

Spektrometria mas (1) Opracował: Wojciech Augustyniak

Spektrometr masowy ma źródło jonów, które jonizuje próbkę. Jony wędrują w polu elektromagnetycznym do detektora.

Metody jonizacji:

- elektronowa (**EI**)
- chemiczna (**CI**)
- bombardowanie szybkimi atomami (**FAB**) lub jonami (**FIB**) – metody **LSIMS** (spektrometria jonów wtórnych w ciekłej matrycy)
- polem (**FI**), desorpcja polem (**FD**)
- termosprej (**TSI**)
- elektrosprej (**ESI**)
- chemiczna (lub fotojonizacja) pod ciśnieniem atmosferycznym (**APCI** lub **APPI**)
- desorpcja promieniem laserowym z użyciem matrycy (**MALDI**), na krzemie (**DIOS**), lub wzmocniona powierzchnią (**SELDI**)
- plazmą wzbudzaną indukcyjnie (**ICP**)

Analizatory masy:

- magnetyczny (**B**)
- magnetyczny i elektryczny (**BE**) lub odwrotnie (**EB**)
- kwadrupolowy (**Q**)
- pułapka jonowa (**IT** lub **QIT**)
- czasu przelotu (**TOF**)
- jonowy rezonans cyklotronowy (**ICR**)

Spektrometria mas (2)

Widmo MS – względna intensywność (wysokość) pików od stosunku m/z ; piki pochodzą od jonów wytworzonych podczas jonizacji związku, oraz od naładowanych elektrycznie produktów rozpadu tych jonów.

Informacje z widm MS:

- masa cząsteczkowa związku (masa nominalna, monoizotopowa, średnia) – pik jonu molekularnego lub pseudomolekularnego (dla łagodnych metod jonizacji tj. EI, FAB, LSIMS, CI, ESI, MALDI) przy różnych napięciach na źródle jonów
- skład elementarny związku – dokładny pomiar masy cząsteczkowej i dopasowanie, profile izotopowe
- struktura związku – analiza fragmentacji, badanie ścieżek fragmentacji (MS/MS), wymiana izotopowa, badanie pochodnych związków

Polecane materiały: wykłady prof. Witolda Danikiewicza (Instytut Chemii Organicznej PAN) na ww2.icho.edu.pl

Widma: www.aist.go.jp

Masa cząsteczkowa związku

Reguła azotowa:

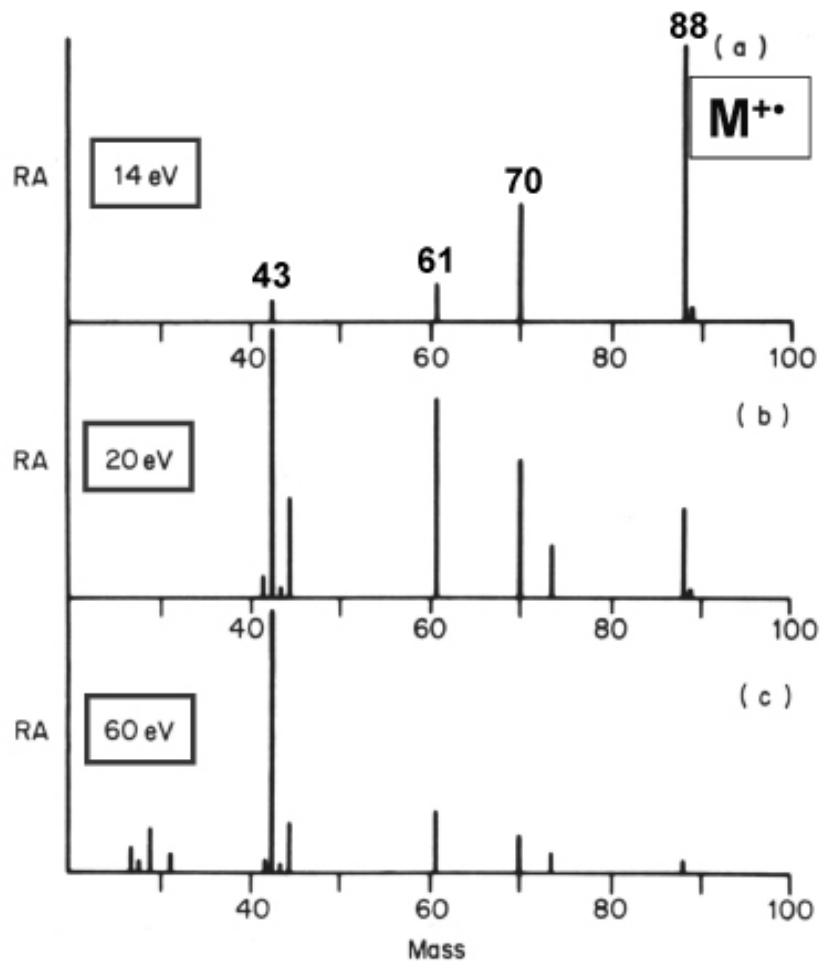
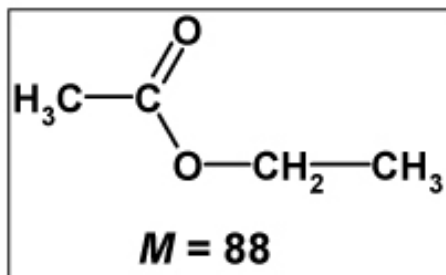
- dla jonów nieparzystoelektronowych (powstających głównie w EI): parzysta masa cząsteczkowa związku oznacza parzystą ilość atomów azotu w cząsteczce, nieparzysta masa cząsteczkowa oznacza nieparzystą liczbę atomów azotu
- dla jonów parzystoelektronowych (głównie w ESI, APCI, MALDI): parzysta masa cząsteczkowa związku oznacza nieparzystą liczbę atomów azotu, a nieparzysta masa cząsteczkowa parzystą liczbę atomów azotu

Jon **molekularny** w EI musi być jonem o najwyższej masie (pomijając jony izotopowe), a masy najbliższych mu jonów fragmentacyjnych muszą dać się wyjaśnić

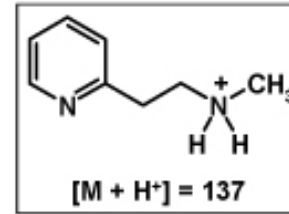
Jon **pseudomolekularny** (inaczej **quasimolekularny**, lub **jon typu molekularnego**, powstaje w ESI, APCI, LSIMS) musi tłumaczyć:

- ewentualne tworzenie klasterów z innymi związkami w próbce, w tym z rozpuszczalnikiem (ESI) lub z matrycą (LSIMS)
- piki pochodzące od jonów naładowanych wielokrotnie (w ESI i LSIMS)
- zakwaszenie powinno dawać pik $M+H^+$, a w obecności soli sodowej także $M+Na^+$
- w przypadku związków amfoterycznych jon pseudomolekularny dodatni powinien być większy od jonu ujemnego o 2 jednostki ($M+H^+$ vs $M-H^+$)

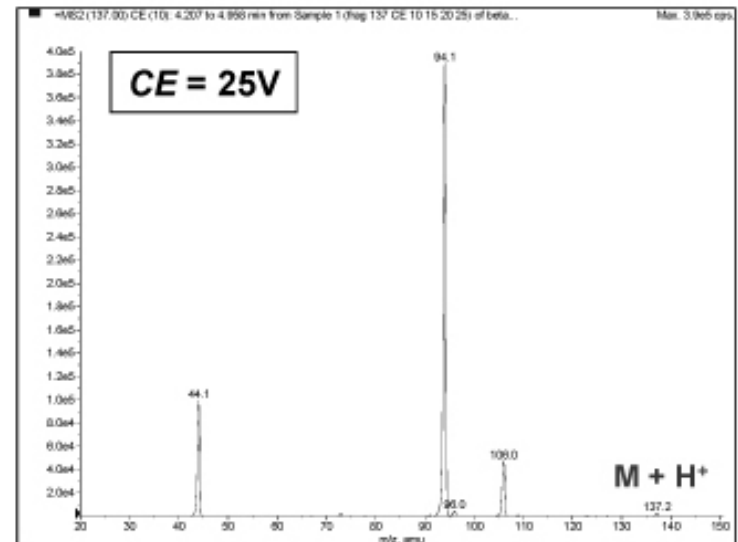
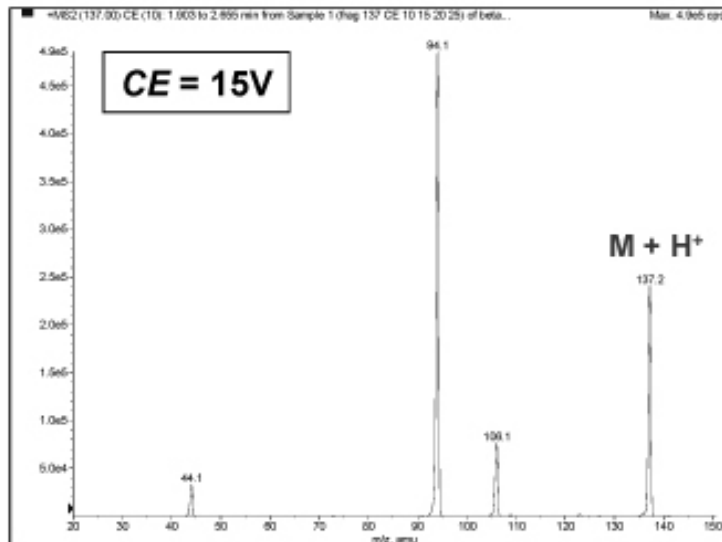
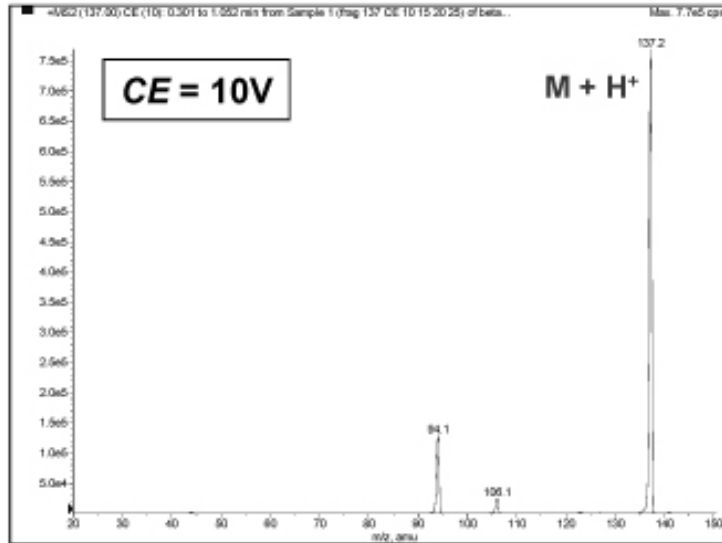
Zależność wyglądu widma EI octanu etylu od energii elektronów



