

负离子质谱法在异构体鉴别中的应用

林子森 柴春华
(复旦大学分析测试中心)

[摘要] 本文综述了近年来负离子化学电离和快原子轰击质谱法在异构体鉴别中的进展以及几种负离子的产生机理。

在环境分析中,往往需要鉴别有机物的同分异构体,因为不同结构的化合物具有不同的生物、化学活性,而毒性高的异构体往往是亲脂性的,且不太稳定。常规的电子轰击质谱(EIMS)^[1,2]和正离子化学电离质谱(PCI)^[3]常常不能有效地区分这些异构体,尤其是多环芳香烃(PAH)异构体。近年来一些新方法,如B/E联动扫描亚稳离子谱^[4]、液体电离(LI)^[5]等技术取得了一定进展,但灵敏度不高,难以用于环境监测中痕量有机污染物异构体的分析。

负离子质谱法(NIMS)灵敏度高,选择性好^[5,6,7],很适合作为痕量分析(可达 10^{-15} 克)和异构体鉴别技术,尤其是对于电子亲和能较大的化合物,如分子中含有卤素、硝基和高共轭体系的化合物^[8],能得到差别明显的质谱图,弥补了EI和PCI质谱的不足。

关于负离子化学电离质谱(NICIMS)在异构体鉴别中的应用,柳庸行曾作过部分评述^[9],本文拟对此作一较全面的评述。

负离子的产生机理

在化学电离条件下,试剂气体除生成带正电荷的等离子体外,还产生热能电子和带负电荷的试剂离子,它们分别和样品分子反应生成负离子,因而产生负离子的反应可分成两类,即电子捕获反应和离子分子反应:

1. 电子捕获反应^[10-16]

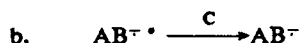
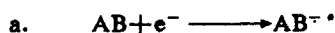
电子和分子反应生成负离子的反应可分成三种:

- (1) $AB + e^- \longrightarrow AB^-$ (缔合共振捕获)
- (2) $AB + e^- \longrightarrow A^- + B^{\cdot}$ (分解共振捕获)
- (3) $AB + e^- \longrightarrow A^+ + B^- + e^-$ (离子对产物)

电子能量为0~10eV时,主要发生反应(1),它广泛用于分析电子亲和能(EA)为正值化合物。大多数有机化合物的EA都不超过2.5eV^[17],因此必须通过碰撞带走多余的能

1989年1月11日收

量以便生成稳定的负离子,故反应(1)一般认为分两步进行:



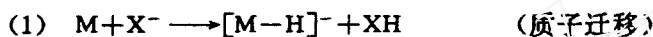
$\text{AB}^{\cdot -}$ 为带有多余能量的负离子, C 为缓冲剂。

电子能量为 0~15eV 时,由于低能电子丰度的增加,更容易发生反应(1)和(2)。

在常规电子碰撞条件下,电子能量在大于 100eV 的一个很宽的范围内,主要发生反应(3)。

2. 离子分子反应^[10,11,14,15,16,18]

这类反应主要可分为以下四种:

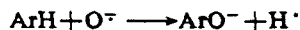


由质子迁移反应形成的样品负离子几乎没有多余的内能,从反应(1)可见,在样品负离子的形成过程中没有新键的形成,所以大部分剩余能量都保留在由试剂气体离子所形成的中性分子上。结果,负离子质子迁移谱常具有强准分子离子峰,而只有极少的碎片离子。

如果分子 M 的 EA 比分子 X 的大,则发生电荷交换反应。氧的 EA 较低使 O^- 能通过电荷交换反应对具有较高电子亲和能的 M 进行离子化。

样品分子常发生亲核加成反应而形成稳定的加成物,不容易发生质子迁移反应。因为质子亲和能较低的负离子,如 Cl^- 、 O^- 很容易进行亲核反应形成加成物;有时,试剂气体本身受到样品分子产生的负离子的亲核进攻,例如多环芳香烃(PAH)^[19]和多氯二苯并恶啉(PCDD)等^[20,21],先由电子捕获而电离,生成的负离子再和氧气反应生成加成产物,发生重排反应生成特征离子。

