

Kemijska ionizacija u spektrometriji masa

KUI 12/2004
Prispjelo 6. studenog 2002.
Prihvaćeno 29. prosinca 2003.

S. Kazazić i S. Martinović*

Institut "Ruder Bošković", Bijenička c. 54, 10002 Zagreb, Hrvatska

*Battelle, Pacific Northwest National Laboratory, Richland, WA 99352 USA

Kemijskom ionizacijom uzorak se ionizira tijekom ion-molekulske reakcije u plinskoj fazi. Ionizacijom reakcijskog plina (koji je u velikom suvišku) nastali ioni reagiraju s neutralnim molekulama reakcijskog plina pri čemu nastaju reakcijski ioni kemijske ionizacije. Sudarom tih iona s molekulama uzorka (tlak molekula uzorka je ~ 1 % tlaka reakcijskog plina) dolazi do reakcije u kojoj nastaje jedan ili više karakterističnih iona uzorka što daje spektar masa uzorka uz kemijsku ionizaciju tim reakcijskim plinom. Ion-molekulske reakcije u spektrometriji masa vrlo često su glavni predmet istraživanja, a ne samo ionizacijska metoda. Mjerenja povezana s ion-molekulskim reakcijama u spektrometriji masa imala su velik utjecaj i na fundamentalna i primijenjena područja znanosti.

Ključne riječi: *Masena spektrometrija, ionizacijska metoda, kemijska ionizacija, ion-molekulske reakcije, reakcijski ioni*

Uvod

Metoda kemijske ionizacije (CI) prvi put je primijenjena 1966. godine,¹ a nastala je kao plod fundamentalnih istraživanja u području interakcija iona i molekula u plinskoj fazi. Glavni interes u spektrometriji masa od 1930. do 1950. god. bio je u proučavanju procesa ionizacije i disocijacije, što točnijeg određivanja masa izotopa i njihovih udjela kao i razvoj analitičke spektrometrije masa. Otkrićem CH_5^+ kao relativno stabilne ionske vrste²⁻⁴ nastale u reakciji:

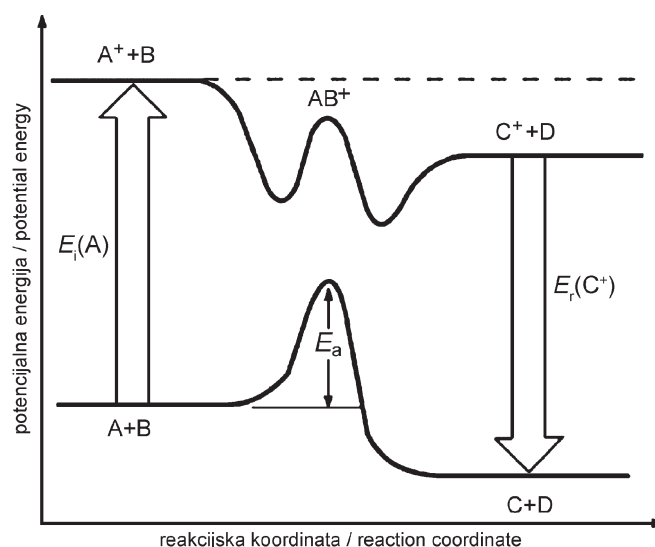


počinje intenzivnije istraživanje reakcija iona s molekulama, tzv. ion-molekulskih reakcija s obzirom na strukturu i tip veze. Razvoj instrumentacije ima osobit utjecaj na širenje istraživanja ion-molekulskih reakcija u plinskoj fazi postignućem kontroliranog proučavanja procesa ionskih sudara. Od tih početnih eksperimenata do danas istraživanje produkata, raspodjele, brzina i ravnoteže ion-molekulskih reakcija u plinskoj fazi postalo je jedno od glavnih područja istraživanja u spektrometriji masa.

Ion-molekulske reakcije u plinskoj fazi ubrajaju se u vrlo brze reakcije jer elektrostatska interakcija između nabijene vrste i polarizabilne ili polarizirane neutralne molekule djeluje privlačno i na relativno većim udaljenostima. Rezultirajuća interakcijska energija često je dovoljna da nadmaši energijsku barijeru kemijske promjene i kao posljedica egzotermne ion-molekulske reakcije na sobnoj temperaturi često se odvijaju brzinom koju određuje broj sudara reaktanata. Koeficijent brzine sudara reaktanata (k_c) za neku ion-molekulsku reakciju moguće je odrediti primjenom reakcije koju daje teorija prosječne orijentacije dipola (average dipole orientation, ADO),⁵⁻⁸ a ovisi o polarizabilnosti (α) i permanentnom dipolnom momentu (p_e) neutralne molekule, naboju iona (q) i reduciranoj masi reaktanata (μ)

$$k_c = \frac{2\pi q}{\sqrt{\mu}} \left[\sqrt{\alpha} + C p_e \sqrt{\frac{2}{\pi k_B T}} \right] \quad (2)$$

C je korekcijski faktor koji je funkcija α i p_e , a k_B je Boltzmannova konstanta. Odnos koeficijenta brzine reakcije i brzine sudara za neku ion-molekulsku reakciju je mjera vjerojatnosti reakcije po sudaru. Opći oblik krivulje ovisnosti potencijalne energije s reakcijskom koordinatom za molekulske i ion-molekulske reakcije dan je na slici 1, gdje je $E_i(A)$ ionizacijska energija molekule A , $E_r(C^+)$ je rekombinacijska energija iona C^+ , a E_a je aktivacijska energija.⁹⁻¹⁰ Jednostavna ion-molekulska reakcija opisana je krivuljom s

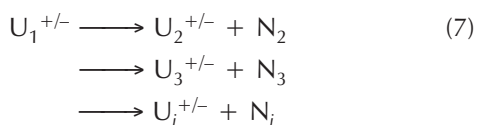
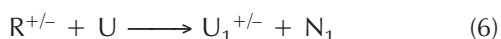
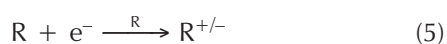


Slika 1 – Opći oblik krivulje ovisnosti potencijalne energije o reakcijskoj koordinati za molekulske i ion-molekulske reakcije

Fig. 1 – Generalized profiles for the dependence of potential energy on the reaction coordinate for ion-molecule and molecule-molecule reactions

dvostrukim minimumom koji je odvojen energijskom barijerom. U početku reaktanti privučeni elektrostatskim silama ion-(inducirani dipol) ili ion-dipol tvore predreakcijski kompleks (prvi minimum); dalje duž krivulje potencijalne energije ona se uzdiže zbog raskidanja starih i stvaranja novih veza (prijelazno stanje, AB^+) i potom prelazi u drugi minimum nakon kojeg dolazi do disocijacije na konačne produkte.

