МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

<u>Масс-спектрометрия</u> **– метод анализа, основанный на ионизации молекул веществ, разделении образующихся ионов и их регистрации.**

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Масс-спектрометрия позволяет определять:

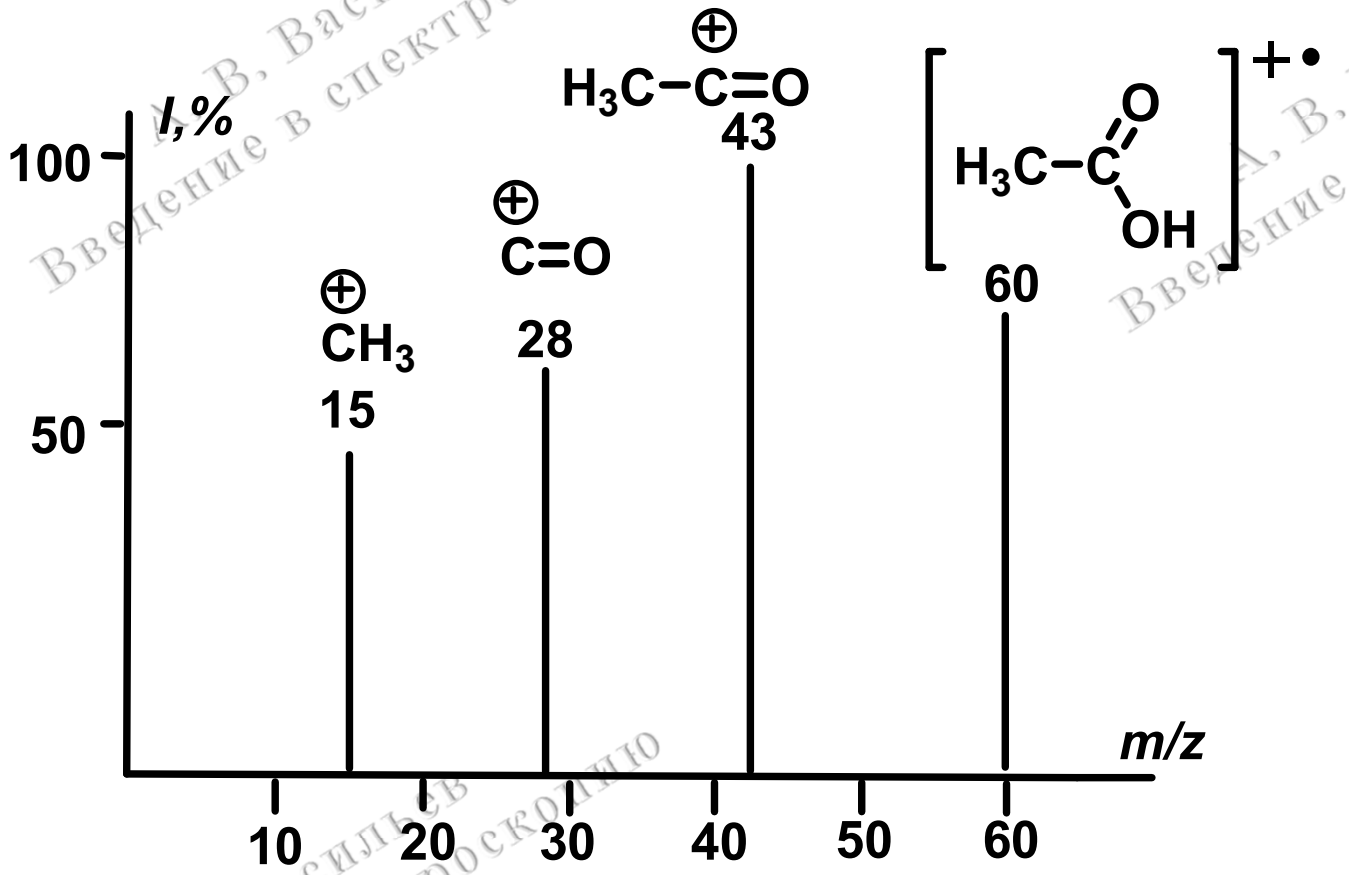
1. **Молекулярную массу вещества.**

2. **Молекулярную формулу вещества.**

3. **Строение вещества.**

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Масс-спектр уксусной кислоты



1. **Молекулярная масса – 60.**
2. **Молекулярная формула – $C_2H_4O_2$.**
3. **Строение вещества – CH_3COOH.**

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

С помощью масс-спектрометрии можно анализировать высокомолекулярные соединения с массой до нескольких 1 млн. Да (белки, полипептиды, синтетические полимеры и пр.).

Можно детектировать следовые количества веществ до 10^{-14} грамм.

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

История метода

1901 – открытие масс-спектрометрии
В. Кауфманом

1913 – разделение изотопов неона с массами
20 и 22 Дж. Томсоном

1940 – выпуск серийных масс-спектрометров

2002 – Нобелевская премия за новые методы
масс-спектрального анализа –
Дж. Фенн и К. Танаке

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Области применения масс-спектрометрии

1. **Установление строения соединений.**

2. **Элементный анализ неорганических веществ (одновременно определяются до 70 элементов).**

3. **Определение возраста геологических пород по анализу содержания изотопов химических элементов.**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

4. **Хромато-масс-спектральный анализ в экологии.**

5. **Изучение элементарных химических процессов: ионизации, перегруппировок, ионных реакций.**

6. **Определение термодинамических величин: потенциалов ионизации, энергии диссоциации молекул.**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Масс-спектрометрия – совокупность трёх отдельных процессов:

1. **Ионизация молекулы.**

2. **Разделение ионов по массам.**

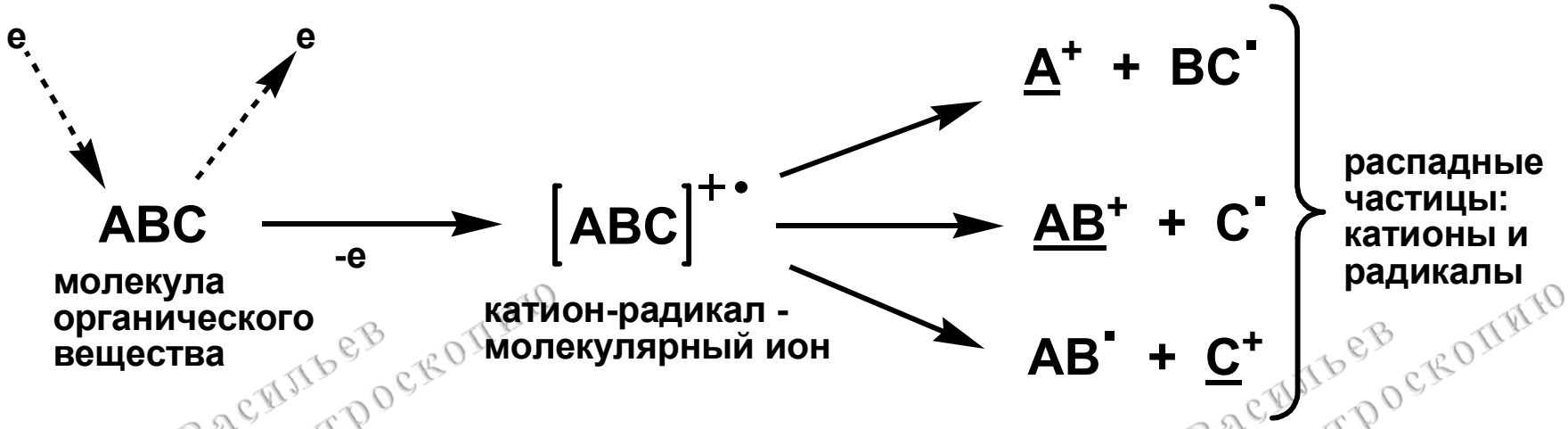
3. **Детектирование ионов.**

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Типы ионизации

1. Электронный удар (ЭУ).

Органическое вещество бомбардируется потоком быстрых электронов, которые выбивают электроны из молекул вещества.



А. В. Васильев Введение в спектроскопию

В масс-спектрометрии регистрируются только заряженные частицы: катион-радикалы $ABC^{+\cdot}$ и катионы A^+, AB^+, C^+.

Незаряженные радикальные частицы $BC^{\cdot}$, $C^{\cdot}$, $AB^{\cdot}$ не регистрируются.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Типы ионизации

2. Химическая ионизация.

Органическое вещество ионизируется газом реагентом: метаном, аммиаком, изобутаном.

3. Бомбардировка ускоренными атомами.

Органическое вещество ионизируется ионами инертных газов: аргона, ксенона.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

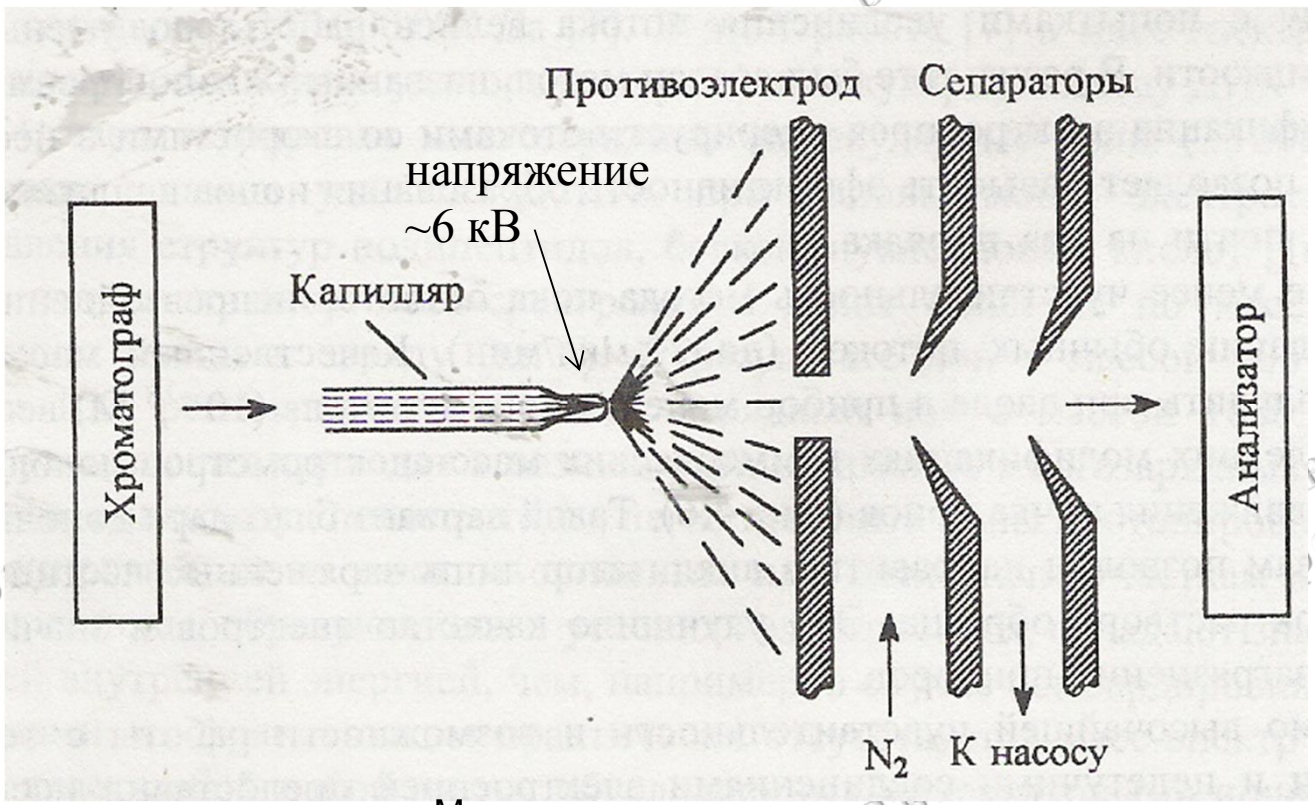
Типы ионизации

4. Электроспрей ионизация (ESI).