OH^- 和 O^- 都是强碱性负离子,除主要与化合物发生质子迁移反应形成 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 负离子外,还能与适宜化合物^[14]发生亲核取代反应,如脂肪酸谱图中也有羧酸酯负离子峰。 O^- 是一种特别强的亲核试剂,也可取代芳香化合物中的氢原子^[14]。



负离子化学电离法

1. $\text{CH}_4/\text{NICIMS}$

CH_4 是目前用得最多的一种反应气,主要用来区分 PAH 和 PCDD 异构体。

在 0.1 torr 下^[10,22,23],负离子主要是由缔合共振捕获反应生成,表 1 是一些 PAH 的电子捕获离子化的实验结果和 EA 及 $-M_{n+1}$ 的计算值^[22,23]。

表1 PAH的ECNIMS及EA和 $-M_{n+1}$ 的计算值

化合物名称	MW	EA/eV	$-M_{n+1}$	基峰 m/z
萘	128	-0.06	0.618	—
甘菊环	128	0.77	0.400	128
荧蒽	202	0.63	0.371	202
苈	202	0.45	0.445	—
苯并(a)苈	252	0.64	0.371	252
苯并(e)苈	252	0.35	0.497	—
苯并(j)荧蒽	252	—	0.312	252
苯并(b)荧蒽	252	—	0.377	252
苯并(k)荧蒽	252	—	0.401	252
苈	278	0.29	0.502	—
二苯并(s,j)苈	278	0.33	0.492	—
苈	166	—	—	180
1-甲基苈	180	—	—	194
2-甲基苈	180	—	—	194
9-甲基苈	180	—	—	—

从表中看出,凡 $EA > 0.5\text{eV}$ 的化合物都可生成强的分子离子峰,而且往往是基峰;而 $EA < 0.5\text{eV}$ 的则不被离子化。由此可区分EA差别较大的异构体,如荧蒽和苈,但对EA相近的化合物,如苈和二苯并苈,则显得无能为力。

用实验测定PAH的EA较繁,但可用分子轨道理论近似求得,结果表明PAH的EA与最低未占有轨道(LUMO)的能量呈线性关系。由Hückel分子轨道近似计算可得:

$$E_{\text{LUMO}} = \alpha + M_{n+1}\beta$$

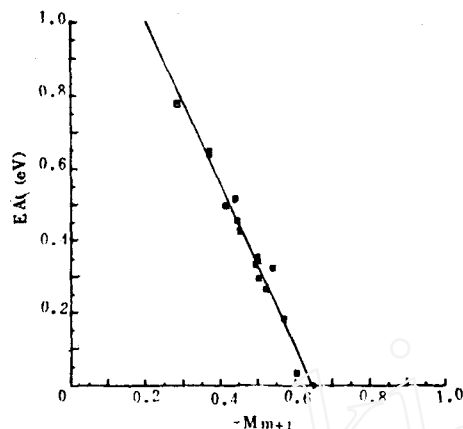
α 和 β 分别是库仑和共振积分, M_{n+1} 是LUMO的能量系数。

M_{n+1} 与EA也呈线性关系,由表1中 $-M_{n+1}$ 与EA的值作图,可得图1,其相关方程为:

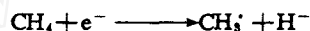
$$EA = -2.24(-M_{n+1}) + 1.45$$

此外 $\alpha = 1.45, \beta = 2.24$

$-M_{n+1}$ 的值可从文献中查到,由此可以直接从EA的值预知化合物的谱图,从而将异构体直接区分开来。对于含有饱和五员环的PAH,如苈基化合物,其EA和 $-M_{n+1}$ 值不能由Hückel分子轨道近似直接求得。然而,它们的EA远小于含有不饱和五员或六员环的化合物,在电子捕获条件下,它们不易生成分子离子,但可在9位发生反应生成 $[M+14]^-$ 离子,从而可同含有不饱和五员或六员环的异构体区分。

