

INTERPRETACE HMOTNOSTNÍCH SPEKTER

Hmotnost je aditivní vlastnost hmoty (tedy vlastnost jednotlivých hmotných těles), která vyjadřuje míru setrvačných účinků či míru gravitačních účinků hmoty.

Klidová hmotnost je hmotnost tělesa měřená ve vztažné soustavě, vůči které je těleso v klidu. Částice jako fotony, které nikdy v klidu nejsou, mají klidovou hmotnost nulovou. Vyjadřuje množství látky v tělese a je shodná s koncepcí hmotnosti v Newtonově klasické mechanice.

Zákon zachování hmotnosti (1758 M. V. Lomonosov, 1774–1777 A. L. Lavoisier):

"V uzavřené soustavě se součet hmotností látek, které vstupují do reakce, rovná součtu hmotností látek, které reakcí vznikají."

Na rozdíl od klasické fyziky při relativistických dějích neplatí zákon zachování klidové hmotnosti. Například srážkou částic na urychlovači mohou vzniknout částice, jejichž úhrnná klidová hmotnost je větší než klidová hmotnost původních částic.

$$m = \frac{m_0}{\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}}}$$

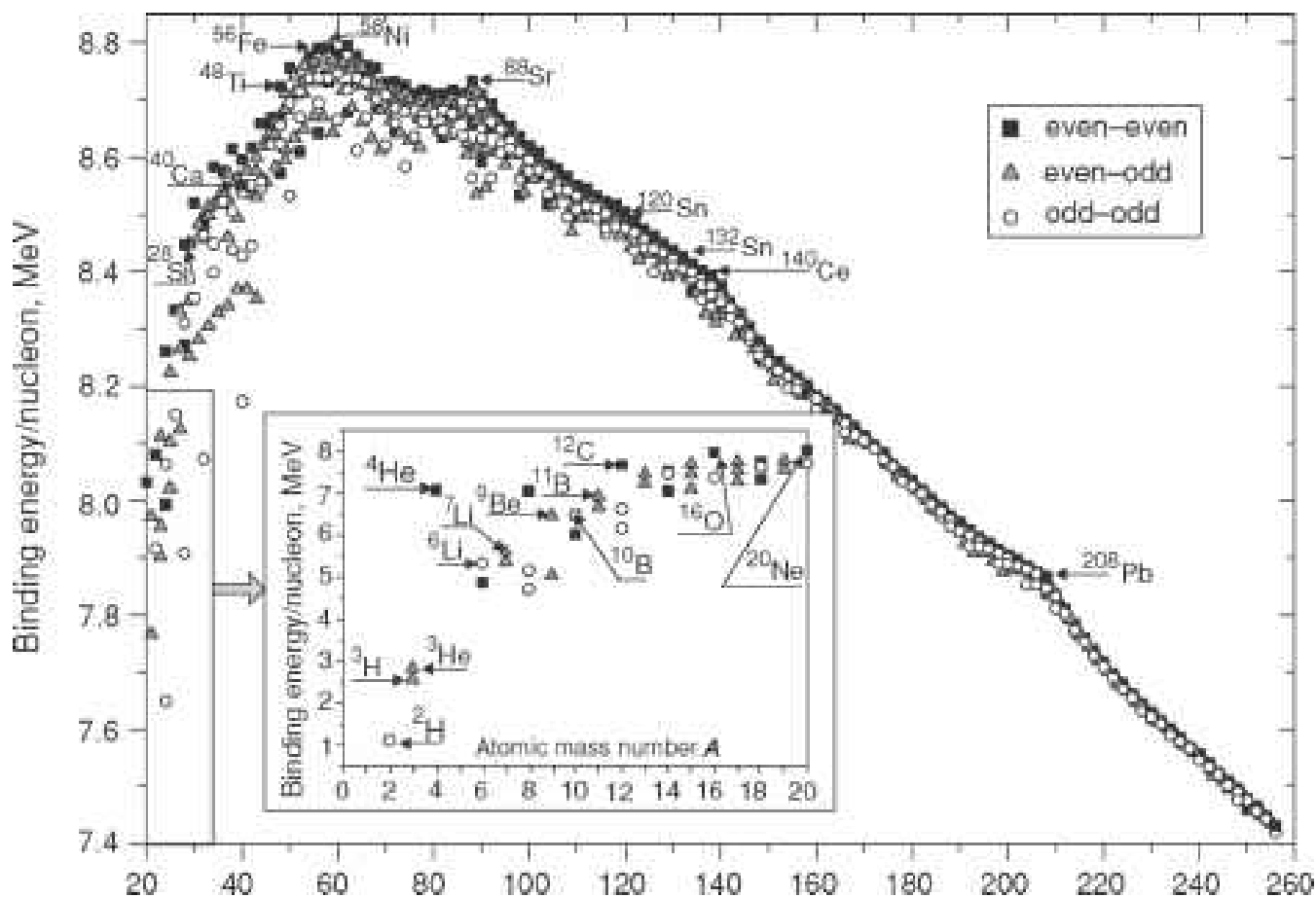
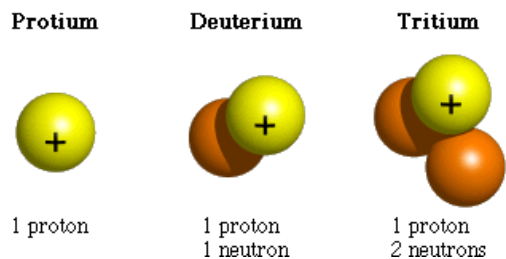
Relativistická hmotnost je (až na jednotky) ekvivalentní celkové energii tělesa podle vztahu $E=mc^2$. Relativistická hmotnost roste s rychlostí, protože při zrychlování se zvyšuje kinetická energie tělesa. Dané těleso má tedy různou relativistickou hmotnost pro různé pozorovatele. Tato veličina nevyjadřuje množství látky v tělese, protože látka zrychlováním nepřibývá. Nicméně pro tuto hmotnost platí zákon zachování, protože jde o ekvivalent zákona zachování energie.

Izotopy

Jádra atomů izotopů jednoho prvku mají stejný počet protonů, ale mohou mít rozdílný počet neutronů. Mají tedy stejné atomové číslo a rozdílné hmotové číslo a atomovou hmotnost.

nukleonové číslo → 2
 protonové číslo → 1 H

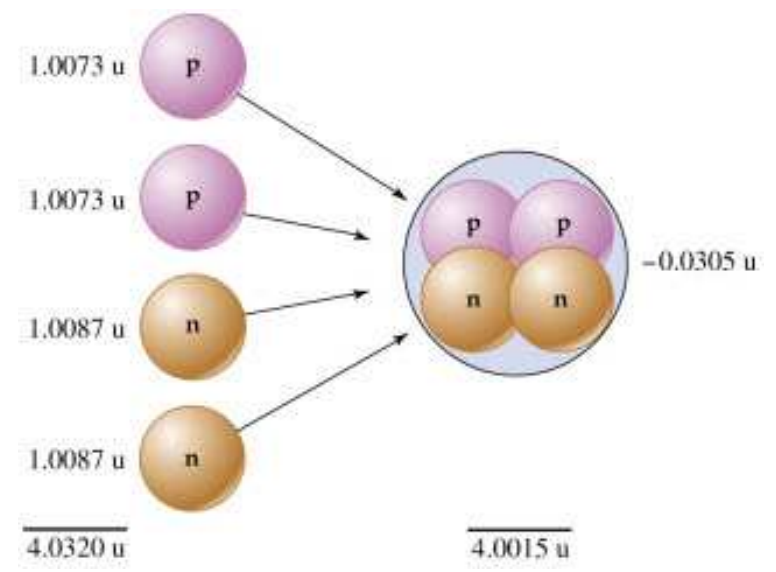
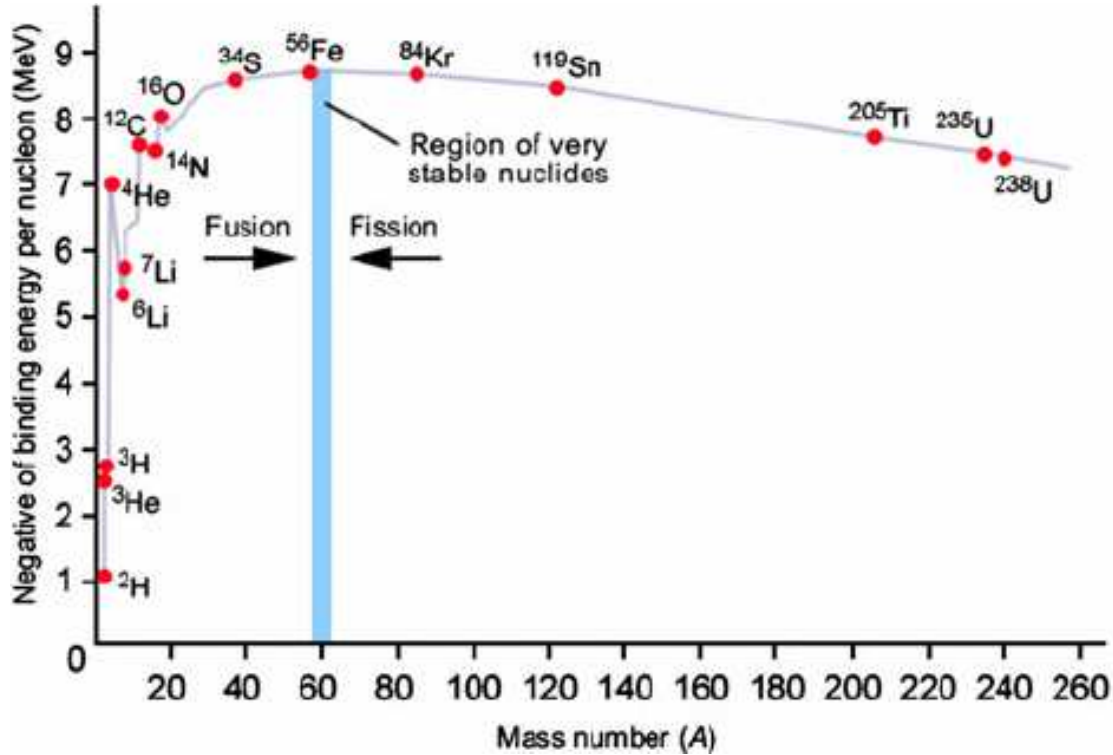
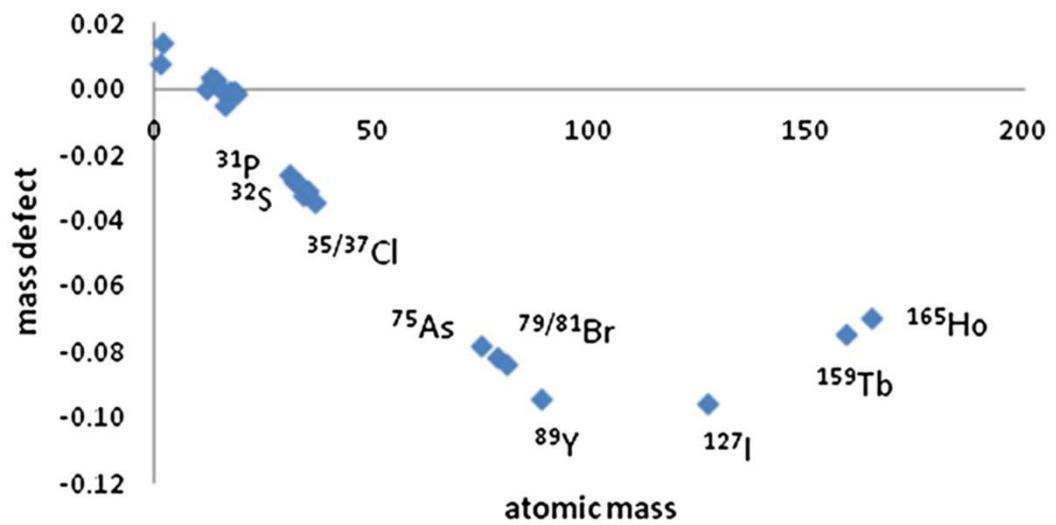
The Nuclei of the Three Isotopes of Hydrogen



