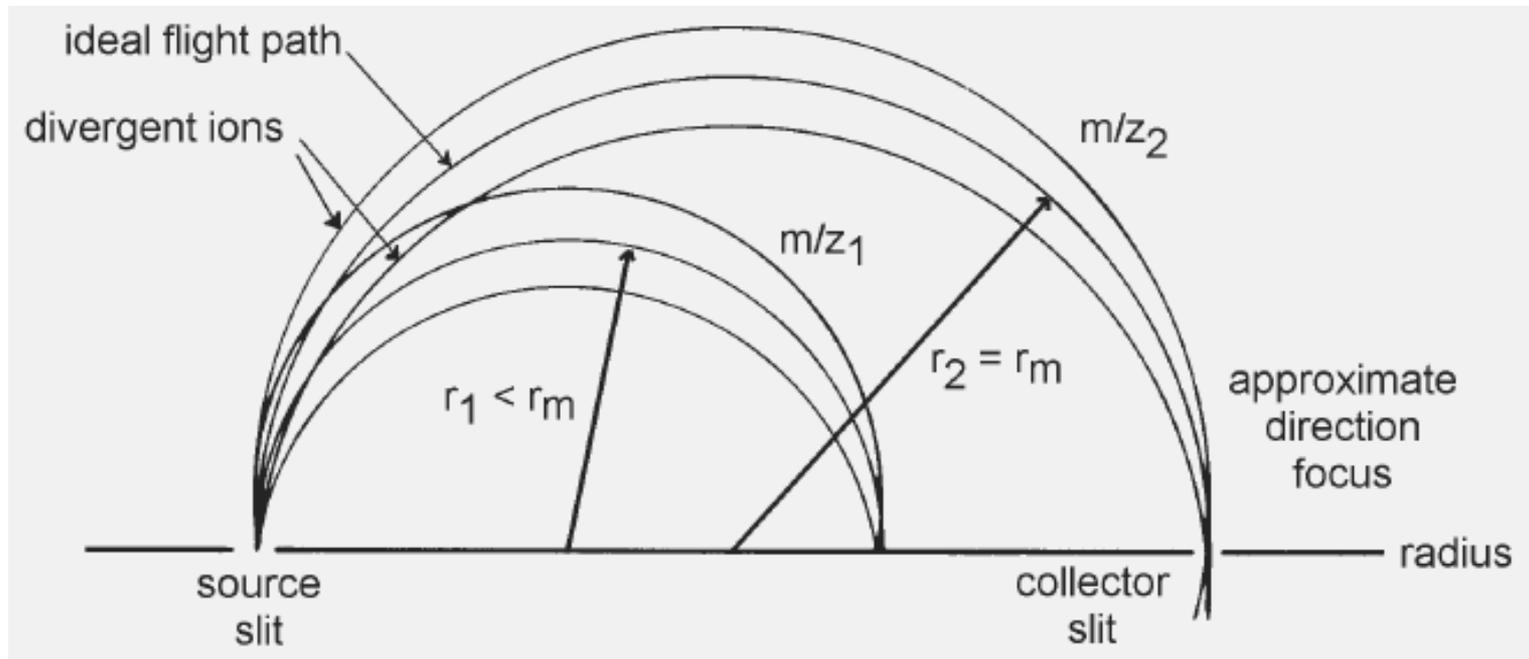
# Магнитный масс-анализатор (В)

1.  $F_L = qVB$  ( $V \perp B$ )

2.  $F_c = mV^2/r$

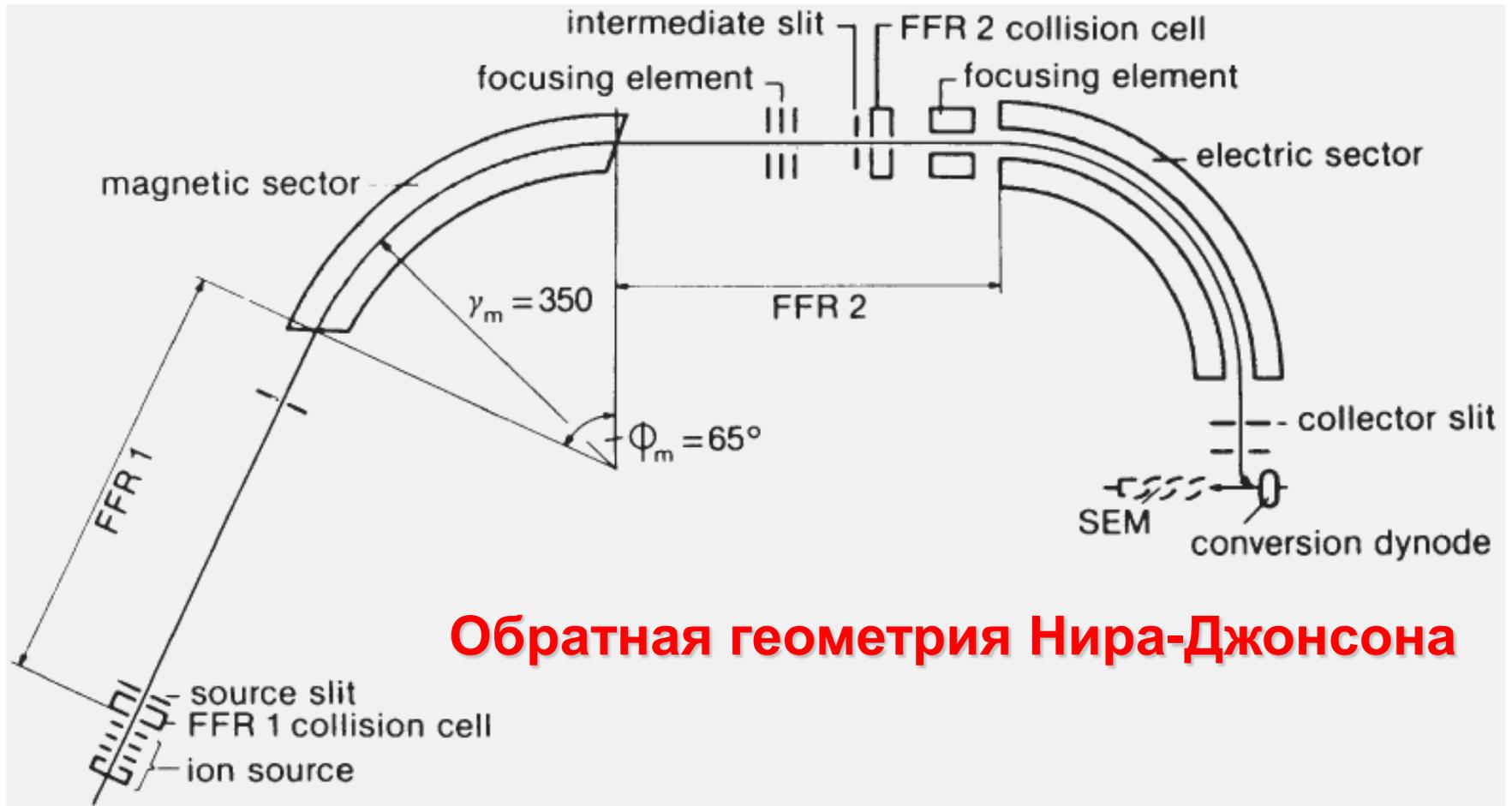
3.  $F_L = F_c$ ;

