

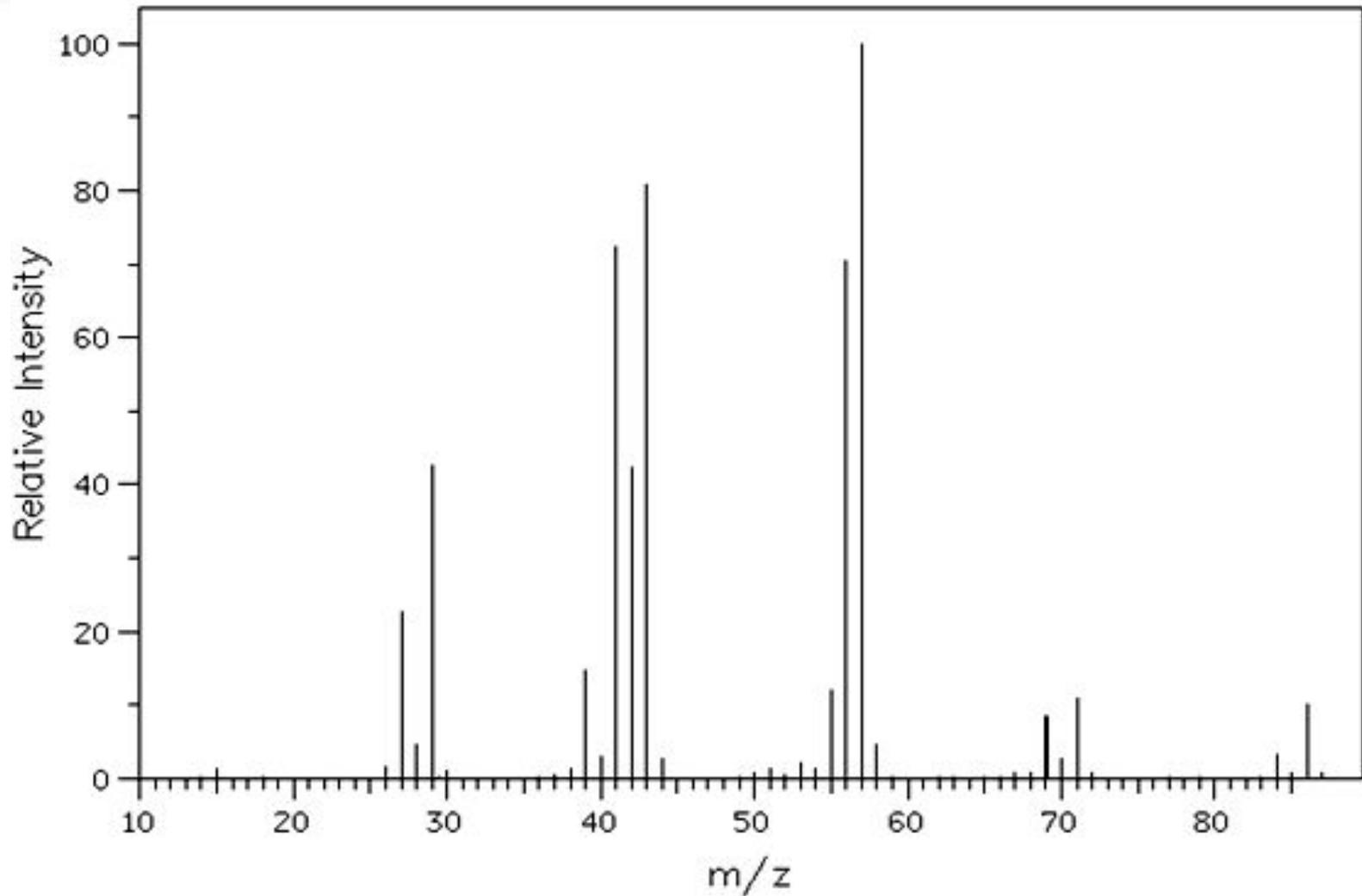
Инструментальные методы исследования органических веществ



Спектроскопические методы – Масс-спектрометрия



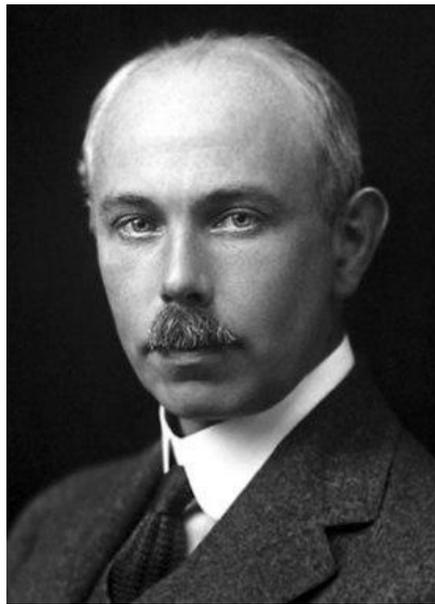
Масс-спектрометрия



Масс-спектрометрия

История масс-спектрометрии

1912 – Дж. Дж. Томсон создаёт первый масс-спектрограф и получает масс-спектры молекул кислорода, азота, угарного газа, углекислого газа и фосгена.



Фрэнсис Уильям Астон
(Francis William Aston)

1919 – Ф. Астон, строит свой первый масс-спектрограф и начинает исследования **изотопов**. Прибор имел разрешающую способность около **130**. В **1922** году он получил Нобелевскую премию по химии за свои исследования в области масс-спектрометрии. В **1923** году он измеряет с помощью масс-спектрометра **дефект массы**.



Джозеф Джон Томсон
(Joseph John Thomson)

Масс-спектрометрия



История масс-спектрометрии

1932 – К. Бейнбридж строит масс-спектрометр с разрешающей способностью **600** и чувствительностью **1/10000**.

1936 – А. Демпстер, К. Бэйнбридж и Й. Маттаух конструируют масс-спектрограф с **двойной фокусировкой**. Демпстер разрабатывает **искровой** источник ионизации.

1940 – А. Нир создаёт первый надёжный источник **электронного** удара, применив **ионизационную камеру**. Выделяет **уран-235**.

1948 – А. Камерон и Д. Эггерс создают первый масс-спектрометр с **времяпролётным** масс-анализатором.

1952 – В.Л. Тальрозе и А.К. Любимова впервые наблюдают сигнал метония CH_5^+ в ионном источнике электронного удара при повышенном давлении метана в ионизационной камере (позднее в **1966** году Б. Мансон и Ф. Филд применяют это открытие для аналитических целей и создадут **ионный** источник с **химической ионизацией**).

1953 – В. Пауль патентует **квадрупольный** масс-анализатор и **ионную ловушку**.

Масс-спектрометрия



История масс-спектрометрии

1972 – В.И. Каратаев и Б.А. Мамырин изобретают **времяпролётный** масс-анализатор с **фокусировкой**, значительно **улучшающий разрешение** анализатора.

1981 – М. Барбер, Р. Бордоли, Р. Седжвик и А. Тайлер создают ионизатор с **бомбардировкой быстрыми атомами (FAB)**.

1983 – К. Блакли и М. Вестал изобретают **термоспрей**.

1984 – Л.Н. Галль, а затем **Дж. Фенн** публикуют работы по методу **электроспрей**.

1987 – К. Танака, М. Карас, и Ф. Хилленкамп изобретают ионизацию **лазерной десорбцией при содействии матрицы (MALDI)**.

1999 – А.А. Макаров изобретает **электростатическую ионную ловушку «Орбитрэп»**.

2002 – **Дж. Фенн, К. Танака** – **Нобелевская премия** за новые методы масс-спектрального анализа.

Масс-спектрометрия



Масс-спектрометрия (масс-спектроскопия, масс-спектрография, масс-спектрометрический анализ) – метод исследования вещества, основанный на определении **отношения массы к заряду ионов**, образующихся при **ионизации** компонентов пробы.

Масс-спектрометрия основана на **разрушении** органической молекулы в результате **ионизации** тем или иным способом.

Масс-спектрометрия – это «**взвешивание**» молекул, находящихся в пробе.

Точное определение **массы** анализируемой молекулы позволяет определить её **элементный состав**.

Масс-спектрометрия



Применение масс-спектрометрии в органической химии

- **Определение изотопного состава элементов**
- **Точное измерение атомных масс**
- **Количественный молекулярный анализ**
- **Молекулярный структурный спектральный анализ**
- **Элементный анализ состава вещества**
- **Химический анализ смесей органических веществ**



Применение масс-спектрометрии в органической химии



- высокая абсолютная чувствительность метода масс-спектрометрии позволяет использовать его для анализа очень **небольшого количества вещества** ($\sim 10^{-12}$ г)



- метод является **разрушающим**, т. е. исследуется не само вещество, а продукты его превращения

Масс-спектрометрия

Ионизация – эндотермический процесс образования ионов из нейтральных атомов или молекул.

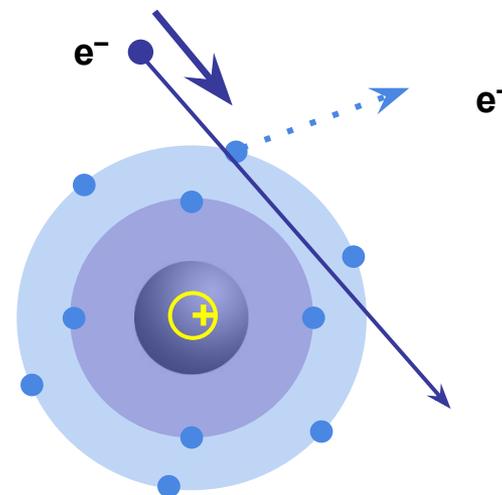
Положительно заряженный ион образуется, если электрон в молекуле получает достаточную энергию для преодоления потенциального барьера, равную ионизационному потенциалу.

Отрицательно заряженный ион, наоборот, образуется при захвате дополнительного электрона атомом с высвобождением энергии.

Элементный анализ – *качественное* обнаружение и *количественное* определение содержания элементов в составе веществ, материалов и различных объектов.

Изотопный анализ – определение изотопного состава химического элемента.

Масс-спектр – это зависимость интенсивности ионного тока (количества вещества) от отношения массы к заряду m/z (природы вещества).



Масс-спектрометрия



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

Масс-спектрометры – это **вакуумные** приборы, поскольку ионы очень **нестабильны** в присутствии посторонних молекул.

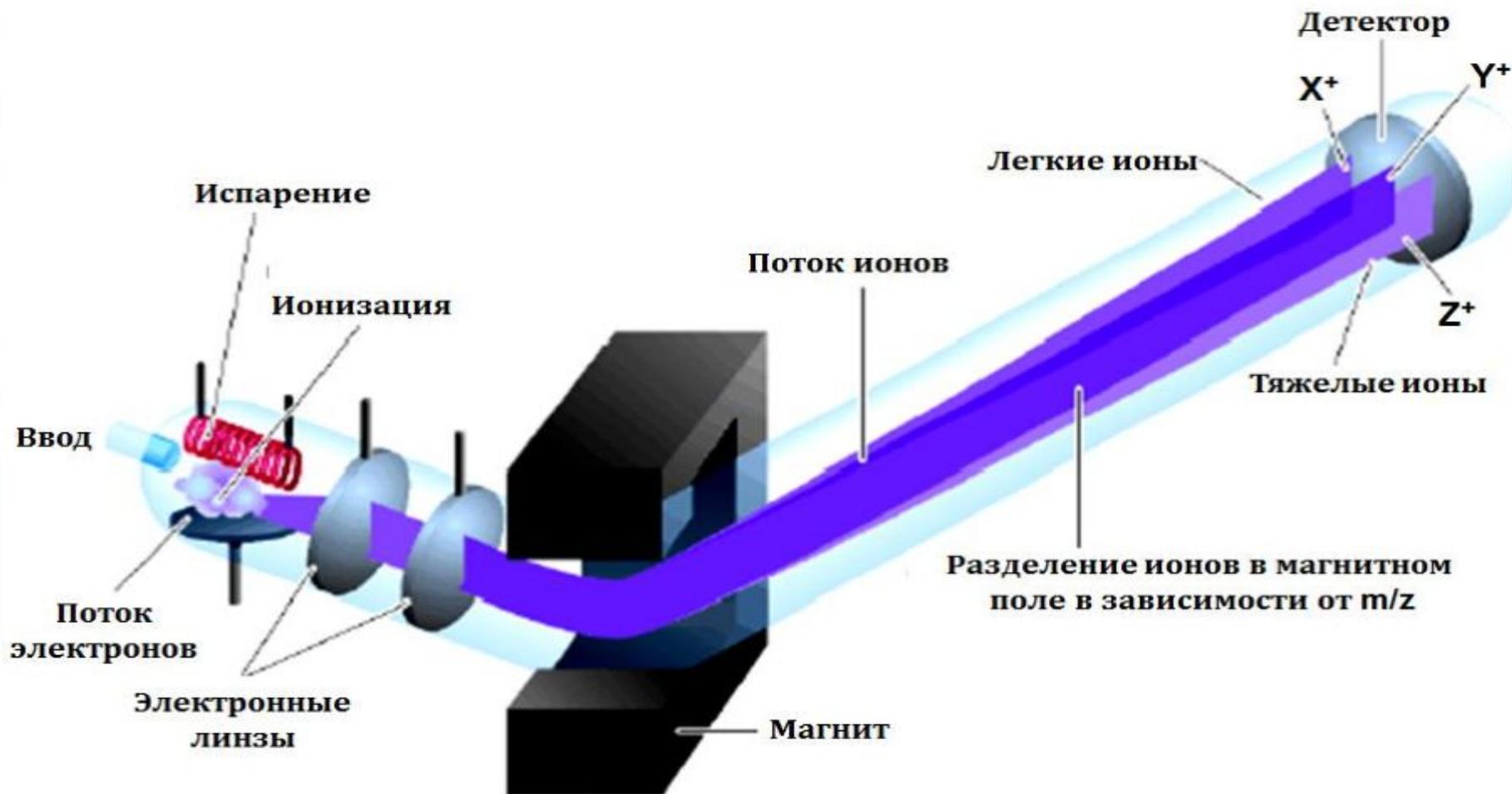
Общая блок-схема масс-спектрометра



Современные масс-спектрометры укомплектованы специализированным ПО: компьютеры контролируют **накопление, хранение и визуализацию** данных.