Tijekom kemijske ionizacije molekule analiziranog uzorka ioniziraju se u ion-molekulskoj reakciji s reakcijskim ionima u plinskoj fazi. Reakcijski ioni nastaju ionizacijom reakcijskog plina koji se dovodi u ionizacijski izvor u velikom suvišku u odnosu na molekule uzorka. Ionizacija reakcijskog plina najčešće se izvodi udarom elektrona, ali i drugim ionizacijskim metodama moguće je generirati reakcijske ione potrebne za kemijsku ionizaciju. S obzirom na suvišak reakcijskih iona u odnosu na molekule uzorka, veća je vjerojatnost da će ioni uzorka nastati u reakciji s reakcijskim ionima, nego udarom elektrona. Da bi vjerojatnost ion-molekulске reakcije bila veća, ionski izvori kod metode kemijske ionizacije su pod relativno većim tlakom (0,133–1,333 Pa) (0,1–1 Torr), no ionski izvori kod većine drugih metoda. Osnovne reakcije tijekom kemijske ionizacije molekula uzorka U s reakcijskim plinom R mogu se napisati općim reakcijskim jednadžbama:¹¹



pri čemu su N_1, N_2, \dots, N_i neutralni produkti.

U reakciji (5) dolazi do ionizacije reakcijskog plina nakon čega primarno nastali ioni reagiraju s neutralnim molekulama reakcijskog plina dajući konačno kao produkt stabilne reakcijske ione slično reakciji (1). U reakciji (6) sudarima reakcijskih iona s molekulama uzorka kojih ima obično < 1 % reakcijskog plina nastaje kao produkt ion karakterističan za uzorak ("kvazi molekularni ion"). U reakcijama (7) ion uzorka fragmentira na jedan ili više načina, pri čemu nastaje konačna serija iona od $U_1^{+/-}$ do $U_i^{+/-}$ koji daju spektar masa uzorka U. Kemijska ionizacija moguća je kako u pozitivnom tako i u negativnom modu te u oba slučaja čini tzv. blagu metodu ionizacije, za razliku od ionizacije udarom elektrona. U spektrima dominira "kvazi molekularni ion" i fragmentacija je minimalna. Vrlo je važna karakteristika kemijske ionizacije kao metode da odabirom odgovarajućeg reakcijskog plina možemo povoljno utjecati na spektar masa neke tvari i na taj način određivati tip strukturnih informacija koje ćemo dobiti.

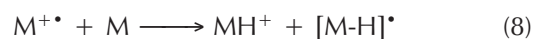
Ion-molekulске reakcije dio su i drugih ionizacijskih metoda i tehnika te se tada ne smatraju klasičnim reakcijama metode kemijske ionizacije. APCI¹² metoda ionizacije koja se često nalazi u LC/MS konfiguraciji zasniva se na ion-molekulskim reakcijama između uzorka i reakcijskih iona koji nastaju ionizacijom molekula otapala. Kod metoda ionizacije kao što su FAB/LD^{13,14} koje se primijenjuju za ionizaciju teško hlapljivih uzoraka, nakon prijenosa energije na

ispitivani uzorak dolazi do formiranja guste plazme koja sadržava kako ione tako i molekule ispitivanog uzorka što omogućava ion-molekulске reakcije. Također, ion-molekulске reakcije u plinskoj fazi sastavni su dio i metoda ionizacije pri visokom tlaku kao što je ionizacija termoraspršenjem (TSP).¹⁵ Mjerenja pri nižim tlakovima (10^{-5} – 10^{-7} Torr), ali uz dulje vrijeme reakcije moguća su u FT-ICR^{16,17} i Ion Trap¹⁸ spektrometrima masa.

Kemijska ionizacija uz nastajanje pozitivnih iona

Proučavane su vrlo različite ion-molekulске reakcije koje uključuju pozitivne ione od kojih možemo one uzorne za metodu kemijske ionizacije svrstati u četiri skupine:

1. Reakcije prijenosa protona



Kod ovih reakcija možemo razlikovati reakcije samoprotoniranja (8) i one obično prethode nastanku Brønstedovih kiselina iz neutralnih molekula reakcijskog plina i reakcije plinovitih Brønstedovih kiselina (BH^+) koje reagiraju s neutralnim molekulama ispitivanog uzorka M (9).

Protonski afinitet neke komponente (E_{pa}) je veličina jednaka $-\Delta_r H^\theta$ negativnoj reakcijskoj entalpiji za hipotetsku reakciju protoniranja*



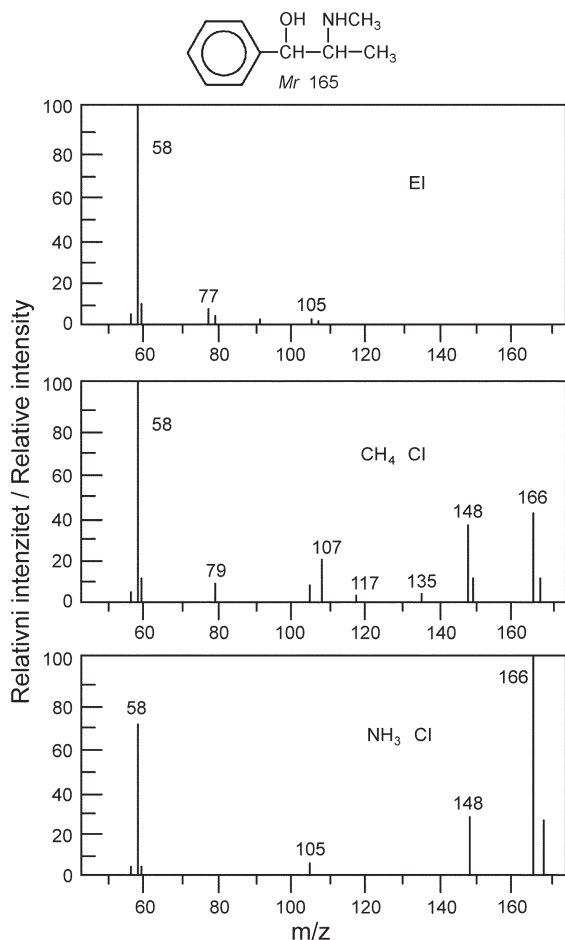
$$E_{ba}(M) = -\Delta_r G^\theta$$

i povezuje entalpije nastajanja MH^+ i M. Promjena Gibbsove energije $-\Delta_r G^\theta$ u reakciji (10) protoniranja, odnosno afinitet reakcije naziva se još i bazičnost komponente M (E_{ba}) u plinskoj fazi. Da bi došlo do prijenosa protona (9) reaktanti moraju imati različit protonski afinitet, odnosno protonski afinitet molekule uzorka M mora biti veći od protonskog afiniteta reakcijskog iona B i reakcija (9) je egzotermna. Ako je reakcija termoneutralna, nastanak produkata znatno opada.¹⁹