$$\frac{m}{z} = \frac{er^2 B^2}{2U}$$



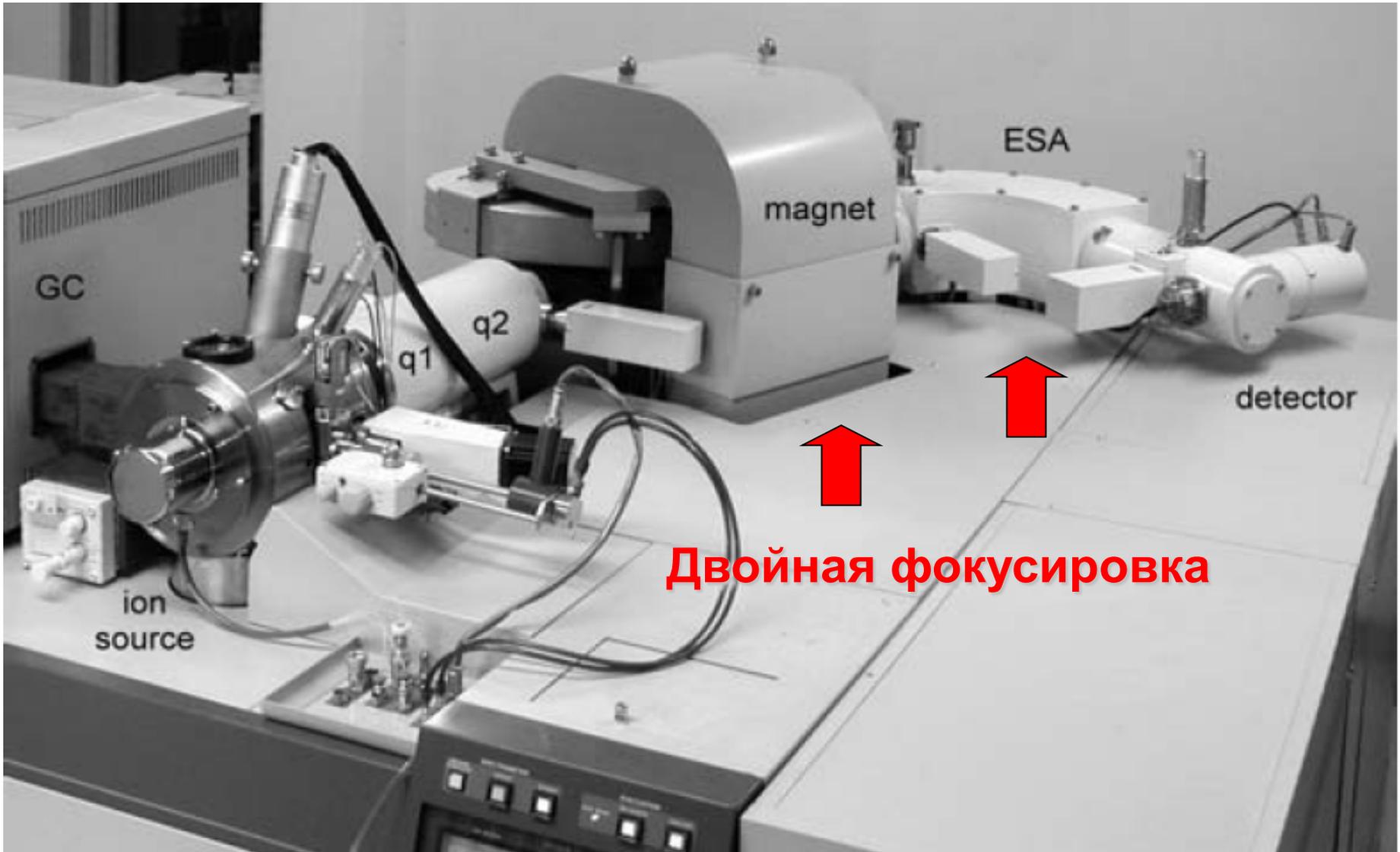
**Демпстер (сектор 180°)**

# Двойная фокусировка

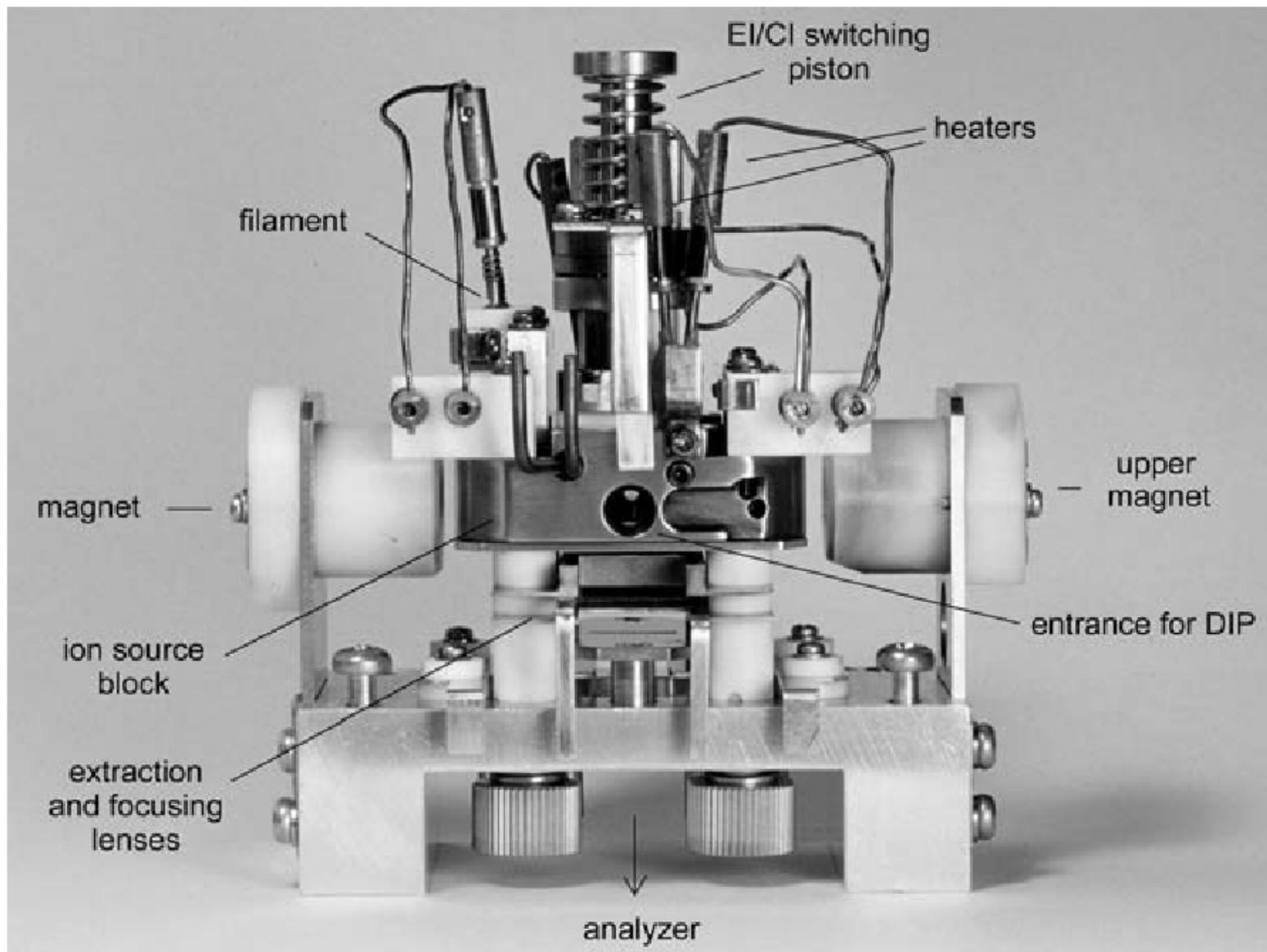


**Обратная геометрия Нира-Джонсона**

# GC-MS с магнитным анализатором

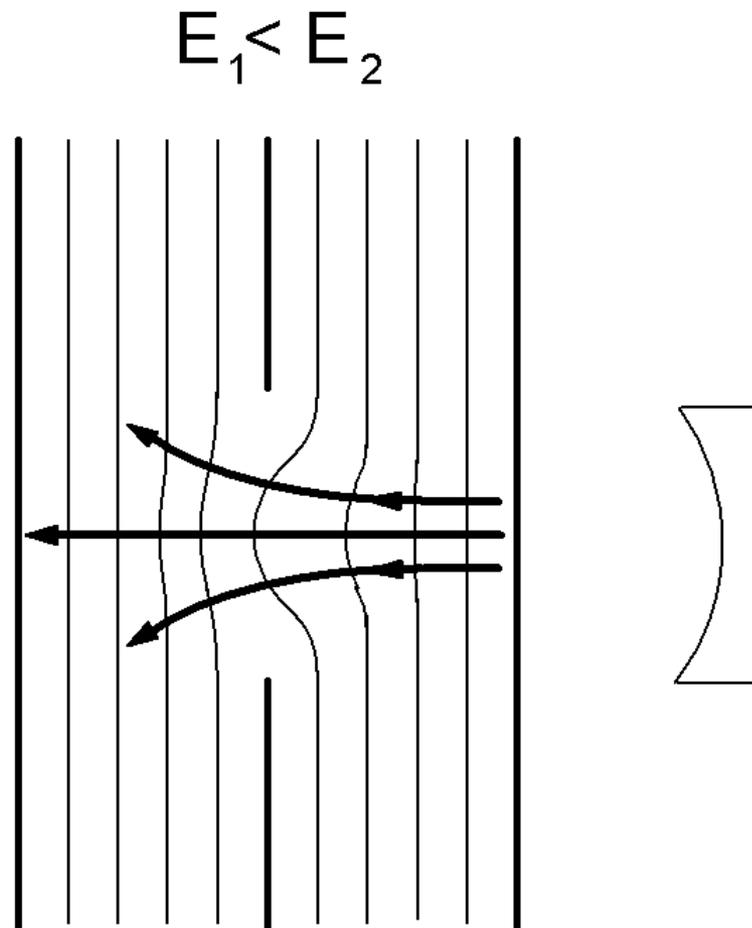


# Ионный источник EI/CI типа Нира



# Ионно- оптические устройства

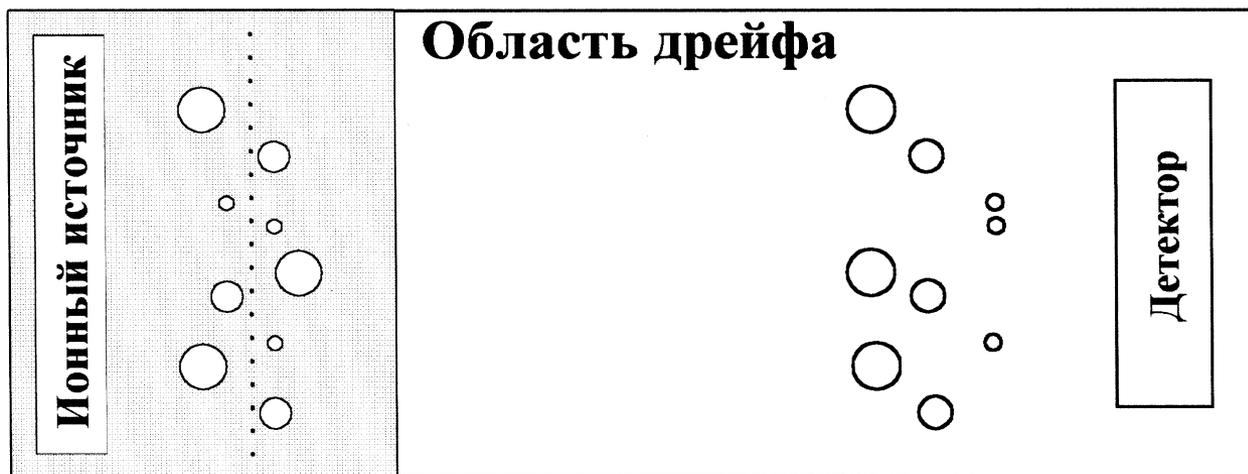
Аналоги  
собирающих и  
рассеивающих  
линз



# Времяпролетный масс-анализатор (TOF)

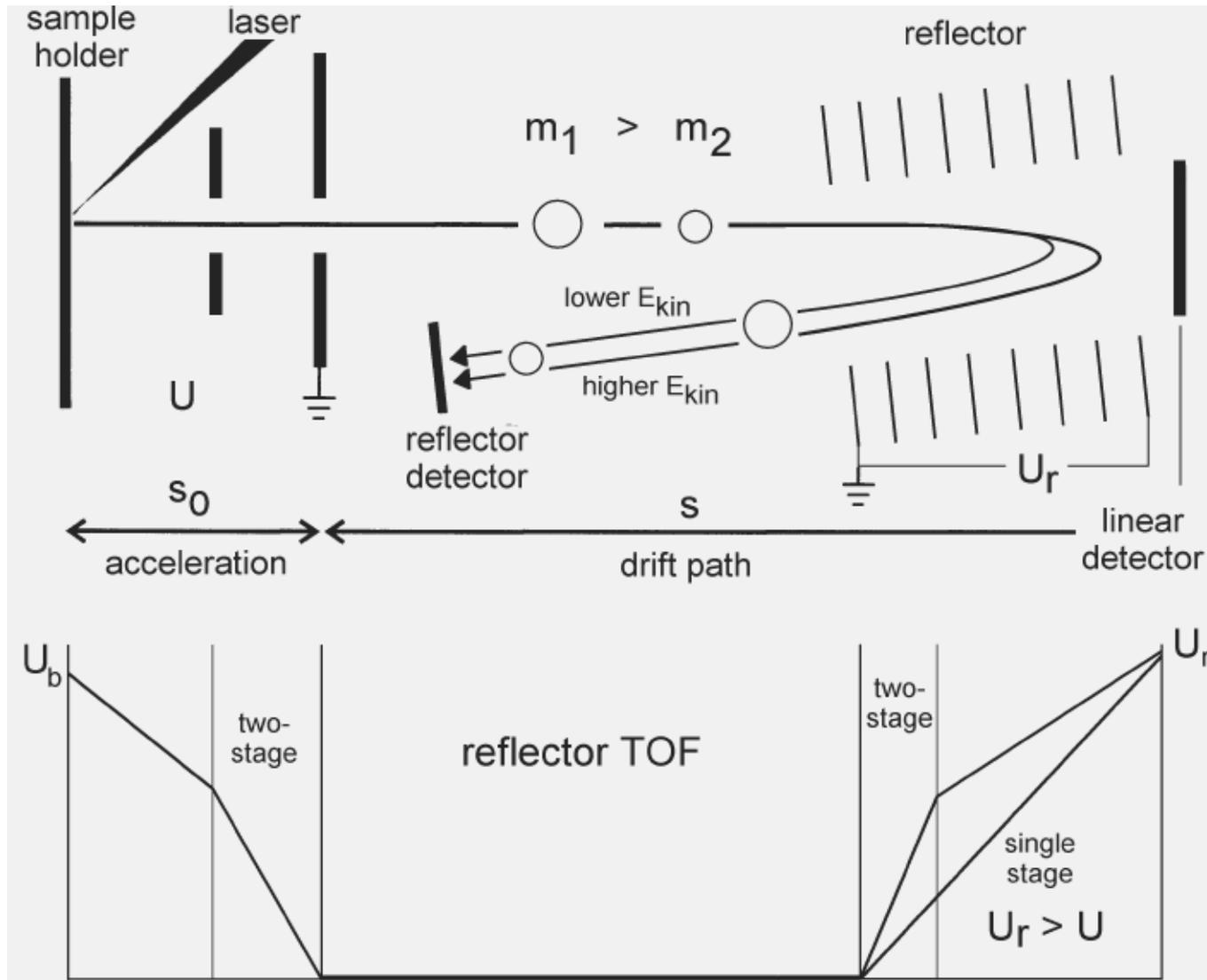
1.  $E_{\text{кин}} = mV^2/2$
2.  $E_{\text{эл}} = ezU$
3.  $E_{\text{кин}} = E_{\text{эл}}$
4.  $t = s/V$

