



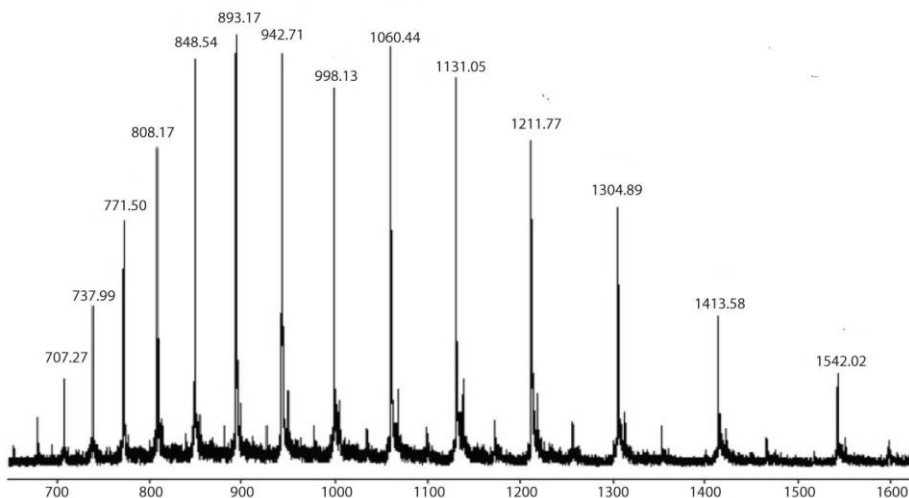
Ústav analytické chemie  
VŠCHT PRAHA

# INTERPRETACE HMOTNOSTNÍCH SPEKTER



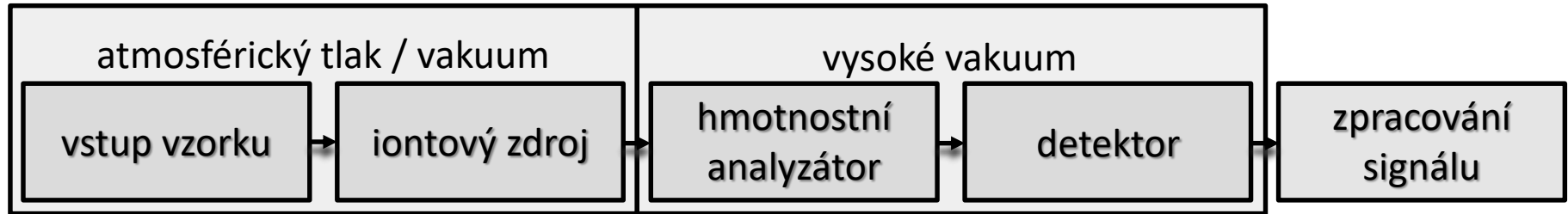
# Hmotnostní spektrometrie

- **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-MultipleCharge-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

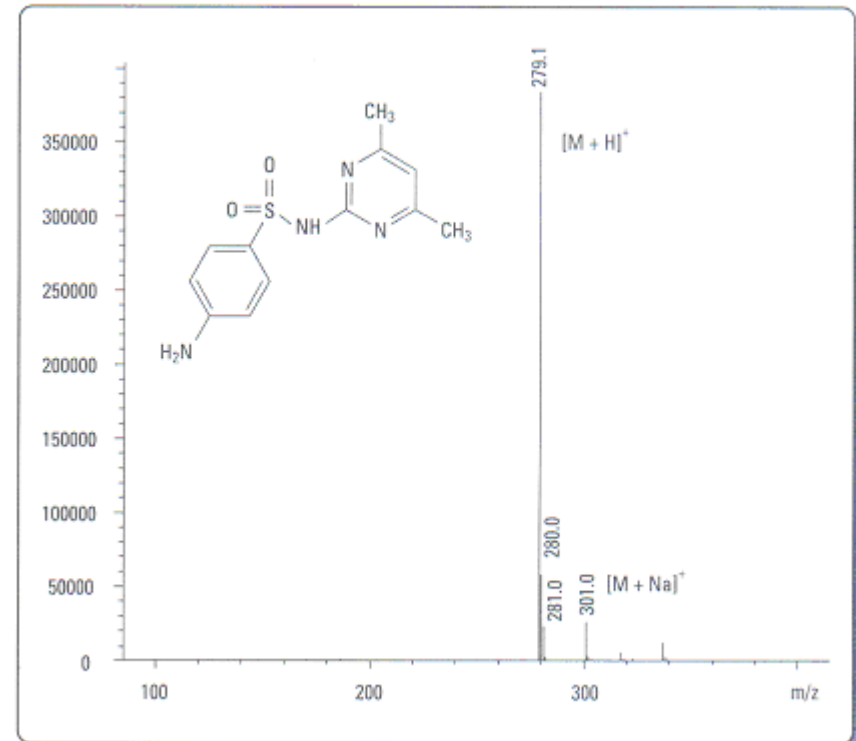
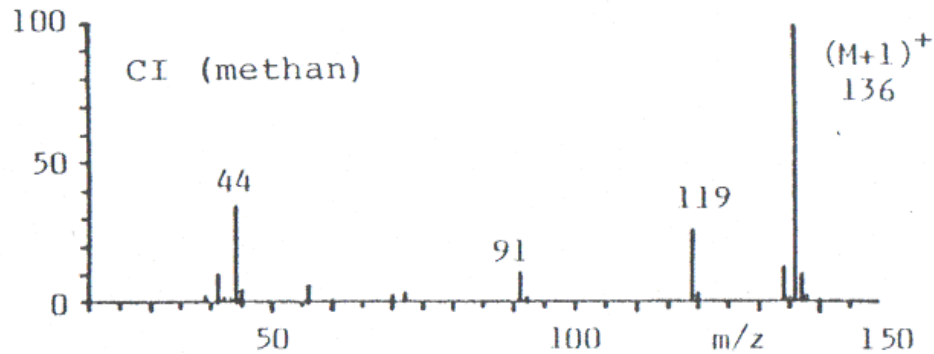
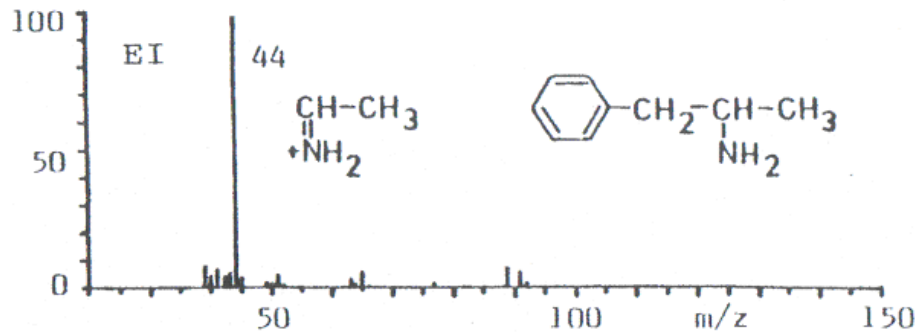
# Interpretace hmotnostních spekter

1. **osa x:** škála v jednotkách  $m/z$  ( $m$  = hmotnost iontu;  $z$  = počet elementárních nábojů)  
**osa y:** iontový proud nebo jeho přepočtení 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)  
základní ion – molekulární ionradikál  $M^{\bullet}$
  - Chemická ionizace (CI): měkká ionizace (nízká fragmentace)  
základní ion –  $[M+H]^+$
  - Elektrosprej (ESI): měkká ionizace  
základní 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



# Interpretace (EI) hmotnostních spekter

## 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 ( $\text{CH}_2$ ) 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 ( $\pm 1$ ) z poměru  $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$  ( $M+1$ )

## 5. Výpočet čísla nenasycenosti

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

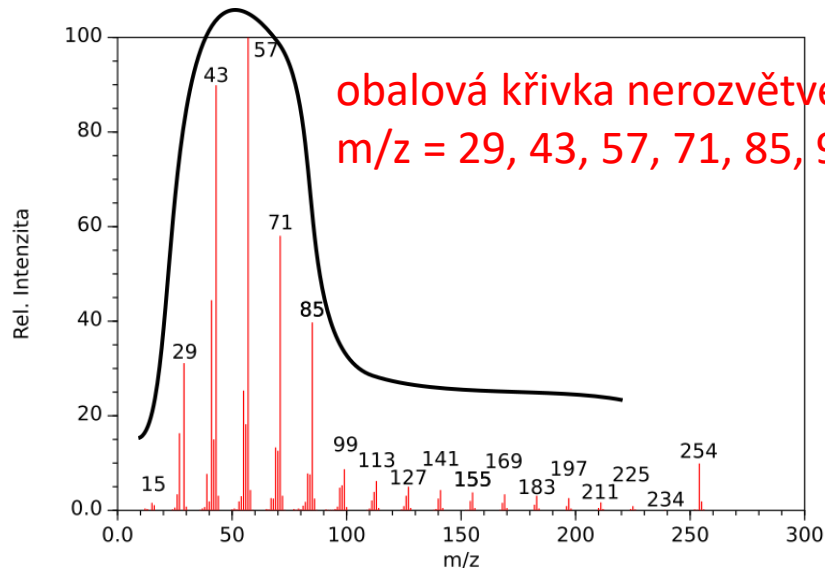
# Charakteristické ionty

- 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 nenasyceným alifatickým uhlovodíkům (v nižší intenzitě)
  - u větvených uhlovodíků – vyšší intenzita iontu v místě větvení
- alifatické uhlovodíky nenasycené a cyklické
  - proti nasyceným vyšší ionty nenasycené 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

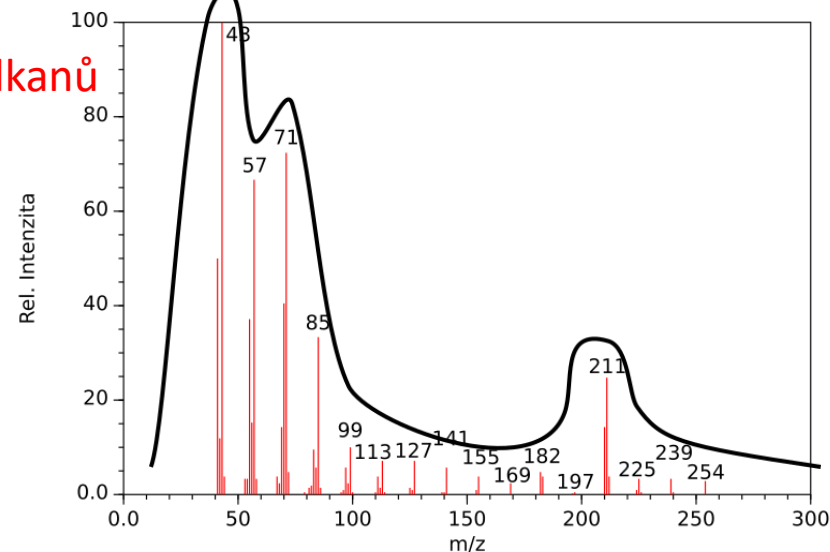
Oktadekan



obalová křivka nerozvětvených alkanů  
 $m/z = 29, 43, 57, 71, 85, 99, \dots$

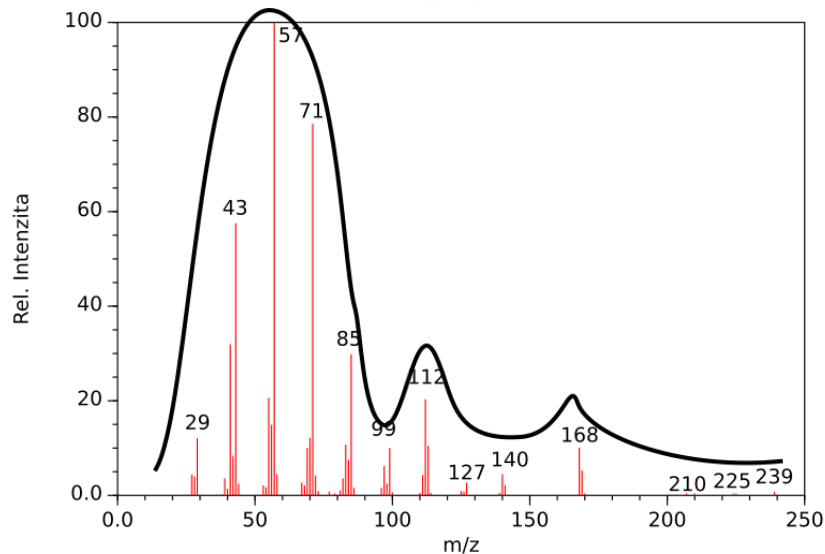
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

4-methylheptadekan



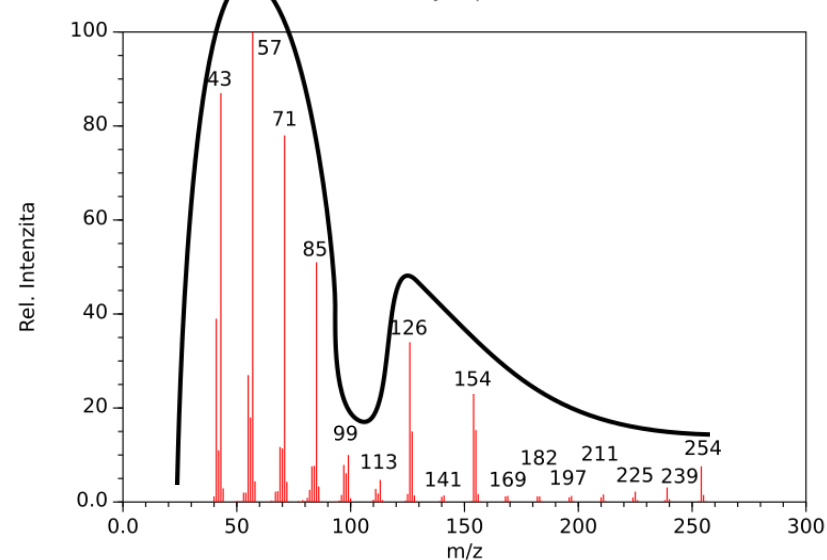
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