Usporedbom spektara masa efedrina dobivenih ionizacijom udarom elektrona i kemijskom ionizacijom uz CH_4 i NH_3 kao reakcijske plinove (slika 2) možemo uočiti razlike u informacijama koje možemo dobiti primjenom ovih metoda. U spektru uz ionizaciju udarom elektrona ne vidimo molekularni ion. U spektrima masa dobivenim kemijskom ionizacijom vidljiv je intenzivan MH^+ ion koji daje informaciju o masi molekule, a prisutnost iona fragmenta pružaju informaciju o strukturi molekule uzorka.

Odabir reakcijskog plina znatno utječe na konačni izgled spektra nekog uzorka. Egzotermnost reakcije prijenosa

*U literaturi se uobičajeno za navedenu i slične hipotetske reakcije (vidi dalje u tekstu) piše $E_{pa}(M) = -\Delta_r H^\theta$. Međutim, treba razlikovati mikroskopske veličine E_{pa} , E_{ba} od makroskopskih veličina $\Delta_r H^\theta$, $\Delta_r G^\theta$. Reakcijska entalpija za neku reakciju protoniranja je $L E_{pa} \approx -\Delta_r H^\theta$, gdje je L Avogadrova konstanta.



Slika 2 – Spektri masa efedrina dobivenih ionizacijom udarom elektrona i kemijskom ionizacijom uz CH_4 i NH_3 kao reakcijske plinove

Fig. 2 – Electron impact, CH_4 and NH_3 chemical ionization mass spectra of ephedrine

protona većim se dijelom odnosi na stvaranje veze M-H^+ : što je ona veća, veći je i sadržaj unutarnje energije molekuskog iona uzorka MH^+ , što omogućuje njegovu daljnju fragmentaciju. Odgovarajućim odabirom reakcijskog plina moguće je utjecati na omjer intenziteta iona fragmenata i molekuskog iona uzorka.

Pregledom vrijednosti protonskih afiniteta za reakcijske plinove dane u tablici 1 možemo reći da će npr. reakcijski ion C_3H_7^+ i oni s manjim protonskim afinitetom reagirati u egzotermnoj reakciji prijenosa protona s većinom organskih molekula,²⁰ a NH_4^+ ion će protonirati organske molekule s protonskim afinitetom većim od 853 kJ mol^{-1} , odnosno one koje sadržavaju heteroatom dušika, a bit će nereaktivan s alkanima, alkenima, aromatskim spojevima, eterima i nitro-spojevima.²¹

2. Reakcije prijenosa naboja

Interakcijom pozitivnih iona s neutralnim molekulama u plinskoj fazi može doći do reakcije prijenosa naboja



i to u slučajevima kada je rekombinacijska energija reakcijskog iona veća od ionizacijske energije neutralne molekule

Tablica 1 – Protonski afiniteti nekih reakcijskih plinova kemijske ionizacije

Table 1 – Proton affinities for some chemical ionization reagents

| Reakcijski plin Reagent gas | Reakcijski ion Reagent ion | $E_{\text{pa}} / \text{kJ mol}^{-1}$ |
|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| H_2 | H_3^+ | 422,3 |
| $\text{N}_2\text{O}/\text{H}_2$ | N_2OH^+ | 575,2 |
| CH_4 | CH_5^+ | 543,5 |
| | C_2H_5^+ | 680,5 |
| H_2O | $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ | 691,0 |
| CH_3OH | $\text{H}^+(\text{CH}_3\text{OH})_n$ | 754,3 |
| C_3H_6 | C_3H_7^+ | 751,6 |
| $i\text{-C}_4\text{H}_{10}$ | C_4H_9^+ | 677,8 |
| NH_3 | $\text{H}^+(\text{NH}_3)_n$ | 853,6 |

M. Rekombinacijska energija (E_{rk}) nekog kationa je definirana kao



negativna reakcijska entalpija reakcije dane gornjom jednadžbom. Za jednoatomne ione rekombinacijska energija je jednaka ionizacijskoj energiji neutralnog atoma. Za višeatomne ione to ne mora biti slučaj jer nastala neutralna molekula može imati suvišak vibracijske i rotacijske energije. Kad se ravnotežna geometrija nekog iona jako razlikuje od ravnotežne geometrije neutralne molekule iz koje nastaje ionizacijom udarom elektrona, mali broj molekuskih iona nalazit će se u najnižem vibracijskom nivou. U tim slučajevima adijabatske ionizacijske energije molekule uzorka mogu se dobiti određivanjem ravnotežnih konstanti reakcija prijenosa naboja s molekulama poznatih ionizacijskih energija. Tijekom reakcije prijenosa naboja nastaje relativno dugoživući kompleks koji prolazi kroz mnoga vibracijska stanja (relaksacija) i konfiguracija nastalog molekuskog iona odgovara ravnotežnoj geometriji iona odnosno geometriji adijabatskog prijelaza.

Molekulski ion uzorka koji nastaje kao produkt u egzotermnoj reakciji prijenosa naboja također nastaje i ionizacijom putem udara elektrona. Bitna razlika između te dvije ionizacijske metode je u tome što su molekulski ioni nastali udarom elektrona raspodijeljeni po sadržaju unutarnje energije, dok molekulski ioni nastali prijenosom naboja imaju sadržaj unutarnje energije određen egzotermnošću reakcije prijenosa naboja. S obzirom da su mogući fragmentacijski putevi molekuskog iona energijski ovisni, spektar masa dobiven ionizacijom putem udara elektrona suma je svih fragmentacijskih puteva određenih raspodjelom sadržaja unutarnje energije molekuskog iona, a spektar masa dobiven kemijskom ionizacijom u reakciji prijenosa naboja suma je fragmentacijskih puteva ovisnih o unutarnjoj energiji koja je određena egzotermnošću reakcije.