$$t = s \sqrt{\frac{m}{2ezU}}$$



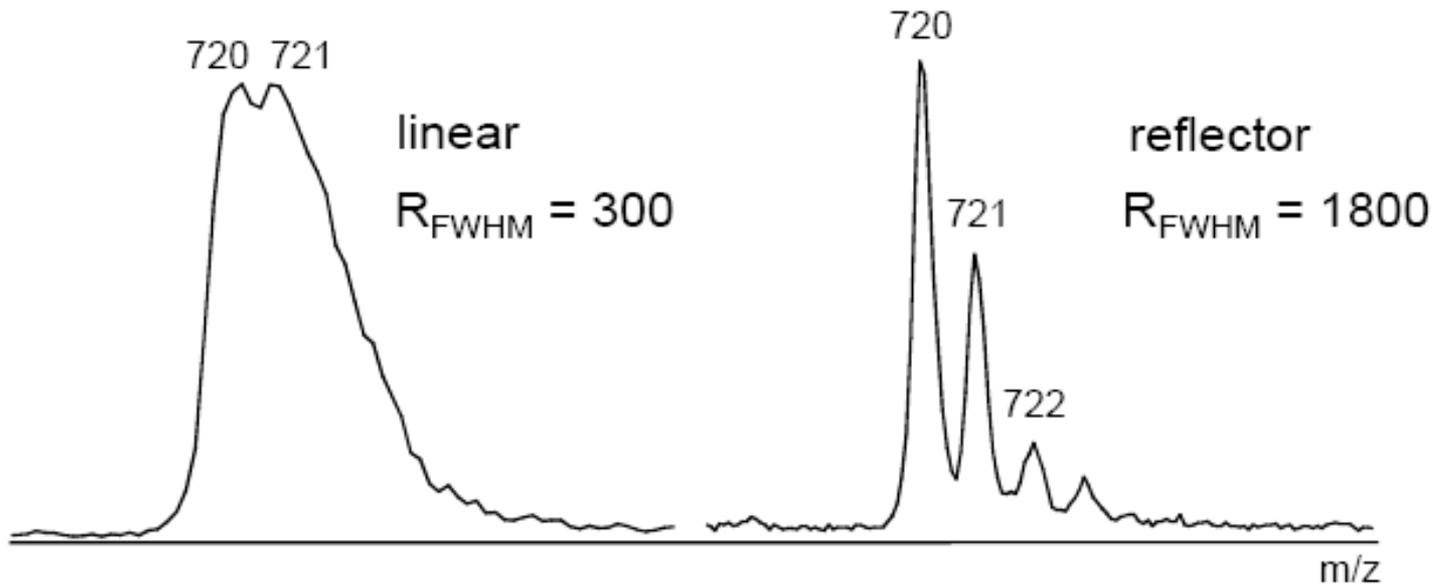
s

# TOF – линейный режим и рефлектрон

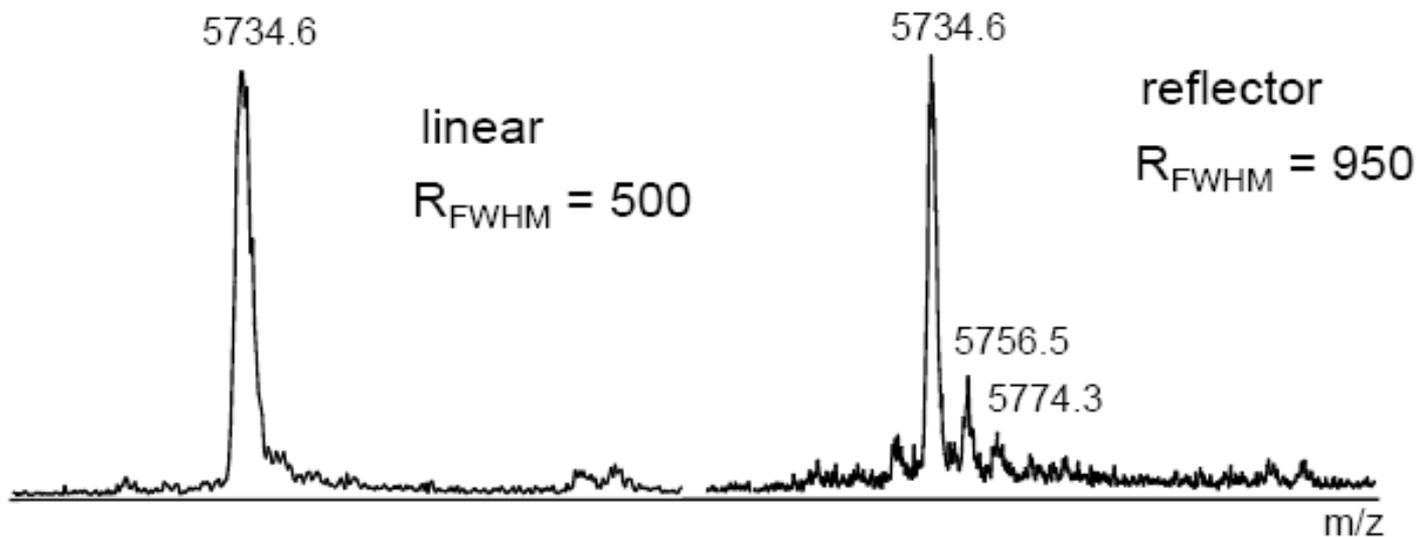


**Б.А.Мамырин**

# Масс-спектры TOF

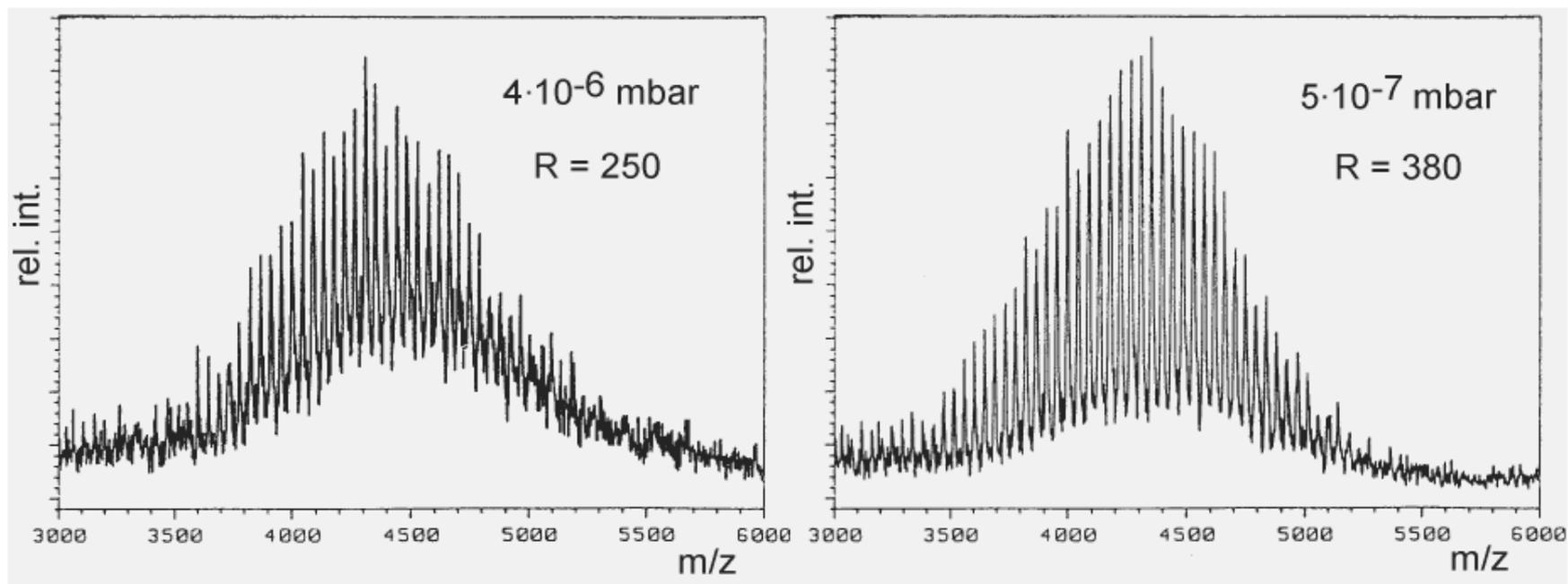


**C<sub>60</sub>**

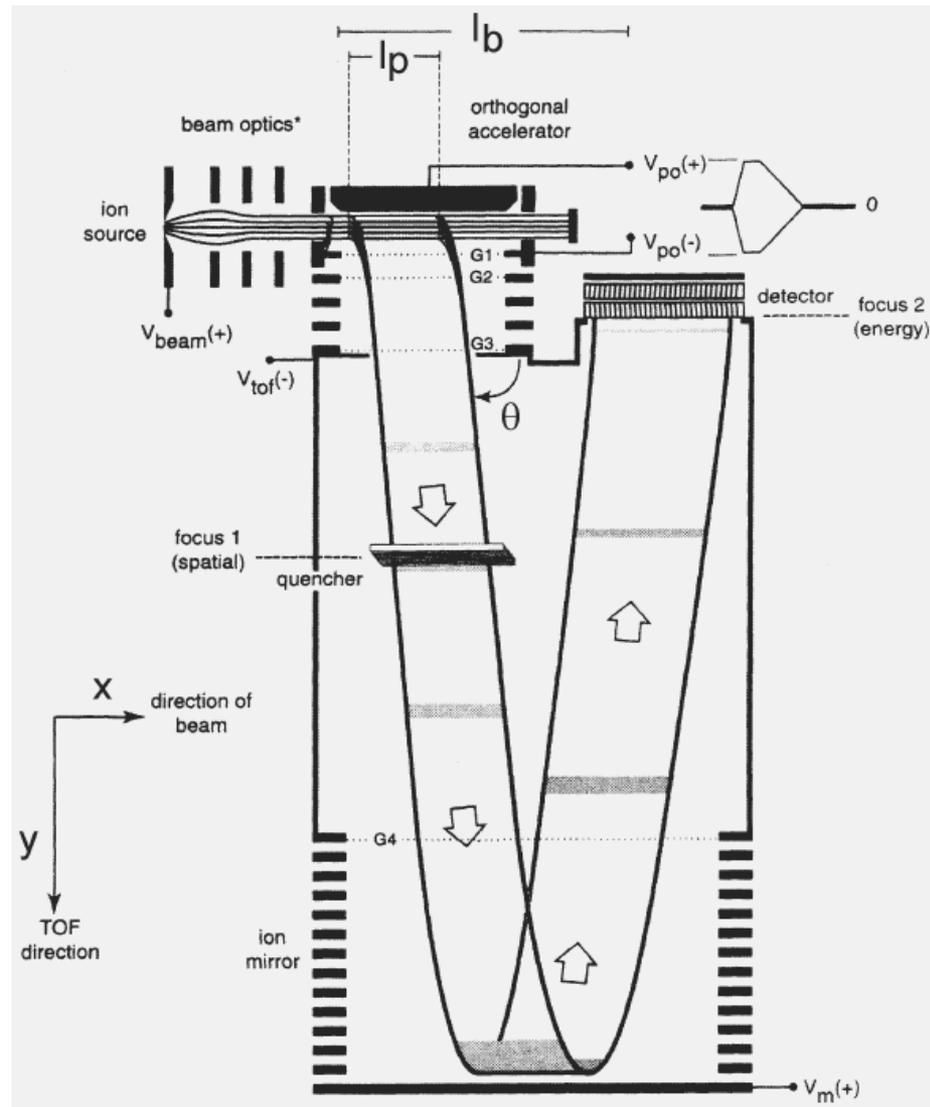


**инсулин**

# Влияние остаточного вакуума на масс-спектр (MALDI-TOF, PEG-400)

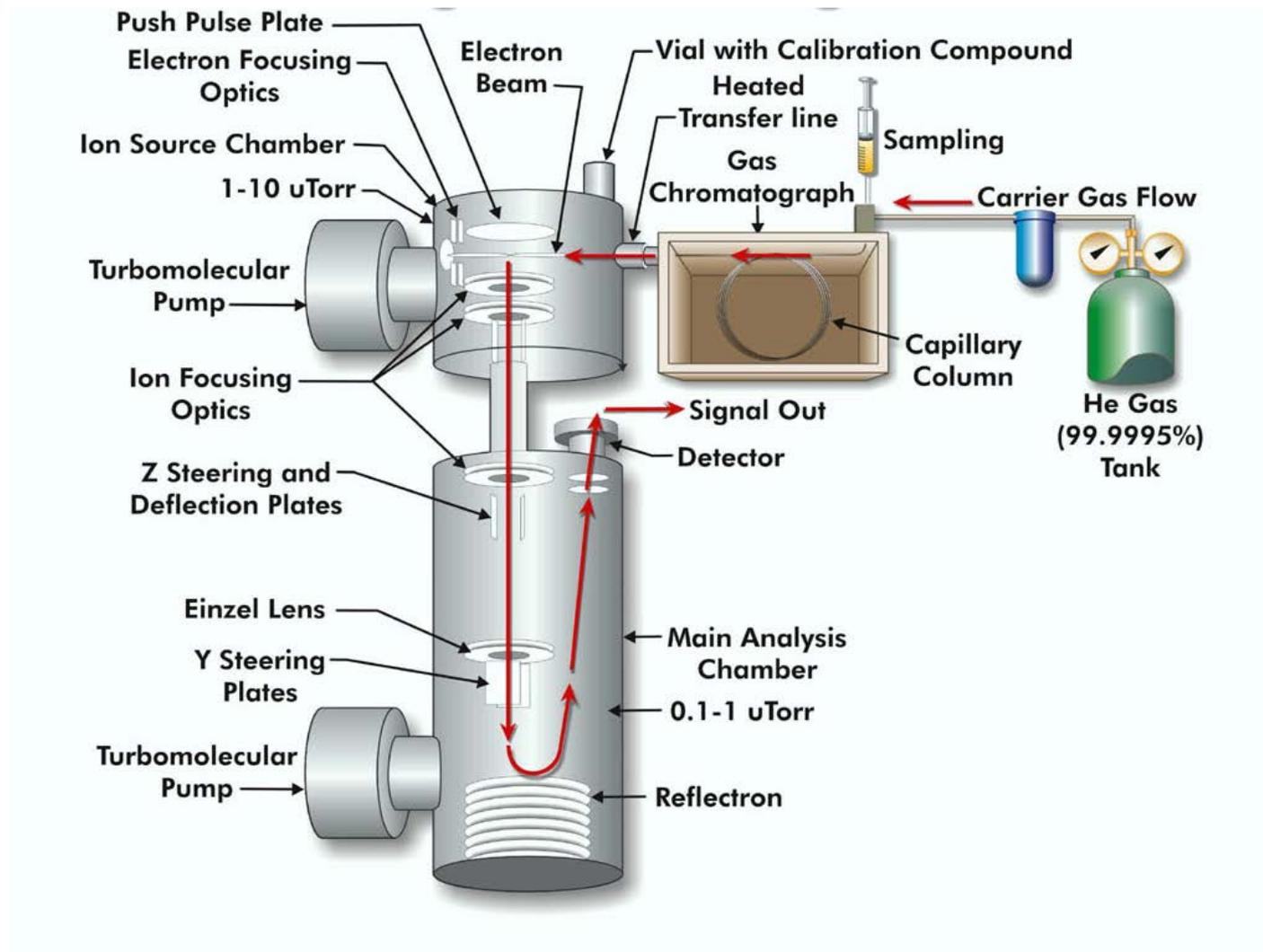


# ТОФ-рефлектор с ортогональным вводом



**А.Ф.Додонов**

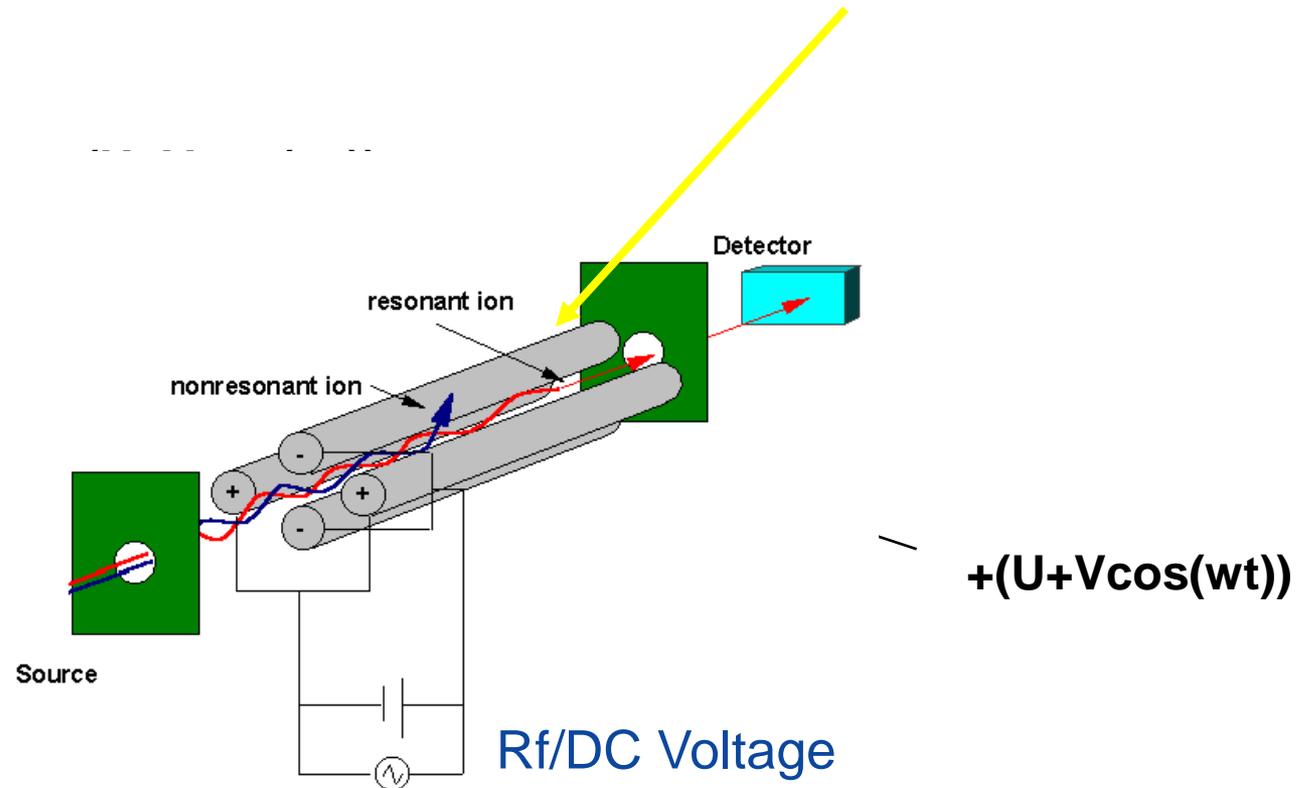
# Схема газового хромато-масс-спектрометра (GC-MS) Leco Pegasus III с EI и TOF



## Времяпролетный анализатор (ТОФ)

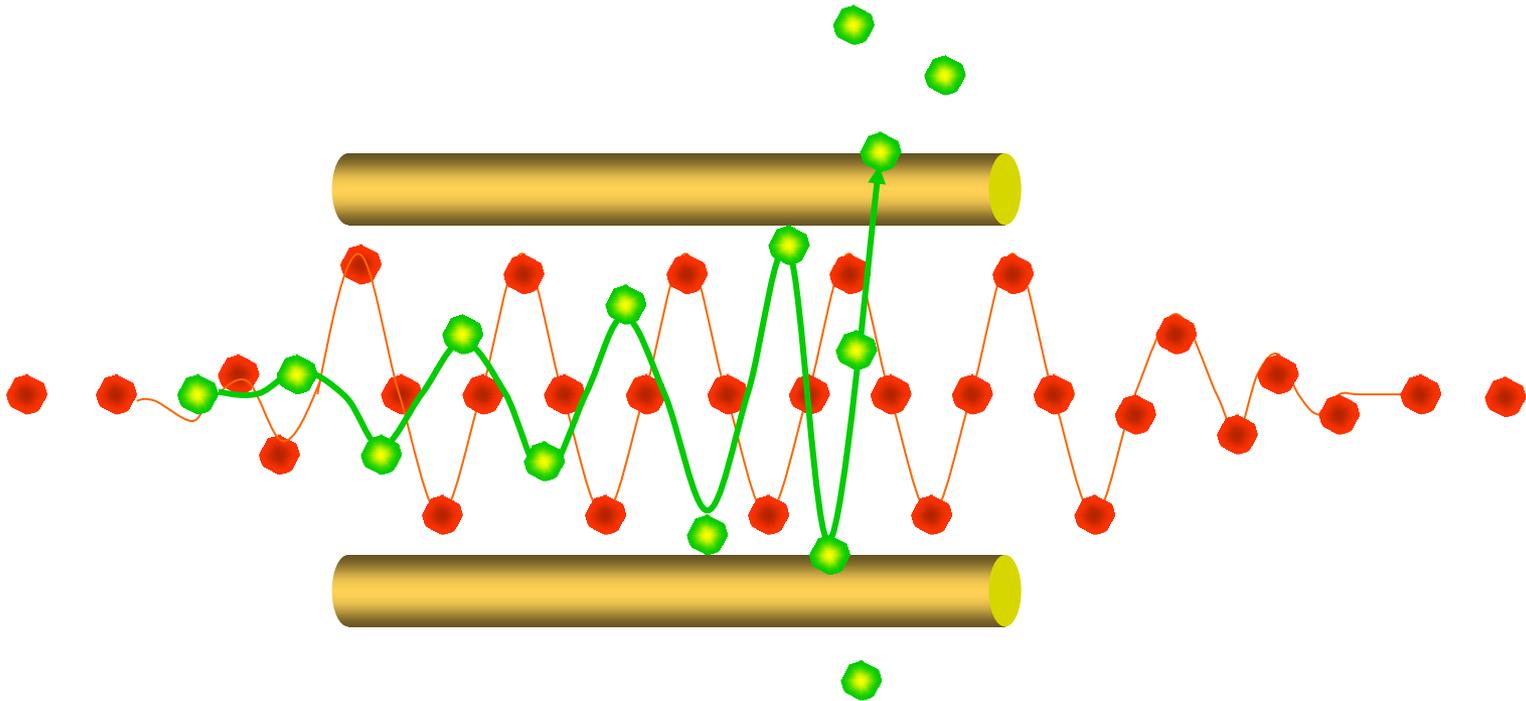
- имеет более высокую чувствительность по сравнению со сканирующими приборами;