Масс-спектрометрия

Принцип метода



Масс-спектрометрия



Способы ионизации

Газовая фаза

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

Жидкая фаза

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

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)

Масс-спектрометрия

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 Анализ органических соединений
Химическая ионизация	Анализ органических соединений
Электроспрей (электрораспыление)	Анализ крупных молекул
Лазерное излучение	
Бомбардировка пучком ионов	

Масс-спектрометрия



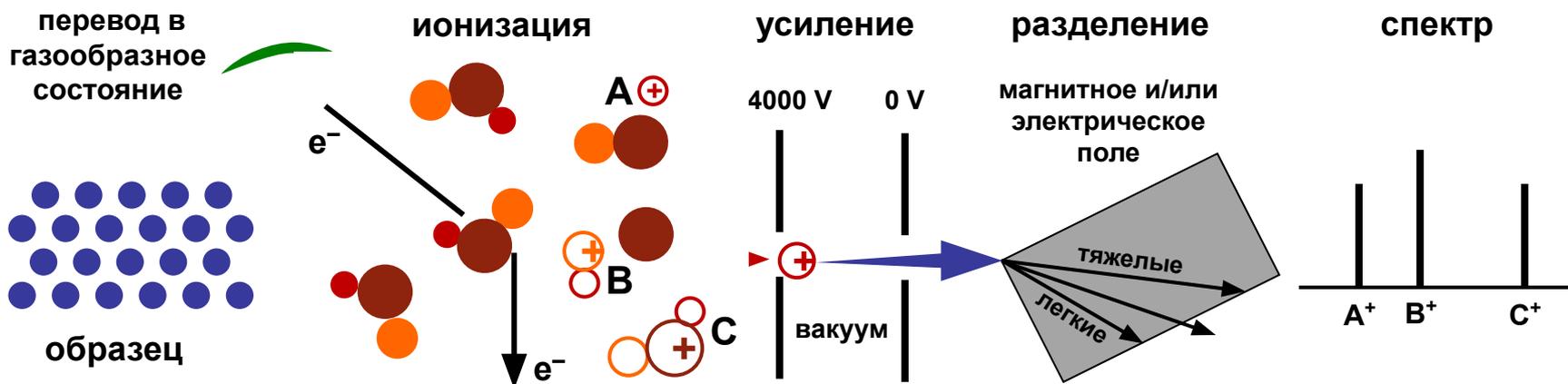
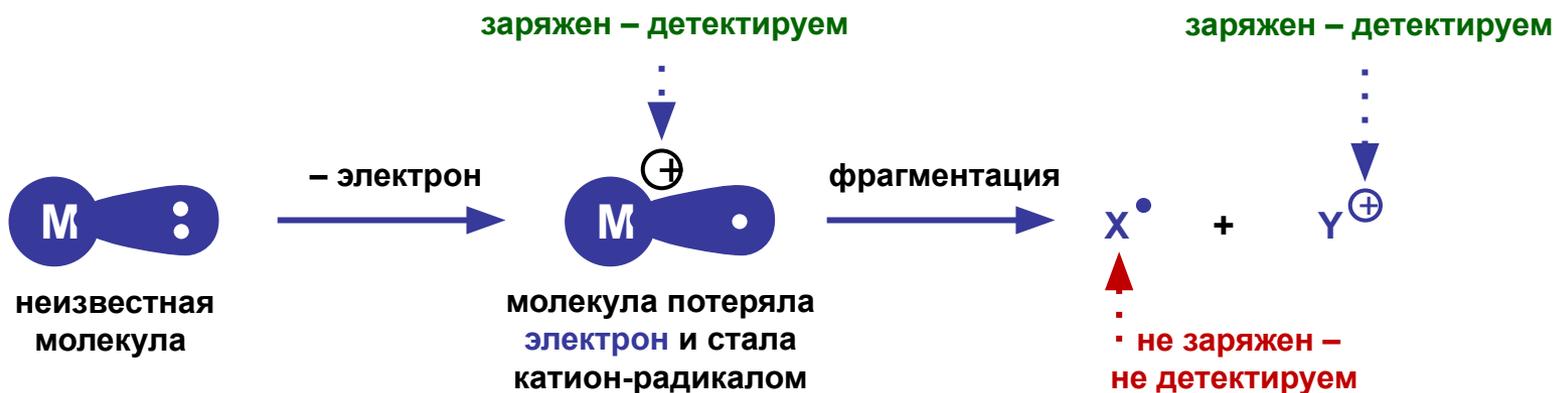
Электронный удар

Метод ЭУ широко применяется для ионизации органических соединений.

- Пары образца бомбардируют **ускоренными электронами с высокой энергией (потенциал ионизации вещества)**
- При столкновении **электронов** с органической молекулой может образоваться **катион-радикал: $M + e \rightarrow [M^{+\cdot}] + 2e$ (молекулярный ион)**
- Молекула может **захватить электрон** и тогда образуется отрицательный **анион-радикал: $M + e \rightarrow M^{\cdot-}$**
- Затем происходит его распад и образование дочерних ионов с меньшими массами (**фрагментация**)
- При исследовании органических соединений чаще используется масс-спектрометрия **положительных ионов**, хотя масс-спектрометрия **отрицательных ионов** также может дать полезную информацию.

Масс-спектрометрия

Ионизация с использованием электронного удара

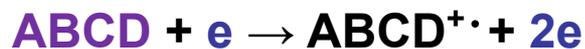


Масс-спектрометрия

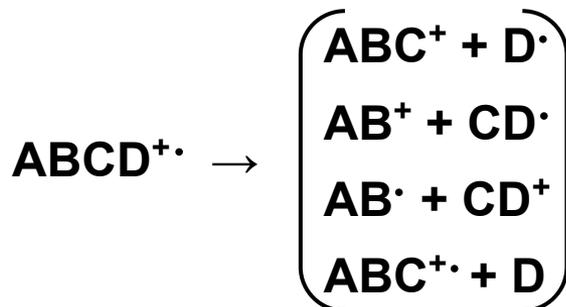


Ионизация с использованием электронного удара

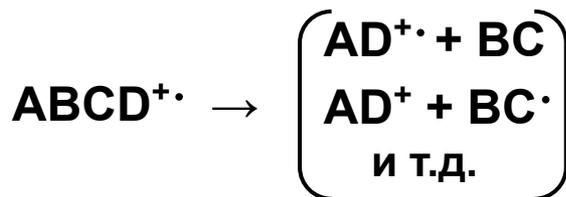
При столкновении **электронов** с органической **молекулой** вначале образуется **катион-радикал**:



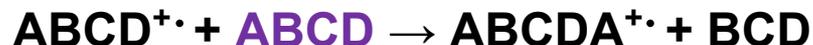
С **увеличением** энергии **электронов** происходит его **распад, фрагментация**:



Одновременно происходят **внутримолекулярные перегруппировки**:



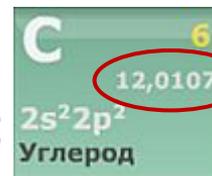
Возможны также **ионно-молекулярные столкновения** (при высоких концентрациях вещества):



Масс-спектрометрия

Масс-спектр с ионизацией молекул электронным ударом

Структурный анализ методом масс-спектрометрии заключается в идентификации осколочных ионов и ретроспективном восстановлении структуры исходной молекулы, исходя из направлений фрагментации молекулярного иона.

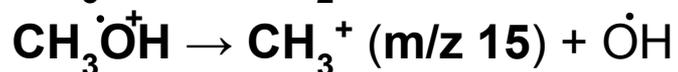
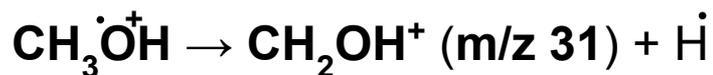


Метанол образует молекулярный ион по схеме:



Одна точка — оставшийся нечетный электрон; когда заряд локализован на отдельном атоме, знак заряда указывается на этом атоме.

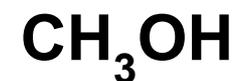
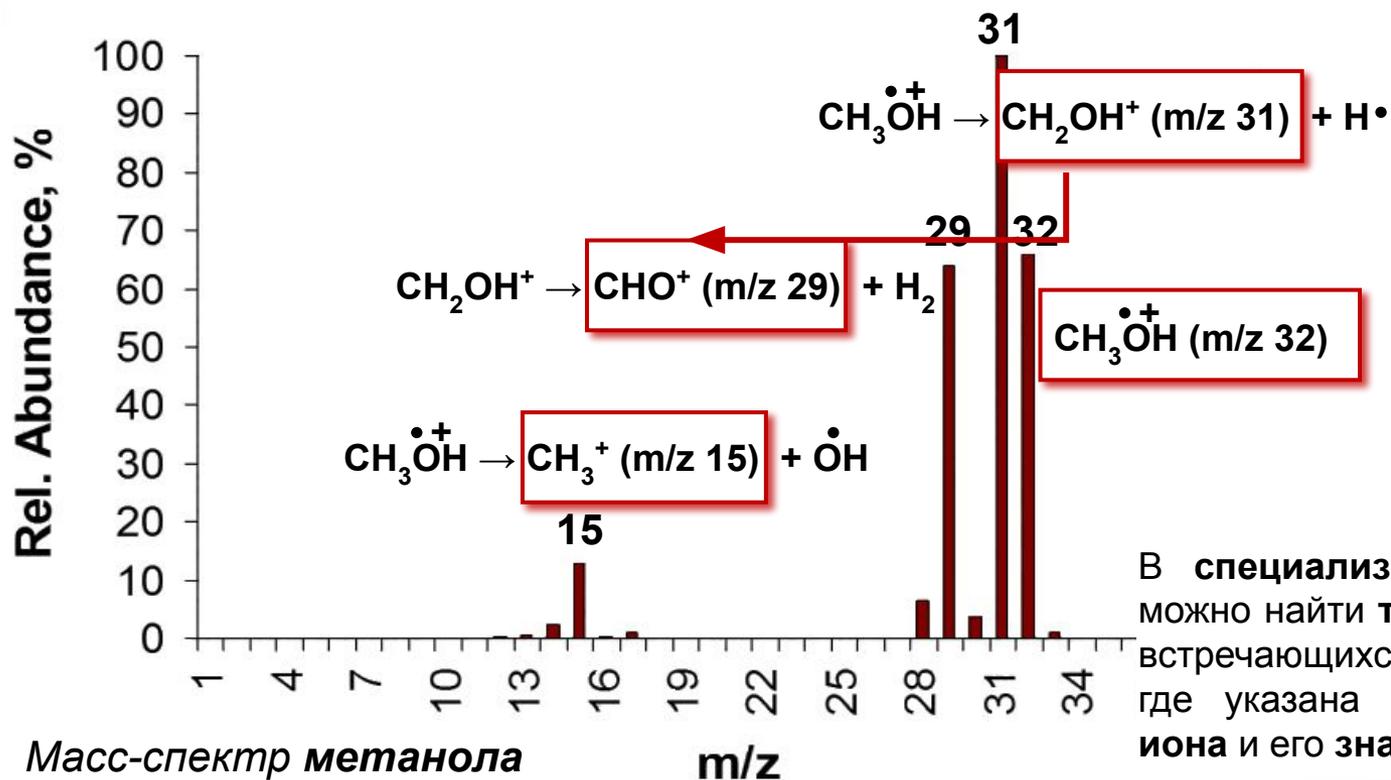
Фрагментация:



Поскольку заряд исходного иона равен единице, отношение m/z для пика молекулярного иона дает молекулярную массу исследуемого вещества.

Масс-спектрометрия

Масс-спектр – это представление относительных **концентраций** положительно заряженных осколков (включая **молекулярный ион**) в зависимости от их **масс**.



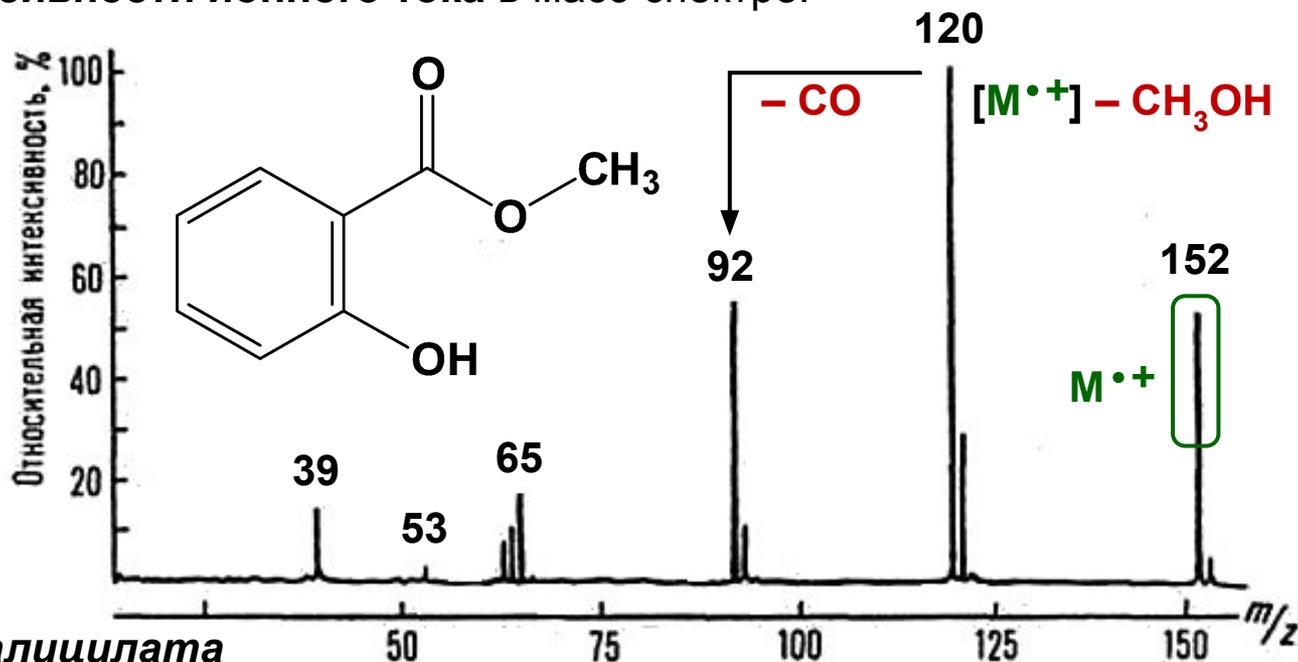
В специализированной литературе можно найти **таблицы** наиболее часто встречающихся **фрагментных ионов**, где указана **структурная формула** иона и его значение m/z .

Масс-спектрометрия

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.

$[C_8H_8O_3]^{\bullet+}$ (m/z 152)



Масс-спектрометрия



Масс-спектр с ионизацией молекул электронным ударом

Высота наиболее интенсивного пика в спектре принимается за 100%, а интенсивности других пиков, включая пик молекулярного иона, выражаются в процентах от максимального пика.

В определенных случаях самым интенсивным может быть и пик молекулярного иона.

В общем случае: *интенсивность пиков зависит от устойчивости образующихся ионов.*

В масс-спектрах часто присутствует серия пиков фрагментных ионов, различающихся на гомологическую разность (CH_2), т.е. на 14 а.е.м.

Гомологические серии ионов характерны для каждого класса органических веществ, а потому они несут важную информацию о структуре исследуемого вещества.

