



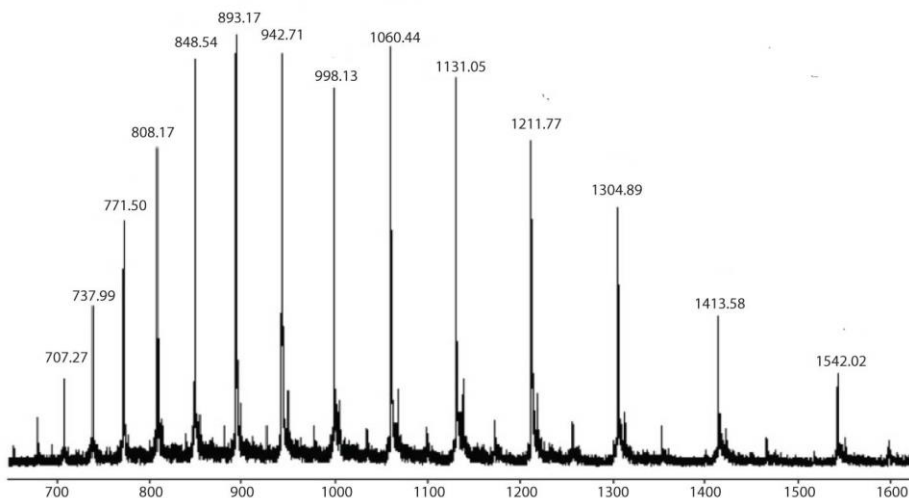
Ústav analytické chemie
VŠCHT PRAHA

INTERPRETACE HMOTNOSTNÍCH SPEKTER



Hmotnostní spektrometrie

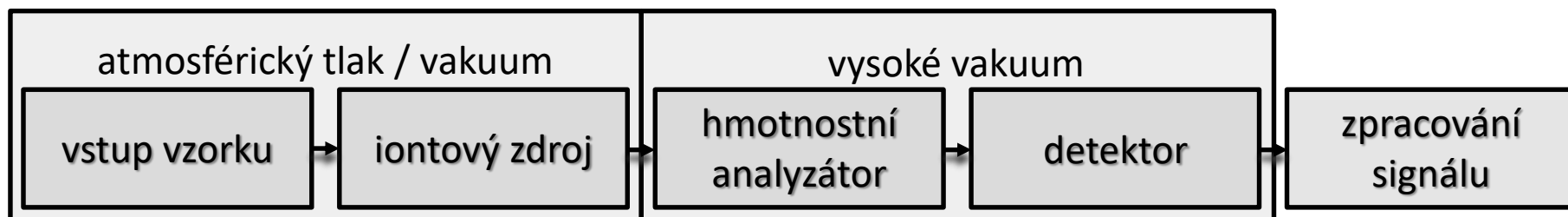
- **hmotnostní spektrometrie** = fyzikálně chemická metoda založená na rozdělení hmotnosti **iontů** v plynné fázi podle jejich poměru hmotnosti a náboje (nábojového čísla)
- anorganické ionty, ionizované molekuly, jejich fragmenty, asociáty
- kvalitativní (strukturní) i kvantitativní analýza (stopová, ultrastopová)
- nejedná se o spektroskopii z fyzikálního hlediska (žádné fotony)!
 - mezi spektrální metody se řadí z důvodu podobnosti záznamu (hmotnostní spektrum) a aplikace (strukturní analýza)



Hmotnostní spektrum koňského srdečního myoglobinu

<https://www.sepscience.com/Techniques/MS/Articles/247-/MS-Solutions-16-Determination-of-Intact-Protein-Molecular-Mass-from-Multiple-Charge-Electrospray-Mass-Spectra>

Instrumentace MS (ve zkratce)



- vstup vzorku – zásobník/přímý vstup – vložení za atmosférického tlaku, postupná evakuace
- iontový zdroj – ionizace neutrální molekuly; produkt se může rozpadat na fragmentové ionty
 - ve vakuu: **EI (tvrdá ionizace)**, CI (měkká ionizace); s pomocnou látkou: FAB, MALDI
 - za atmosférického tlaku: ESI (elektrosprej), APCI, APPI (fotoionizace)
- hmotnostní analyzátor – separátor iontů
 - magnetický/elektrostatický sektorový separátor, kvadrupólový separátor, iontová past, průletový separátor (TOF), cyklotronový separátor, orbitrap
- detektor – přeměna energie dopadajících iontů nejčastěji na elektrický signál
 - elektronový násobič, Faradayův detektor, scintilační detektory
- vakuový systém – soustava vývěv (olejová, turbomolekulární nebo difuzní)
- iontová optika – fokusace iontů
- počítač – ovládání přístroje, zpracování dat

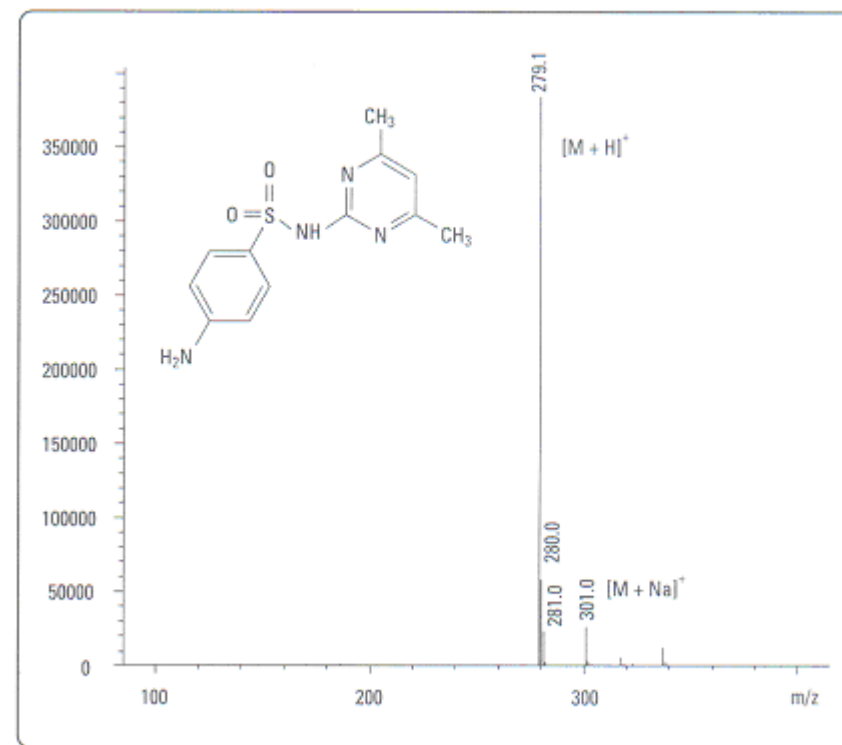
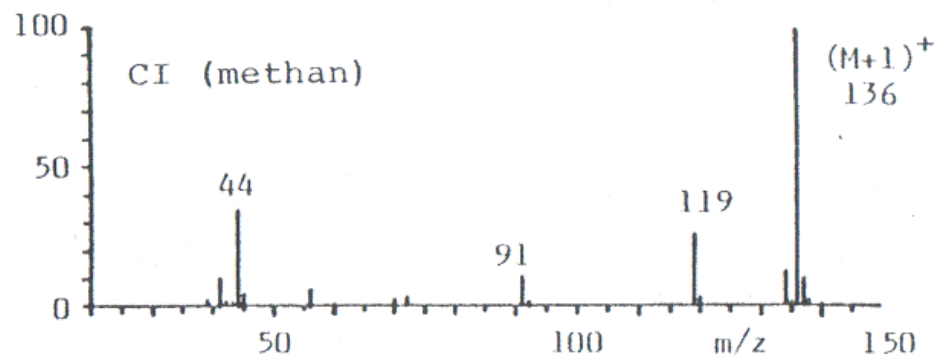
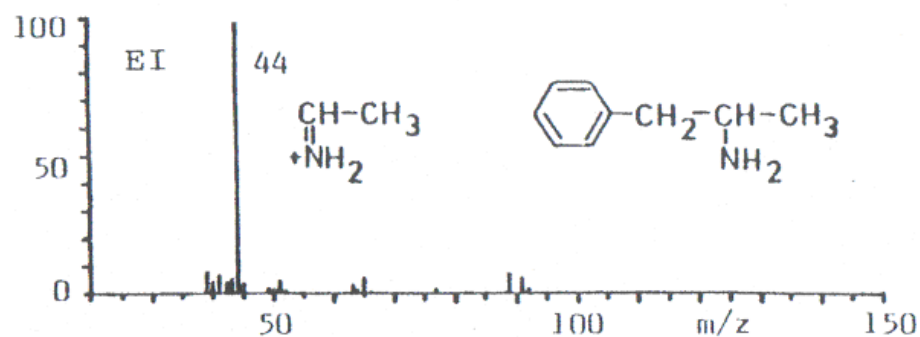
Interpretace hmotnostních spekter

1. **osa x:** škála v jednotkách m/z (m = hmotnost iontu; z = počet elementárních nábojů)
osa y: iontový proud nebo jeho přepočet na procenta intenzity **základního iontu** spektra (= nejintenzivnějšího, často označován jako *base peak*); tzv. *normalizované spektrum*
2. podoba spektra závisí na způsobu ionizace (nutno uvádět podmínky ionizace)
 - Elektronová ionizace (EI): tvrdá ionizace (výrazná fragmentace)
molekulový ion – molekulární ionradikál $M^{+\bullet}$
 - Chemická ionizace (CI): měkká ionizace (nízká fragmentace)
molekulový ion – $[M+H]^+$
 - Elektrosprej (ESI): měkká ionizace
molekulový ion – $[M+H]^+$ nebo $[M+Na]^+$
 - některé ionizace poskytují negativně nabitě ionty

**KROMĚ VÝSLOVNĚ UVEDENÝCH PŘÍKLADŮ JSOU SPEKTRA URČENÁ K
INTERPRETACI POŘÍZENA ELEKTRONOVOU IONIZACÍ (EI) O ENERGII
IONIZUJÍCÍCH ELEKTRONŮ 70 eV**

Srovnání spekter s různou ionizací

AMFETAMIN M^+ 135



3. Určení molekulové hmotnosti

- ion s nejvyšší hodnotou m/z (ale nemusí být)
- ion s lichým počtem elektronů ($M^{+\bullet}$ je vždy lichoelektronový)
- odštěpují „rozumné“ fragmenty – menší neutrální molekuly nebo radikály
 - 15, 29, 43 (alkyl), 18 (voda), 19 (F), 28 (ethylen/ CO), 35/36 (Cl / HCl), 79 (Br) apod.
 - zakázané ztráty: (m/z) 3–13, 21–25 neodpovídají reálné fragmentaci
 - $\Delta(m/z)$ 14 (CH_2) z $M^{+\bullet}$ je **zakázaná**, u **fragmentových iontů** ve spektru je **běžná**

4. Určení elementárního složení (nebo jeho odhad)

- pokud je k dispozici vysoké rozlišení – určí se přímo
- užití **dusíkového pravidla**:
 - lichý počet dusíků – lichá molekula, převážně sudé fragmenty
 - sudý počet dusíků (vč. 0) – sudá molekula, liché fragmenty
 - *běžná molekula bez dusíku je vždy sudá*
- určení $M+2$ prvků (Cl, Br; S, Si)
- odhad počtu uhlíků (± 1) z poměru $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ ($M+1$)

5. Výpočet čísla nenasycenosti

- $\text{UN (DBE)} = n(\text{C}) - \frac{1}{2} n(\text{H}) + \frac{1}{2} n(\text{N}) + 1$

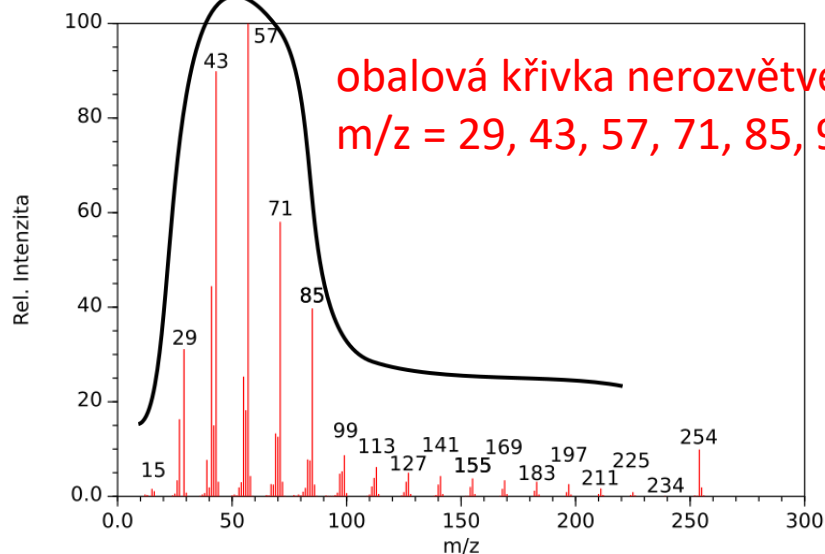
Charakteristické ionty

- alifatické uhlovodíky nasycené
 - m/z 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, ... $\Delta = 14$
 - „obalová křivka“ – maximum 43, 57 pro nerozvětvené
 - m/z 27, 41, 55 odpovídají nenasyčeným alifatickým uhlovodíkům (v nižší intenzitě)
 - u větvených uhlovodíků – vyšší intenzita iontu v místě větvení
- alifatické uhlovodíky nenasyčené a cyklické
 - proti nasyceným vyšší ionty nenasyčené serie $m/z = 27, 41, 55, 69, \dots$
a sudé ionty $m/z = 28, 42, 56, 70$

látky	m/z
aromáty	38, 39, 50–52, 63–65, 75–78 77, 91 (tropylium), 105, ...
aminy	30, 44, 58, ...
nitrily	40, 54, 68, ...
alkoholy, ethery	31, 45, 59, ...
kyseliny, estery	45, 59, 73, ...
thioly, sulfidy	33, 47, 61, ... (+ ion izotopický)

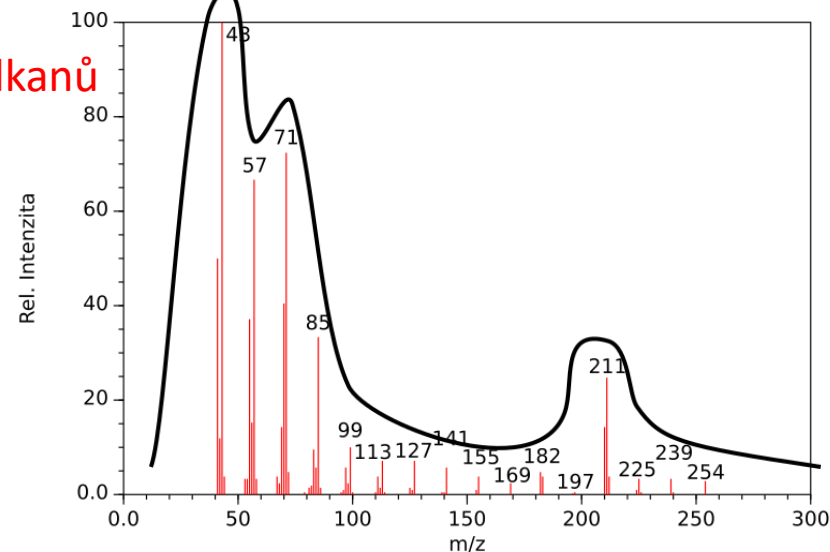
MS: alkany – obalová křivka

Oktadekan



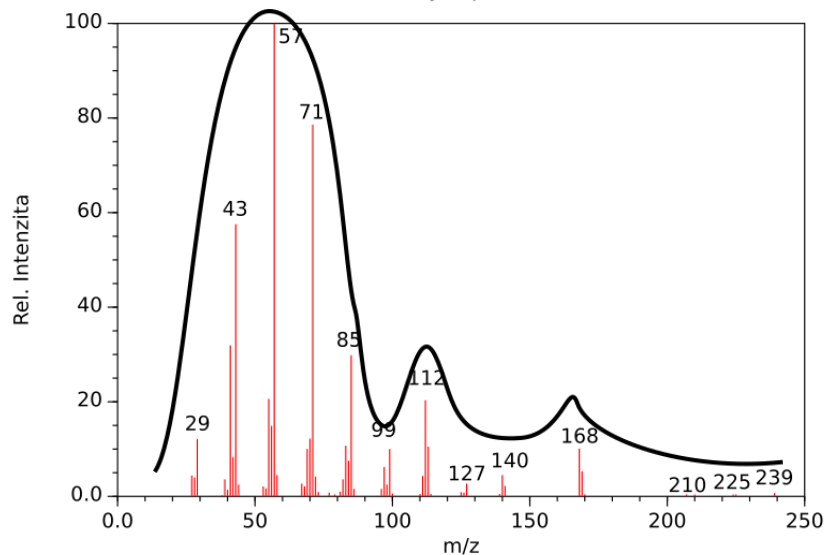
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