Ukoliko su kao reakcijski plinovi odabrani plemeniti plinovi Xe, Kr, Ar ili plin CO_2 (tablica 2) čiji reakcijski ioni imaju

Tablica 2 – Rekombinacijske energije nekih reakcijskih iona
Table 2 – Charge exchange reagent systems

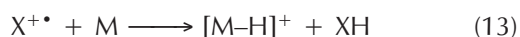
| Reakcijski plin Reagent gas | Reakcijski ion Reagent ion | E_{rk} / eV |
|--------------------------------|-------------------------------|---------------|
| C_6H_6 | $C_6H_6^{+•}$ | 9,3 |
| N_2/CS_2 | $CS_2^{+•}$ | ~ 10,0 |
| CO_2/C_6F_6 | $C_6F_6^{+•}$ | 10,2 |
| CO/COS | $COS^{+•}$ | 11,2 |
| Xe | $Xe^{+•}$ | 12,1; 13,4 |
| CO_2 | $CO_2^{+•}$ | 13,8 |
| Kr | $Kr^{+•}$ | 14,0; 14,7 |
| N_2 | $N_2^{+•}$ | 15,3 |
| Ar | $Ar^{+•}$ | 15,8; 15,9 |

visoke rekombinacijske energije u interakciji s molekulama uzorka, doći će do reakcije izmjene naboja s obzirom da većina organskih molekula ima ionizacijske energije u području od 8 do 12 eV. Kemijska ionizacija reakcijom prijenosa naboja može poslužiti za selektivnu ionizaciju smjese uzorka,^{22,23} ovisno o odabiru reakcijskog plina tako da dolazi do ionizacije komponenti smjese uzorka s niskom ionizacijskom energijom ili da dolazi do disocijativne ionizacije smjese uzorka pri čemu samo neke komponente daju stabilne molekulske ione. Primjer primjene selektivne ionizacije putem reakcije izmjene naboja možemo vidjeti na smjesi različitih ugljikovodika.

Na slici 3 prikazana je ovisnost ionizacijskih energija o masi za alkane, cikloalkane, alkilbenzene i alkilnaftalene (česti produkti u petrokemijskoj industriji). Prikazane vodoravne isprekidane linije označavaju reakombinacijske energije $c-C_6H_{12}^{+•}$, $C_6H_5Cl^{+•}$ i $(CH_3)_3C_6H_3^{+•}$ reakcijskih iona. Ti reakcijski ioni će ionizirati samo one ugljikovodike s ionizacijskim energijama ispod odgovarajućih vodoravnih linija.

3. Prijenos negativnih iona

U većini slučajeva radi se o prijenosu hidridnog iona, H^- ,

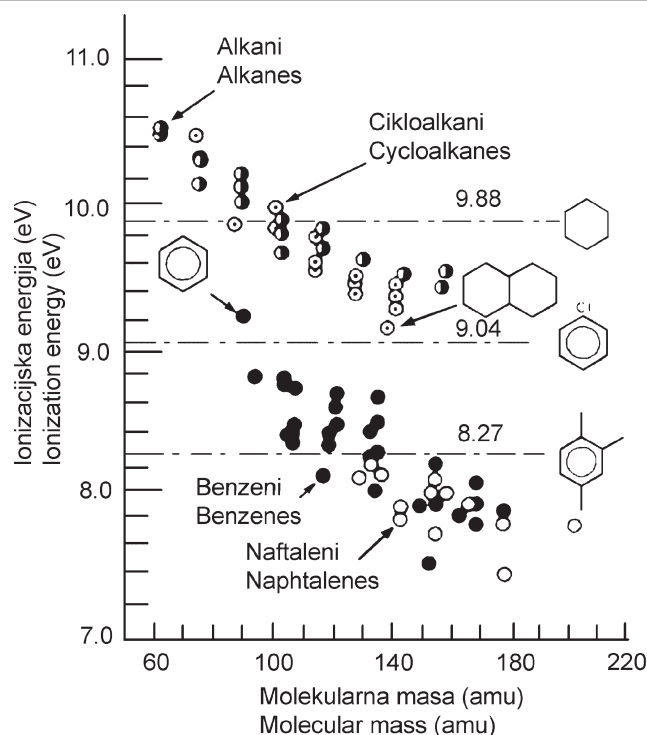


pri čemu je afinitet iona X^+ veći od afiniteta iona $[M-H]^+$ prema hidridnom ionu. Afinitet nekog kationa prema hidridnom ionu (E_{ha}) definiran je kao



negativna reakcijska entalpija $E_{ha}(X^+) = -\Delta_r H^\ominus$ za reakciju (14).

Skala afiniteta prema hidridnom ionu (tablica 3) može poslužiti za usporedbu relativne stabilnosti različitih karkokationa u plinskoj fazi ili konkretno za usporedbu različitih kationa u odnosu na sposobnost primanja hidridnog iona u reakciji kemijske ionizacije. Termokemijski učinci su odlu-



Slika 3 – Ovisnost ionizacijske energije ugljikovodika o njihovoj molekularnoj masi

Fig. 3 – Ionization energies of hydrocarbons as a function of molecular mass

Tablica 3 – Skala afiniteta prema hidridnom ionu za neke reakcijske ione

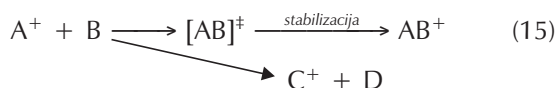
Table 3 – Brønsted acid reagent systems

| Reakcijski plin Reagent gas | Reakcijski ion Reagent ion | E_{ha} / kJ mol ⁻¹ |
|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| H_2 | H_3^+ | 1255,2 |
| N_2O/H_2 | N_2OH^+ | 1104,6 |
| CH_4 | CH_5^+ | 1129,7 |
| | $C_2H_5^+$ | 1138,0 |
| H_2O | H_3O^+ | 949,8 |
| CH_3OH | $CH_3OH_2^+$ | 497,9 |
| C_3H_6 | $C_3H_7^+$ | 1046,0 |
| $i-C_4H_{10}$ | $C_4H_9^+$ | 966,5 |
| NH_3 | NH_4^+ | 815,9 |

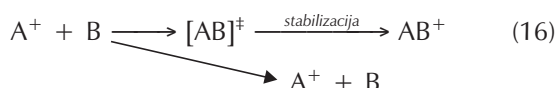
čujući čimbenici u tom tipu reakcija i odgovarajućim odabirom reakcijskog iona moguće je reakciju prijenosa hidridnog iona ograničiti na vodike sa specifičnih mjesta u molekuli uzorka (npr. primarni, sekundarni ili tercijarni vodikov atom).²⁴ Reakcijski ioni CH_3^+ i CF_3^+ imaju vrlo visok afinitet prema hidridnom ionu i reagirat će u reakciji prijenosa H^- s velikom većinom organskih molekula. $C_2H_5^+$ reagirat će prijenosom H^- s alkanima, dok će s drugim tvarima koje imaju veći protonski afinitet reagirati uglavnom u reakciji prijenosa protona.