Масс-спектрометрия



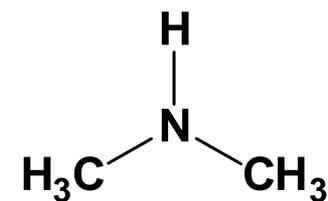
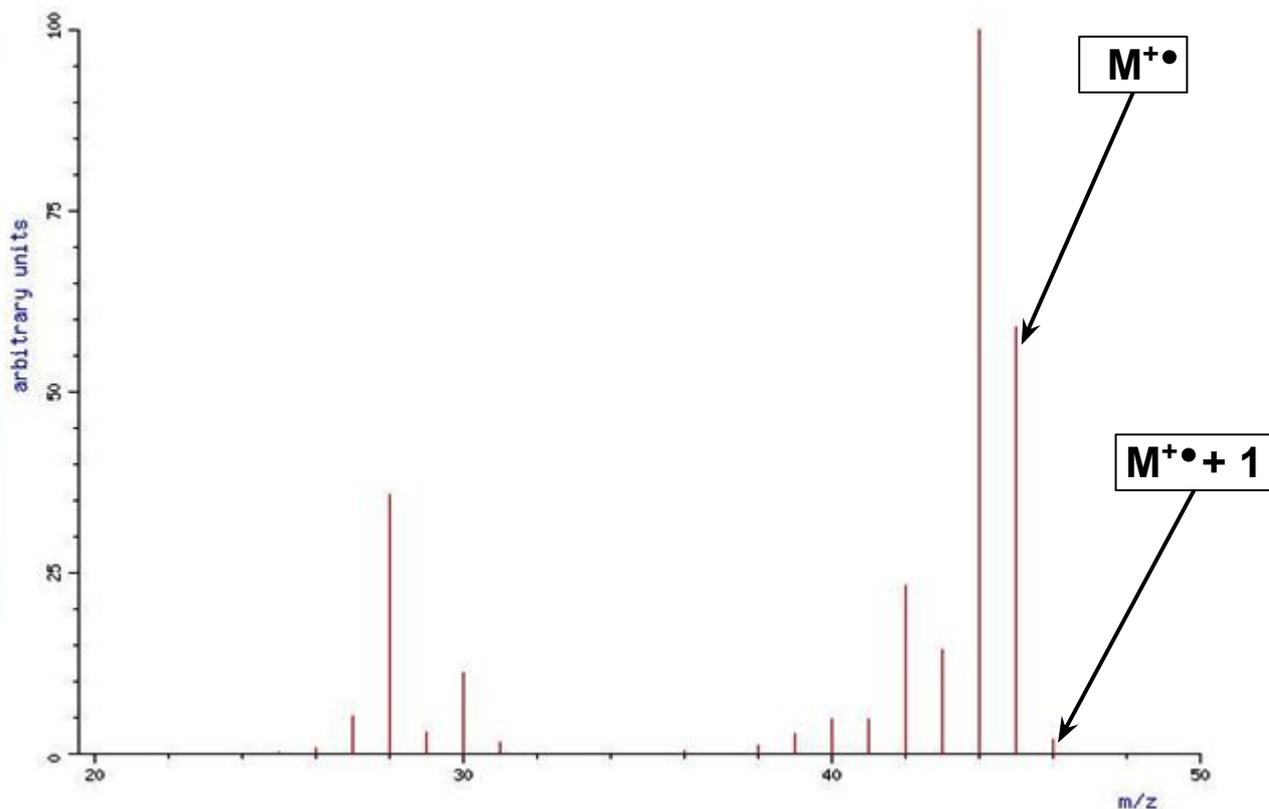
Гомологические серии ионов некоторых классов органических соединений

Класс соединения	Формула	m/z
Алканы	$C_n H_{2n+1}^+$	15, 29, 43, 57, 71, 85...
Алкены, нафтены	$C_n H_{2n-1}^+$	27, 41, 55, 69, 83...
Алкины, диены	$C_n H_{2n-3}^+$	25, 39, 53, 67, 81...
Спирты, простые эфиры	$C_n H_{2n+1} O^+$	31, 45, 59, 73, 87...
Альдегиды, кетоны	$C_n H_{2n-1} O^+$	29, 43, 57, 71, 85...
Кислоты, сложные эфиры	$C_n H_{2n-1} O_2^+$	45, 59, 73, 87, 101...
Амины	$C_n H_{2n+2} N^+$	30, 44, 58, 72, 86, 100...
Нитрилы	$C_n H_{2n-2} N^+$	40, 54, 68, 82, 96...
Алкилбензолы		38, 39, 50-52, 63-65, 75-78, 91, 105, 119...

Масс-спектрометрия



В масс-спектре любого органического соединения могут появляться пики с массами $M+1$ и $M+2$, что связано, с изотопным составом элементов, входящих в органическое соединение. Для удобства элементы называются A , $A+1$, $A+2$ в зависимости от того, какой изотоп они имеют помимо основного.



Масс-спектр
диметиламина

Масс-спектрометрия



Изотопный состав некоторых элементов

Элемент	Изотоп (естественное содержание, %)		Тип элемента
H	^1H (99.99)	^2D (0.01)	A
C	^{12}C (98.9)	^{13}C (1.1)	A+1
N	^{14}N (99.64)	^{15}N (0.36)	A+1
O	^{16}O (99.876)		^{18}O (0.04) A+2
F	^{19}F (100)		A
Si	^{28}Si (92.18)	^{29}Si (4.71)	^{30}Si (3.12) A+2*
P	^{31}P (100)		A
S	^{32}S (95.02)	^{33}S (0.75)	^{34}S (4.21) A+2*
Cl	^{35}Cl (75.40)		^{37}Cl (24.60) A+2
Br	^{79}Br (50.57)		^{81}Br (49.43) A+2
I	^{127}I (100)		A

Масс-спектрометрия



Соотношение интенсивностей пиков M , $M+1$ и $M+2$ зависит от **элементного состава**, от **числа атомов** данного элемента в молекуле и от **естественного содержания** более тяжелого изотопа этого элемента.

Для углеводородов наиболее **существенный вклад** в изотопные пики дает изотоп ^{13}C .

Например, для метана (CH_4) интенсивность пика $M+1$ составит 1.1% пика молекулярного иона.

Для углеводорода с **четырнадцатью** углеродными атомами вероятность включения изотопа ^{13}C **увеличивается**, поэтому интенсивность пика $M+1$ равна $14 \cdot 1.1 = 15.4\%$ от интенсивности пика молекулярного пика.

Для **определения числа атомов** углерода (C_x) в молекуле по масс-спектру необходимо **разделить** интенсивность пика $M+1$ в процентах от интенсивности пика M на 1.1.

Пример: в спектре наблюдается **молекулярный ион**, интенсивность пика M – 66.5%, интенсивность пика $M+1$ – 2.29%. Находим интенсивность пика $M+1$ по отношению к M в процентах:

$$66.5 - 100 \%$$

$$2.29 - x \%$$

$$x = 3.44 \%$$

Максимальное **число атомов** углерода: $3.44/1.1 = 3$.

Масс-спектрометрия



Вклад изотопа углерода в интенсивность пиков изотопных ионов.

Интенсивность основного пика (M) принята 100%

Число атомов углерода в молекуле	(M+1)
1	1.1
2	2.2
3	3.3
4	4.4
5	5.5
6	6.6
7	7.7
8	8.8
9	9.9
10	11.0
11	12.1
12	13.2
13	14.3
14	15.4
15	16.5

Масс-спектрометрия



Вклад изотопов некоторых элементов в величину пика (M+1) и (M+2)

Элемент	Вклад в (M+1), %	Вклад в (M+2), %
N	0.37	–
O	0.04	0.2
F	–	–
Si	5.1	3.4
P	–	–
S	0.8	4.4
Cl	–	32.5
Br	–	98.0

Масс-спектрометрия



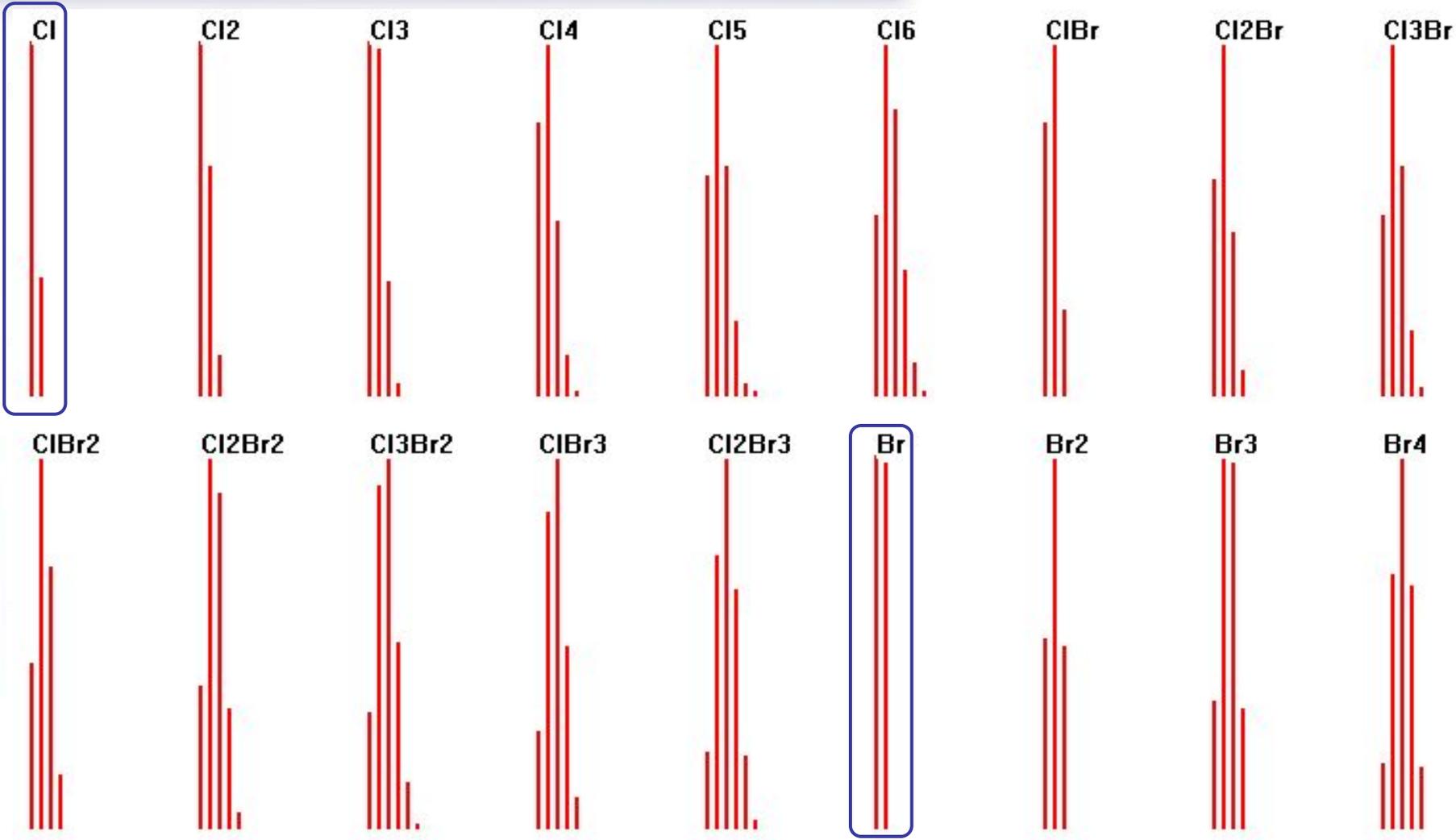
Существует правило: «Если интенсивность пика $M+2$ составляет менее 3% от интенсивности пика M , соединение **не содержит атомов хлора, брома, серы и кремния**».

Хлор, бром, сера и кремний **хорошо идентифицируются** масс-спектрометрией, благодаря характерной для каждого элемента «мультиплетности» сигнала.

Важно помнить, масс-спектры, полученные на приборе **низкого** разрешения, далеко не всегда позволяют адекватно оценить мультиплетность сигнала.

Надежная **интерпретация** мультиплетности сигнала возможна только при получении масс-спектра на приборе **высокого** разрешения.

Масс-спектрометрия



Масс-спектрометрия



Интерпретация масс-спектров с ионизацией молекул электронным ударом

Интерпретация масс-спектра включает в себя идентификацию **молекулярного иона**, **фрагментных ионов** и написание **схемы фрагментации**.

Общей методики обучения расшифровки масс-спектров **не существует**.

Поэтому формулируем, **основные этапы** решения задачи интерпретации данных масс-спектрометрии.

Масс-спектрометрия



Основные этапы интерпретации данных масс-спектрометрии

1. Обязательно необходимо иметь **справочную литературу**, где описаны основные **закономерности фрагментации** классов органических веществ, охарактеризованы наиболее часто встречающиеся **фрагментные ионы** (структурная формула, значение m/z).
2. Необходимо иметь **максимально полную информацию об исследуемом образце**:
 - схема реакции, в результате которой получено соединение;
 - условия реакции (реагенты, растворитель);
 - исходные продукты, побочные продукты;
 - метод выделения и очистки (реагенты, растворитель);
 - результаты исследования данного соединения другими методами (ЯМР-спектроскопия, ИК-спектроскопия).
3. Желательно знать **параметры съемки масс-спектра** (марка масс-спектрометра, тип детектора, энергия ионизирующего излучения).

Масс-спектрометрия



Основные этапы интерпретации данных масс-спектрометрии

4. Необходимо тщательно работать с имеющимися **базами спектральных данных** (все современные масс-спектрометры снабжены базами данных, кроме того, существуют базы данных свободного доступа в сетях **Internet**):

- желательно иметь масс-спектр **исходного продукта**;
- возможно, исследуемое вещество получали ранее и для него **известен** масс-спектр.

5. Провести **общий анализ** масс-спектра:

- определить, присутствует ли в спектре пик **молекулярного иона**;
- выделить пики в области **больших масс**;
- выделить в спектре наиболее **интенсивные пики**;
- выделить в спектре **гомологические серии**.

Далее **задача интерпретации масс-спектра** имеет несколько вариантов решения в зависимости от того, **предполагается изначально** какая-то **структура** или нет, **фиксируется** ли **молекулярный ион**, **обнаружены** ли «узнаваемые» **фрагментные ионы** или **кластеры гомологических серий**.

Масс-спектрометрия



Анализ масс-спектра

1. *Определение молярной массы*

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

2. *Определение брутто-формулы*

Используют соотношение интенсивностей пиков **изотопов** элементов.

3. **Определение структуры органических соединений**

Основано на изучении пиков «**осколочных**» ионов.

Масс-спектр может состоять из нескольких типов ионов:

- Молекулярный ион
- Фрагментные ионы
- Перегруппировочные ионы
- Многозарядные ионы
- Метастабильные ионы

Масс-спектрометрия



Идентификация пика молекулярного иона

Идентификация молекулярного иона в спектрах с ионизацией **электронным ударом** часто бывает **проблематичной**: пик может оказаться **мало интенсивным** или **отсутствовать**.

Как определить, является ли данный ион молекулярным или фрагментным?