Hmotnostní defekt

$$E = \Delta mc^2$$

mass defect vs. atomic mass



<u>element</u>	<u>Isotope</u>	<u>atomic mass (u)</u>	<u>mass defect</u>	<u>% isotopic composition</u>
hydrogen	¹ H	1.00783	0.00783	99.9885
	² H	2.01410	0.01410	0.0115
carbon	¹² C	12.00000	0.00000	98.93
	¹³ C	13.00335	0.00335	1.07
nitrogen	¹⁴ N	14.00307	0.00307	99.632
	¹⁵ N	15.00011	0.00011	0.368
oxygen	¹⁶ O	15.99491	-0.00509	99.757
	¹⁷ O	16.99913	-0.00087	0.038
	¹⁸ O	17.99916	-0.00084	0.205
fluorine	¹⁹ F	18.99840	-0.00160	100
phosphorus	³¹ P	30.97377	-0.02623	100
sulfur	³² S	31.97207	-0.02793	94.93
	³³ S	32.97146	-0.02854	0.76
	³⁴ S	33.96787	-0.03213	4.29
chlorine	³⁵ Cl	34.96885	-0.03115	75.78
	³⁷ Cl	36.96590	-0.03410	24.22
arsenic	⁷⁵ As	74.92160	-0.07840	100
bromine	⁷⁹ Br	78.91834	-0.08166	50.69
	⁸¹ Br	80.91629	-0.08371	49.31
yttrium	⁸⁹ Y	88.90585	-0.09415	100
iodine	¹²⁷ I	126.90447	-0.09553	100
terbium	¹⁵⁹ Tb	158.92534	-0.07466	100
holmium	¹⁶⁵ Ho	164.93032	-0.06968	100

Relativní atomová hmotnost

$$A_r = m_a / m_u$$

kde m_a je klidová hmotnost atomu, m_u je atomová hmotnostní konstanta (1.661×10^{-27} kg).
Číselně je relativní atomová hmotnost rovna molární hmotnosti (g/mol).

Presné hmotnosti některých atomů

Atóm	Relativna hmotnosť	Atóm	Relativna hmotnosť
¹ H	1,007825	²⁹ Si	28,976491
² H	2,014102	³⁰ Si	29,973761
¹² C	12,000000	³¹ P	30,973763
¹³ C	13,003354	³² S	31,972074
¹⁴ N	14,003074	³³ S	32,971460
¹⁵ N	15,000108	³⁴ S	33,967864
¹⁶ O	15,994915	³⁵ Cl	34,968854
¹⁷ O	16,999133	³⁷ Cl	36,965896
¹⁸ O	17,999160	⁷⁹ Br	78,91835
¹⁹ F	18,998405	⁸¹ Br	80,91635
²⁸ Si	27,976927	¹²⁷ I	126,90435

Pro jeden atom přibližně odpovídá nukleonovému číslu, tj. počtu nukleonů v jádře. U prvků v přírodě je dána poměrným zastoupením izotopů prvku.

Relativní molekulová hmotnost je podíl klidové hmotnosti molekuly a atomové hmotnostní konstanty.

$$M_r = M_a / m_u$$

kde M_a je klidová hmotnost molekuly, m_u je atomová hmotnostní konstanta (1.661×10^{-27} kg). Číselně je relativní molekulová hmotnost rovna molární hmotnosti (g/mol).

Relativní molekulová hmotnost se rovná součtu relativních atomových hmotností jednotlivých atomů v molekule. Udává poměr skutečné hmotnosti molekuly k atomové hmotnostní konstantě

<u>Compound</u>	<u>Molecular Formula</u>	<u>Empirical Formula</u>
Butane	C_4H_{10}	C_2H_5
Octane	C_8H_{18}	C_4H_9

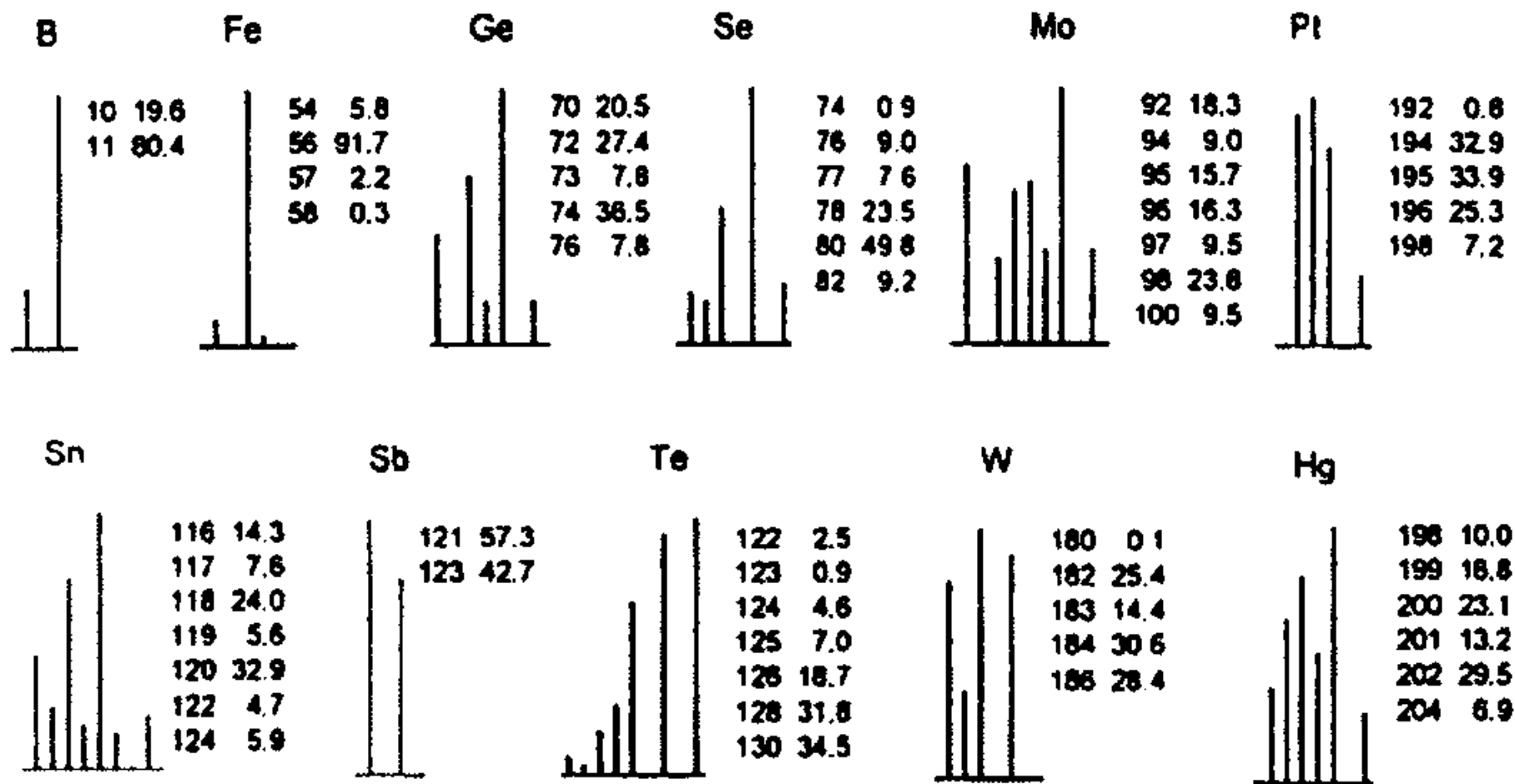
Izotopy v přírodě

TABULKA 3.1.