4-methylheptadekan



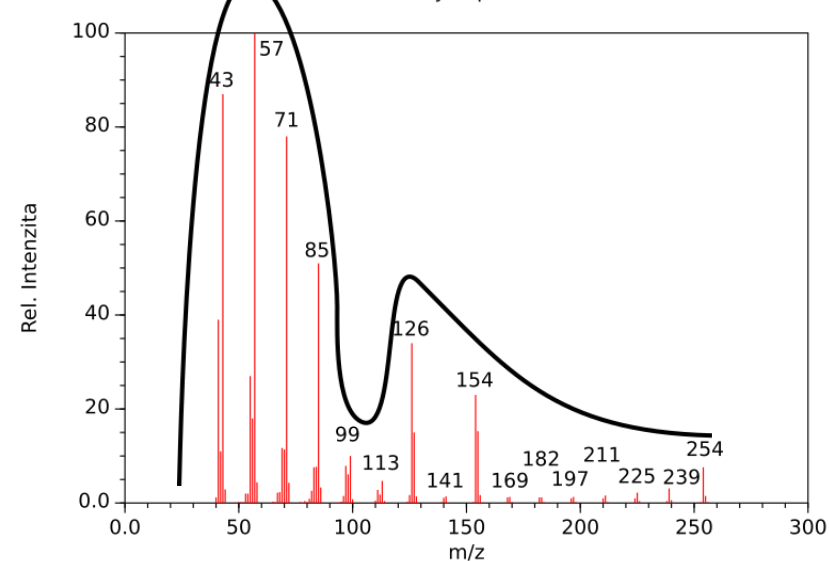
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

7-methylheptadekan



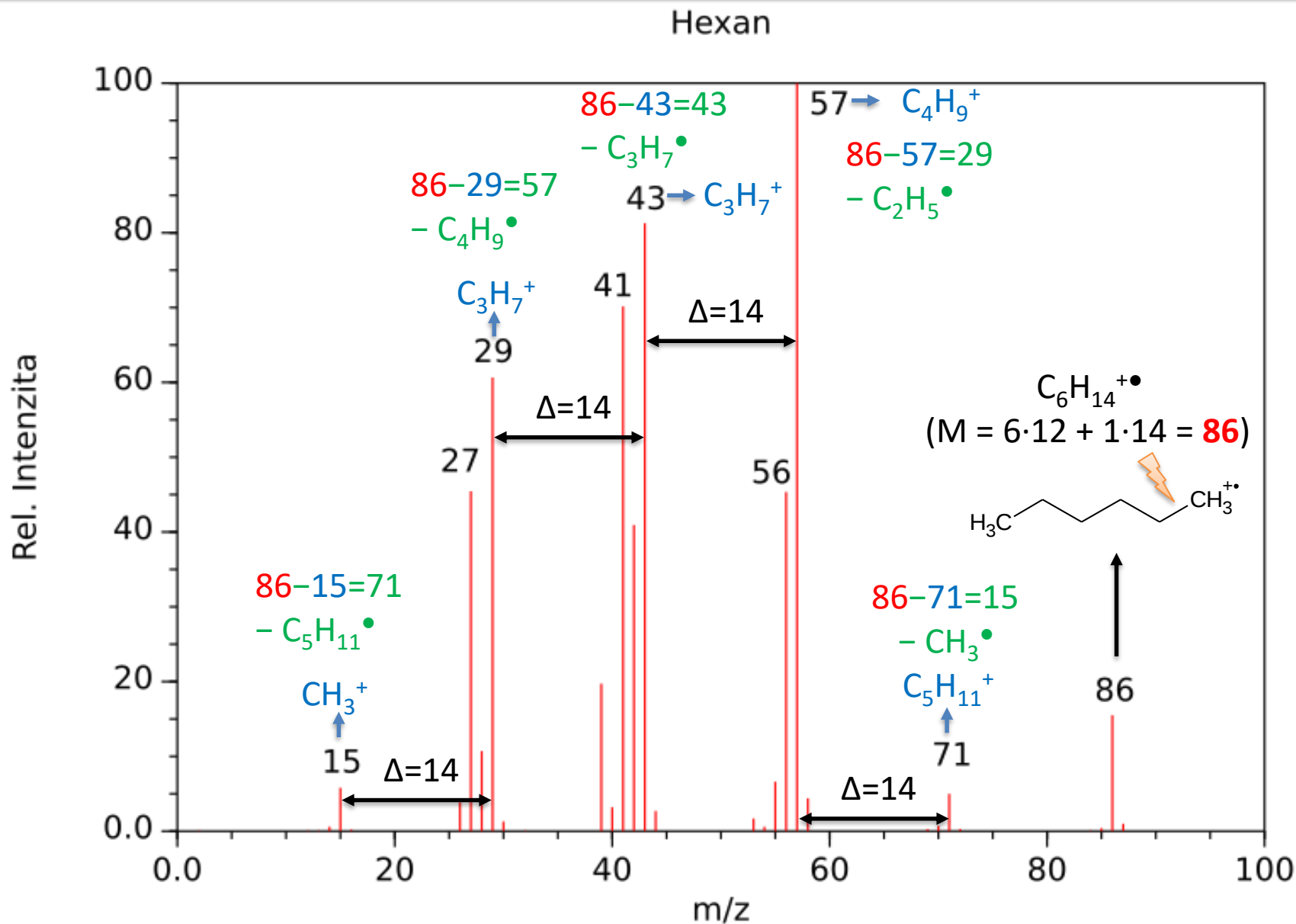
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

8-methylheptadekan



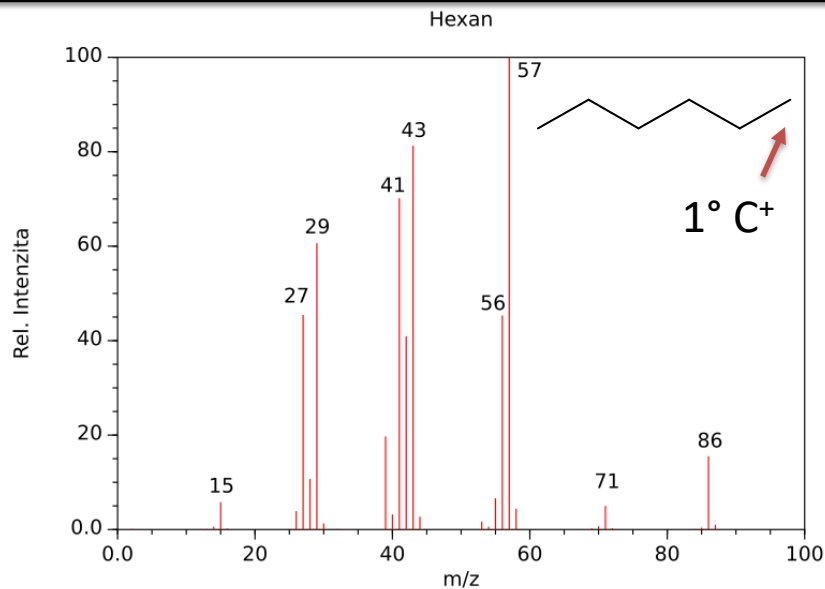
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkany (σ -štěpení C–C vazby)

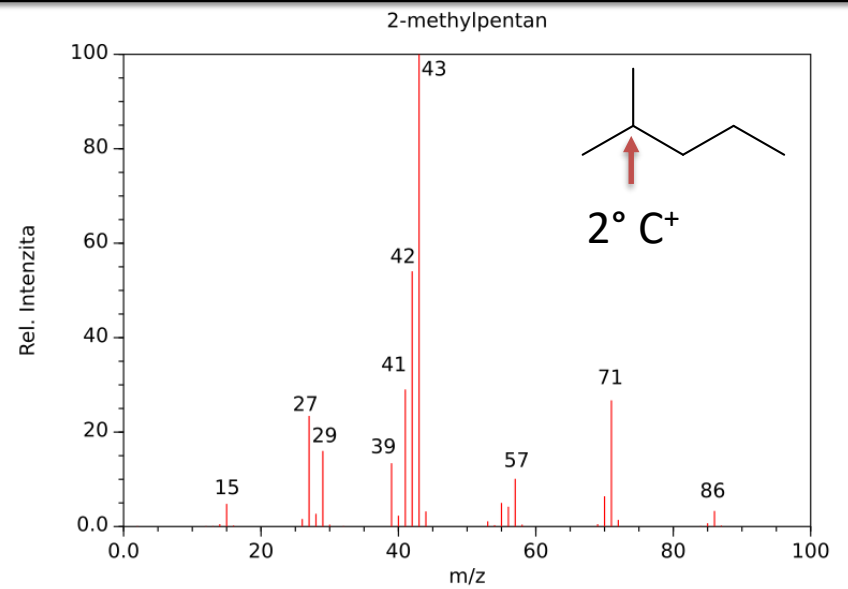


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

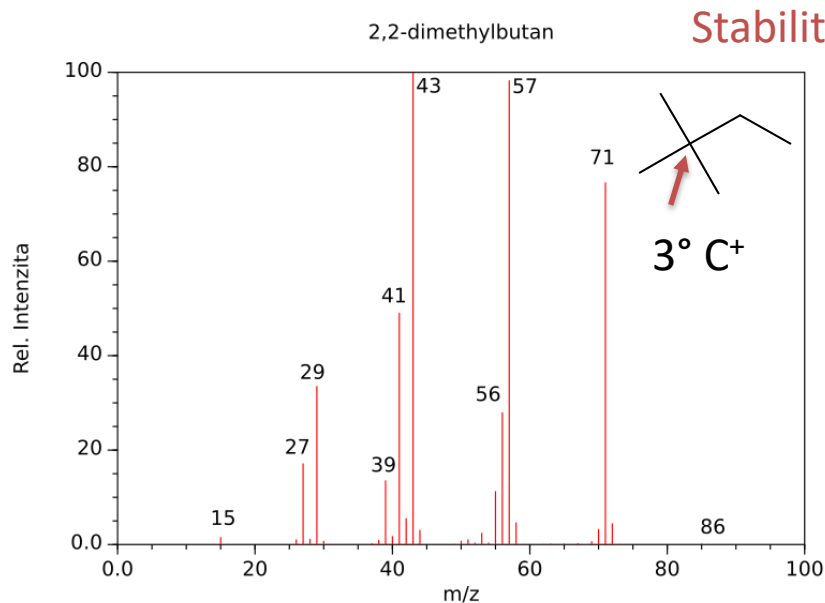
MS: alkany (závislost fragmentace na struktuře)



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

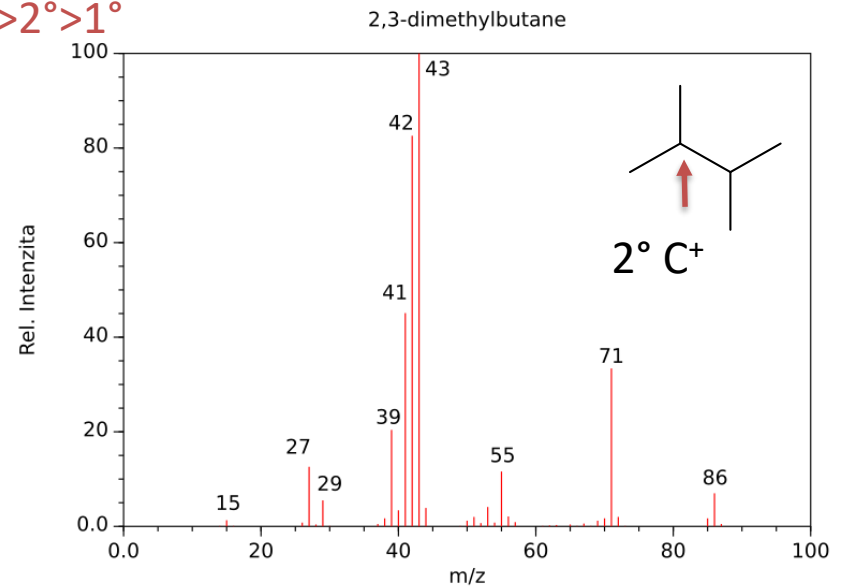


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

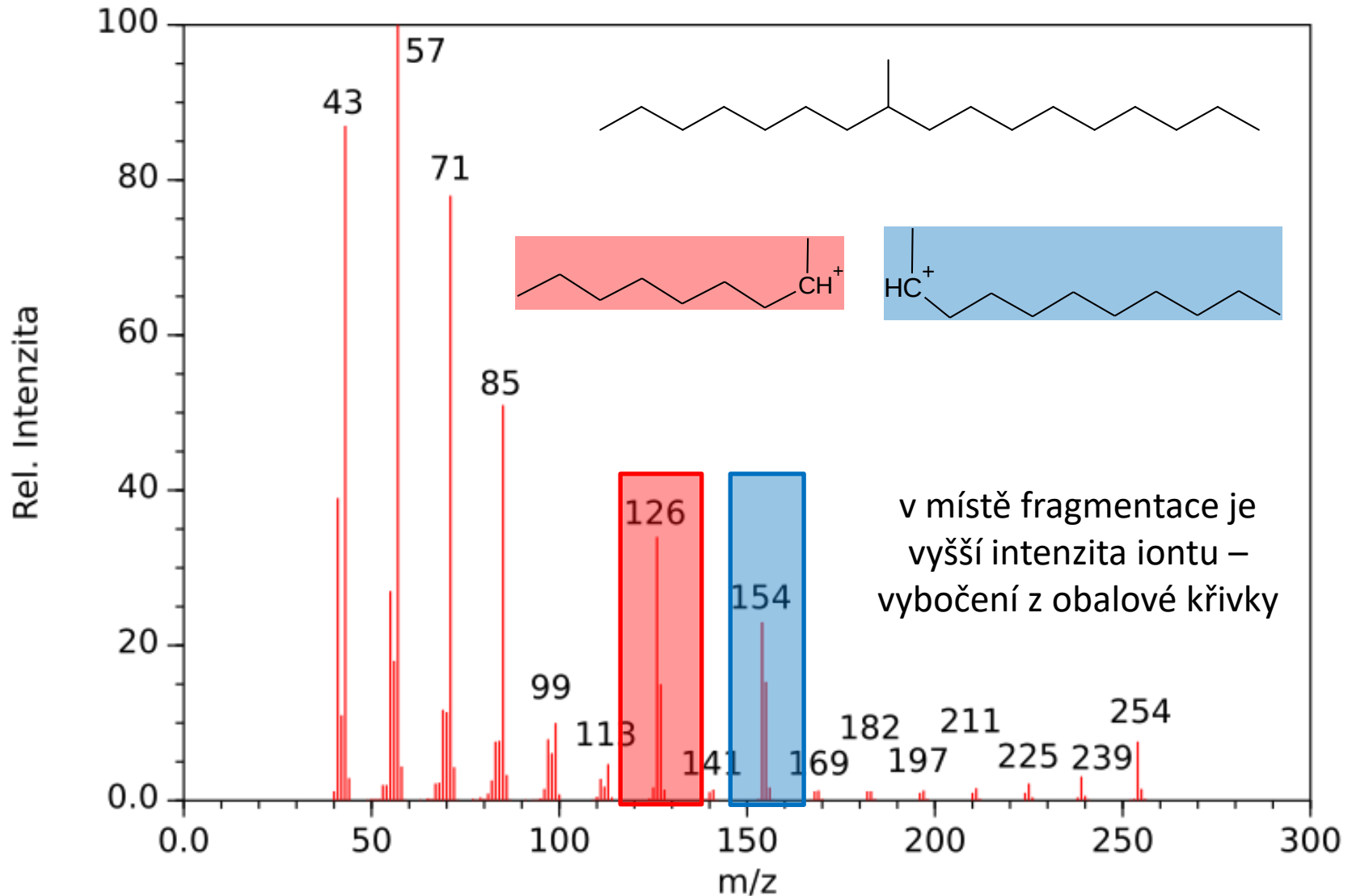
Stabilita C⁺: 3° > 2° > 1°



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

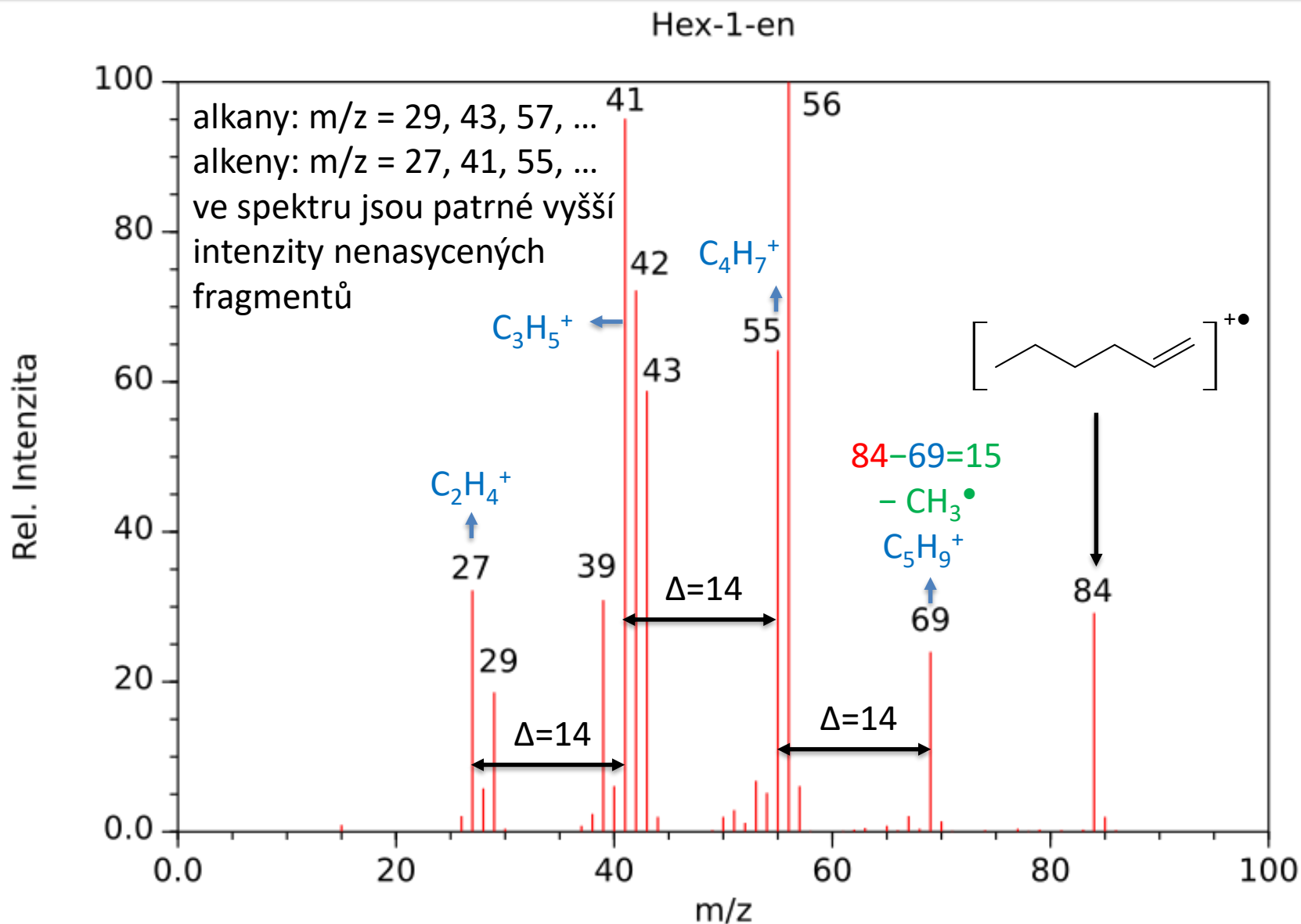
MS: alkany (závislost fragmentace na struktuře)