图1 $-M_{m+1}$ 和 EA 计算值的关系

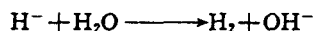
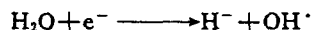
在 0.3~0.5 torr 下^[9], 负离子主要是通过离子分子反应形成, 即:



生成的 H^- 再与系统中微量的水反应, 生成 OH^-



OH^- 也可通过下列方式生成:



生成的 OH^- 与 PAH 等反应, 由于各 PAH 的结构不同, 生成不同丰度的负离子。

Brotherton 等人^[2]在 0.4 torr 下研究了一系列 PAH 的负离子质谱, 结果如表 2。从表 2 可见, 化合物可分成三类:

- (1) 以分子离子峰为基峰, 如蒽等。
- (2) 电离较复杂, 一般以 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 为基峰, 如三亚苯和苯并(e)芘等。
- (3) 只有分子离子峰和同位素峰, 如苯并(a)芘等。

表 2 某些 PAH 的 CH_4/NiCl 质谱

化合物名称	MW	$[\text{M}-1]^-$	M^+	$[\text{M}+1]^-$	其 它
菲	178	100	15*	80	
蒽	178	10	100	35	
荧 蒽	202	—	100	20*	
芘	202	40	40	100	
苯并(a)蒽	228	—	100	25	$[\text{M}+14]^-$ 5
蒽	228	100	20*	95	$[\text{M}+2]^-$ 15*
三亚苯	228	100	20*	95	$[\text{M}+15]^-$ 2
并四苯	228	—	100	50	$[\text{M}+14]^-$ 15
苯并(b)荧蒽	252	—	100	25*	
苯并(k)荧蒽	252	—	100	25*	
苯并(e)芘	252	45	100	100	$[\text{M}+14]^-$ 80
苯并(a)芘	252	—	100	25*	

注: 有“*”的峰包括 ^{13}C 同素峰的贡献

第一类和第二、三类以及第二和三类化合物的异构体容易区分,但第三类化合物的异构体都得到相同的谱图。这类化合物的响应因子很大,即使低至 10pg 的痕量物质也能被检测到。

以上方法的共同缺点是难以区分分子量较高的异构体,Lida 等^[24]利用正负离子质谱的基峰强度之比(N/P)较好地解决了这个问题,如难以区分的苯并(a)芘和苯并(b)荧蒹,其 N/P(基峰)分别为 1.2 和 4.8,具有明显差别。

CH₄/NICIMS 用于 PCDD 的鉴别也取得了较好的结果,主要产生丰度各异的 [M-H]⁻、[M-Cl]⁻ 和 [M-Cl₂]⁻^[25] 等离子。

CH₄/NIMS 也曾用来区分二元苯酚的位置异构体^[26],主要产生 [M-1]⁻ 和 [M-2]⁻ 离子峰,且 [M-2]⁻/[M-1]⁻ 的丰度之比有如下关系:对>邻>间位异构体。这是因为所生成的 [M-2]⁻ 离子的稳定性不同,如图 2 所示。