4. Reakcije asocijacije

Asocijacijske reakcije imaju relativno mali utjecaj u kemijskoj ionizaciji kao ionizacijskoj metodi. Međutim, uporabom današnjih spektrometara masa te reakcije važne su u ispitivanju reaktivnosti plinovitih sustava kao i u određivanju strukture molekula uzorka. Karakteristično je da u ovim reakcijama reaktanti tvore relativno dugoživi aktivirani kompleks koji potom može biti stabiliziran u sudarima s neutralnim molekulama u plinskoj fazi. S obzirom da se aktivirani kompleks stabilizira u sudaru s trećom molekulom M (suvišak energije aktiviranog kompleksa prevodi se u termičko gibanje u okolini) reakcije asocijacije pri nižim tlakovima reakcije su trećeg reda, a pri višim tlakovima kad učestalost sudara s neutralnom molekulom M postane veća od brzine unimolekulske razgradnje aktiviranog kompleksa postaju reakcije drugog reda. Ukoliko izostane stabilizacija aktiviranog kompleksa, on se razgrađuje na produkte koji su različiti od reaktanata (15).



Ovaj tip reakcija naziva se još i kondenzacijske reakcije, a u slučaju asocijacijskih reakcija razgradnja aktiviranog kompleksa većim dijelom daje polazne reaktante (16).



Reakcije asocijacije imaju važno djelovanje u procesima solvatacije iona, nastanka iona kompleksa i polimerizacije u plinskoj fazi.²⁵

Kemijska ionizacija uz nastajanje negativnih iona

Mogućnost generiranja negativnih iona može biti vrlo korisna analitička metoda s obzirom da negativno nabijeni molekulski ion može u nekim slučajevima biti stabilniji, a također može dati komplementarne strukturne informacije kroz različite fragmentacijske procese u odnosu na spektar pozitivno nabijenog molekulskog iona.²⁶ Povećanje interesa za spektrima masa negativnih iona zabilježen je nakon što je razvijen ionski izvor koji generira veliku populaciju elektrona niske energije tzv. termalnih elektrona. To je postignuto u klasičnom ionskom izvoru kemijske ionizacije primjenom višeg tlaka plina koji ima funkciju moderatora početno visoko energijskih elektrona.^{27,28} Kroz sudare s plinom elektroni gube velik dio svoje kinetičke energije. Treba reći da generiranje negativnih iona nije ograničeno samo na ionski izvor kemijske ionizacije jer većina današnjih ionizacijskih tehnika može raditi i u negativnom modu.²⁹

U ionskom izvoru kemijske ionizacije negativni ioni mogu biti generirani bilo interakcijom niskoenergijskih elektrona s neutralnom molekulom uzorka ili reakcijom negativno nabijenog reakcijskog iona s neutralnom molekulom.

Ionizacija niskoenergijskim elektronima (ECNI, electron capture negative ionization) podrazumijeva kemijsku ionizaciju uz zahvat elektrona. To je proces gdje negativni ioni

nastaju interakcijom niskoenergijskih elektrona i elektrofilnih molekula uzorka. Zbog sličnosti uvjeta u kojima dolazi do ionizacije često se ionizacija niskoenergijskim elektronima pogrešno naziva i kemijskom ionizacijom. Moderirajući plin u izvoru kemijske ionizacije izvor je sekundarnih niskoenergijskih elektrona koji bivaju zahvaćeni elektrofilnim molekulama uzorka i nastaju negativni ioni uzorka. Strogo gledajući, kako u procesu ionizacije ne dolazi do ion-molekulske reakcije, ionizacija niskoenergijskim elektronima nije metoda kemijske ionizacije.

Ovisno o energiji elektrona i prirodi molekule procese ionizacije možemo podijeliti u tri različite skupine:

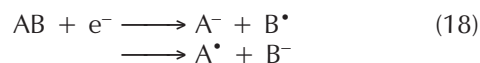
1. Rezonantni zahvat elektrona



Rezonantni zahvat elektrona događa se zahvatom elektrona energije blizu 0 eV.³⁰

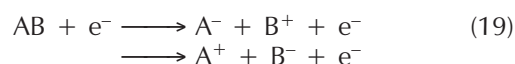
Pritom možemo razlikovati dva slučaja ovisno o tome je li elektronski afinitet molekule uzorka pozitivan ili negativan. Elektronski afinitet je razlika između energije neutralne molekule u osnovnom stanju s odvojenim i beskonačno udaljenim elektronom i energije iona koji nastaje vezanjem tog elektrona na molekulu. Kao i kod ionizacijskih energija moguće je razlikovati vertikalni i adijabatski elektronski afinitet, pri čemu će vrijednost vertikalnog elektronskog afiniteta biti veća ili jednaka vrijednosti adijabatskog elektronskog afiniteta. Ako je elektronski afinitet neke molekule uzorka veći od nule (uglavnom konjugirani sustavi s elektrofilnim skupinama), nakon zahvata elektrona nastaje dugoživi aktivirani kompleks koji potom može biti stabiliziran u sudarima s molekulama plina u ionskom izvoru i dati stabilni molekulski anion. Ukoliko je elektronski afinitet molekule uzorka manji od nule, tad zahvat elektrona odgovara vertikalnom elektronskom prijelazu (F-C prijelaz). Bez mogućnosti stabilizacije sudarima s molekulama nastaje vrlo nestabilan aktivirani kompleks koji se brzo razgrađuje na neutralnu molekulu i elektron. Odnosno, ako mu je energija iznad disocijacijske granice, razgradit će se na fragmente.