8-methylheptadekan



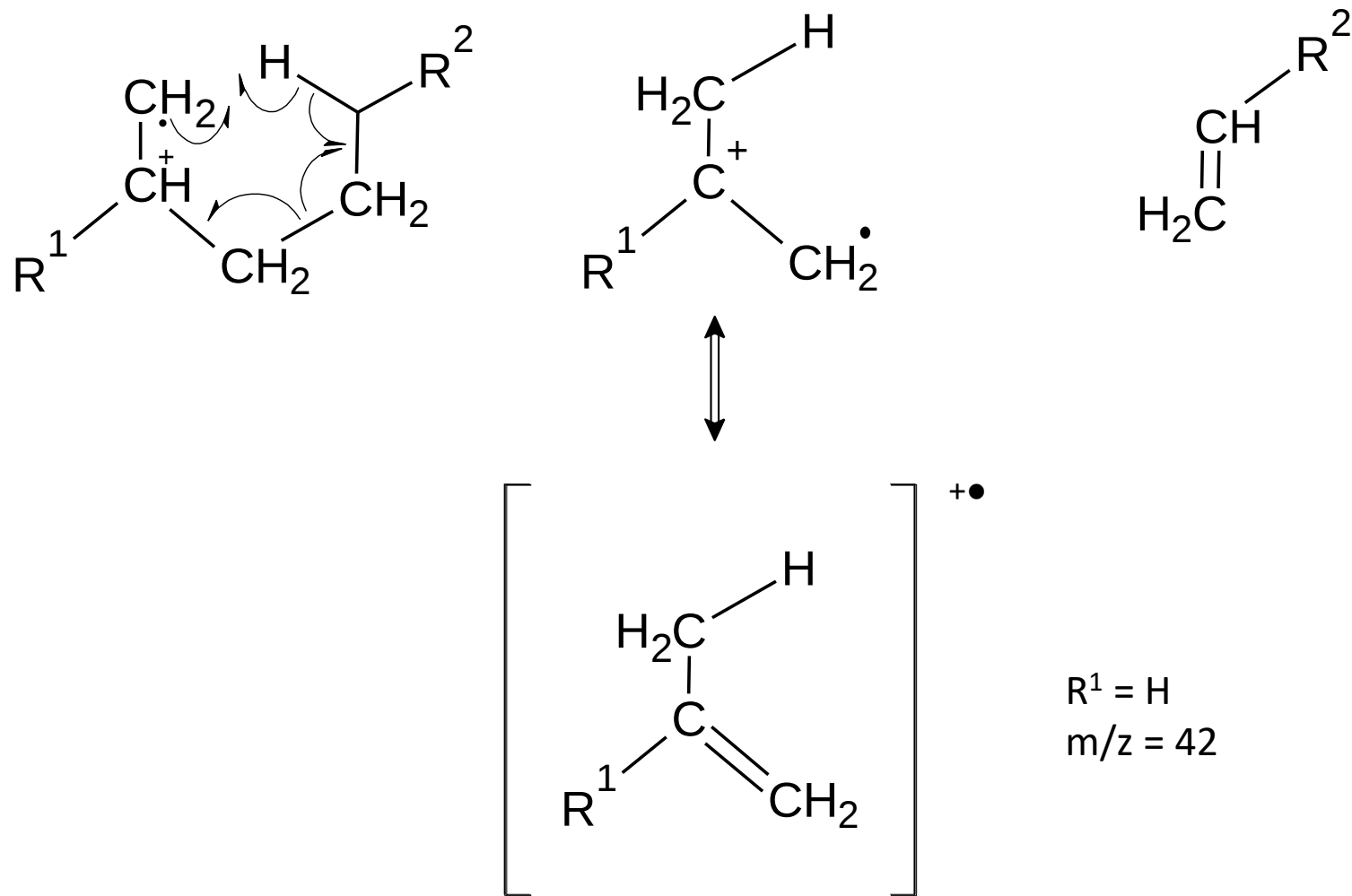
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkeny (liché fragmenty)

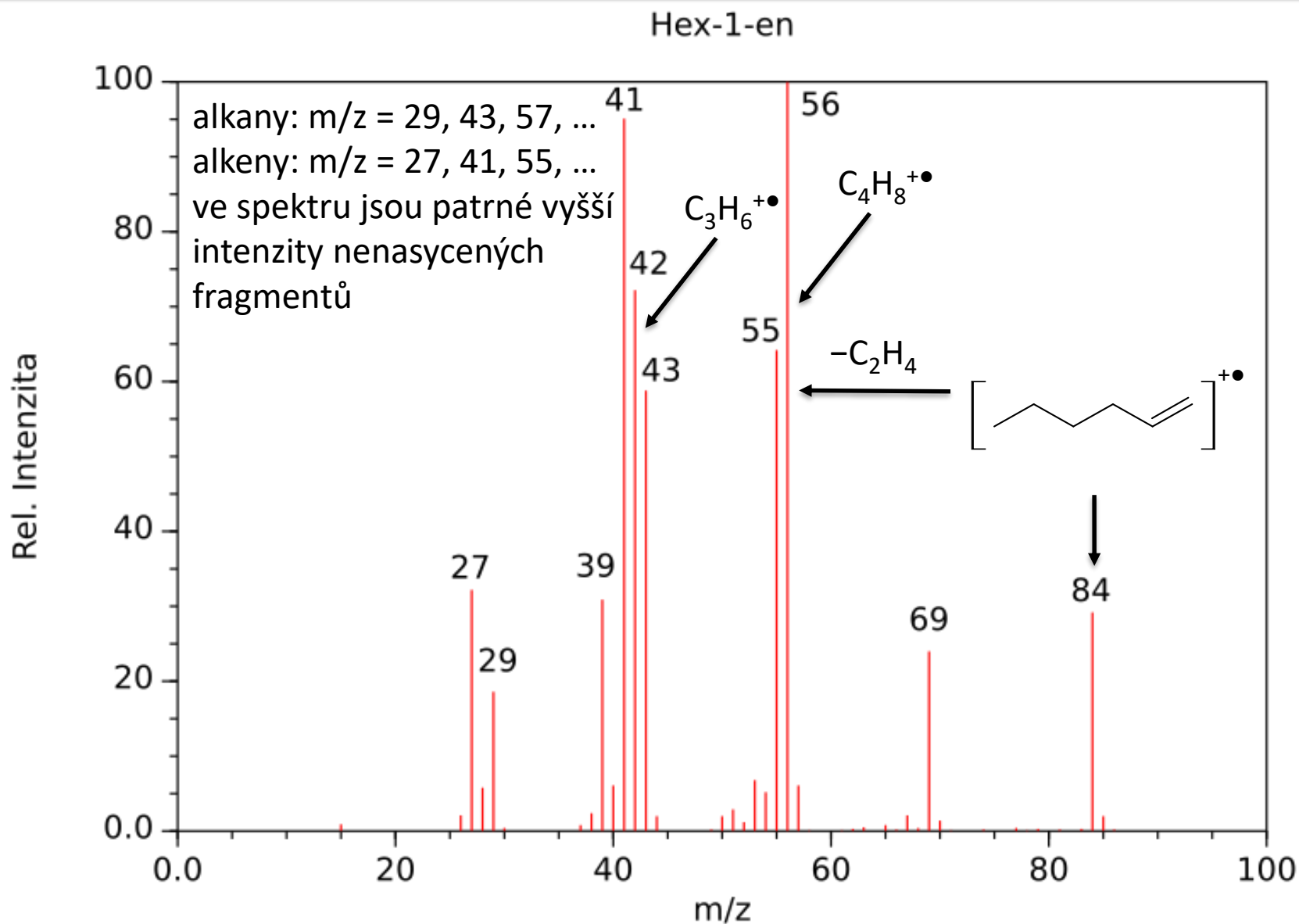


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkeny (sudé fragmenty – McLaffertyho přesmyk)

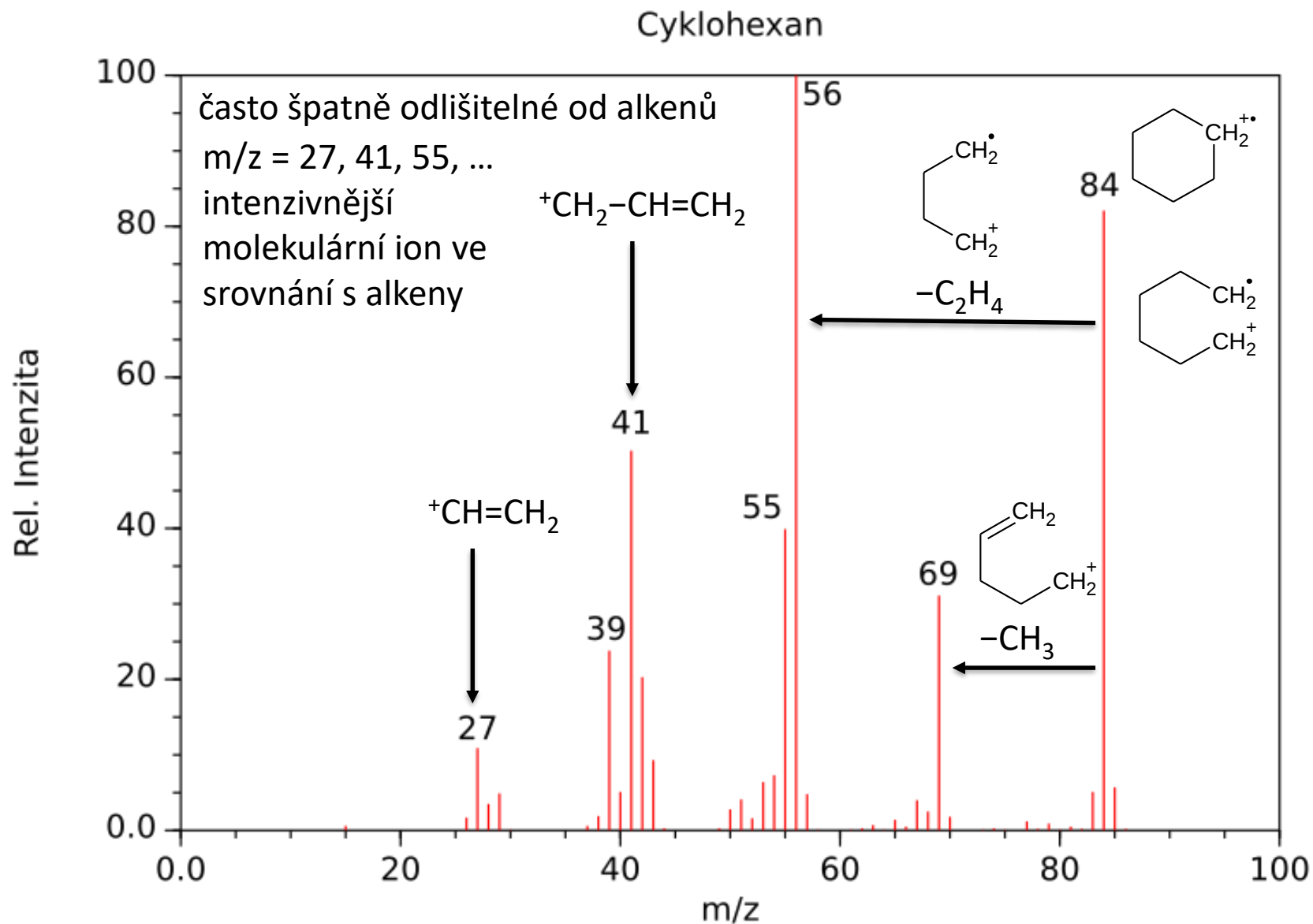


MS: alkeny (sudé fragmenty – McLaffertyho přesmyk)



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

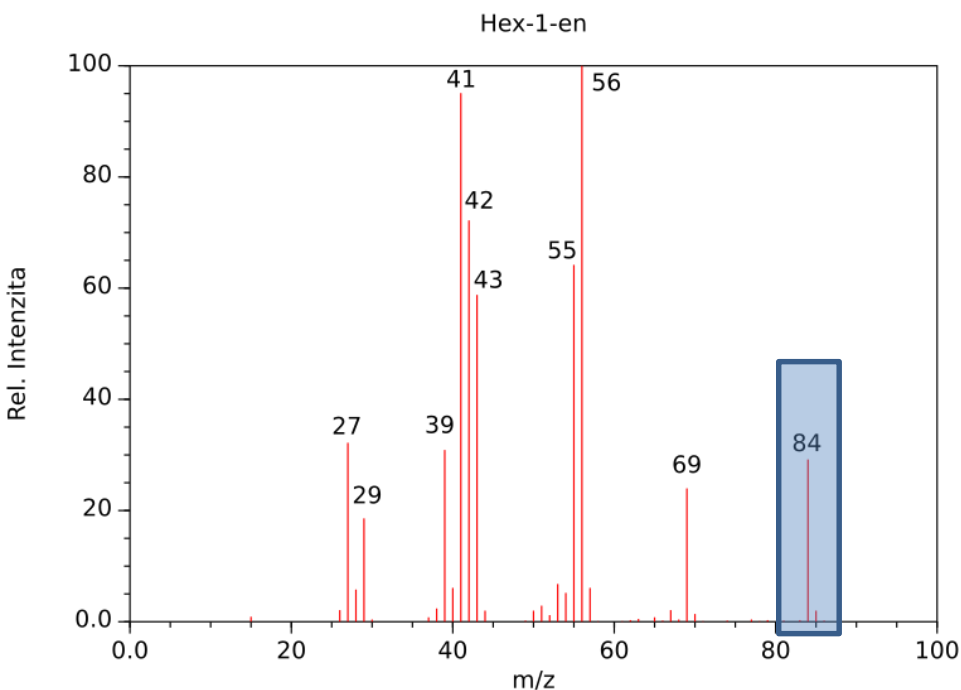
MS: cykloalkany



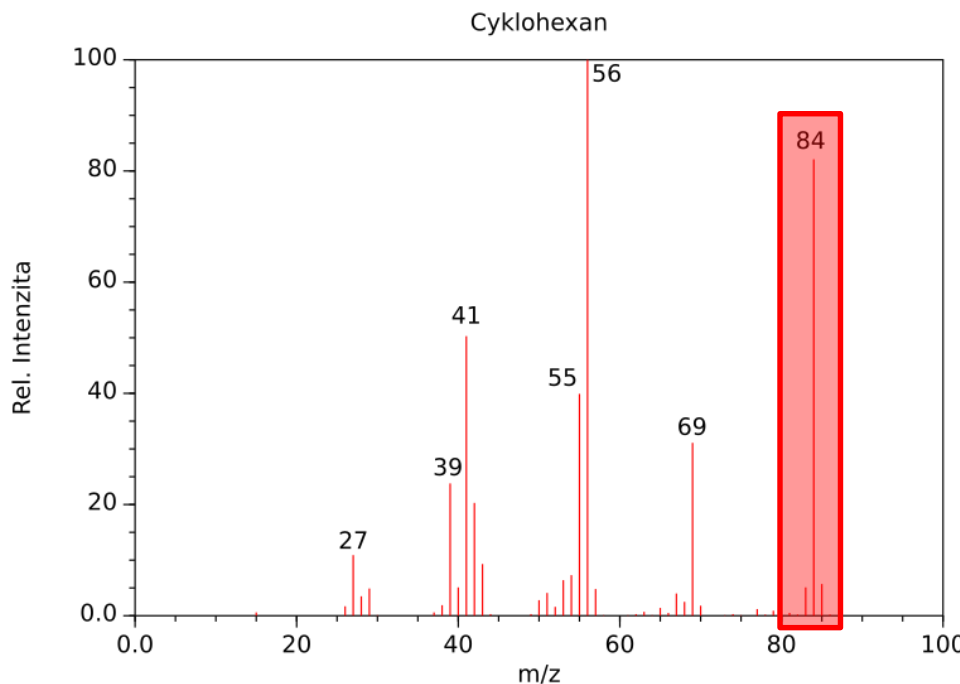
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkeny vs. cykloalkany