- имеет очень высокую скорость записи спектра (несколько сот спектров в секунду);
- имеет практически неограниченный диапазон масс;
- имеет разрешающую способность более 10000;
- может работать с самыми разнообразными источниками ионов;
- является идеальным вторым анализатором для работы в режиме тандемной масс-спектрометрии;
- относительно небольшие размеры.

# Квадрупольный масс-анализатор



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

# Принцип работы квадруполя



При каждой комбинации RF/DC потенциалов через квадруполь проходят только ионы с определённым  $m/z$  (резонансные ионы)

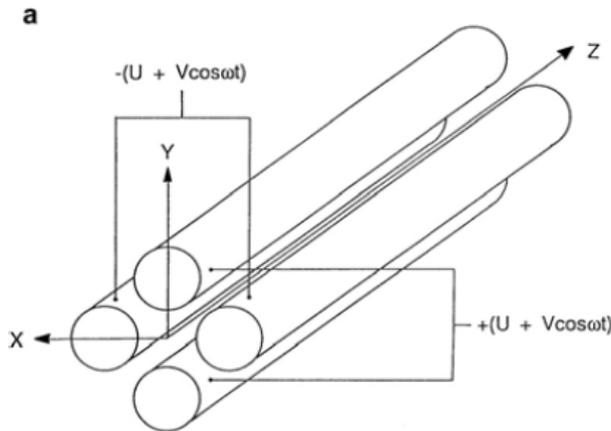
# Теория квадрупольного анализатора

Уравнения движения  
(уравнения Матье):

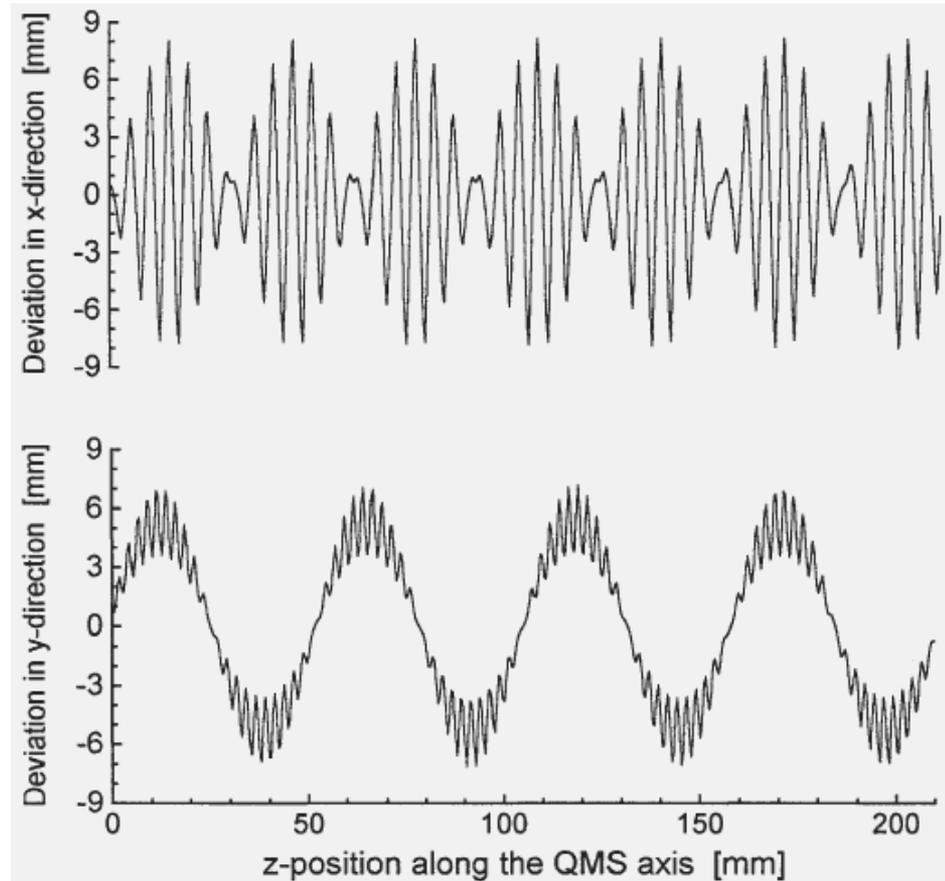
$$\frac{d^2x}{d\tau^2} + (a_x + 2q_x \cos 2\tau)x = 0$$