2. Disocijativni rezonantni zahvat elektrona



je primijećen ako su energije elektrona manje od 15 eV.^{31,32} Zahvatom elektrona dolazi do vertikalnog elektronskog prijelaza, pri čemu nastaje nestabilni aktivirani kompleks koji se razgradi dajući negativno nabijeni fragment molekulskog iona.^{33,34}

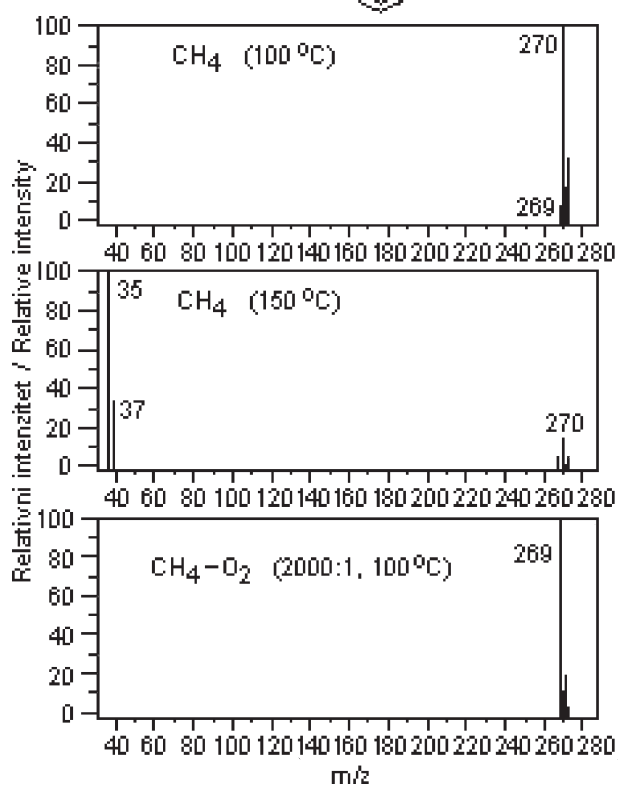
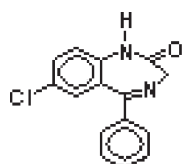
3. Nastanak ionskog para



postaje važniji proces kada su energije zahvaćenih elektrona dovoljne da generiraju pobuđenu molekulu uzorka koja razgradnjom daje pozitivan i negativan ion. Minimalne energije elektrona za taj proces su od 10 do 15 eV.

Relativne brzine ta tri konkurentna procesa ovise o raspodjeli energije ionizirajućih elektrona, a ona opet ovisi o moderirajućem plinu, njegovoj temperaturi i tlaku kao i o početnoj energiji visokoenergijskih elektrona. Idealno, negativna ionizacija zahtijeva snop monoenergijskih elektrona s energijom blizu 0 eV za generiranje negativnih molekularnih iona zahvatom elektrona.

Standardni postupak generiranja niskoenergijskih elektrona u ionskom izvoru kemijske ionizacije sastoji se od katodne emisije visokoenergijskih elektrona koji potom bivaju hlađeni moderirajućim plinom čiji je tlak u ionskom izvoru oko 1 Torr = 133,3 Pa. Hlađenje visokoenergijskih elektrona odvija se putem niza neelastičnih sudara i putem ionizacijskih procesa. Idealni moderirajući plin treba generirati niskoenergijske elektrone s dobro definiranom raspodjelom energija elektrona blizu 0 eV i dodatno ne smije reagirati s ispitivanom molekulom uzorka. Nijedan od literaturno predloženih moderirajućih plinova nije se približio ovom idealu, stoga spektar nekog uzorka može znatno varirati ovisno o moderirajućem plinu i eksperimentalnim uvjetima. Ovisnost o eksperimentalnim uvjetima može se vidjeti na primjeru spektara masa nordiazepamima pri različitim temperaturama. Kod temperature moderirajućeg plina od 100 °C jedini ion je $M^-(m/z 170)$, dok je kod temperature plina od 150 °C dominantan ion Cl^- , ako je

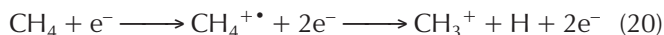


Slika 4 – Spektari masa nordiazepamima dobiveni ionizacijom niskoenergijskim elektronima pri različitim temperaturama i sastavu reakcijskog plina

Fig. 4 – Electron capture CI mass spectra of nordiazepam under different conditions

moderirajući plin smjesa O_2/CH_4 u omjeru 1:2000 dominantan ion je $[M-H]^- (m/z 169)$ (slika 4).

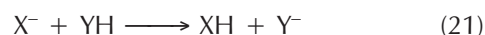
Kao moderirajući plin najčešće je upotrebljavan metan. Bombardiranjem metana elektronima energije 100 eV nastaju pozitivni ioni (20).



Za svaki generirani pozitivni ion generira se po jedan niskoenergijski sekundarni elektron i dodatno ionizacija metana oduzima oko 30 eV energije od primarnog elektrona. Dalje se energija elektrona smanjuje u sudarima s drugim neutralnim molekulama metana i na ovaj način se pri relativno visokom tlaku metana u ionskom izvoru generira populacija elektrona koja ima raspodjelu energija blizu 0 eV.³⁵ Povećanje tlaka moderirajućeg plina rezultira smanjenjem prosječne energije elektrona zatim povećava stabilizaciju pobuđenih molekularnih aniona putem sudara s neutralnim molekulama plina. Ta stabilizacija molekularnog aniona također smanjuje ostale elektron-molekulske reakcije kao što je disocijativni rezonantni zahvat elektrona. Ipak preveliko povećanje tlaka može otežati prijenos iona iz ionskog izvora.³⁶

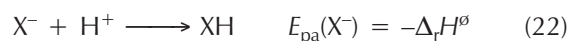
Kemijska ionizacija negativno nabijenim ionima (NICI, negative ion chemical ionization) može biti definirana kao reakcija između nekog reakcijskog aniona i neutralne molekule ispitivanog uzorka, pri čemu kao produkt nastaju negativno nabijene vrste porijeklom iz neutralne molekule uzorka. Te ion-molekulske reakcije možemo većim dijelom svrstati u tri glavne skupine:

1. Reakcije prijenosa protona



odvijat će se ukoliko je protonski afinitet aniona X^- veći od protonskog afiniteta Y^- , odnosno ako je reakcija (21) egzotermna.