Если есть возможность, то следует снять спектр с **химической ионизацией**:

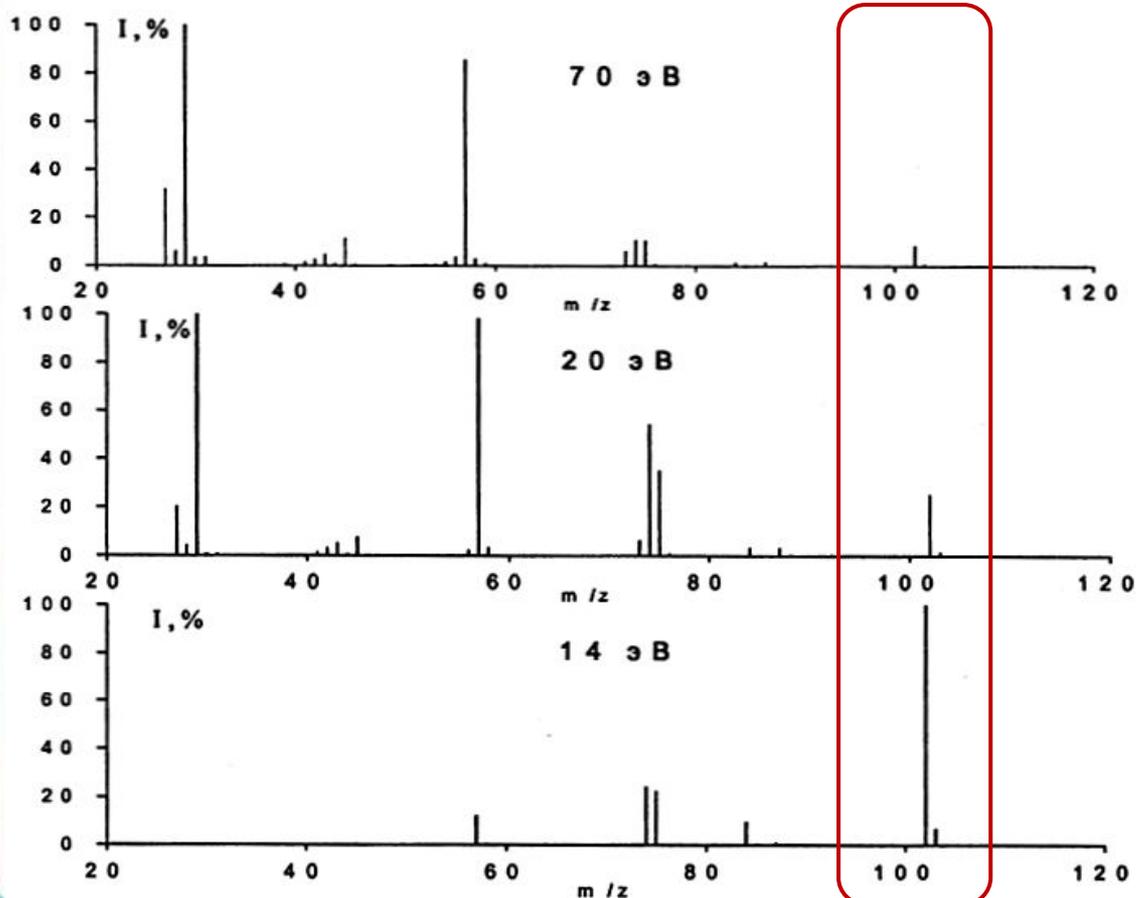
- В этом случае получается спектр с **интенсивным молекулярным ионом**, при **незначительной фрагментации**.

Интенсивность пика молекулярного иона **зависит** от величины энергии ионизации:

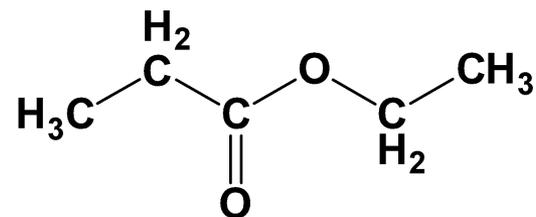
- Чем **меньше энергия** ионизации, тем **выше пик** молекулярного иона.

Масс-спектрометрия

Идентификация пика молекулярного иона



Масс-спектр ЭУ
этилпропионата
(молекулярный ион – **102**)
при разных энергиях
ионизации – 70, 20 и 14 эВ
– **чем меньше энергия
ионизации, тем выше пик
молекулярного иона.**

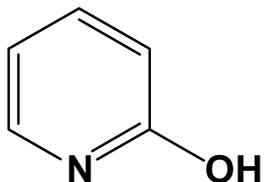


Масс-спектрометрия

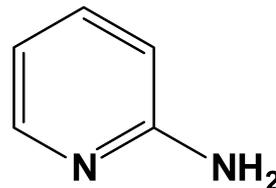
Идентификация пика молекулярного иона

Рекомендуется следовать некоторым эмпирическим правилам:

1. **Азотное правило:** «Молекула с четной молекулярной массой либо не должна содержать азот, либо число атомов азота должно быть четным».



2-гидроксипиридин,
м.м. 95.04



2-аминопиридин,
м.м. 94.05

2. Обычно молекулярный ион легко **отщепляет** молекулы CO , CO_2 , H_2O , C_2H_4 , Hal ; радикалы $\text{Alk}\cdot$, $\text{H}\cdot$, $\text{Hal}\cdot$, $\text{OH}\cdot$.

Потери из молекулярного иона от 5 до 14 или от 21 до 25 а.е.м., приводящие к возникновению **интенсивных** пиков ионов, крайне **маловероятны**.

Масс-спектрометрия



Идентификация пика молекулярного иона

3. Интенсивность пика молекулярного иона определяется его стабильностью.

Способность органических соединений давать пик молекулярного иона уменьшается в ряду:

ароматические соединения

сопряженные алкены

насыщенные циклические соединения

органические сульфиды

неразветвленные алканы с короткими цепями

тиолы



Масс-спектрометрия



Идентификация пика молекулярного иона

4. Обычно **заметные** пики **молекулярных ионов** образуют следующие соединения:

кетоны

амины

сложные эфиры

простые эфиры

*карбоновые кислоты, альдегиды, амиды,
галогенпроизводные*

Уменьшение
способности
образовывать
молекулярный
ион

5. Пик молекулярного иона часто **не обнаруживается** для:
алифатических спиртов, нитрилов, нитратов, нитросоединений,
нитритов, сильноразветвленных соединений.

Масс-спектрометрия



Идентификация пика молекулярного иона

6. Необходимые **условия**, которым должен удовлетворять **молекулярный ион**:

- Иметь самую **большую молекулярную массу** в спектре;
- Быть **нечетноэлектронным** (определение степени **ненасыщенности R**);
- Быть способным образовывать **важнейшие ионы** с большой массой за счет выброса **нейтральных** частиц;
- Включать **все элементы**, наличие которых в образце можно увидеть по **фрагментным ионам**.

Степень ненасыщенности - число **кратных связей** и **циклов** в ионе (можно рассчитать несколькими разными способами).

Масс-спектрометрия

Степень ненасыщенности

Метод расчета по формуле: $R = x - \frac{1}{2} \cdot y + \frac{1}{2} \cdot z + 0 \cdot w + 1$

где x , y , z , w – индексы в брутто-формуле иона $C_x H_y N_z O_w$.

Если ион содержит **другие** элементы, индексы x , y , w , z – это суммы атомов с одинаковой валентностью:

C и Si - (4) – x , N и P - (3) – z , O и S - (2) – w , H и Hal - (1) – y .

- Если R **целое** число, ион **нечетноэлектронный** – **может** быть **молекулярным**.
- Если R **дробная** величина, ион **четноэлектронный** – **не может** быть **молекулярным**.

Пример:



$$x = 5, y = 9+1+1 = 11, z = 3, w = 2,$$

$$\text{тогда } R = 5 - 11/2 + 3/2 + 1 = \mathbf{2}$$

$R=2$, **нечетноэлектронный** – может быть **молекулярным ионом**.



$$x = 12+1 = 13, y = 11+3 = 14, z = 1, w = 1,$$

$$\text{тогда } R = 13 - 7 + 1/2 + 1 = \mathbf{7.5}$$

$R=7.5$, **четноэлектронный** – **не может** быть **молекулярным ионом**.

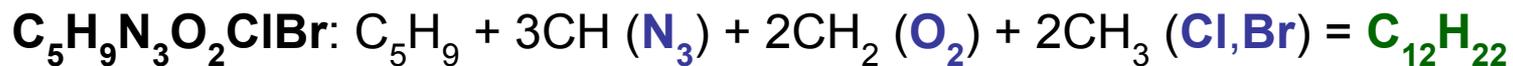
Масс-спектрометрия

Степень ненасыщенности

Метод – замена гетероатомов углеводородными фрагментами:

- все **одновалентные** элементы (за исключением водорода) заменяются группами **CH₃**, **двухвалентные** – **CH₂**, **трехвалентные** – **CH**, **четырёхвалентные** (за исключением самого углерода) – **C**;
- полученная формула сравнивается с формулой **алкана** с таким же содержанием атомов **углерода**;
- разность между числом атомов **водорода** в **алкане** и в **образце**, деленная на «**2**», дает величину **степени ненасыщенности R**.

Пример: вычислим степень ненасыщенности **иона** состава **C₅H₉N₃O₂ClBr**.



Брутто формула соответствующего алкана – **C₁₂H₂₆** (додекан).

$$R = (26 - 22) / 2 = 2$$

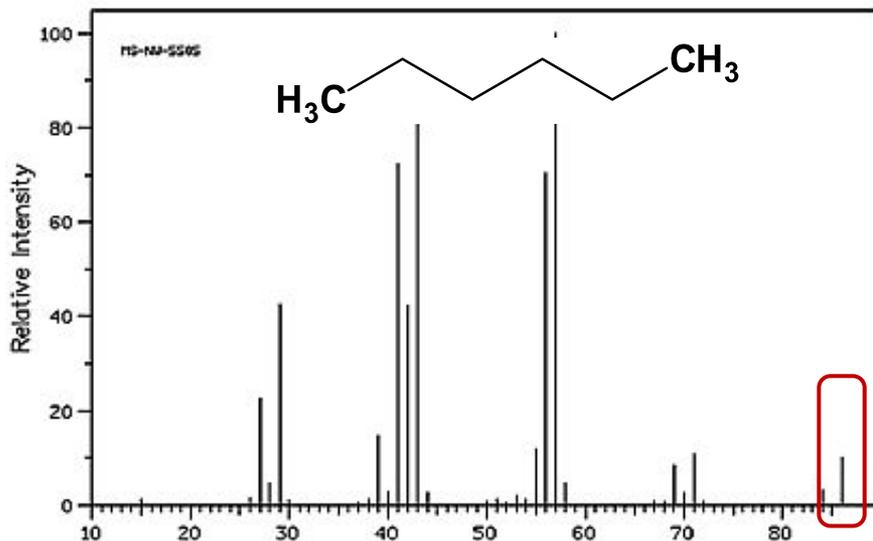
Вывод: Степень ненасыщенности = **2**, **нечетноэлектронный**, может быть **молекулярным ионом**.

Масс-спектрометрия

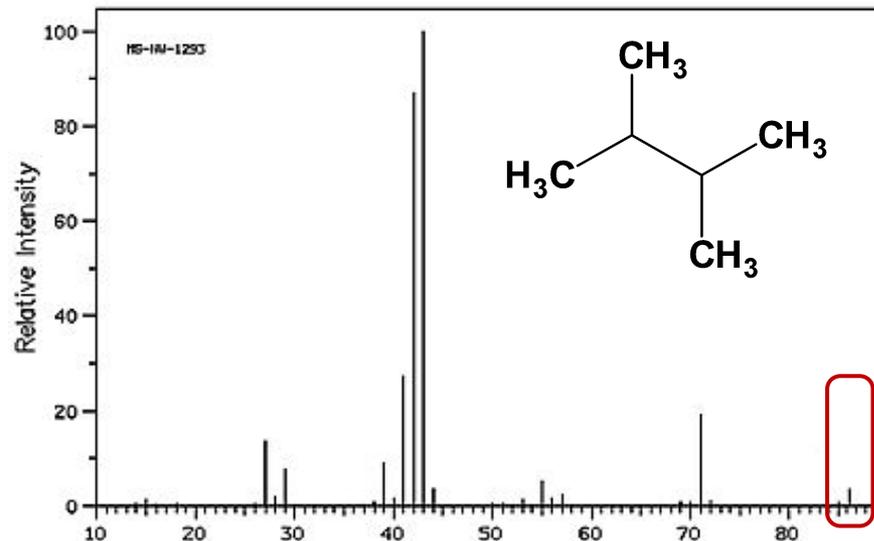
Фрагментация

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученным с использованием электронного удара:

1. Относительная интенсивность пика молекулярного иона **максимальна** для **неразветвленных** соединений и **уменьшается** по мере **увеличения разветвленности**.



Масс-спектр ЭУ гексана
(молекулярный ион 86)



Масс-спектр ЭУ 2,3-диметилбутана
(молекулярный ион 86)

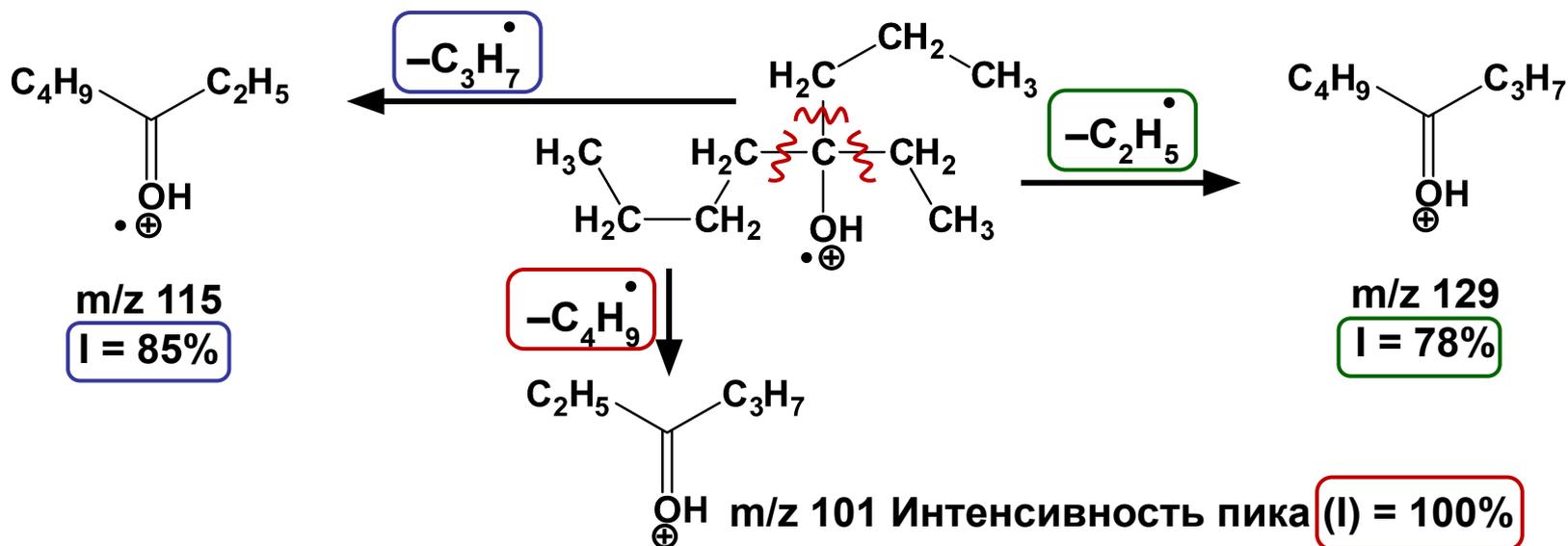
Масс-спектрометрия

Фрагментация

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученным с использованием электронного удара:

2. Разрыв связей происходит **преимущественно** по алкилзамещенным атомам углерода. Правило выброса максимального алкильного радикала:

*Интенсивность пика ионов, образующихся при выбросе максимального радикала – **наивысшая**, при выбросе минимального радикала - **низшая***

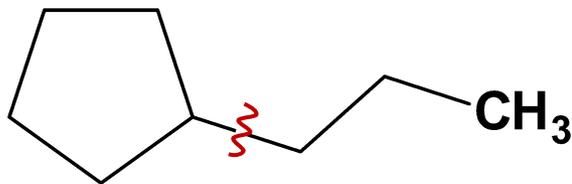
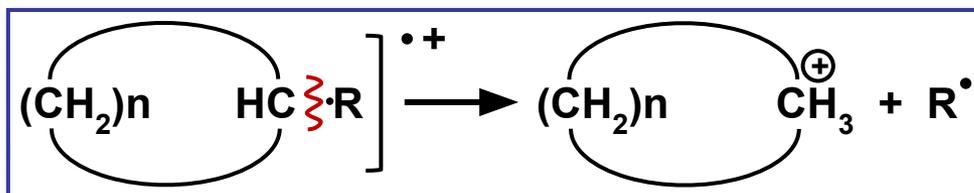


Масс-спектрометрия

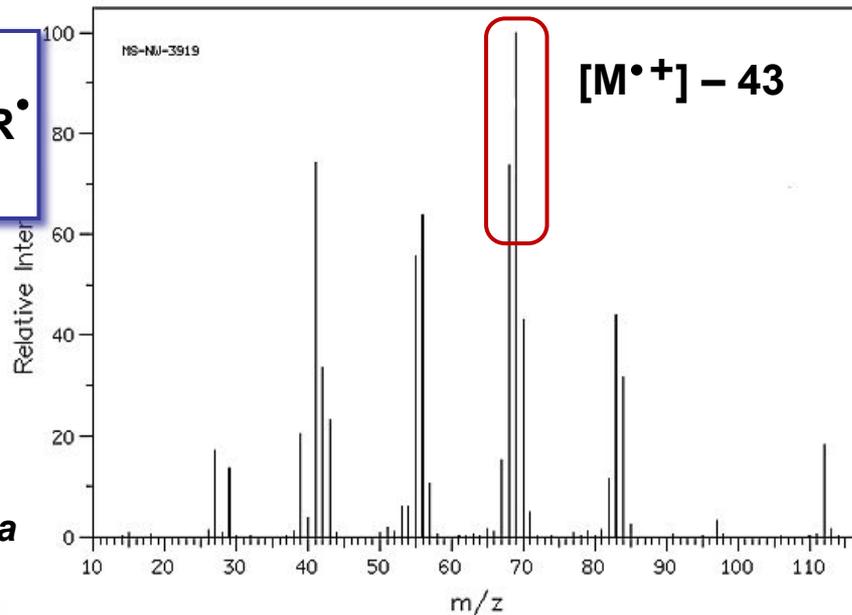
Фрагментация

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученным с использованием электронного удара:

3. Насыщенные циклы способны **терять** боковые цепи при α -связи. Положительный заряд остается на **циклическом** фрагменте.



