

Применение масс-спектрометрии в анализе

На основании данных масс-спектрометрии веществ решаются аналитические и структурные задачи. ***Аналитические задачи:*** идентификация веществ, определение качественного и количественного состава смесей производится путем сравнения полученного спектра со спектрами, имеющимися в базе данных. ***Структурные задачи:*** при определении структурной формулы молекулы используется три блока данных, представленных в масс-спектре:

1. Пик молекулярного иона, позволяющего определить молярную массу вещества. 2. Кластеры изотопных пиков. 3. Пики ионов, полученных при трансформации молекулы (перегруппировочные, фрагментарные и пр.).

1. Определение молярной массы. Масс-спектрометрия является одним из методов определения молярной массы веществ. Источник информации – положение молекулярного пика M^+ . Итак, начинать работу со спектром следует с установления пика молекулярного иона.

Молекулярный ион. Масса M^+ - это молекулярная масса анализируемого соединения. Соотношение изотопных пиков позволяет установить примерный элементный состав, а измерение точной массы с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения – точный состав соединения. Относительная интенсивность пика M^+ позволяет сделать определенные предположения о структуре соединения. Например, для углеводов относительная интенсивность M^+ в полном ионном токе увеличивается *по мере увеличения степени ненасыщенности соединения*.

Многие соединения под ЭУ не дают пика молекулярного иона, он не стабилен. В связи с этим необходимо научиться правильно определять пик M^+ в спектре. Ион должен удовлетворять четырем необходимым, но не достаточным условиям, для того чтобы считать пик молекулярным:

1. Иметь самую большую массу в спектре.
2. Быть нечетноэлектронным.

3. Быть способным образовывать важнейшие ионы с большой массой за счет выброса реальных нейтральных частиц.

4. Включать все элементы, наличие которых в образце можно увидеть по фрагментным ионам.

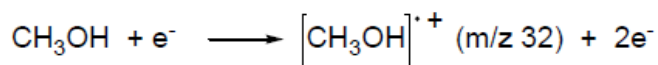
Если хотя бы одно из этих условий не выполняется, ион не молекулярный. Если все 4 условия выполняются – ион может быть молекулярным.

Вероятность образования и устойчивость молекулярного иона для разных соединений различна. В масс-спектре некоторых соединений практически отсутствует молекулярный ион. Так, при ионизации CCl_4 получают ионы CCl_3^+ , CCl_2^+ , CCl^+ , Cl^+ , C^+ . π -Системы образуют более стабильные молекулярные ионы, чем σ -системы. По вероятности образования молекулярного иона и его устойчивости классы органических соединений можно расположить в следующий ряд: ароматические соединения > олефины > алициклические соединения > неразветвленные углеводороды > кетоны > амины > эфиры > карбоновые кислоты > разветвленные углеводороды > спирты.

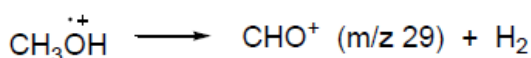
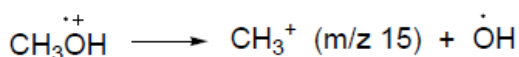
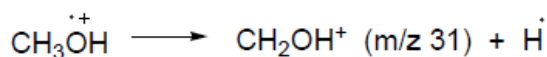
2. Процессы фрагментации. Электронный удар (ЭУ) – наиболее распространенный метод ионизации в масс-спектрометрии. Преимуществом этого метода является возможность использования поисковых систем и баз данных (метод ЭУ был исторически первым методом ионизации, основные базы экспериментальных данных получены на приборах с ЭУ). Молекула вещества пробы в газовой фазе подвергается бомбардировке электронов с высокой энергией (обычно 70 эВ) и выбрасывает электрон, образуя катион-радикал, называемый **молекулярным ионом**: $\text{M} + \text{e} \rightarrow \text{M}^+\bullet$ (молекулярный ион) + 2e . Наименьшая энергия бомбардирующих (ионизирующих) электронов, при которой возможно образование из данной молекулы иона, называется энергией ионизации вещества (U_e). *Энергия ионизации является мерой прочности, с какой молекула удерживает наименее сильно связанный с ней электрон.* Как правило, для органических молекул энергия ионизации составляет 9-12 эВ, поэтому бомбардировка электронами с энергией 50 эВ и

выше сообщает избыточную внутреннюю энергию возникающему молекулярному иону. Эта энергия частично рассеивается за счет разрыва ковалентных связей. В результате такого разрыва происходит распад молекулярного иона на частицы меньшей массы (фрагменты). Такой процесс называется *фрагментацией*.