Zależność stopnia fragmentacji od energii zderzeń

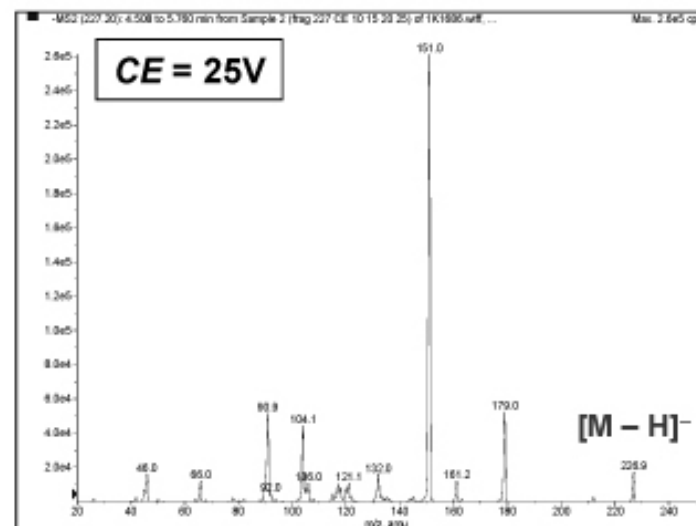
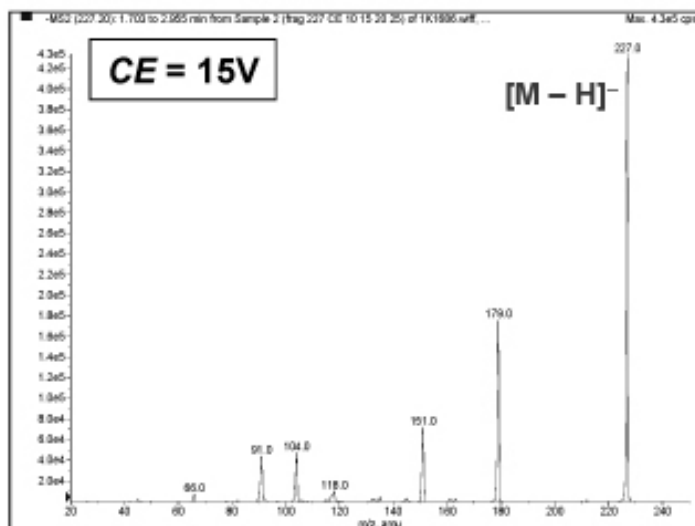
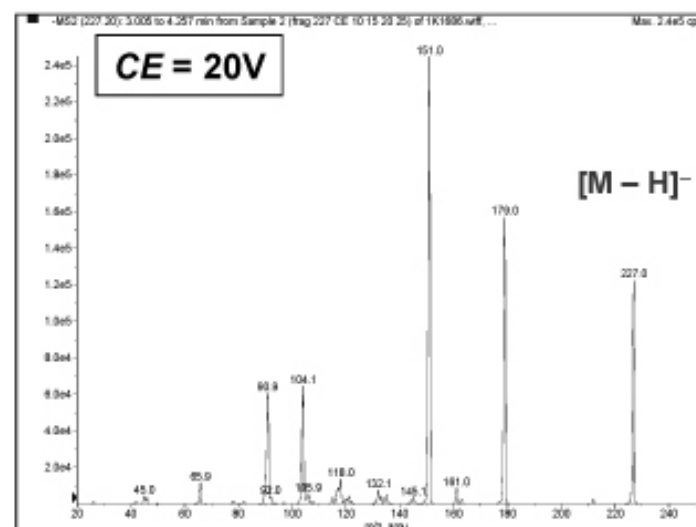
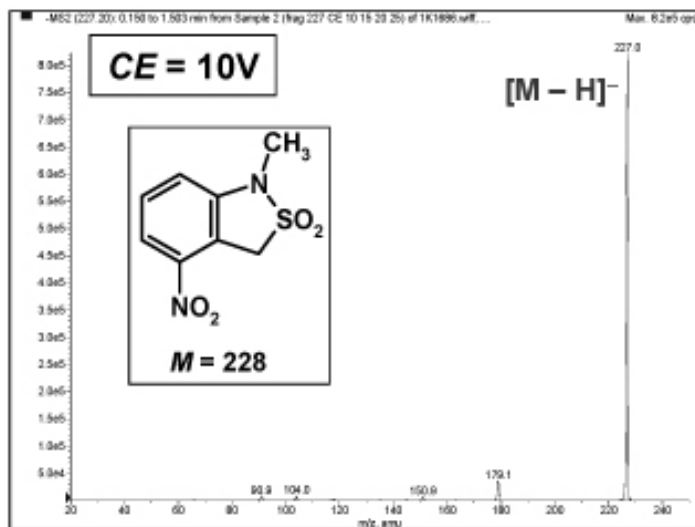


Copyright © 2003
Witold Danikiewicz



Zależność stopnia fragmentacji od energii zderzeń

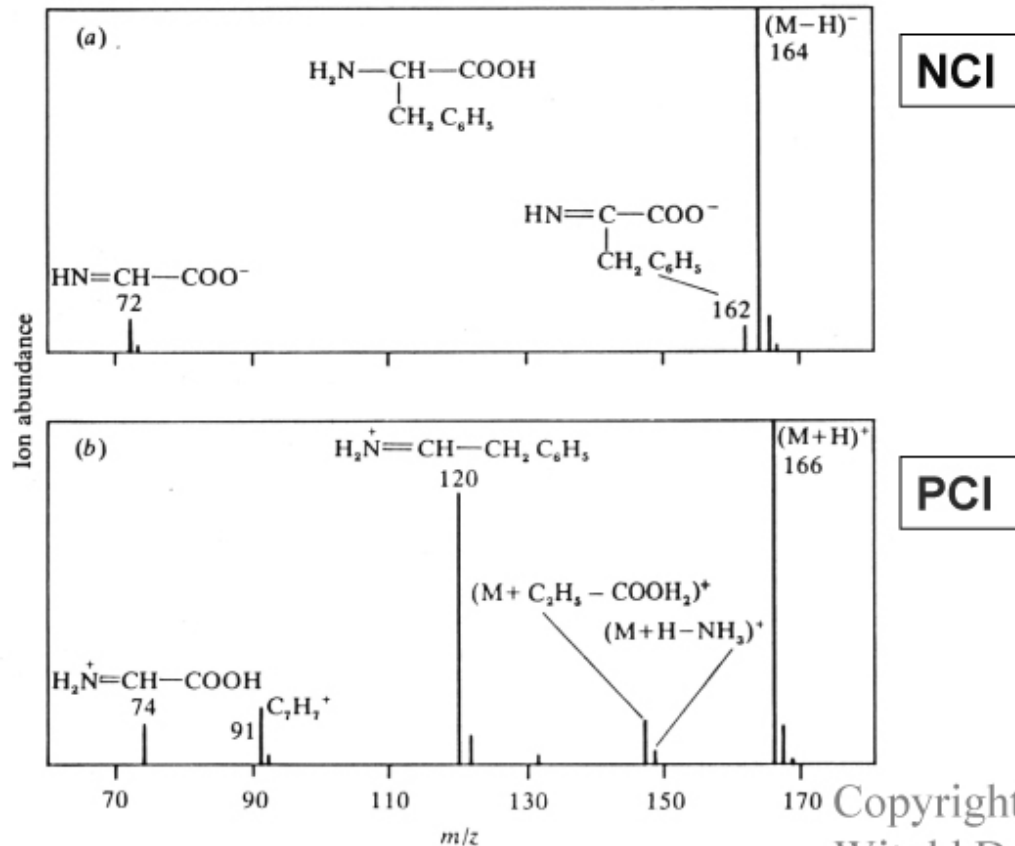
Copyright © 2003
Witold Danikiewicz



Jonizacja chemiczna

Cl za pomocą gazu, można tworzyć kationy (PCI) lub aniony (NCI)

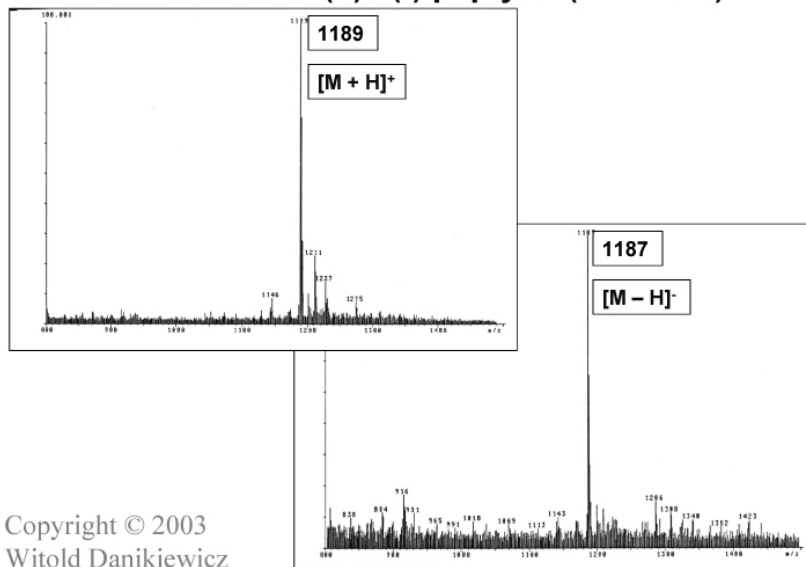
Widma PCI (CH_5^+) i NCI (OH^-) fenyloalaniny