Масс-спектр ЭУ
н-пропилциклопентана
(молекулярный ион 112)

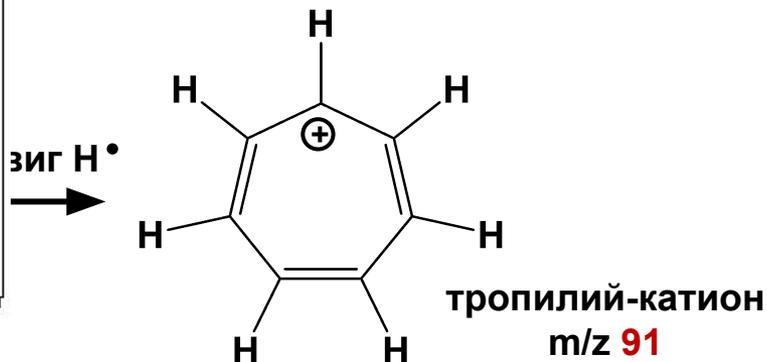
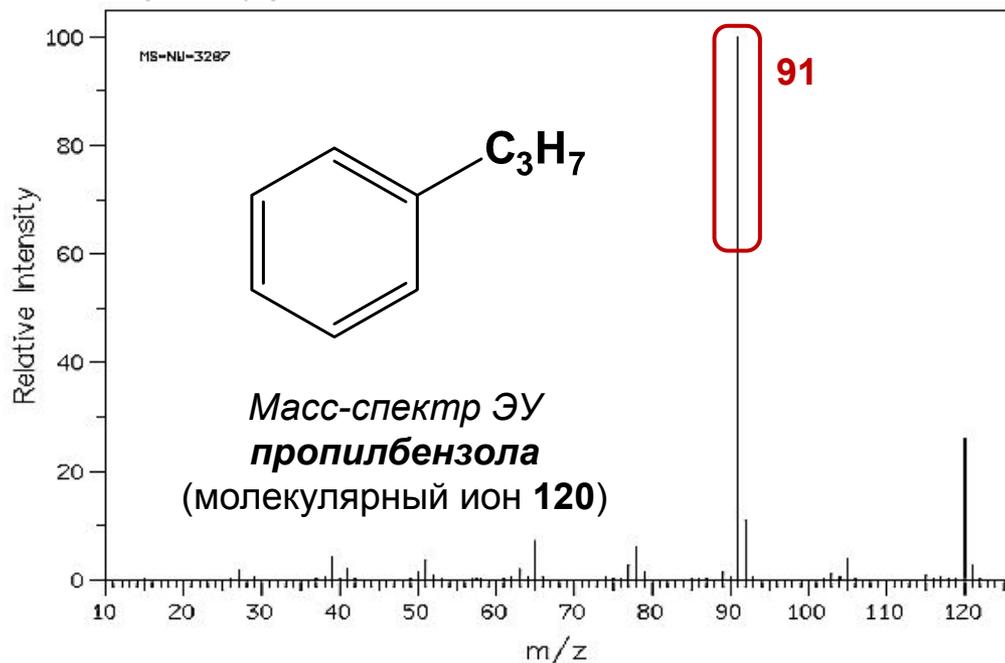


Масс-спектрометрия

Фрагментация

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученном с использованием электронного удара:

4. Распад ароматических алкилзамещенных соединений наиболее вероятен по β -связи относительно цикла. В результате получается бензильный ион,

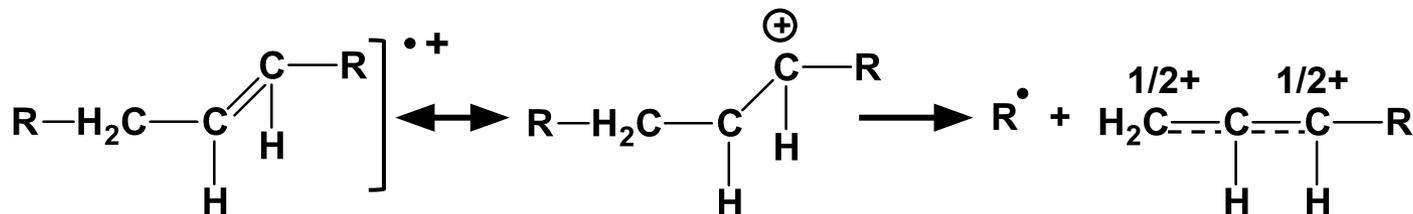


Масс-спектрометрия

Фрагментация

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученным с использованием электронного удара:

5. С **увеличением** молекулярной массы в гомологическом ряду относительная интенсивность пика молекулярного иона обычно **уменьшается**. *Исключение* – сложные эфиры жирных кислот.
6. **Двойные связи, циклические структуры** и, особенно **ароматические (гетероароматические) циклы**, **стабилизируют** молекулярный ион.
7. **Двойные связи** способствуют **аллильному распаду** с образованием **аллильного карбокатиона**.

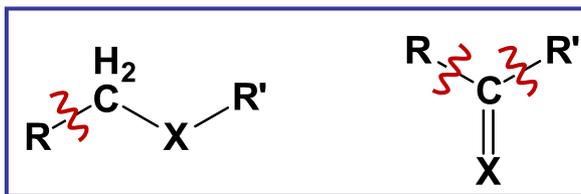


Масс-спектрометрия

Фрагментация

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученным с использованием электронного удара:

8. Следующие за гетероатомом связи C-C часто **разрываются**, оставляя заряд на содержащем гетероатом фрагменте.



9. **Распад** часто сопровождается **элиминированием** небольших устойчивых нейтральных молекул (CO, CH₂CH₂, H₂O, NH₃ и др.)

10. Необходимо помнить некоторые **специфические** ионы, характеризующиеся **интенсивными** пиками:

m/z 77 – фенил C₆H₅

m/z 30 – аминогруппа CH₂NH₂

m/z 91 – тропилий C₇H₇ (бензил)

m/z 105 – бензоил PhC=O

Масс-спектрометрия



Фрагментация

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученным с использованием электронного удара:

11. Если спектр характеризуется **большим числом фрагментов**, пики которых имеют все **большую интенсивность** при движении **вниз по шкале масс**, скорее всего это **алифатическое** соединение.
12. **Редкие интенсивные пики** характерны для **ароматических** структур.
13. Пики с массовыми числами **73, 147, 207, 281, 355** и т.д. **не относятся** к спектру исследуемого вещества, а являются следствием **выброса фрагментов**, наиболее распространенных **полидиметилсиликоновых** фаз **хроматографической колонки** в источник масс-спектрометра.

Масс-спектрометрия



Фрагментация

В **органической** масс-спектрометрии следует уделять **пристальное** внимание следующим **фрагментным ионам**:

- Наиболее **тяжелые** ионы, образующиеся из M^+ в результате выброса **простейших** частиц, т.е. **без существенной перестройки** в структуре исходной молекулы.
- **Ионы**, характеризующиеся наиболее **интенсивными** пиками в спектре.
- Характерные серии **ионов**, различающиеся на **гомологическую разность**, т.е. на **14** а.е.м.
- Ионы с характерными **изотопными** пиками.

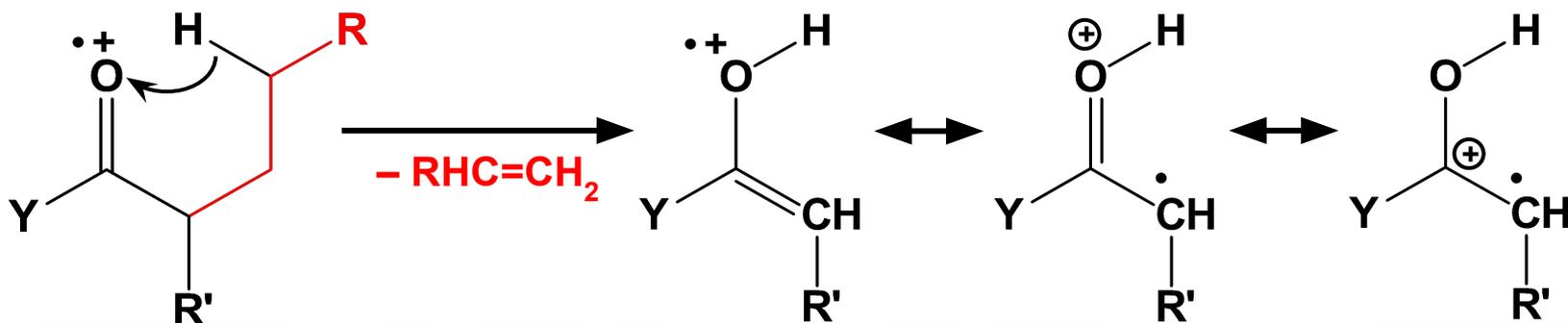
Масс-спектрометрия

Рассмотренные выше правила объясняют образование фрагментных ионов путем простого разрыва связей в молекулярном ионе.

Перегруппировки

Однако в масс-спектрах встречаются ионы, образующиеся в результате внутримолекулярной перегруппировки атомов в процессе фрагментации. Особенно широко распространены перегруппировки, включающие миграцию атомов водорода в молекулах, содержащих гетероатом.

Общая схема перегруппировки Мак-Лафферти:



Масс-спектрометрия

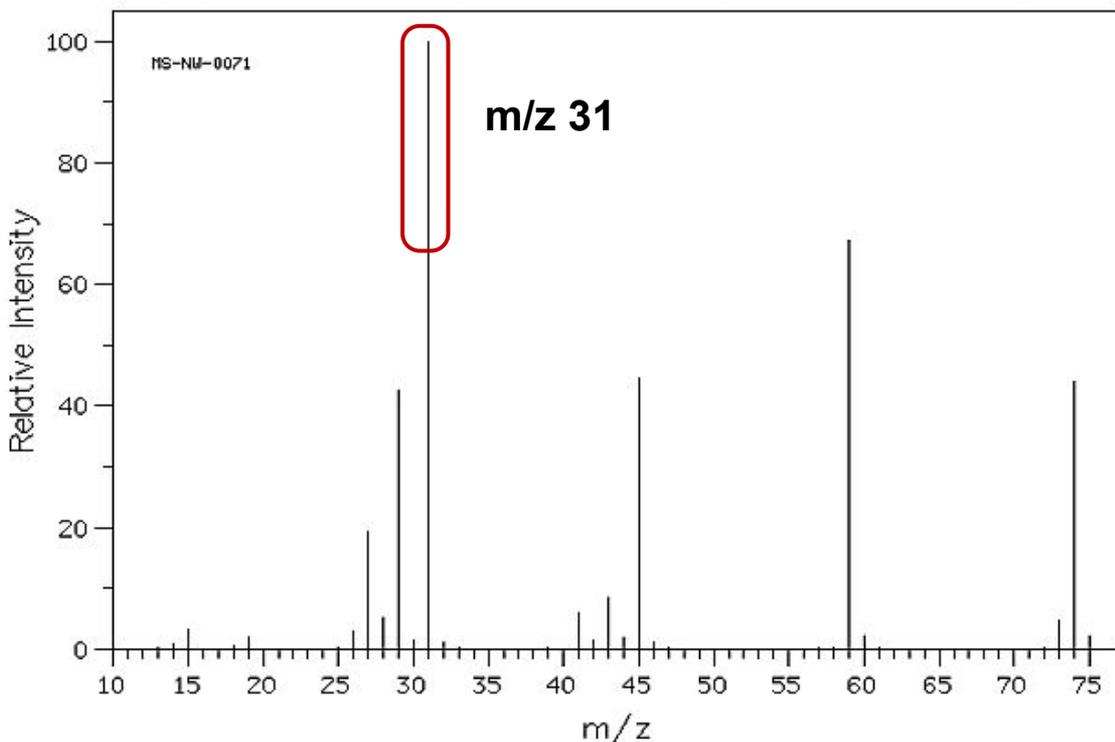
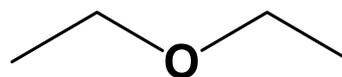


Перегруппировки

Чтобы молекула могла претерпеть перегруппировку **Мак-Лафферти**, она должна иметь подходящим образом расположенные **гетероатом** (например, **O, N** и т.п.), **π -связи** и **атом водорода** в

широко распространены

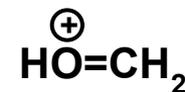
Такие перегруппировки являются характерными для спектральной карты



щеплению

дающиеся

**ЭНСИВНЫХ
ПРЕТАЦИЮ**



m/z 31

Масс-спектр с ЭУ диэтилового эфира

Масс-спектрометрия



Перегруппировки

Перегруппировка Мак-Лафферти наблюдается при **фрагментации** молекулярных ионов спиртов, кетонов, сложных эфиров, амидов, алкилгетероциклов, ароматических простых эфиров, виниловых эфиров, олефинов.

Пики перегруппировочных ионов можно **идентифицировать**, рассматривая массовые числа (m/z) **осколочных ионов** и соответствующих им молекулярных ионов.

Простой **распад** молекулярного иона с **четным** массовым числом дает **осколочный ион** с **нечетным** массовым числом.

Простой **распад** молекулярного иона с **нечетным** массовым числом дает **осколочный ион** с **четным** массовым числом.