7-methylheptadekan



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

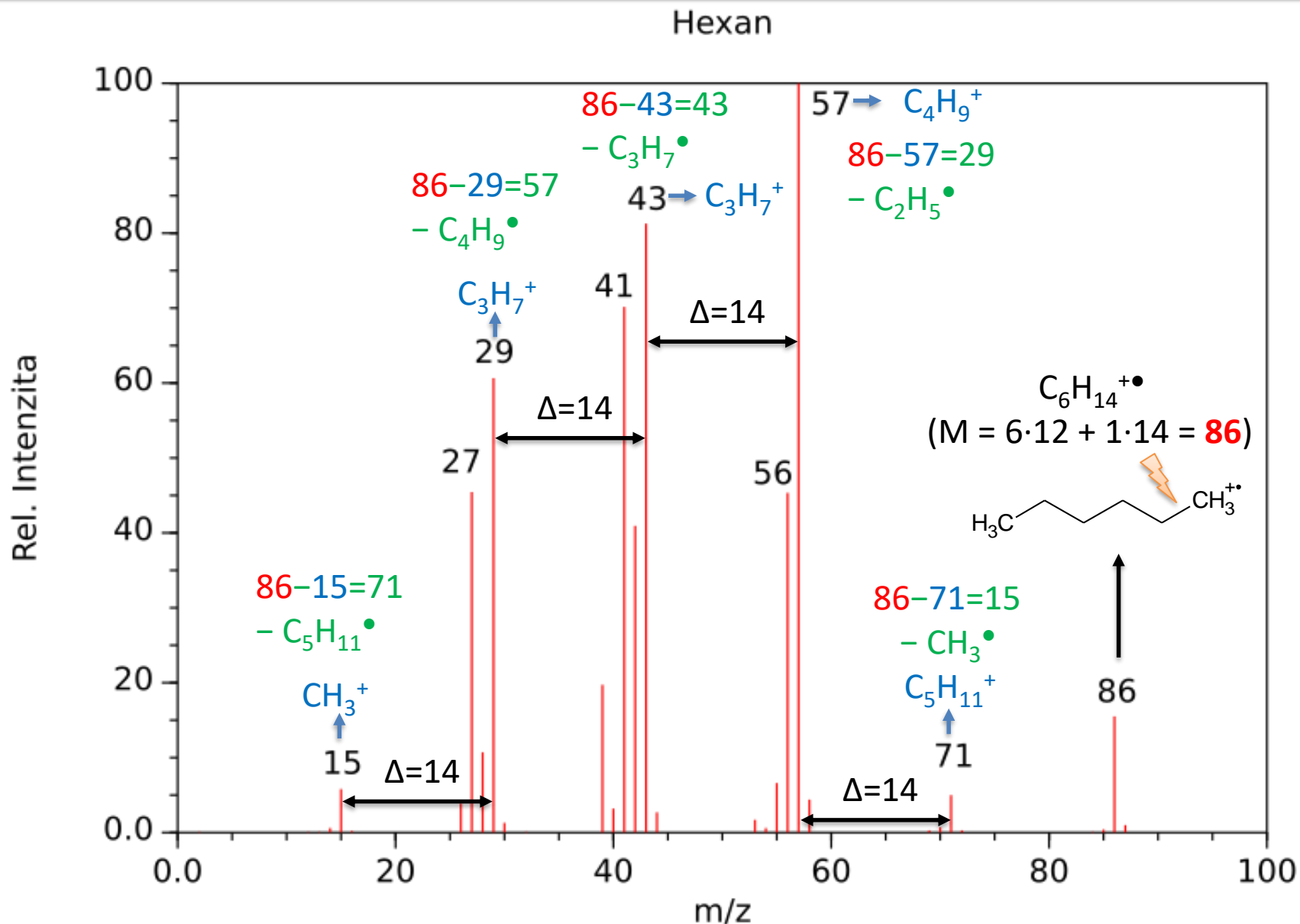
8-methylheptadekan



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



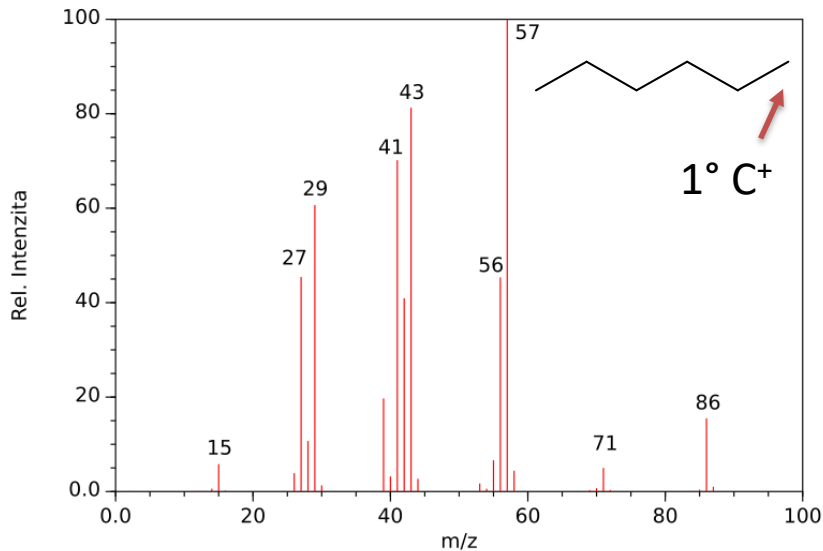
# MS: alkaný ( $\sigma$ -štěpení C–C vazby)



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

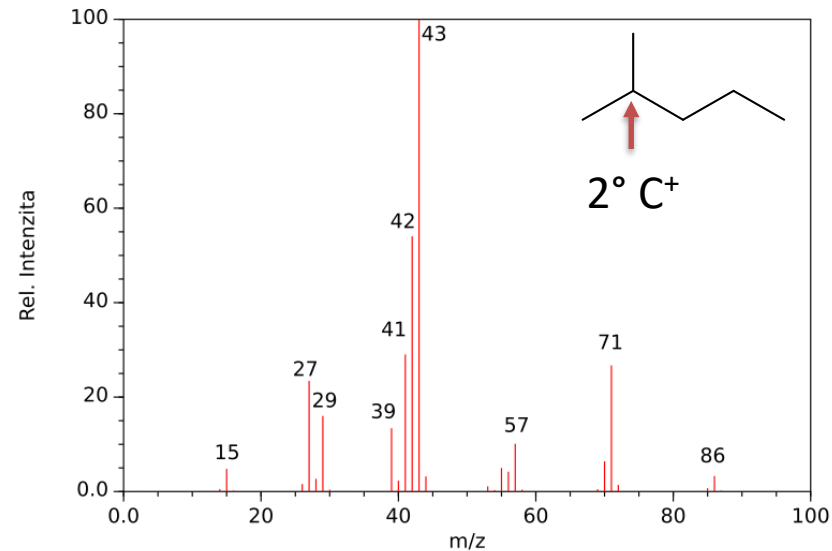
# MS: alky (závislost fragmentace na struktuře)

Hexan



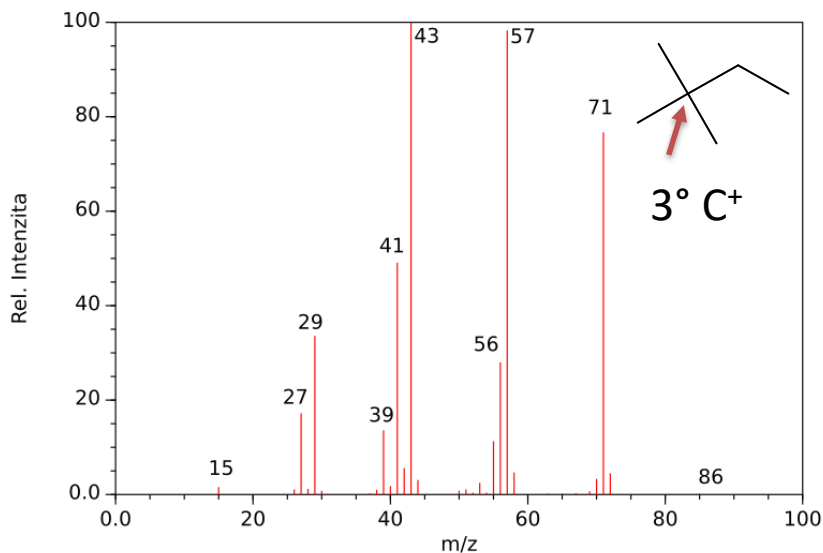
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