Фрагментация происходит избирательно, является высоко воспроизводимой и характеристичной для данного соединения. Более того, процессы фрагментации предсказуемы, и именно они обуславливают широкие возможности масс-спектрометрии для структурного анализа. По сути, структурный анализ методом масс-спектрометрии заключается в идентификации осколочных ионов и ретроспективном восстановлении структуры исходной молекулы, исходя из направлений фрагментации молекулярного иона. Так, например, метанол образует молекулярный ион по схеме:



Многие из этих молекулярных ионов распадаются за время $10^{-10} - 10^{-3}$ с и дают ряд осколочных ионов (первичная фрагментация):



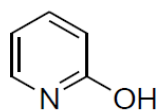
Каждый из образовавшихся фрагментов далее сам может распадаться на еще более мелкие фрагменты (вторичная фрагментация). Если некоторые из молекулярных ионов имеют достаточно большое время жизни, то они достигают детектора и регистрируются в виде пика молекулярного иона. *Поскольку заряд исходного иона равен единице, отношение m/z для этого пика дает молекулярную массу исследуемого вещества.* Таким образом, масс-спектр – это представление относительных концентраций положительно заряженных осколков (включая молекулярный ион) в зависимости от их масс. В

специальной литературе приводятся таблицы наиболее часто встречающихся фрагментных ионов, где указана структурная формула иона и его значение m/z .

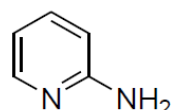
Высота наиболее интенсивного в спектре пика принимается за 100%, а интенсивности других пиков, включая пик молекулярного иона, выражаются в процентах от максимального пика. В определенных случаях самым интенсивным может быть и пик молекулярного иона. В общем случае: *интенсивность пика зависит от устойчивости образующегося иона*. В масс-спектрах часто присутствует серия пиков фрагментных ионов, различающихся на гомологическую разность (CH_2), т.е. 14 а.е.м.

Как определить, данный ион является молекулярным или фрагментным? Конечно, если есть возможность, то следует снять спектр с химической ионизацией; в этом случае Вы получите спектр с интенсивным молекулярным ионом, при незначительной фрагментации. В противном случае придется прибегнуть к 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. Например, в масс-спектре самый тяжелый ион 120, следующий за ним – 112. Вывод: ион 120 – не молекулярный, а фрагментный.

3. **Определение элементного состава ионов на основании изотопных пиков.** Масс-спектрометрия высокого разрешения способна определить точный элементный состав ионов, что позволяет установить молекулярную формулу вещества. В настоящее время относительная молекулярная масса измеряется

в атомных единицах массы (а.е.м.), которая составляет $1/12$ массы изотопа $^{12}\text{C} = 12.000000$. В этой шкале атом водорода Н имеет массу 1.007825, а кислорода $^{16}\text{O} = 15.994914$. Таким образом, масса атома, измеренная с высокой точностью, отличается от массового числа. Так, для CO_2 и C_3H_8 оно равно 44, но их точные относительные молекулярные массы равны соответственно 43.989828 и 44.062600, т.е. разница составляет 0.072772 а.е.м. Масс-спектрометр высокого разрешения позволяет различить эти массы и однозначно определить молекулярную формулу вещества.

При использовании масс-спектров низкого разрешения установить брутто-формулу можно на основании данных по природному содержанию отдельных изотопов. Обычно в масс-спектре любого органического соединения появляются пики с массами $M+1$ и $M+2$, что связано, с изотопным составом элементов, входящих в органическое соединение. Для удобства элементы называются А, А+1, А+2 в зависимости от того, какой изотоп они имеют помимо основного. В таблице 1 приведены данные по изотопному составу наиболее часто встречающихся элементов. Анализ соотношения пиков в молекулярном кластере позволяет делать определенные выводы об элементном составе исследуемых соединений.