LSIMS

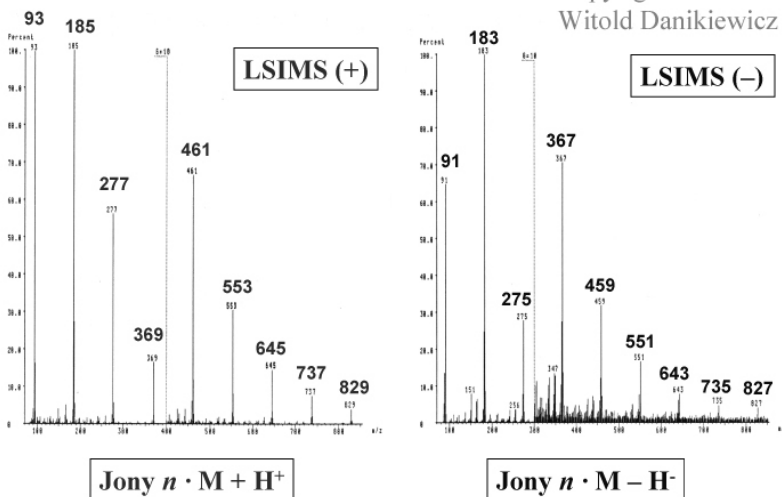
LSIMS w jonach dodatnich i ujemnych – porównanie

Widma LSIMS (+) i (-) peptydu ($M = 1188$)



Copyright © 2003
Witold Danikiewicz

Widma LSIMS (+) i (-) gliceryny
 $M = 92$



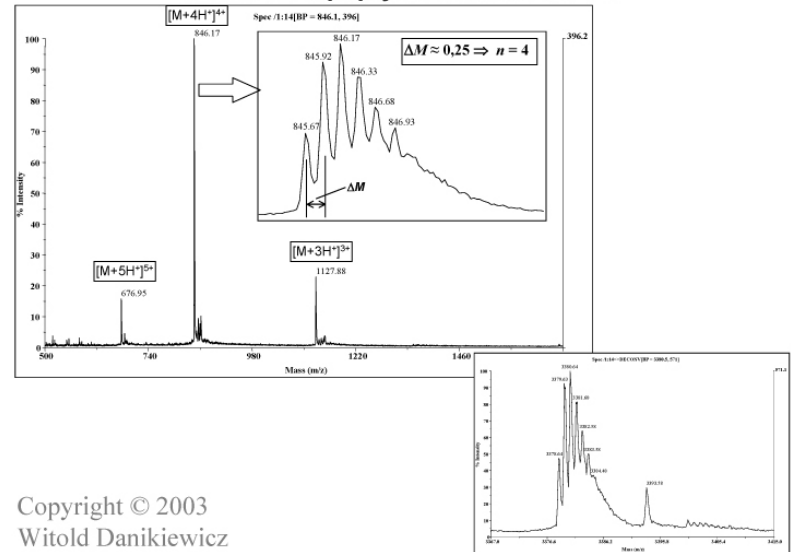
Copyright © 2003
Witold Danikiewicz

LSIMS umożliwia obserwację klasterów związków, w jonizacji dodatniej są piki $nM+H^+$, w ujemnej $nM-H^+$

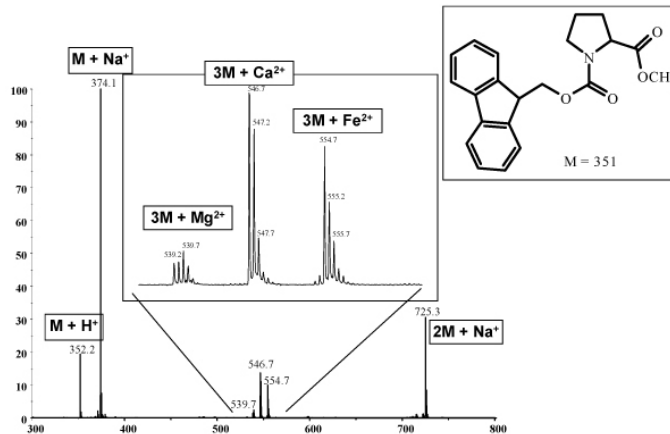
Elektrosprej

ESI nadaje się do analizy peptydów, białek, nukleotydów, a także kompleksów

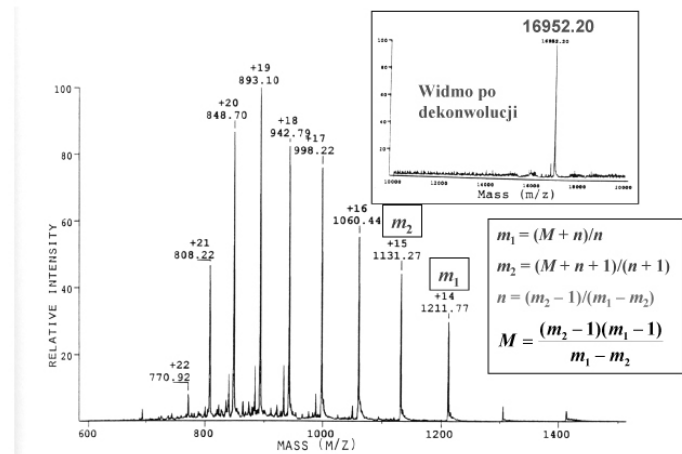
Widmo ESI peptydu o masie 3377 u



Widmo ESI w MeOH estru metylowego *N*-FMOC-proliny



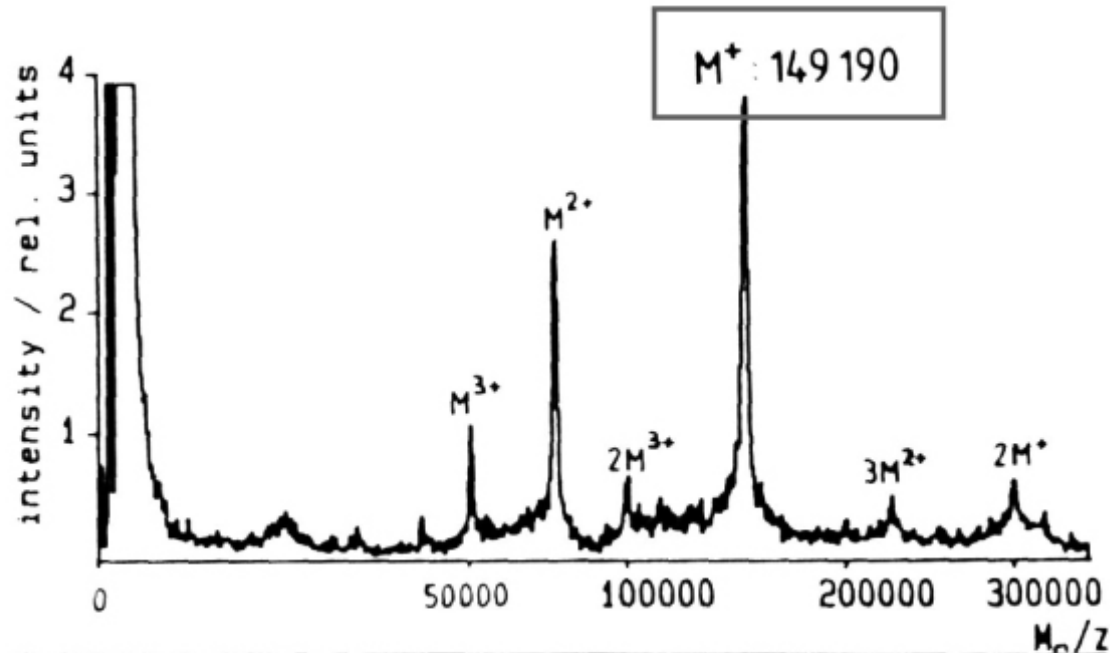
WIDMO ESI PEPTYDU O MASIE 16952 Da



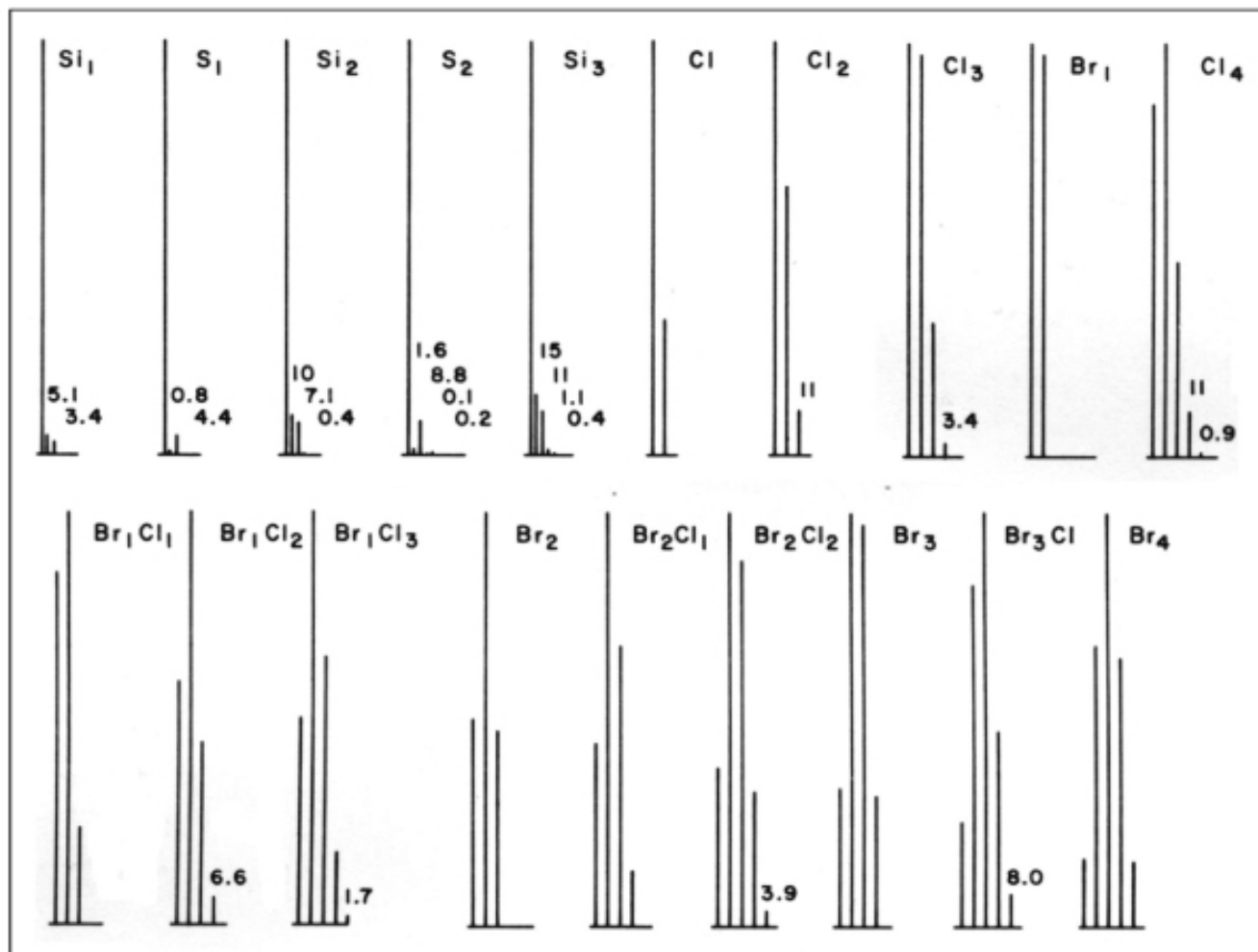
MALDI-TOF

MALDI stosuje się głównie do badań związków wysokocząsteczkowych, np. białek i polimerów