Přírodní zastoupení izotopů některých běžných prvků.

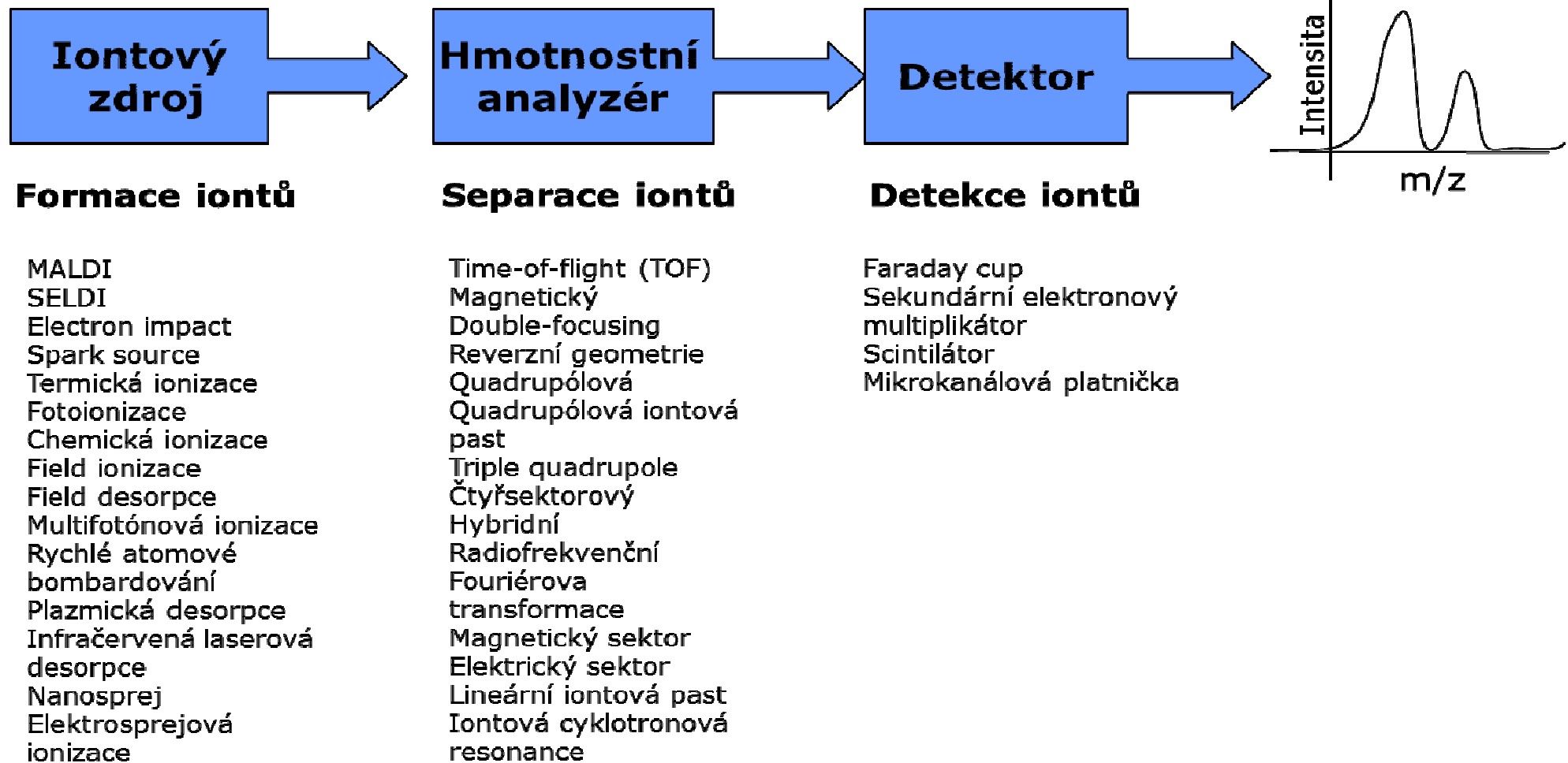
Prvek	Isotop	Zastoupení (%)	Prvek	Isotop	Zastoupení (%)
Vodík	1	99,985	Bor	10	19,6
Vodík	2	0,015	Bor	11	80,4
Uhlík	12	98,89	Dusík	14	99,63
Uhlík	13	1,11	Dusík	15	0,37
Kyslík	16	99,759	Fluor	19	100,000
Kyslík	17	0,037	Sodík	23	100,000
Kyslík	18	0,204	Křemík	28	92,21
Fosfor	31	100,000	Křemík	29	4,70
Chlor	35	75,53	Křemík	30	3,09
Chlor	37	24,47	Síra	32	95,0
Brom	79	50,54	Síra	33	0,76
Brom	81	49,46	Síra	34	4,22
Jod	127	100,000	Síra	36	0,014

Izotopy v přírodě



Obr. 12.11 Relativně zastúpenie niektorých stabilných izotopov v prírode

Hmotnostní spektrometrie

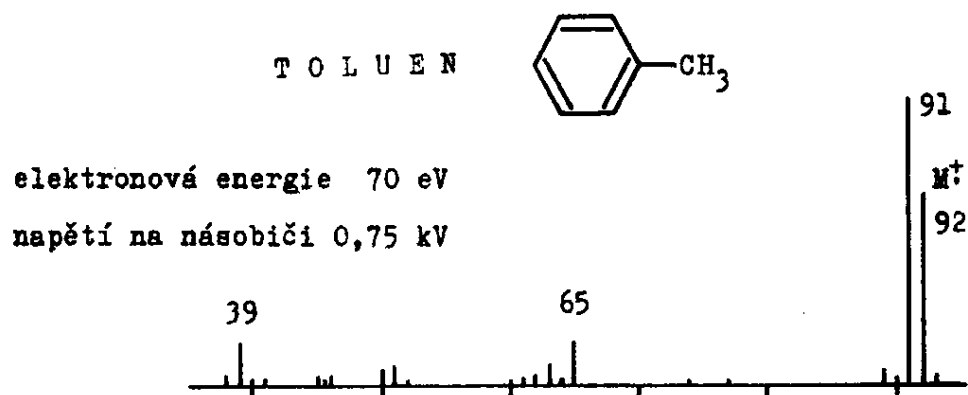


Historický vývoj hmotnostní spektrometrie

- 1898 (Wien) - objev zakřivení dráhy letu urychlených iontů v elektrickém a magnetickém poli
- 1913 (Thomson) - rozdělení izotopů neonu ^{20}Ne a ^{22}Ne pomocí tzv. parabolového spektrografu, považován za zakladatele MS
- 1924 (Thomson, Aston) - charakterizováno izotopické zastoupení 50ti prvků
40. léta 20. stol. - rozšíření MS v oblasti petrolejářského průmyslu, analýza způsobem "otisku palce" bez interpretace spekter
- 1957 (Holmes, Morrell) - první pokus o spojení GC/MS
- 1973 (Baldwin, McLafferty) - první pokus o spojení HPLC/MS
- 1976 (McFadden & kol.) - Moving Belt převodník pro spojení HPLC/MS
- 1966 (Munson, Field) – popis chemické ionizace (1. měkká ionizační technika)
- 1982 (Barber) - vynález ionizace urychlenými atomy (FAB)
- 1984 (Willoughby, Browner) - Particle Beam HPLC/MS spojení
- 1984 (Fenn) – vynález ionizace elektrosprejem (ESI)
- 1989 (Hillenkamp, Karas) - vynález MALDI
- 2002 (Fenn, Tanaka) – Nobelova cena za chemii – vynález měkkých ionizačních technik (elektrosprej a MALDI) pro analýzu biomakromolekul