2002 г. Дж. Фенн – Нобелевская премия.

Анализ полимеров белков, пептидов, нуклеиновых кислот.

Определяемые массы – до 110 млн Да.



Типы ионизации

5. Матричная лазерная десорбционная ионизация МЛДИ (MALDI).

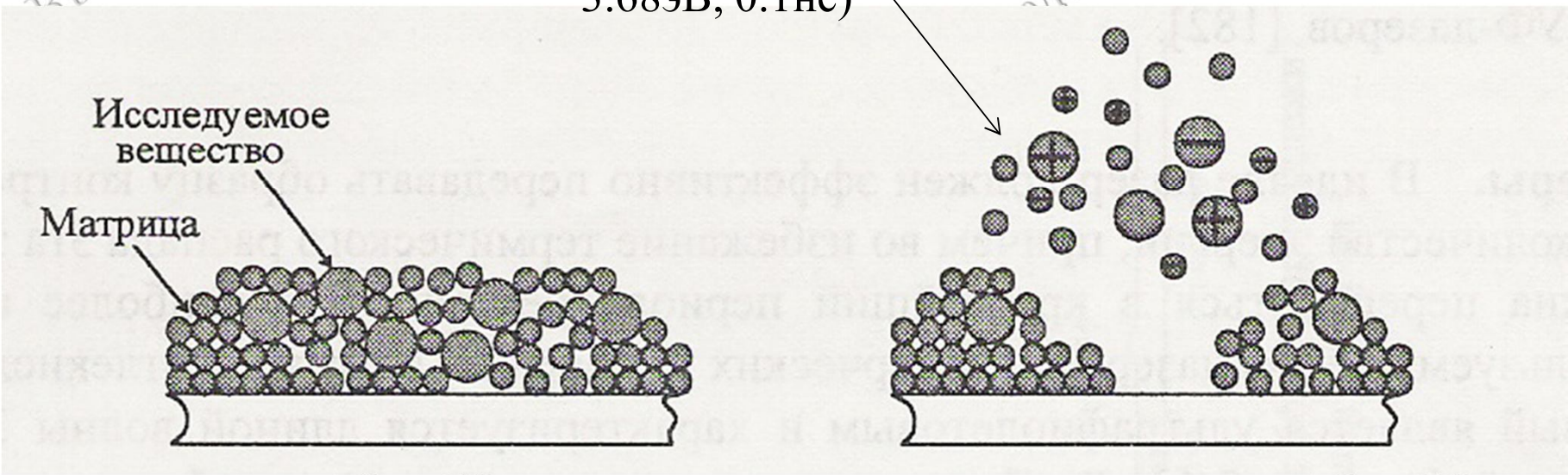
2002 г. К. Танаке – Нобелевская премия.

Анализ полимерных молекул: полипептидов, белков, нуклеотидов, полисахаридов, гуминовых веществ, лигнинов, синтетических полимеров.

Определяемые массы – несколько млн Да.

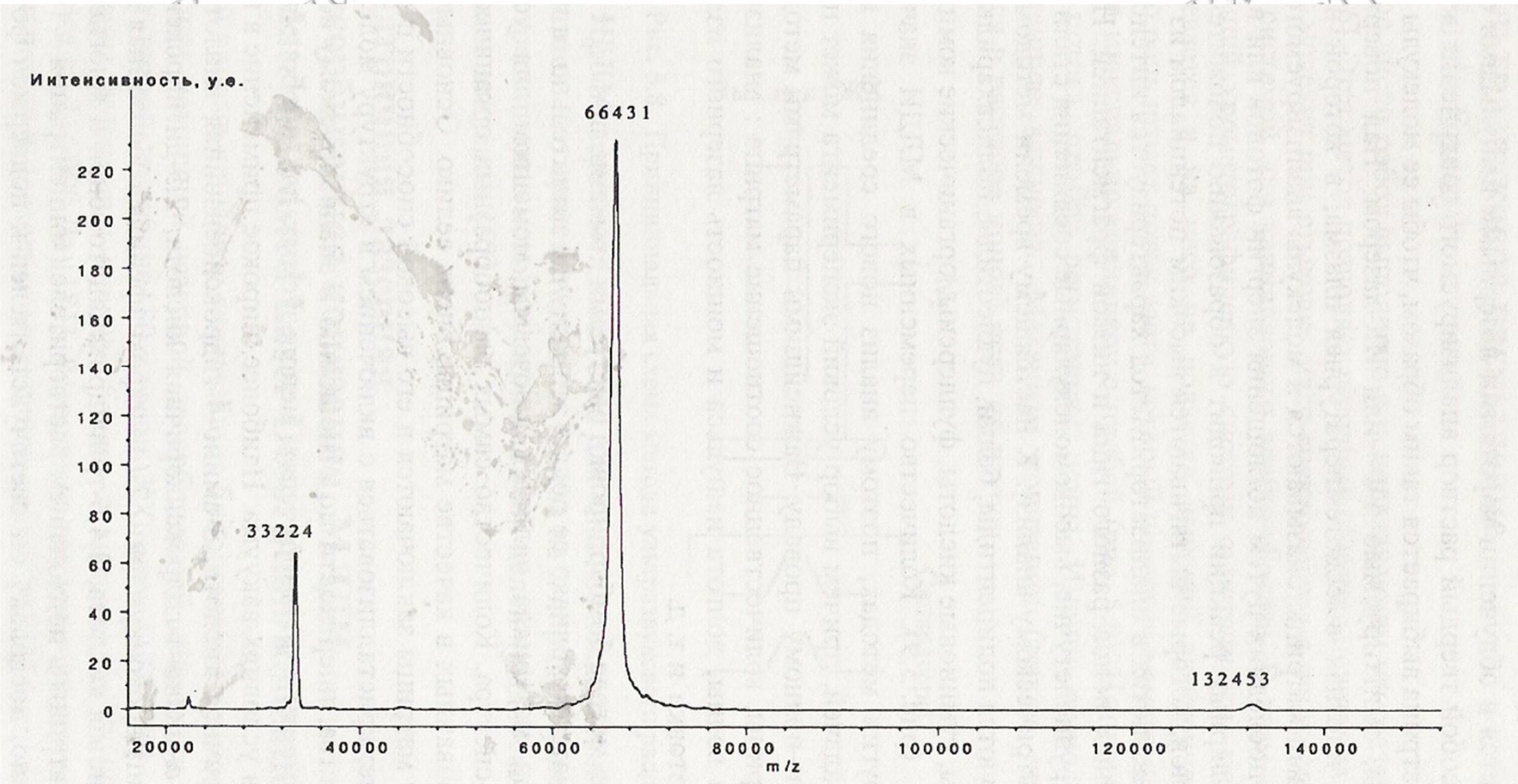
А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Взаимодействие лазерного импульса с образцом МЛДИ

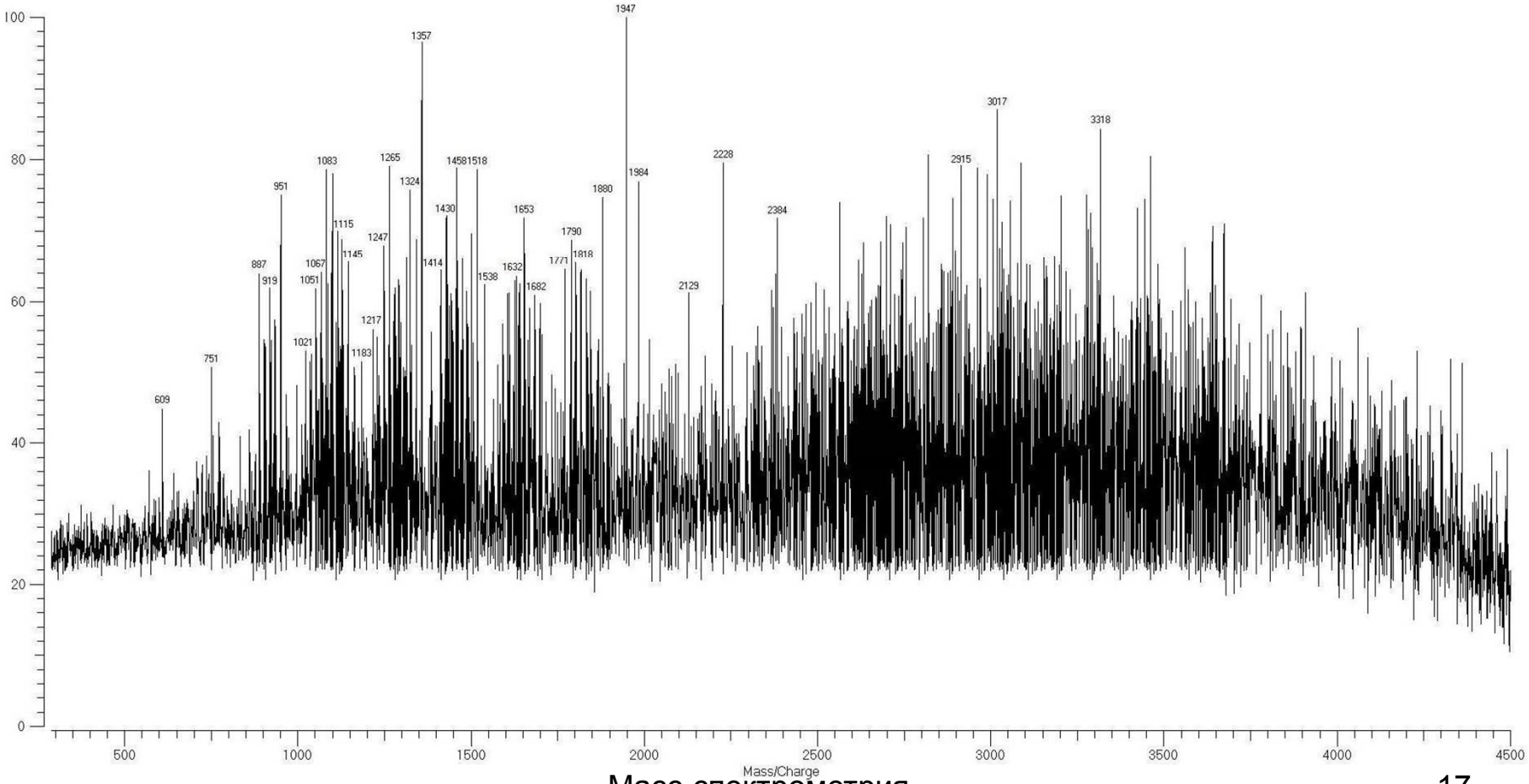


А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Спектр МЛДИ сыворотки бычьего альбумина. Пик m/z 66431 – протонированный молекулярный ион.



Спектр МЛДИ природного соединения – лигнина Бьёркмана хвойной древесины. Набор олигомеров с массами 1000 – 4500 Да.