Таблица 1. Природная распространенность изотопов химических элементов

Элемент	Изотоп (естественное содержание, %)			Тип элемента
H	¹ H (99.99)	² D (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

Существует простое правило для проверки наличия в составе основных (A+2) элементов. Если интенсивность пика M+2 составляет менее 3% от интенсивности пика M⁺, соединение не содержит атомов хлора, брома, серы и кремния. Эти атомы легко детектируются масс-спектрометрически благодаря характерной для каждого элемента мультиплетности сигнала. В случае хлора отношение интенсивностей пиков A и (A+2) составляет 3:1, а в случае брома – 1:1. Наличие двух или более атомов (A+2) – элемента в составе иона дает уникальное соотношение изотопных пиков в мультиплете, благодаря которому природа и количество этих элементов может быть легко установлены.

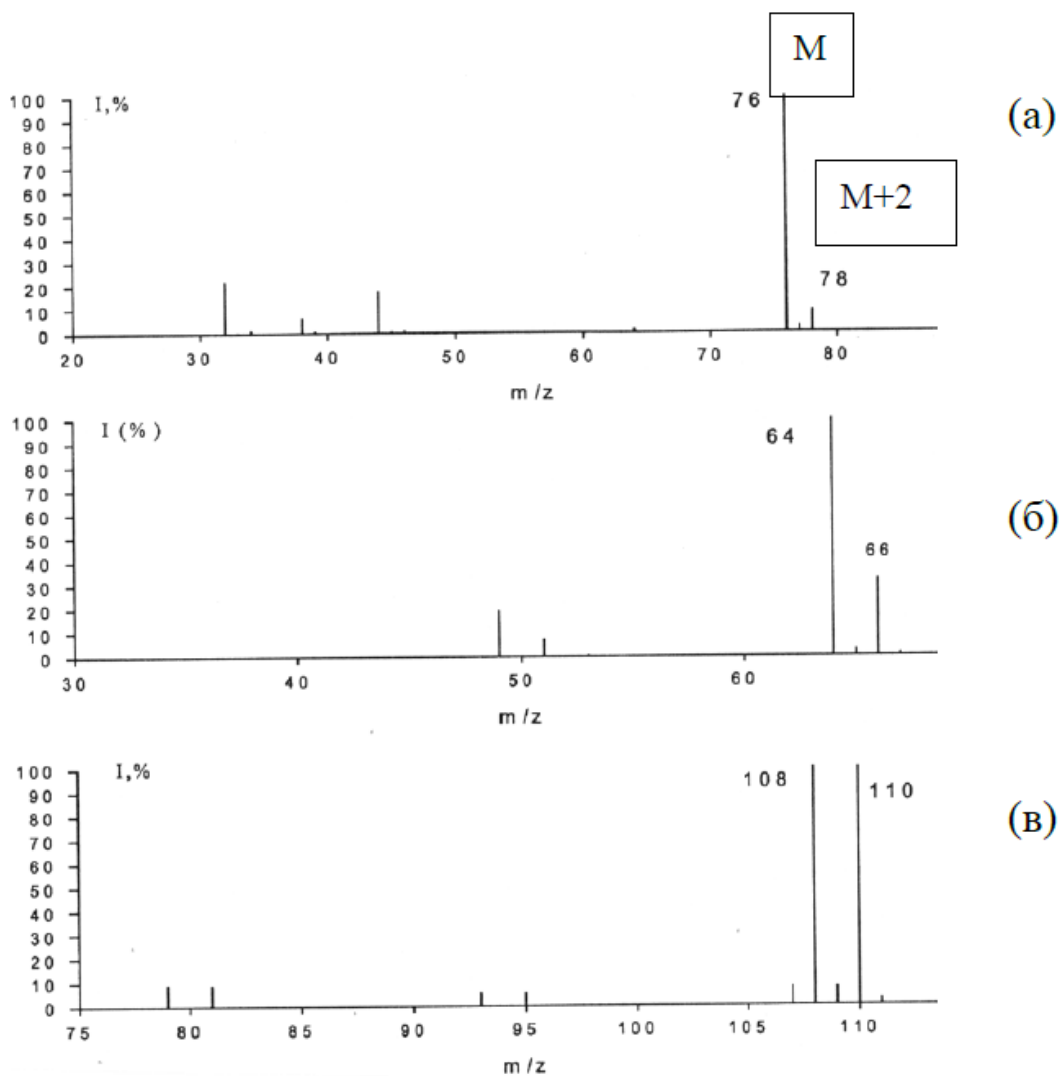


Рис. 2.2. Масс-спектры сероуглерда (а), этилхлорида (б), этилбромиды (в).