2-methylpentan



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

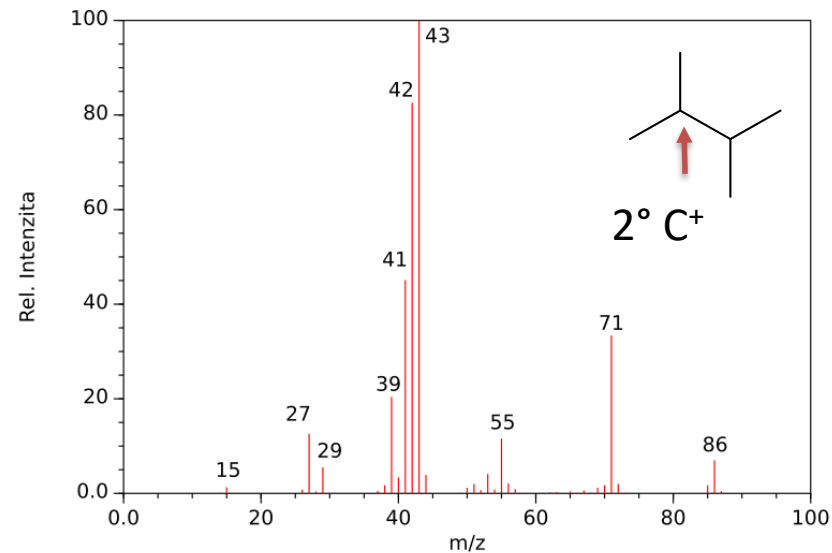
2,2-dimethylbutan



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

Stabilita C<sup>+</sup>: 3° > 2° > 1°

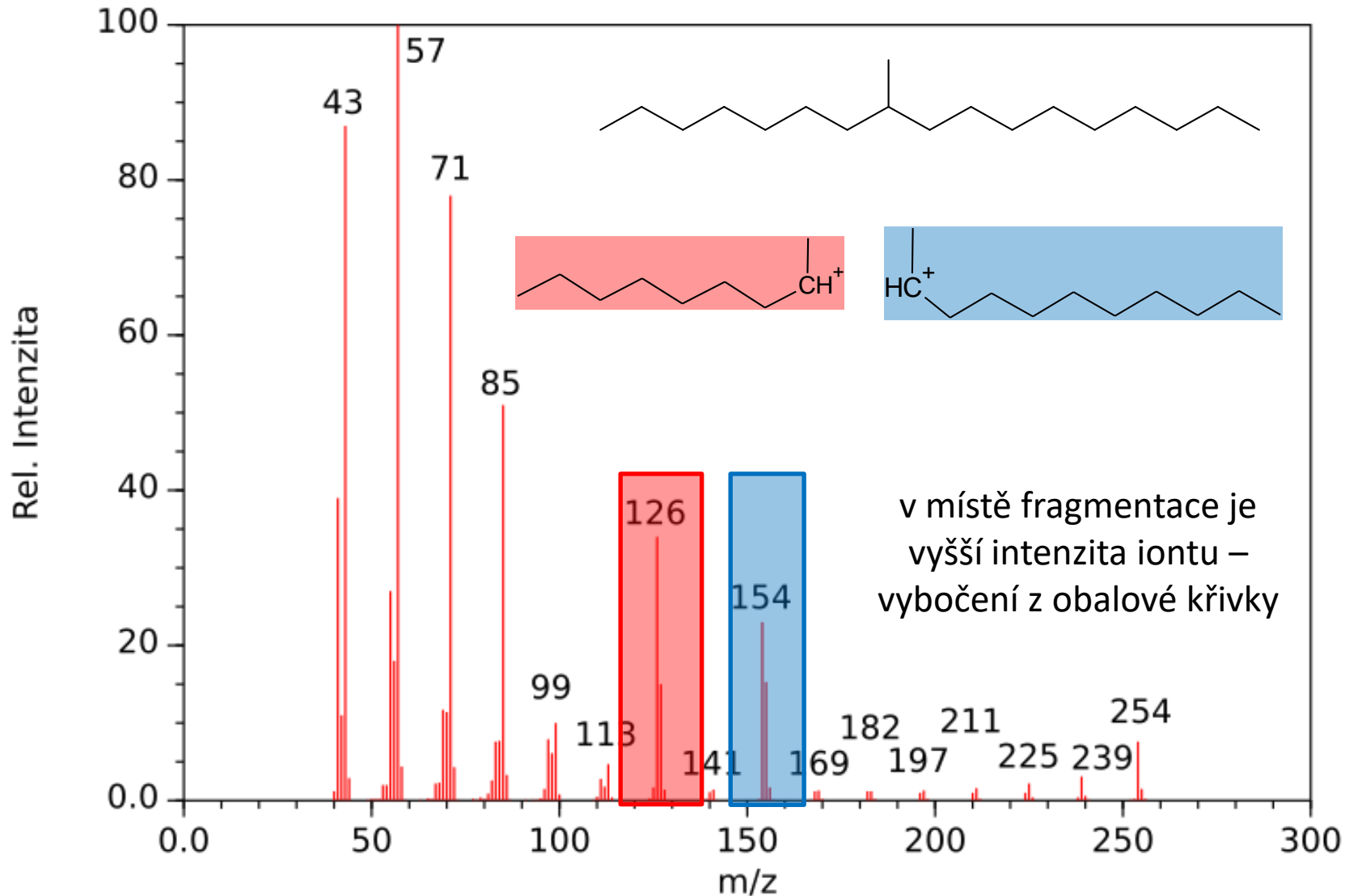
2,3-dimethylbutane



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

# MS: alkyany (závislost fragmentace na struktuře)

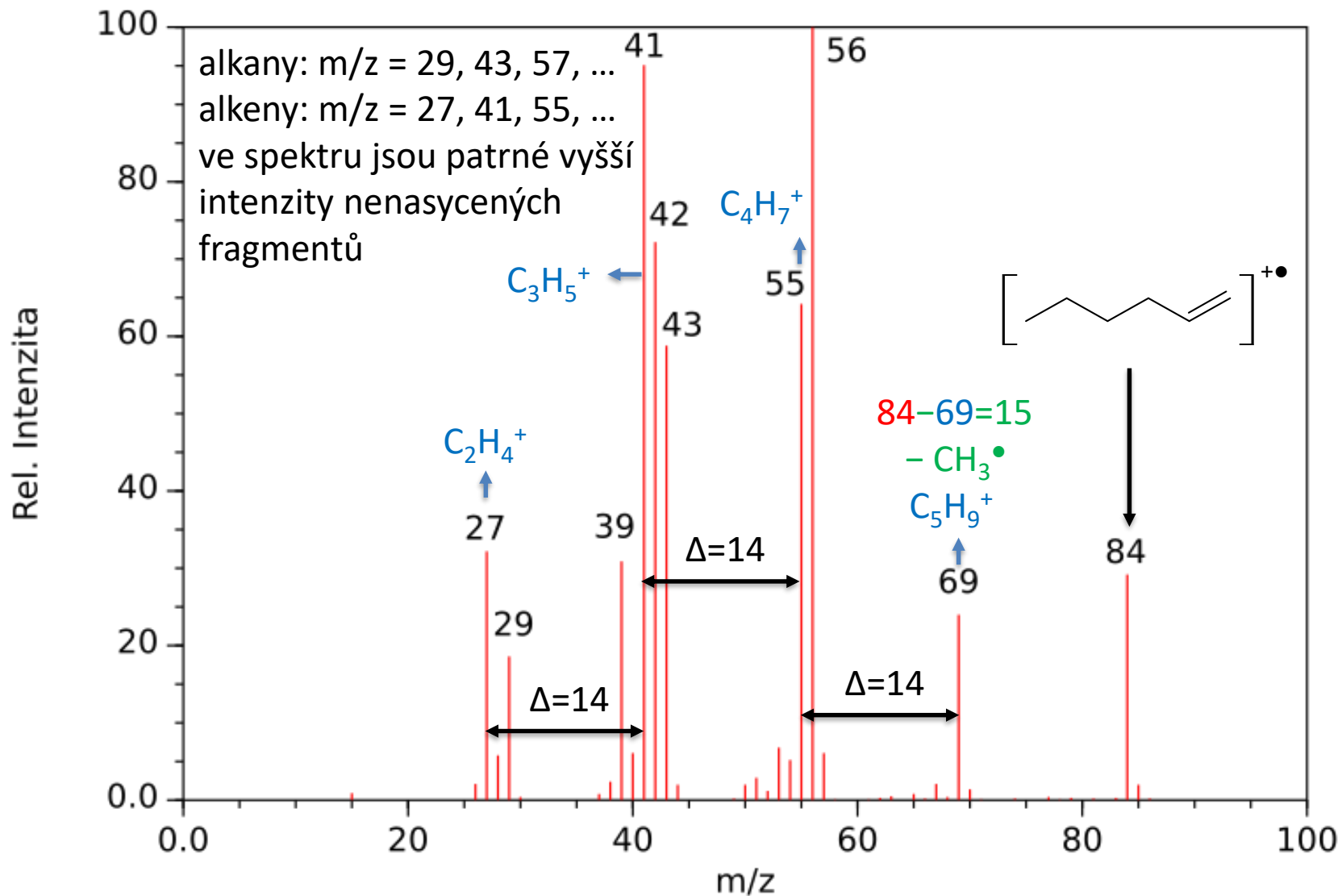
8-methylheptadekan



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

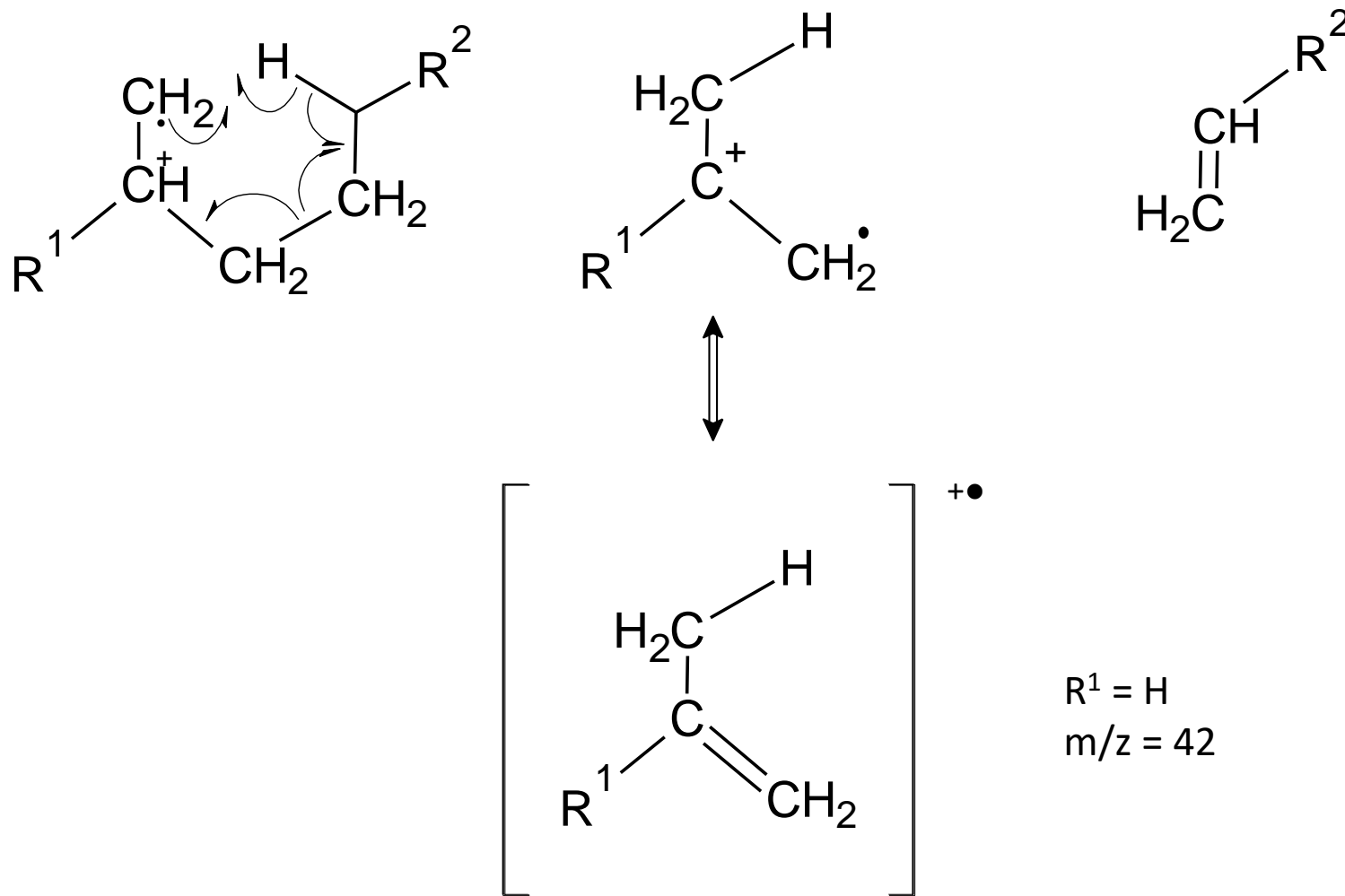
# MS: alkeny (liché fragmenty)

Hex-1-en

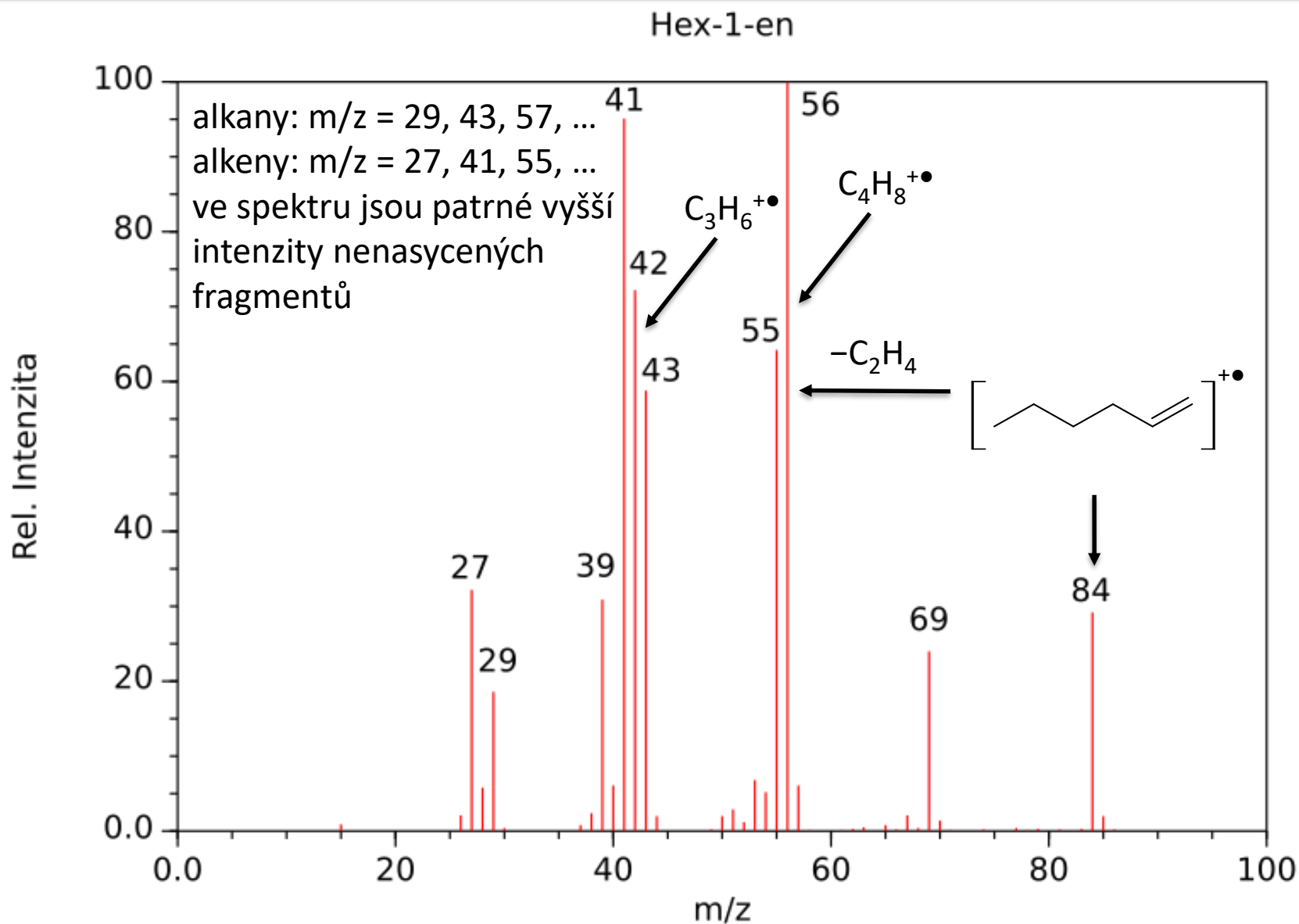


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

# MS: alkeny (sudé fragmenty – McLaffertyho přesmyk)



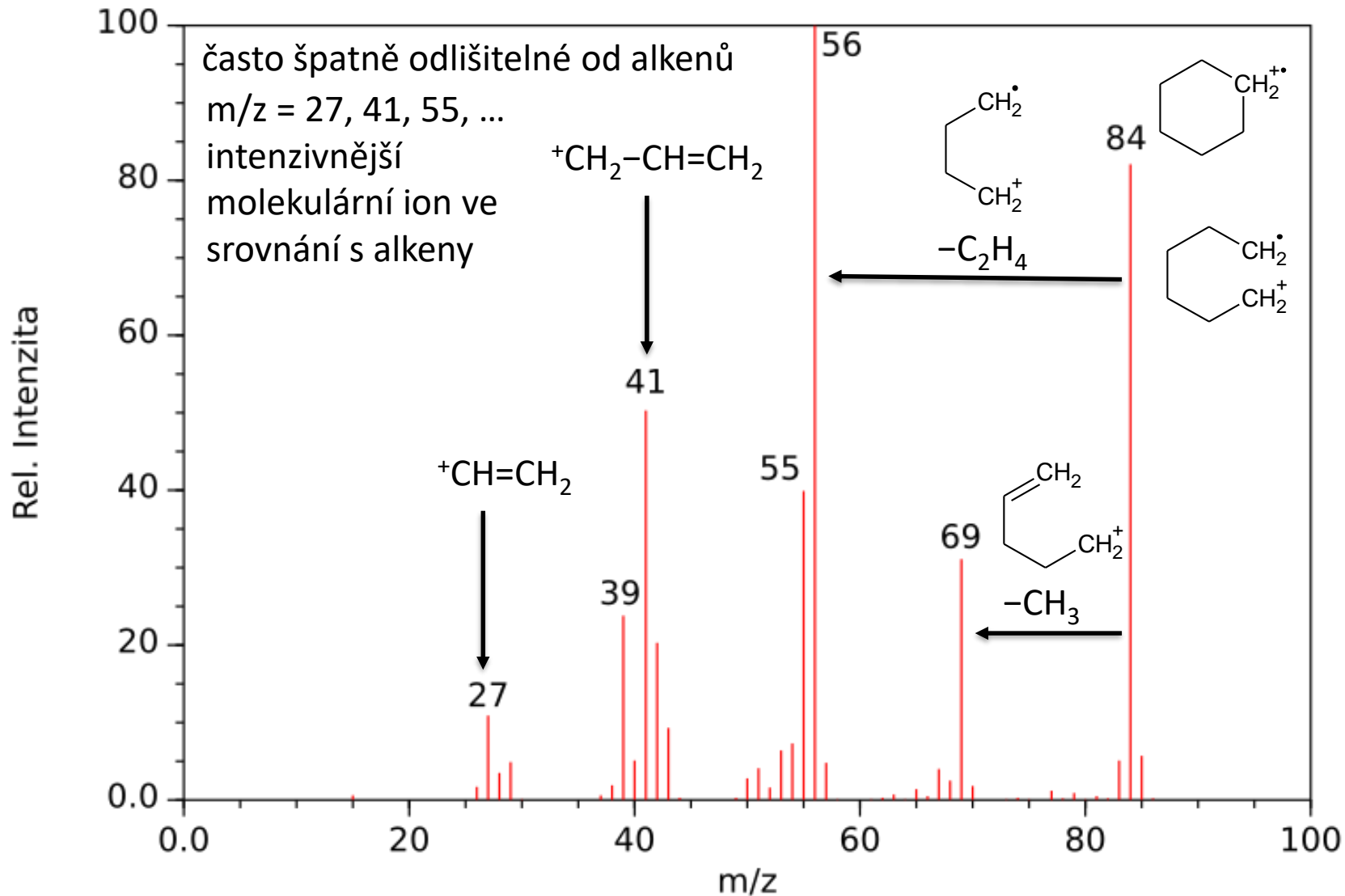
# MS: alkeny (sudé fragmenty – McLaffertyho přesmyk)



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

# MS: cykloalkany

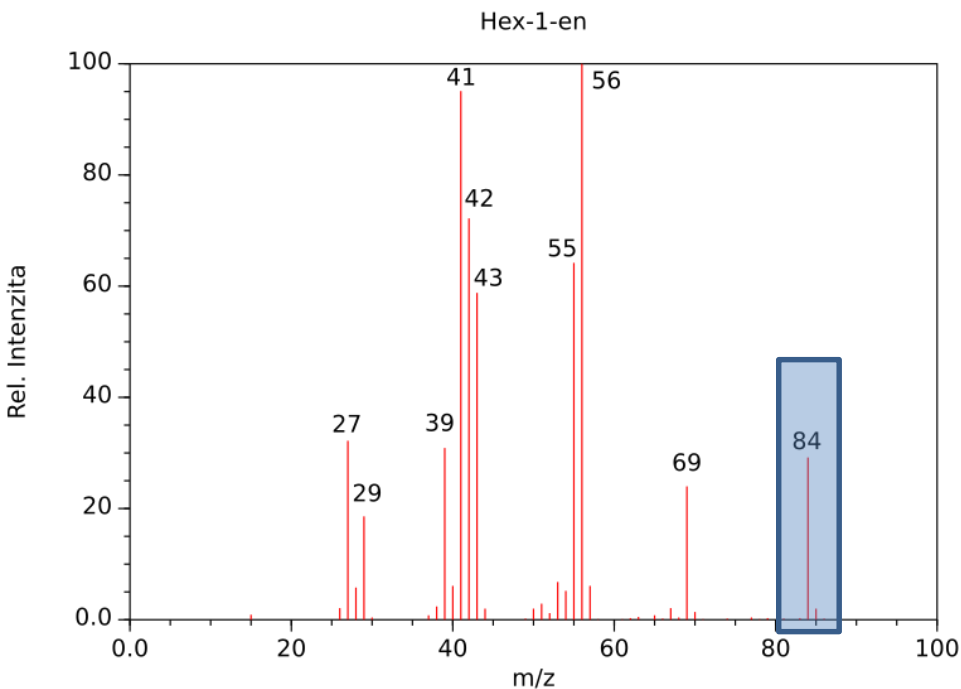
## Cyklohexan



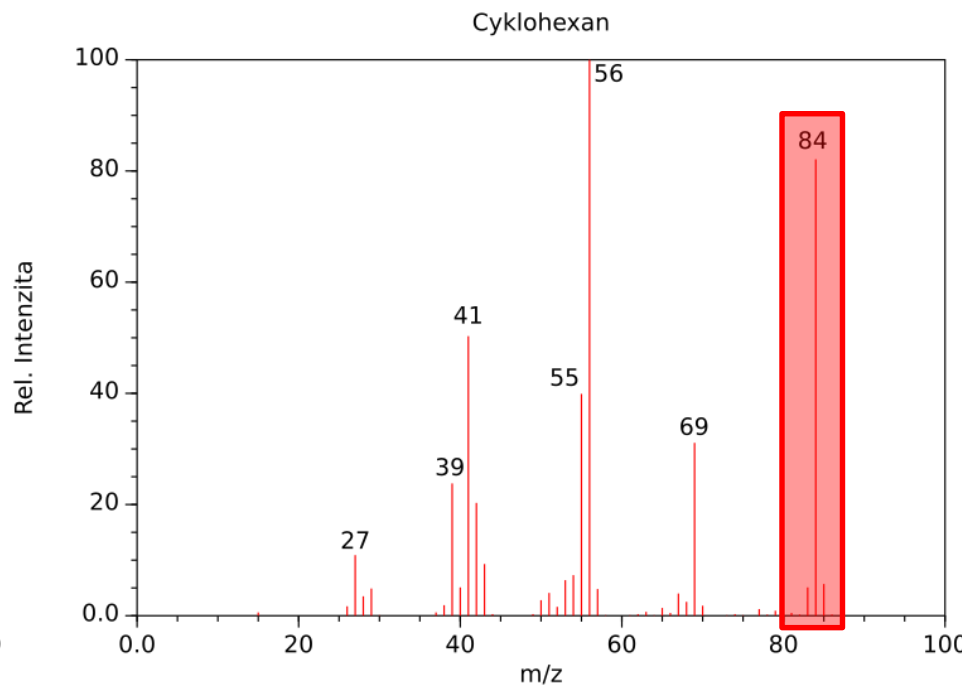
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