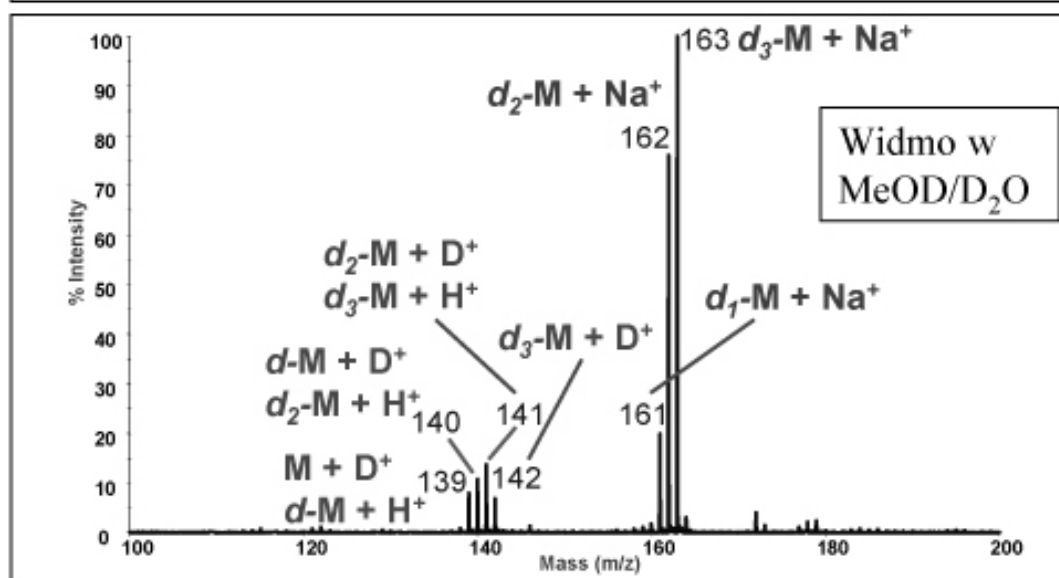
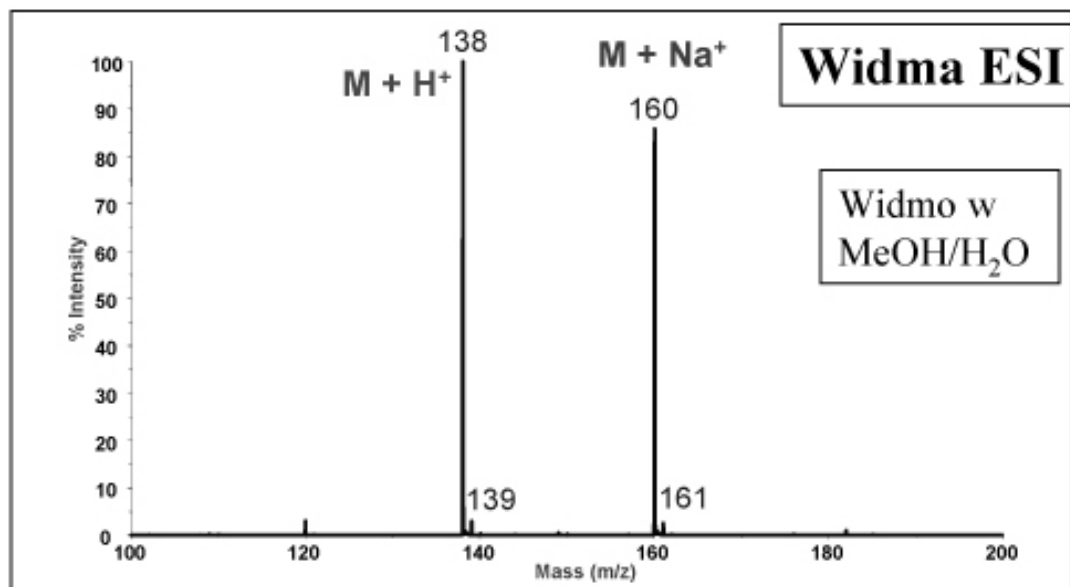
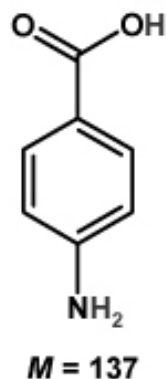
Widmo MALDI-TOF białka (M = 149 190 Da)



Profile izotopowe kombinacji pospolitych pierwiastków dwuizotopowych typu M+2



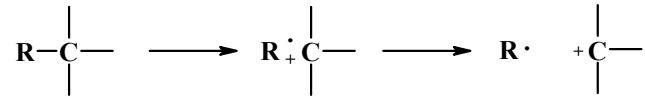
Wykorzystanie wymiany izotopowej do ustalania liczby wymienialnych atomów wodoru



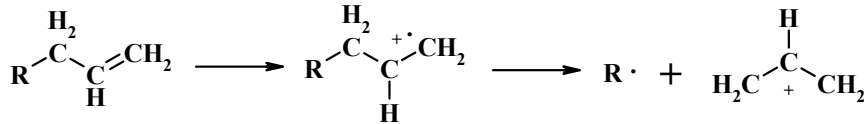
Fragmentacja (1)

Jony nieparzystoelektronowe:

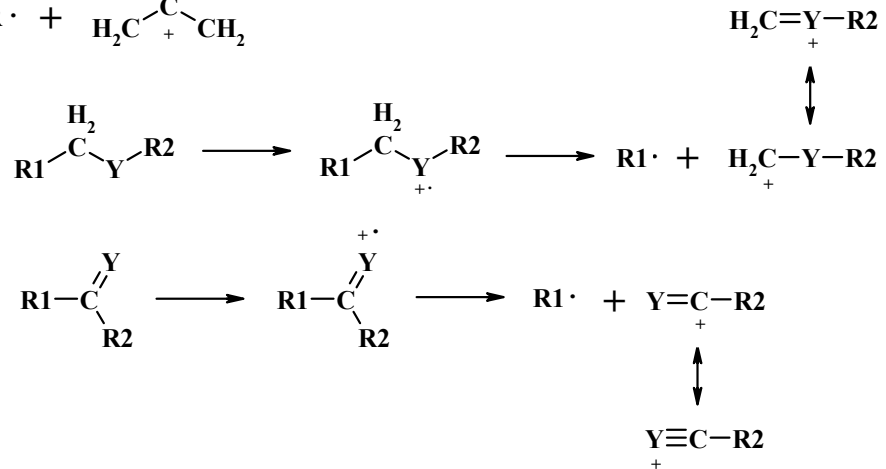
Alkany i fluorowcoalkany: **rozpad σ** (preferowane jest tworzenie kationu o jak najwyższej rzędowości, oraz odrywanie jak największej grupy alkilowej)



Alkeny: rozpad allilowy (α)



Rozpad α (schemat przedstawia wariant nasycony i nienasycony), odrywany jest alkil jak największy lub o jak najwyższej rzędowości, tworzy się najlepiej stabilizowany kation



Rozpad **i** (wariant nasycony pokazany na schemacie; wariant nienasycony podobny do rozpadu α przy odwrotnej lokalizacji ładunku i niesparowanego elektronu w produktach fragmentacji), preferowane jest tworzenie kationu większego, lub o wyższej rzędowości



Rozpady α i **i** konkurują ze sobą!

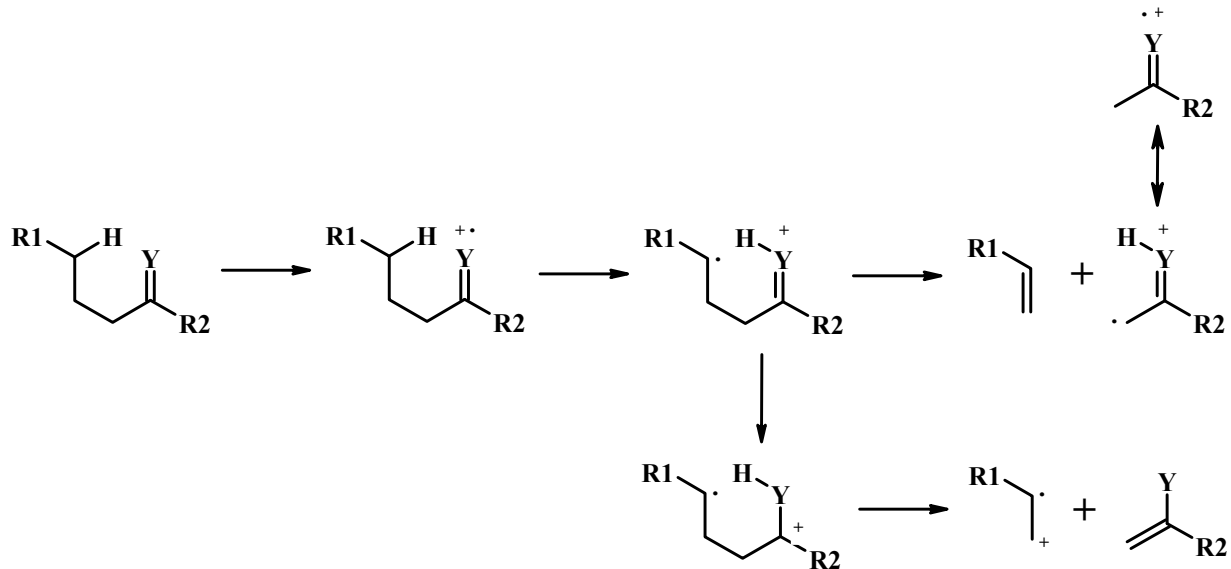
Fragmentacja (2)