cykloalkany vykazují intenzivnější molekulární ion ve srovnání s alkeny



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: areny

intenzivní molekulový pík

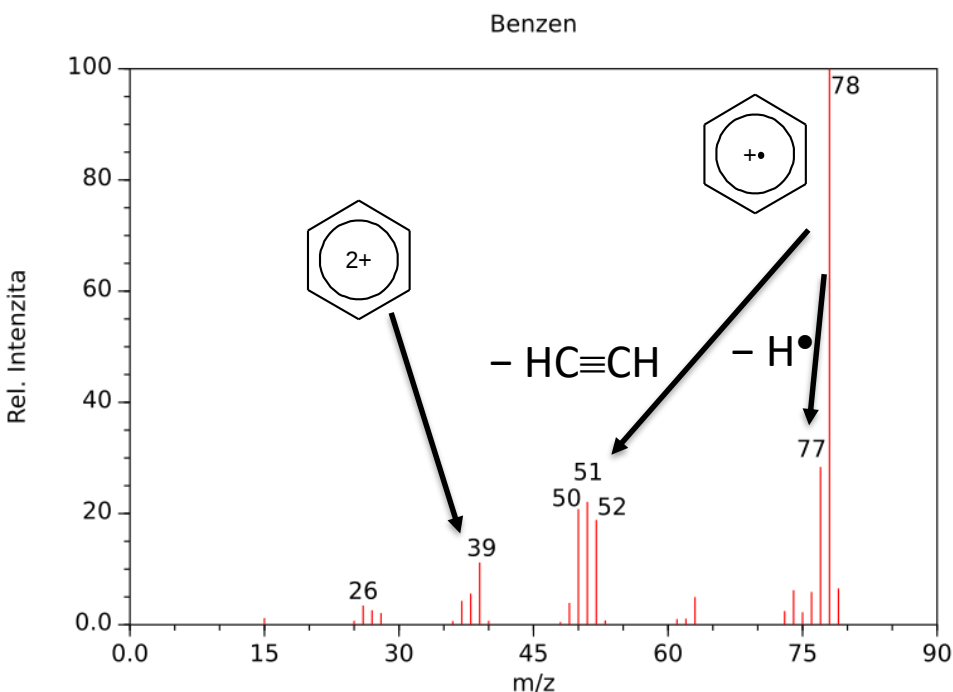
dvojnásobně nabitý iont M^{2+} (poloviční hmotnost)

stabilní molekula – málo fragmentů

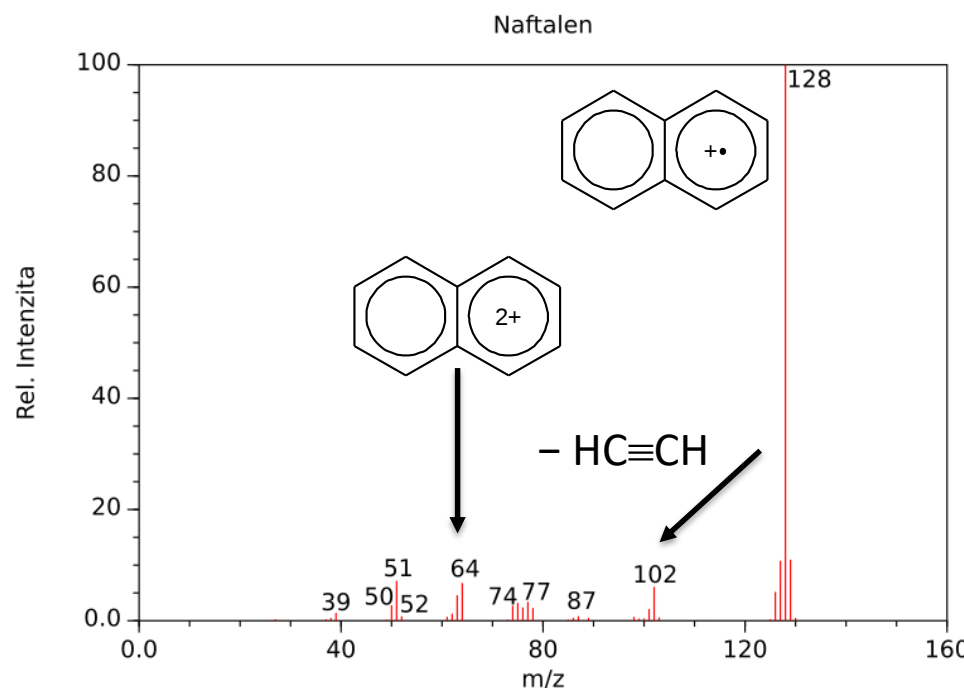
charakteristické ionty (m/z):
77 ($C_6H_5^+$)
65 ($C_5H_5^+$)
51 ($C_4H_3^+$)
39 ($C_3H_3^+$) / ($C_6H_6^{2+}$)

často 63–65

často 50–52

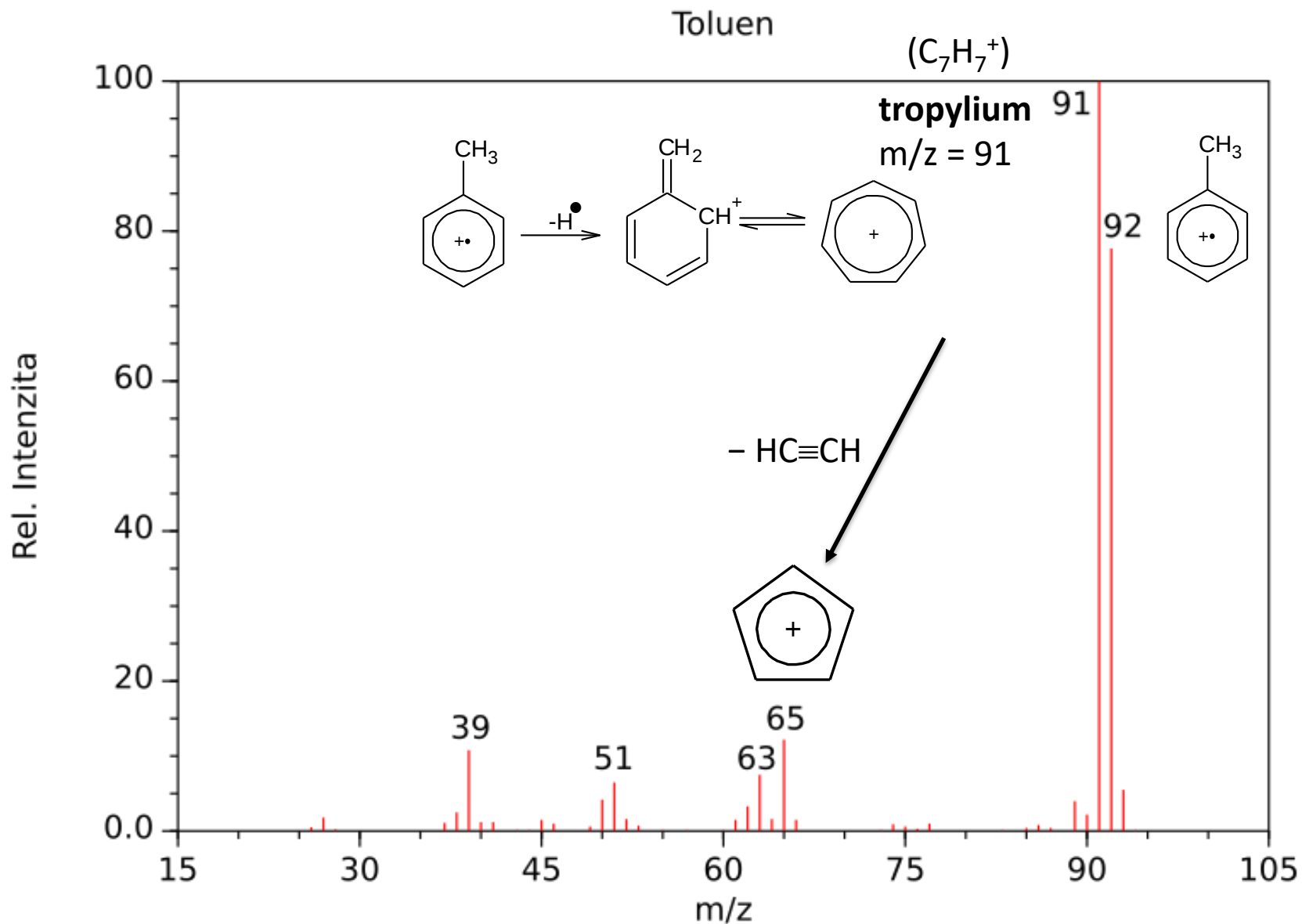


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

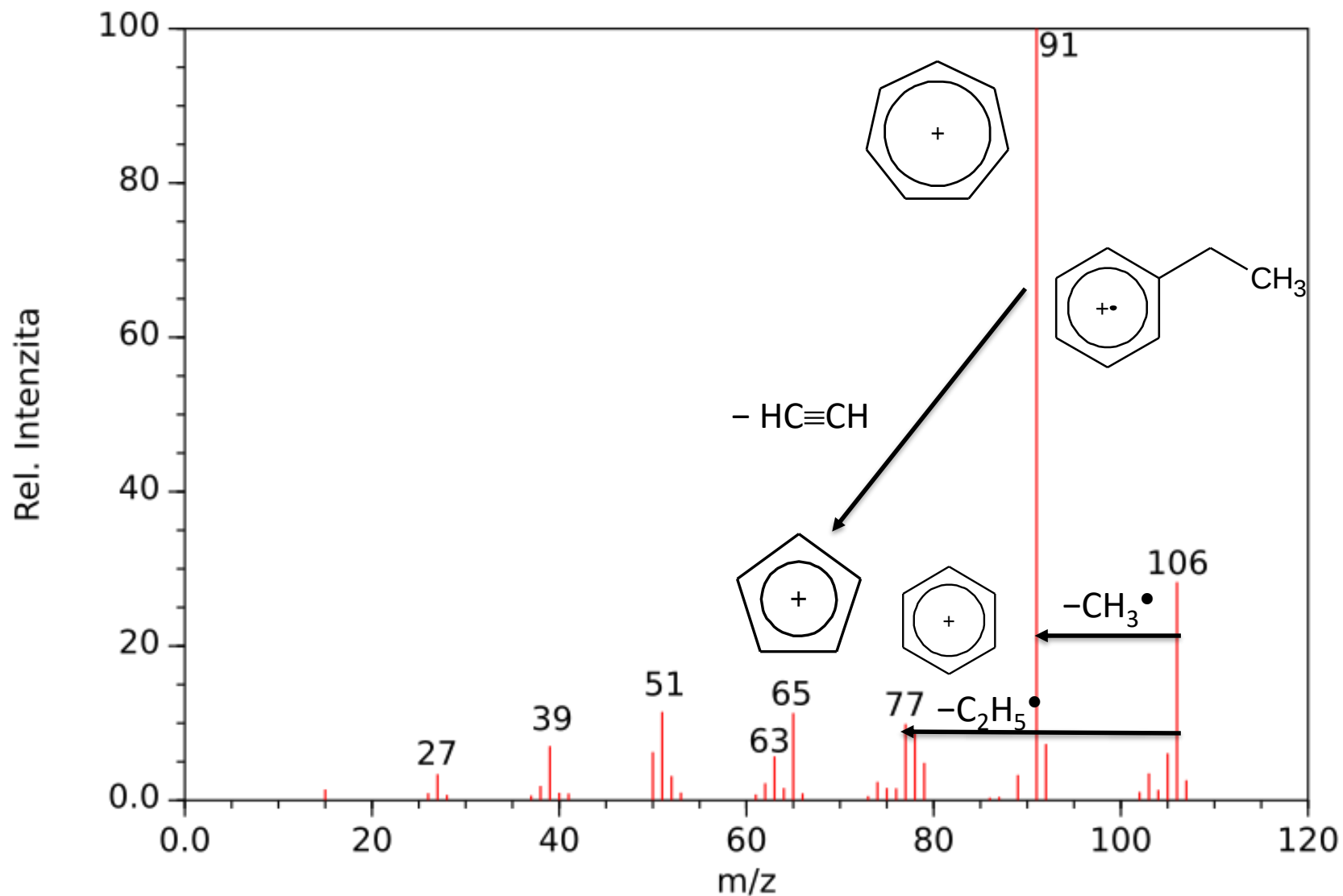
MS: alkylareny



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkylareny

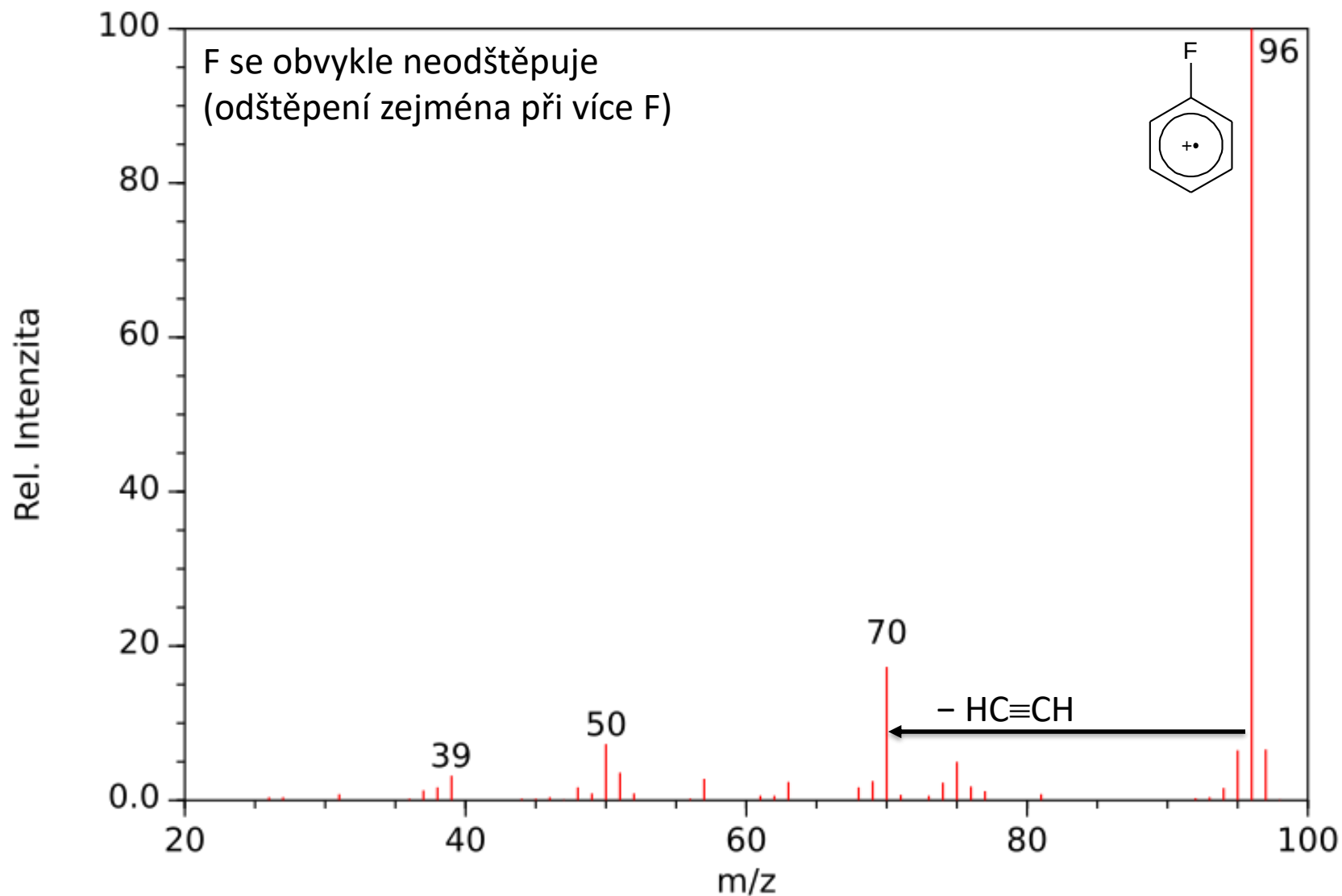
Ethylbenzen



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: fluorované areny

Fluorbenzen



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

Izotopy v hmotnostním spektru

- většina prvků tvořena více izotopy (x např. ^{31}P , ^{19}F ,...) – různá hmotnost izotopů
- iontový (molekulární klast): ionty jednoho elementárního složení detekovány s několika rozdílnými hmotnostmi (podle přirozeného zastoupení izotopů)
- komplikace spektra $\times$ zjištění počtu atomů daného prvku v iontech daného složení