$$\frac{d^2y}{d\tau^2} + (a_y + 2q_y \cos 2\tau)y = 0$$

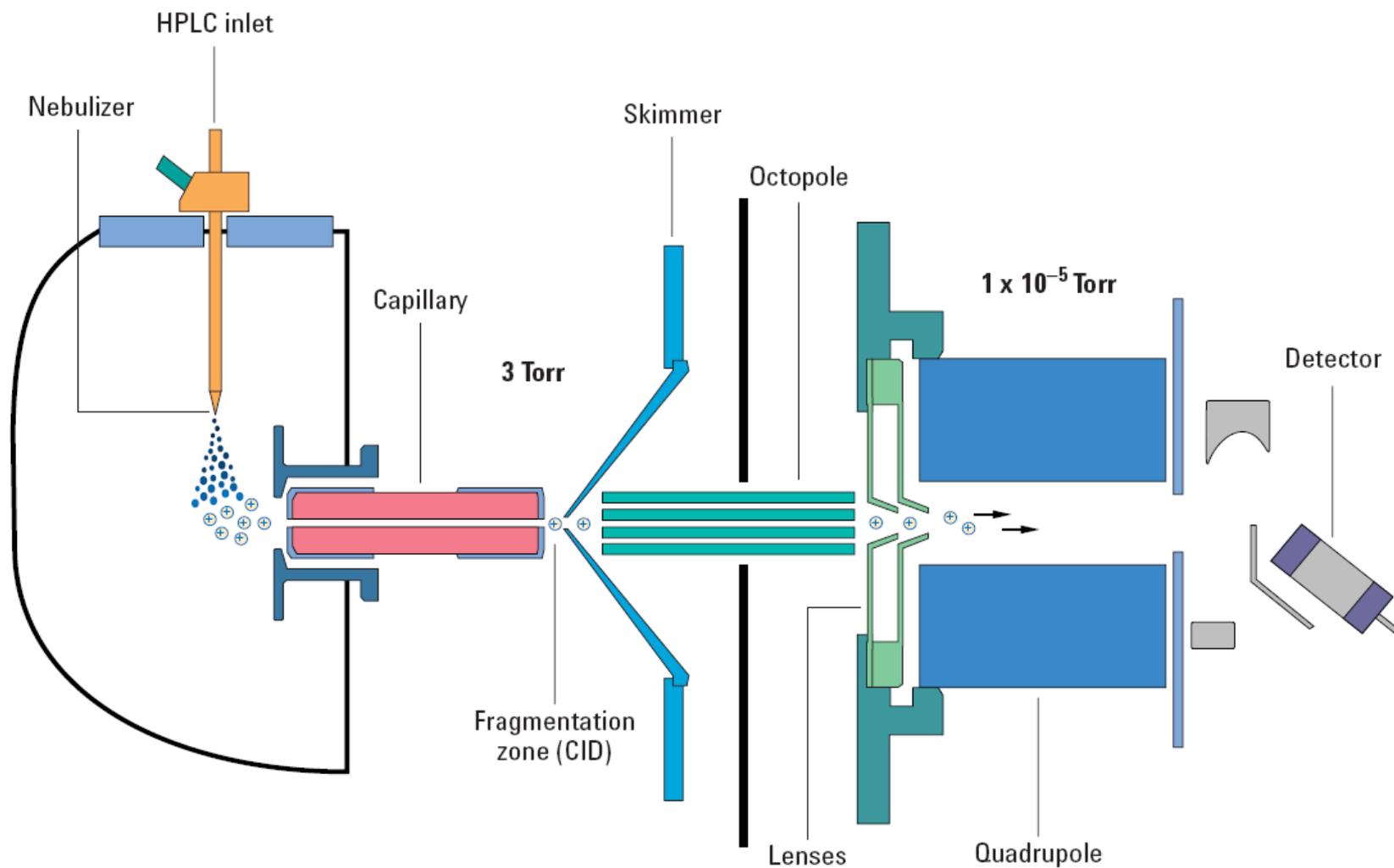
$$a_x = -a_y = \frac{4eU}{m_i r_0^2 \omega^2}, \quad q_x = -q_y = \frac{2eV}{m_i r_0^2 \omega^2}, \quad \tau = \frac{\omega t}{2}$$



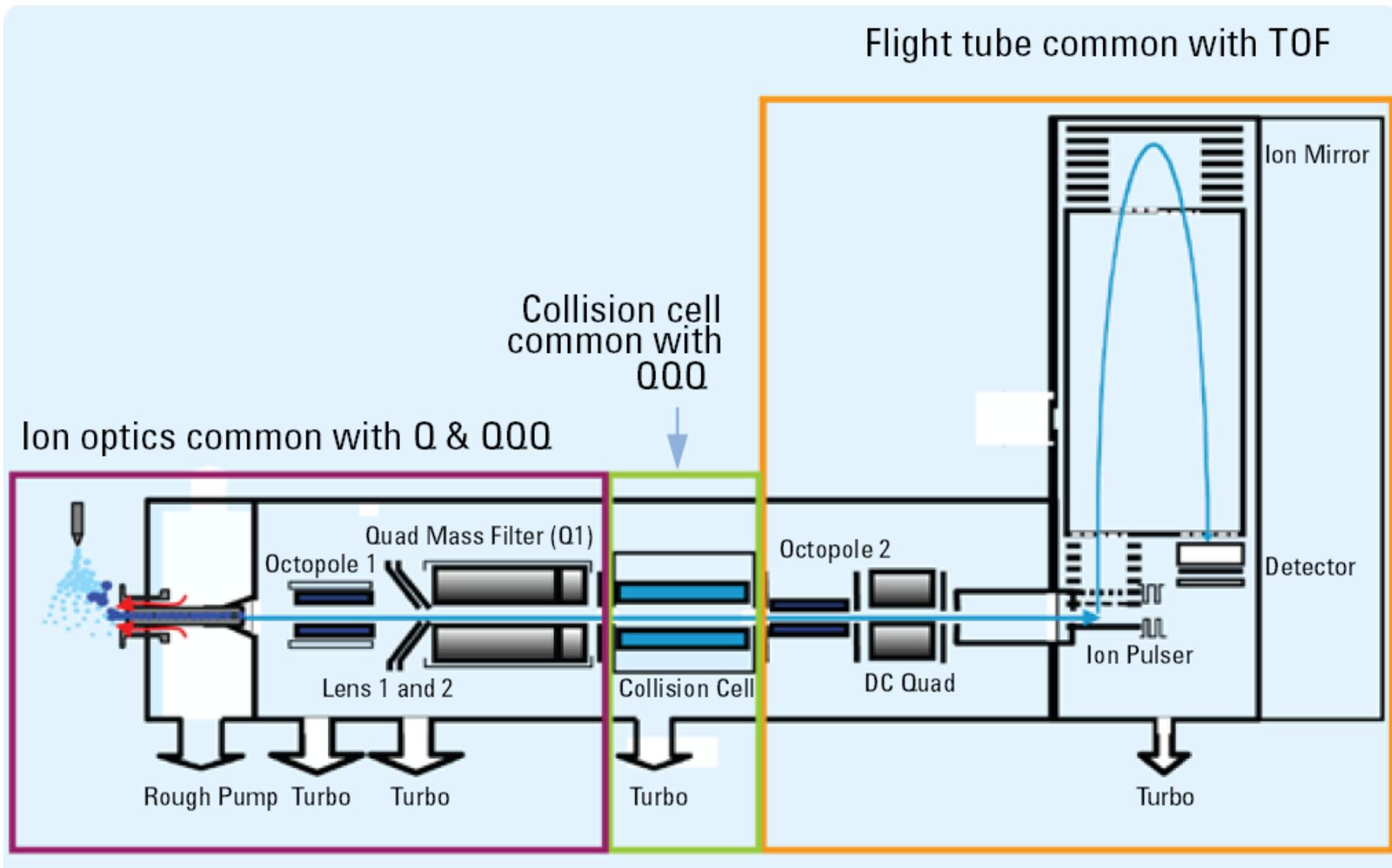
# Движение резонансных ионов в квадруполе