# 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

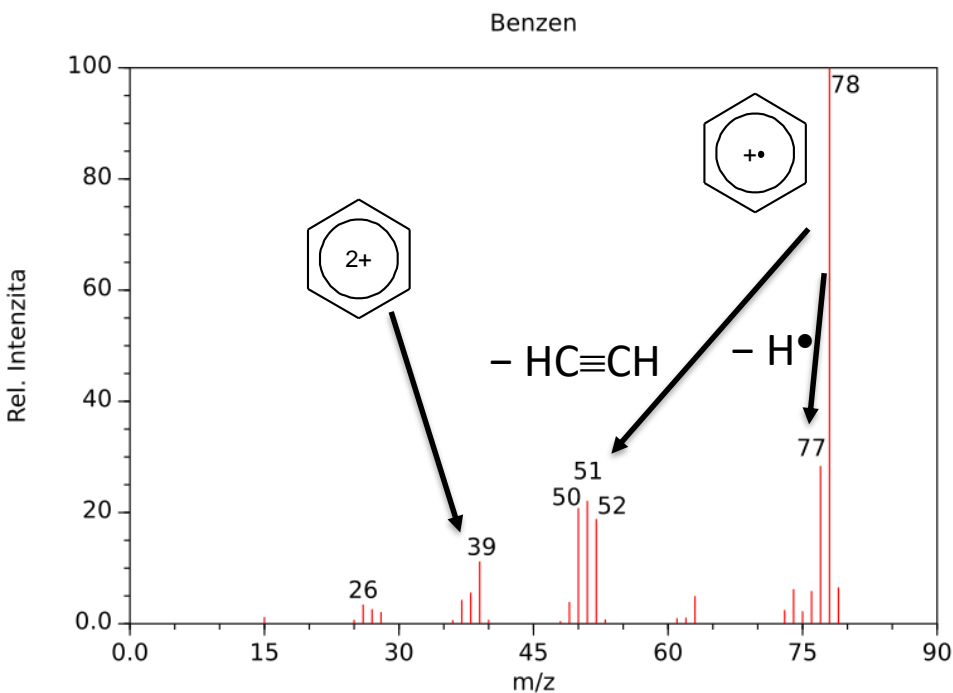
dvojnásobně nabitě ionty  $M^{2+}$  (poloviční hmotnost)

stabilní molekula – málo fragmentů

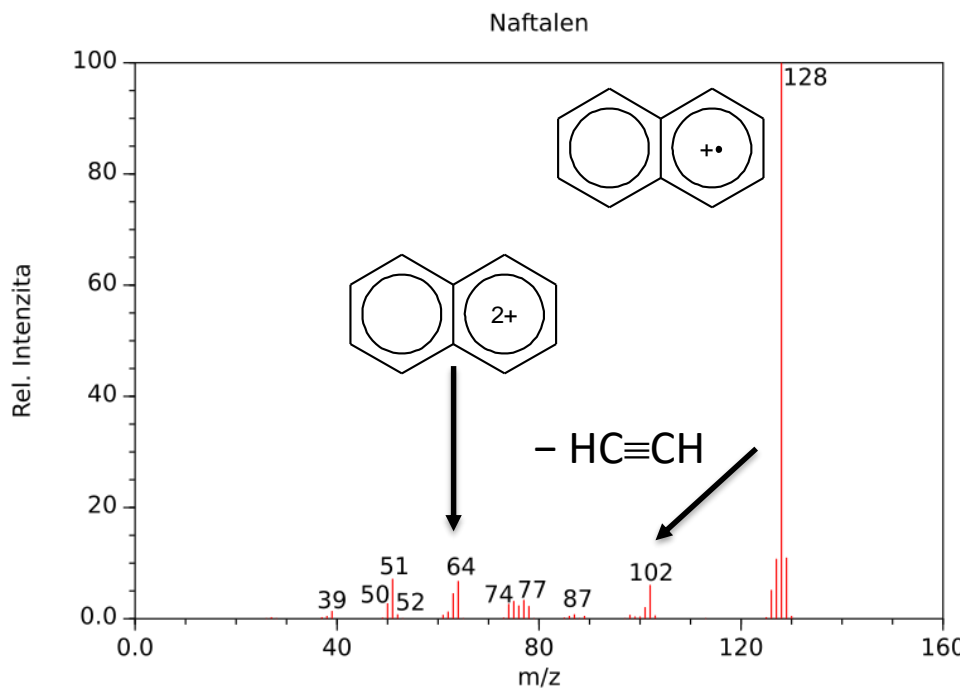
charakteristické ionty (m/z):  
77 ( $C_6H_5^+$ )  
65 ( $C_5H_5^+$ )  
51 ( $C_4H_3^+$ )  
39 ( $C_3H_3^+$ ) / ( $C_6H_6^{2+}$ )

často 63–65

často 50–52



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

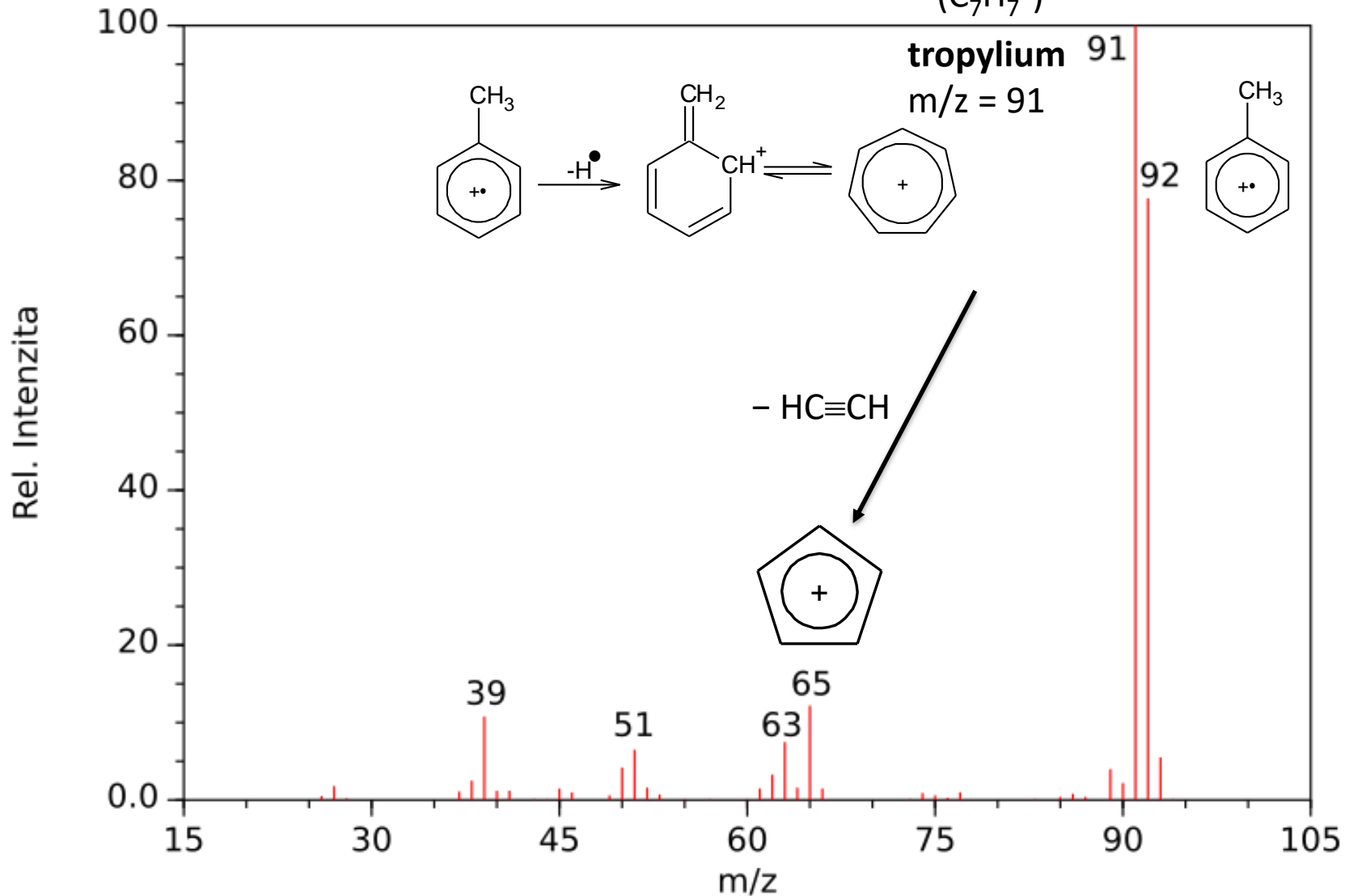


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

# MS: alkylareny

Toluen

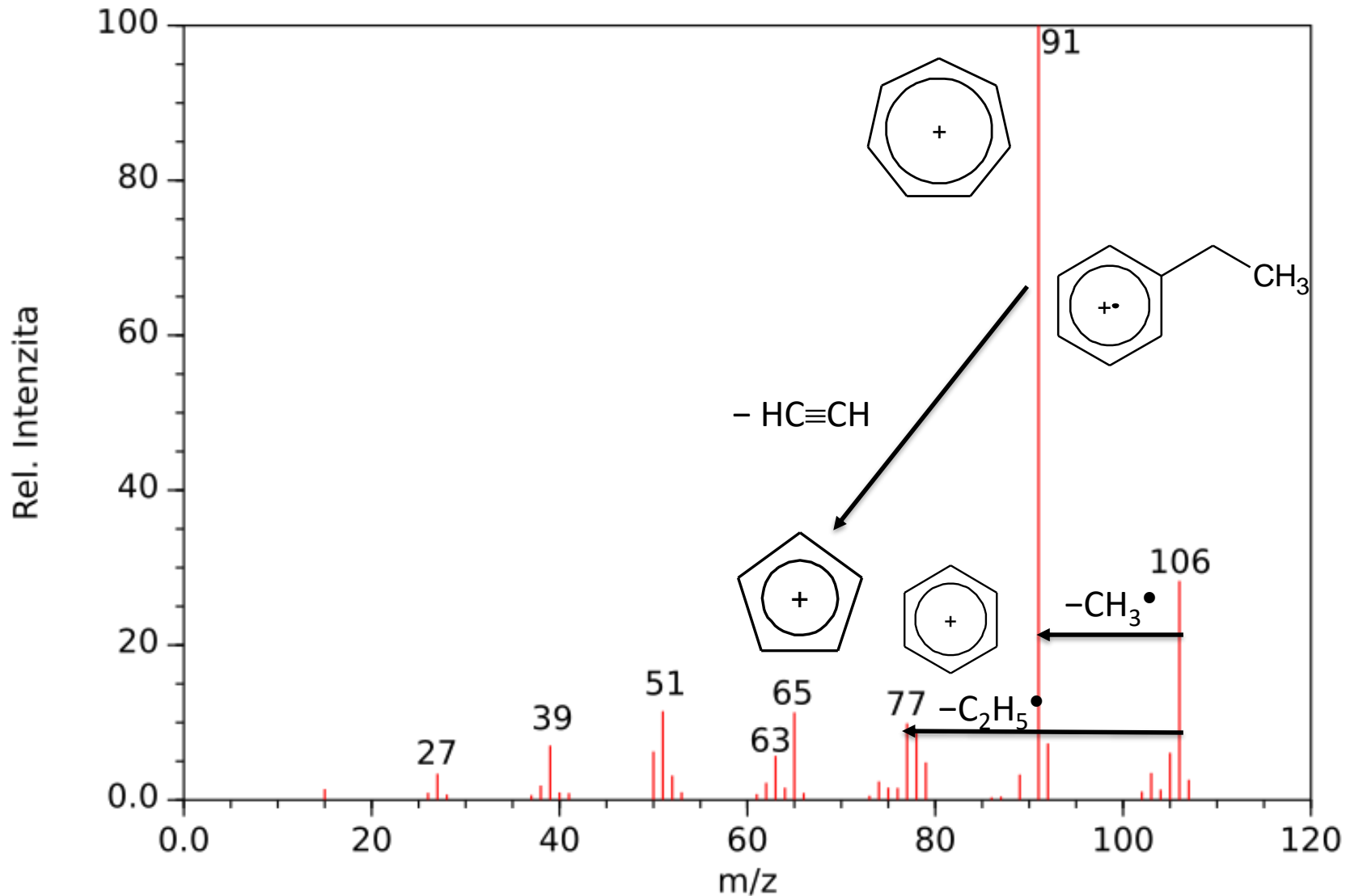
(C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>)



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

# MS: alkylareny

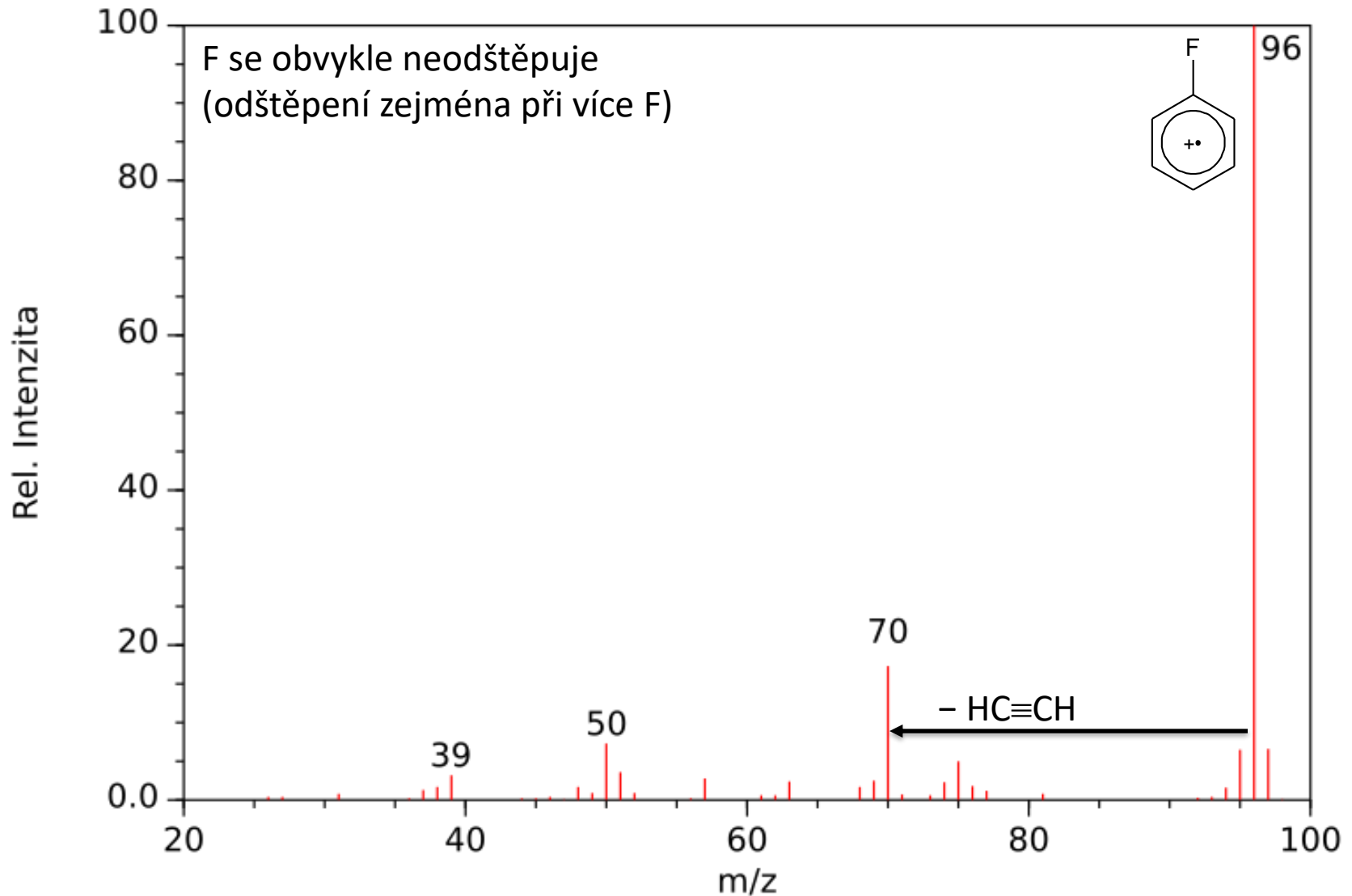
Ethylbenzen



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.  $^{31}\text{P}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,...) – různá hmotnost izotopů
- iontový (molekulární klast): ionty jednoho elementárního složení detekovány s několika rozdílnými hmotnostmi (podle přirozeného zastoupení izotopů)
- komplikace spektra × 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