Hmotnostní spektrum

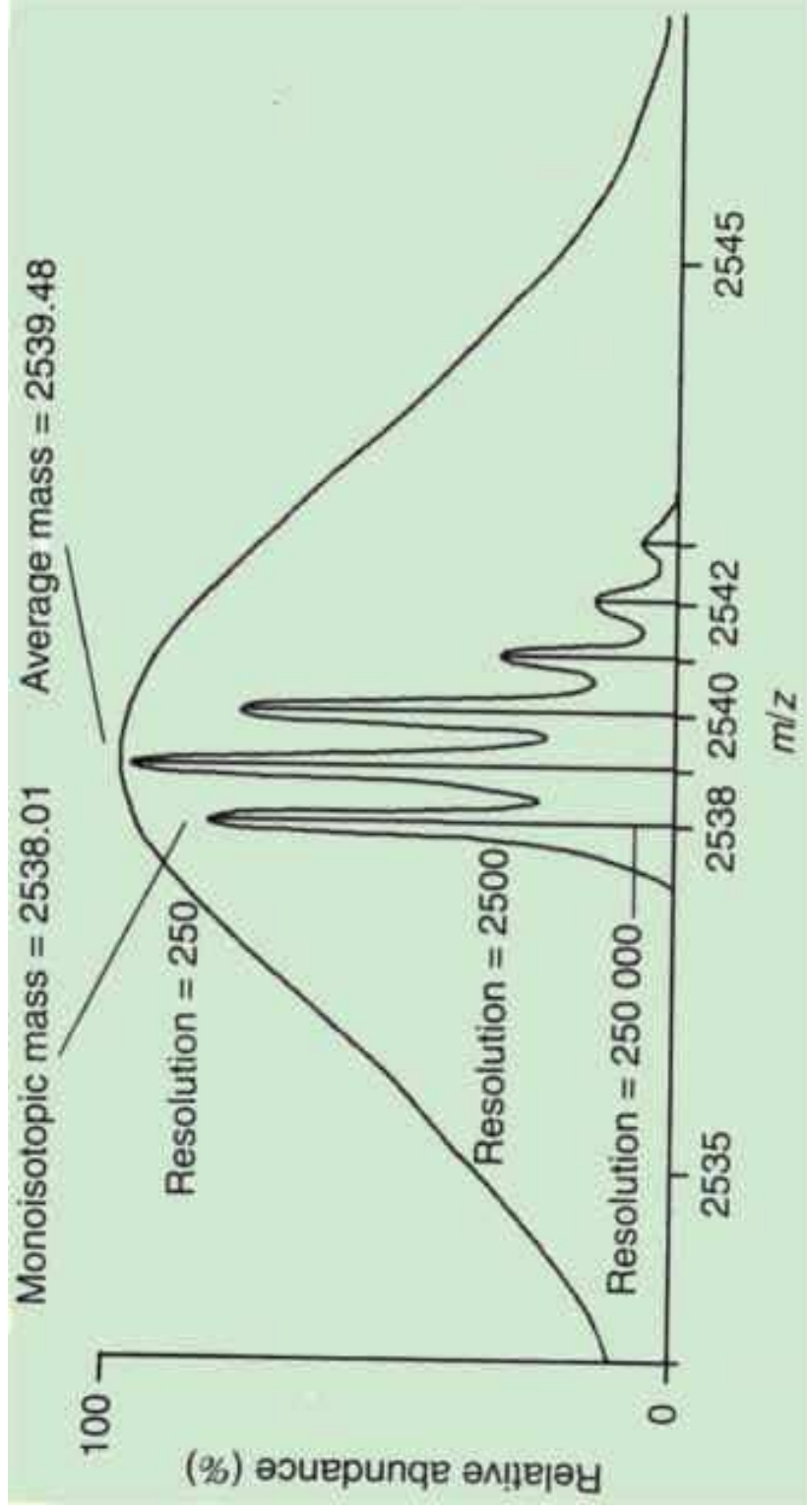
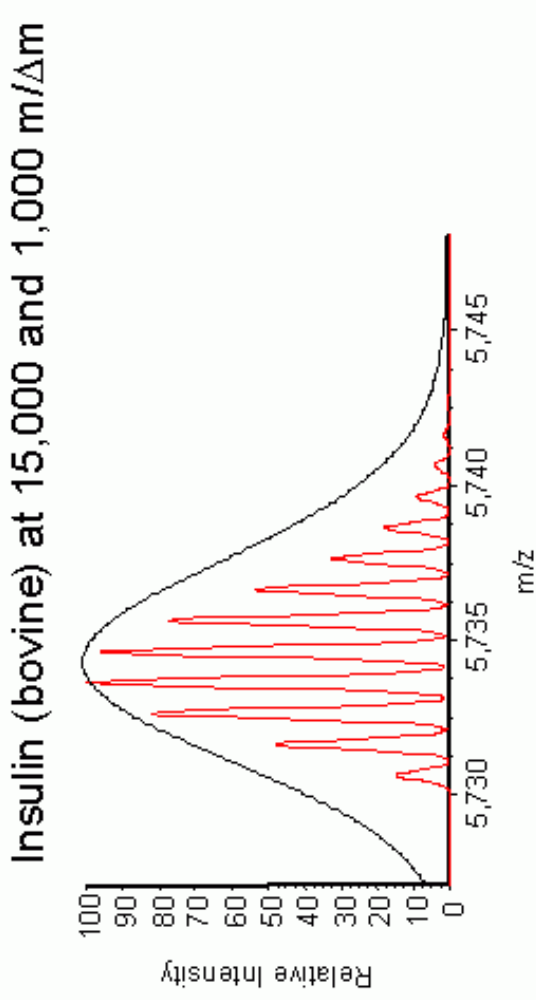
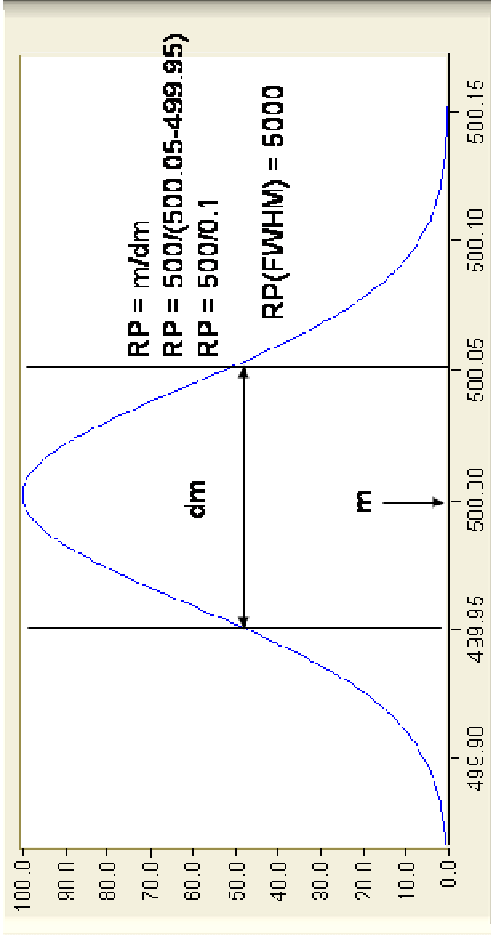
Hmotnostní spektrum = sloupcový diagram, intenzita vs m/z



m/z	39 65 91 92 (M ⁺) 93	m [*] : 46,6; 90
relativní intenzita	18 15 100 74 6,3	

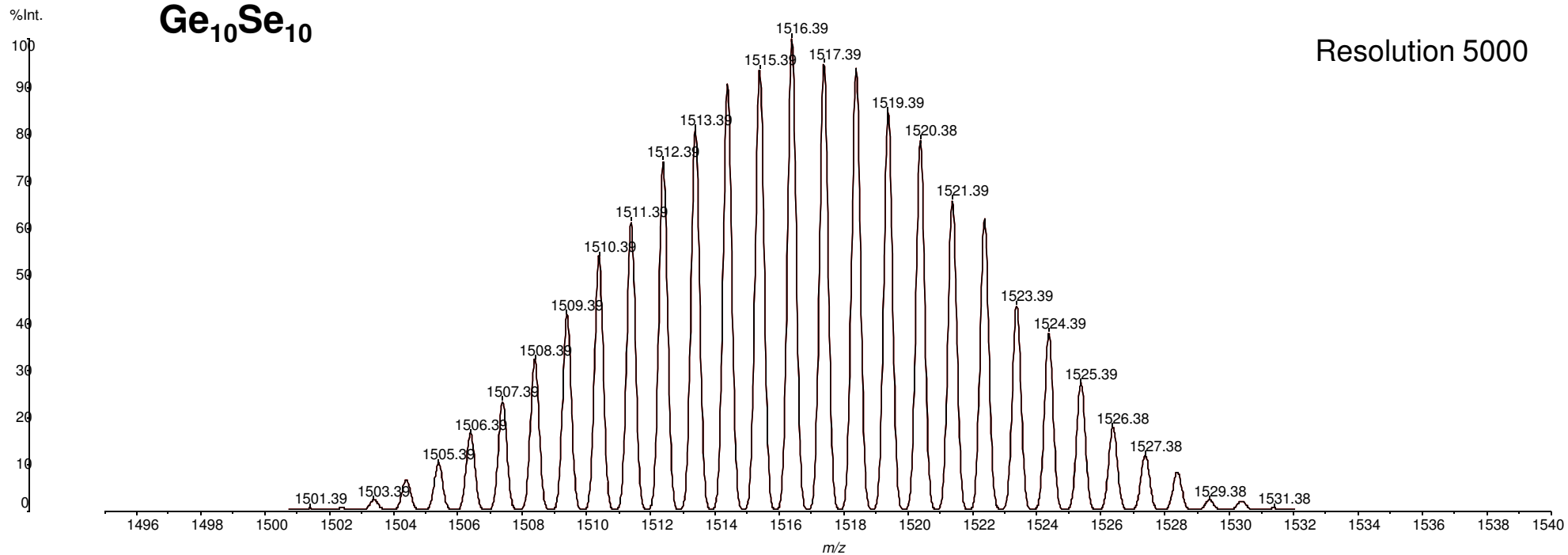
(m^{*} značí píky metastabilních iontů)