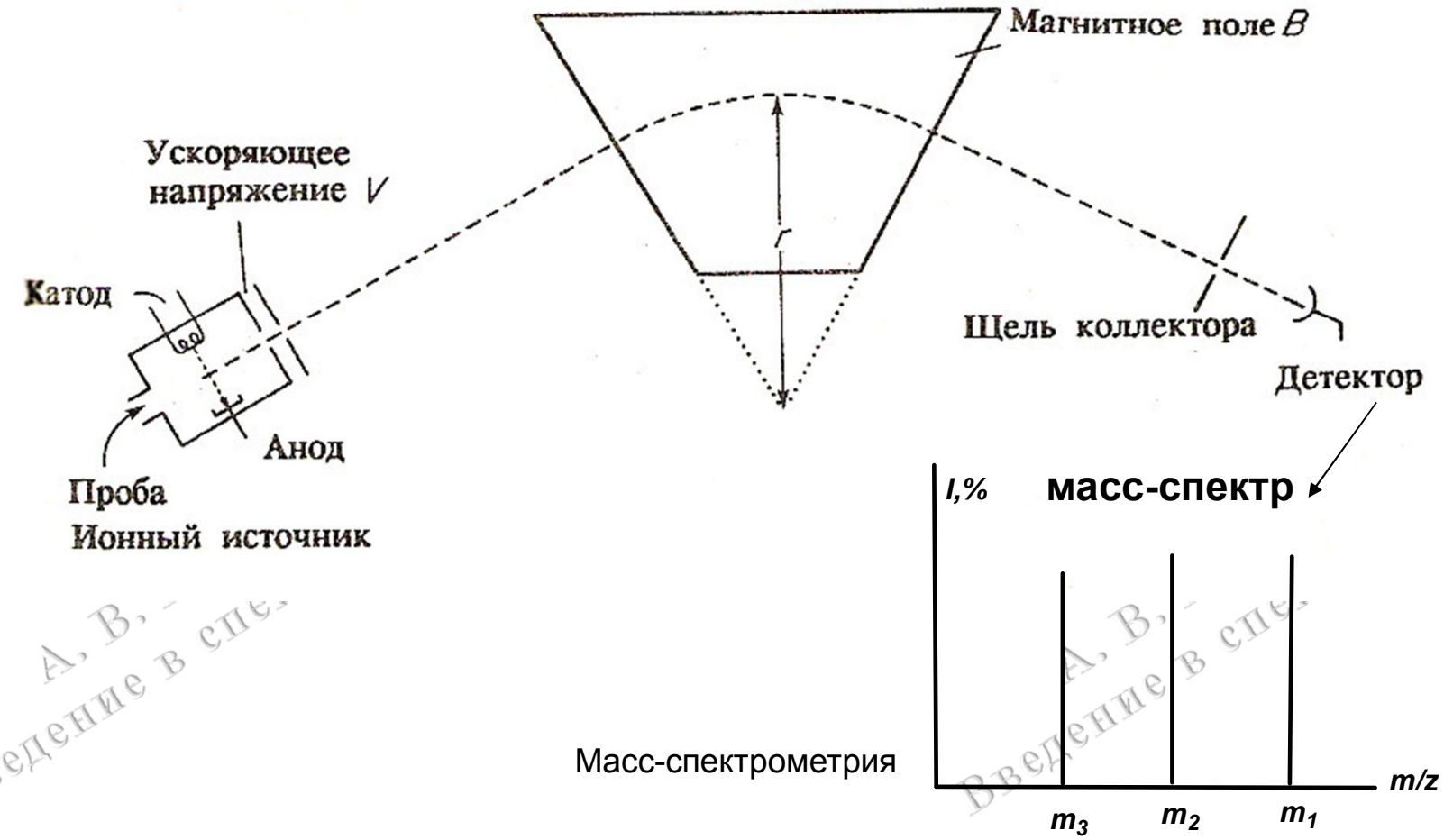
Масс-спектрометрия

под действием

электронного удара

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Схема магнитного секторного масс-спектрометра



Движение заряженной частицы в магнитном поле

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2}{2V}$$

m **– масса иона;**
z **– заряд иона;**
B**– напряжённость магнитного поля;**
V **– ускоряющее напряжение;**
r **– радиус кривизны движения иона.**

Масс-спектр – зависимость ионного тока в детекторе от m/z.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Типы ионов в масс-спектрах

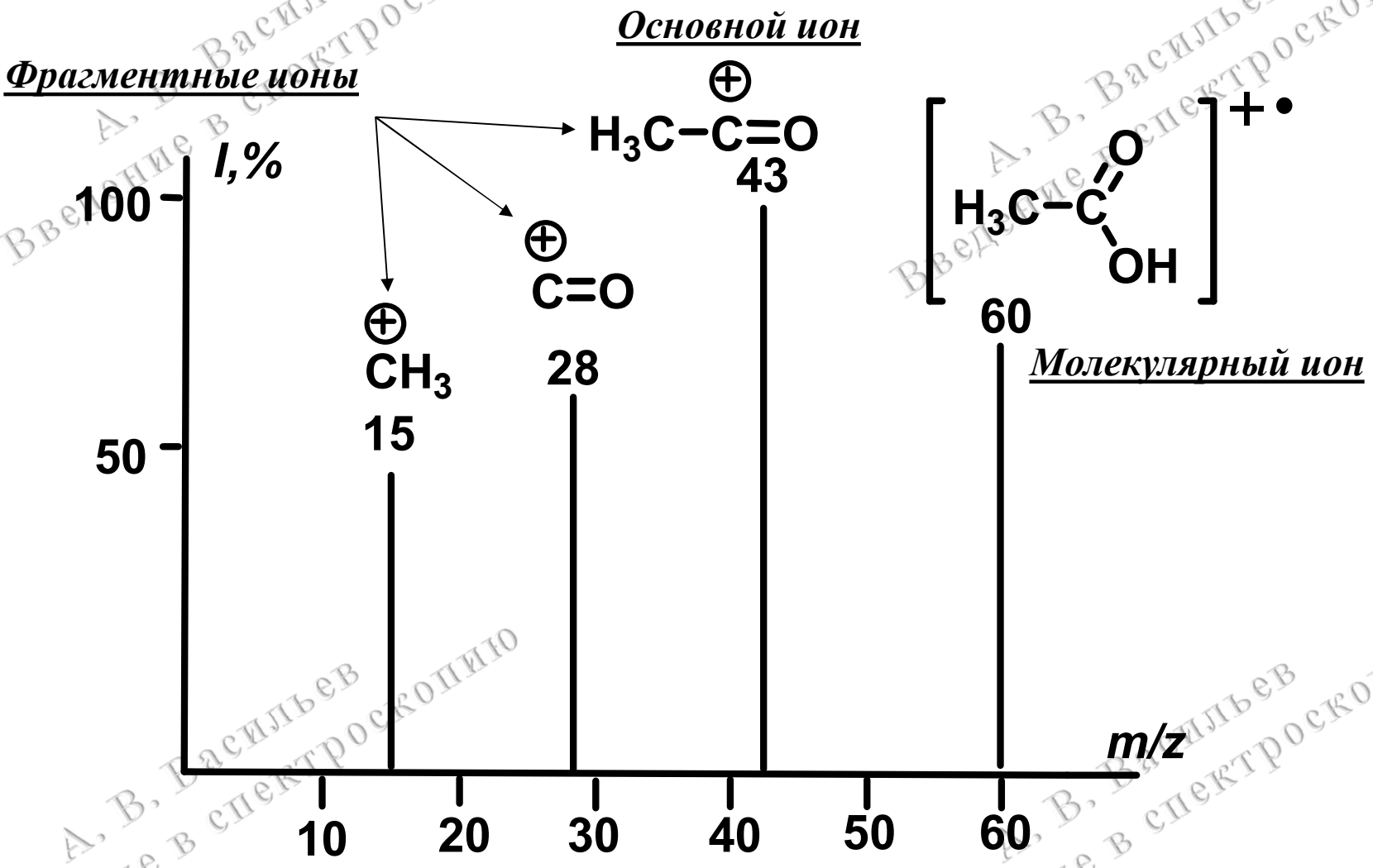
1. Молекулярный ион – молекула с положительным зарядом (катион-радикал), полученным за счёт отрыва одного электрона от нейтральной молекулы.

2. Основной ион – ион, интенсивность которого в масс-спектре максимальна.

3. Фрагментный ион – ион, образующийся при распаде молекулярного иона с разрывом связей и миграцией атомов.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Масс-спектр уксусной кислоты



А. В. Васильев Введение в спектроскопию

<u>4. Двухзарядный ион</u> – ион, имеющий двойной положительный заряд за счёт потери двух электронов. В масс-спектре такие ионы регистрируются как частицы с массой формально в два раза меньшей.

<u>5. Метастабильный ион</u> – ион, с формальной массой $m^* = m_2^2/m_1$, получающийся при распаде иона с массой m_1 на ион меньшей массы m_2 в процессе движения в магнитном поле масс-спектрометра. Регистрируются в виде широких низко интенсивных пиков.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Зависимость интенсивности ионов от энергии ионизирующих электронов

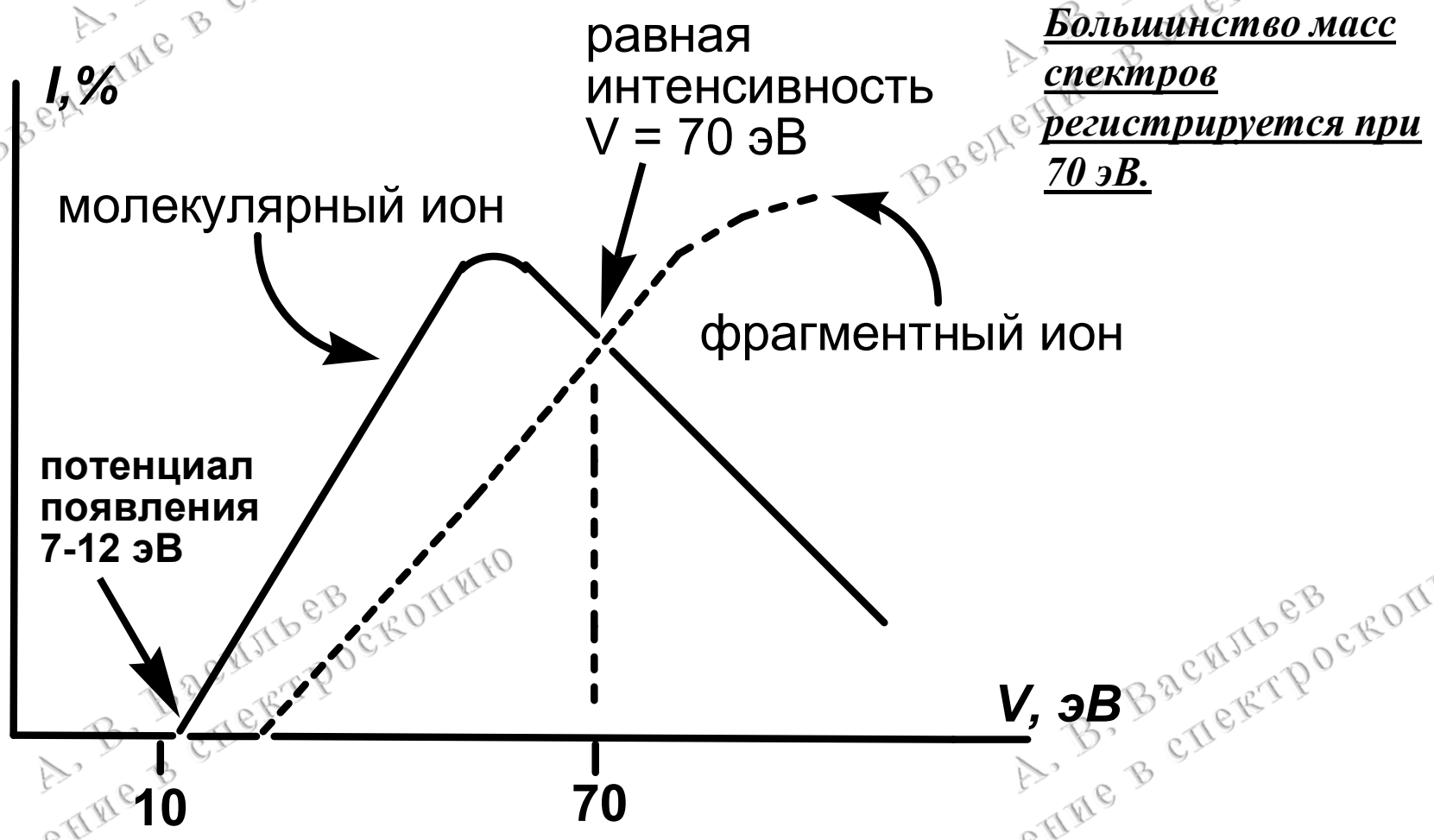
Интенсивности ионов в масс-спектрах зависят от двух параметров:

1. энергия ионизирующих электронов;

2. температура, при которой происходит ионизация.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

График зависимость интенсивности пиков ионов *I* от энергии ионизирующих электронов *V*



Большинство масс спектров регистрируется при 70 эВ.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Анализ области пика молекулярного иона

$$M \xrightarrow[-e]{ЭУ} M^{+\bullet}$$ или другое обозначение M^{+}

1. Интенсивность пика молекулярного иона I_{M+}

Интенсивность I_{M+} определяется устойчивостью молекулярного иона M^{+}. Структурные фрагменты, способствующие стабилизации заряда – ароматические ядра, π-системы – ведут к увеличению I_{M+} .

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

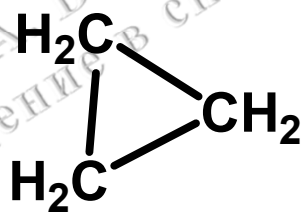
2. Азотное правило.

Органические соединения, состоящие из основных атомов органогенов C, H, N, S, P, Si, F, Cl, Br, I, имеют чётную молекулярную массу, если в их структуре не содержится атомов азота или число атомов азота чётное (N = 0, 2, 4,…).

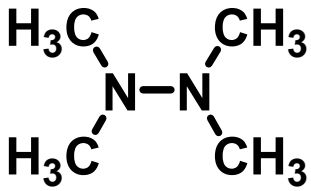
Нечётной молекулярной массой обладают соединения с нечётным количеством атомов азота (N = 1, 3, 5,..) в структуре.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

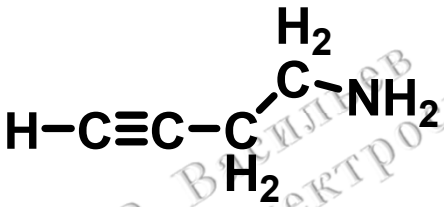
Примеры на азотное правило



M = 42 (чётная) - нет азота



M = 88 (чётная) - два атома азота



M = 69 (нечётная) - один атом азота

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

3. <u>Правило “формальной непредельности” – “число колец + число двойных связей”.</u>

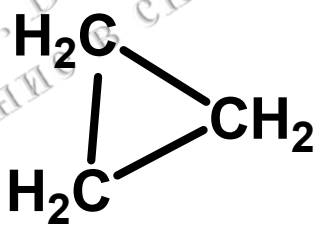
$$X = \frac{2C - H + N}{2} + 1$$

X **– “число колец + число двойных связей” в молекуле**

C, H, N **– число углеродных, водородных (или др. одновалентных) и азотных атомов в молекуле**

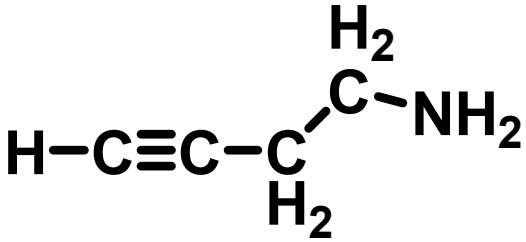
А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Примеры на правило “формальной непредельности”



$$X = \frac{2\times 3 - 6 + 0}{2} + 1 = 1$$

<u>одно кольцо</u>



$$X = \frac{2\times 4 - 7 + 1}{2} + 1 = 2$$

<u>тройная связь – две π-связи</u>

$$X = \frac{2\times 6 - 6 + 0}{2} + 1 = 4$$

<u>одно кольцо и три двойных связи</u>

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

4. Данные масс-спектрометрии высокого разрешения –измерение точной массы иона до 4 – 6 знака после запятой.

CO **M = 28, точная масса M = 27.994915**

CH_2=CH_2 **M = 28, точная масса M = 28.03300**

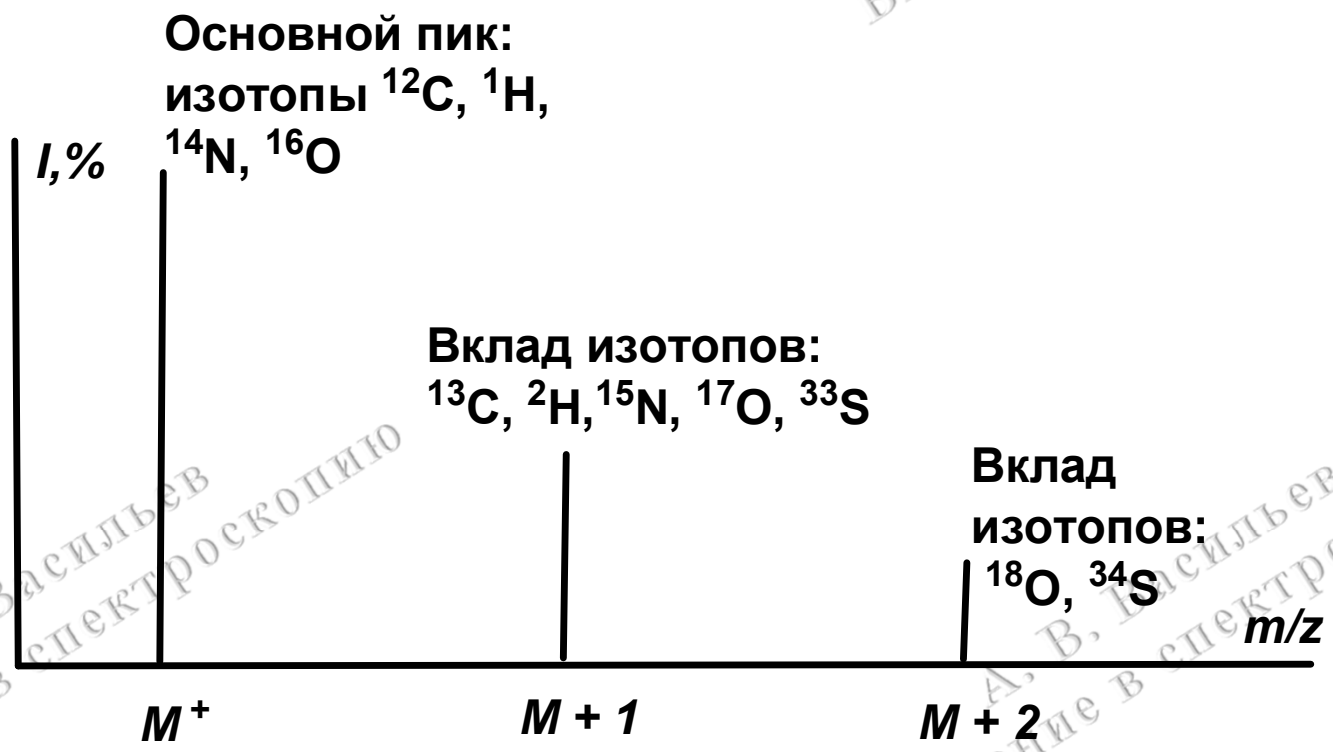
N_2 **M = 28, точная масса M = 28.006148**

Эти вещества можно различить только с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

5. Изотопный состав и характеристические группы ионов.

Любой ион в масс-спектре представлен кластером пиков из-за наличия изотопов элементов



А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Таблица изотопов основных элементов органогенов

Изотопы	Атомная масса	Естественная природная распространённость
^{1}H	1.0078	99.98
^{2}H	2.0141	0.02
^{12}C	12.000	98.93
^{13}C	13.0034	1.07
^{14}N	14.0031	99.63
^{15}N	15.0001	0.37
^{16}O	15.9949	99.76
^{17}O	16.9991	0.04
^{18}O	17.992	0.20

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Изотопы	Атомная масса	Естественная природная распространённость
^{35}Cl	34.9689	75.53
^{37}Cl	36.9659	24.47
^{79}Br	78.9183	50.52
^{81}Br	80.9163	49.48
^{32}S	31.9721	95.03
^{33}S	32.9715	0.75
^{34}S	33.9679	4.22

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Интенсивность пика *M+1*

Интенсивность пика *M+1* (I_{M+1}) относительно интенсивности пика M^+ (I_{M+}) определяется в основном вкладом изотопа ^{13}C :

$$\frac{I_{M+1}}{I_{M+}} = \frac{1.07}{98.93} \times n_C \times 100\% + \text{малые вклады изотопов H, N, O} \approx$$

$$\approx 1.08 \times n_C$$

n_C **– число атомов углерода в молекуле**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Приближённая формула для расчёта числа атомов углерода в молекуле:

$$n_C \approx \frac{(I_{M+1}/I_{M+})\%}{1.1}$$

Эта формула верна для соединений, не содержащих атомов серы и большого количества атомов азота.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Изотопы галогенов