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

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

→ intenzita v poměru 3:1

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

Př.: 1,2-dichlorbenzen

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

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

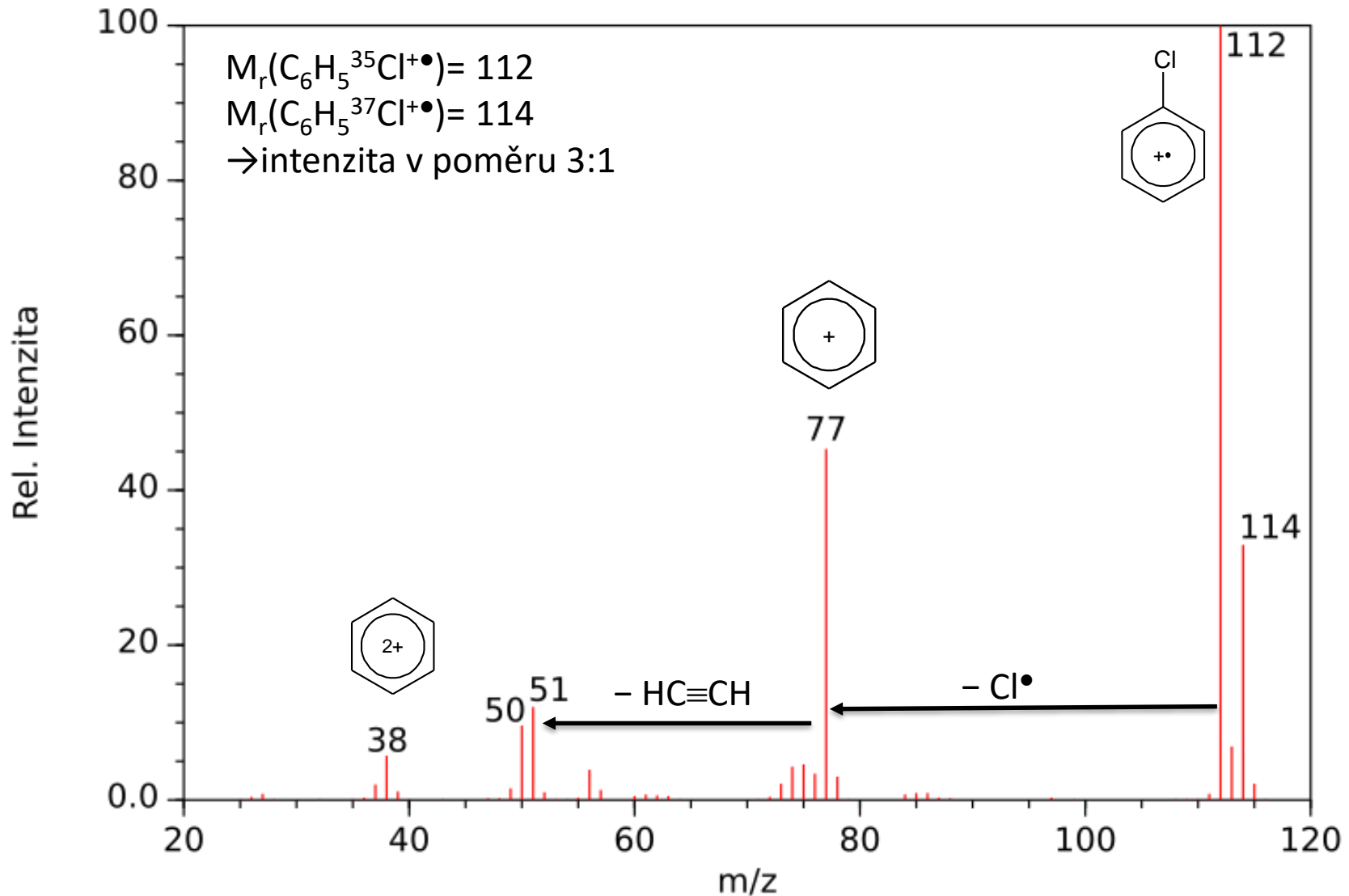
$$M_r(\text{C}_6\text{H}_4^{37}\text{Cl}_2) = 150$$