*Пик с **четным** массовым числом, возникающий из молекулярного иона с **четным** массовым числом получается в результате **двух распадов**, которые сопровождаются **перегруппировкой**.*

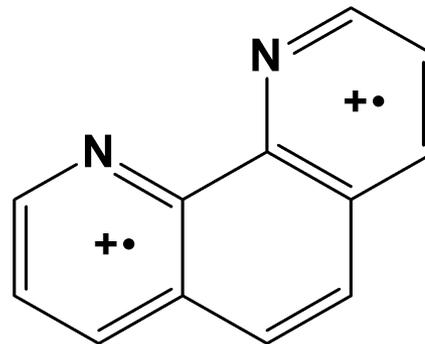
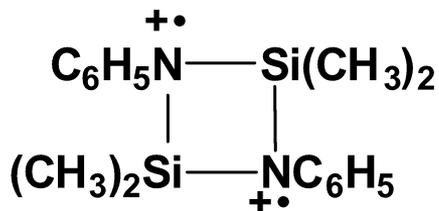
Масс-спектрометрия

Многозарядные ионы

Многозарядные ионы – ионы, имеющие заряд больший, чем **1** (2, 3 и т.д.). Соответственно, отношение **m/z** у них **кратно меньше**, чем у однозарядного иона, и возможно появление **нецелочисленных масс**.

В экспериментальных условиях вероятность получения многозарядных ионов невелика (за исключением метода электроспрей-ионизации).

Условием стабилизации многозарядного иона является **максимальное разделение зарядов**, происходящее, например, в молекулах **конденсированных ароматических соединений**.



Масс-спектрометрия



Метастабильные ионы

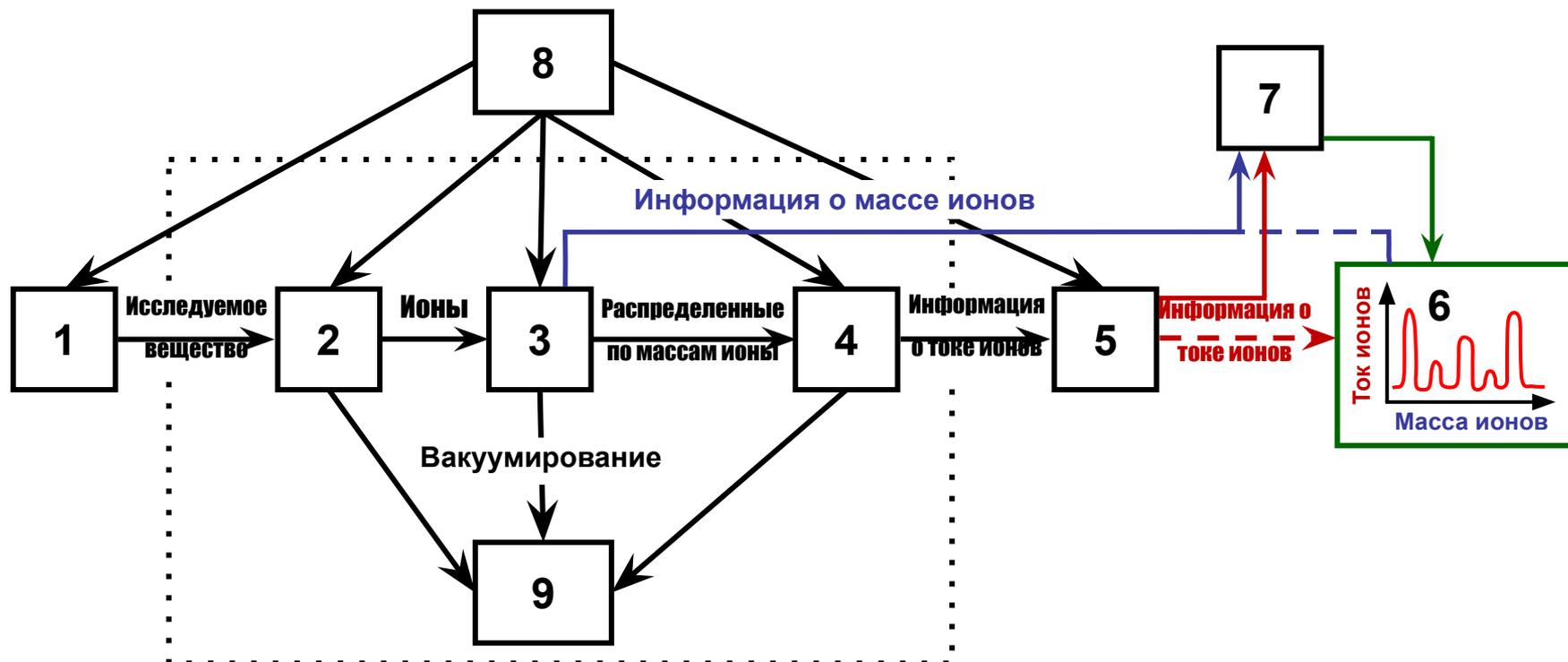
Ионы, имеющие время жизни порядка 10^{-6} - 10^{-5} секунд, далее претерпевают **распад** на ион и нейтральную частицу.

Время жизни метастабильных ионов **короче**, чем **время пролета** через **масс-анализатор**. В результате зарегистрированное детектором соотношение массы к заряду **изменяется**, что приводит к образованию **слабого уширенного (размытого) пика**, при этом максимум пика, как правило, соответствует **нецелочисленным** значениям массовых чисел.

Регистрация в масс-спектре **метастабильного иона** в ряде случаев является **полезной**, т.к. позволяет доказать протекание конкретной **реакции**, связывающей «**родительский**» и «**дочерний**» ионы.

Масс-спектрометрия

Оборудование масс-спектрометрии



Скелетная схема масс-спектрометра: **1** – система подготовки и введения исследуемого вещества; **2** – источник ионизации; **3** – масс-анализатор; **4** – приемник ионов; **5** – усилитель; **6** – регистрирующее устройство; **7** – компьютер; **8** – система электрического питания; **9** – откачные устройства.

Масс-спектрометрия



Система ввода образца

Непрямой способ – пробу вводят в ионизатор в газообразном состоянии. Жидкие и твердые пробы испаряют (~500 °С) 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 через систему шлюзовых камер.

! В этом случае потери вещества меньше, масса пробы – несколько нанограмм !

Анализируемое вещество поступает в масс-спектрометр в ходе **хроматографического разделения**.

! В настоящее время сочетание газовой и жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии в режиме on-line используют для рутинного анализа во многих областях аналитической химии !

Масс-спектрометрия



Масс-анализаторы

Второй этап масс-спектрометрического анализа – **сортировка** ионов по массам (по отношению массы к заряду m/z).

Существует более **10** типов динамических масс-анализаторов.

Типы масс-анализаторов:

непрерывные масс-анализаторы

- Магнитный и электростатический секторный масс-анализатор
- Квадрупольный масс-анализатор

импульсные масс-анализаторы

- Времяпролётный масс-анализатор
- Ионная ловушка
- Квадрупольная линейная ловушка
- Масс-анализатор ионно-циклотронного резонанса с Фурье-преобразованием
- Орбитрэп

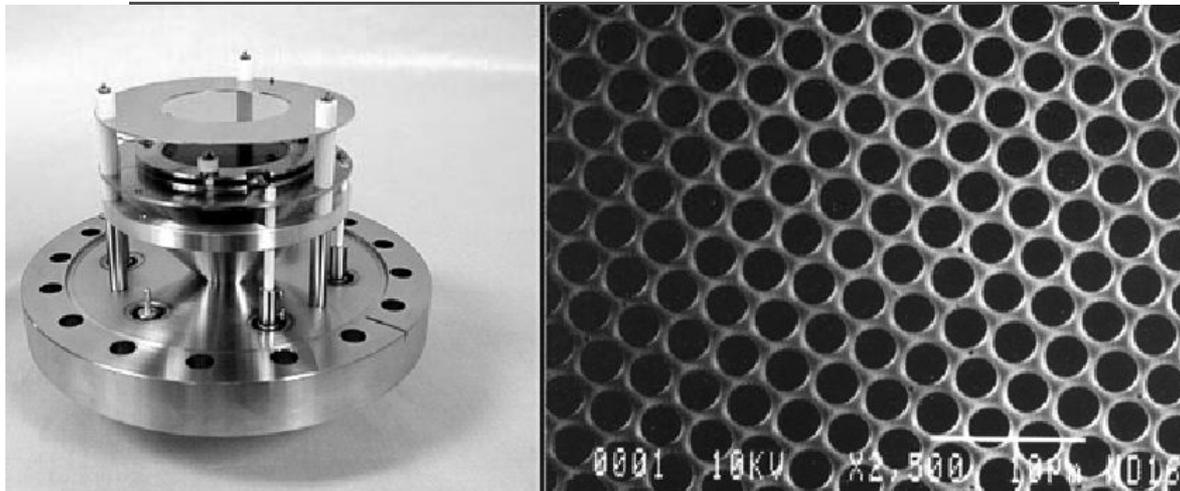
Масс-спектрометрия

Детекторы ионов

Первые масс-спектрометры использовали в качестве детектора – **фотопластинку**.

В настоящее время применяются:

- **диодные вторично-электронные умножители**
- **фотоумножители** – регистрируют свечение, возникающее при бомбардировке ионами люминофора.
- **микроканальные умножители** – системы типа диодных матриц и коллекторы, собирающие все ионы, попавшие в данную точку пространства (коллекторы Фарадея).



Масс-спектрометрия



Характеристики масс-спектрометров

Важными техническими характеристиками масс-спектрометров являются **чувствительность, динамический диапазон, разрешение, скорость сканирования.**

Важнейшие характеристики при анализе **органических соединений** – это **чувствительность и разрешение.**

Для **повышения чувствительности** прибегают к **детектированию по отдельным выбранным ионам.** Но при использовании приборов **низкого разрешения** **теряется достоверность результатов.**

Решение проблемы:

- Использовать **высокое разрешение** на приборах с **двойной фокусировкой.**
- Использовать **тандемную масс-спектрометрию.**

Масс-спектрометрия



Характеристики масс-спектрометров

Все масс-спектрометры подразделяются на **два класса**: **низкого** и **высокого** разрешения.

Спектрометры **низкого** разрешения – приборы, на которых можно разделить целые массы до m/z **3000** (соединения $C_{16}H_{26}O_2$ и $C_{15}H_{24}NO_2$ **неразличимы**).

Приборы **высокого** разрешения – массы m/z до **20000** (соединения: $C_{16}H_{26}O_2$ (**250.193**) и $C_{15}H_{24}NO_2$ (**250.181**) **различимы**).

На приборах **низкого** разрешения можно устанавливать **структурную формулу вещества**, но дополнительно необходимо привлекать данные **других методов анализа (ИК-, ЯМР-спектроскопия)**.

Приборы **высокого** разрешения могут определять **атомный состав**, т.е. определять **молекулярную формулу** исследуемого вещества.

Самым чувствительным является **органический хромато-масс-спектрометр высокого разрешения с двойной фокусировкой**.

Масс-спектрометрия



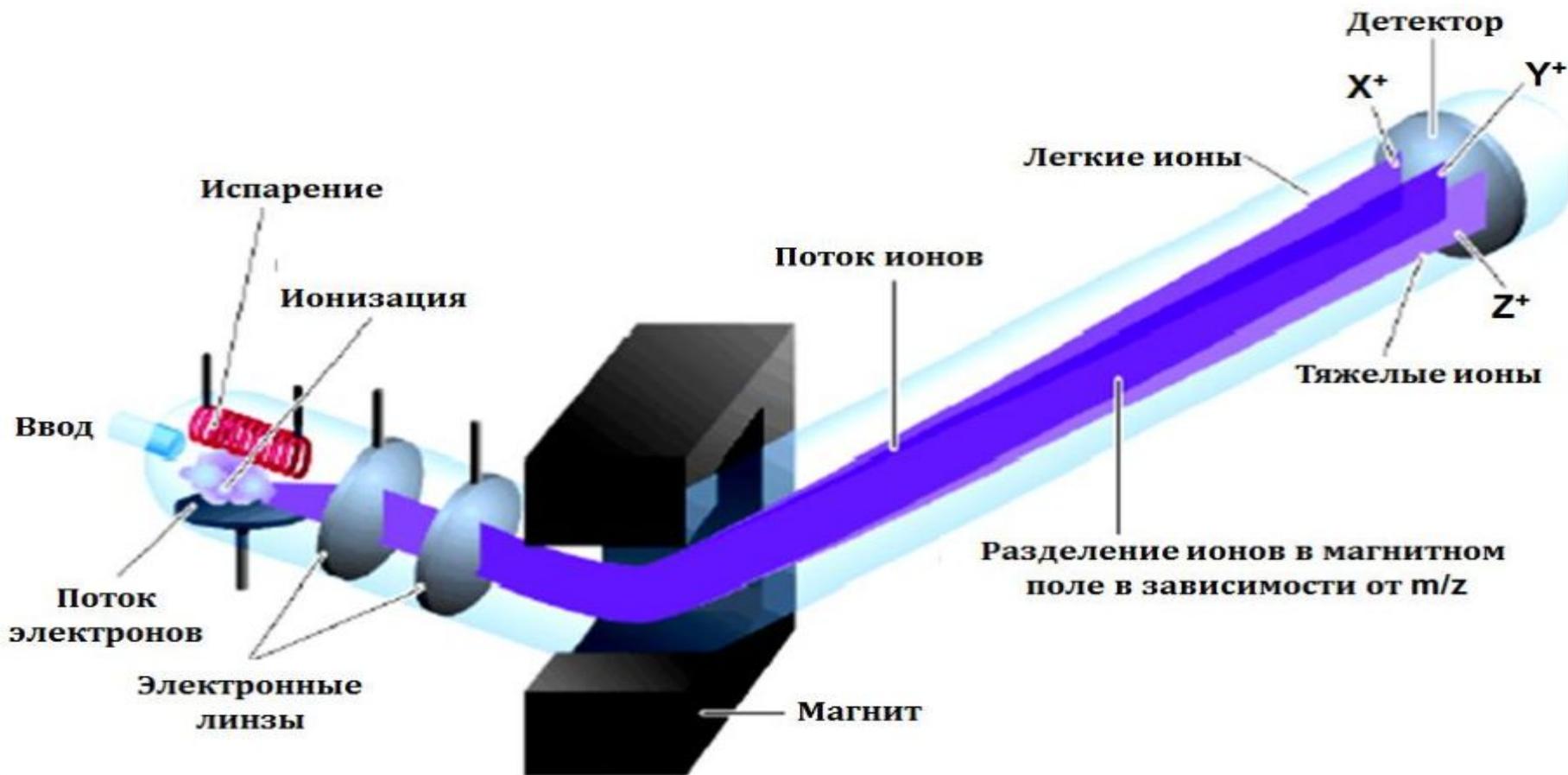
Оборудование масс-спектрометрии



Масс-спектрометр Agilent

Масс-спектрометрия

Магнитный масс-спектрометр



Масс-спектрометрия



Магнитный масс-спектрометр



Масс-спектрометрия

Времяпролетный масс-спектрометр



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

Масс-спектрометрия

Квадрупольный масс-спектрометр

Квадрупольный анализатор:

- 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 $5 \cdot 10^{-5}$ мм рт.ст.) давлении