Obr. 138: Normalizované hmotnostní spektrum toluenu

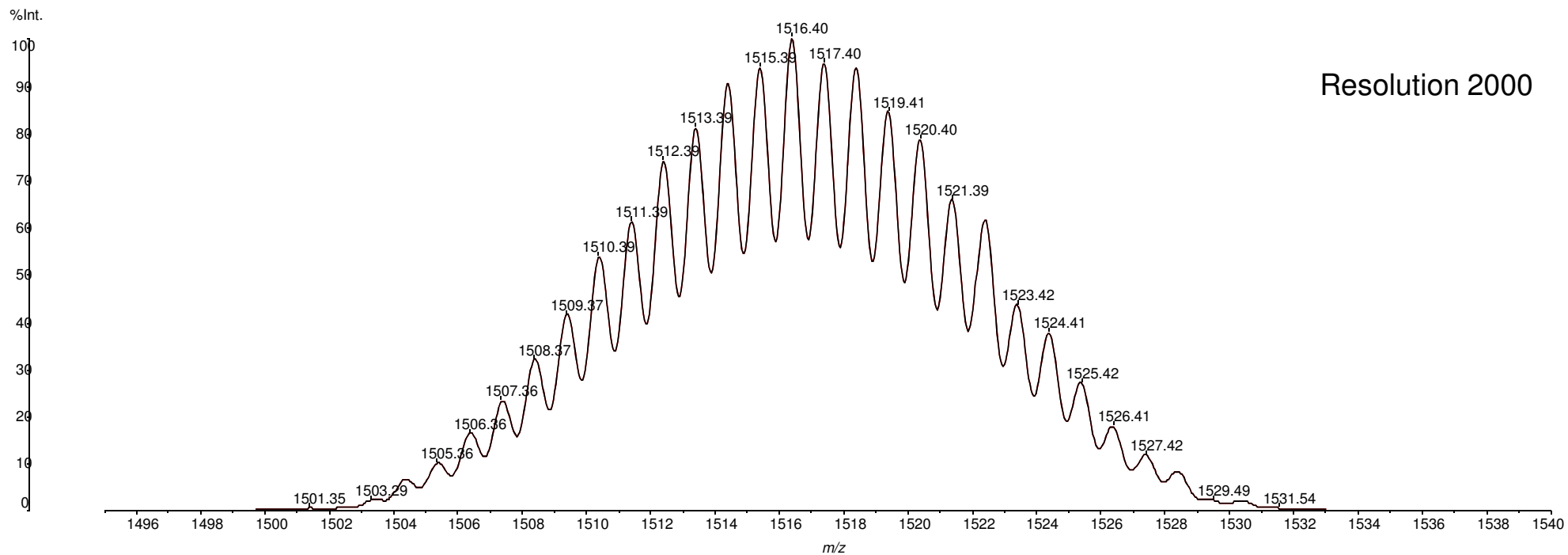


Ge₁₀Se₁₀

Resolution 5000



Resolution 2000



Exaktní hmotnost (exact mass): lze ji získat součtem hmotností jednotlivých izotopů molekuly. Např. exaktní hmotnost vody obsahující dva ^1H a jeden ^{16}O je $1.0078 + 1.0078 + 15.9949 = 18.0105$. Pokud nejsou specifikovány izotopy, vztahuje se k nejrozšířenějším z nich.

Nominální hmotnost (nominal mass): pro prvek hmotnost stabilního izotopu převažujícího v přírodě, pro molekulu je nominální hmotnost sumou nominálních hmotností jednotlivých atomů. Např. uhlík má 2 stabilní izotopy ^{12}C zastoupený v přírodě 98.9% a ^{13}C zastoupený 1.1%. Nominální hmotnost uhlíku je 12.

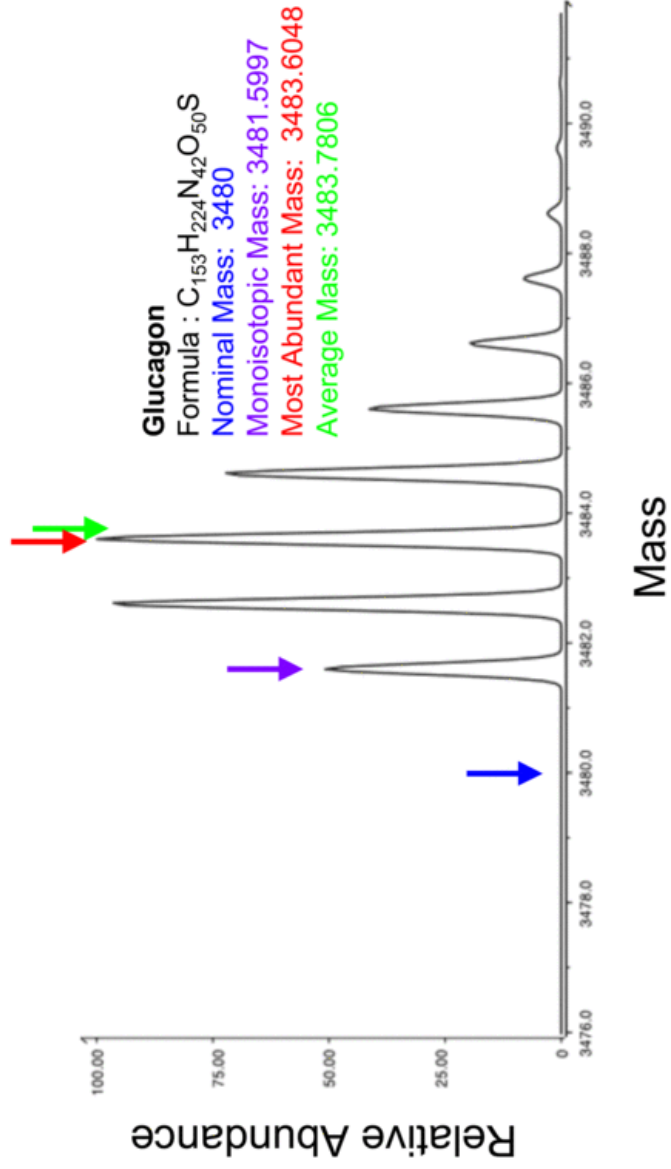
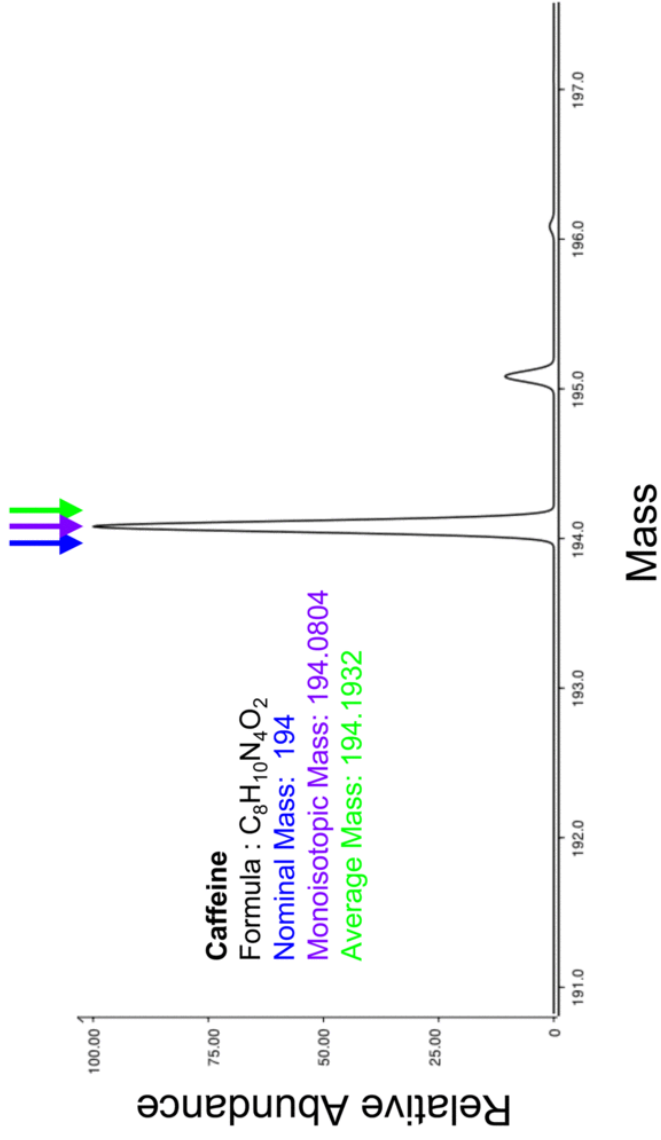
Průměrná hmotnost (average mass): získává se součtem průměrných atomových hmotností jednotlivých prvků. Např. průměrná hmotnost vody H_2O je $1.00794 + 1.00794 + 15.9994 = 18.01528$.

Nejvíce zastoupená hmotnost (most abundant mass): hmotnost molekuly s nejvíc v přírodě zastoupenou distribucí izotopů.

Kendrickova hmotnost (Kendrick mass, F): je definována

$$F = \text{exp. změřená hmotnost} \times \text{nominální hmotnost} / \text{exaktní hmotnost}$$

(podle Kendrickova postupu je hmotnost CH_2 14.000 Da namísto 14.01565 Da)



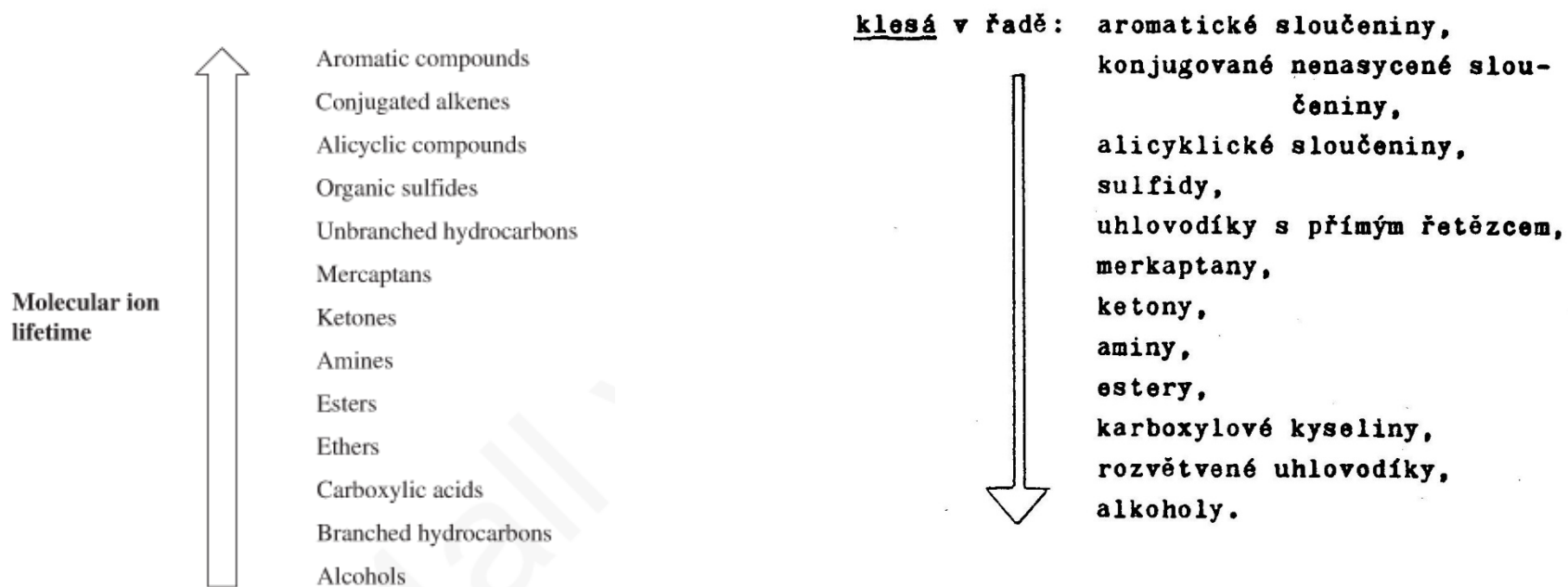
Tabulka 1: Relativní hmotnosti různých atomů a molekul měřené při nízkém a vysokém rozlišení hmotnostního spektrometru.