→ 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

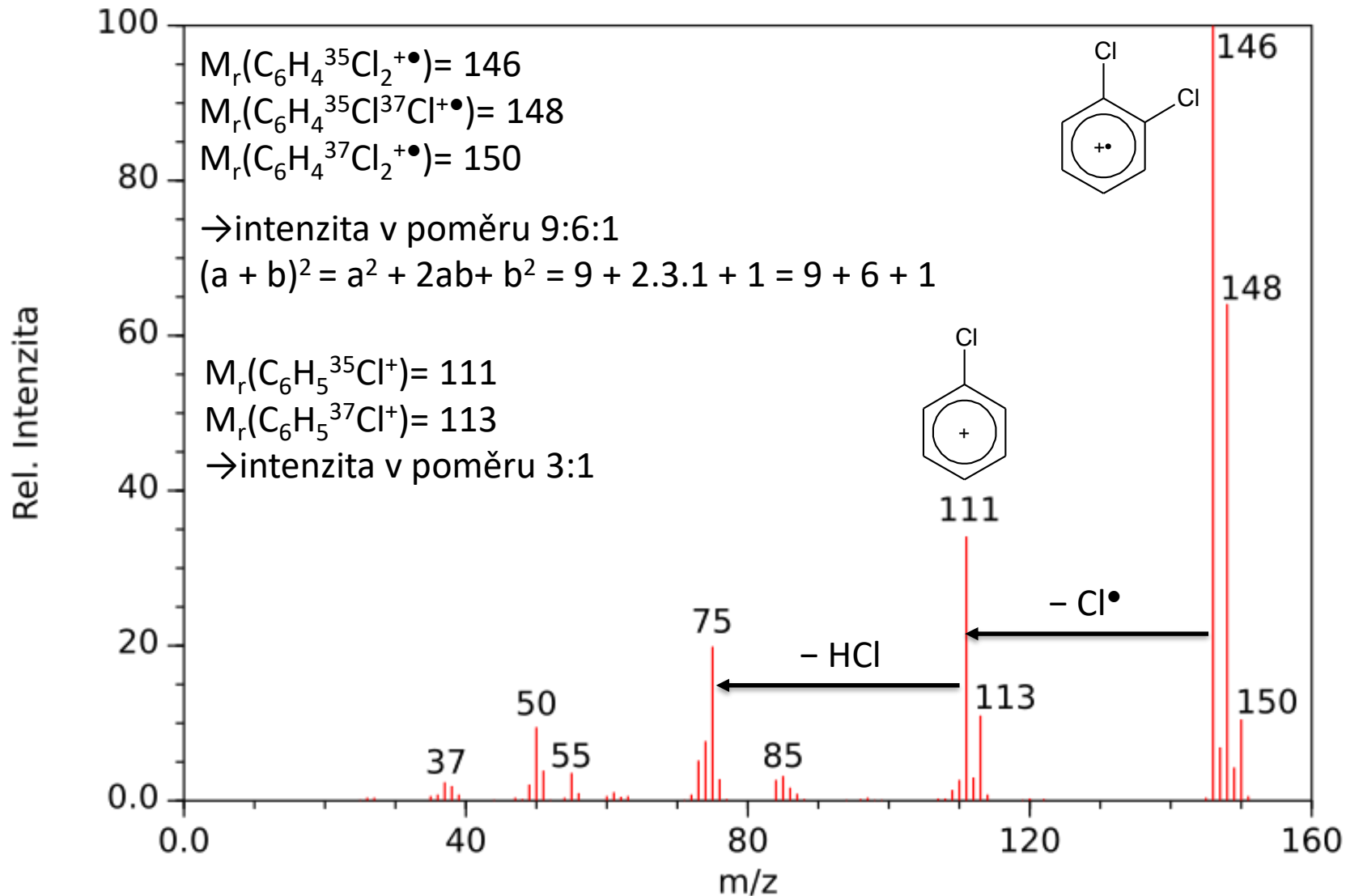
## Chlorbenzen



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

# MS: chlorované sloučeniny

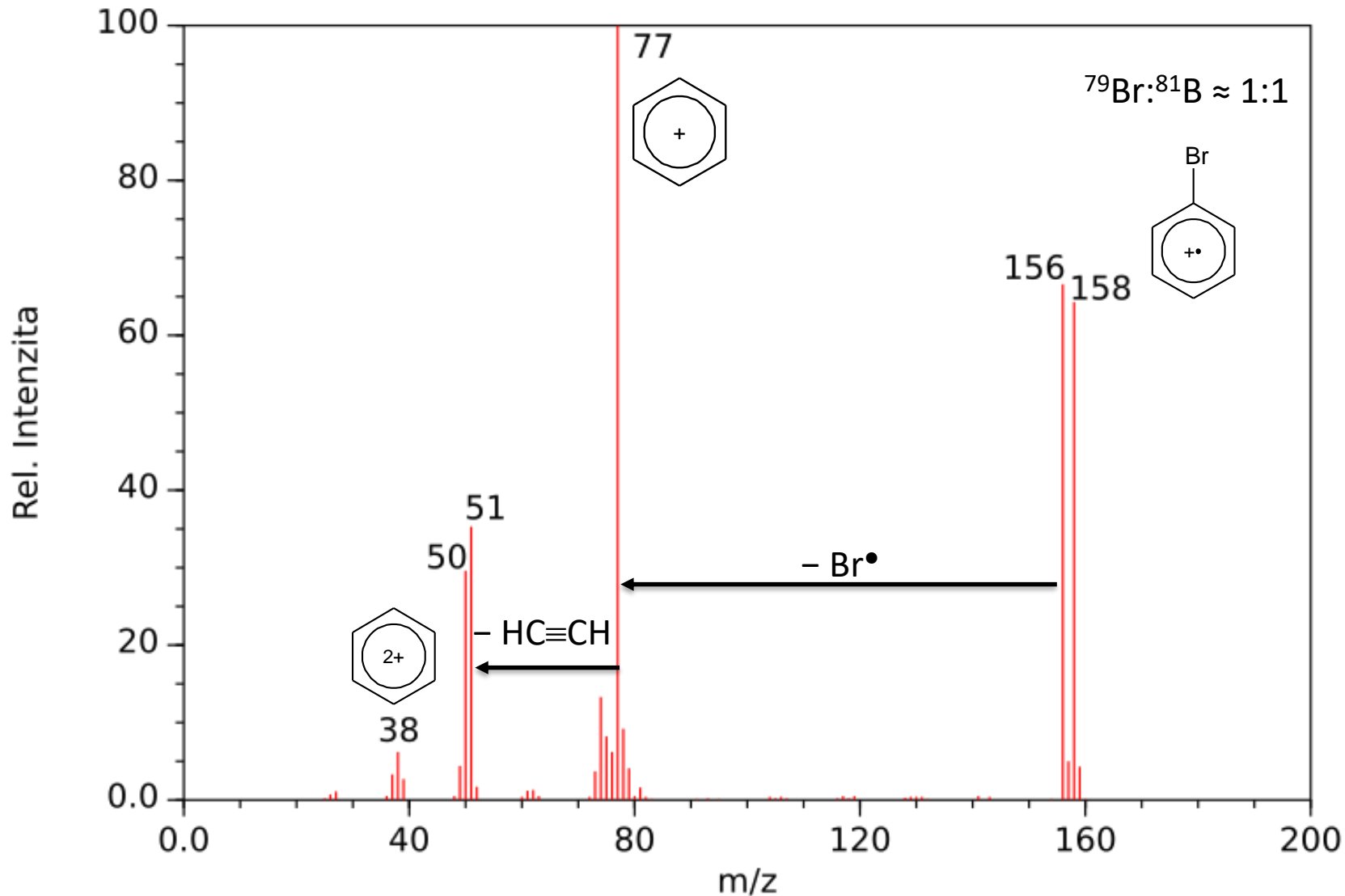
## 1,2-dichlorobenzen



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

# MS: bromované sloučeniny

## Brombenzen

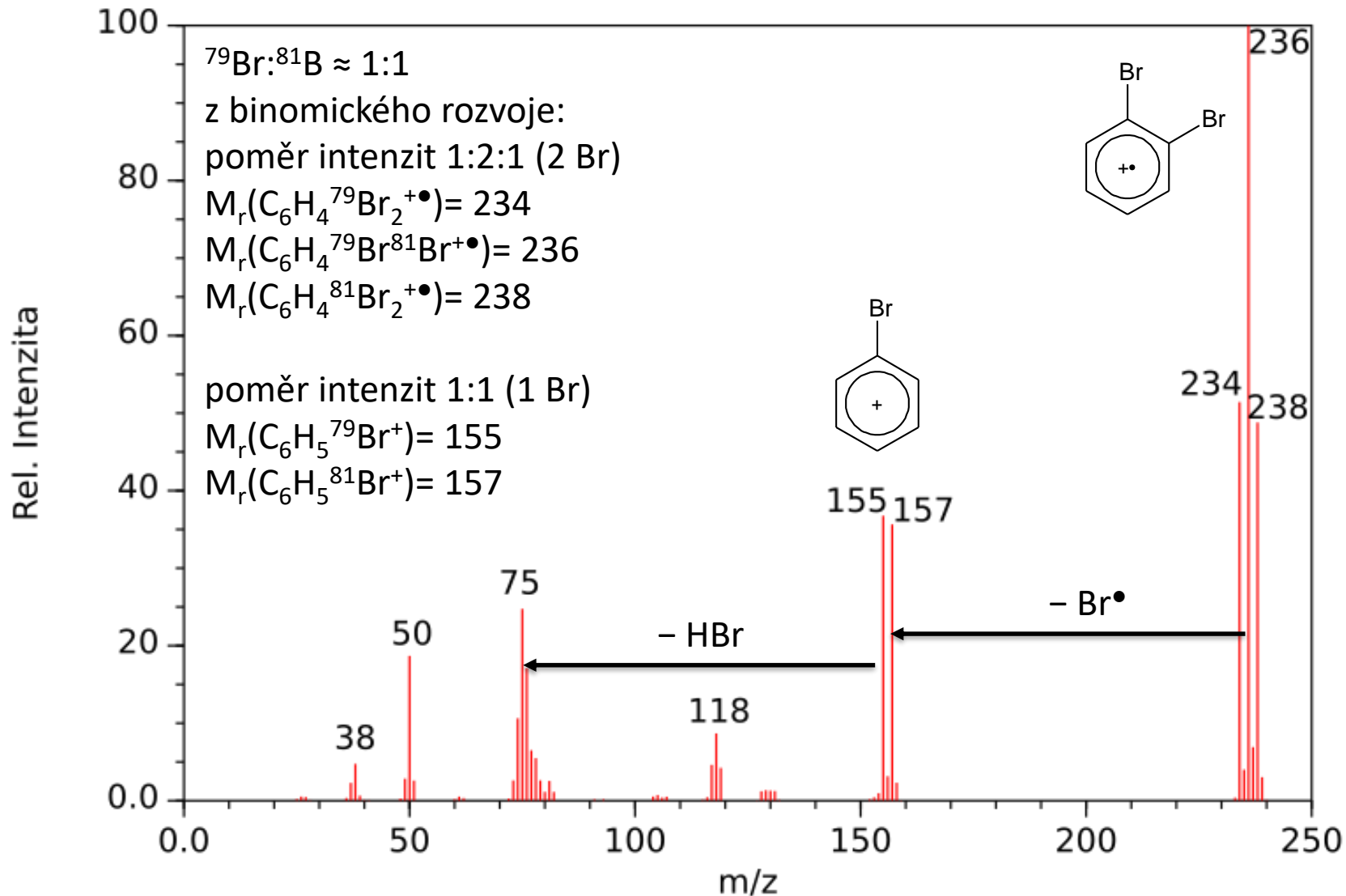


upraveno NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



# MS: bromované sloučeniny

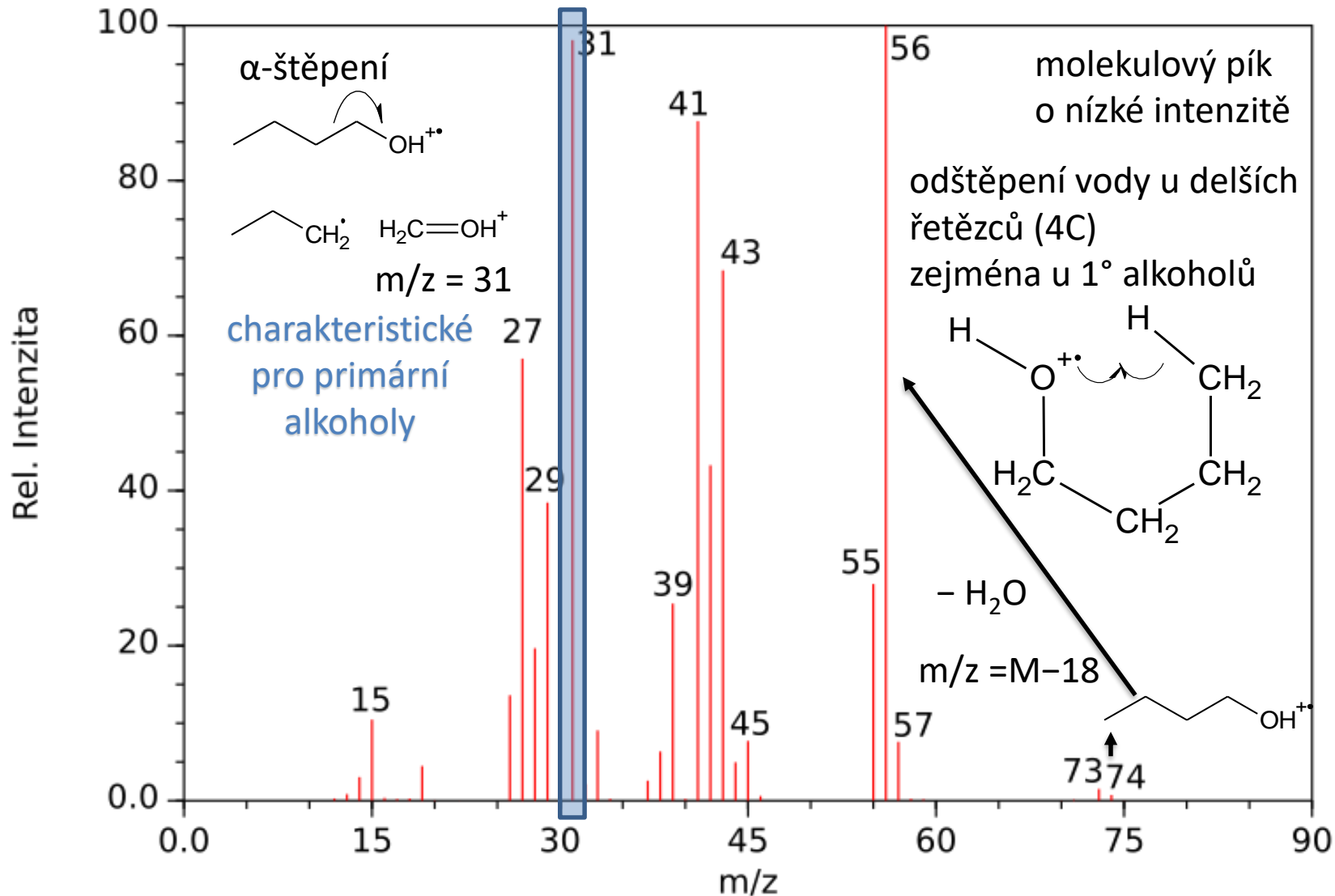
## 1,2-dibrombenzen



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

# MS: alkoholy

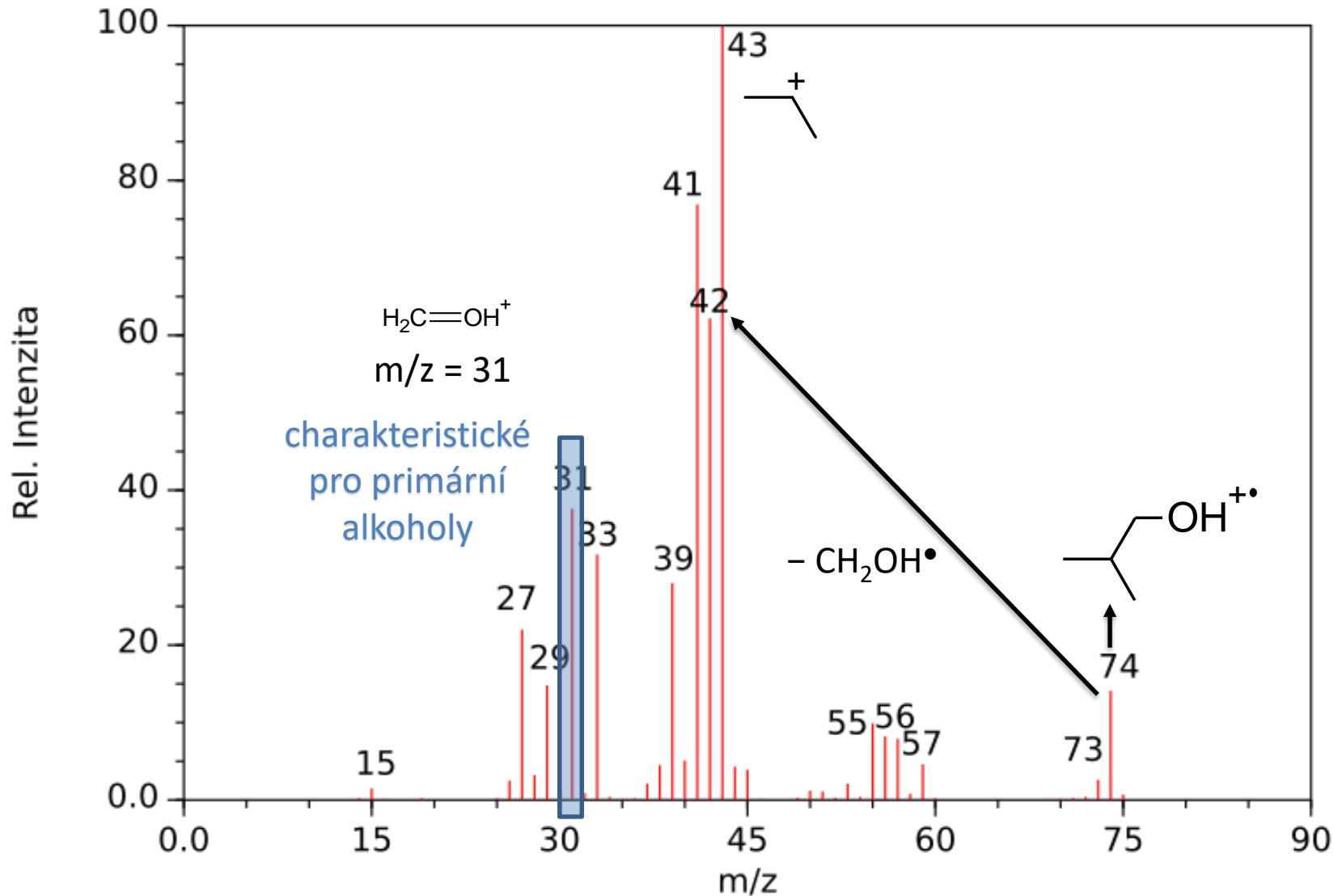
Butan-1-ol



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

# MS: alkoholy

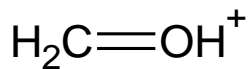
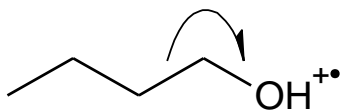
## 2-methylpropan-1-ol



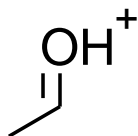
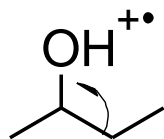
upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

# MS: alkoholy

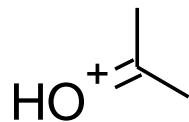
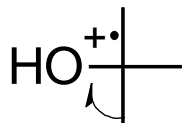
$\alpha$ -štěpení:



$m/z = 31$  (1° alkoholy)



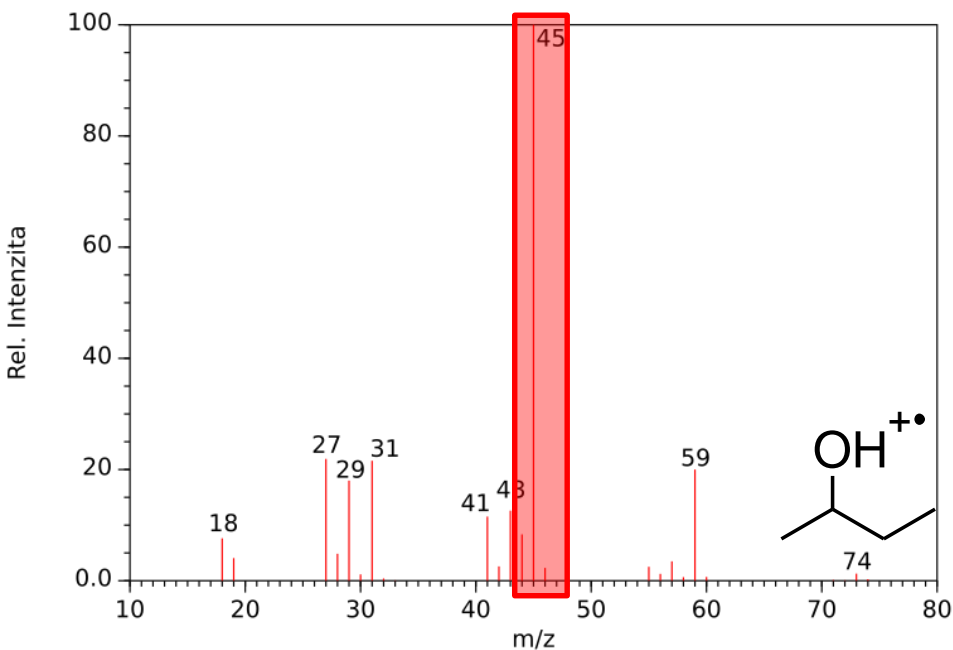
$m/z = 45$  (2° alkoholy)



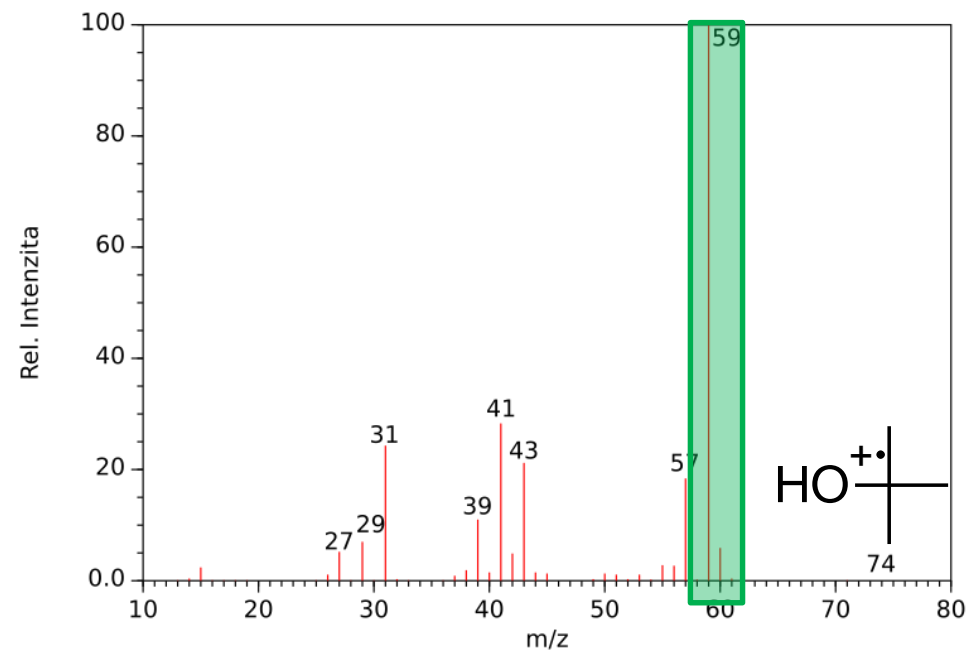
$m/z = 59$  (3° alkoholy)