Izotopické zastoupení vybraných organických prvků

Prvek	„M“		„M+1“		„M+2“	
	m/z	%	m/z	%	m/z	%
H	1	100	2	0,015	-	-
C	12	100	13	1,1	-	-
F	19	100	-	-	-	-
S	32	100	33	0,79	34	4,4
Cl	35	100	-	-	37	32
Br	79	100	-	-	81	97,3

$^{35}\text{Cl}:^{37}\text{Cl} \approx 3:1$

$^{79}\text{Br}:^{81}\text{Br} \approx 1:1$

Poměr intenzit izotopů lze získat z binomického rozvoje:
 $(a+b)^n$

Př.: chlorbenzen

$M_r(\text{C}_6\text{H}_5^{35}\text{Cl}) = 112$

$M_r(\text{C}_6\text{H}_5^{37}\text{Cl}) = 114$

$\rightarrow$ intenzita v poměru 3:1

$(a+b)^1 = a + b = 3 + 1$

Př.: 1,2-dichlorbenzen

$M_r(\text{C}_6\text{H}_4^{35}\text{Cl}_2) = 146$

$M_r(\text{C}_6\text{H}_4^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}) = 148$

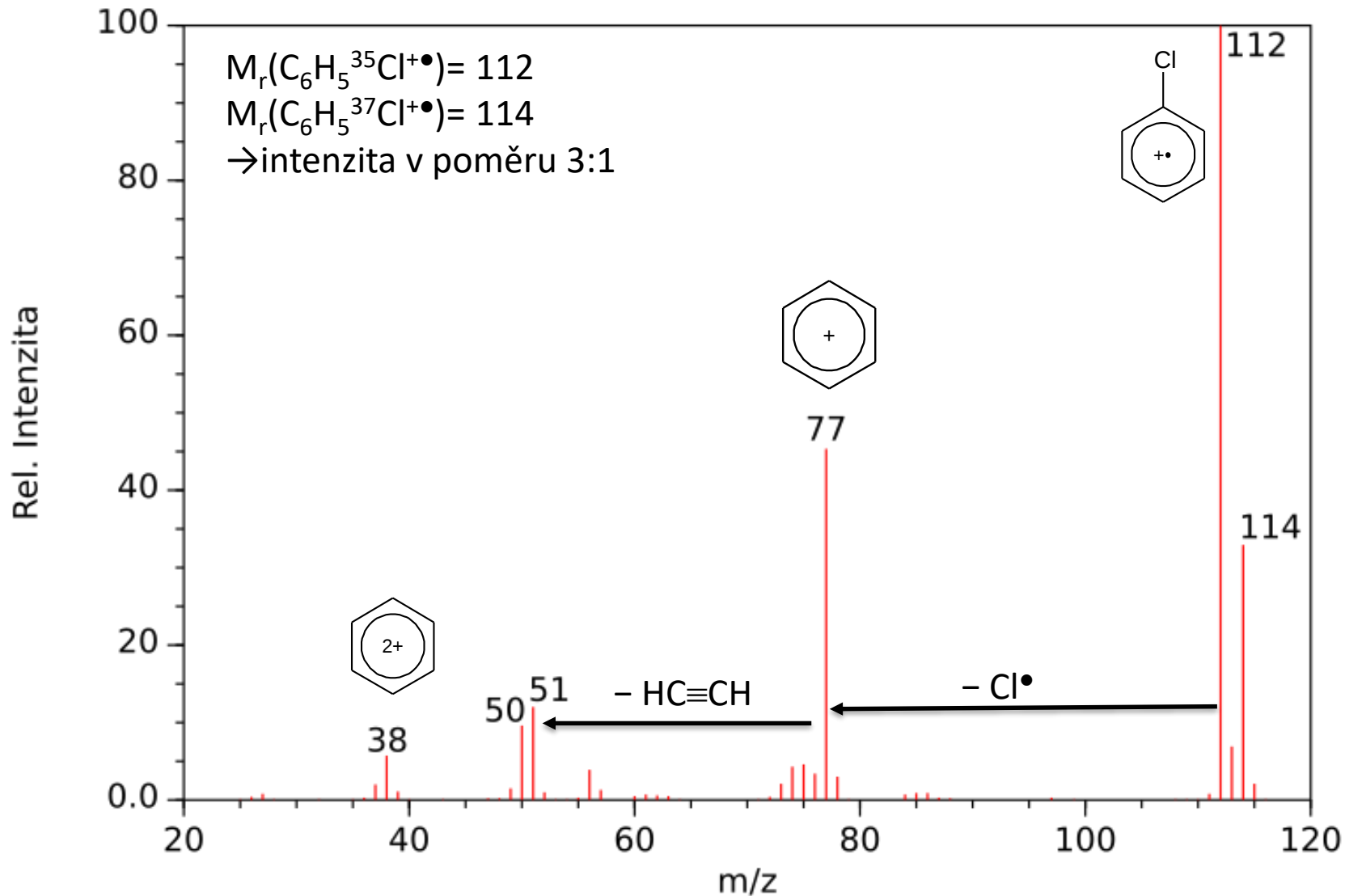
$M_r(\text{C}_6\text{H}_4^{37}\text{Cl}_2) = 150$

$\rightarrow$ intenzita v poměru 9:6:1

$(a+b)^2 = a^2 + 2ab + b^2 = 9 + 2 \cdot 3 \cdot 1 + 1 = 9 + 6 + 1$

MS: chlorované sloučeniny

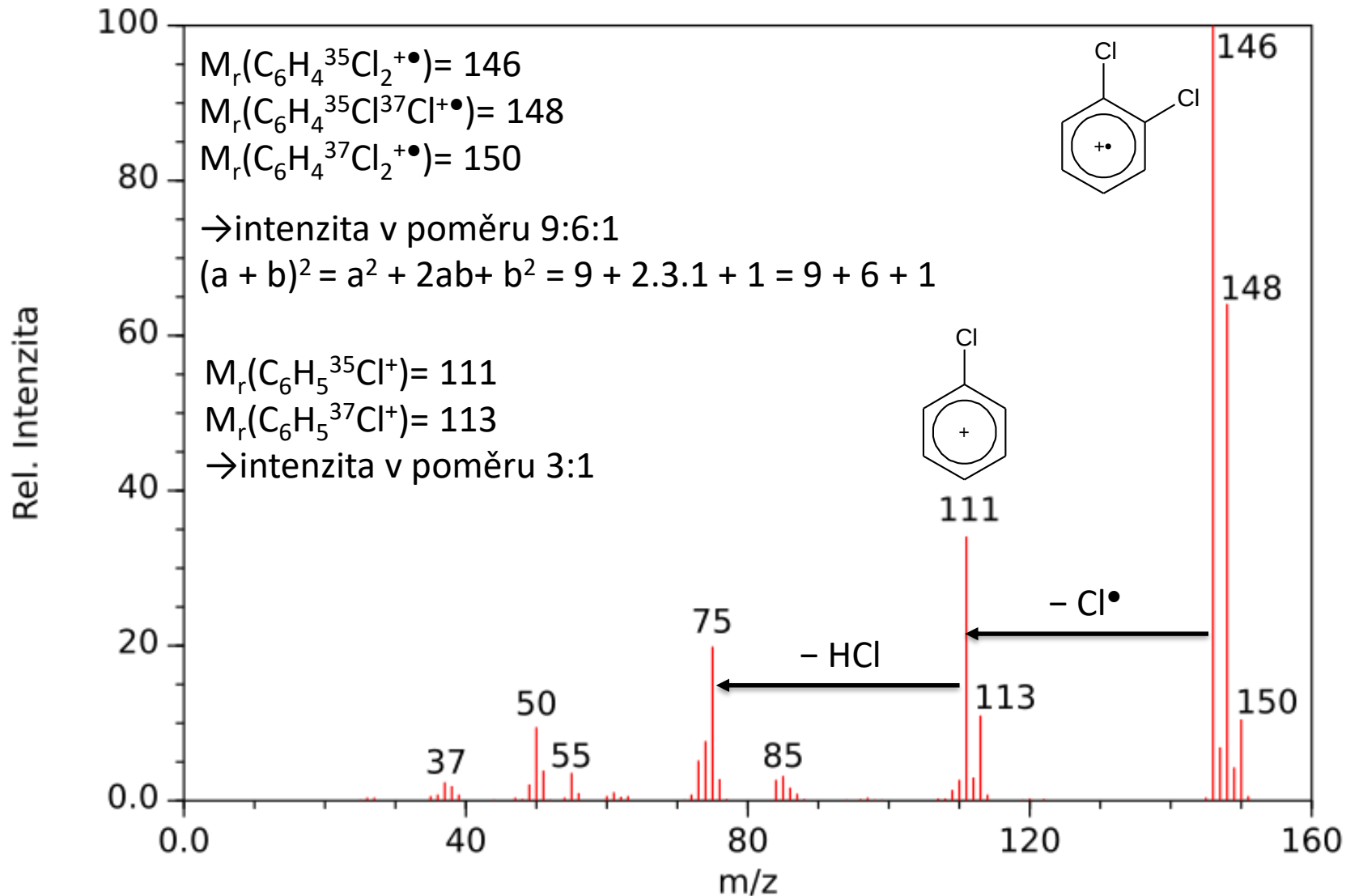
Chlorbenzen



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: chlorované sloučeniny

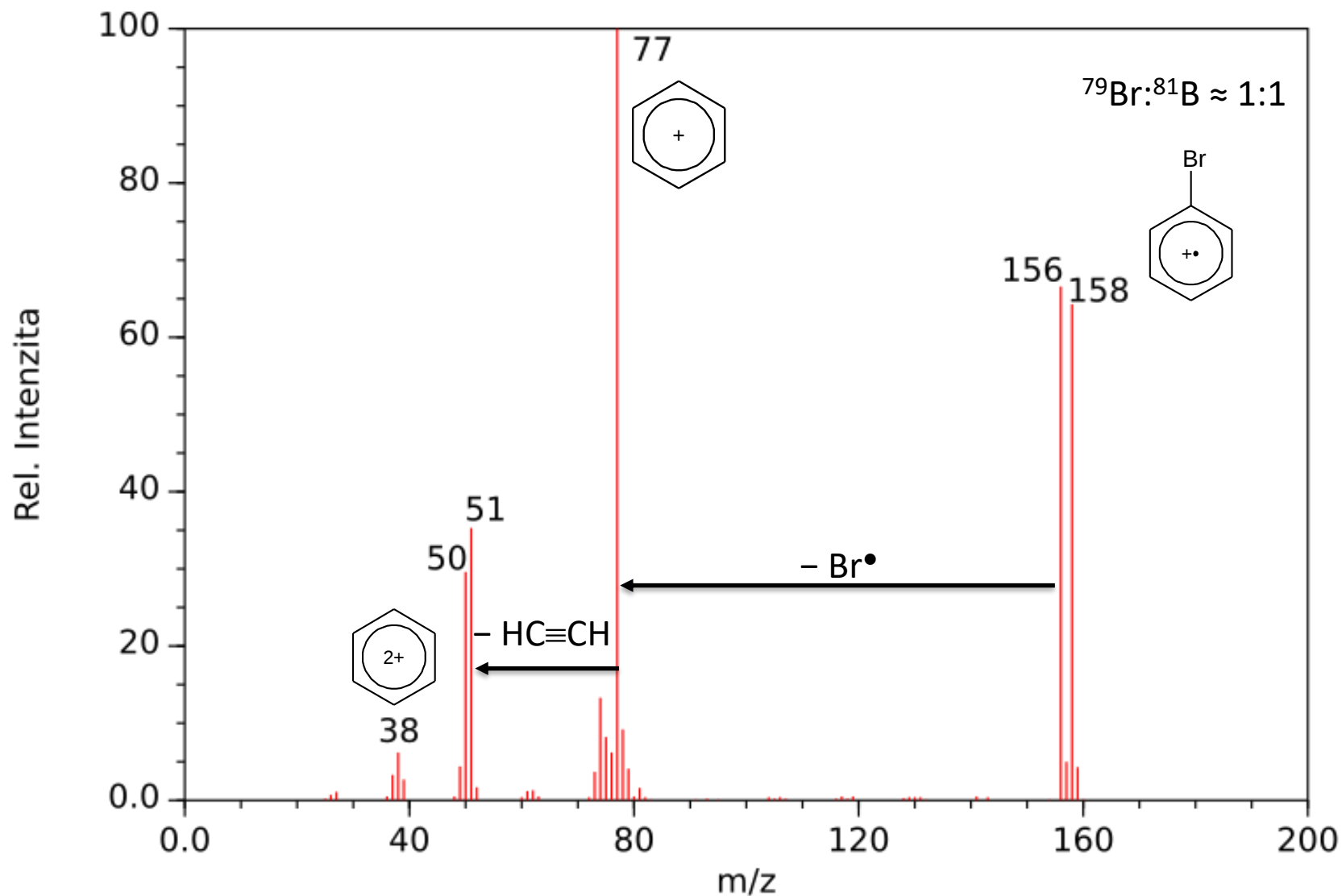
1,2-dichlorobenzen



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: bromované sloučeniny

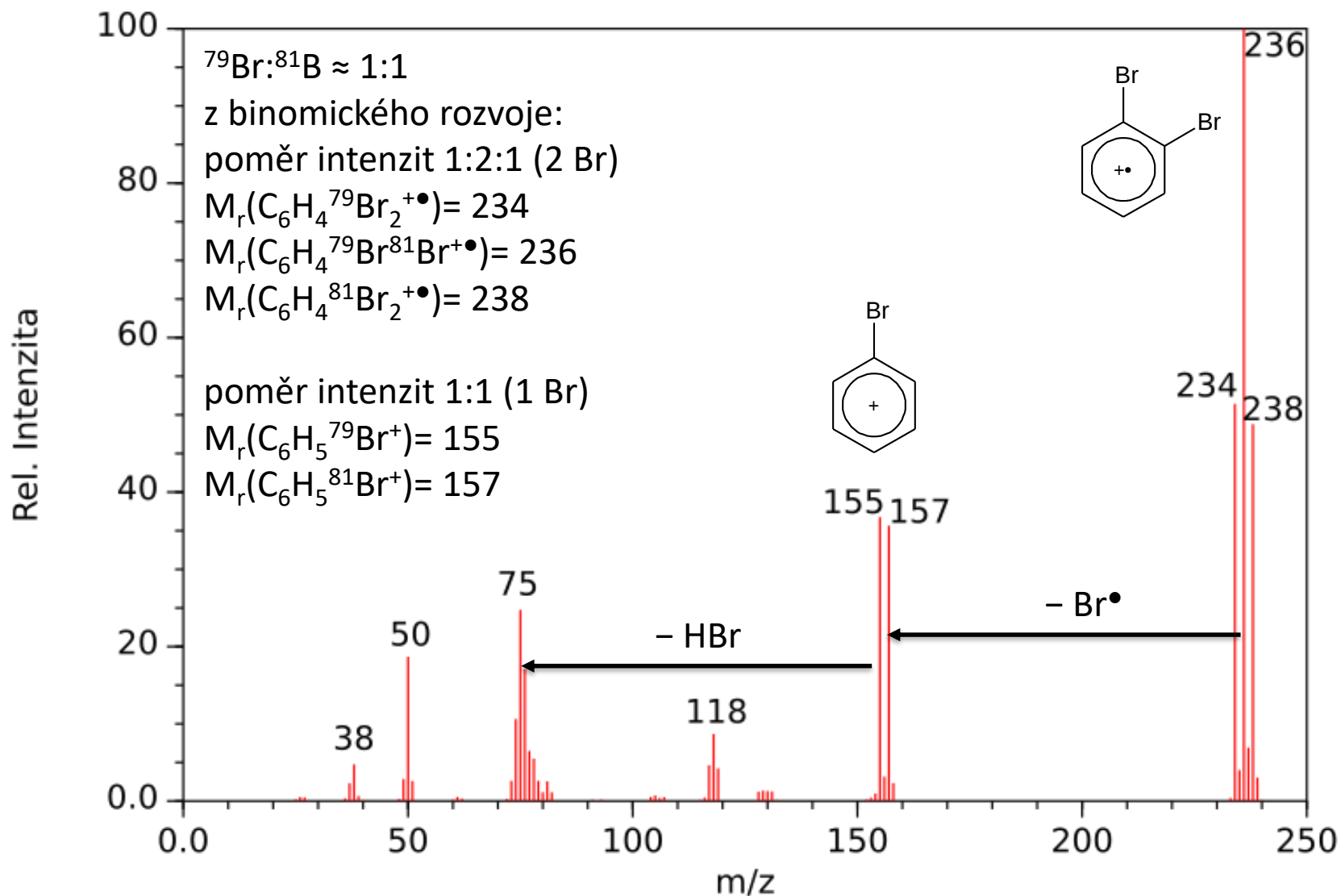
Brombenzen



upraveno NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: bromované sloučeniny