Jony parzystoelektronowe: rozpad i z eliminacją cząsteczki obojętnej, dotyczy także jonów wtórnych



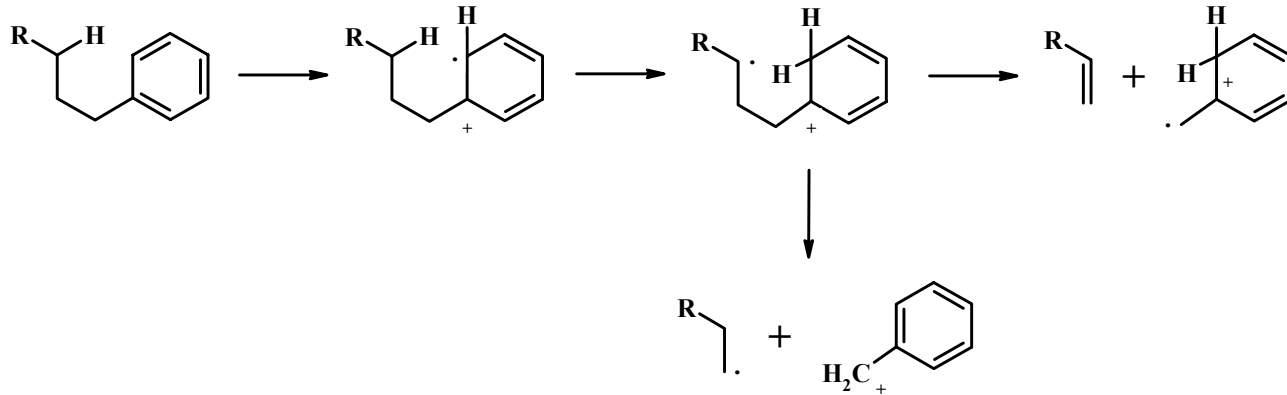
Przegrupowania:

Przegrupowanie McLafferty'ego z 6-członowym cyklicznym stanem przejściowym:

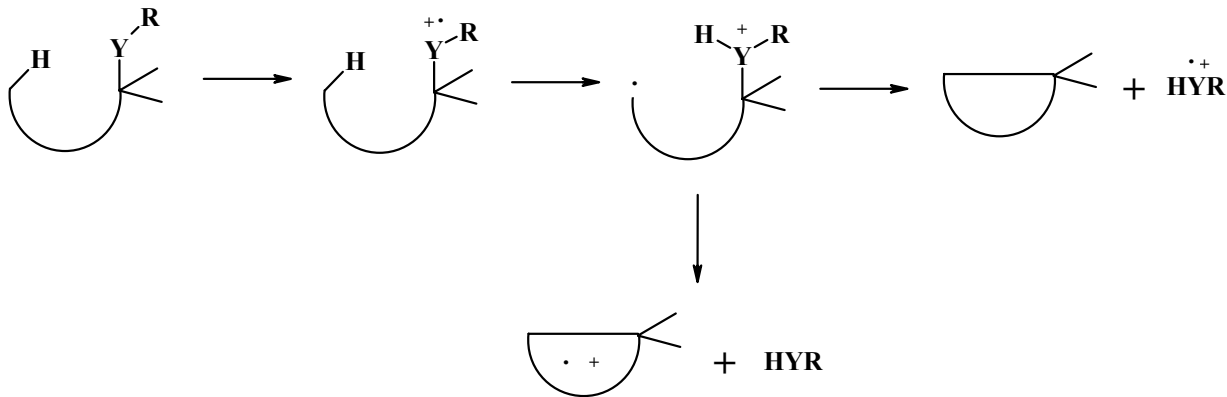


Fragmentacja (3)

Przegrupowanie McLafferty'ego dla alkilobenzenów:

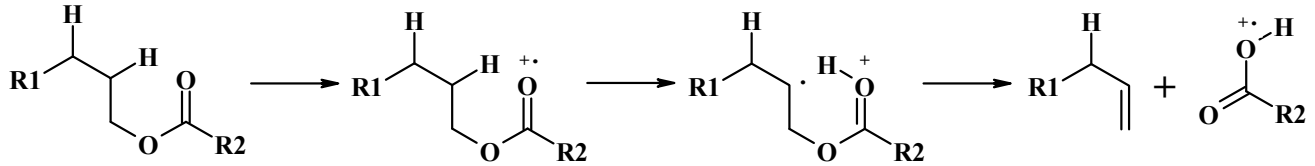


Przegrupowanie wodoru do miejsca nasyconego przebiega przez cykliczny stan przejściowy o dowolnej liczbie członów:

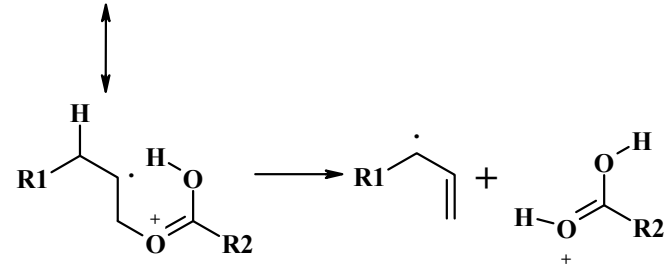
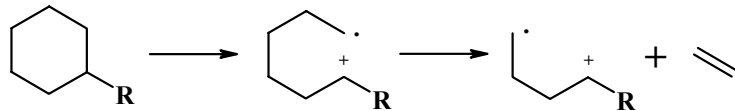


Fragmentacja (5)

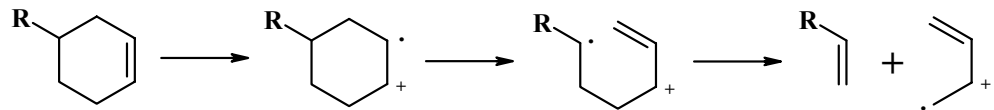
Podwójne przegrupowanie wodoru do nasyconego atomu w estrach:



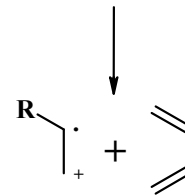
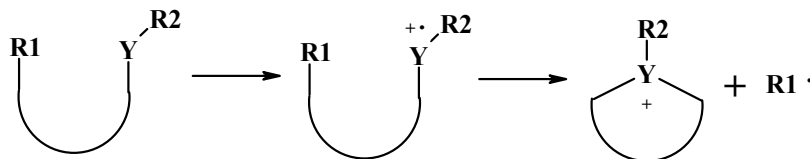
Otwarcie pierścienia nasyconego:



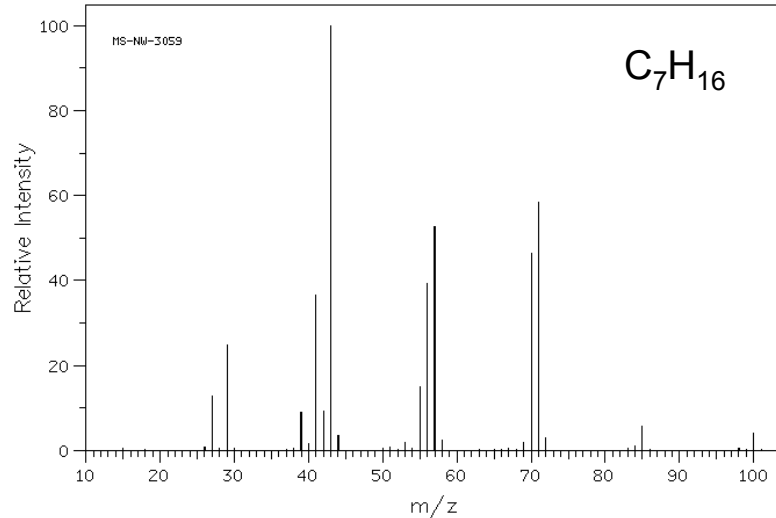
Otwarcie pierścienia cykloheksenowego - reakcja retro-Diels-Aldera:



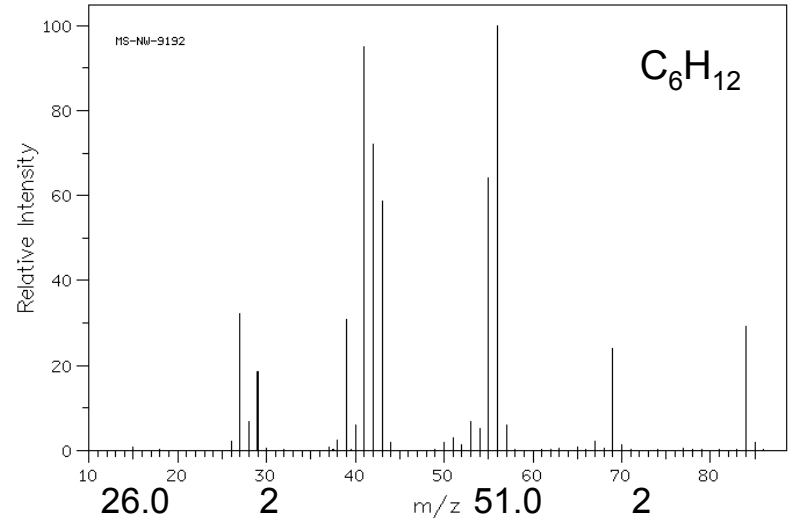
Podstawienie z cyklizacją, częste u bromopochodnych alkilowych:



MS węglowodorów (1)