Масс-спектрометрия

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



Масс-спектрометрия



Масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой



Масс-спектрометрия



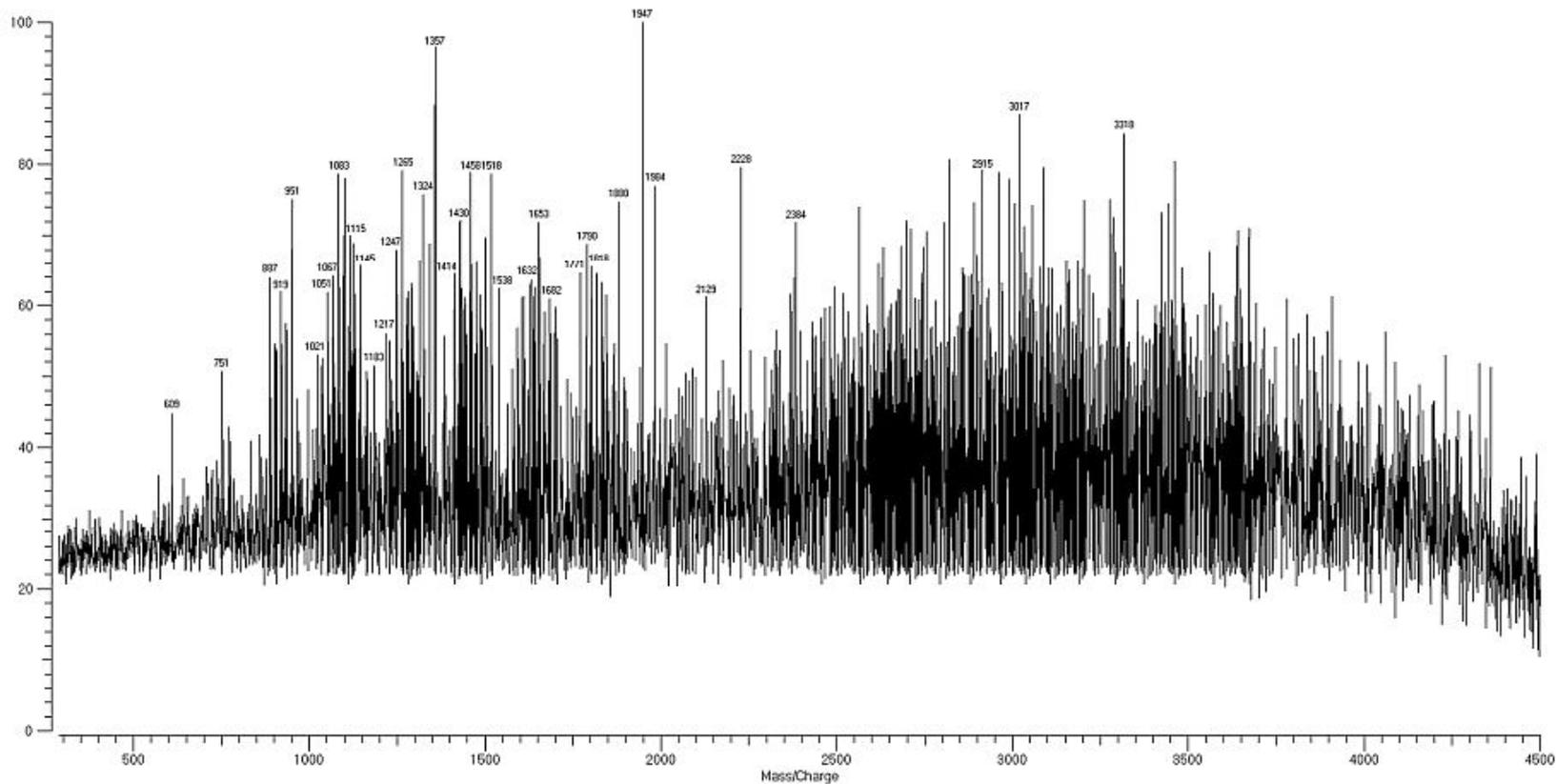
MALDI-TOF масс-спектрометр Bruker Ultraflex III TOF/TOF 200



Масс-спектрометрия



Масс-спектр



Масс-спектр природного соединения – *лигнина Бьёркмана* хвойной древесины, полученный методом **MALDI**

Масс-спектрометрия



Хромато-масс-спектрометрия

Масс-спектрометры используются для анализа органических и неорганических соединений.

Органические образцы в большинстве случаев представляют собой сложные **смеси индивидуальных веществ**.

Для исследований **смесей** соединений идеальным является сочетание хроматографии с масс-спектрометрией.

Приборы, в которых **масс-спектрометрический детектор** скомбинирован с газовым хроматографом, называются **хромато-масс-спектрометрами**.

В сочетании жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией сегодня используют источники ионизации в **электроспрее** и **химической ионизации** при атмосферном давлении, а комбинацию **жидкостных хроматографов** с масс-спектрометрами называют **ЖХ/МС**.

Масс-спектрометрия

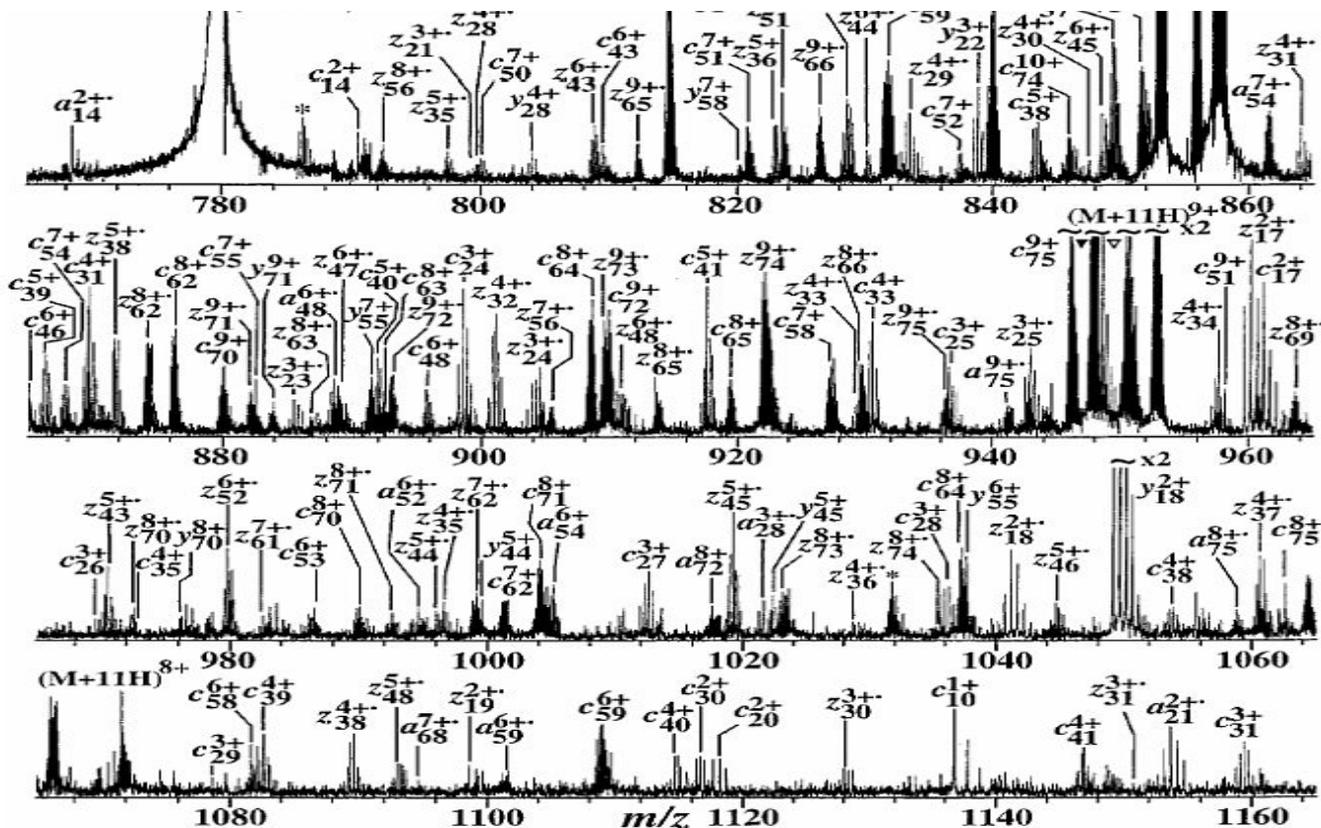


Хромато-масс-спектрометр



Масс-спектрометрия

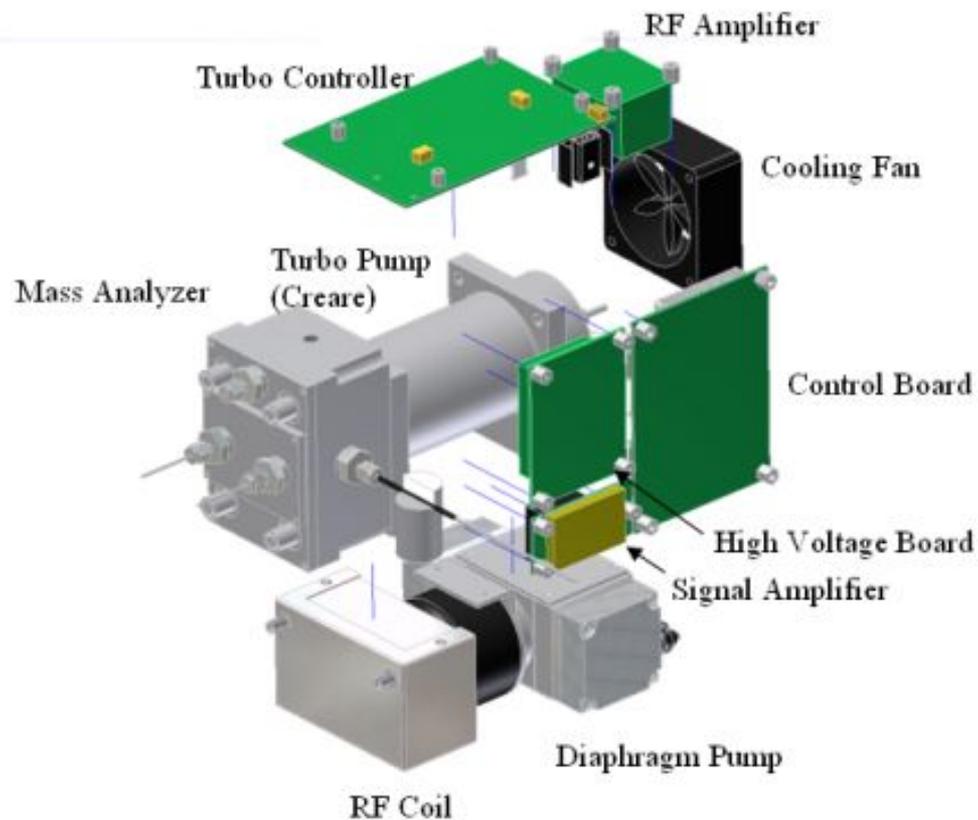
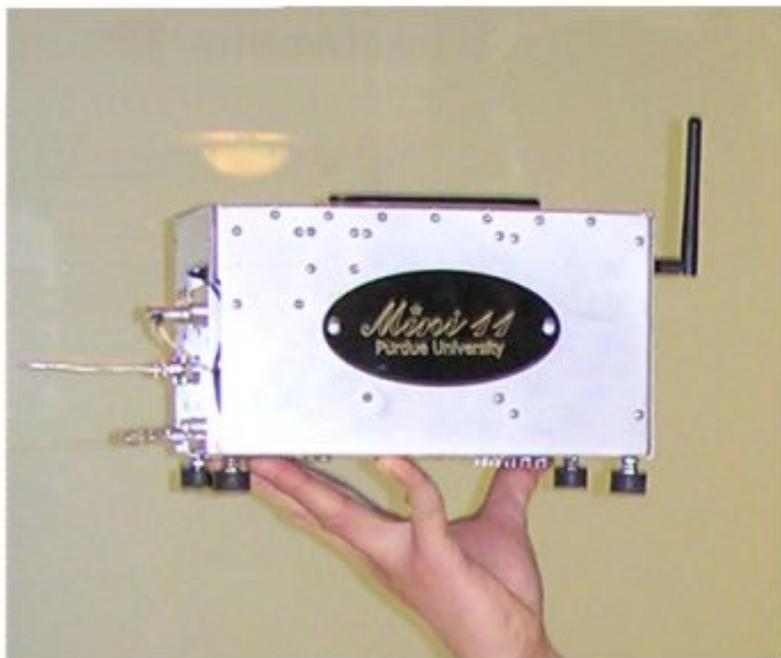
Задание: Предложите схему фрагментации соединения, масс-спектр которого представлен на слайде?



Масс-спектр с фрагментацией белка **убиквитина**, полученный методом ECD

Масс-спектрометрия

Портативный масс-спектрометр



Миниатюрный масс-спектрометр, используемый для обнаружения химических веществ на производстве.

Масс-спектрометрия

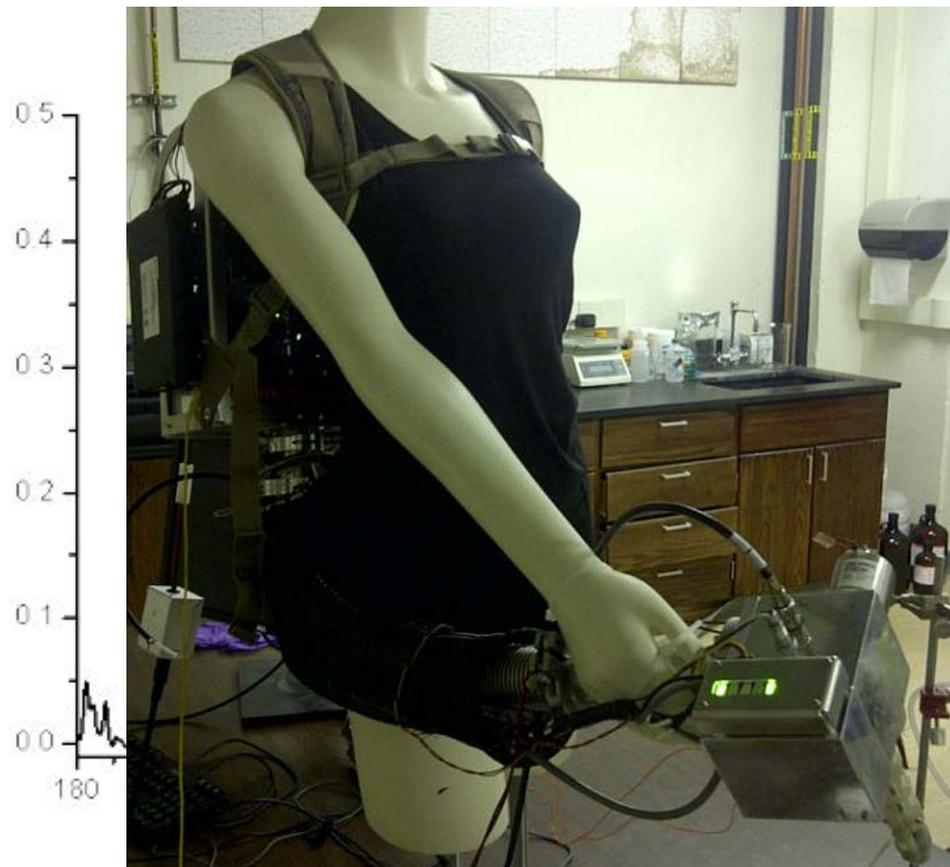
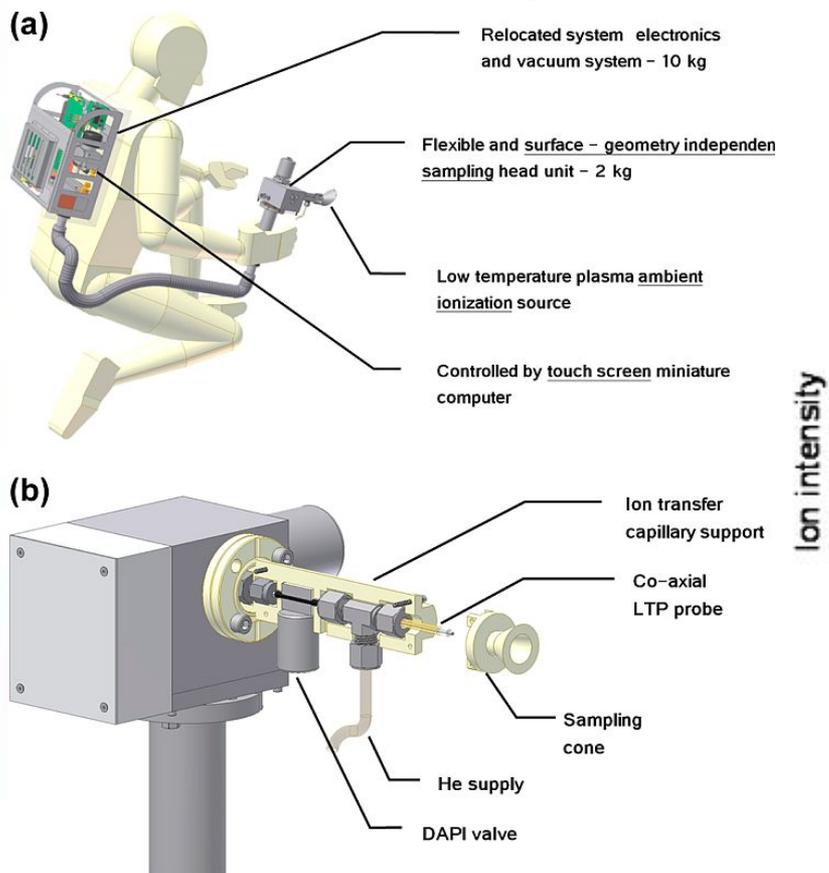
Портативный масс-спектрометр