После того как удалось установить присутствие в анализируемом образце $(A+2)$ – элементов, необходимо перейти к определению $(A+1)$ – элементов (C, N). В зависимости от источника анализируемого образца содержание изотопа ^{13}C может колебаться в диапазоне 1.08 – 1.12% от ^{12}C . Наличие одного атома углерода в молекуле метана приводит к появлению наряду с пиком M^+ с m/z 16 пика с m/z 17 за счет присутствия молекул $^{13}\text{CH}_4$ с интенсивностью 1.1%. Увеличение числа атомов углерода в молекуле приводит к увеличению интенсивности пика ионов $M+1$ до величины $1.1n\%$, где n – число атомов углерода в молекуле. Для определения числа атомов углерода в молекуле необходимо разделить интенсивность пика $M+1$ на 1.1.

Например, в спектре наблюдается молекулярный ион, интенсивность пика M – 66.5%, интенсивность $M+1$ - 2.29%. Находим интенсивность пика $M+1$ по отношению к M в процентах: $66.5 - 100\%$; $2.29 - x\%$; $x = 3.44 \%$
Находим максимальное число атомов углерода: $3.44:1.11 = 3$.

Азот является $(A+1)$ -элементом, причем природная распространенность изотопа ^{15}N составляет примерно 0.4% от ^{14}N . Поскольку помимо азота только углерод вносит значимый вклад в интенсивность пика $A+1$, пользуясь различиями в интенсивности изотопов ^{13}C и ^{15}N и азотным правилом, можно оценить число атомов азота в молекуле.

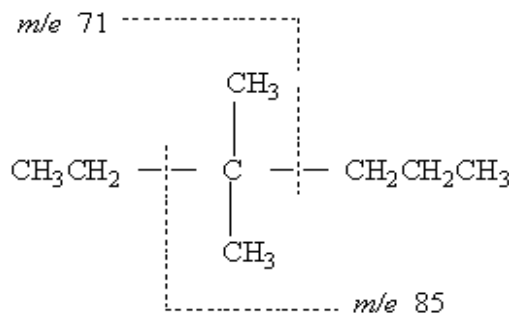
Когда установлена природа и количество $(A+1)$ и $(A+2)$ -элементов в молекуле, несложно сделать аналогичные заключения и о моноизотопных элементах. Эти элементы имеют специфические массы, поэтому их определение не вызывает затруднений.

Таким образом, определение структуры органических соединений основывается на изучении пиков осколочных ионов. В области высоких масс важны практически все пики, даже если их интенсивность ниже 1%. Существуют таблицы наиболее представительных ионов с указанием соответствующих им структур, которые могут быть использованы в качестве руководства при интерпретации масс-спектра. По пику молекулярного и осколочных ионов устанавливают элементный состав и химическую структуру соединения.

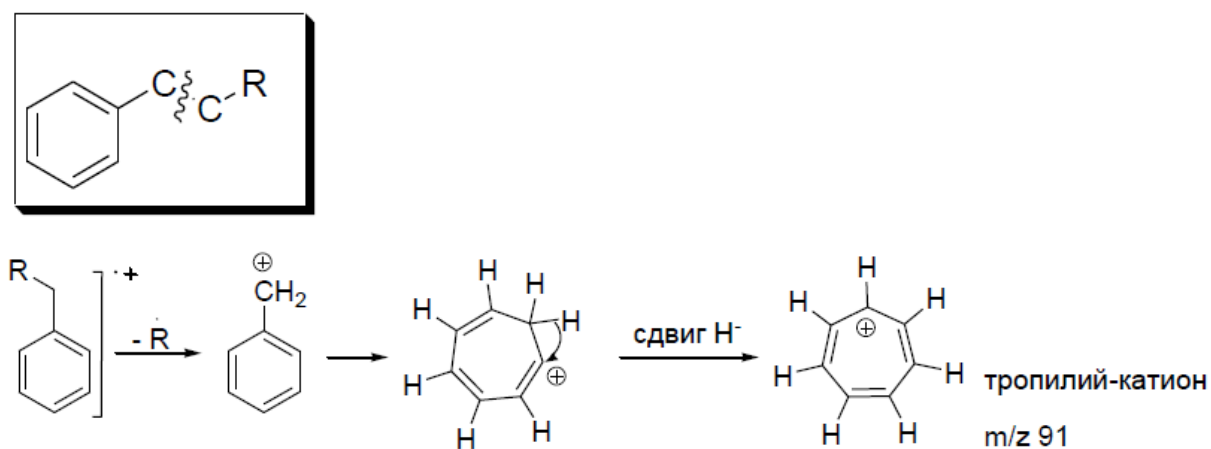
4. Направления фрагментации различных классов органических соединений. Общая строгая теория распада молекулярного иона не разработана, существуют лишь качественные полуэмпирические представления о направлениях фрагментации. Замечено, что спектр, содержащий много осколочных ионов, интенсивность пиков которых увеличивается с уменьшением m/e , как правило, соответствует алифатическому углеводороду или его производному. Как уже указывалось, ароматические соединения имеют интенсивный пик молекулярного иона.