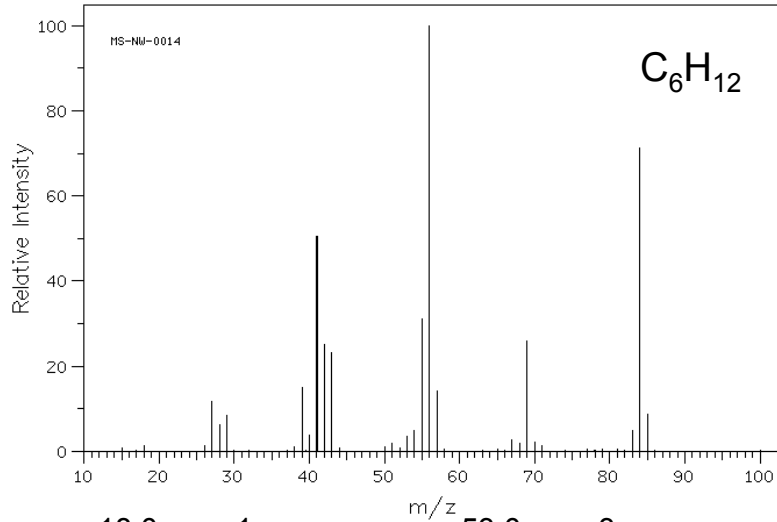


27.0	12	56.0	39
29.0	24	57.0	52
39.0	9	58.0	2
40.0	1	69.0	2
41.0	36	70.0	46
42.0	9	71.0	58
43.0	100	72.0	3
44.0	3	84.0	1
53.0	1	85.0	5
55.0	15	100.0	4

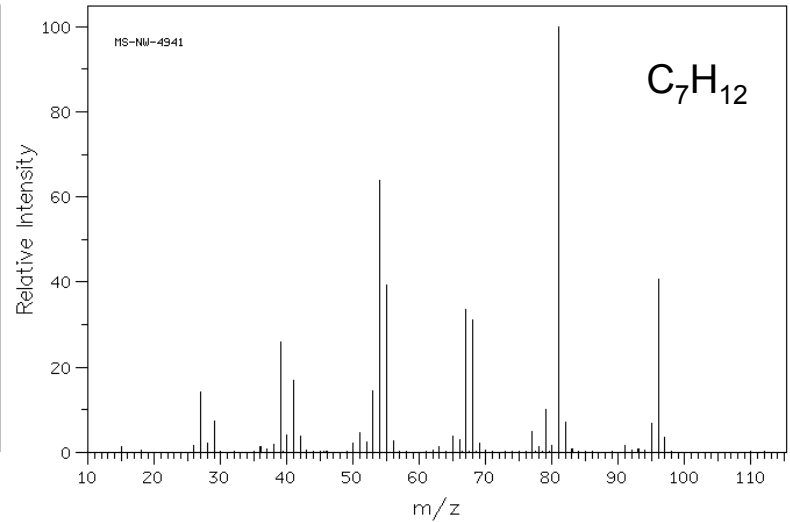


26.0	2	51.0	2
27.0	32	52.0	1
28.0	6	53.0	6
29.0	18	54.0	5
38.0	2	55.0	64
39.0	30	56.0	100
40.0	6	57.0	6
41.0	95	67.0	2
42.0	72	69.0	24
43.0	58	70.0	1
44.0	2	84.0	29
50.0	2	85.0	2

MS węglowodorów (2)

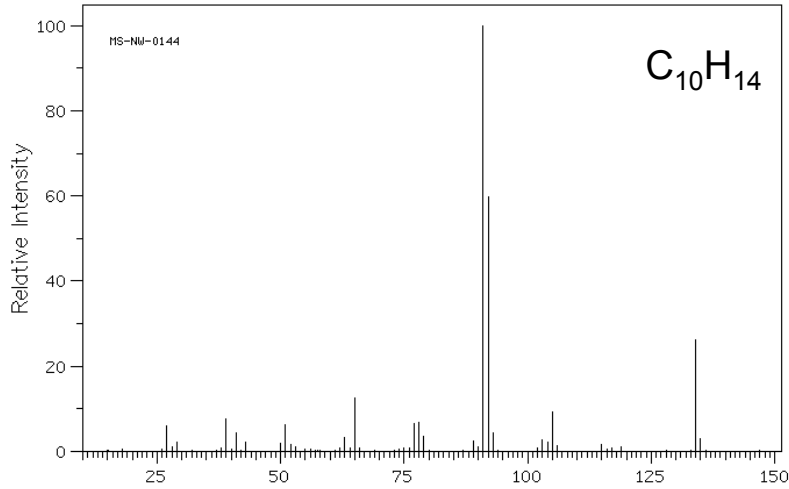


18.0	1	53.0	3
26.0	1	54.0	4
27.0	11	55.0	31
28.0	6	56.0	100
29.0	8	57.0	14
38.0	1	67.0	2
39.0	15	68.0	2
40.0	3	69.0	25
41.0	50	70.0	2
42.0	25	71.0	1
43.0	23	83.0	4
50.0	1	84.0	71
51.0	1	85.0	8

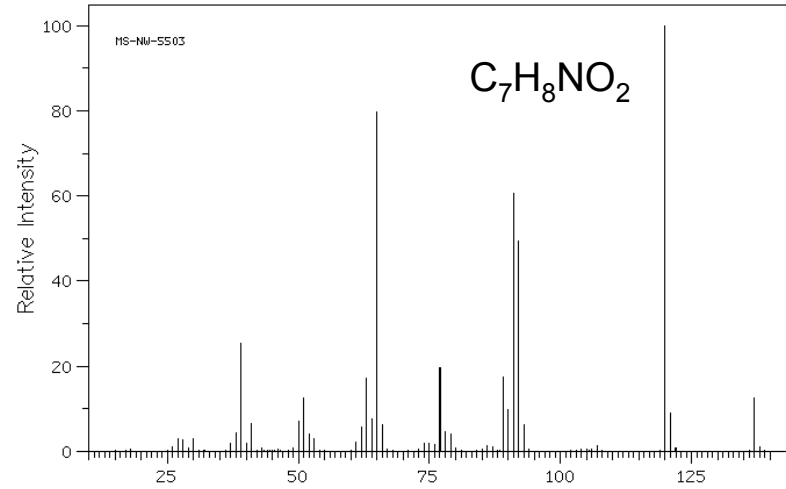


15.0	1	51.0	4	77.0	5
26.0	1	52.0	2	78.0	1
27.0	14	53.0	14	79.0	10
28.0	2	54.0	63	80.0	1
29.0	7	55.0	39	81.0	100
36.0	1	56.0	2	82.0	7
38.0	1	63.0	1	91.0	1
39.0	26	65.0	3	95.0	6
40.0	4	66.0	3	96.0	40
41.0	16	67.0	33	97.0	3
42.0	3	68.0	31		
50.0	2	69.0	2		

MS węglowodorów i nitropochodnych

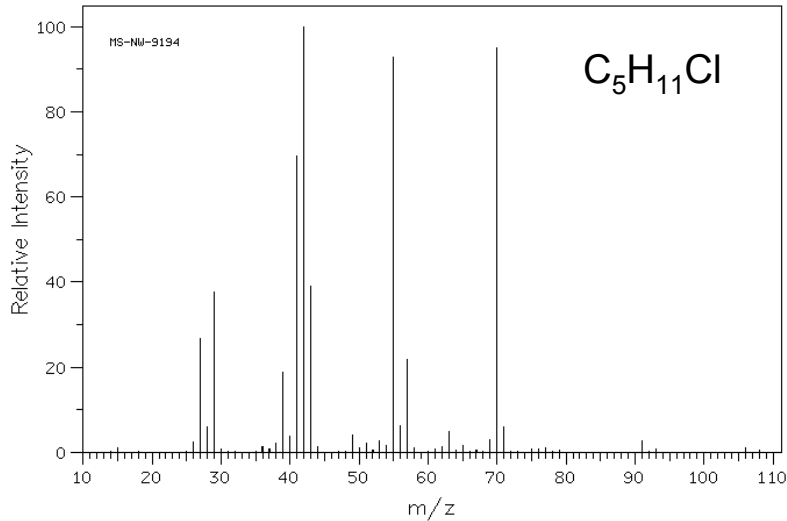


27.0	5	m/z	79.0	3
28.0	1		89.0	2
29.0	2		90.0	1
39.0	7		91.0	100
41.0	4		92.0	59
43.0	2		93.0	4
50.0	2		103.0	2
51.0	6		104.0	2
52.0	1		105.0	9
53.0	1		106.0	1
63.0	3		115.0	1
65.0	12		119.0	1
77.0	6		134.0	26
78.0	6		135.0	2

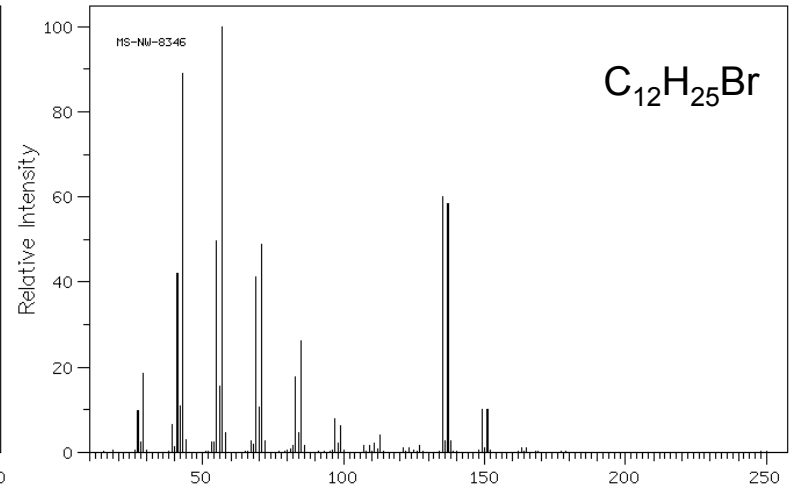


26.0	1	m/z	53.0	3	86.0	1
27.0	3		61.0	2	87.0	1
28.0	2		62.0	5	89.0	17
30.0	3		63.0	17	90.0	9
37.0	1		64.0	7	91.0	60
38.0	4		65.0	79	92.0	49
39.0	25		66.0	6	93.0	6
40.0	1		74.0	1	119.0	0
41.0	6		75.0	1	120.0	100
50.0	7		76.0	1	121.0	9
51.0	12		77.0	19	137.0	12
52.0	4		78.0	4	138.0	1
53.0	3		79.0	4		