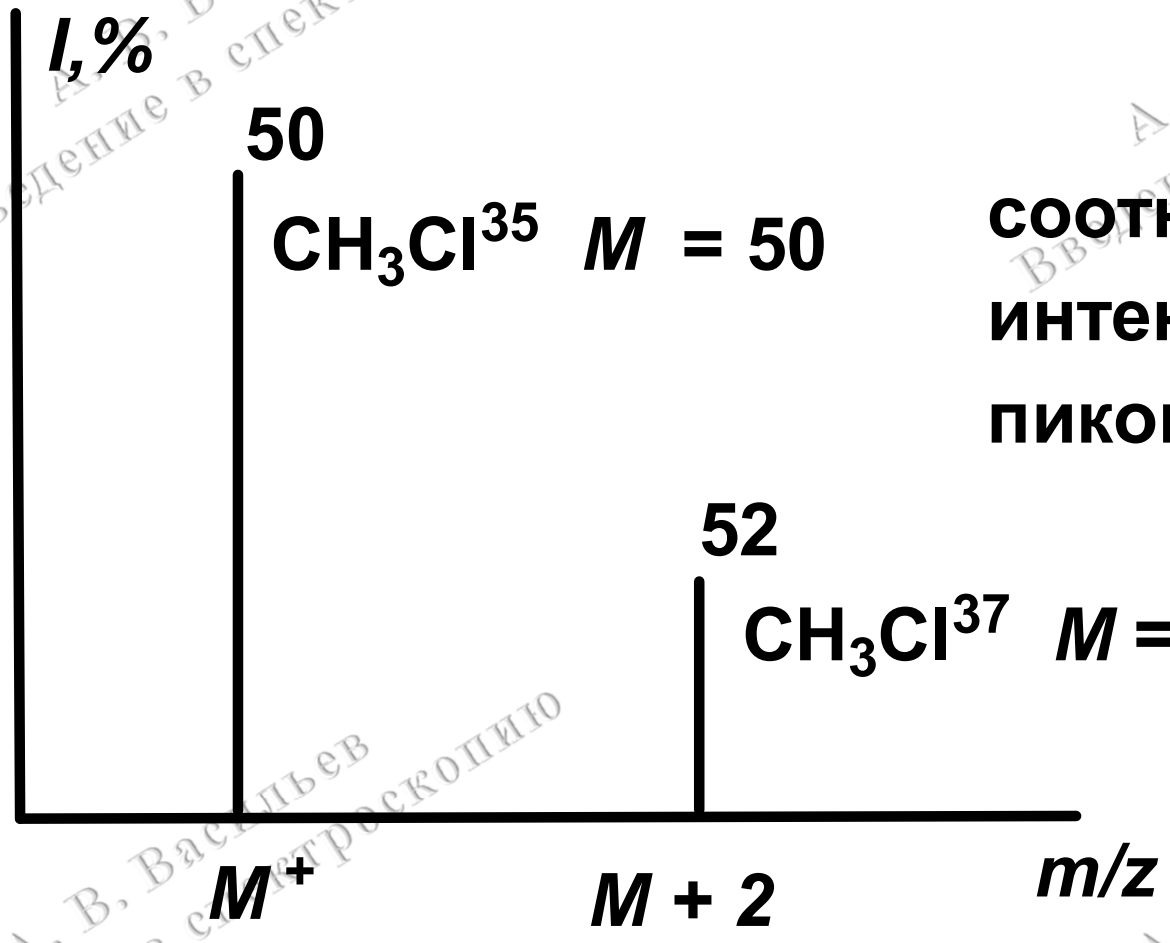
1. Один атом хлора в молекуле.

$$\frac{I_{M+}}{I_{M+2}} = \frac{распространённость\ ^{35}Cl}{распространённость\ ^{37}Cl} = \frac{75.53\%}{24.47\%} \approx \frac{3}{1}$$

Вид области пика молекулярного иона для соединений с одним атомом хлора.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Масс-спектр хлорметана CH_3Cl. Область пика молекулярного иона.



соотношение интенсивностей пиков: 3 : 1

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

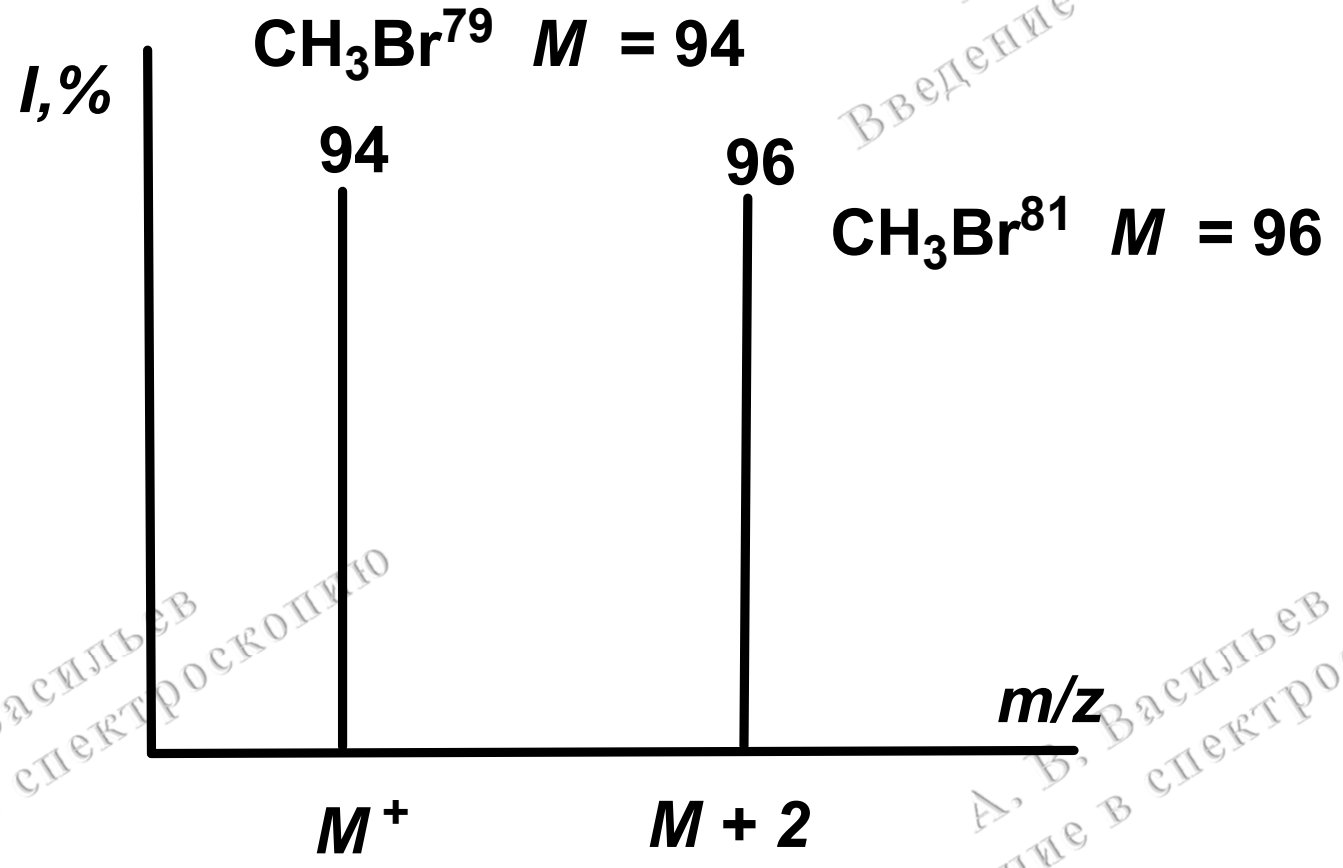
2. Один атом брома в молекуле.

$$\frac{I_{M+}}{I_{M+2}} = \frac{распространённость\ ^{79}Br}{распространённость\ ^{81}Br} = \frac{50.52\%}{49.48\%} \approx \frac{1}{1}$$

Вид области пика молекулярного иона для соединений с одним атомом брома.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Масс-спектр бромметана CH_3Br. Область пика молекулярного иона.



А. В. Васильев Введение в спектроскопию

3. Несколько атомов галогена в молекуле.

Относительная интенсивность изотопных пиков определяется коэффициентами биноминального распределения:

$$(a+b)^n$$

a, b **– соотношение содержания лёгкого и тяжёлого изотопов;**

n **– число атомов галогена в молекуле.**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Два атома хлора в молекуле RCl_2.

Соотношение природного содержания изотопов

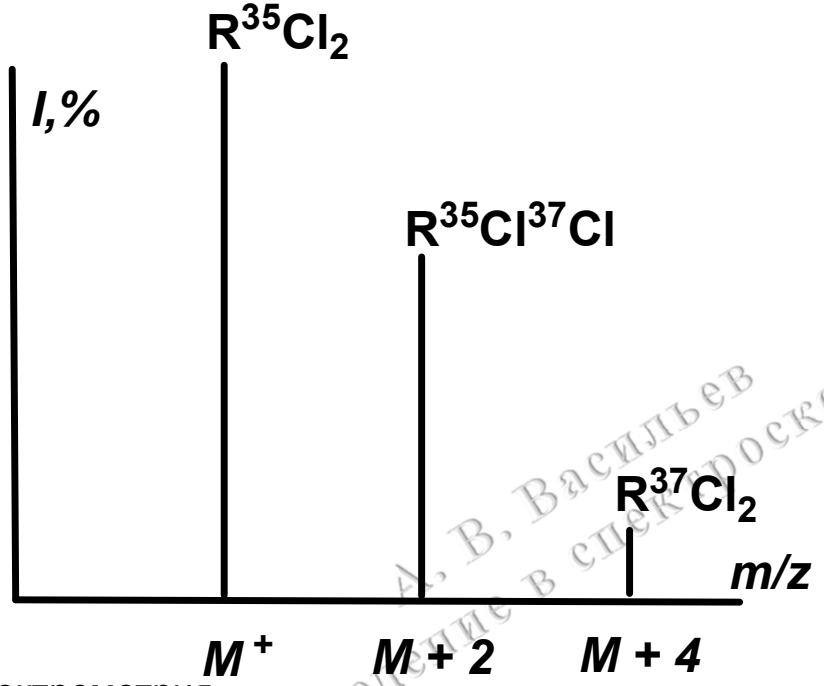
$^{35}Cl : {}^{37}Cl = 3 : 1$,

***a* = 3, *b* = 1, *n* = 2:**

$$(a+b)^n = (3+1)^2 = 3^2 + 2\times 3\times 1 + 1^2 = 9+6+1$$

соотношение интенсивностей пиков $I_{M+} : I_{M+2} : I_{M+4}$

9 : 6 : 1



А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Два атома брома в молекуле RBr_2.

Соотношение природного содержания изотопов

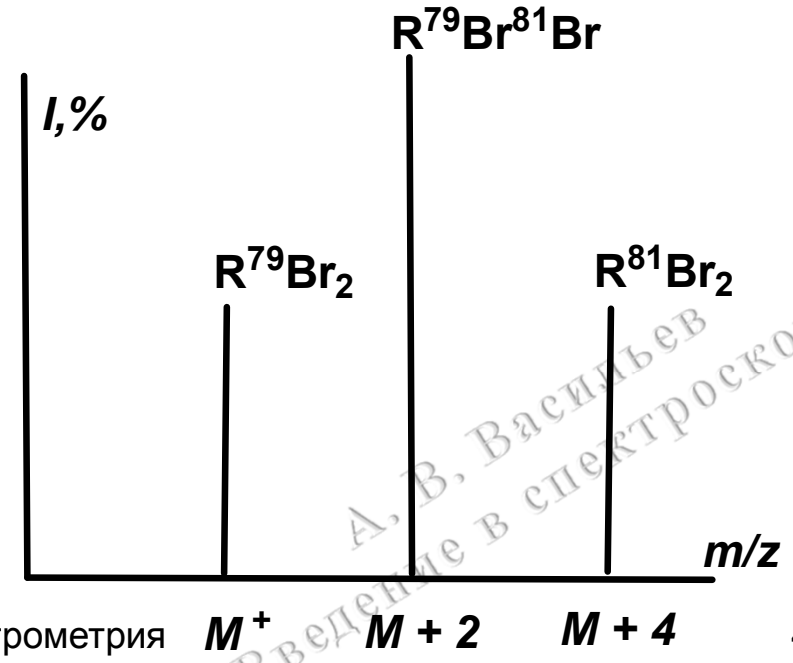
$^{79}Br : {}^{81}Br = 1 : 1$,

***a* = 1, *b* = 1, *n* = 2:**

$$(a+b)^n = (1+1)^2 = 1^2 + 2\times1\times1 + 1^2 = 1+2+1$$

соотношение интенсивностей пиков $I_{M+} : I_{M+2} : I_{M+4}$

1 : 2 : 1



А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Разные галогены в молекуле.