Vzorec	nízké rozlišení	vysoké rozlišení
^1H	1	1,0078
^{12}C	12	12,0000
^{16}O	16	15,9949
$\text{C}_{20}\text{H}_{12}$	252	252,0936
$\text{C}_{39}\text{H}_{24}$	252	252,1872
$\text{C}_{18}\text{H}_{36}$	252	252,2808
$\text{C}_{37}\text{H}_{32}\text{O}$	252	252,2445
$\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_2$	252	252,2082

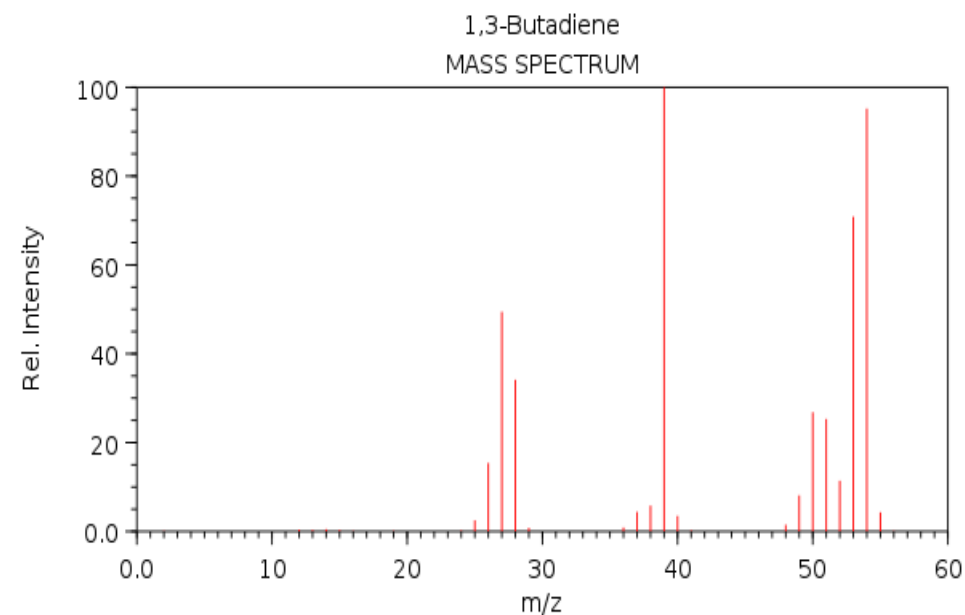
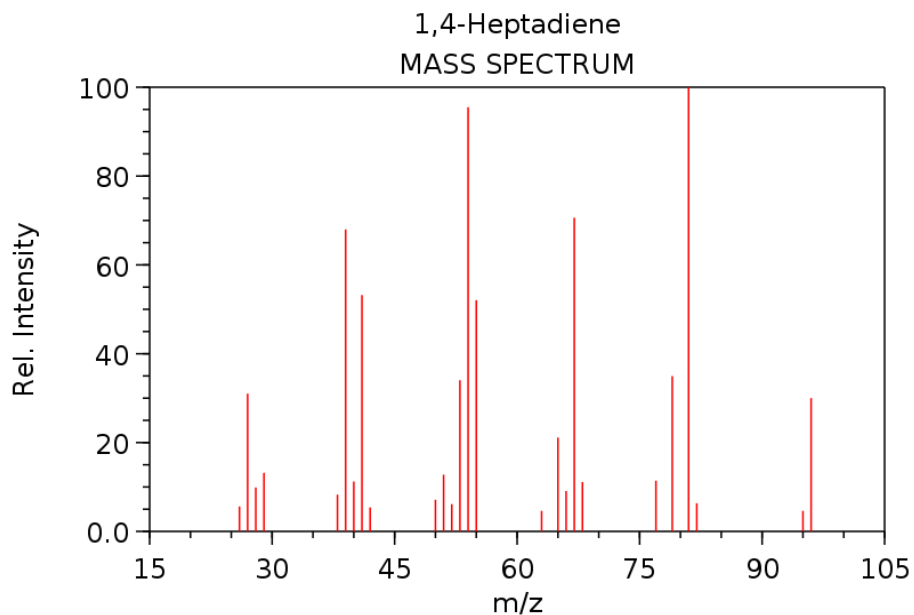
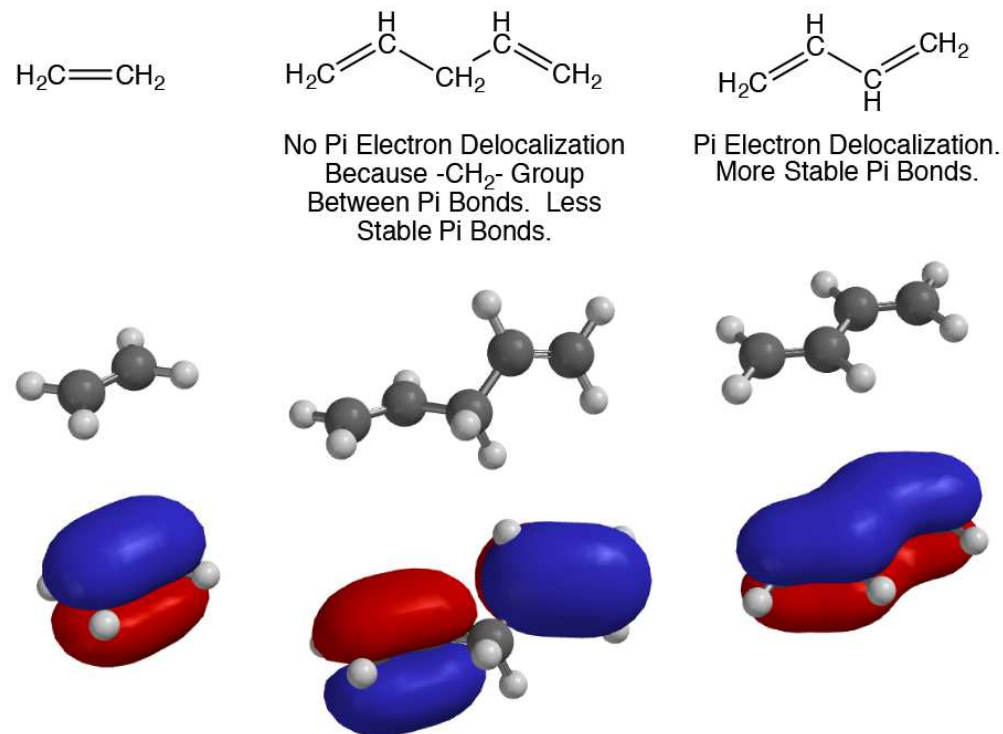
Element	Nuclide	Nominal Mass	Exact Mass	Mass Defect
Hydrogen	H	1	1.0078	0.0078
Carbon	^{12}C	12	12.0000	0.0000
Nitrogen	^{14}N	14	14.0031	0.0031
Oxygen	^{16}O	16	15.9949	-0.0051
Fluorine	^{19}F	19	18.9984	-0.0016
Sulfur	^{32}S	32	31.9721	-0.0279
Chlorine	^{35}Cl	35	34.9689	-0.0311

Stabilita molekulového píku

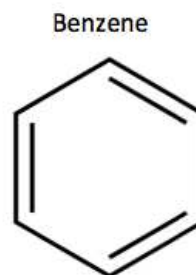
Molekulový ion je stabilizován rezonancí (viz. PAHs)



Ionty jsou stabilizovány konjugací násobných vazeb



Stabilita aromatických iontů



Since benzene has 6 pi electrons:

$$4n + 2 = 6$$

Find n:

$$4n + 2 = 6$$

$$4n = 6 - 2$$

$$4n = 4$$

$$n = 1$$

An aromatic compound follows Huckel's rule if n is equal to zero or a positive whole number.