MS chlorowcopochodnych

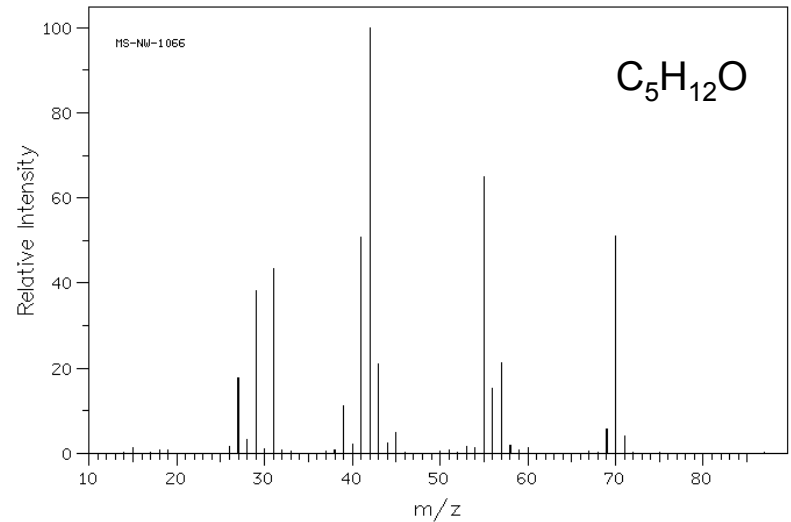
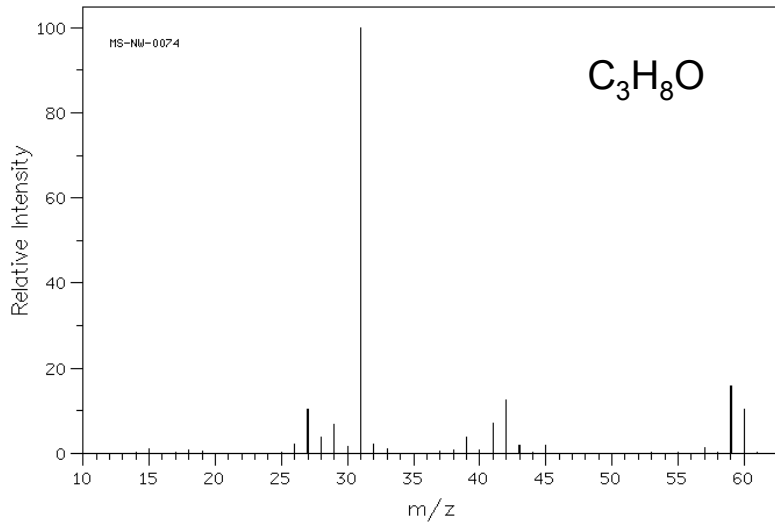


15.0	1	43.0	38	62.0	1
26.0	2	44.0	1	63.0	4
27.0	26	49.0	4	65.0	1
28.0	6	50.0	1	69.0	3
29.0	37	51.0	2	70.0	95
36.0	1	53.0	2	71.0	5
38.0	2	54.0	1	77.0	1
39.0	18	55.0	92	91.0	2
40.0	3	56.0	6	106.0	1
41.0	69	57.0	21		
42.0	100	58.0	1		



27.0	9	67.0	2	109.0	1
28.0	2	68.0	2	111.0	2
29.0	18	69.0	41	113.0	4
39.0	6	70.0	10	121.0	1
40.0	1	71.0	48	123.0	1
41.0	42	72.0	2	127.0	1
42.0	10	82.0	1	135.0	60
43.0	89	83.0	17	136.0	2
44.0	3	84.0	4	137.0	58
53.0	2	85.0	26	138.0	2
54.0	2	86.0	1	149.0	10
55.0	49	97.0	8	150.0	1
56.0	15	98.0	2	151.0	10
57.0	100	99.0	6	163.0	1
58.0	4	107.0	1	165.0	1

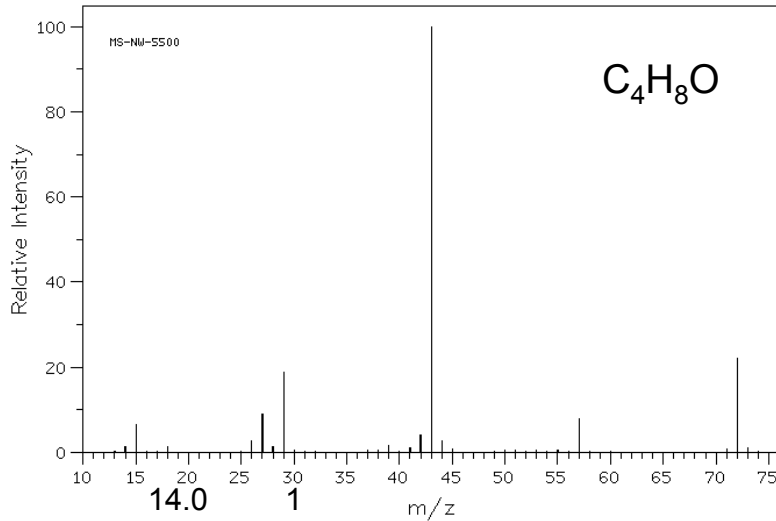
MS alkoholi



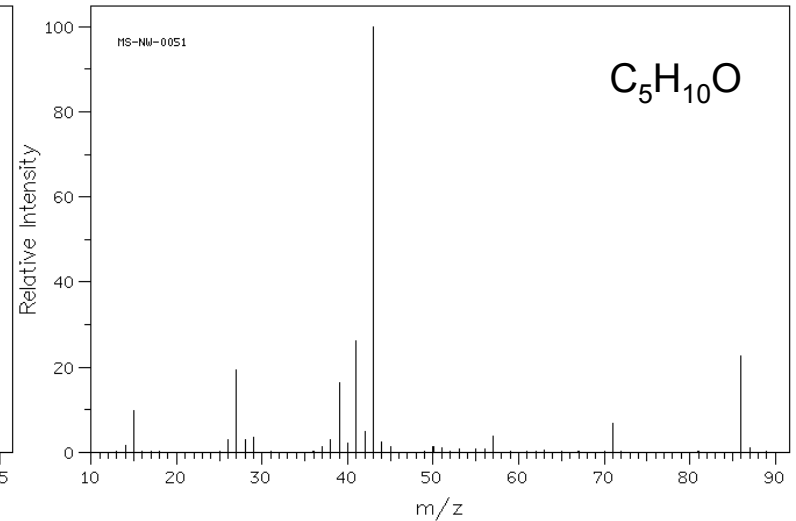
15.0	1	39.0	3
26.0	2	41.0	7
27.0	10	42.0	12
28.0	3	43.0	2
29.0	6	45.0	1
30.0	1	57.0	1
31.0	100	59.0	15
32.0	2	60.0	10
33.0	1		

15.0	1	44.0	2
26.0	1	45.0	4
27.0	17	53.0	1
28.0	3	54.0	1
29.0	38	55.0	65
30.0	1	56.0	15
31.0	43	57.0	21
39.0	11	58.0	1
40.0	2	60.0	1
41.0	50	69.0	5
42.0	100	70.0	51
43.0	21	71.0	4

MS ketonów (1)

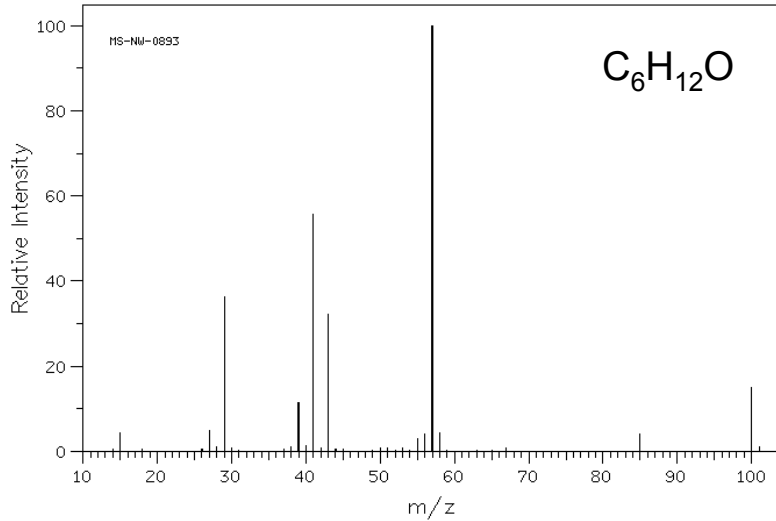


14.0	1
15.0	6
18.0	1
26.0	2
27.0	8
28.0	1
29.0	18
39.0	1
41.0	1
42.0	4
43.0	100
44.0	2
57.0	8
72.0	22
73.0	1

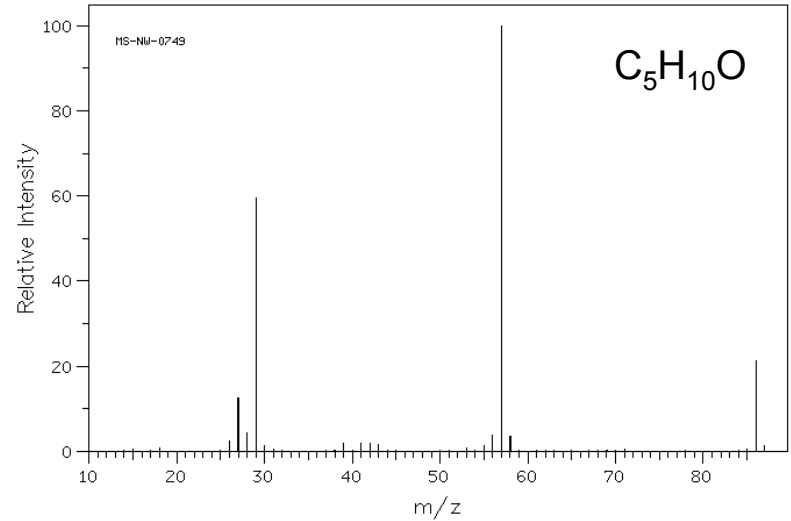


14.0	1	42.0	4
15.0	9	43.0	100
26.0	3	44.0	2
27.0	19	45.0	1
28.0	3	50.0	1
29.0	3	51.0	1
37.0	1	57.0	3
38.0	2	71.0	6
39.0	16	86.0	22
40.0	2	87.0	1
41.0	26		

MS ketonów (2)