# Интерфейс ESI/APCI (HP-Agilent)



# Тандемная масс-спектрометрия



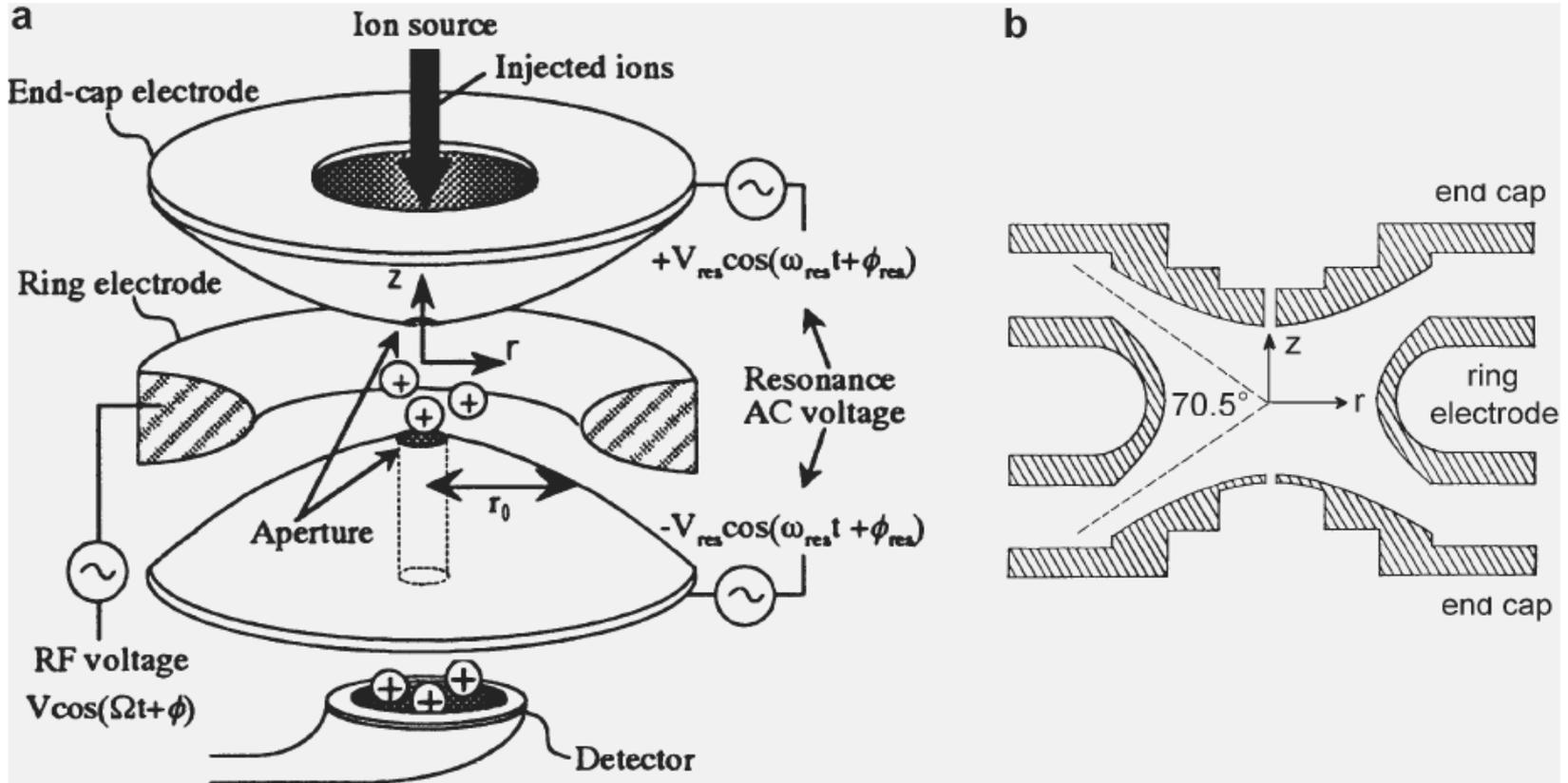
# LC-MS с тандемным масс-спектрометром



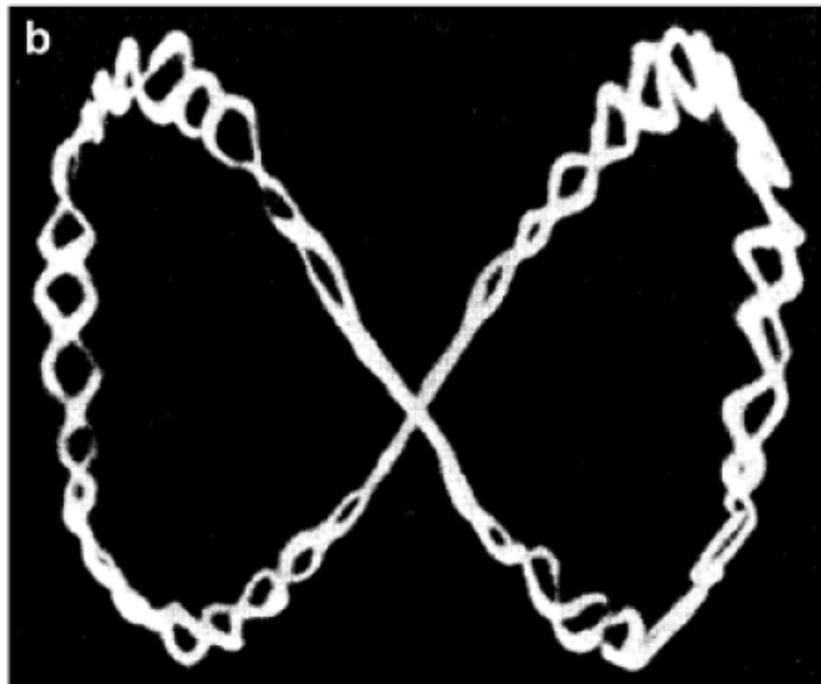
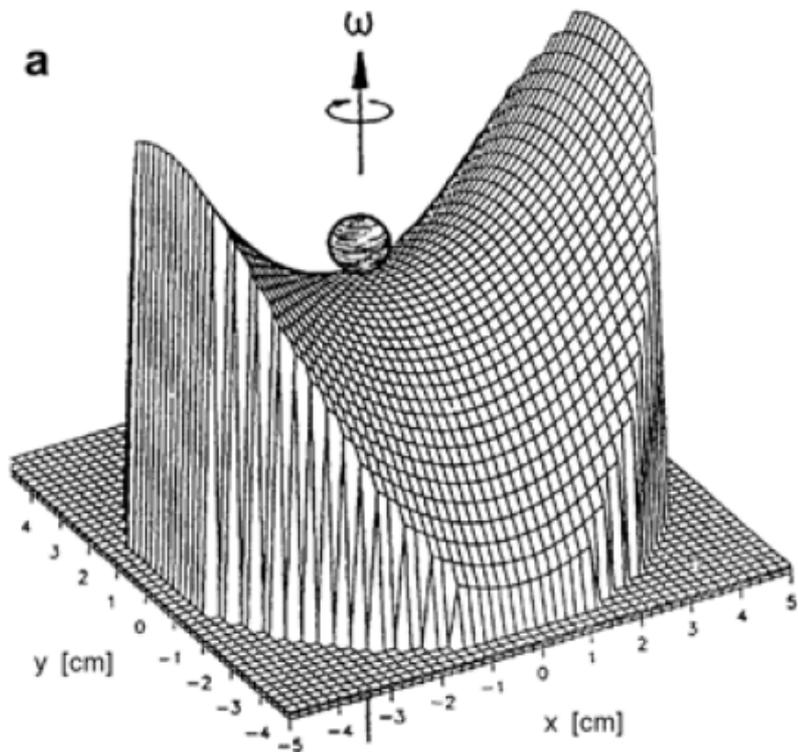
# Квадрупольный анализатор (Q)

- Квадруполь легко управляется компьютером
- Имеет хороший динамический диапазон ( $10^5$ )
- Стыкуется со всеми системами ввода
- Способен без модифицирования разделять и положительные, и отрицательные ионы
- Быстрота сканирования (полный спектр за 5 секунд)
- Небольшие размеры
- Дешевизна
- Возможность работы при повышенном (до  $5 \times 10^{-5}$  мм рт.ст.) давлении

# Квадрупольная ионная ловушка (QIT)



# Движение ионов в ионной ловушке



# Ионная ловушка (QIT)

- Режим тандемной масс-спектрометрии.
- Возможность достижения разрешающей способности 25000
- Небольшие размеры
- Самая низкая стоимость прибора
- Возможность расширения диапазона регистрируемых масс в режиме резонансного извлечения ионов до десятков тысяч

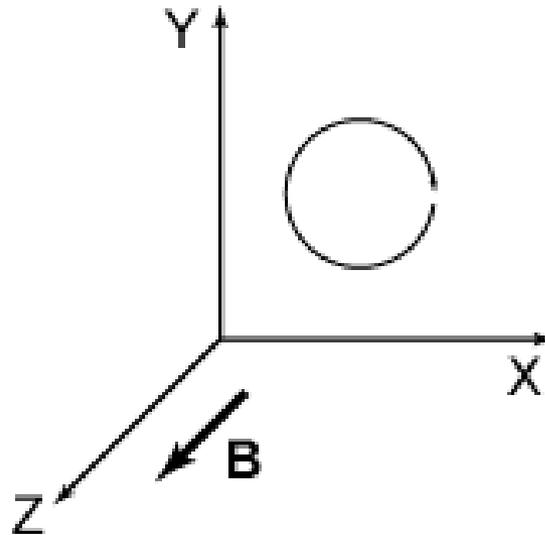
К недостаткам можно отнести протекание в ловушке ионно-молекулярных реакций, что приводит к искажениям стандартного масс-спектра.

# Ион-циклотронный резонанс

Независимо от начальной скорости движения ( $V$ ) ионы в однородном магнитном поле ( $B$ ) двигаются с одинаковой угловой частотой ( $\omega_c$ ) (частотой вращения, циклотронной частотой)

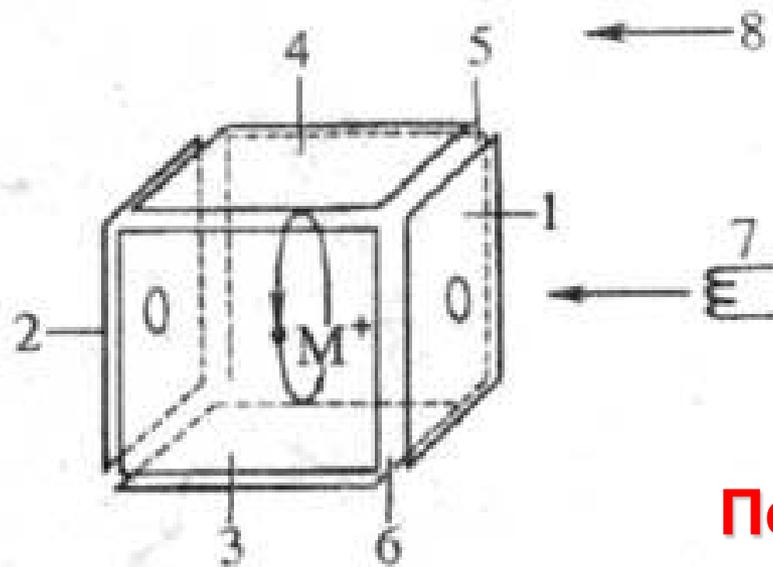
$$R = \frac{mV}{qB}; V = R\omega_c; \omega_c = \frac{qB}{m}$$

**Эффект ИЦР (ICR):**  
**Резонансное**  
**поглощение**  
**электромагнитного**  
**излучения на**  
**циклотронной**  
**частоте с**  
**увеличением**  
**радиуса траектории**  
**движения ионов**



$B=7 \text{ T}$ ,  $m/z=1500$ ,  $z=1$   
 $\omega_c=71.6 \text{ кГц}$

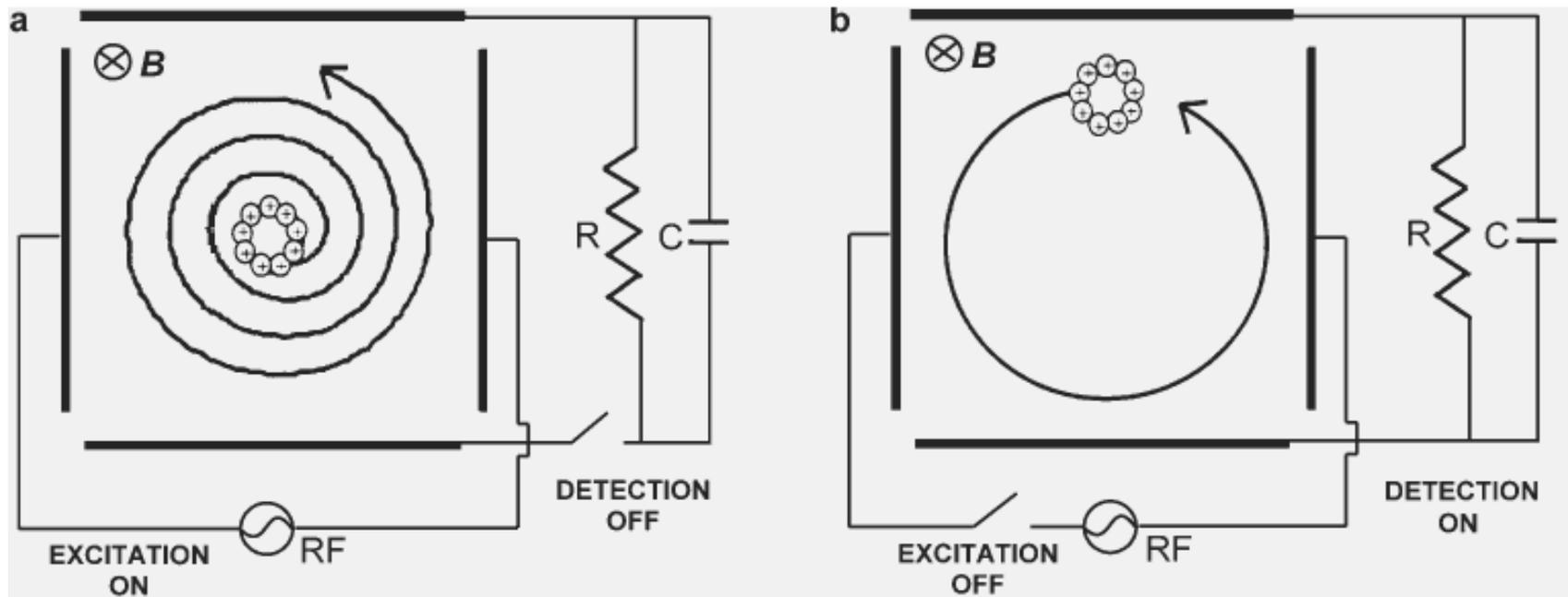
# Схема простейшей ячейки ИЦР



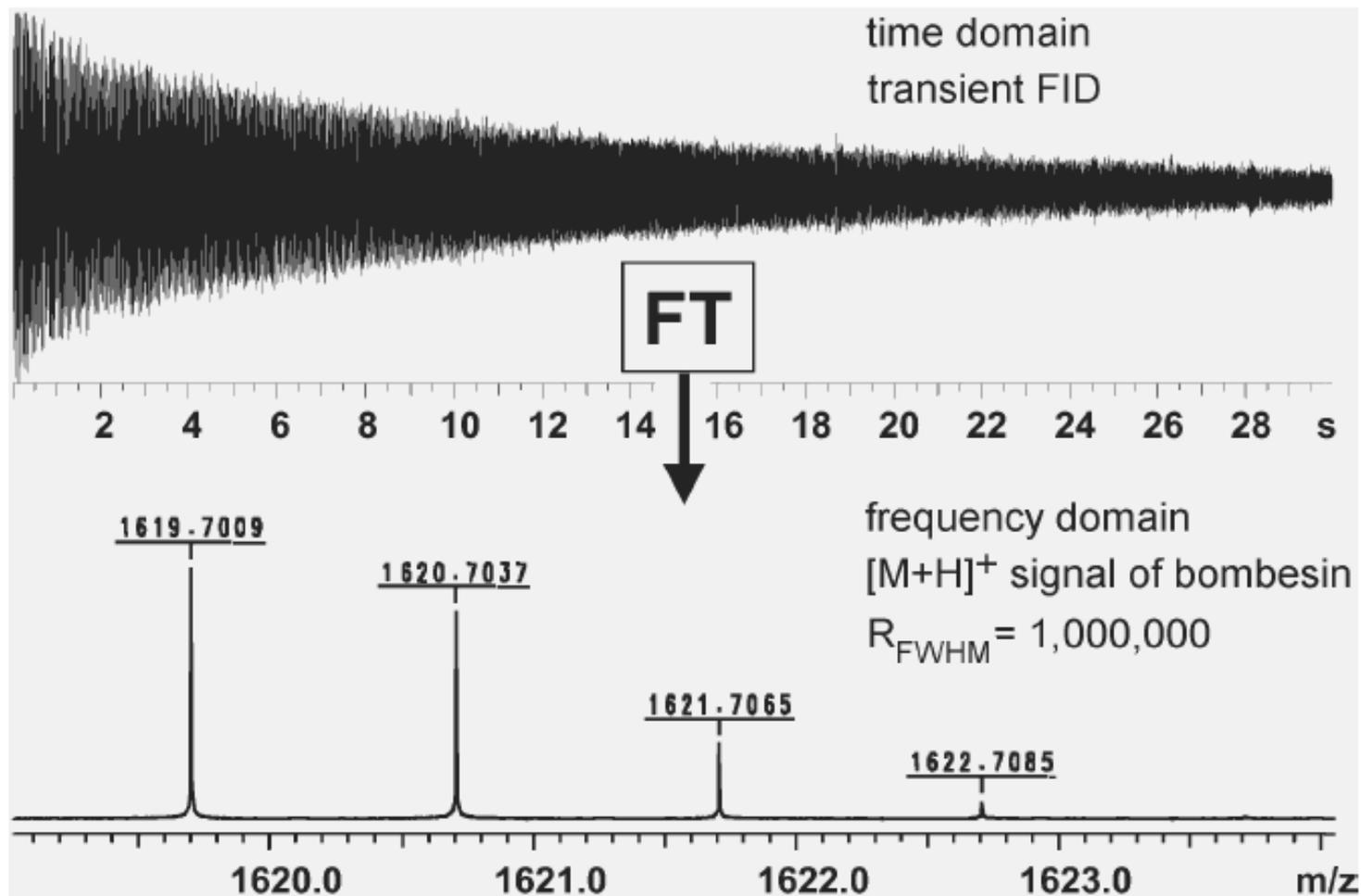
**Пеннинг**

1,2 – боковые пластины, 3,5 – торцевые пластины, 4 – верхняя пластина, облучение двойного резонанса, 6 – нижняя пластина, пороговый генератор