Если в молекуле содержатся одновременно атомы хлора и брома, то соотношение интенсивностей изотопных пиков определяется с помощью произведения:

$$(a+b)^n(c+d)^m$$

a **,** ***b*** **– соотношение изотопов хлора,**

n **– число атомов хлора,**

c **,** ***d*** **– соотношение изотопов брома,**

m **– число атомов брома.**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Основные этапы интерпретации масс-спектров соединений

1. **Найти молекулярный ион. Проанализировать область пика молекулярного иона.**

2. **Отметить основные самые интенсивные пики масс-спектра.**

3. **Выделить и проанализировать пики с характерным изотопным составом.**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

4. **Найти и интерпретировать пики, обусловленные выбросом небольших нейтральных частиц из молекулярного иона.**

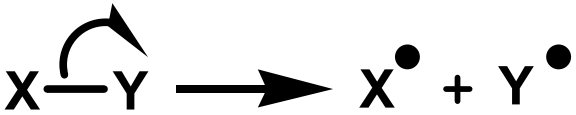
5. **Определить и интерпретировать пики, соответствующие лёгким характеристическим фрагментным ионам.**

6. **Интерпретировать спектр с использованием всей дополнительной информации: химической и спектральной.**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Основные закономерности фрагментации органических соединений в масс-спектрометрии с электронным ударом

Обозначения:



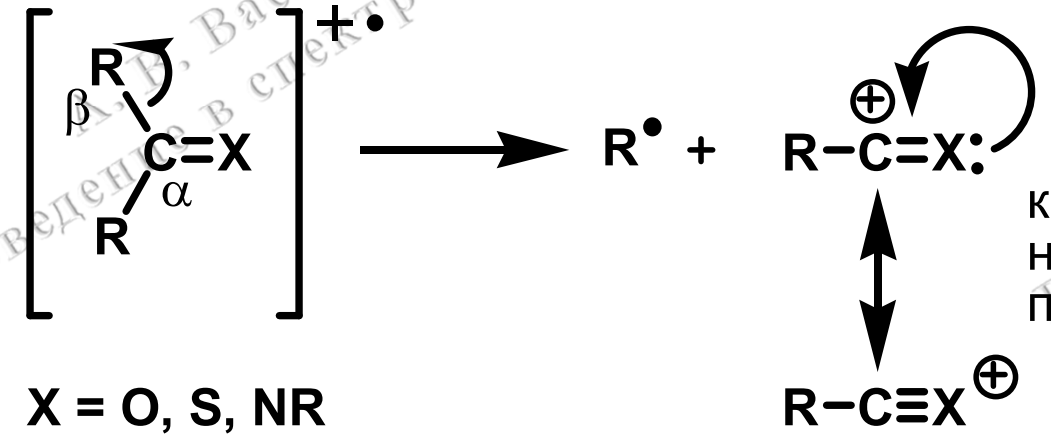
гомолитический разрыв связи

стрелка с одним "усиком" - перемещение одного электрона

Направления фрагментации молекул органических веществ определяются образованием наиболее стабильных катионных частиц.

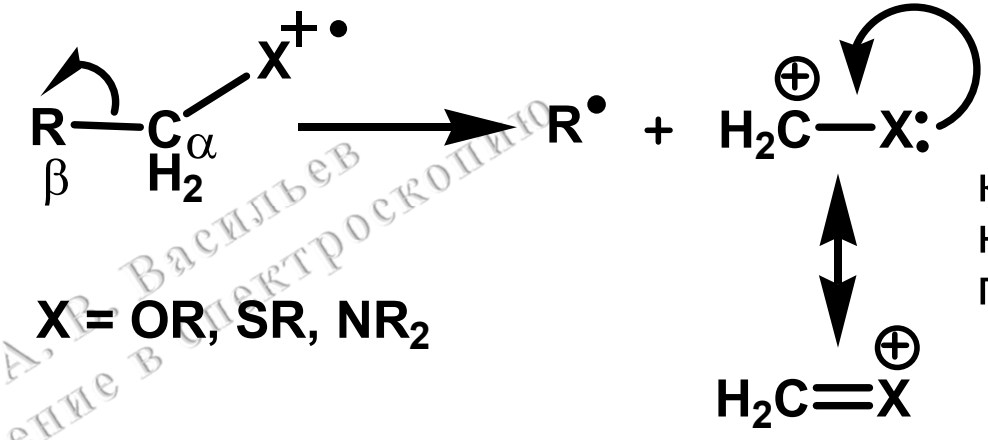
А. В. Васильев Введение в спектроскопию

1. Разрыв α-β связи соседней с гетероатомом.



X = O, S, NR

катион стабилизированный неподелённой электронной парой гетероатома X

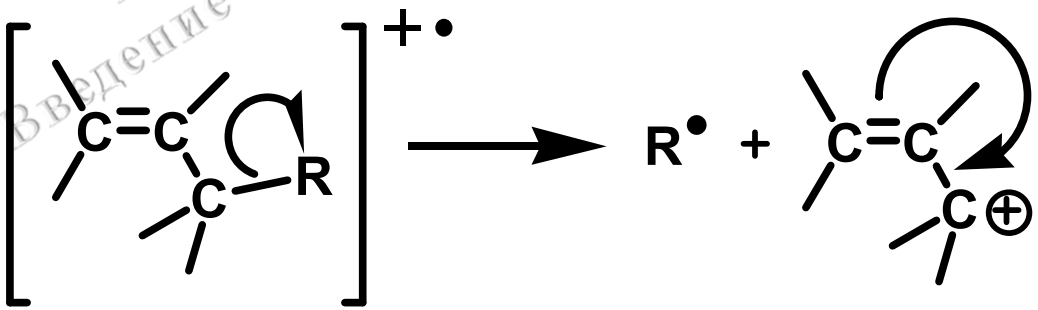


X = OR, SR, NR_2

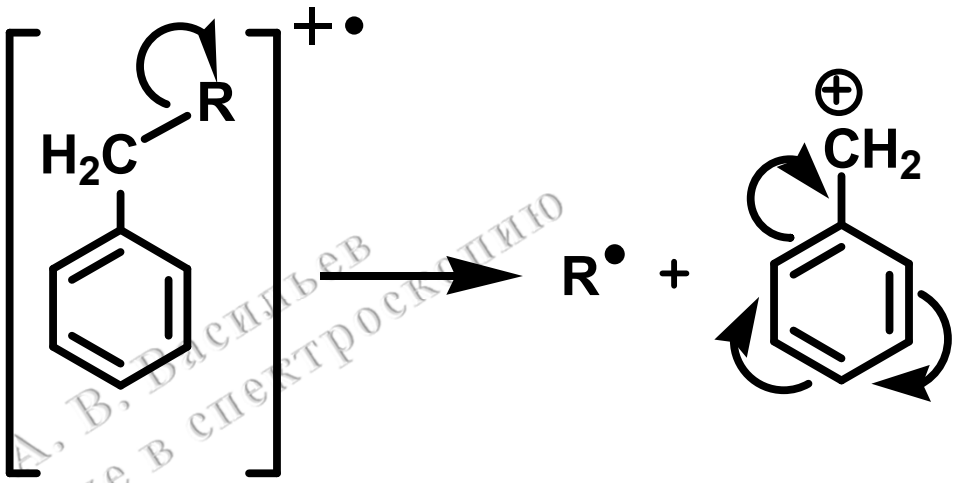
катион стабилизированный неподелённой электронной парой гетероатома X

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

2. Разрыв С-С связи в аллильном (бензильном) положении.



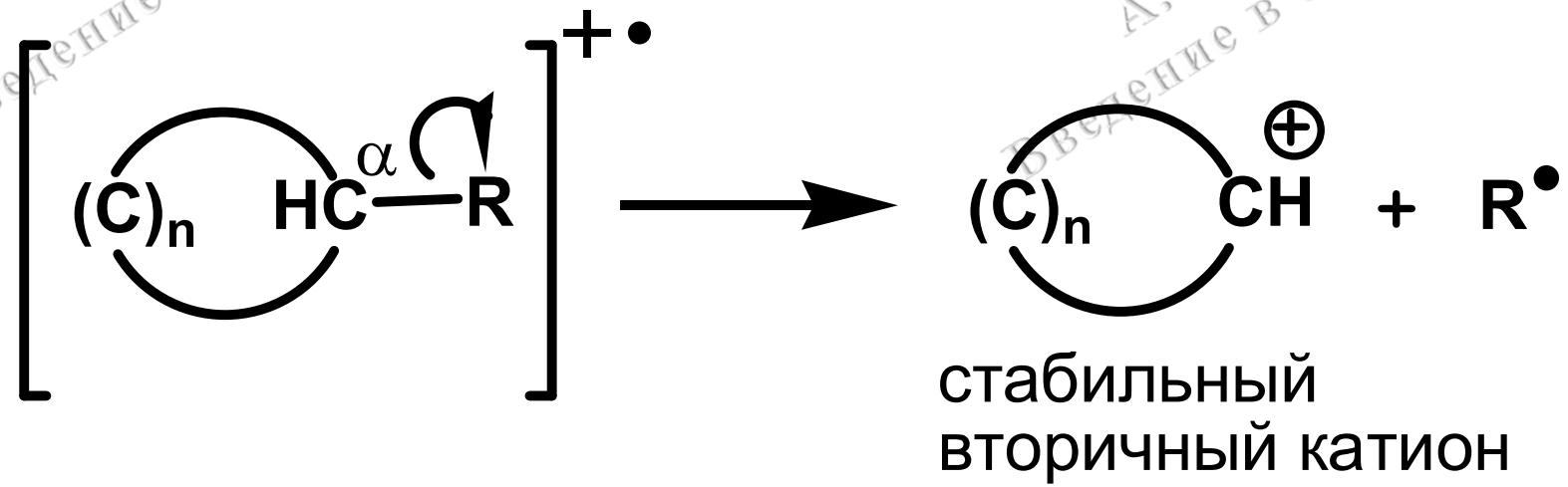
аллильный катион стабилизированный электроннами π–связи



бензильный катион стабилизированный электроннами π–связи

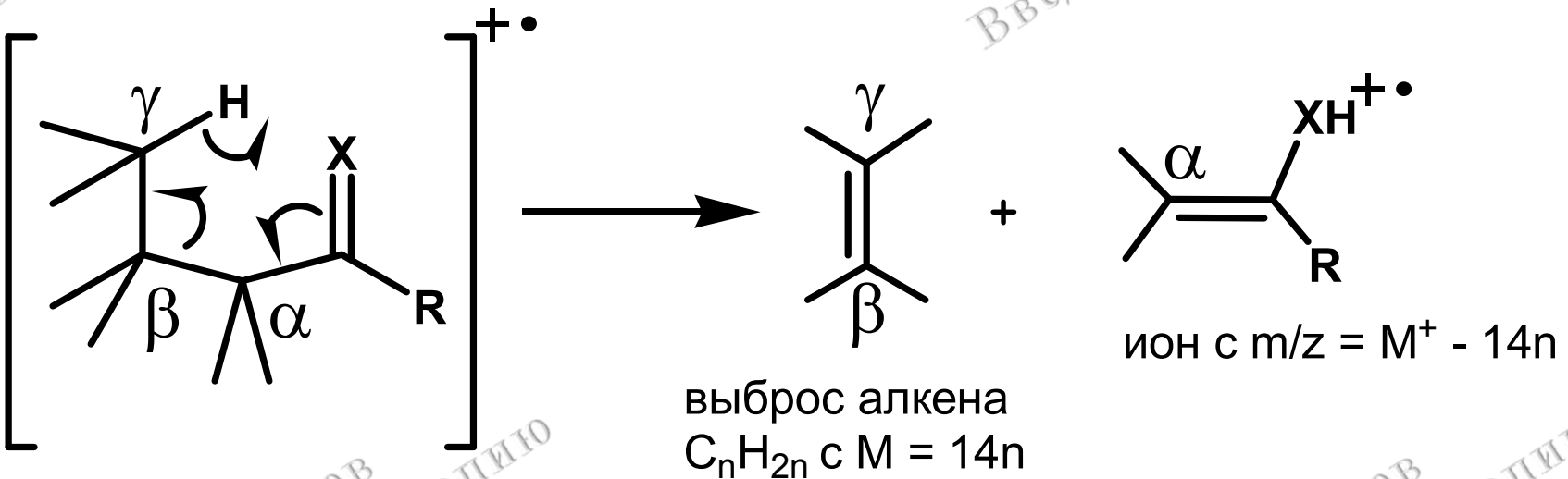
А. В. Васильев Введение в спектроскопию

3. Разрыв α-связи в циклических системах.