Protonski afinitet (E_{pa}) aniona definiran je kao negativna reakcijska entalpija ($-\Delta_r H^\theta$), dok se reakcijska Gibbsova energija ($\Delta_r G^\theta$) za ovu reakciju naziva i kiselost u plinskoj fazi (E_{ga}) molekule XH.



$$E_{ga}(XH) = \Delta_r G^\theta$$

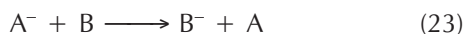
Molekularni anioni nastali u reakciji prijenosa protona sadržavaju vrlo mali suvišak energije. Iz reakcijske jednadžbe (21) vidi se da tijekom nastanka molekularnog aniona nema formiranja novih veza, a suvišak energije ostaje u neutralnoj molekuli koja je nastala iz reakcijskog aniona. Kao rezultat spektar masa molekularnog aniona nastalog u reakciji prijenosa protona sadržava vrlo intenzivan kvazi molekularski signal uz vrlo malu fragmentaciju. Reakcijski anioni s manjim protonskim afinitetom (tablica 4) kao što je Cl^- u manjoj mjeri će generirati molekularni anion uzorka, a češće će reagirati s kiselijom molekulom putem vodikovih veza. Ti intermedijeri vezani vodikovim vezama dalje mogu reagirati eliminacijom manjih neutralnih molekula kao što je HCl.³⁷

Tablica 4 – Protonski afiniteti nekih reakcijskih aniona kao i kiselost u plinskoj fazi njihovih konjugiranih kiselina

Table 4 – Brønsted base reagents

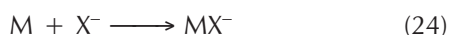
| B ⁻ | $\Delta H^{\circ}(\text{BH}) / \text{kJ mol}^{-1}$ | $E_{\text{ga}}(\text{B}) / \text{kJ mol}^{-1}$ |
|--------------------------------|--|--|
| NH ₂ ⁻ | 1690 | 75,3 |
| OH ⁻ | 1636 | 176,6 |
| O ⁻ | 1598 | 141,0 |
| CH ₃ O ⁻ | 1594 | 151,5 |
| F ⁻ | 1552 | 328,0 |
| O ₂ ⁻ | 1477 | 42,3 |
| Cl ⁻ | 1393 | 348,9 |
| Br ⁻ | 1356 | 324,7 |

2. Reakcije izmjene naboja negativnih iona



odvijat će se ako je elektronski afinitet molekule B veći od elektronskog afiniteta molekule A i tada je reakcija egzotermna. Reakcije izmjene naboja u nekim slučajevima mogu uzrokovati gubitak signala molekulskog aniona uzorka,³⁸ npr. fluor radikal nastao uporabom freona kao reakcijskog plina i izvora kloridnih aniona ima tako velik elektronski afinitet da reagira izmjenom naboja s nastalim anionima uzorka, što smanjuje osjetljivost metode.

3. Reakcije adicije

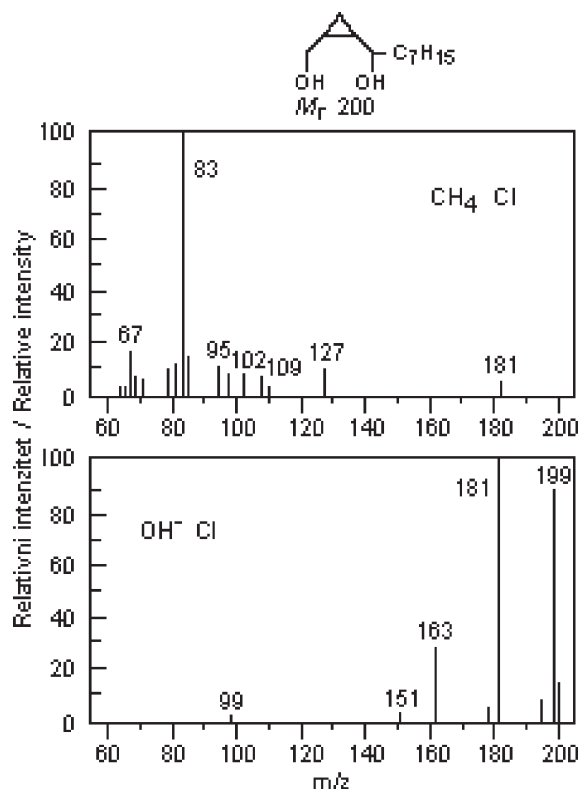


daju stabilne komplekse nukleofilnim napadom aniona malog protonskog afiniteta kao što su Cl⁻, O₂⁻ koji ne mogu reagirati u reakciji prijenosa protona. Kloridni anion nastao ionizacijom udarom elektrona reakcijskog plina diklorodifluorometana (Freon 12) daje stabilne komplekse stvaranjem vodikovih veza u spektrima velikog broja kiselina, amida, aromatskih amina i fenola.³⁹

Postoji veliki broj specifičnih reakcijskih plinova koji grupiraju negativne reakcijske ione koji sudjeluju u ion-molekulskim reakcijama s neutralnim molekulama analita: H⁻ iz H₂; O⁻, O₂⁻, O₃⁻ iz O₂; O⁻, NO⁻ iz N₂O; NH₂⁻ iz NH₃OH⁻ iz CH₄/N₂O (90:10) i mnogi drugi. OH⁻ je jaka baza i reagirat će u reakciji prijenosa protona s većinom organskih uzoraka dajući [M-H]⁻ i često se primjenjuje u slučajevima kada primjenom neke Brønstedove kiseline nije moguće dobiti molekulski ion (slika 5).

Halogeni anioni također mogu biti generirani iz različitih reakcijskih plinova.³⁹

Fluoridni anion F⁻ moguće je generirati iz CHF₃, CF₄, NF₃. Iako se rjeđe primjenjuje tipične reakcije u kojima sudjeluje daje kvazi molekulске ione [M + F]⁻, [M - H]⁻. Kako nije jaka baza, ne može sudjelovati u reakcijama prijenosa protona s alkoholima, aminima, alkanima, alkenima i većinom nitrita.

Slika 5 – Spektri masa 2,3-ciklopropil-1,4-undekandiola dobiveni kemijskom ionizacijom uz CH₄⁺ i OH⁻ reakcijske ioneFig. 5 – CH₄⁺Cl and OH⁻Cl mass spectra of 2,3-cyclopropyl-1,4-undecanediolPopis kratica
List of abbreviations

- CI – kemijska ionizacija
– chemical ionization
- ADO – teorija prosječne orijentacije dipola
– average dipol orientation
- APCI – kemijska ionizacija pri atmosferskom tlaku
– atmospheric pressure chemical ionization
- GC – plinska kromatografija
– gas chromatography
- LC – tekućinska kromatografija
– liquid chromatography
- MS – spektrometrija masa
– mass spectrometry
- FAB – ionizacija udarom brzih atoma
– fast atom bombardment
- LD – laserska desorpcija
– laser desorption
- TSP – ionizacija termoraspršenjem
– thermospray ionization
- FT-ICR – fourier transformirana ionsko ciklotronska rezonancija
– fourier transform ion cyclotron resonance
- ECNI – ionizacija uz zahvat niskoenergijskih elektrona
– electron capture neagitive ionization
- NICI – kemijska ionizacija uz nastajanje negativno nabijenih iona
– negative ion chemical ionization