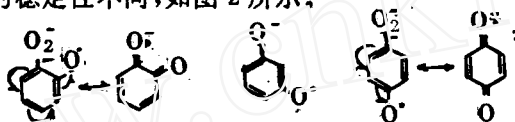


图 2 [M-2]⁻ 离子共振结构

由于共振,邻和对苯二酚较稳定。用此法可以区分部分二取代苯的位置异构体。

CH₄/NICIMS 也曾用于多卤芳香烃的研究,但效果不佳^[27]。

2. O₂/NICIMS

用氧气作反应气主要用来区分环境中具有剧毒的 PCDD 异构体^[20,21,25,28,29,30]。目前这类方法主要有低压(1~3torr)氧负离子化学电离质谱(ONCIMS)和常压氧负离子化学电离质谱(ONCI/APIMS)两种,其中后者和气相色谱法联用可检测出绝对量为 10pg 的 2,3,7,8-TCDD^[21,29,30]。在这两种反应条件下,主要反应过程都相似^[9,21],但也有一定差异,在 ONCIMS 条件下,除 OCDD 和 D₂CDD 外,具有一个或多个邻位氯的 PCDD 的基峰都是 [M-19]⁻,而且 2,3-D₂CDD 在 APIMS 下生成 [M-19]⁻,而在 ONCIMS 下不生成这个离子。其原因是离子形成过程中电子能量分配和碰撞频率的不同^[21]。在 APIMS 条件下为热电子能量分配,而 ONCIMS 条件下为宽电子能量分配,它可导致高能态的分子离子的生成,因而易进一步反应形成 [M-19]⁻。在 APIMS 下,由于碰撞稳定作用,生成寿命较长的分子离子。

这种方法对确定 PCDD 各个苯环上的氯原子数很有用,但不能给出氯原子的具体取代位置。同时,氧会氧化灯丝,缩短离子源的寿命,限制了该法的推广使用。

3. N₂/N₂O/NICIMS^[2]

用 N₂/N₂O 混合气体作反应气,先产生等离子体离子 O⁻ 和 NO⁻,由于 O⁻ 与各类 PAH 的反应活性不同,而产生不同丰度的 [M-H]⁻, [M+1]⁻ 和 [M-H+O]⁻ 等离子,如表 3 所示。从中看出,不能用 CH₄/NICIMS 区分的异构体,如苯并(b)荧蒹和苯并(k)荧蒹等仍不能区分,这不是一个很好的方法。

表 3 PAH 的 N_2/N_2O 混合气的 NICI 质谱

化合物名称	MW	$[M-2H]^+$	$[M-H]^+$	M^+	$[M+H]^+$	$[M+15]^+$
菲	178	30	20	—	—	100
蒽	178	—	—	100	15	50
三亚苯	228	40	25	5	—	100
并四苯	228	—	—	100	20*	40
苯并(b)蒽	252	—	—	100	25*	—
苯并(k)蒽	252	—	—	100	25*	—

注:有“*”的峰包括 ^{13}C 同位素峰的贡献。

4. CO_2 /NICIMS 和 CO /NICIMS^[2]

用 CO_2 或 CO 作反应气研究 PAH 所得的谱图很相似,但与其它反应气相比明显不同。以 CO_2 为例,PAH 电离后可生成 M^+ 、 $[M-H+O]^+$ 、 $[M-2H+2O]^+$ 、 $[M+2H]^+$ 以及加上一个碳和两个氧再失去 0~2 个氢所形成的 $[M+44]^+$ 、 $[M+43]^+$ 和 $[M+42]^+$ 等离子,如表 4 所示。从中看到,有很大一部分 PAH 在 CO_2 为反应气时不能被电离,而且用 CH_4 /NICIMS 不能区分的异构体用 CO_2 /NICIMS 也同样不能区分。

表 4 PAH 的 CO_2 /NICIMS

化合物名称	MW	M^+	$[M+1]^+$	$[M+2]^+$	$[M+15]^+$	$[M+30]^+$	$[M+42]^+$	$[M+43]^+$
菲	178	—	—	66	32	100	16	6
蒽	178	100	16	2	2	19	—	—
苯并(a)蒽	228	100	20*	2*	—	6	—	—
蒹	228	—	—	100	76	44	26	11
三亚苯	228	—	—	—	—	—	—	—
并四苯	228	—	—	—	—	—	—	—
苯并(b)蒽	252	100	23*	2*	—	—	—	—
苯并(k)蒽	252	100	21*	2*	—	—	—	—
苯并(e)芘	252	—	—	—	—	—	—	—
苯并(a)芘	252	100	23*	2*	—	—	—	—

注:有“*”的峰包括 ^{13}C 同位素峰的贡献

5. N_2 /COS/NIMS

用 N_2 /COS 作反应气也曾有过尝试^[2],目的是为了产生较弱的碱 S^- 以提高选择性,但由于 S^- 将优先捕获电子,大大地降低了 PAH 的响应因子,且大部分 PAH 只能产生 M^+ 和同位素峰,不能用来区分异构体。