Масс-спектрометр в продуктовом магазине за считанные минуты определил химические вещества на яблоках и апельсинах

Масс-спектрометрия

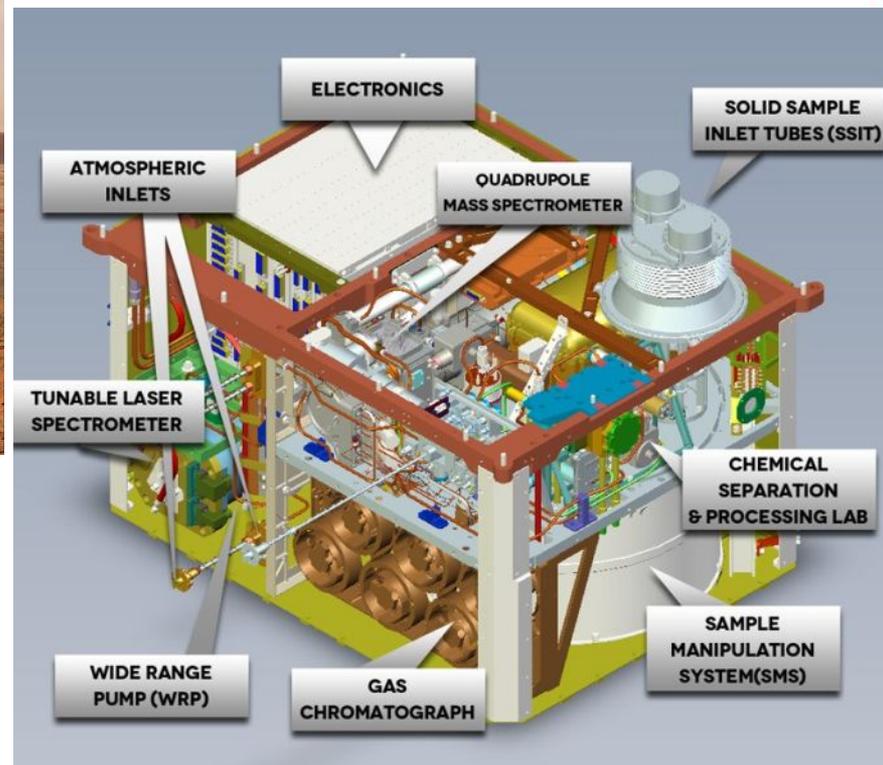
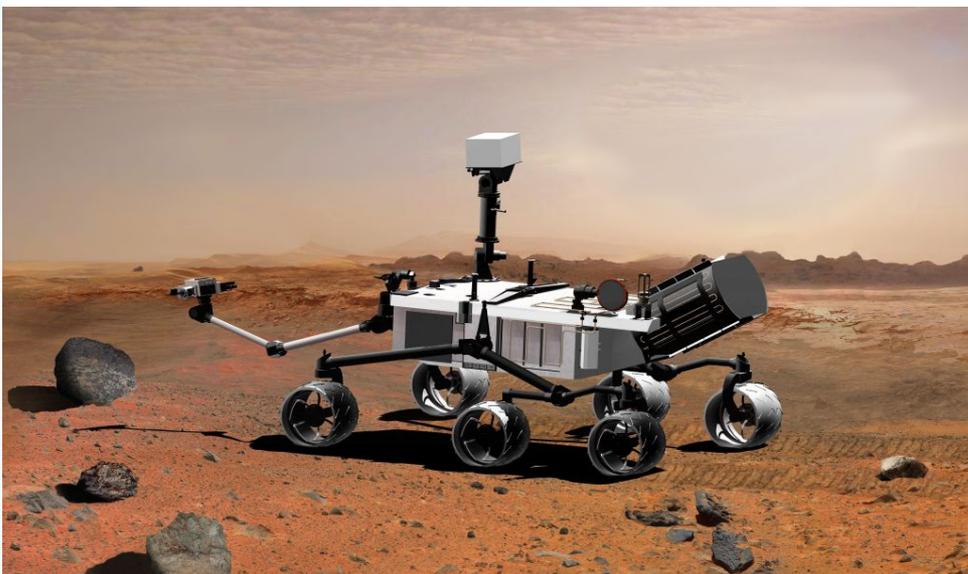
Портативный масс-спектрометр



Анализатор **Mini S** предназначен для проведения масс-спектрометрических анализов в полевых условиях.

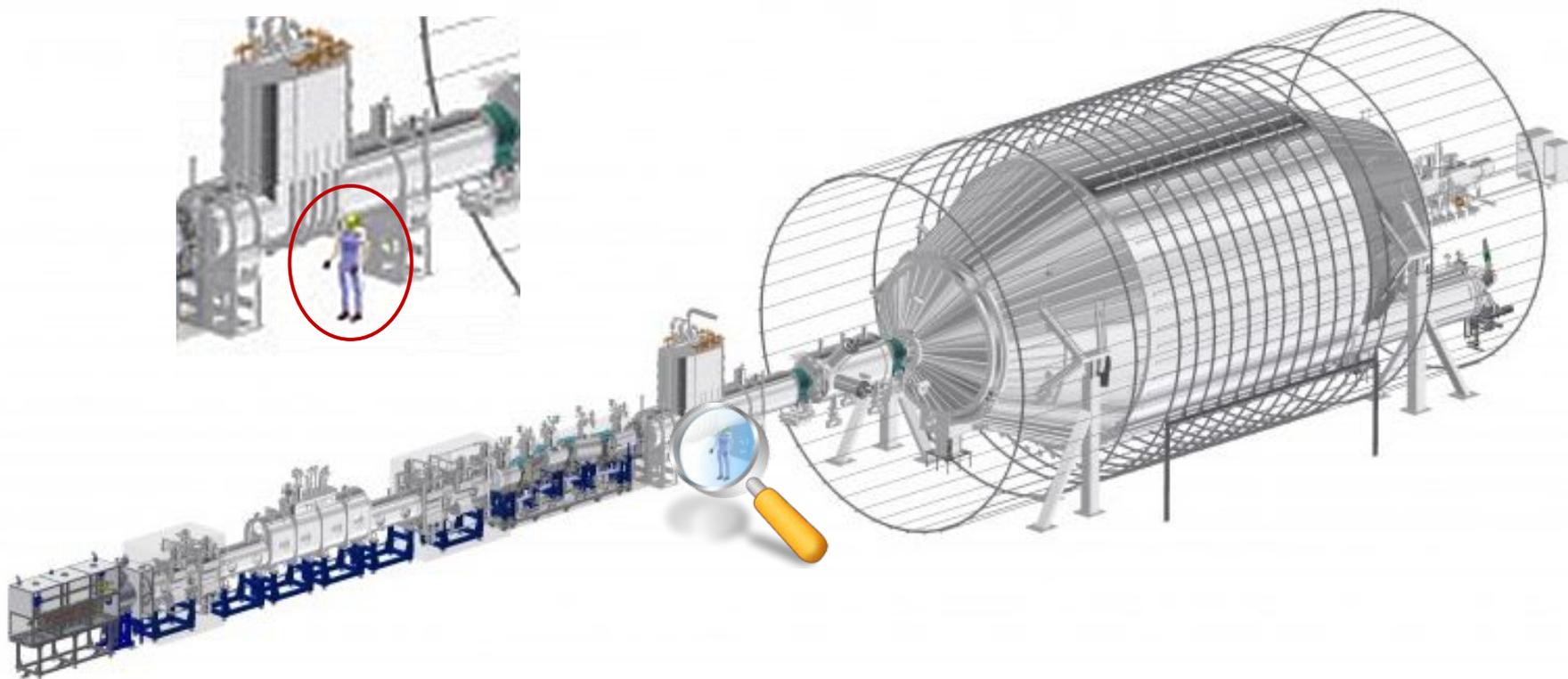
Масс-спектрометрия

Масс-спектрометр на марсоходе «Curiosity»



Масс-спектрометрия

«Большой масс-спектрометр»



Эксперимента KATRIN

Масс-спектрометрия

«Большой масс-спектрометр»

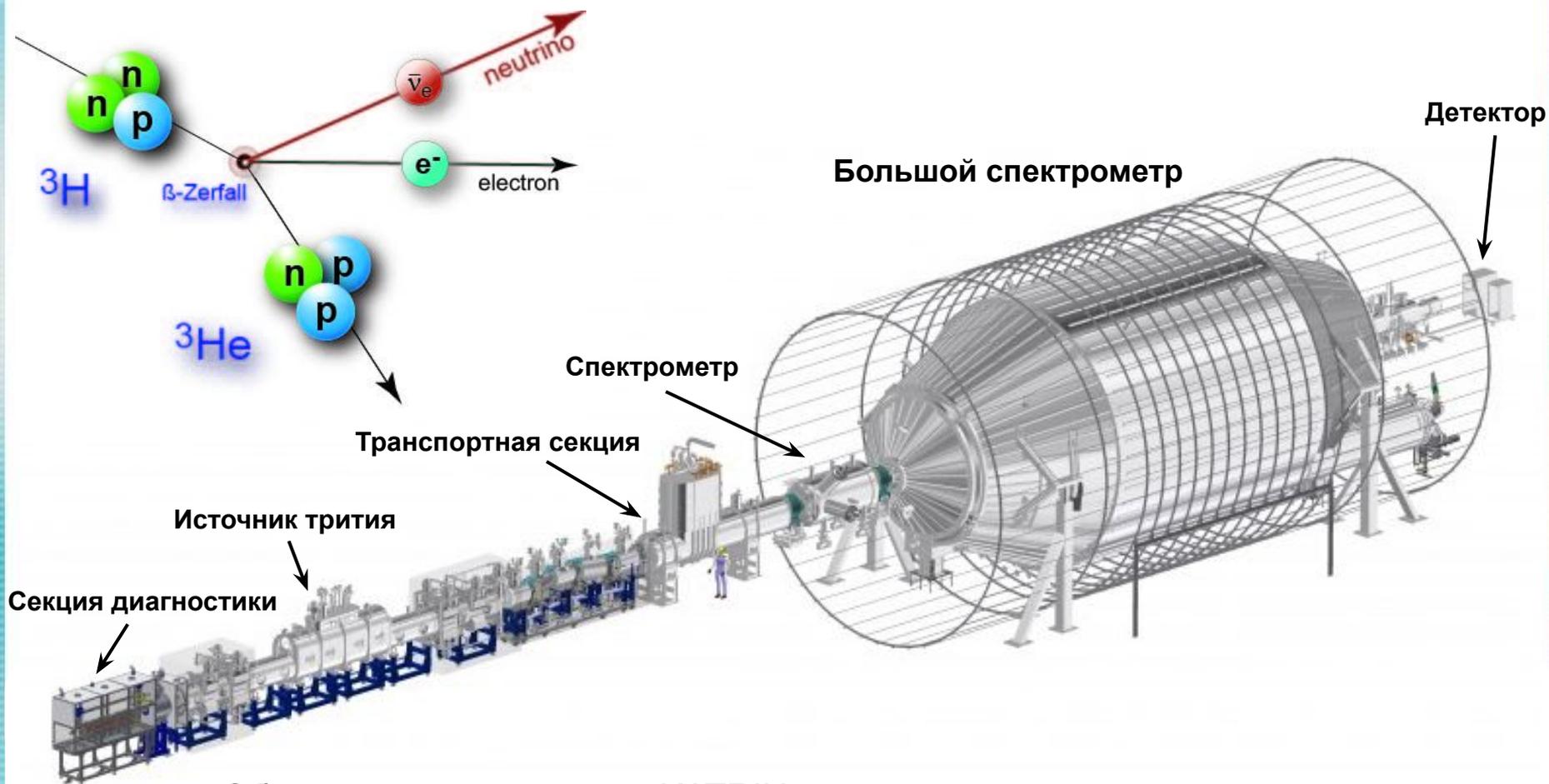
Проект KATRIN (*KARlsruhe TRItium Neutrino*)



Транспортировка вакуумной камеры главного электронного спектрометра через деревню Леопольдсхафен к центру исследования КИТ в Карлсруе (Германия)

Масс-спектрометрия

«Большой масс-спектрометр»



Общий вид эксперимента KATRIN и схема ядерного распада трития

Масс-спектрометрия

«Большой масс-спектрометр»

Проект KATRIN (*KARlsruhe TRItium Neutrino*)



Длина уникального агрегата – 23 метра, ширина – 10 метров. Вес гигантских "весов" для взвешивания **нейтрино** составляет 200 тонн.

Инструментальные методы анализа



Вопросы к лекции:

1. Применение масс-спектрометрии в органической химии?
2. Основные понятия масс-спектрометрии?
3. Принцип метода масс-спектрометрии?
4. Способы ионизации исследуемого соединения в масс-спектрометре?
5. Основа метода ионизации с помощью электронного удара?
6. Основные характеристики масс-спектров?
7. Основные этапы интерпретации масс-спектров?
8. Общие правила идентификации молекулярного иона?
9. Общие правила идентификации фрагментных ионов?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Казицина А.А., Куплетская Н.Б.** Применение ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопии в органической химии – М.: Высшая школа, 1971. – 263с.
2. **Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К.** Определение строения органических соединений – М.: Мир, 2006. – 439 с.
3. **Сильверстейн Р., Вебетер Ф., Кимл Д.** Спектрометрическая идентификация органических соединений – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 520 с.
4. **Лебедев А.Т.** Масс-спектрометрия в органической химии – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 493 с.
5. **База спектральных данных органических веществ** (Spectral database for organic compounds, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology Japan):

http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=eng

Инструментальные методы исследования органических веществ