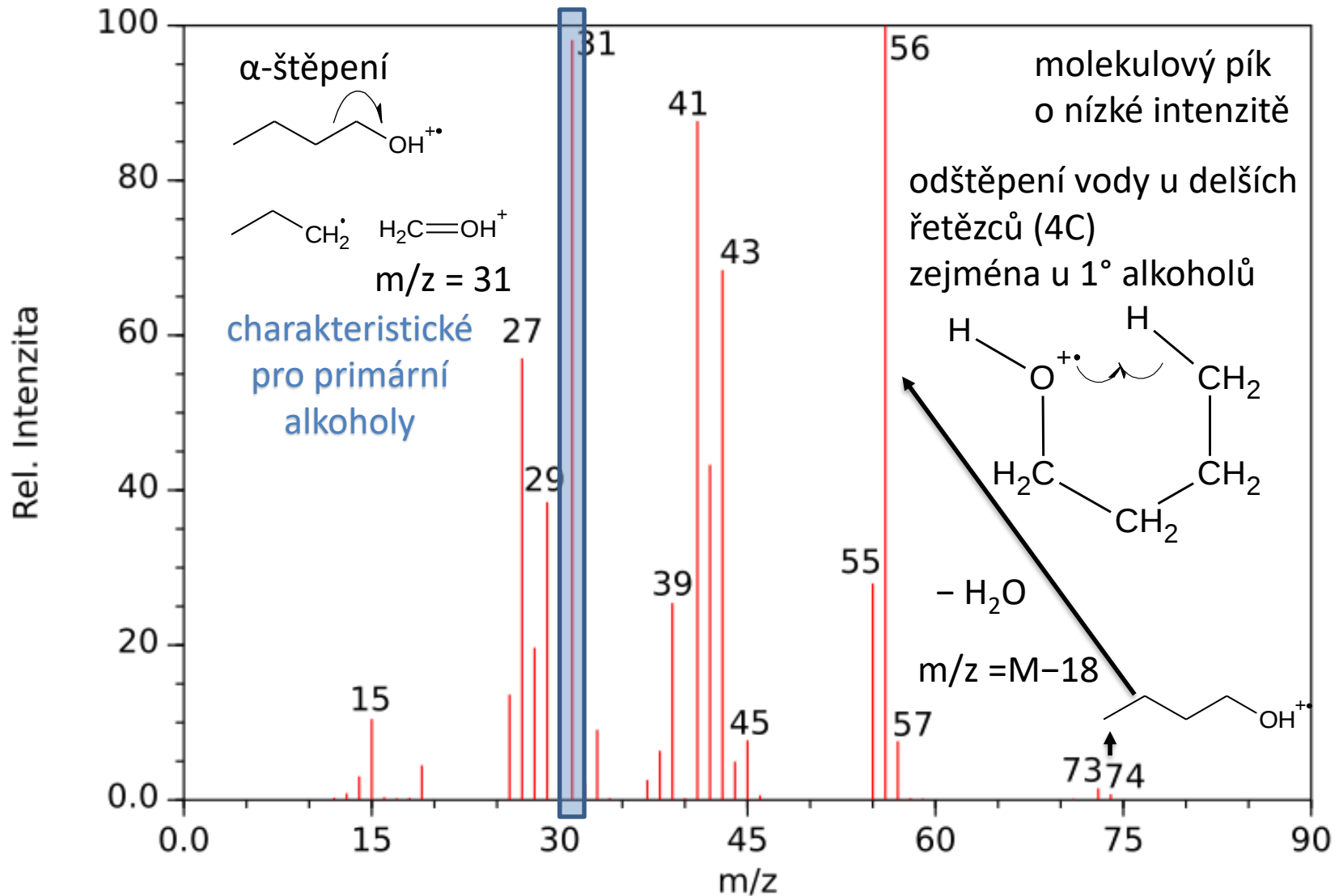
1,2-dibrombenzen



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkoholy

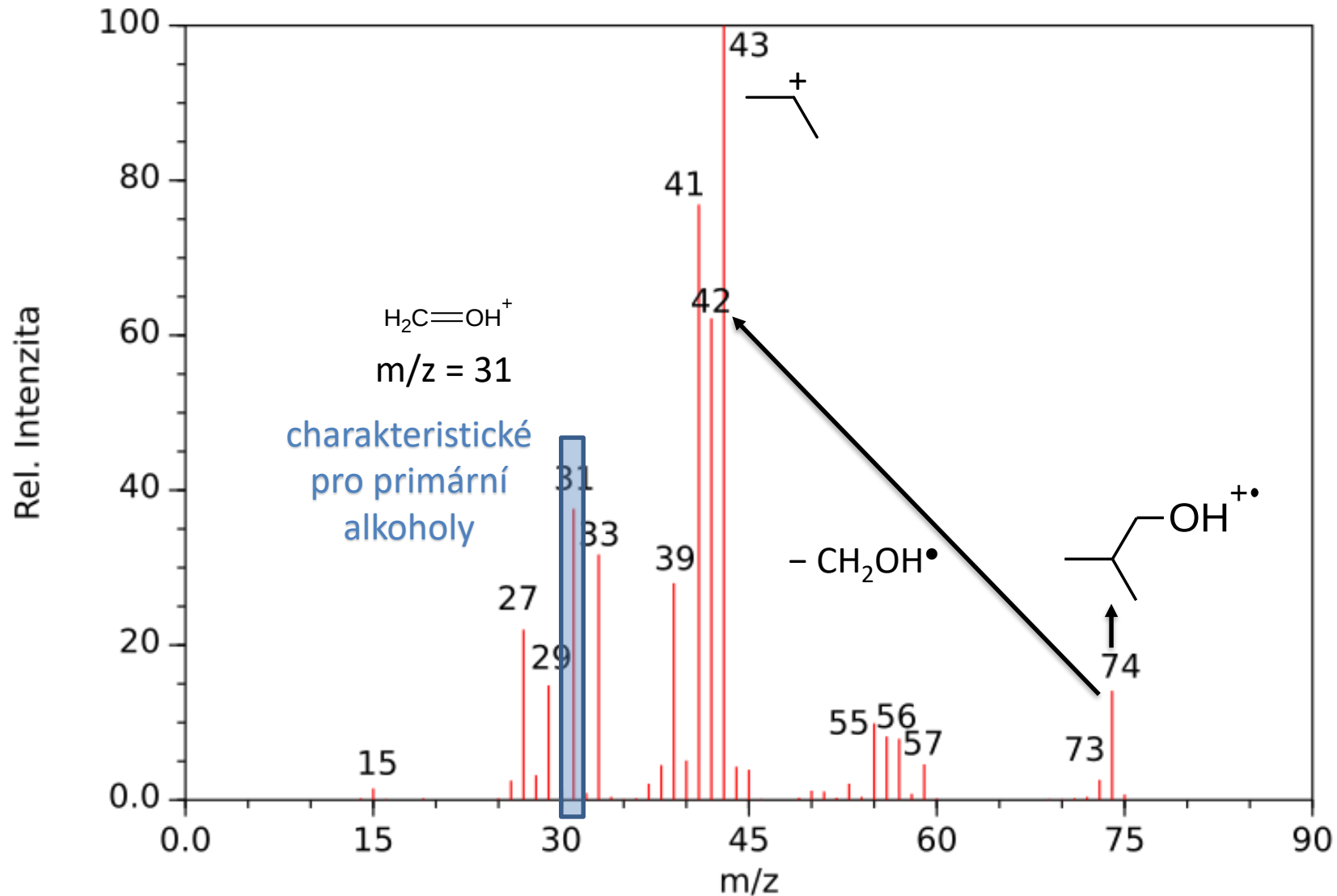
Butan-1-ol



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkoholy

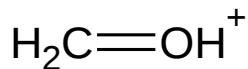
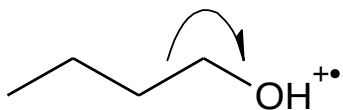
2-methylpropan-1-ol



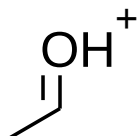
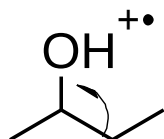
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: alkoholy

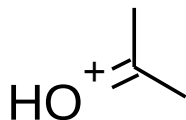
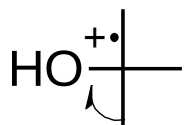
α -štěpení:



$m/z = 31$ (1° alkoholy)

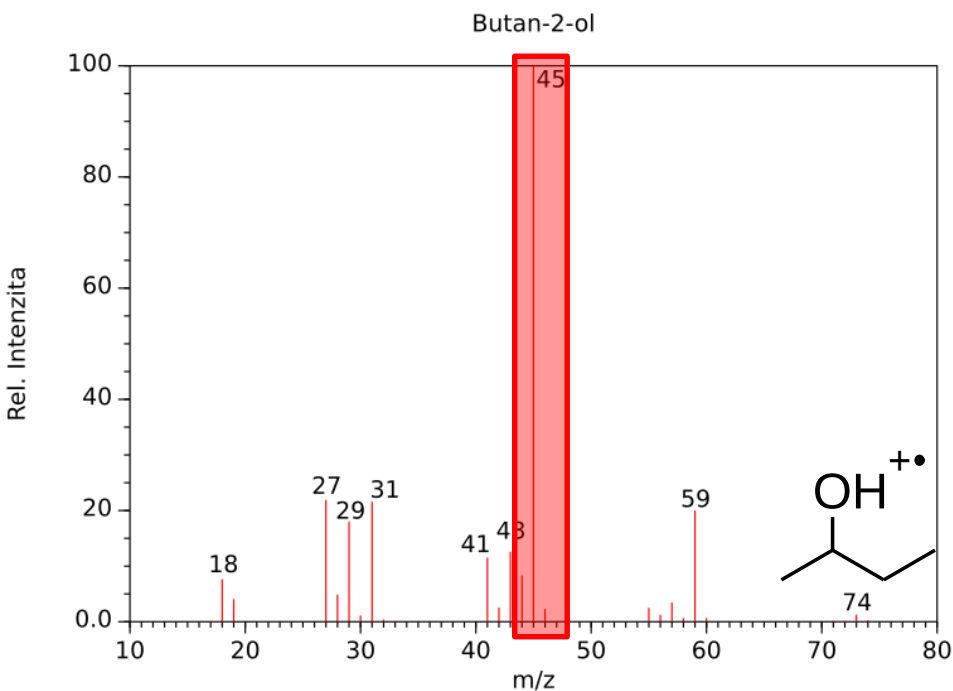


$m/z = 45$ (2° alkoholy)

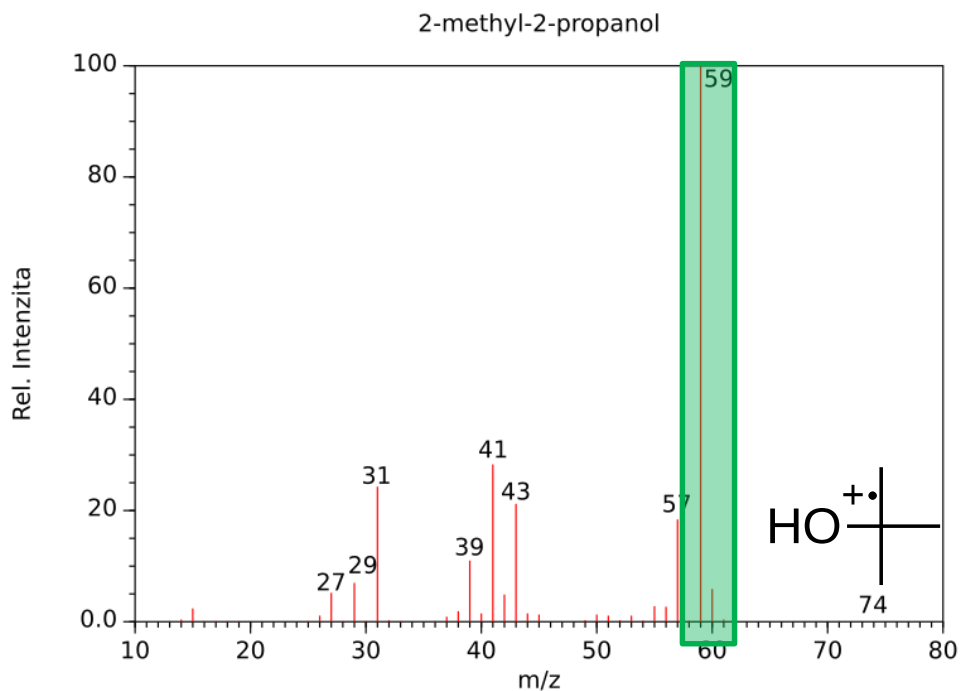


$m/z = 59$ (3° alkoholy)

odštěpení vody u delších řetězců (od 4 C), výsledné spektrum připomíná alken



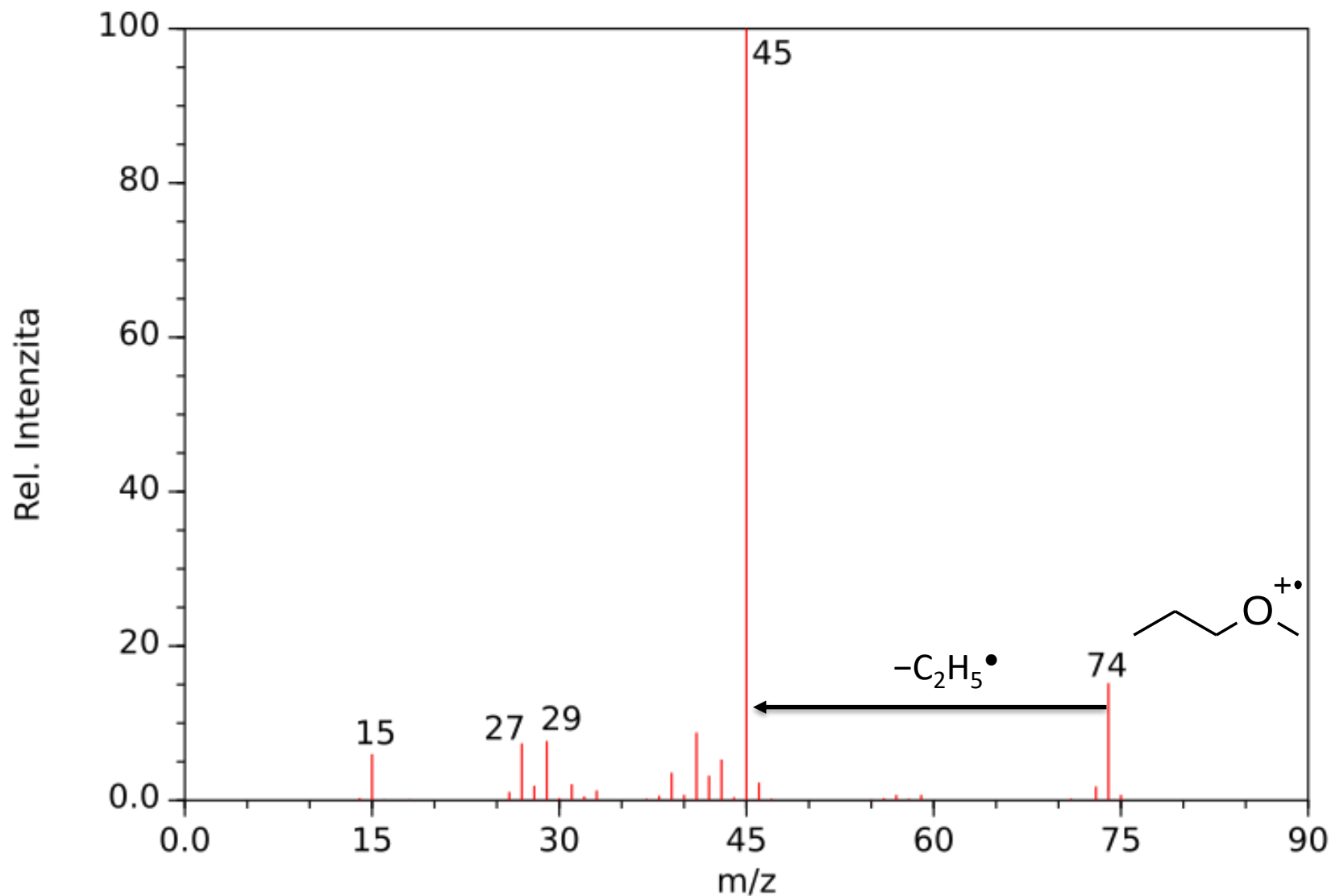
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: ethery