А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

4. Перегруппировка Мак-Лафферти. Протекает при наличии атома водорода в γ-положении к группе C=X.



X = O, S, NR, CR_2 и др.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Таблица. Некоторые нейтральные фрагменты R· элиминируемые молекулярными ионами:

$$M^+ \rightarrow K^+ + R^\cdot$$

Элиминируемый фрагмент R·		Возможный источник элиминируемого фрагмента
масса, а.е.м.	состав	
1	$H^\cdot$	углеводородные остатки
2	H_2	
15	$^\cdot CH_3$	
16	$^\cdot NH_2$	$RCONH_2$ амиды
	O	RNO_2 нитро-, R_2SO_2 сульфоны

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

18	**H_2O**	**спирты, альдегиды, карбоновые кислоты**
26	**C_2H_2**	**ароматические соединения**
28	**C_2H_4**	**перегруппировка Мак-Лафферти**
29	**$^{\cdot}CHO$**	**альдегиды**
43	**$^{\cdot}CH_3CO$**	**метилкетоны**
45	**$^{\cdot}CO_2H$**	**карбоновые кислоты**
57	**$^{\cdot}C_4H_9$**	**алканы, алкилбензолы**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

В масс-спектрах маловероятно отщепление фрагментов с массами 5-14 и 19-20 (кроме фторидов). Наличие таких фрагментов может свидетельствовать о примесях в анализируемом образце.

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Таблица. Некоторые типичные структуры осколочных ионов K^+ :

$$M^+ \rightarrow K^+ + R^{\cdot}$$

Осколочный ион K^+		Возможные предшественники осколочных ионов
масса, а.е.м.	структура	
19	$[F]^+$	алкилфториды
20	$[HF]^+$	
29	$[C_2H_5]^+$	алкильные остатки
30	$[CH_2{=}NH_2]^+$	первичные алкиламины
36/38	$[HCl]^+$	алкилхлориды

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

43	**$[C_3H_7]^+$**	**алканы**
	$[CH_3CO]^+$	**метилкетоны**
50	**$[C_4H_2]^+$**	**арены**
60	**$[CH_2{=}C(OH)_2]^+$**	**карбоновые кислоты (продукт перегруппировки Мак-Лафферти)**
77	**$[C_6H_5]^+$**	**арены**
80/82	**$[HBr]^+$**	**алкилбромиды**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Масс-спектрометрическая характеристика различных классов органических соединений

А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Алканы

Обычно дают малоинтенсивные пики M^+.

В масс-спектрах характерно присутствие гомологичных ионов $[C_nH_{2n+1}]^+$.

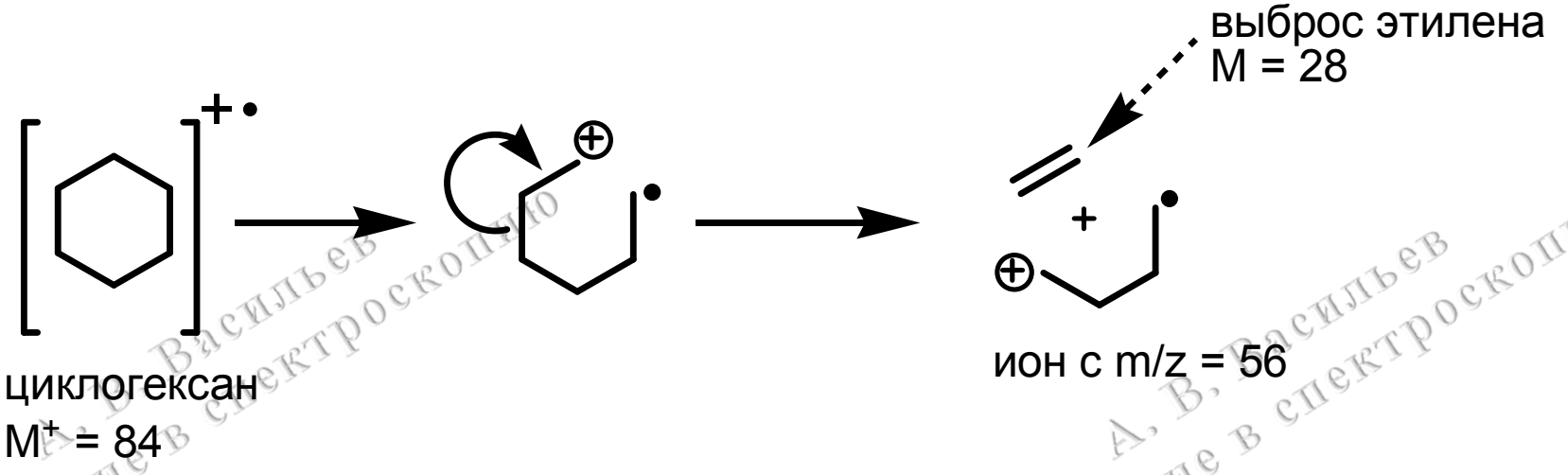
Самые интенсивные пики m/z 43 $[C_3H_7]^+$ и m/z 57 $[C_4H_9]^+$.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Циклоалканы

Характерно наличие интенсивных пиков M^+.

Обычный путь фрагментации – выброс молекулы алкена.



А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Алкены и алкины

Пики M^+ обычно более интенсивны, чем у алканов.

В масс-спектрах характерно присутствие гомологичных ионов $[C_nH_{2n-1}]^+$ и $[C_nH_{2n-3}]^+$.

Распад молекул сопровождается перегруппировками с миграцией кратной связи.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Спирты

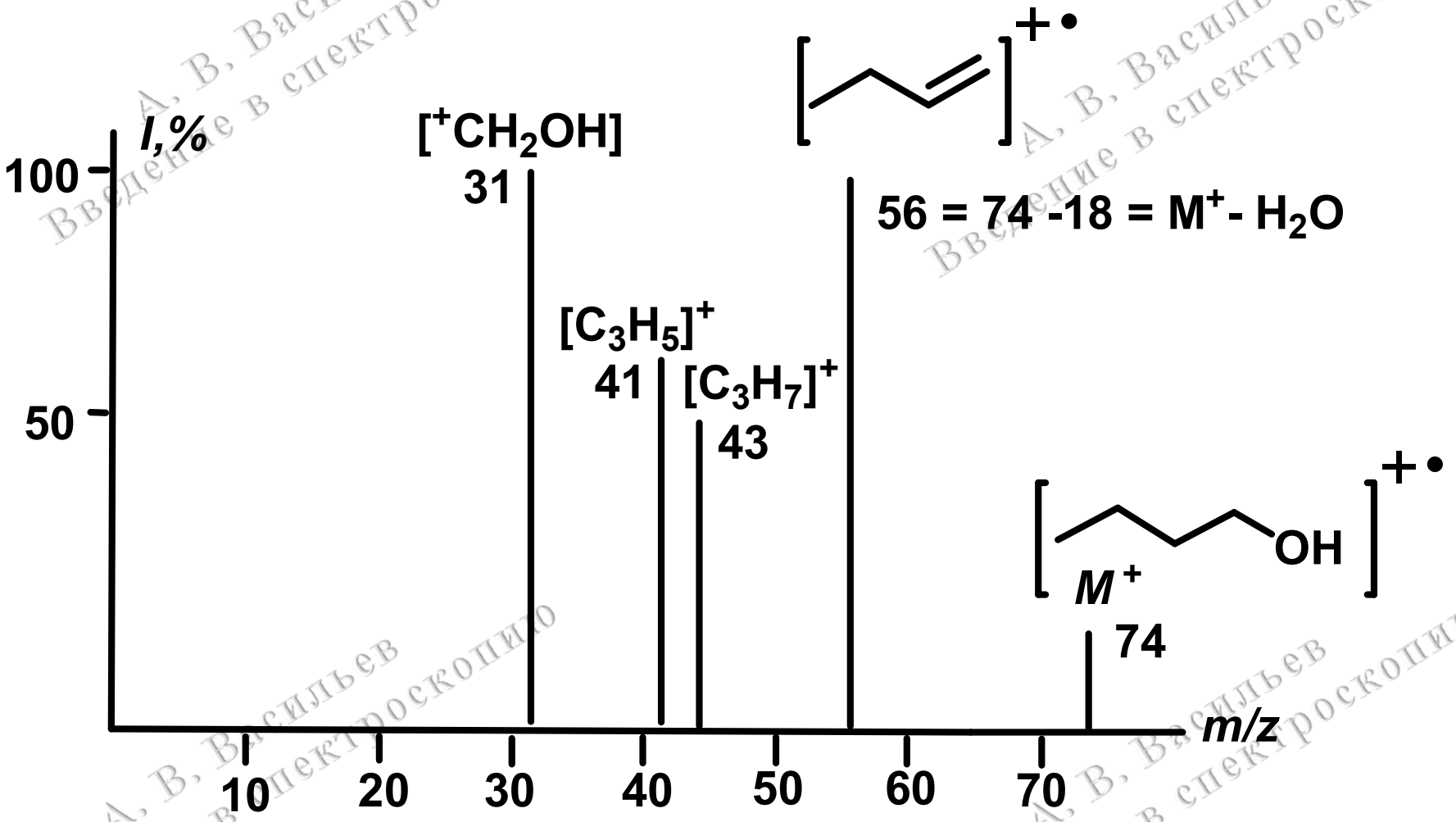
Молекулярные ионы M^+ образуются при потере электрона от неподелённой электронной пары атома кислорода.