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

Butan-2-ol

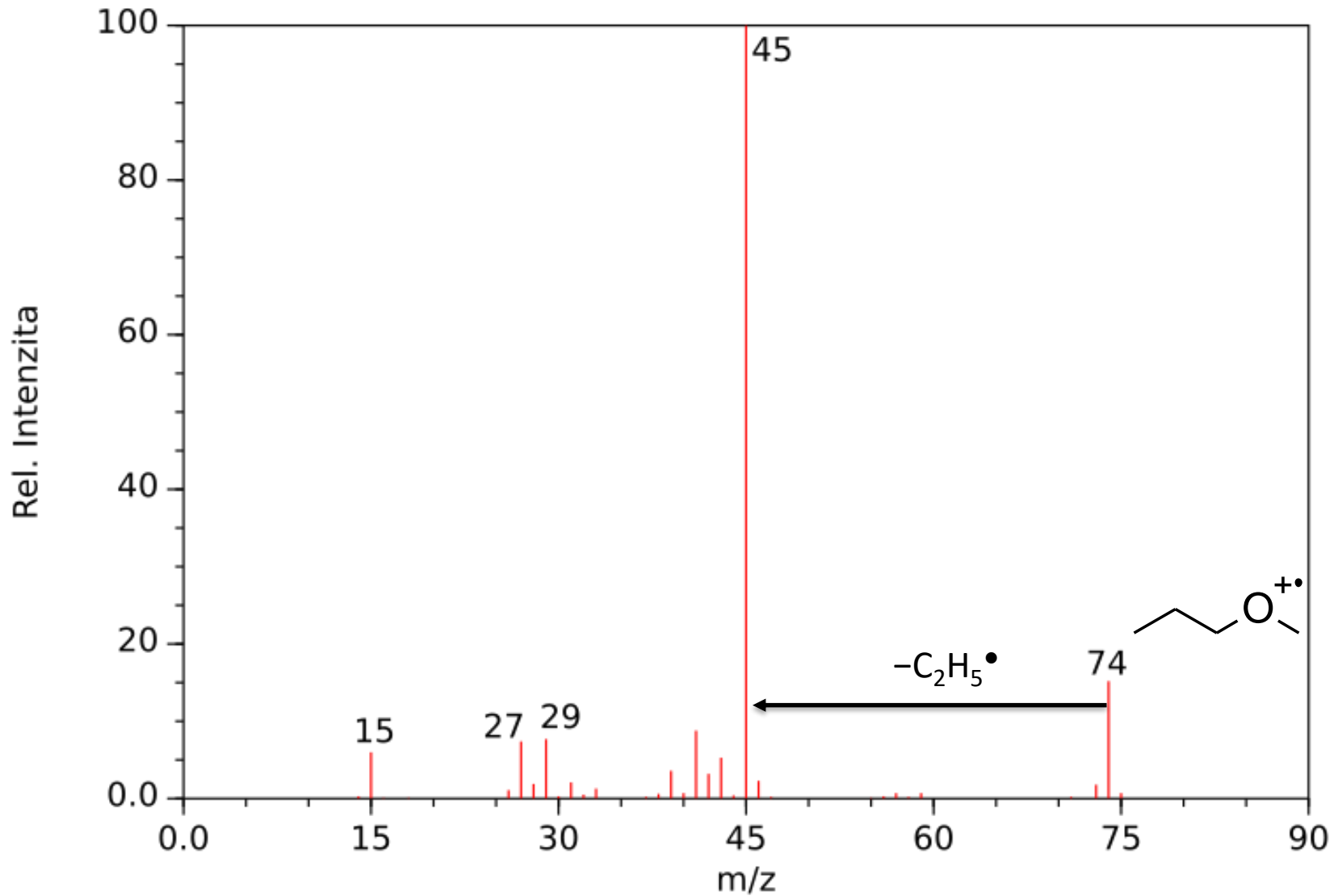


2-methyl-2-propanol



# MS: ethery

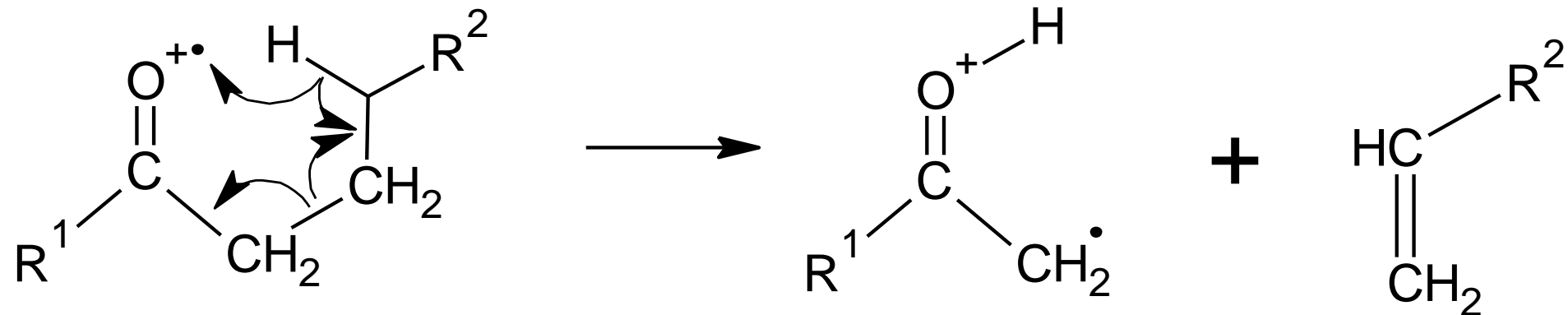
Methyl propyl ether



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

# MS: karbonylové sloučeniny – McLaffertyho přesmyk

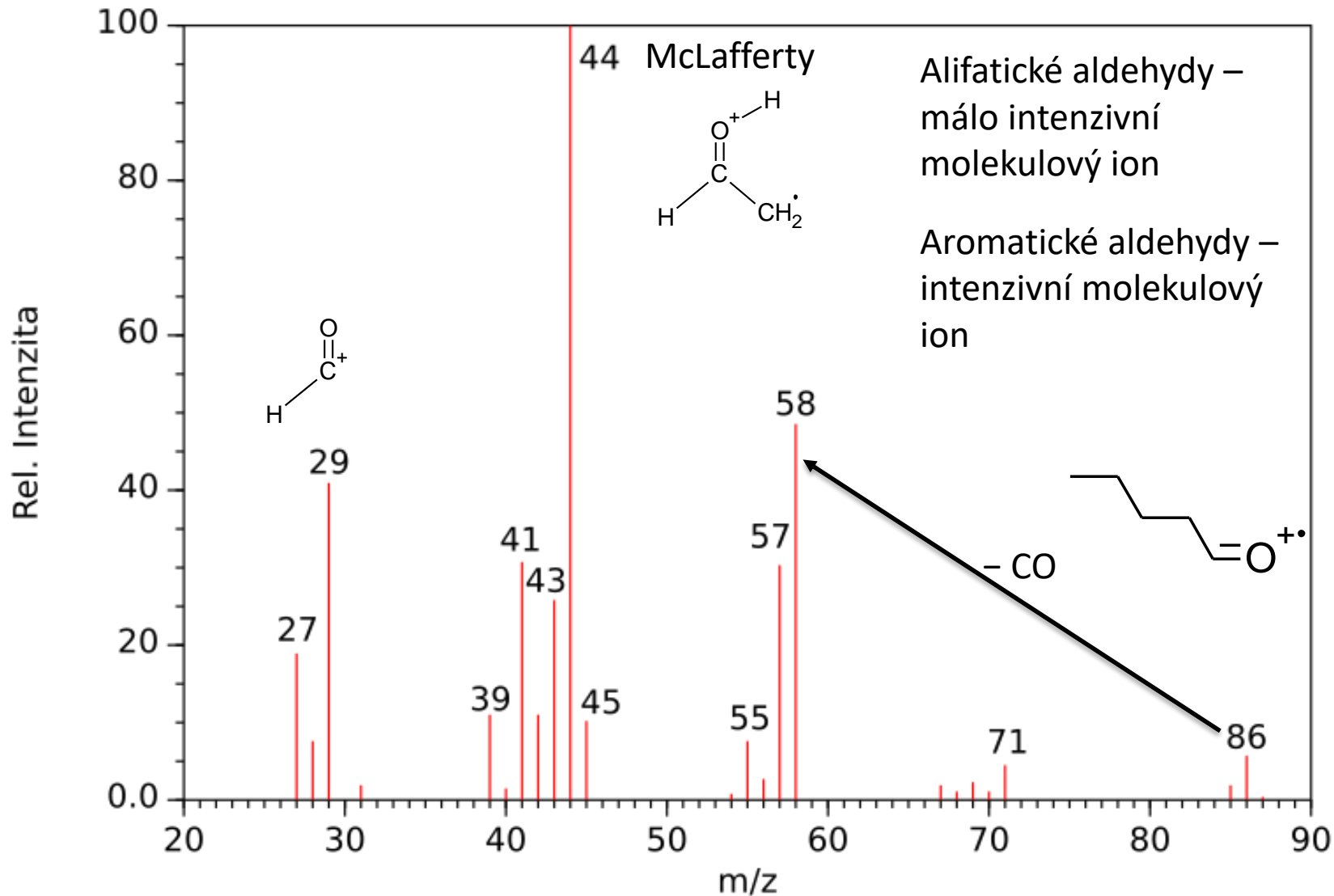
Pro sloučeniny typu  $R^1-CO-C-C-CH-R^2$