6. CH_4/N_2O /NICIMS^[9,11]

用 $\text{CH}_4/\text{N}_2\text{O}$ 混合气体作化学电离试剂, 则 PAH 将生成 M^- 、 $[\text{M}-1]^-$ 、 $[\text{M}-\text{OH}]^-$ 、 $[\text{M}+1]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}+\text{N}_2\text{O}]^-$ 等负离子。因 PAH 的结构不同, 这些离子的丰度有很大差别, 由此可以区分大部分异构体。

用 $\text{i-C}_4\text{H}_{10}/\text{O}_2$ 、 Ar/CH_4 和 H_2 作反应气^[2]研究 PAH 异构体也取得了一定的进展, 结果与 $\text{CH}_4/\text{NICIMS}$ 类似, 但响应因子较小。

用 CH_4/O_2 区分多氯化合物如多氯联苯各异构体也取得了很好的结果^[27], 最小检出限可达 5ng。但对多溴化合物似乎还没有什么好方法。

7. 负离子化学电离质谱法研究差向异构体

这方面的研究取得了一定的进展^[32,33,34], 以 2,3,5,6-四甲氧羰基-双环[2,2,2]-7-辛烯(图 3)为例^[34], 负离子反应试剂为 N_2O 、 N_2 、 CH_4 和 He 的 1:1:1:1 混合物, 它们先反应生成 OH^- ^[35], 然后再发生质子迁移反应生成 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 反应机理如图 4 所示。

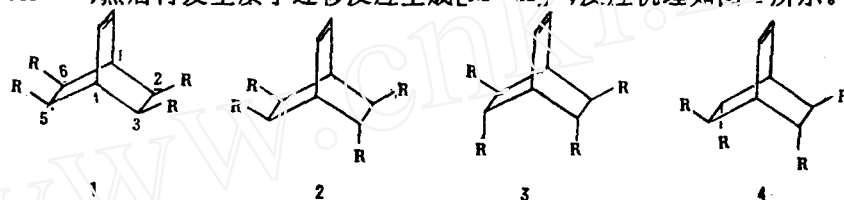


图 3 2,3,5,6-四甲氧羰基-双环[2,2,2]-7-辛烯异构体结构式($\text{R} = -\text{COOMe}$)

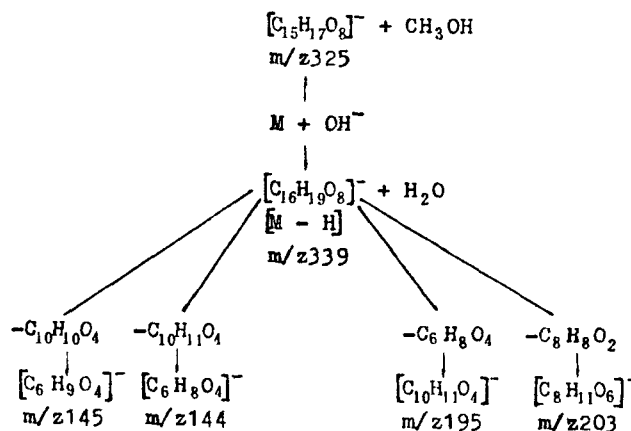


图 4 裂解机理

由于各立体异构体的稳定性不同, 它们生成的碎片离子的丰度也不同, 一般情况下 2 和 3 的谱图很相似, 二者很难区分。但 1 和 4 的差别明显, 易于区分。

负离子快原子轰击技术

负离子快原子轰击(NIFAB)主要用来研究二取代苯的位置异构体, Balasanmugam 等^[36]研究了硝基苯胺、硝基苯甲酸和硝基苯酚等位置异构体的 NIFAB 质谱, 发现除硝基苯酚外, 都产生较强的 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 和 M^- , 且 $[\text{M}-\text{H}]^-$: M^- 的比值有明显差别, 可作位置异