Literatura References

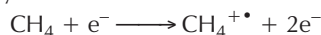
- M. S. B. Munson, F. H. Field, *J. Am. Chem. Soc.* **88** (1966) 2621.
- V. L. Tal'roze, A. K. Lyubimova, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **86** (1952) 969.
- D. P. Stevenson, D. O. Schissler, *J. Chem. Phys.* **23** (1955) 1353.
- F. H. Field, J. L. Franklin, F. W. Lampe, *J. Am. Chem. Soc.* **79** (1957) 2419.
- T. Su, M. T. Bowers, *J. Chem. Phys.* **58** (1973) 3027.
- L. Bass, T. Su, M. T. Bowers, *Chem. Phys. Lett.* **34** (1975) 119.
- T. Su, M. T. Bowers, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **12** (1973) 347.
- T. Su, E. C. F. Su, M. T. Bowers, *J. Chem. Phys.* **69** (1978) 2243.
- C. Lifshitz, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **118/119** (1992) 315.
- P. Longevialle, *Mass Spectrom. Rev.* **11** (1992) 157.
- A. G. Harrison, *Chemical Ionization Mass Spectrometry*, CRC Press, Boca Raton, 1983, 1–5.
- E. C. Huang, T. Wachs, J. J. Conboy, J. D. Henion, *Anal. Chem.* **62** (1990) 713.
- M. Barber, R. S. Bordoli, G. J. Elliott, R. D. Sedgwick and A. N. Tyler, *Anal. Chem.* **54** (1982) 645A.
- R. J. Cotter, *Anal. Chem.* **52** (1980) 1767.
- P. J. Arpino, *Mass Spectrom. Rev.* **9** (1990) 669.
- R. L. Hunter, R. T. McIver, *Anal. Chem.* **51** (1979) 699.
- S. Ghaderi, P. S. Kulkarni, E. B. Ledford, Jr., C. L. Wilkins, M. L. Gross, *Anal. Chem.* **53** (1981) 428.
- R. E. March, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **118/119** (1992) 71.
- G. I. Mackay, L. D. Betkowsky, J. D. Payzant, H. I. Schiff, D. K. Bohme, *J. Chem. Phys.* **80** (1976) 2919.
- M. S. B. Munson, J. L. Franklin, F. H. Field, *J. Phys. Chem.* **68** (1964) 3098.
- T. Keough, R. J. DeStefano, *Org. Mass Spectrom.* **16** (1981) 537.
- L. W. Sieck, *Anal. Chem.* **51** (1979) 128.
- B. A. Thomson, T. Sakuma, J. Fulford, D. A. Lane, N. M. Reid, J. B. French, *Adv. Mass Spectrom.* **8** (1980) 1422.
- S. G. Lias, J. R. Eyley, P. Ausloos, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **19** (1976) 219.
- M. Meot-Ner, F. H. Field, *J. Am. Chem. Soc.* **99** (1977) 998.
- H. Budzikiewicz, *Mass Spectrom. Rev.* **5** (1986) 345.
- D. F. Hunt, G. C. Stafford, Jr., F. W. Crow, J. W. Russell, *Anal. Chem.* **48** (1976) 2098.
- R. C. Dougherty, C. R. Weisenberger, *J. Am. Chem. Soc.* **90** (1968) 6570.
- J. R. Chapman, *Practical Organic Mass Spectrometry – A Guide for Chemical and Biochemical Analysis*, John Wiley & Sons, Chichester, 2. izdanje, 1993.
- L. G. Christophorou, *Environ. Health, Perspec.* **36** (1980) 3.
- H. Budzikiewicz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **20** (1981) 624.
- J. G. Dillard, *Chem. Rev.* **73** (1973) 589.
- L. G. Christophorou, R. N. Compton, G. S. Hurst, G. S. Reinhardt, *J. Chem. Phys.* **45** (1996) 536.
- P. J. Chantry, G. J. Schultz, *Phys. Rev.* **156** (1967) 134.
- D. F. Hunt, F. W. Crow, *Proceedings of the 9th Materials Research Symposium*, April 1978, NBS Special Publication 519, National Bureau of Standards, Washington D. C., 1979, 601.
- E. A. Stemmler, R. A. Hites, *Biomed. Mass Spectrom.* **15** (1988) 659.
- K. R. Jennings, u R. A. W. Johnstone (uredn.), *Specialist Periodical Report, Mass Spectrometry*, Vol. 4, Chemical Society, London, 203.
- R. C. Dougherty, *Anal. Chem.* **53** (1981) 625A.
- H. P. Tannenbaum, J. D. Roberts, R. C. Dougherty, *Anal. Chem.* **47** (1975) 49.

SUMMARY

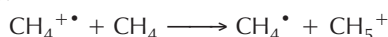
Chemical Ionization Mass Spectrometry

S. Kazazić and S. Martinović*

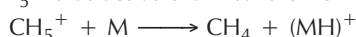
Chemical Ionization (CI) is applied to samples similar to those analyzed by electron ionization and is primarily used to enhance the abundance of the molecular ion. Chemical ionization uses ion-molecule reactions in the gas phase to produce ions from the sample molecule. The chemical ionization process is initiated with a reagent gas such as methane, isobutane, or ammonia, which is initially ionized by electron impact ionization. A high gas pressure in the ionization source results in the propagation of ion-molecule reactions between the reagent gas ions and reagent gas neutrals. Some of these ions can react with the analyte molecules to produce ions. This ion-molecule reaction is a much lower energy process than EI and results in either a protonated molecule, a deprotonated molecule (a negative ion – mass spectrometry can be used for the detection of either positive or negative ions), an adduct ion (where the reagent ion adds to the analyte molecule), or a molecular ion (brought about through charge transfer from the reagent ion to the analyte molecule). If we ionize methane gas at a relatively high pressure (0,1 Torr) by electron impact, then we initially create the molecular ion.



However, the methane is at a high pressure, so there is a distinct possibility of the molecular ion colliding with another methane molecule.



Therefore, if a small amount of the sample to be analyzed is introduced into the ion source in the vapor phase, it is the species such as CH_5^+ that act as the means of ionization of the sample.



Chemical ionization is a relatively soft ionization method, and in fact, it represents the first soft ionization introduced to mass spectrometry. While the CI process itself generates ions of relatively low internal energy, thus exhibiting a low level of fragmentation, evaporation of the analyte prior to ionization remains the critical step. Therefore, CI will allow molecular ion recognition only if the analyte can be evaporated without decomposition.