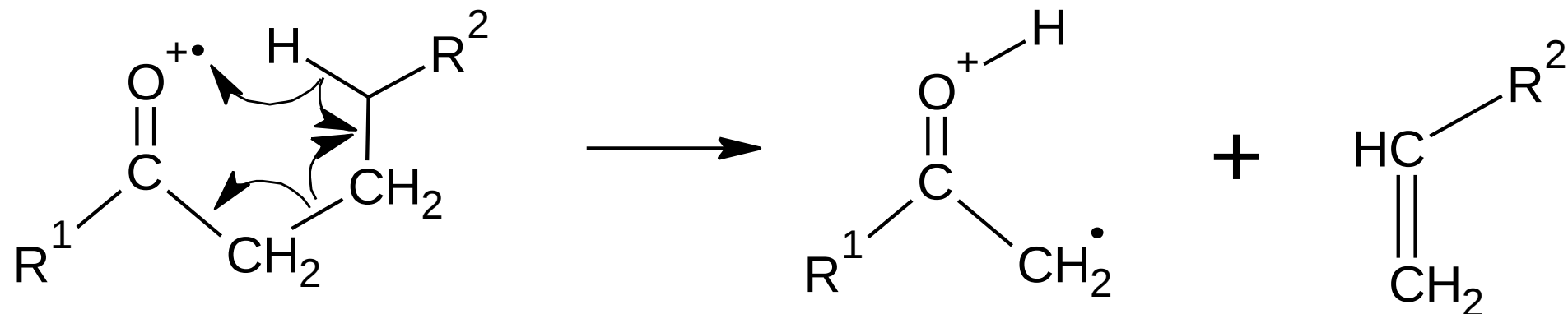
Methyl propyl ether



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: karbonylové sloučeniny – McLaffertyho přesmyk