构体的鉴别。以硝基苯胺为例,邻、间、对异构体的 $[M-H]^- : M^-$ 比值分别为 1.2、4.3 和 7.9。这可由分子负离子 M^- 的寿命及其酸度常数来解释,如邻位异构体的寿命最长,而酸度常数最小,故 $[M-H]^- : M^-$ 最小。

用 NIFABMS 难以直接区分多羟基化合物。由于硼酸能够和含有同侧羟基的化合物发生立体选择性反应^[37],曾有人^[38]利用对甲苯基硼酸与五碳糖反应,测定其负离子快原子轰击质谱,给出了一些有关立体化学的信息。陈耀祖等^[39]改用苯基硼酸(PBA)为反应剂,用化学反应质谱法研究了羟基和氨基二取代苯异构体取得了较好的结果,如表 5 所示。

表 5 化合物的 NIFAB 质谱数据

化合物名称	无 PBA		有 PBA	
	$[M_0]^-$	$[2M_0-H]^-$	$[M_0]^-$	$[M_0+M_1-2H_2O-H]^-$
邻苯二酚	109(100)	219(60)	103(20)	195(10)
间苯二酚	109(100)	219(20)	109(100)	195(-)
对苯二酚	109(100)	219(20)	109(20)	195(-)
邻氨基苯酚	108(100)	217(5)	108(35)	194(100)
间氨基苯酚	108(100)	217(5)	108(90)	194(-)
对氨基苯酚	108(100)	217(-)	108(60)	194(-)
邻苯二氨	107(25)	217(-)	107(-)	193(80)*
对苯二氨	107(25)	217(-)	107(-)	193(40)*

注:括号内为相对丰度,*表示底物干扰。

从表中看到,二取代苯化合物在没有加反应剂 PBA 时,很难从中找出位置异构体的差别。然而,加入 PBA 后,邻位取代苯与反应试剂形成了环状苯基硼酸酯的负离子 $[M_0+M_1-2H_2O-H]^-$ 。而间位和对位的二取代苯都不与 PBA 作用产生特征离子,这可能是由于处于平面的间位和对位二取代基团的空间距离较大,苯环的刚性使得反应试剂难与它们作用。

对多羟基化合物,用正离子快原子轰击质谱法也得到了满意的结果,方一苇等用正丁基硼酸与单糖^[40]和糖苷^[41]反应,由于各个糖或糖苷中同侧羟基的数目和构象不同,可生成不同数目的硼酸酯衍生物,因而可得到明显不同的正离子快原子轰击质谱。

负离子质谱由于只对亲电性强的化合物有较强的响应,而大多数有机化合物的亲电性都较弱,限制了它的广泛使用。因此,将被测物转化成具有强的亲电性能,而又能得到具有特征离子的质谱图的衍生物是推广此技术的关键。现已证明,一些含氟衍生物,特别是五氟苯甲酰衍生物^[42]能较好地满足这一要求,但还未见于异构体分析。另外,通过氧化反应提高分子共轭程度以提高响应,如使皮质甾类氧化成具有高共轭体系的 1,4-雄甾二烯-3,11,17-三酮等^[43],也是一个较好的方法,用此法可以区分部分生物样品,如地塞米松和倍它米松等^[43]。

衍生化法的最大缺点是样品流失和耗时,利用源内衍生化可克服这些缺点。Kassel等^[44]用 CCl_4 等含氯化合物对离子源预处理,明显提高了负离子质谱的性能,把它用于异构体分析具有远大发展前景。