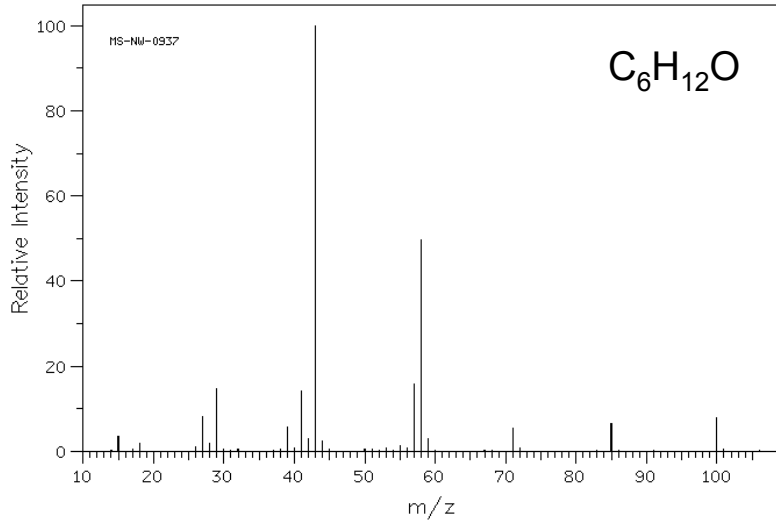


15.0	4	43.0	32
27.0	5	55.0	3
28.0	1	56.0	4
29.0	36	57.0	100
38.0	1	58.0	4
39.0	11	85.0	4
40.0	1	100.0	14
41.0	55	101.0	1

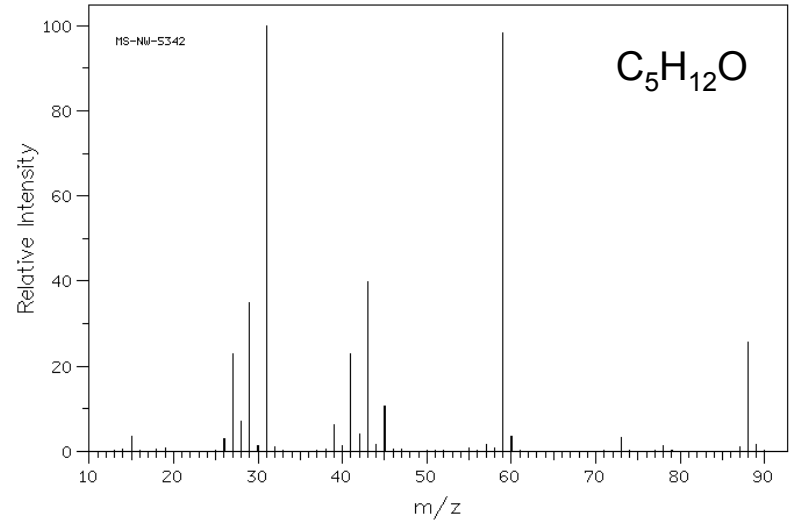


26.0	2	43.0	1
27.0	12	55.0	1
28.0	4	56.0	3
29.0	59	57.0	100
30.0	1	58.0	3
39.0	1	86.0	21
41.0	2	87.0	1
42.0	1		

MS ketonów i eterów

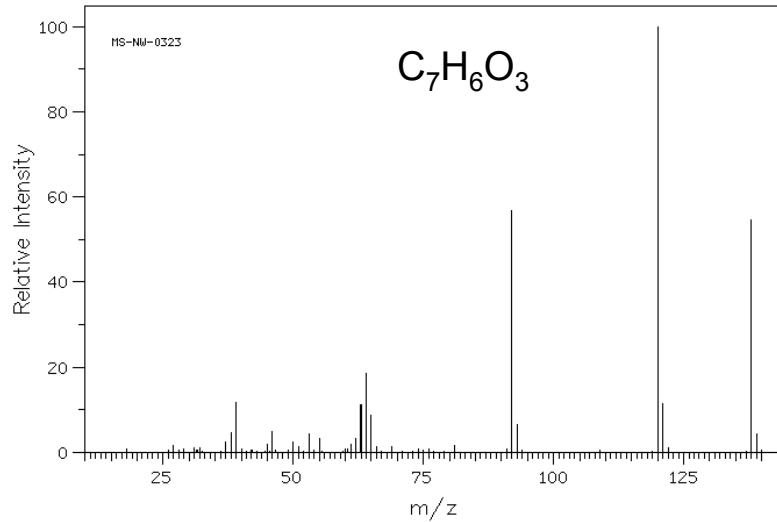


15.0	3	43.0	100
18.0	1	44.0	2
26.0	1	55.0	1
27.0	8	57.0	15
28.0	2	58.0	49
29.0	14	59.0	3
39.0	5	71.0	5
41.0	14	85.0	6
42.0	3	100.0	8

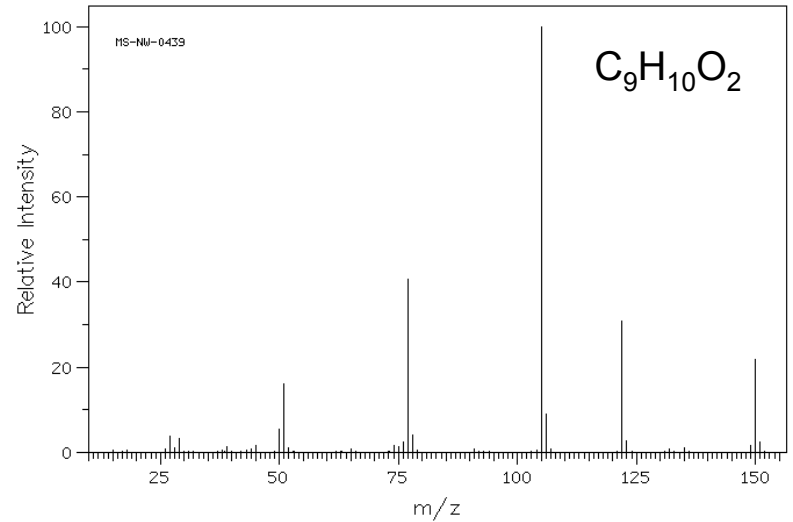


15.0	3	43.0	39
26.0	3	44.0	1
27.0	23	45.0	10
28.0	7	57.0	1
29.0	34	59.0	98
30.0	1	60.0	3
31.0	100	73.0	3
32.0	1	78.0	1
39.0	6	87.0	1
40.0	1	88.0	25
41.0	22	89.0	1
42.0	4		

MS kwasów karboksylowych i estrów

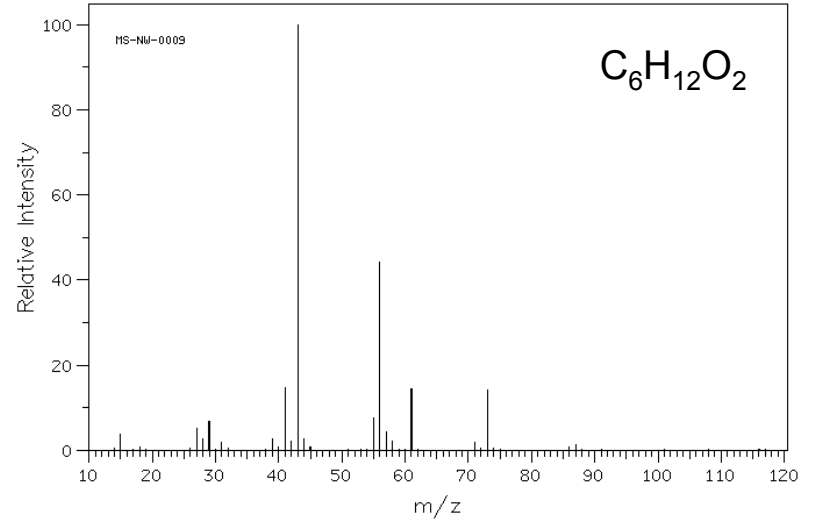
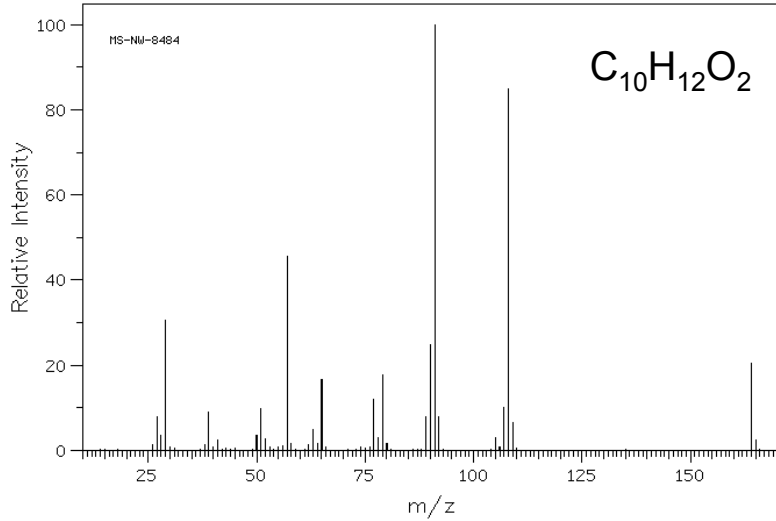


15.0	1	44.0	2
26.0	1	45.0	4
27.0	17	53.0	1
28.0	3	54.0	1
29.0	38	55.0	65
30.0	1	56.0	15
31.0	43	57.0	21
39.0	11	58.0	1
40.0	2	60.0	1
41.0	50	69.0	5
42.0	100	70.0	51
43.0	21	71.0	4



27.0	3	77.0	40
28.0	1	104.0	0
29.0	3	105.0	100
39.0	1	106.0	9
45.0	1	122.0	30
50.0	5	123.0	2
51.0	16	135.0	1
52.0	1	149.0	1
74.0	1	150.0	21
75.0	1	151.0	2
76.0	2		

MS estrów



26.0	1	57.0	45	90.0	24
27.0	7	58.0	1	91.0	100
28.0	3	62.0	1	92.0	7
29.0	30	63.0	4	105.0	3
38.0	1	64.0	1	107.0	10
39.0	9	65.0	16	108.0	85
41.0	2	77.0	12	109.0	6
50.0	3	78.0	3	164.0	20
51.0	9	79.0	17	165.0	2
52.0	2	80.0	1		
56.0	1	89.0	7		

15.0	3	44.0	2
27.0	5	55.0	7
28.0	2	56.0	44
29.0	6	57.0	4
31.0	1	58.0	2
39.0	2	61.0	14
41.0	14	71.0	1
42.0	2	73.0	14
43.0	100	87.0	1