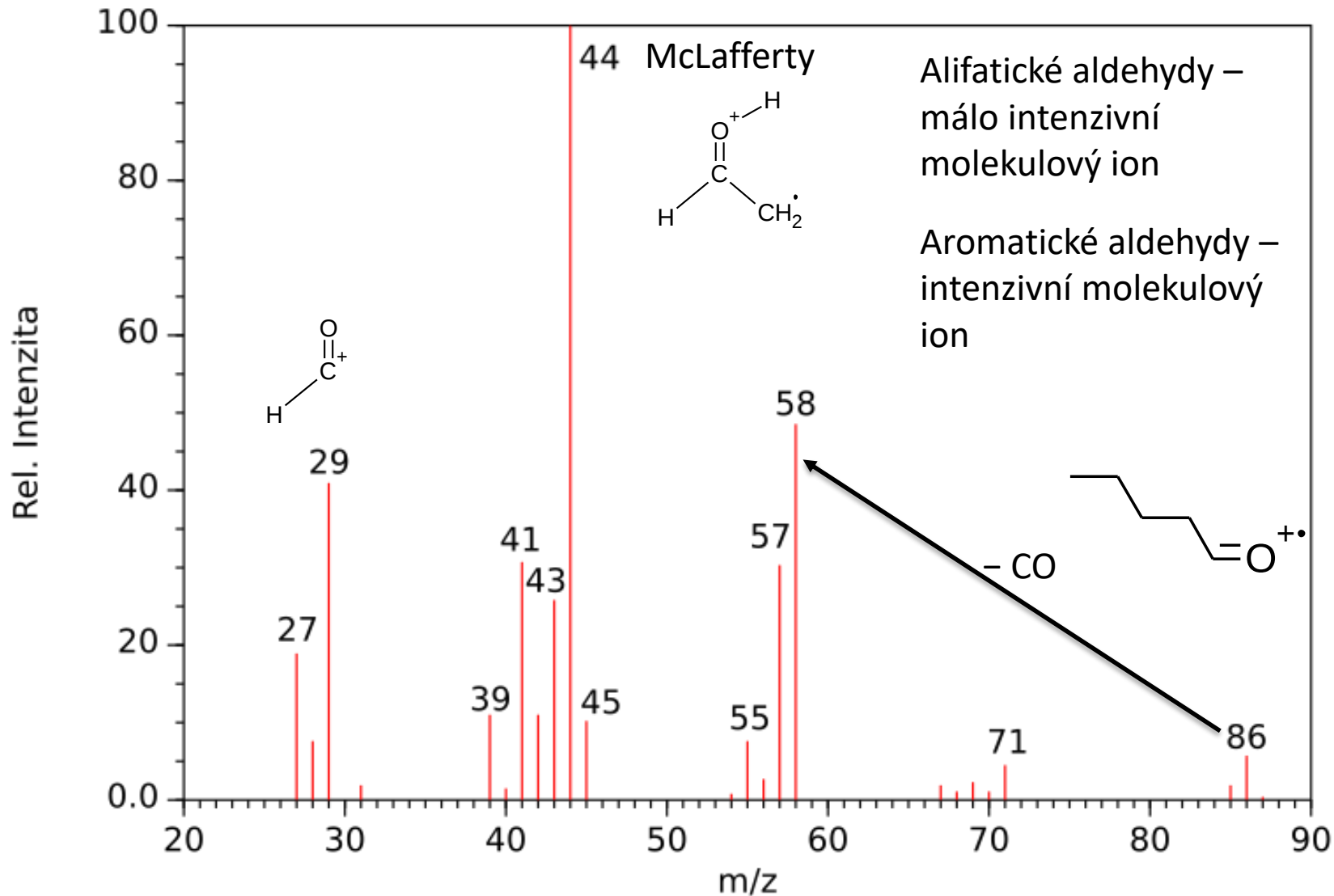
Pro sloučeniny typu $R^1-CO-C-CH-R^2$



R^1	H	CH_3	OH	OCH_3	OC_2H_5	NH_2	$NHCH_3$	Cl
m/z	44	58	60	74	88	59	73	78

MS: aldehydy

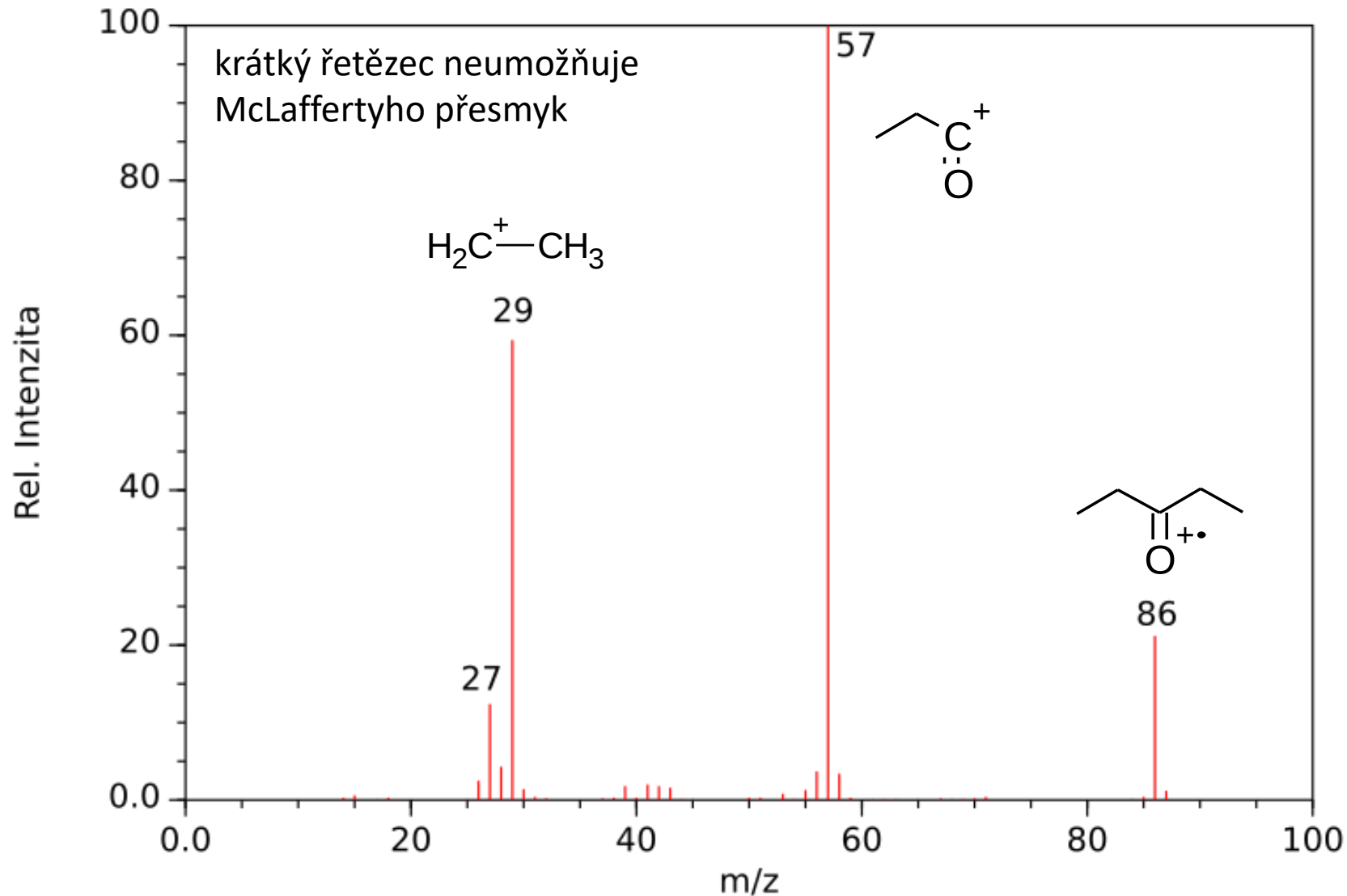
Pentanal



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: ketony

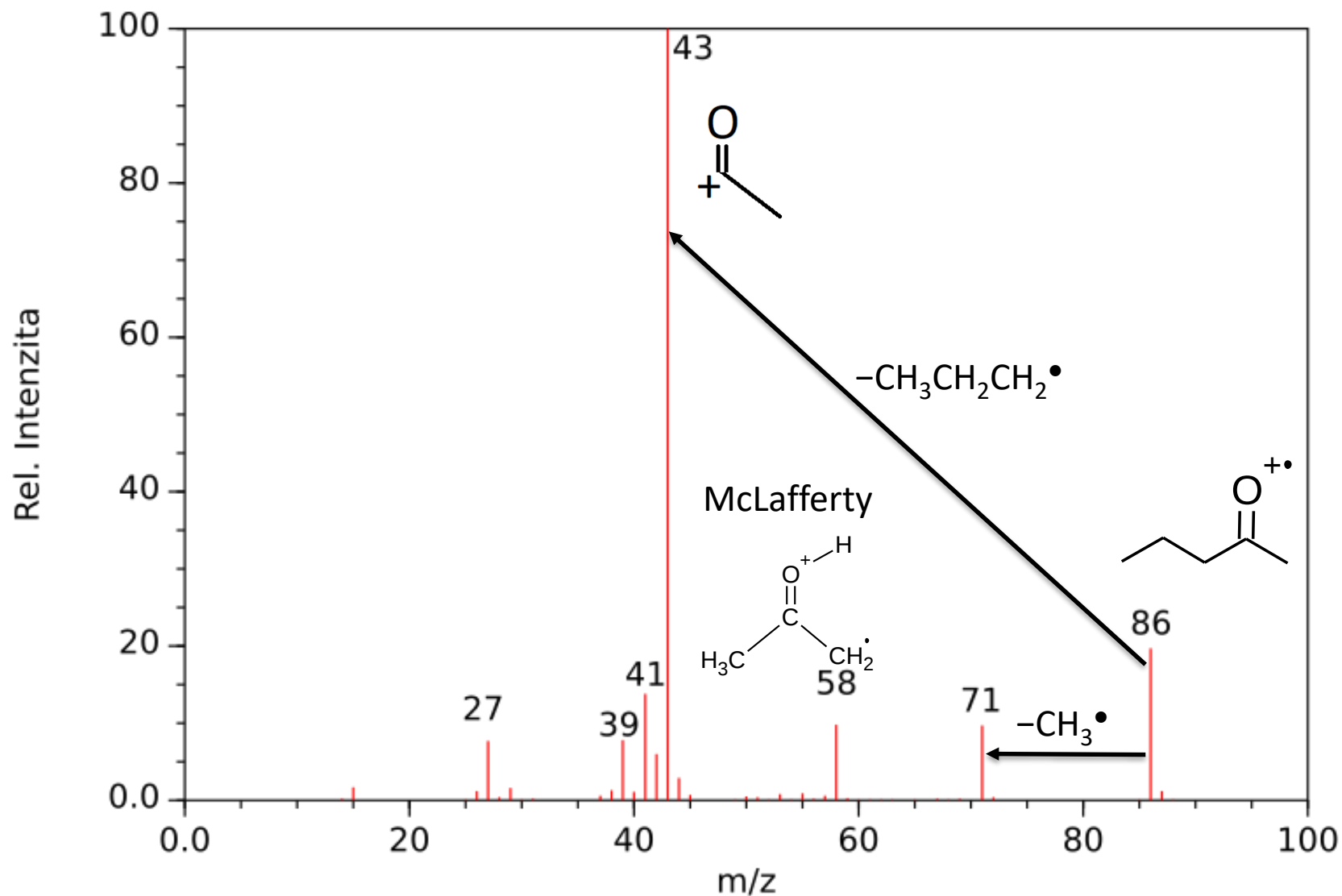
Pentan-3-on



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: ketony

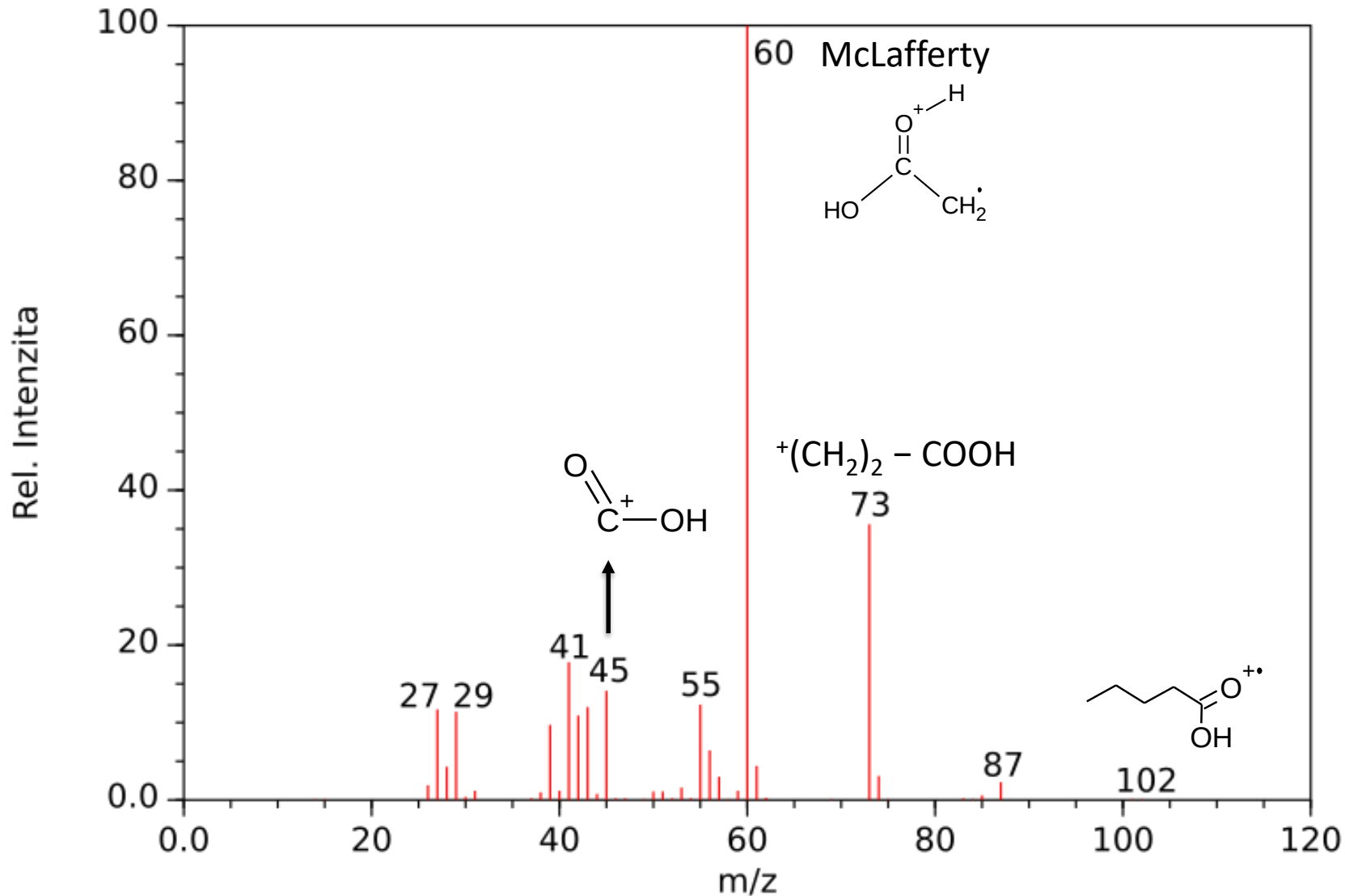
Pentan-2-on



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: karboxylové kyseliny

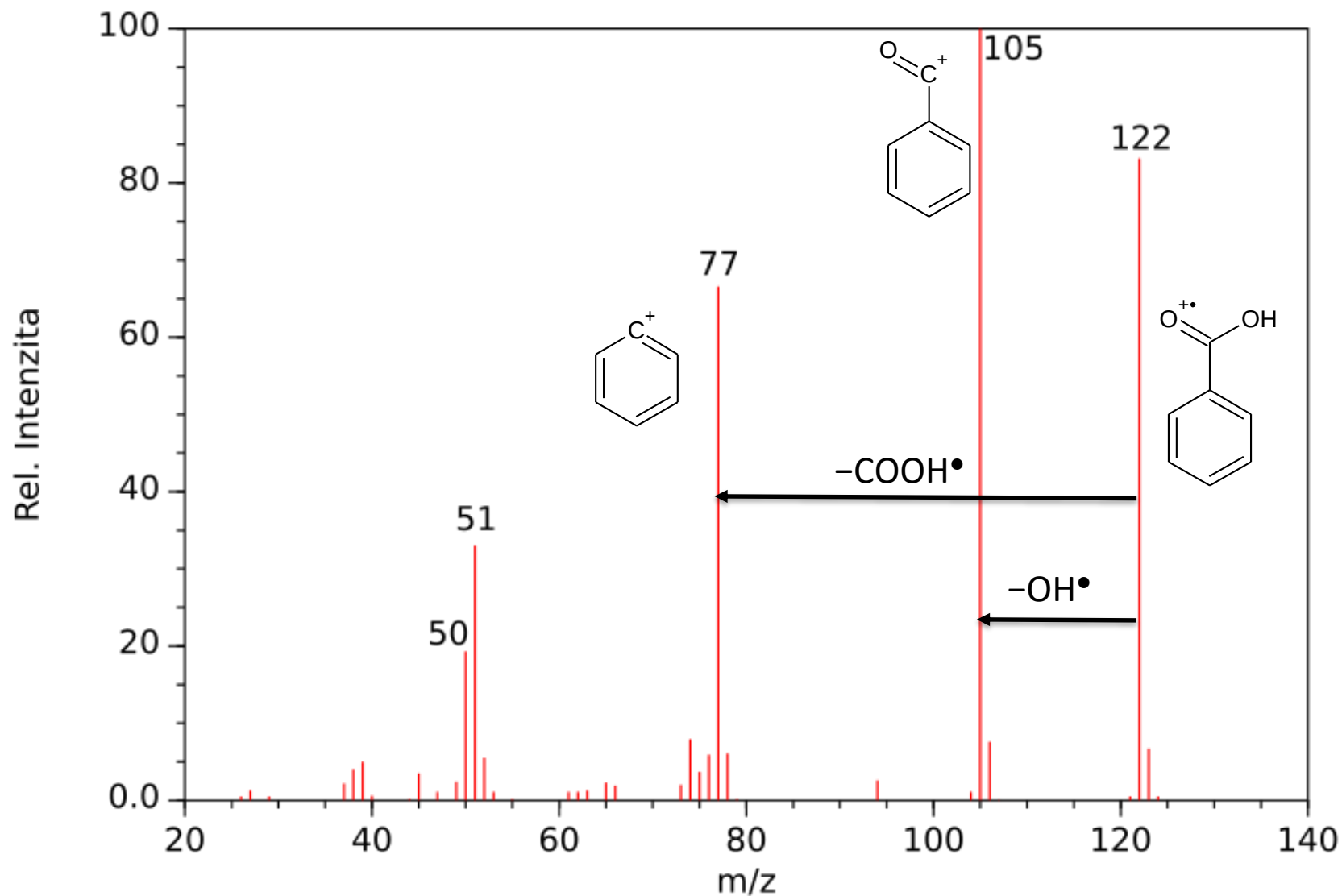
Pentanová kyselina



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: karboxylové kyseliny

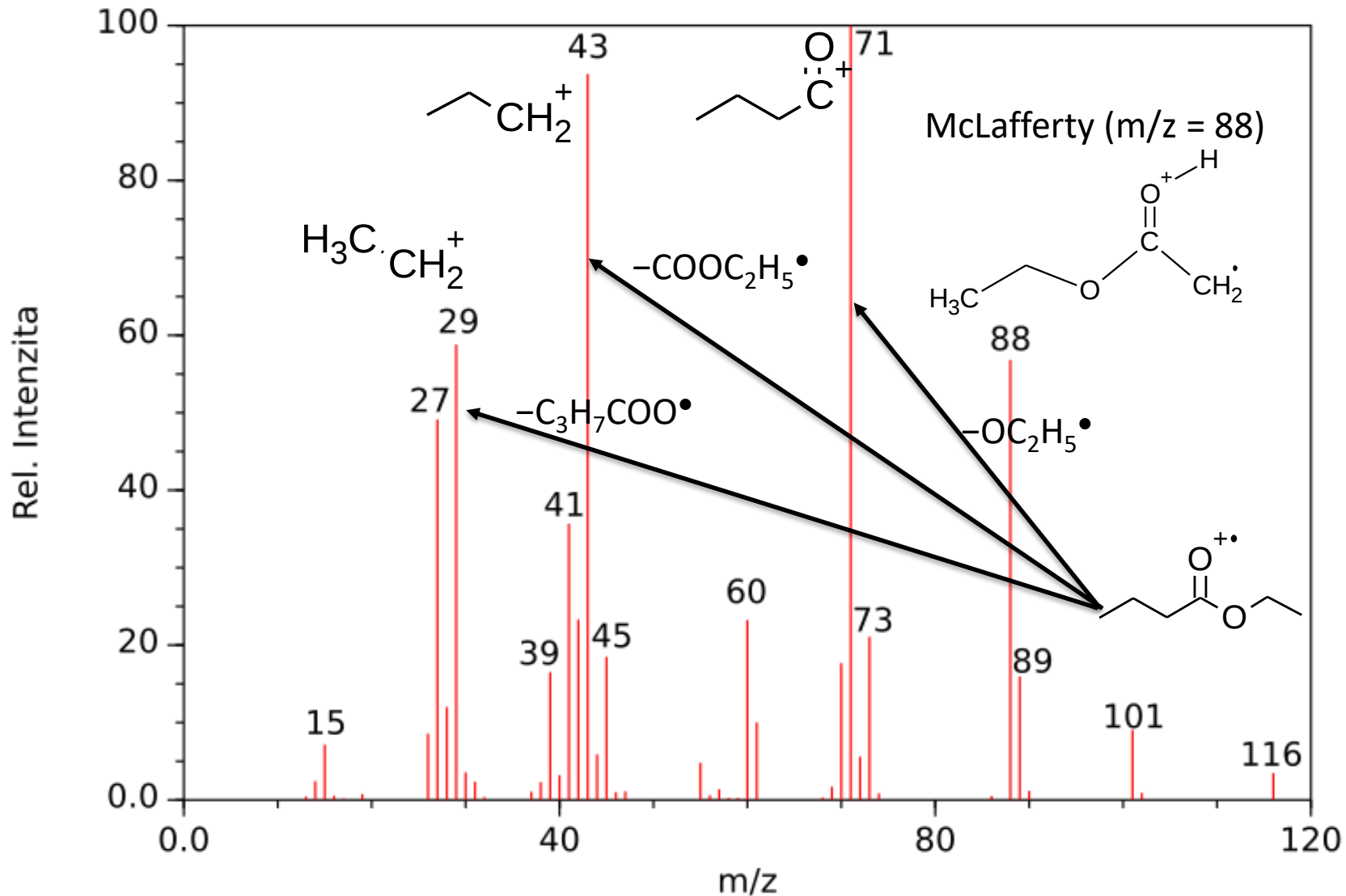
Benzoová kyselina



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: estery

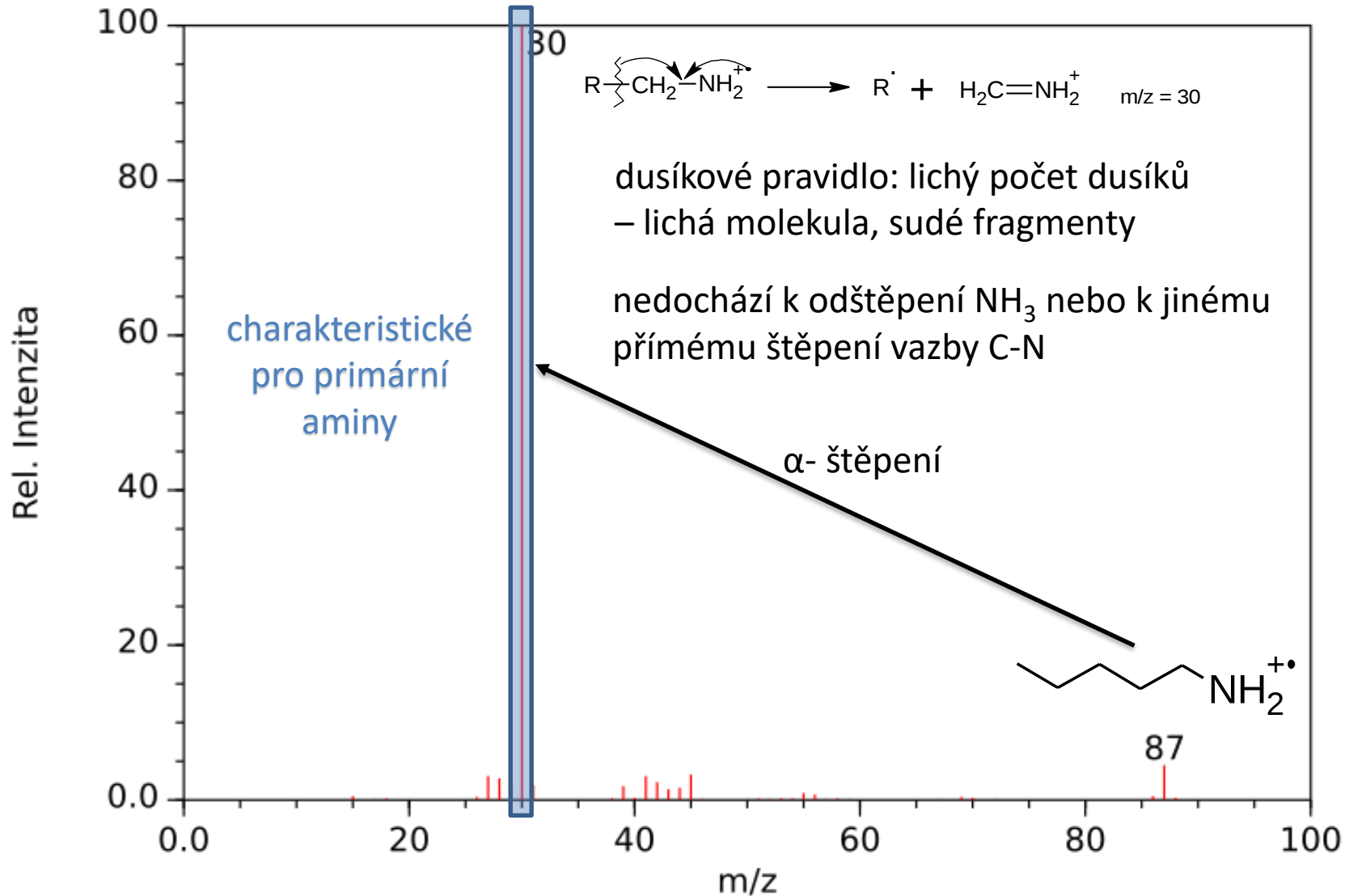
Ethyl butyrát



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS: aminy

Pentan-1-amin

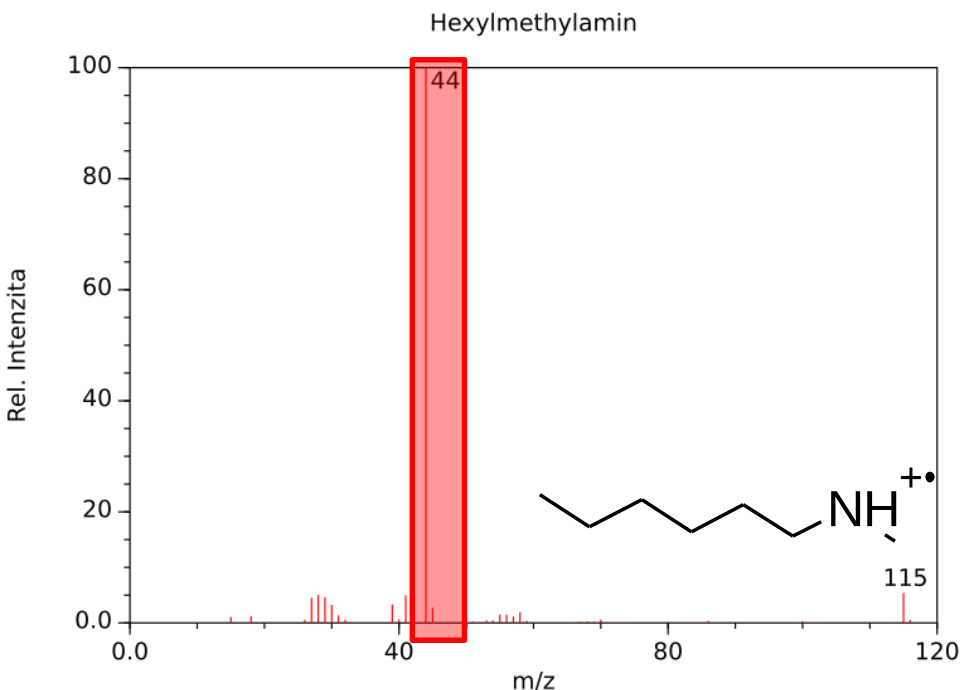
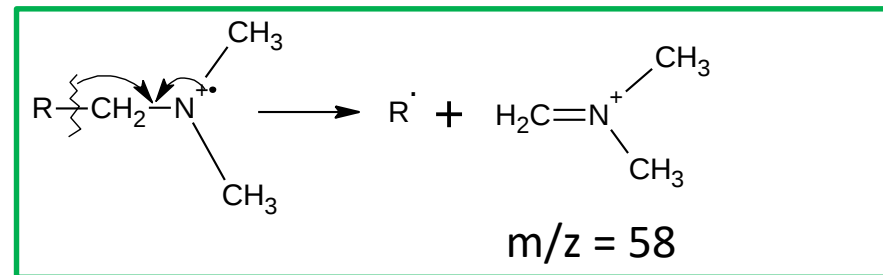
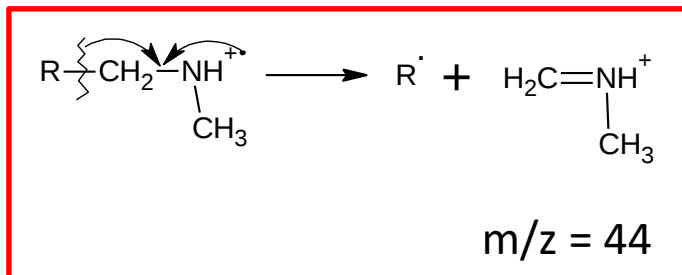


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

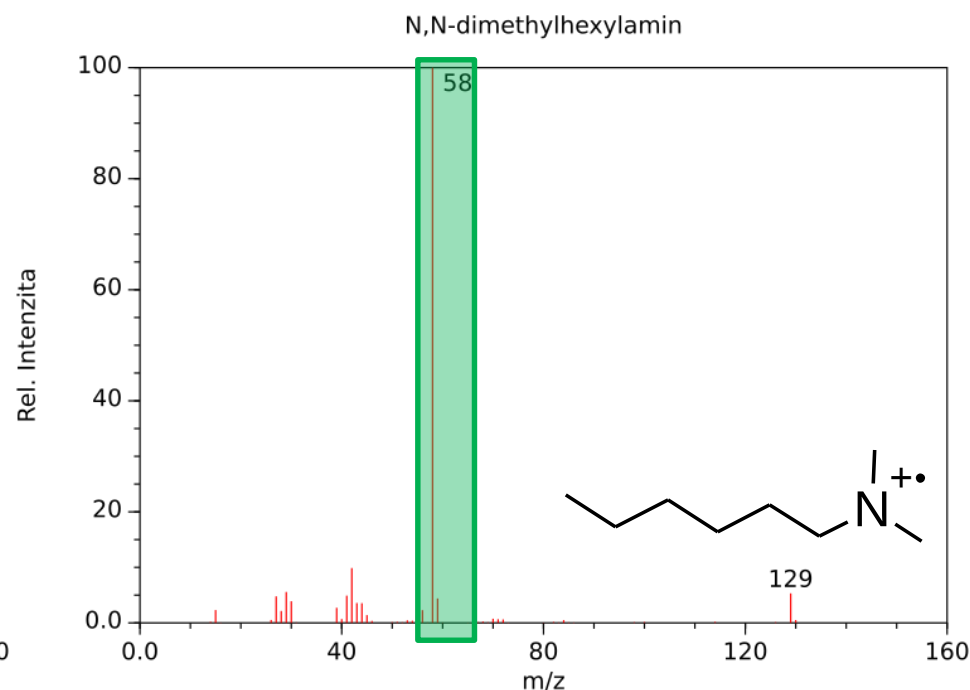
MS: aminy

dusíkové pravidlo: lichý počet dusíků – lichá molekula, sudé fragmenty
nedochází k odštěpení NH_3 nebo k jinému přímému štěpení vazby C-N

$m/z = 44, 58$ podle místa substituce na řetězci nebo typu aminu NH_2 , NHR , NR_2



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

<https://uanlch.vscht.cz/studium/bakalarske/cach2/ms>

Není-li uvedeno jinak, pochází spektra ze zdroje:

P.J. Linstrom and W.G. Mallard, Eds., **NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69**, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <https://doi.org/10.18434/T4D303>, (citováno 13 září 2022).