Общие правила для предсказания наиболее интенсивных пиков в масс-спектре, полученным с использованием ЭУ.

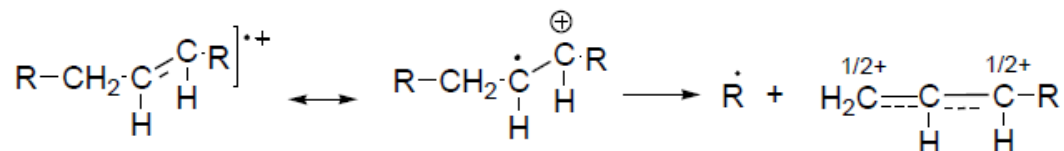
1. Относительная интенсивность пика молекулярного иона максимальна для неразветвленных соединений и уменьшается по мере увеличения разветвленности. При расшифровке масс-спектра следует выделить главные осколочные ионы и попытаться установить основные направления первичной фрагментации соединения. При оценке стабильности можно использовать обычные критерии, известные из курса органической химии. Третичный алкильный карбокатион устойчивее вторичного, а вторичный – первичного. Бензильный и аллильный катионы устойчивы благодаря *резонансной стабилизации*. В случае алканов с разветвленной цепью наблюдается более интенсивный разрыв связей в местах m/e 71 разветвления. Например, в случае 3,3-диметилгексана первичная фрагментация происходит с образованием осколков с m/e 71 и 85, которые фрагментируются в дальнейшем с разрывом С-С-связей:



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



2. Двойные связи, циклические структуры и, особенно ароматические (гетероароматические) циклы, стабилизируют молекулярный ион. Двойные связи способствуют аллильному распаду с образованием аллильного карбокатиона.



3. Самые простые, но важные заключения можно сделать на основании выбросов нейтральных фрагментов из M^+ . Зачастую ионы распадаются с выбросом небольших нейтральных молекул: водород, метан, вода, монооксид и диоксид углерода, монооксид азота, хлористый водород, сероводород, метанол и т.д. В результате этих процессов возникают ионы с большой массой: $(M - 1)^+$, $(M - 15)^+$, $(M - 18)^+$, $(M - 20)^+$, $(M - 28)^+$. Большая отрицательная величина теплоты образования этих молекул создает преимущества для реализации соответствующего направления распада.

Например, широко распространенные в химии ароматических соединений фенолы, фениловые эфиры и амины проявляют сложное поведение в реакциях фрагментации. В случае фенола от молекулярного иона отщепляются CO и CNO, но не OH, в случае анизола - CH_2O и CNO, но не метил или метоксил, а в случае анилина - HCN:

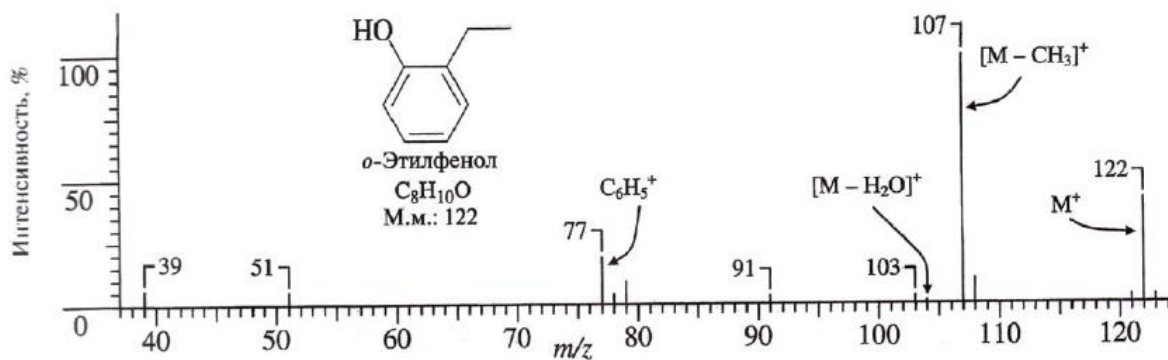
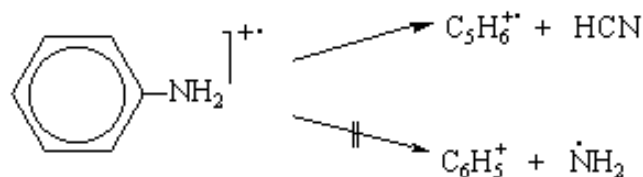
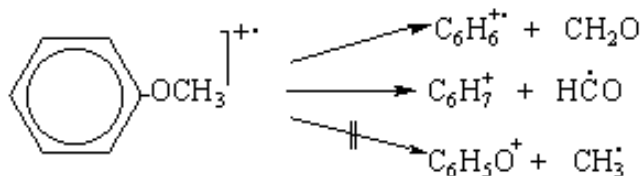
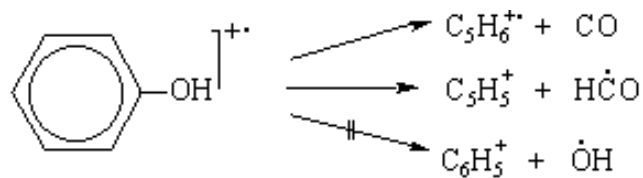
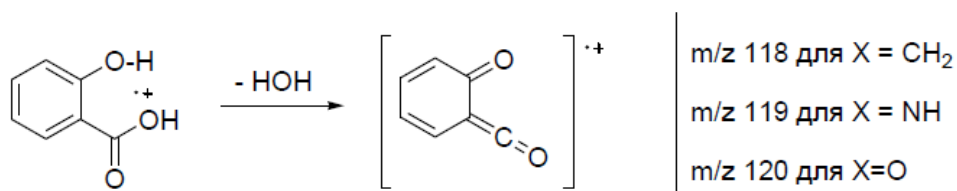
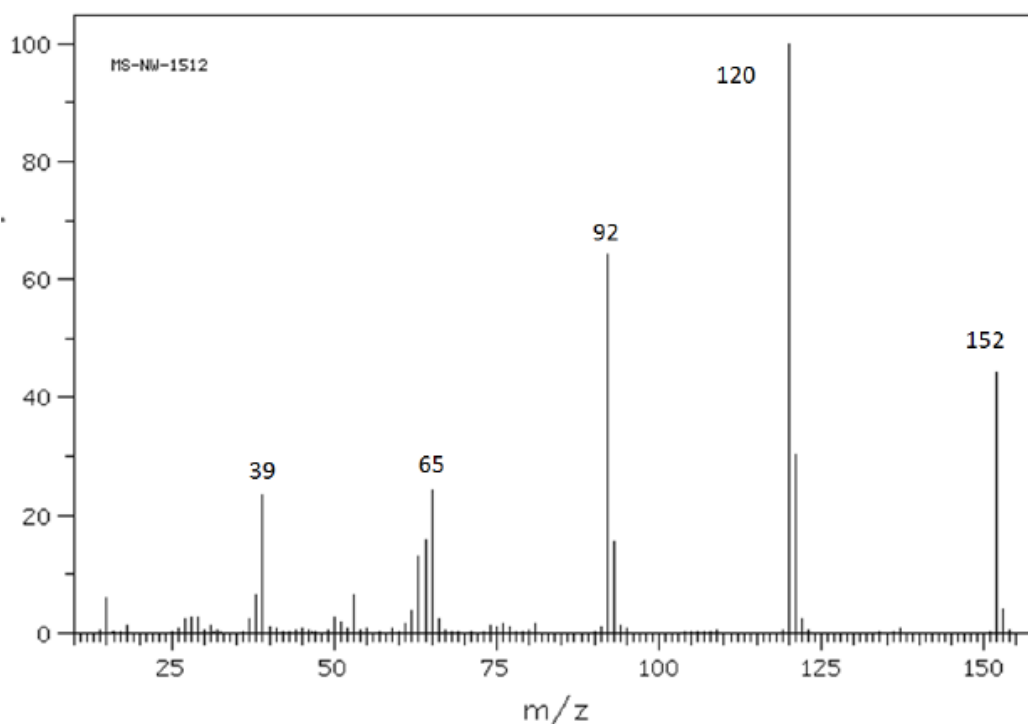


Рис. 2.9. Масс-спектр с ионизацией ЭУ орто-этилфенола.