参 考 文 献

- [1] M. V. Buchanan, 33rd Ann. Conf. Mass Spectrom. & Allied Topics, San Diego (1985), P83
- [2] S. A. Brotherton et al., Anal. Chim. Acta., 186, 101 (1986)
- [3] 苏克曼等, 质谱学报, 7(1), 19(1986)
- [4] Yoshiko Niki et al., Org. Mass Spectrom. 22, 157(1987)
- [5] L. J. Sears, J. A. Campbell et al., 33rd Ann. Conf. Mass Spectrom. & Allied Topics, San Diego (1985), P89
- [6] R. C. Dougherty, ibid., P85
- [7] J. R. Hass et al., Anal. Chem., 50, 1474(1978)
- [8] T. M. Trainor et al., ibid., 59, 601(1987)
- [9] 柳庸行, 质谱学报, 7(1), 10(1986)
- [10] R. C. Dougherty, Anal. Chem., 53, 625A(1981)
- [11] J. R. Chapman, Practical Organic Mass Spectrom., John Wiley & Sons (1985), Chichester, New York, Brisbane, Toronto, P80
- [12] D. F. Hunt et al., Anal. Chem., 48, 2098(1976)
- [13] J. H. Bowie, Mass Spectrom., Vol. 3, P288, Chem. Society (1975), London
- [14] K. R. Jennings, Mass Spectrom., Vol. 4, P203, Chem. Society (1977), London
- [15] H. Budzikiewicz, Angew. Chem. Int. ed. Engl. 20, 624(1981)
- [16] H. Budzikiewicz, Mass Spectrom. Rev., 5, 345(1986)
- [17] B. K. Janousek et al., Gas Phase Ion Chemistry, Vol. 2, P53, Academic Press (1979), New York
- [18] A. P. Bruins, Anal. Chem., 52, 605(1980)
- [19] D. F. Hunt, C. N. McEwen et al., Anal. Chem., 47, 1730(1975)
- [20] R. K. Mitchum, W. A. Korfmacher et al., Org. Mass Spectrom., 19, 63(1984)
- [21] W. A. Korfmacher et al., ibid., 19, 299(1984)
- [22] M. V. Buchanan et al., ibid., 19, 484(1984)
- [23] M. V. Buchanan et al., Fuel, 66(7), 954(1987)
- [24] Y. Iida & S. Daishima, Chem. Lett., 273(1983)
- [25] J. R. Hass et al., Org. Mass Spectrom., 14, 9(1979)
- [26] 苏克曼等, 分析化学, 14(4), 246(1986)
- [27] F. W. Crow et al., Anal. Chem., 53, 619(1981)
- [28] D. F. Hunt et al., J. Chem. Soc., Chem. Commun., 151(1975)
- [29] R. K. Mitchum et al., Anal. Chem., 52, 2278(1980)
- [30] R. K. Mitchum et al., ibid., 54, 719(1982)
- [31] M. Oehme, Anal. Chem., 53, 2290(1983)
- [32] G. Audisio et al., Org. Mass Spectrom., 19, 221(1984)
- [33] G. Audisio et al., ibid., 20, 327(1985)

- [34] M. Grassi et al. , *ibid.* , 22, 85(1987)
- [35] A. L. C. Smit et al. , *J. Am. Chem. Soc.* , 99, 6471(1977)
- [36] K. Balasanmugam et al. , *Org. Mass Spectrom.* , 23, 267(1988)
- [37] W. C. Kossa, *Chemical Derivatization in Analytical Chemistry.* , Vol. 1, P99 ~ 125, Plenum Press (1981), New York
- [38] M. E. Rose et al. , *Biomed. Mass Spectrom.* , 10, 512(1982)
- [39] 陈耀祖等, *质谱学报*, 9(2), 7(1988)
- [40] 严琳, 方一苇, *化学学报*, 46, 1001(1988)
- [41] 方一苇等, *药学报*, 23(12), 895(1988)
- [42] T. M. Trainor et al. , 33rd. Ann. Conf. Mass Spectrom. & Allied Topics. , San Diego (1985), P238
- [43] G. R. Her et al. , *Biomed. Environ. Mass Spectrom.* , 13, 57(1986)
- [44] D. B. Kassel et al. , *Anal. Chem.* , 60, 911(1988)

The Application of Negative Ion Mass Spectrometry in Isomeric Differentiation

Lin Zisen Chai Chunhua

(Center of Analysis & Measurement, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Received 11, Jan. 1989

Abstract

The negative ion mass spectrometry technique for the isomeric differentiation of the organic compounds is reviewed in three sections; the mechanisms of negative ion formation, the negative ion chemical ionization and the fast atom bombardment techniques.