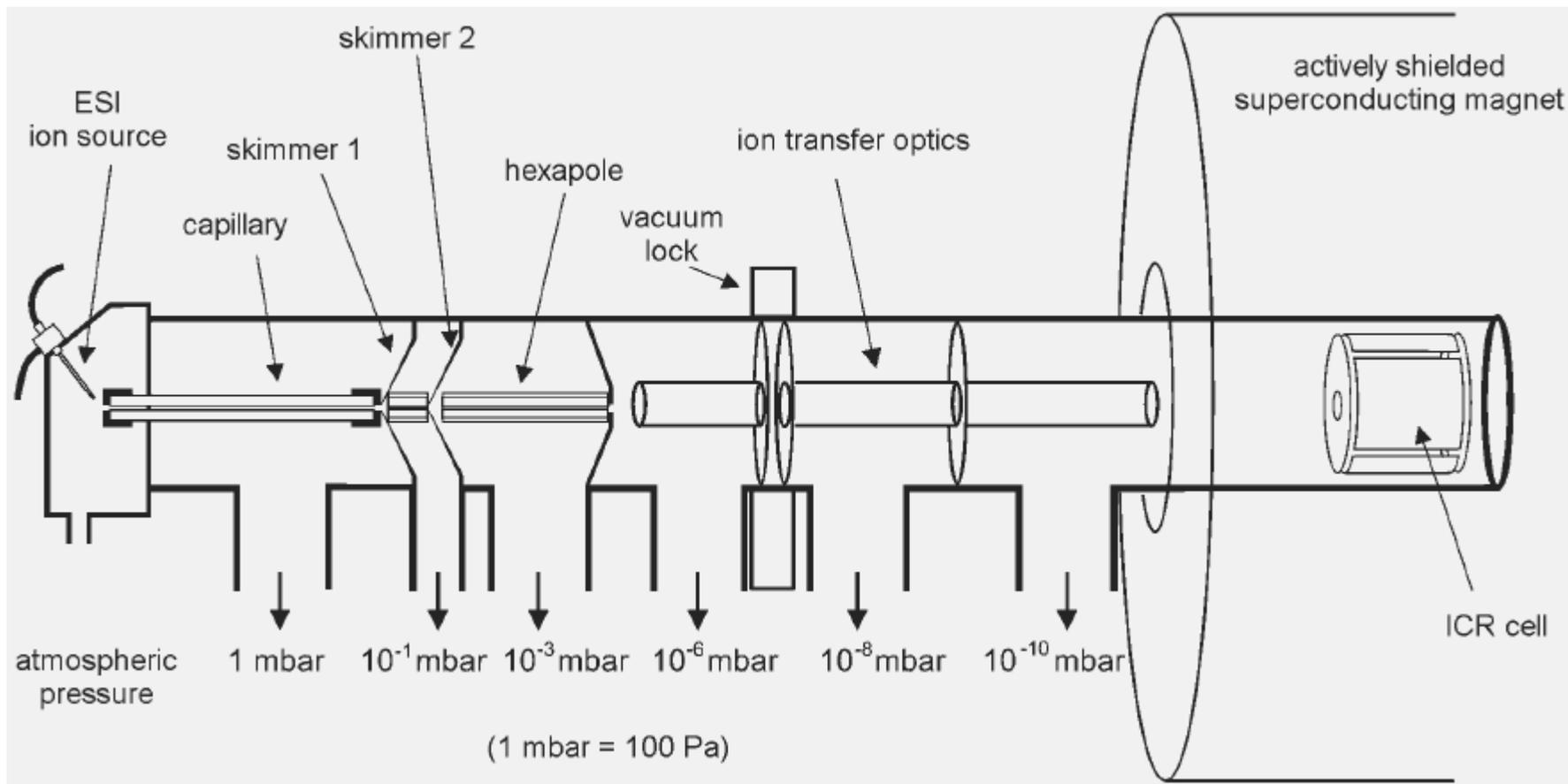
# Последовательное возбуждение и регистрация ионов



# Сигнал FT-ICR



# Масс-спектрометр ESI-ICR



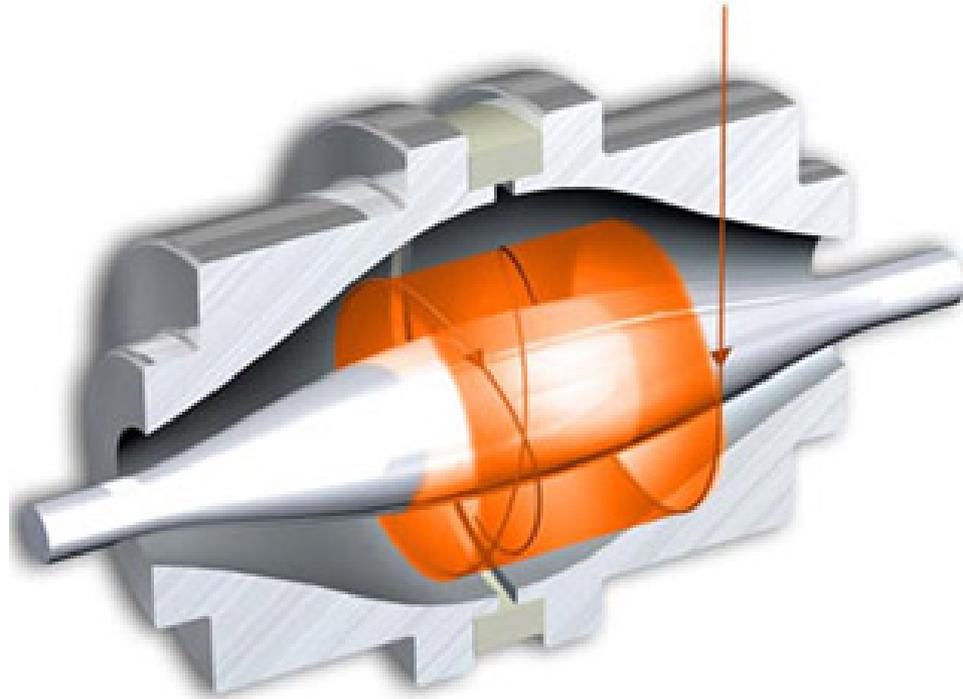
# Масс-спектрометр ион-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (FT-ICR)



# Анализатор ион-циклотронного резонанса

- **Высокое разрешение  $m/\Delta m=10^6$**
- **Возможность точного определения масс (до  $10^{-4}$ )**
- **Высокая чувствительность (до 14 ионов)**
- **Возможность тандемной масс-спектрометрии**
- **Возможность изучения кинетики реакций**
- **Высокая стоимость**

# Ионная ловушка Orbitrap

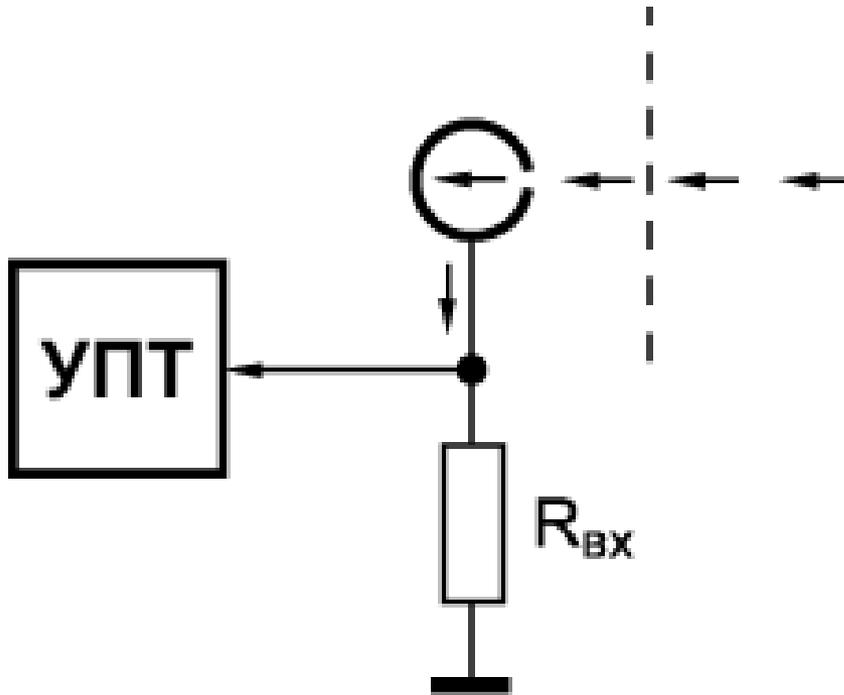


**А.А.Макаров**

# Детекторы

- Электромметр (коллектор ионов) **Faraday Cup**
- Вторично-электронный умножитель (ВЭУ) **SEM**
- Канальный ВЭУ **SEM**
- Микроканальная пластина **MCP**
- ВЭУ с конверсионным динодом

# Электромметр (коллектор ионов)



$$I = \frac{U}{R_{\text{вх}}}$$

$$R_{\text{вх}} = 10^9 - 10^{12} \text{ Ом}$$

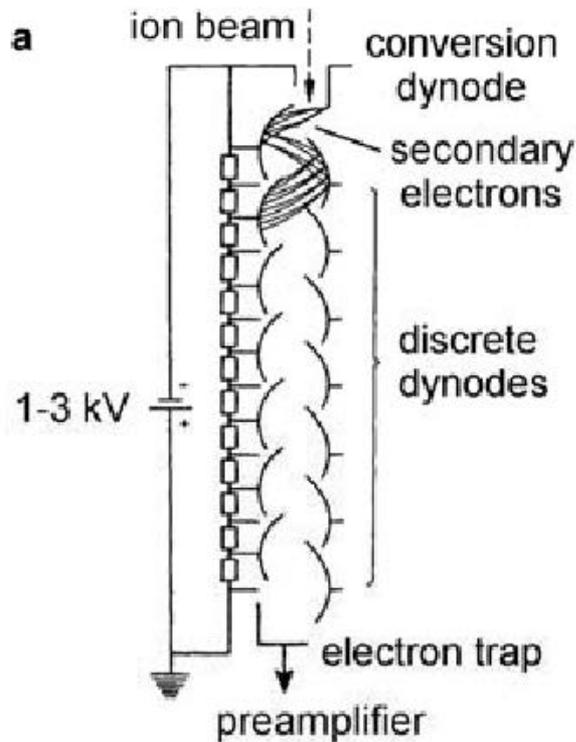
$$U = 10^{-4} - 10^2 \text{ В}$$

$I$  от  $10^{-18} \text{ А}$

(6 частиц в секунду)

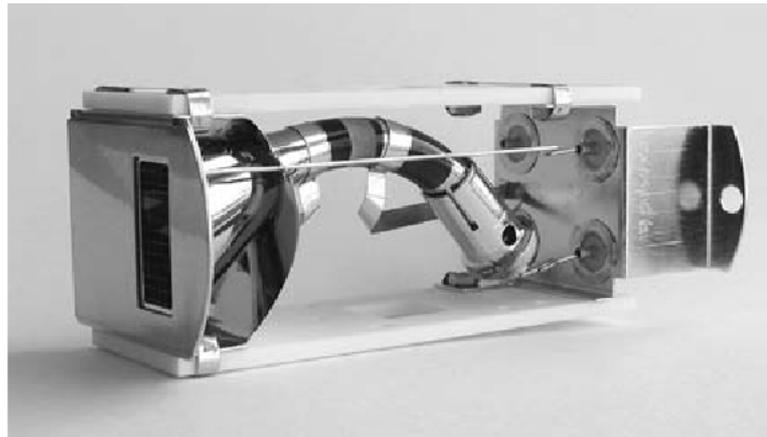
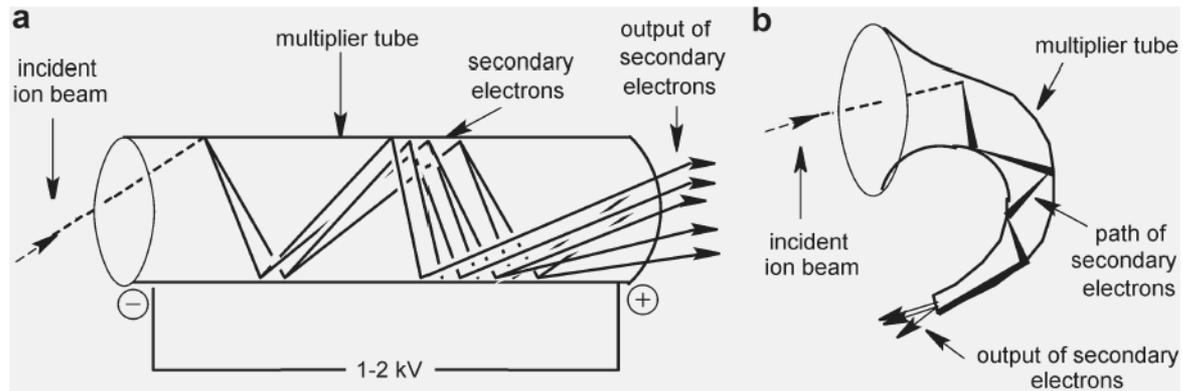
*Динатронный эффект*