4. Одним из наиболее очевидных проявлений структурных различий является **орто-эффект**. Спектры подавляющего большинства орто-замещенных ароматических соединений существенно отличаются от их *мета*- и *пара*-изомеров.



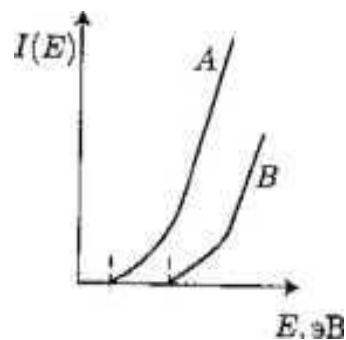
Например, в масс-спектрах алкилсалицилатов наблюдаются интенсивные пики ионов $[\text{M} - \text{ROH}]^+$, отсутствующие в спектрах их *мета*- и *пара*-изомеров. Ниже на рисунке представлен масс-спектр метилсалицилата.



Аналогично идут фрагментации ортозамещенных производных различных классов органических соединений. *Орто*-метилбензиловый спирт, *орто*-крезол, *орто*-толуиловая кислота.

Таким образом, метод масс-спектрометрии представляет собой один из мощных и быстрых методов установления состава и структуры органических соединений. Однако одним из условий получения качественного масс-спектра является наличие индивидуального образца. В силу этого масс-спектрометрия сложных смесей органических соединений до недавнего времени была задачей практически неразрешимой. Из сложной смеси необходимо было выделять с помощью колоночной хроматографии индивидуальные вещества с высокой степенью чистоты (95-99%). В настоящее время эта задача успешно решается с использованием метода хромато-масс-спектрометрии. Индивидуальные вещества сложной смеси, разделенные на хроматографической колонке, непосредственно поступают в масс-спектрометр, который и записывает масс-спектры индивидуальных соединений. Автоматизация данного метода и наличие банка данных по масс-спектрам органических соединений делает задачу идентификации достаточно простой и быстрой (за день можно идентифицировать индивидуальные вещества примерно в 5-10 смесях).

5. Определение потенциалов ионизации молекул. При определении потенциалов ионизации проводят регистрацию ионного тока в зависимости от напряжения, ускоряющего ионизирующие электроны (E). При этом получают так называемые *кривые эффективности ионизации* $I(E)$. Регистрация кривых эффективности ионизации веществ, молекулы (или атомы) которых имеют известные потенциалы ионизации и одинаковую линейную часть этих кривых, позволяет скорректировать определение потенциала ионизации исследуемого вещества. Достижимая точность определения составляет 0.1 эВ. Фотоионизация приводит к повышению точности на порядок (до – 0.01 эВ). Значения ПИ для ряда соединений можно использовать, например, для их сопоставления:



Значения ПИ уменьшаются для молекул, имеющих кратные связи и сопряженные кратные связи, что согласуется с представлениями об отрыве внешнего электрона с ВЗМО. При наличии кратных связей и сопряженных связей уменьшается разность энергий между ВЗМО и НСМО.

В алканах ПИ уменьшается с увеличением числа атомов углерода от 12.98 эВ в CH_4 до 10.08 эВ в *n*-гептане. Этот факт указывает на то, что МО охватывает всю молекулу, а не локализована на связи. Интересные и важные результаты получают при определении энергий разрыва химических связей, D , кДж/моль:

Молекула	D	Молекула	D	Молекула	D
CH_3-H	428	CH_3-Cl	338	$\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$	252
$\text{C}_2\text{H}_5-\text{H}$	407	$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2-\text{Cl}$	254	$\text{O}_2\text{N}-\text{NO}_2$	57
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2-\text{H}$	323	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2-\text{Cl}$	254	$\text{F}_2\text{N}-\text{NF}_2$	80
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{H}$	428	$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-\text{Cl}$	202		