$R^1$	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

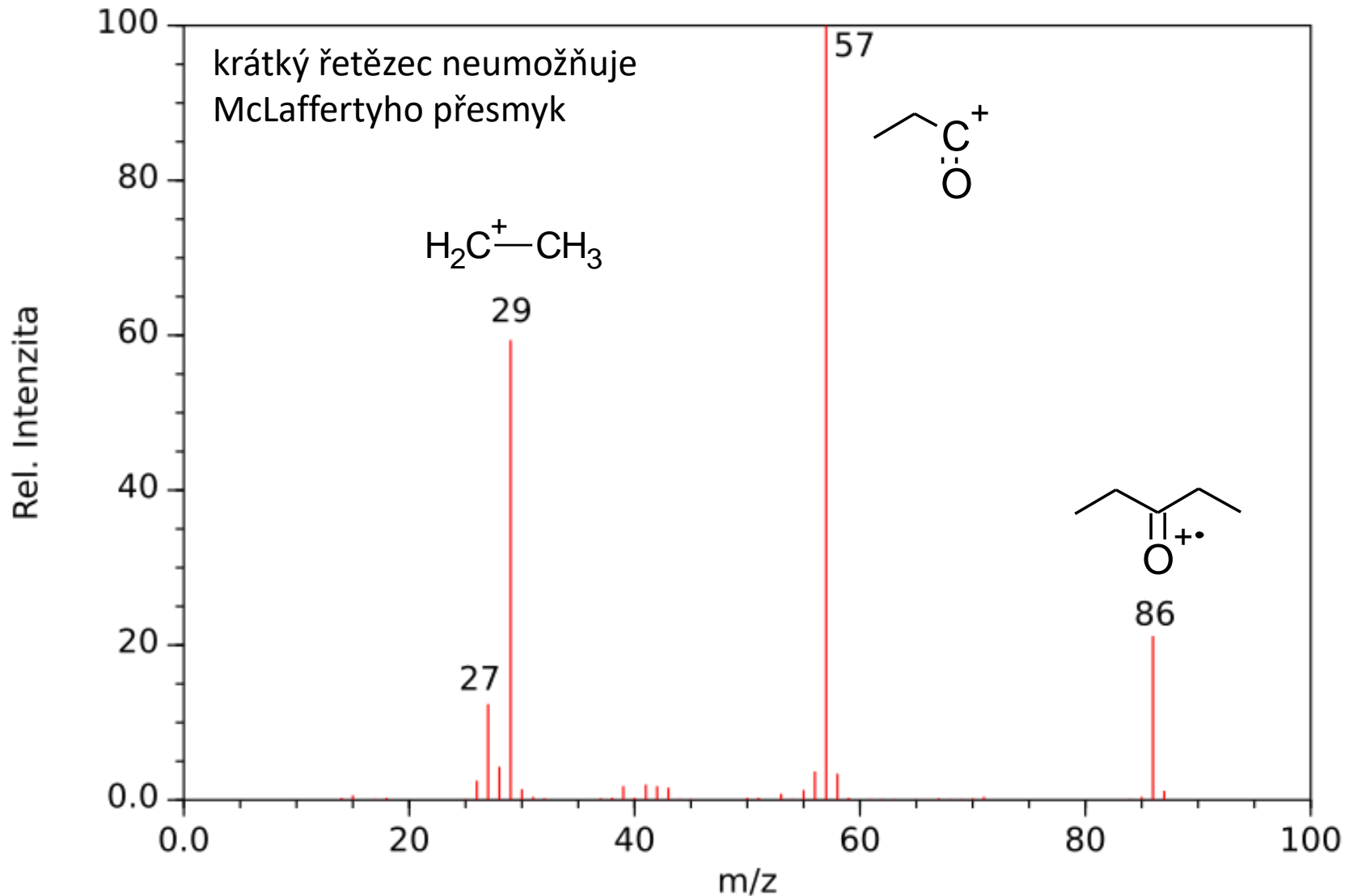
## Pentanal



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

# MS: ketony

Pentan-3-on

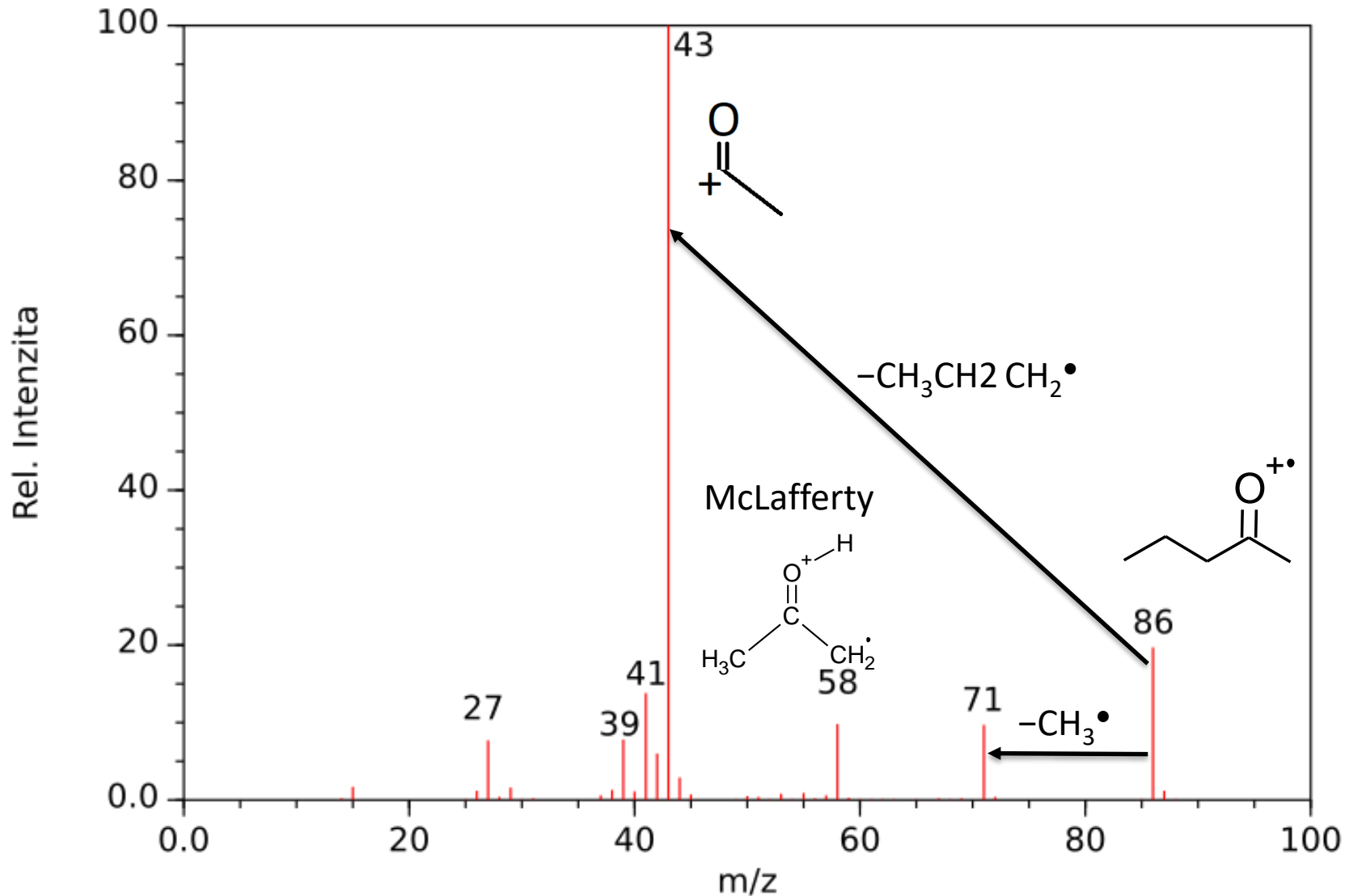


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



# MS: ketony

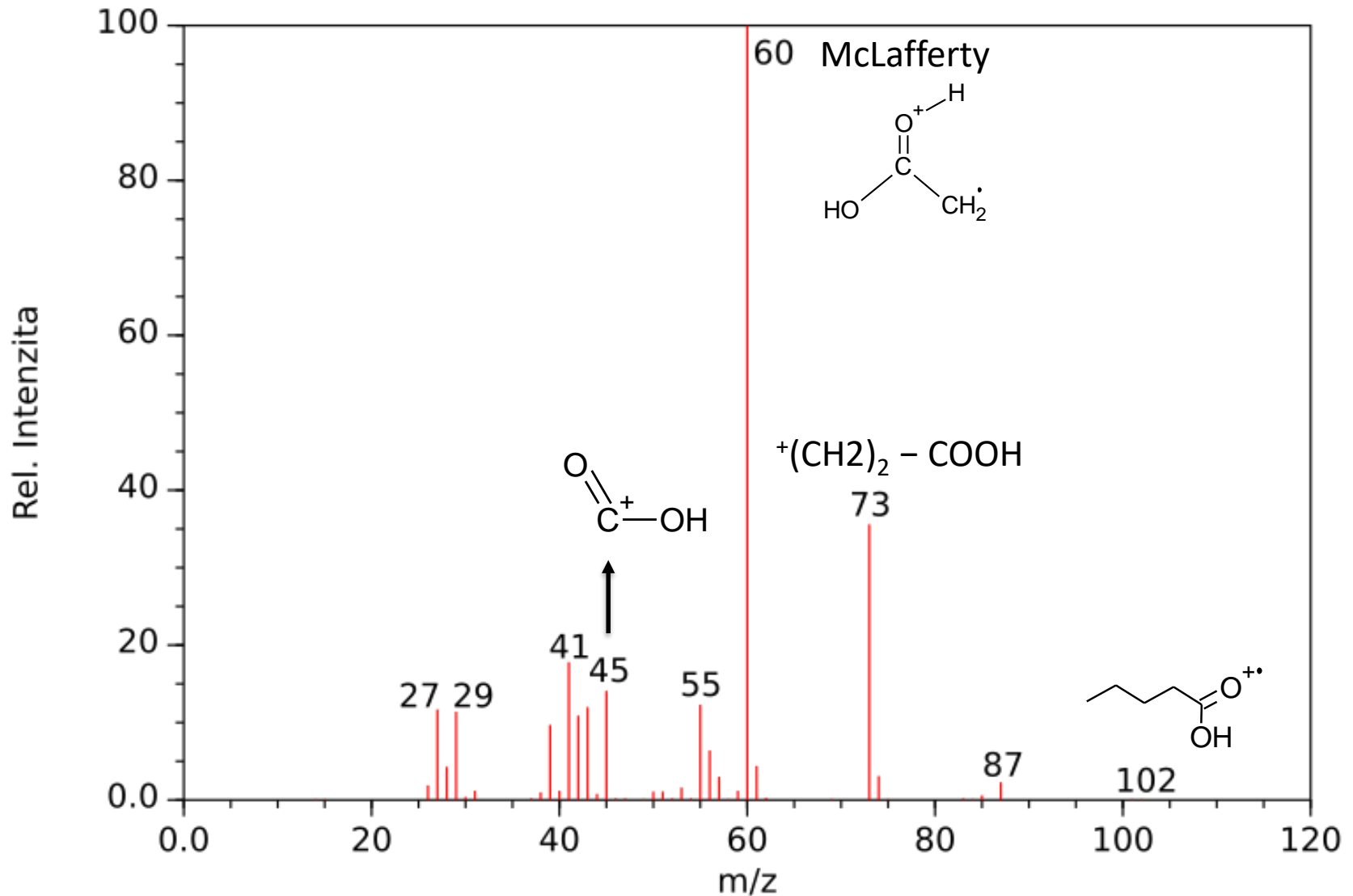
Pentan-2-on



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

# MS: karboxylové kyseliny

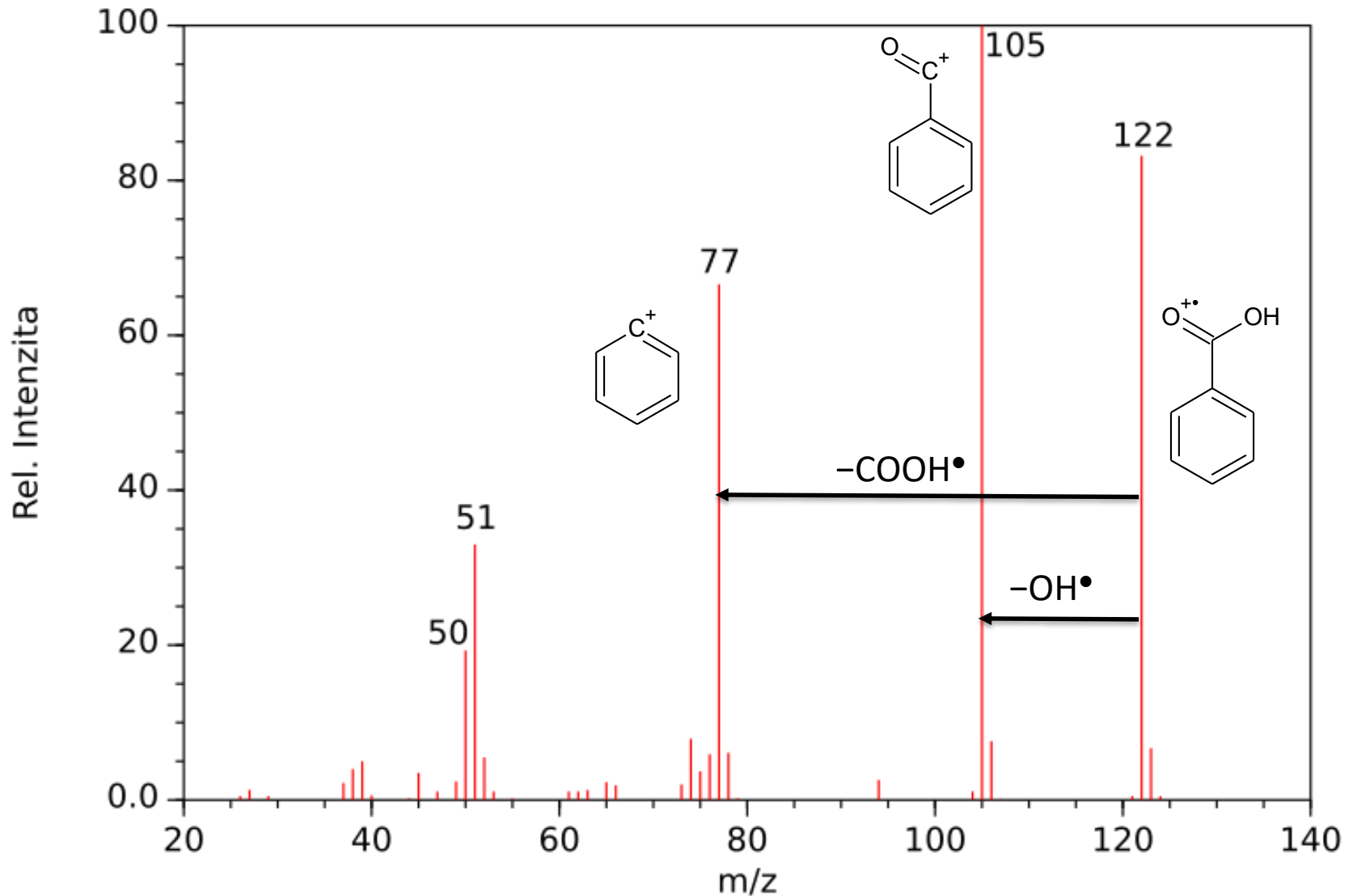
Pentanová kyselina



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

# MS: karboxylové kyseliny

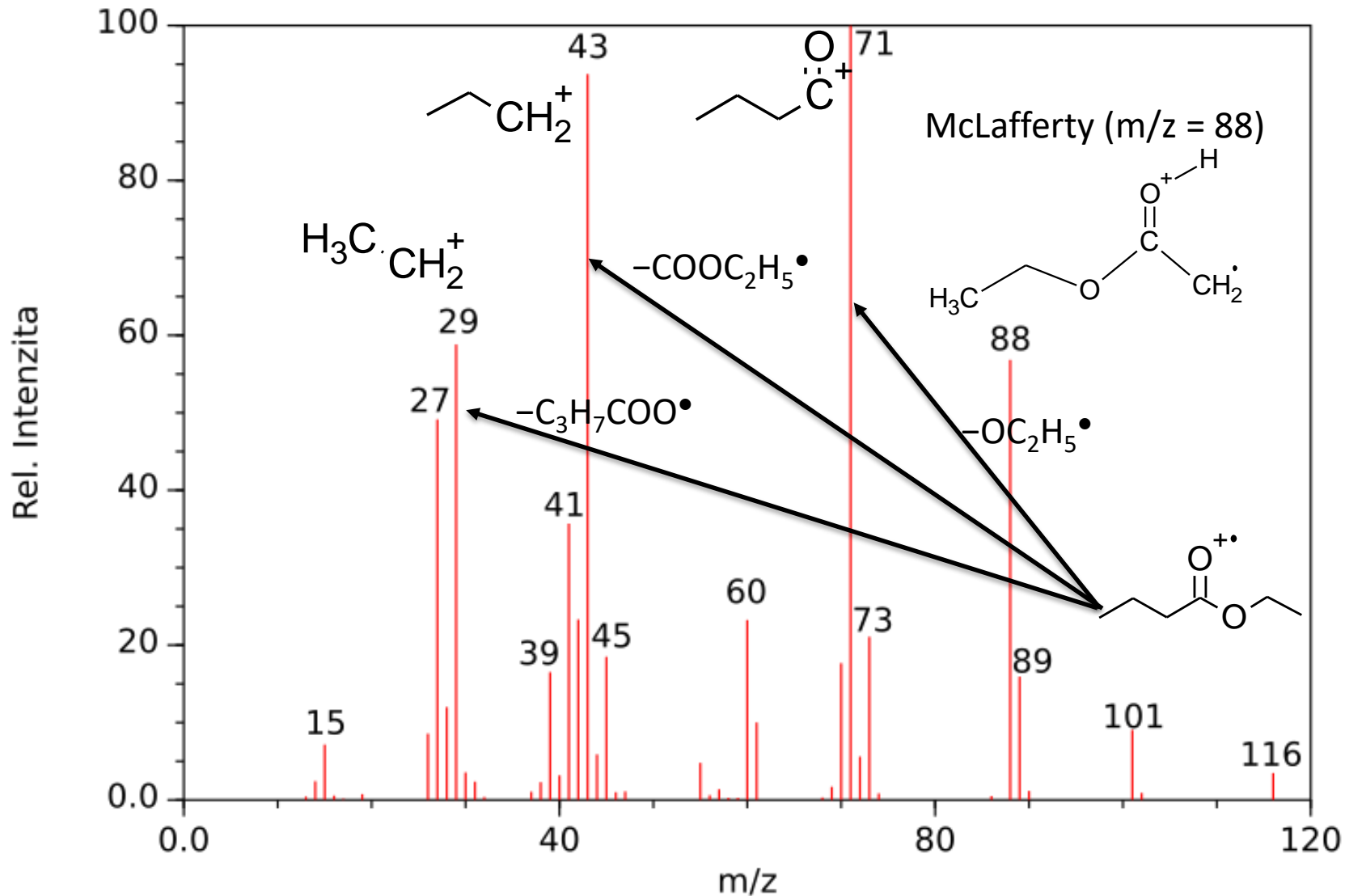
Benzoová kyselina



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

# MS: estery

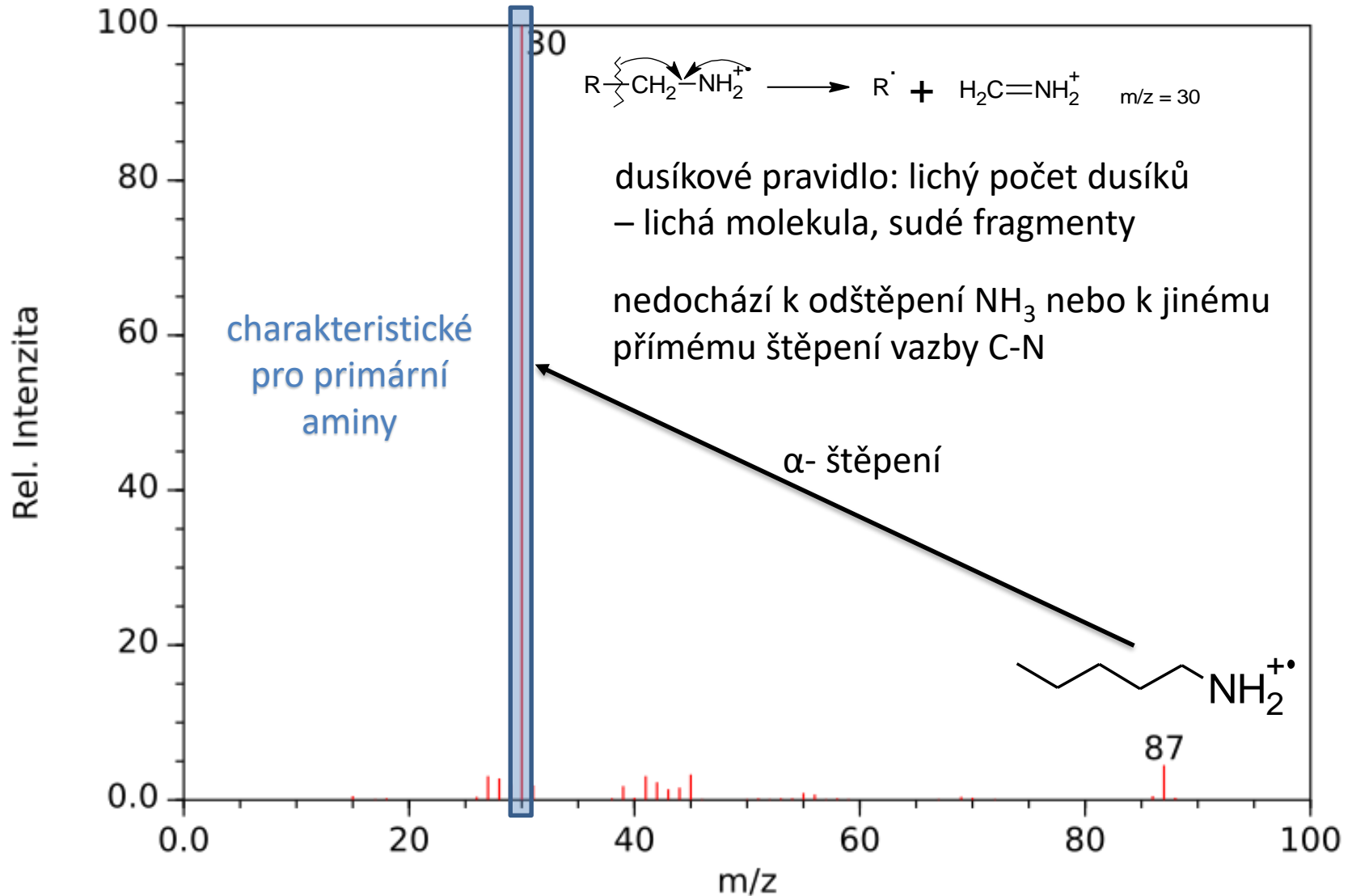
Ethyl butyrát



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

# MS: aminy

## Pentan-1-amin

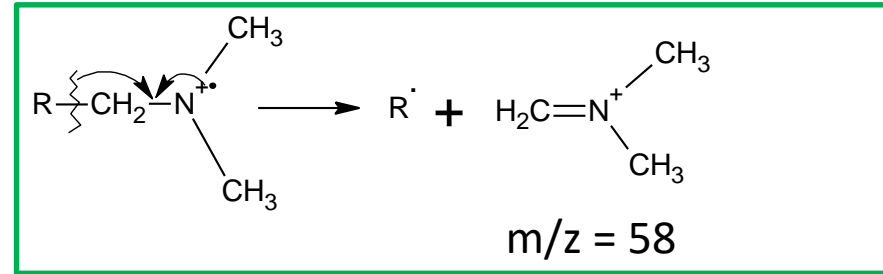
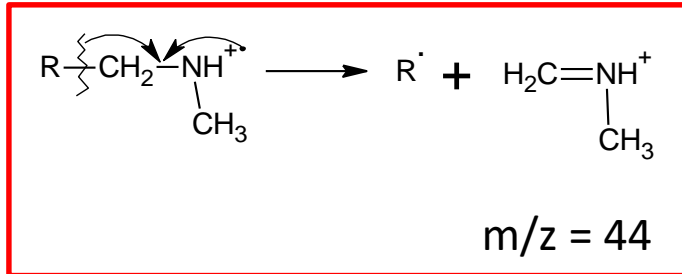


upraveno z NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

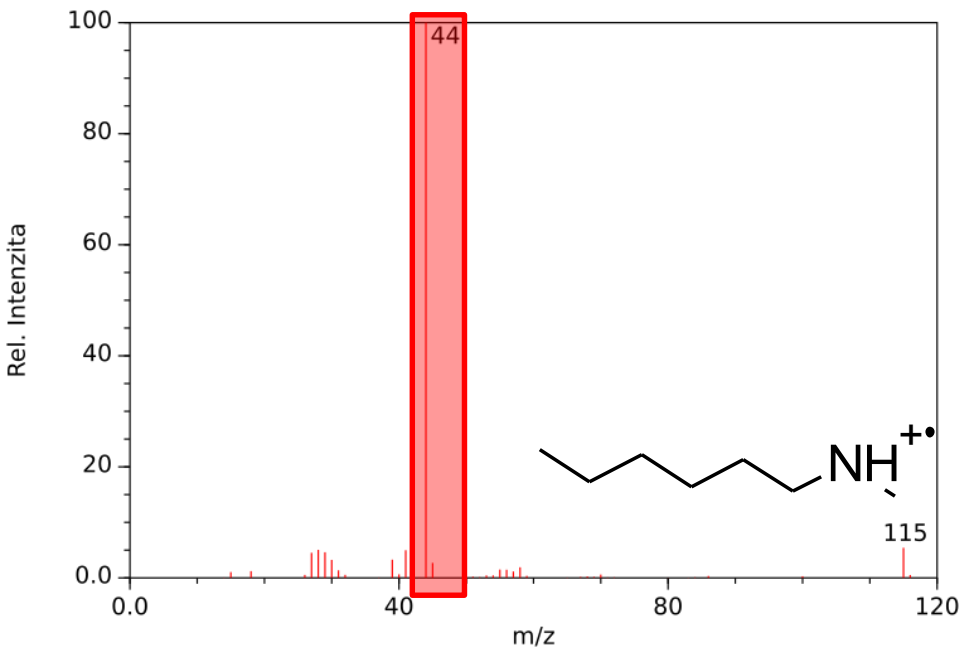
# MS: aminy

dusíkové pravidlo: lichý počet dusíků – lichá molekula, sudé fragmenty  
nedochází k odštěpení  $\text{NH}_3$  nebo k jinému přímému štěpení vazby C-N

$m/z = 44, 58$  podle místa substituce na řetězci nebo typu aminu  $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHR}$ ,  $\text{NR}_2$

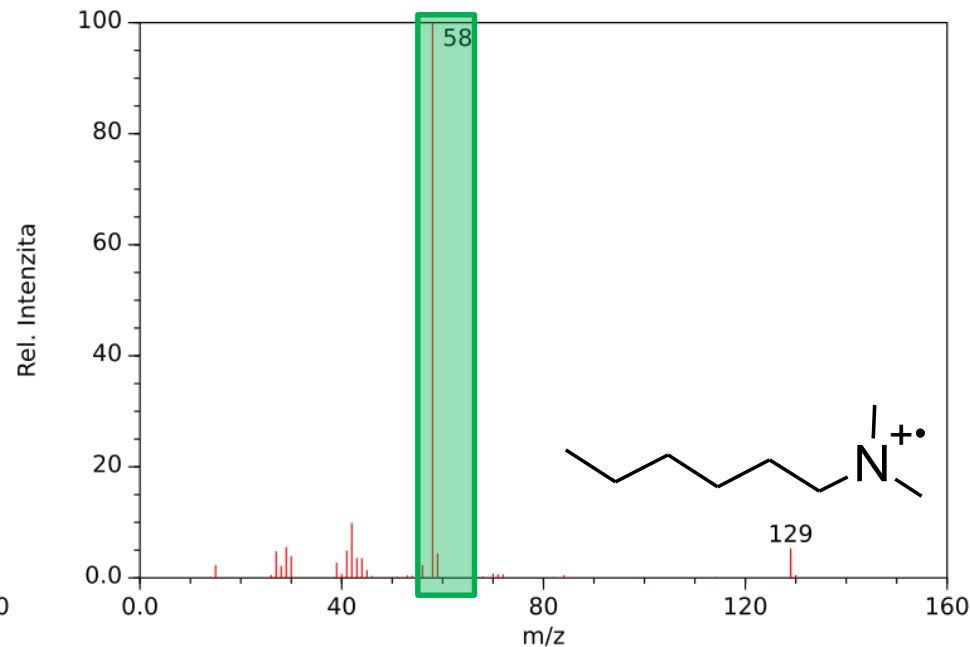


Hexylmethyamin



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

N,N-dimethylhexylamin



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).