# Динодный вторично-электронный умножитель

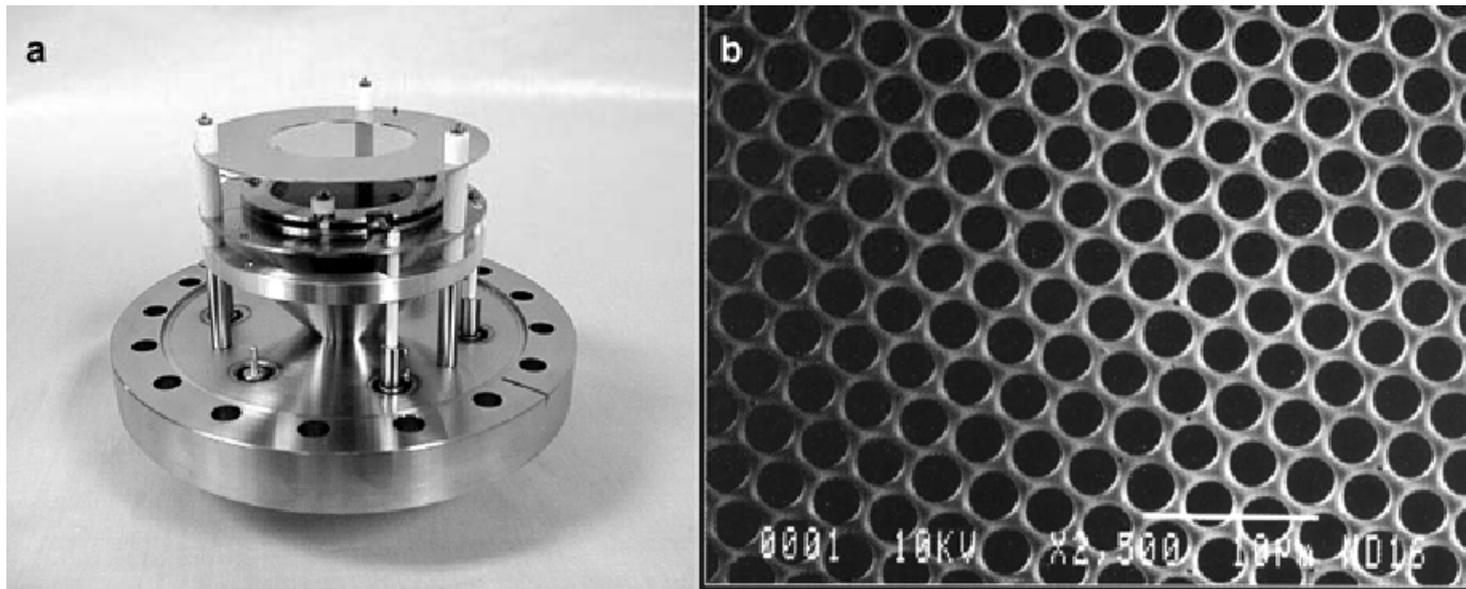


*Зависимость коэффициента умножения от массы иона*

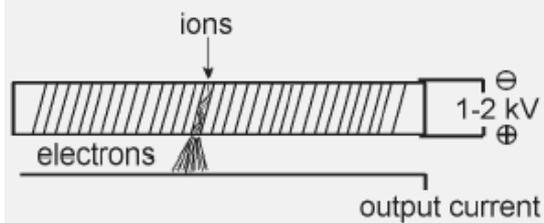
# Канальный вторично-электронный умножитель



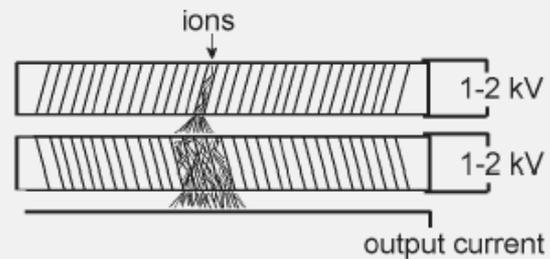
# Микроканальные пластины



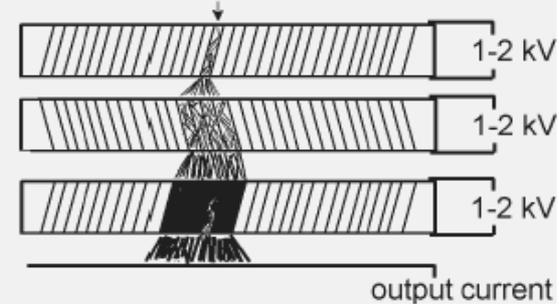
MCP



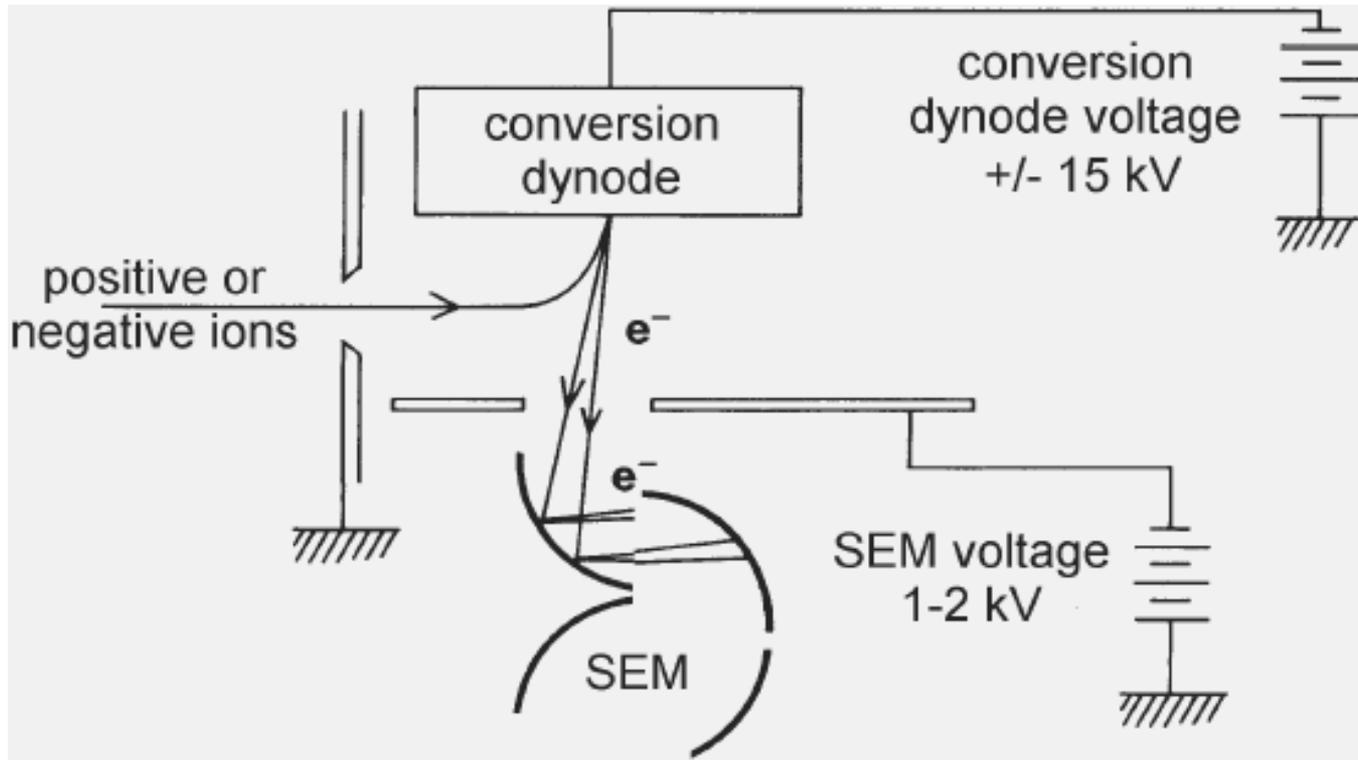
Chevron plate



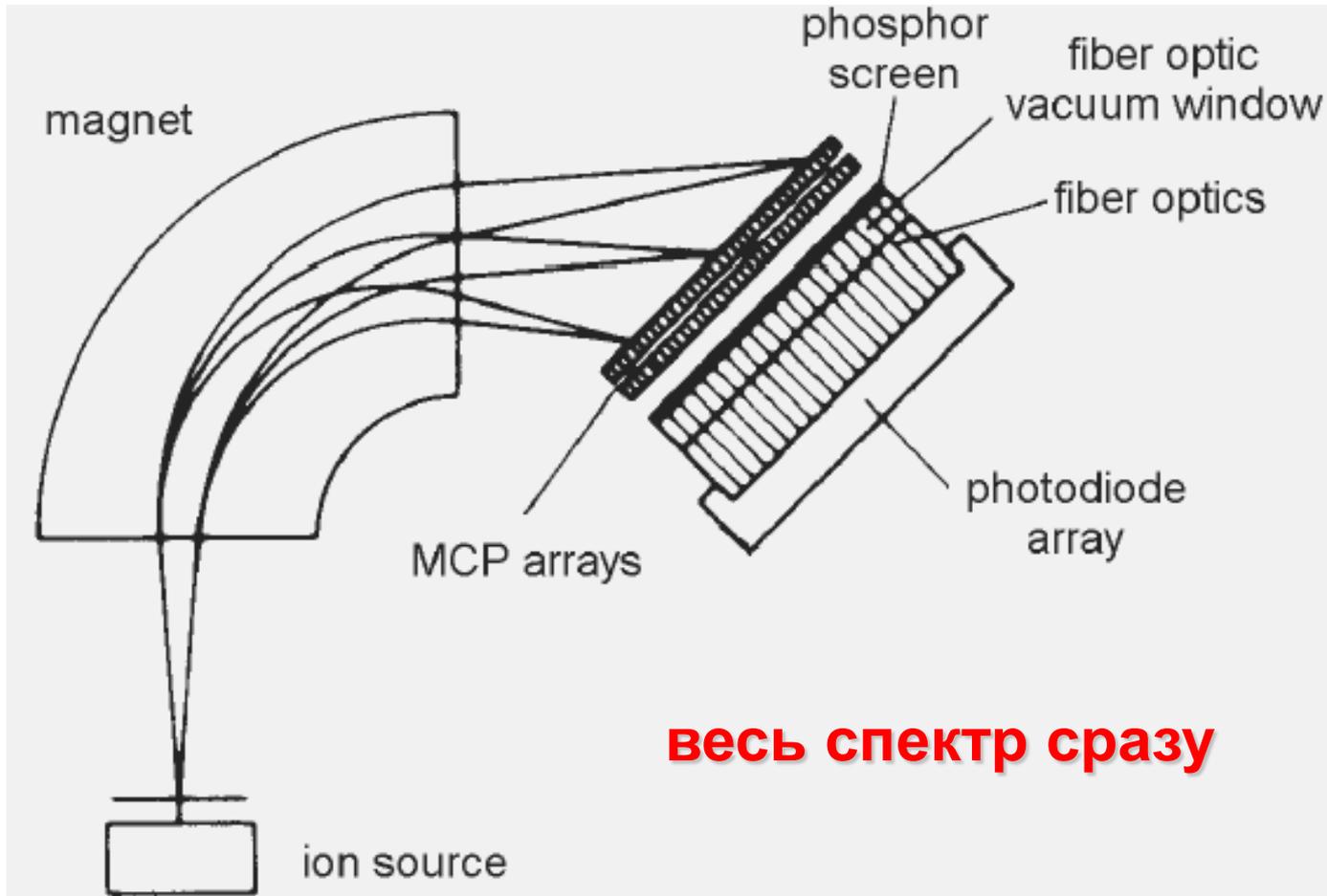
z stack



# ВЭУ с конверсионным динодом



# Детектор фокальной плоскости



# Использованные источники информации

<http://nobelprize.org>

<http://www.edwardsvacuum.com>

<http://www.bardenbearings.com>

<http://www.adixen.com>

<http://www.varianinc.com>

<http://www.chem.agilent.com>

<http://www.leco.com>

<http://www.thermoscientific.com>

J.H.Gross Mass Spectrometry, Springer, 2004

Материалы Е.Н.Николаева

Материалы А.В.Кепмана

Интернет

**Спасибо за внимание!**