Значительное уменьшение энергии разрыва связей $\text{C}-\text{H}$ и $\text{C}-\text{Cl}$ в аллильных и бензильных производных подтверждает представление о сопряжении в соответствующих радикалах. Энергия разрыва $\text{N}-\text{N}$ -связи также зависит от

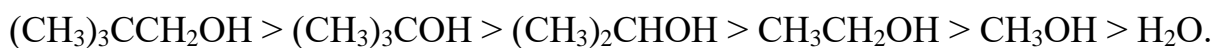
заместителей и валентного состояния атома N. Таким образом, масс-спектрометрия позволяет получить экспериментальные данные необычайно важные с точки зрения теории химического строения веществ.

6. Масс-спектральные термодинамические исследования. Определение парциального давления паров веществ. Определение теплоты сублимации. Зависимость давления от температуры позволяет рассчитать теплоты сублимации ΔH . Определение константы равновесия химической реакции и теплоты реакции. Если определены парциальные давления при температуре T и найдена K_p , а также рассчитано изменение энтропии процесса, то можно также вычислить ΔH реакции.

В отличие от органической химии, в неорганической химии масс-спектрометрия используется в основном для термодинамических исследований. Этот метод дал возможность изучать важнейшие процессы, происходящие при испарении веществ. Так, при исследовании системы La-La₂O₃, оказалось, что пар содержит La и LaO. Из масс-спектра определены ΔH (LaO). В системе Ba-BaO в парах найдены молекулы BaO, Ba₂O, Ba₂O₂; Ba₂O₃.

Ион-молекулярные равновесия. Для ряда неорганических систем, включающих соединения щелочных элементов, можно достигнуть температур, при которых в газовой фазе будет иметь место равновесие с участием ионов, т.е. ионизация происходит в результате теплового возбуждения молекул.

На основе значений K_p ион-молекулярных равновесий рассчитывают важные для химии характеристики - энергии образования ионов, энергии разрыва химических связей, величины сродства к электрону и потенциалы ионизации молекул. Исследование ион-молекулярных реакций методом химической ионизации и ион-циклотронного резонанса дает возможность устанавливать различие в строении одинаковых по составу ионов, измерять кислотность и основность веществ. Например, показано, что основность аминов в газовой фазе убывает в ряду $(\text{CH}_3)_3\text{N} > (\text{CH}_3)_2\text{NH} > \text{CH}_3\text{NH}_2$. В воде: $(\text{CH}_3)_2\text{NH} > (\text{CH}_3)_3\text{N} > \text{CH}_3\text{NH}_2$. Неожиданный ряд кислотности выявлен для спиртов:



Он означает, что алкильные группы стабилизируют отрицательный заряд. В газовой фазе толуол оказался более сильной кислотой; чем CH_3OH и H_2O , хотя в водном растворе имеется обратное соотношение.

7. Масс-спектрометрия в химической кинетике. Общий принцип применения метода масс-спектрометрии в кинетических исследованиях основан на возможности идентификации и определения количества веществ во времени, т.е. на аналитических приложениях метода. Таким образом были определены константы очень быстрых реакций атомов Н с молекулами F_2 , Cl_2 , O_2 , C_2H_4 , C_3H_6 , радикалами CH_3 , HO_2 и т. п.

Наиболее распространенным способом изучения механизма реакции оказался *метод изотопной метки*, которая представляет, например, более тяжелый изотоп элемента. Так, для реакции бензойной кислоты с метанолом, меченым кислородом-18, найдено, что именно кислород спирта становится эфирным кислородом. Реакция этерификации происходит с отщеплением группы OH от кислоты и атома Н от спирта.

Изотопная метка активно используется в масс-спектрометрии для исследования механизма фрагментации и установления структуры ионов. Использование дейтерированного метанола позволило предположить, что при ионизации отщепление водорода осуществляется, в основном, от метильной группы:



Методы масс-спектрометрии имеют очень широкое применение в различных областях науки и практики. Основные направления развития аппаратуры, естественно, идут по пути повышения разрешающей способности, чувствительности и автоматизации на основе использования ЭВМ, а также увеличения интервала измеряемых масс-ионов, разработки новых методов ионизации.

Огромная информация, полученная при изучении масс-спектров, систематизирована в справочниках, созданы электронные базы данных.