Основные пути распада:

- **элиминирование молекулы H_2O;**
- **разрыв α-β связи.**

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

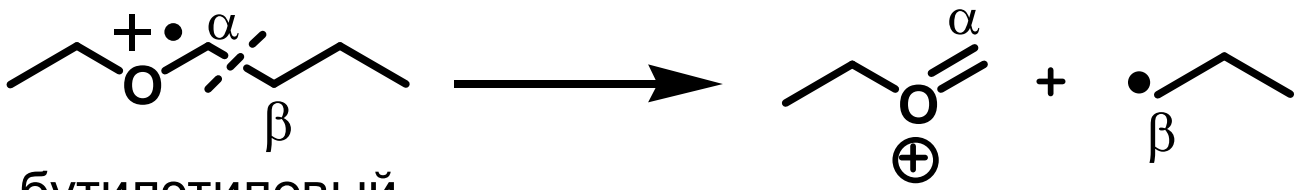
Масс-спектр бутанола-1



А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Простые эфиры

Характерен разрыв α-β связи:



бутилэтиловый эфир M^+ = 102

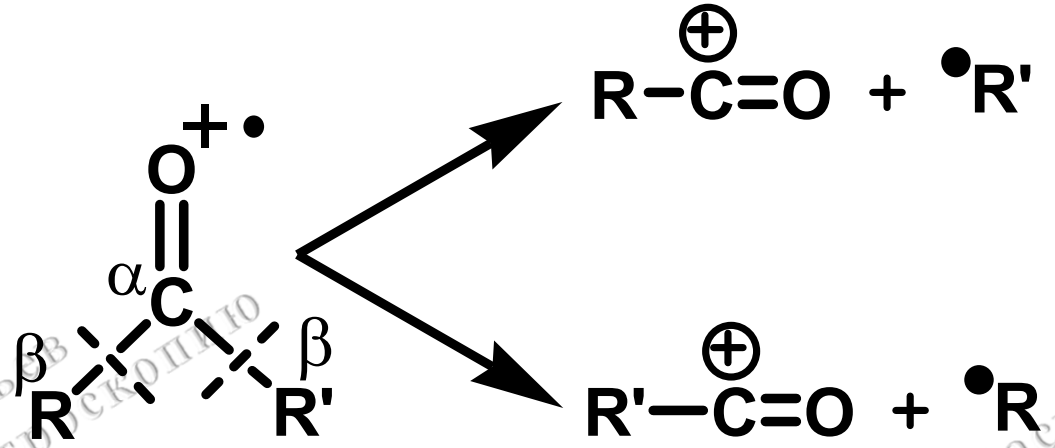
ион с m/z = 59

пропильный радикал C_3H_7 M = 43

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

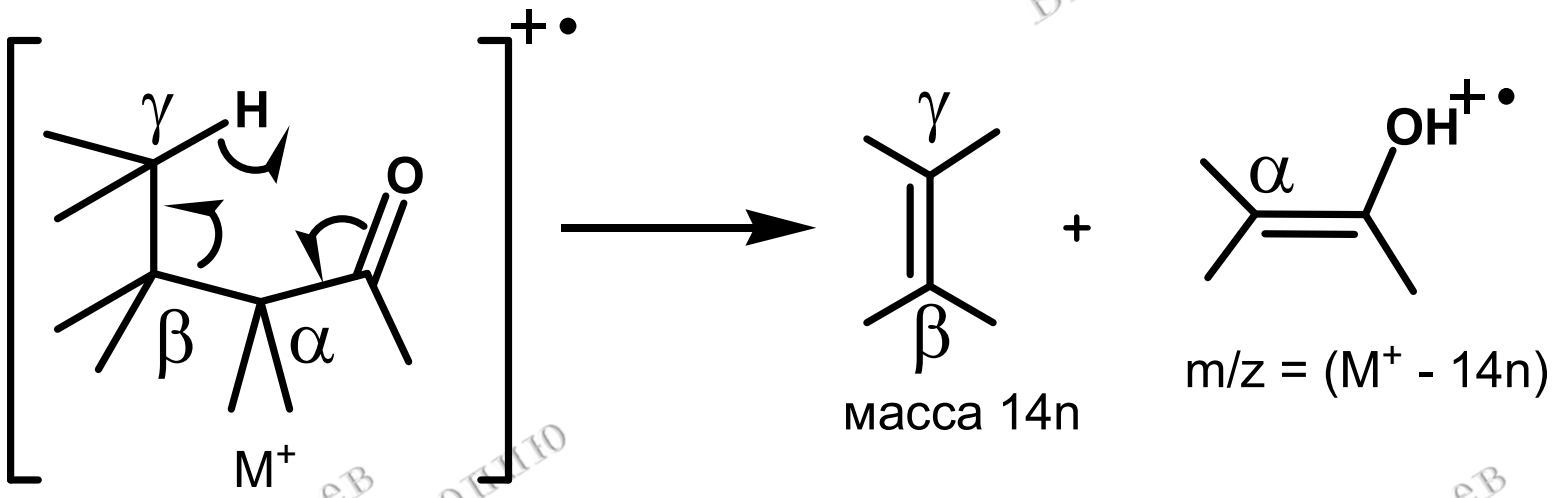
Альдегиды и кетоны

Характерен разрыв α-β связи с образованием ацильных катионов:



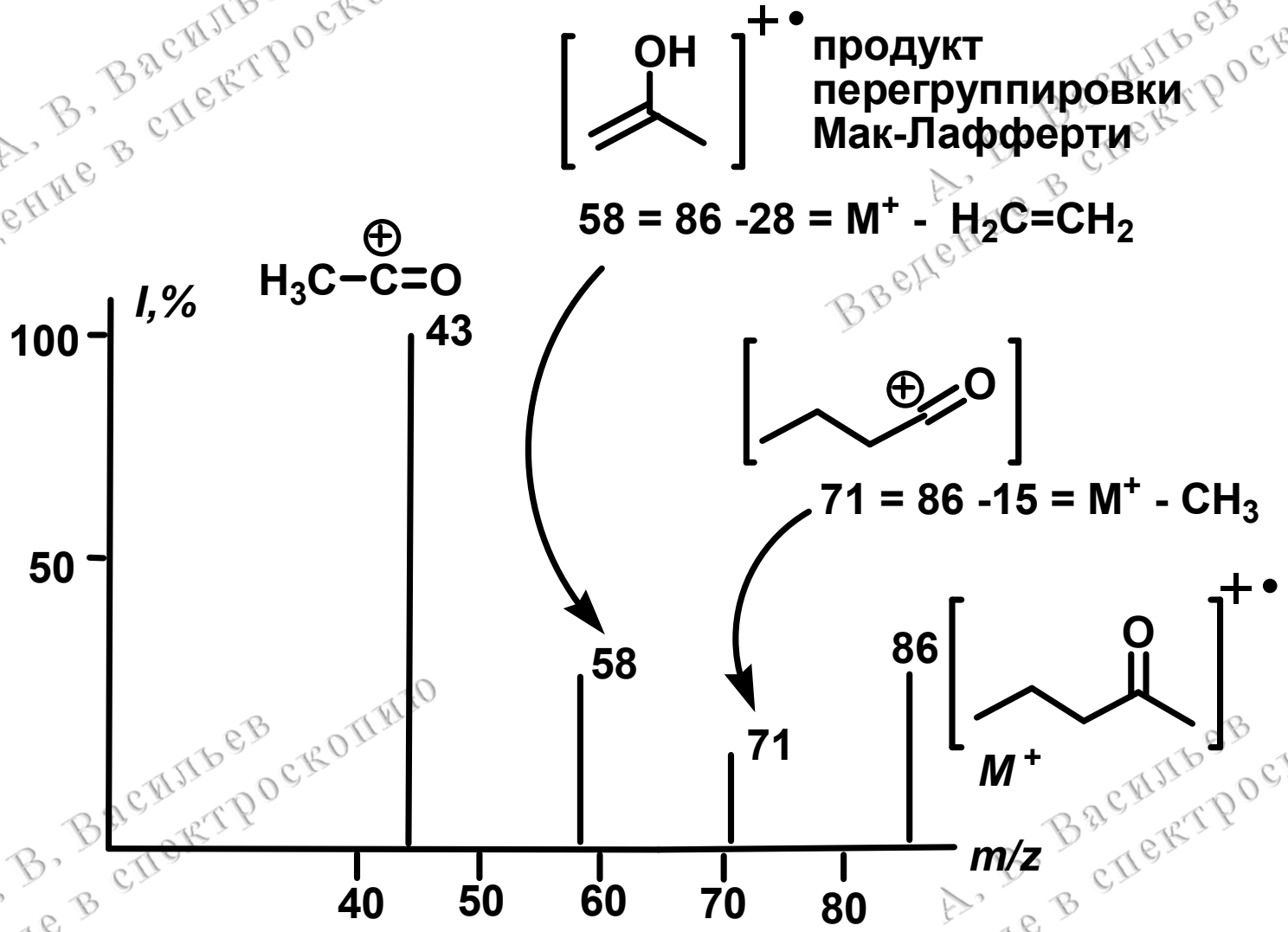
А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Для альдегидов и кетонов характерна перегруппировка Мак-Лафферти:



А. В. Васильев
Введение в спектроскопию

Масс-спектр пентанона-2



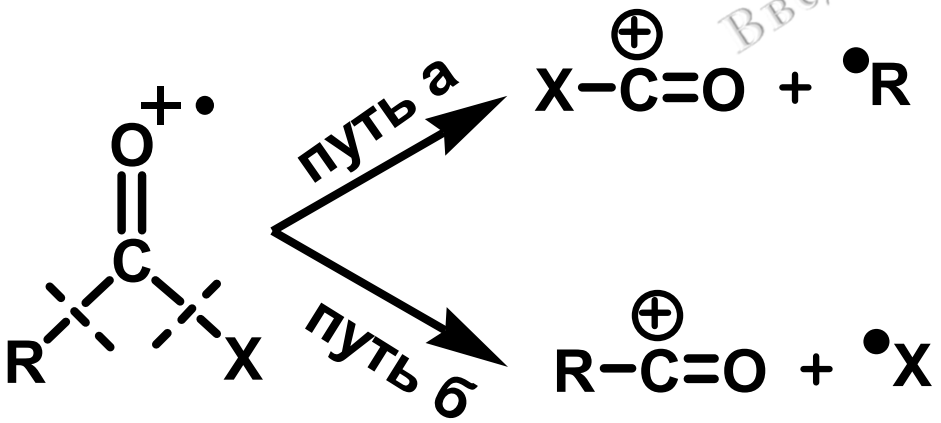
А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Карбоновые кислоты и их производные

Основные пути распада молекулярных ионов:

путь а: X = OH, NH_2;

путь б: X = OR, NHR, NR_2, Hal.



Для карбоновых кислот и их производных характерна перегруппировка Мак-Лафферти.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Ароматические соединения

Характерно образование стабильных высоко интенсивных молекулярных ионов M^+.

В масс-спектрах производных бензола содержатся характеристичные пики с m/z 78-76, 65-63, 52-50, 39-37.

Характер масс-спектрометрического распада аренов определяется заместителями в ароматическом кольце.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию

Литература по масс-спектрометрии

1. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. М.: Бином, 2003, 493 с.

2. Тахистов В.В., Пономарёв Д.А. Органическая масс-спектрометрия. СПб.: ВВМ, 2005, 346 с.

3. Терентьев П.Б. Масс-спектрометрия в органической химии. М.: Высш. шк., 1979, 224 с.

4. Джонстон Р. Руководство по масс-спектрометрии для химиков-органиков. М.: Мир, 1975, 236 с.

А. В. Васильев Введение в спектроскопию