Benzene is aromatic

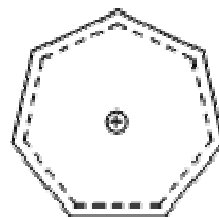
Hückelovo pravidlo

(E. Hückel, 1896)

Pravidlo, které konstatuje, že planární monocyklický systém mající $(4n + 2)$ elektronů π_p delokalizovaných na všech uhlíkových atomech kruhu, kde n je jakékoliv celé číslo (0, 1, 2, 3...), má neobvyklou termodynamickou stabilitu; znamená to, že je aromatický



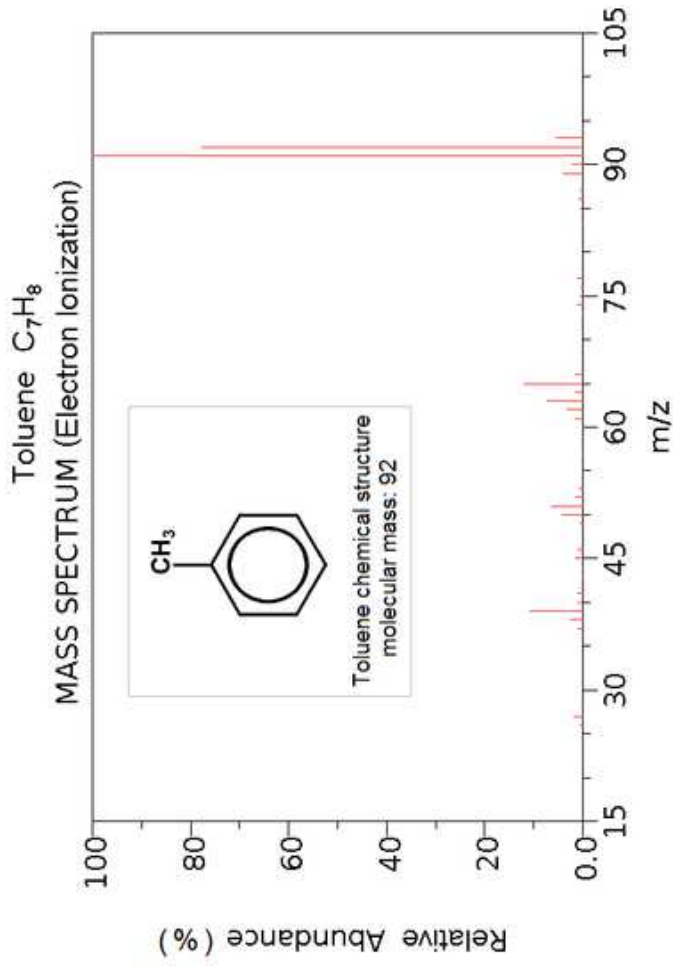
Cyclopropenyl cation



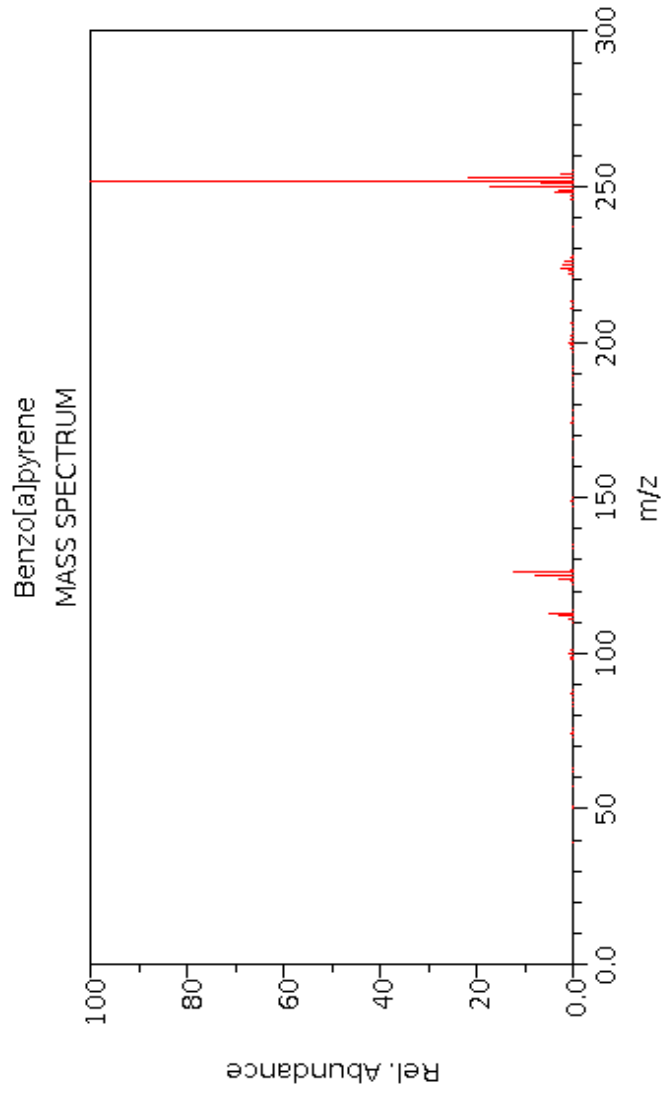
Tropylium cation



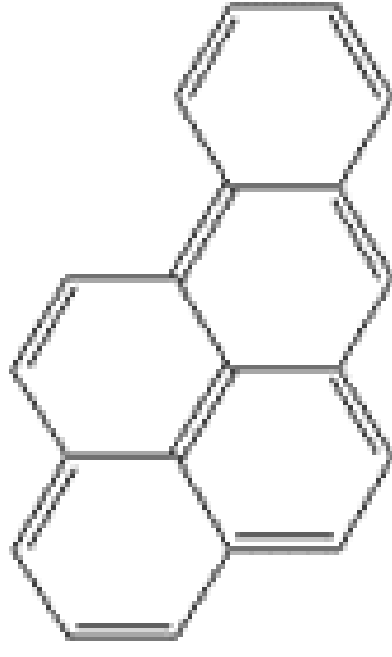
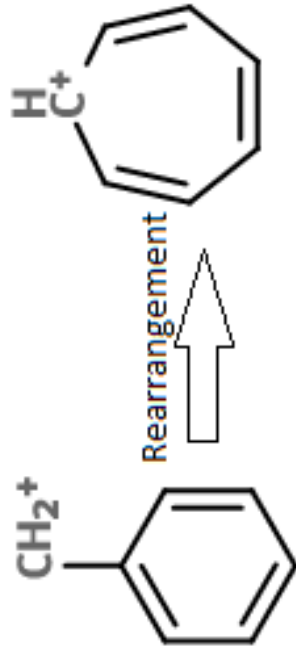
Cyclobutadiene dication

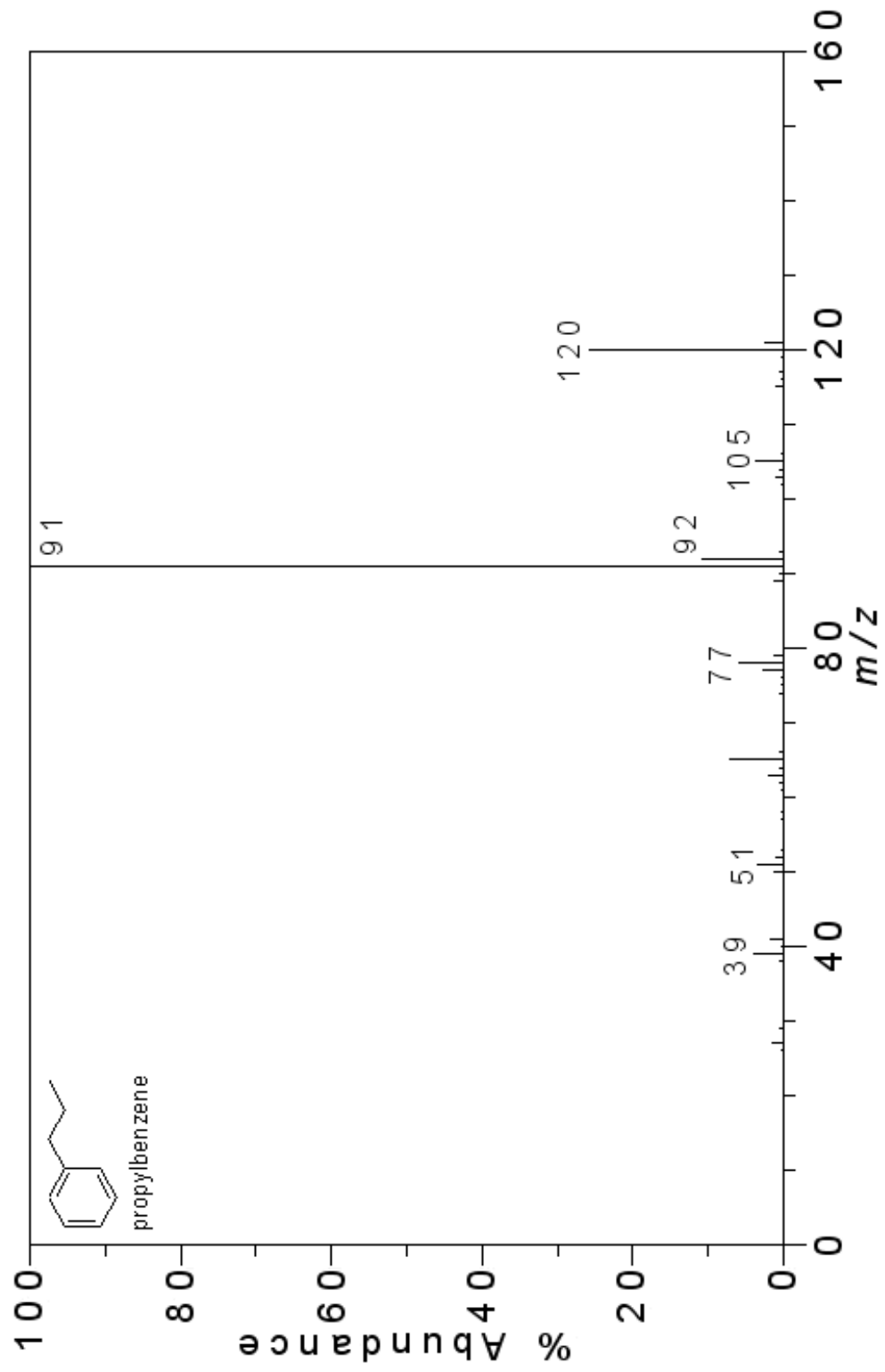
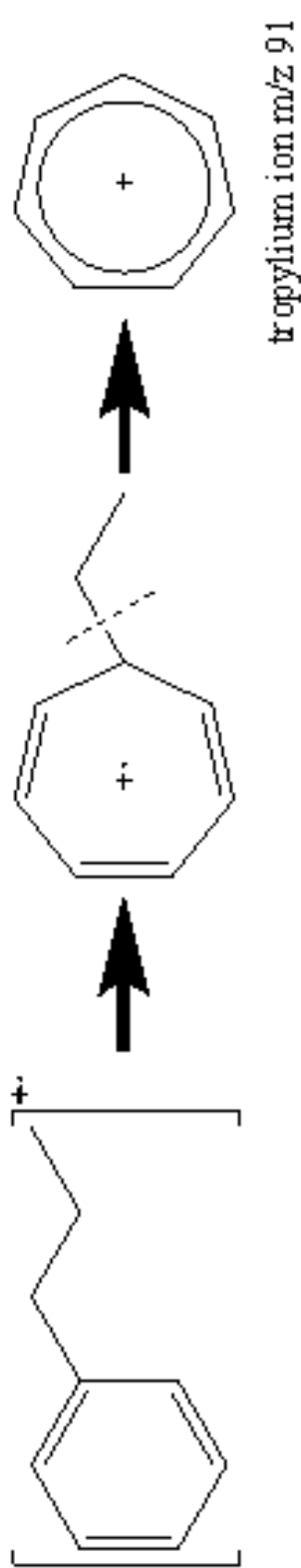


NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)



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





Dusíkové pravidlo

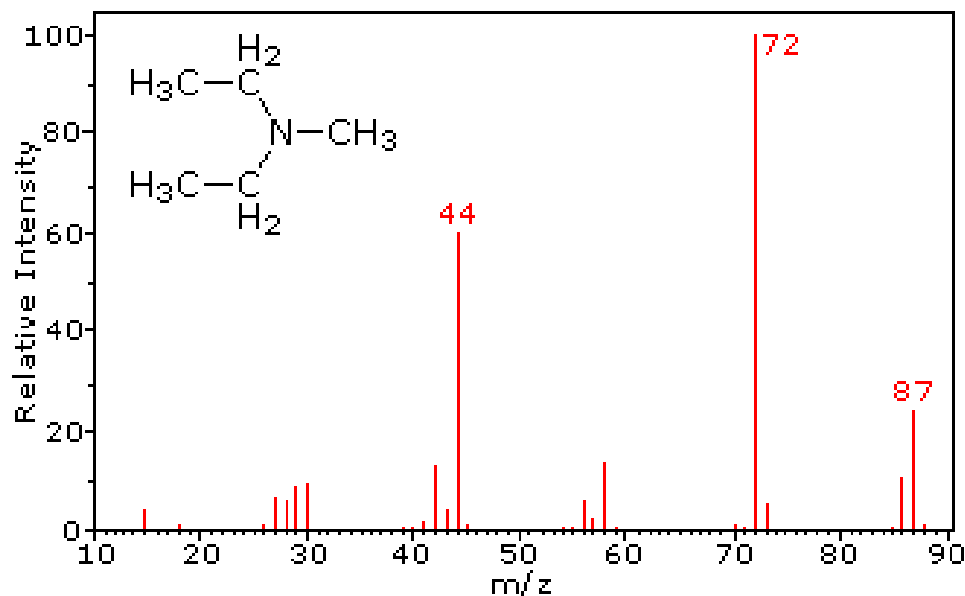
lichý počet dusíků v molekule => lichá molekulová hmotnost

Platí pro molekuly běžných prvků (C, H, N, O, F, Si, P, S, Cl, Br, I).

Dusík je jediný z těchto prvků který má sudé atomové číslo a lichou vaznost.

Vhodné pouze pro spektrometry s nízkým rozlišením.

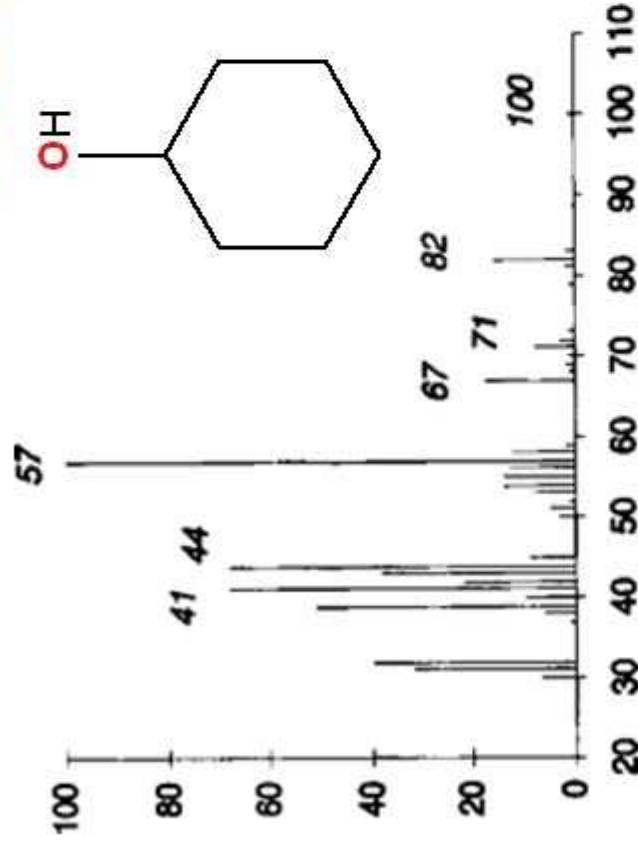
Nevhodné pro $M > 500$ Da v důsledku akumulace ne-nominálních příspěvků



H ₂ O,	<i>m/z</i> 18;
CH ₄ ,	<i>m/z</i> 16;
C ₂ H ₂ ,	<i>m/z</i> 26;
CH ₃ OH,	<i>m/z</i> 32;
CClF ₃ ,	<i>m/z</i> 104;
C ₆ H ₅ OH,	<i>m/z</i> 94;
C ₁₇ H ₃₅ COOH,	<i>m/z</i> 284;
cholesterol, C ₂₇ H ₄₆ O,	<i>m/z</i> 386;
H ₂ NNH ₂ ,	<i>m/z</i> 32; and
aminopyridine, C ₅ H ₆ N ₂ ,	<i>m/z</i> 94.

NH ₃ ,	<i>m/z</i> 17;
C ₂ H ₅ NH ₂ ,	<i>m/z</i> 45; and
quinoline, C ₉ H ₇ N,	<i>m/z</i> 129.

Nitrogen rule



Molecular ion \Rightarrow 100

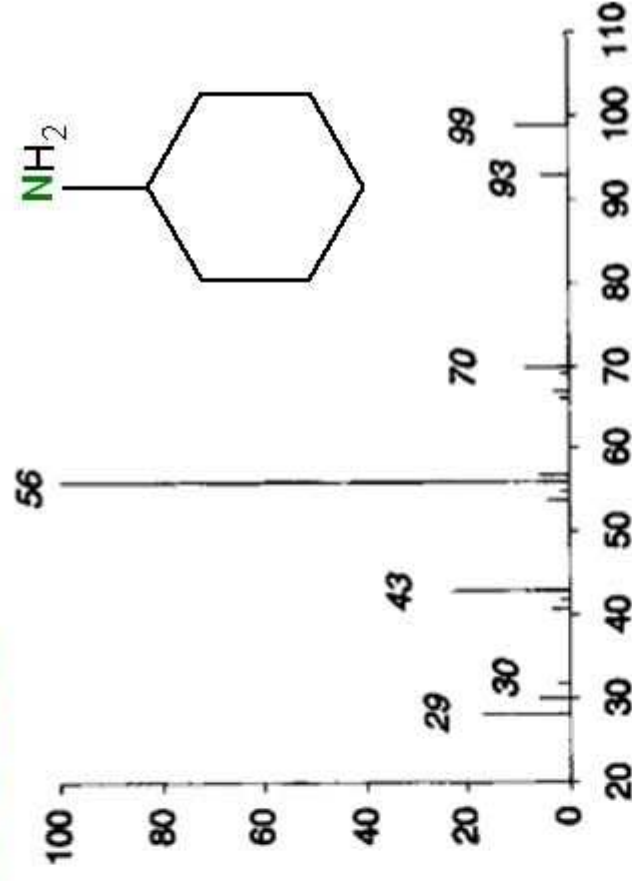
$100 / 13 = \# \text{ carbons} = 7$

Mass = $12 * 7 = 84$ therefore **H = 16**

Basic formula $C_7 H_{16}$

1 Oxygen: $C_7 H_{16} - CH_4 + O$

$C_6 H_{12} O$



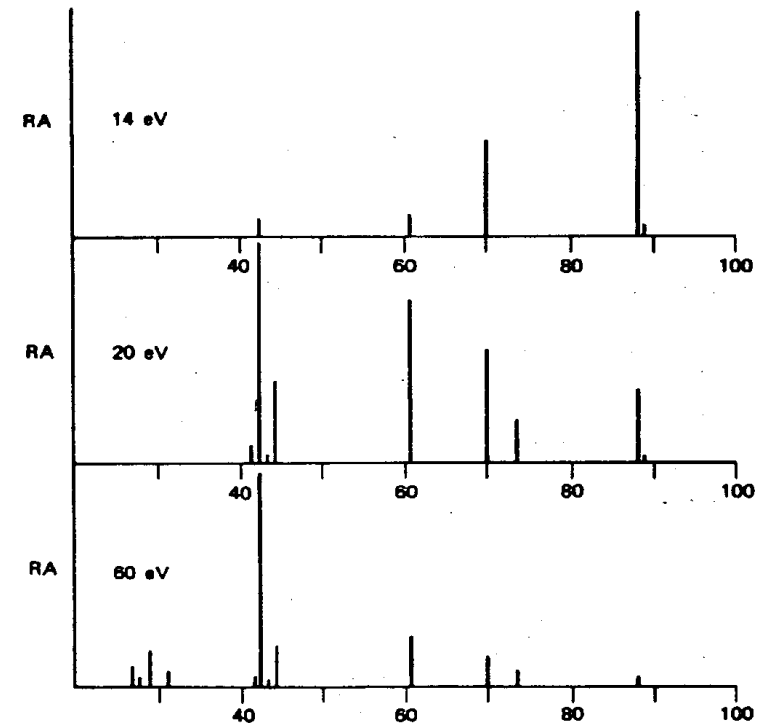
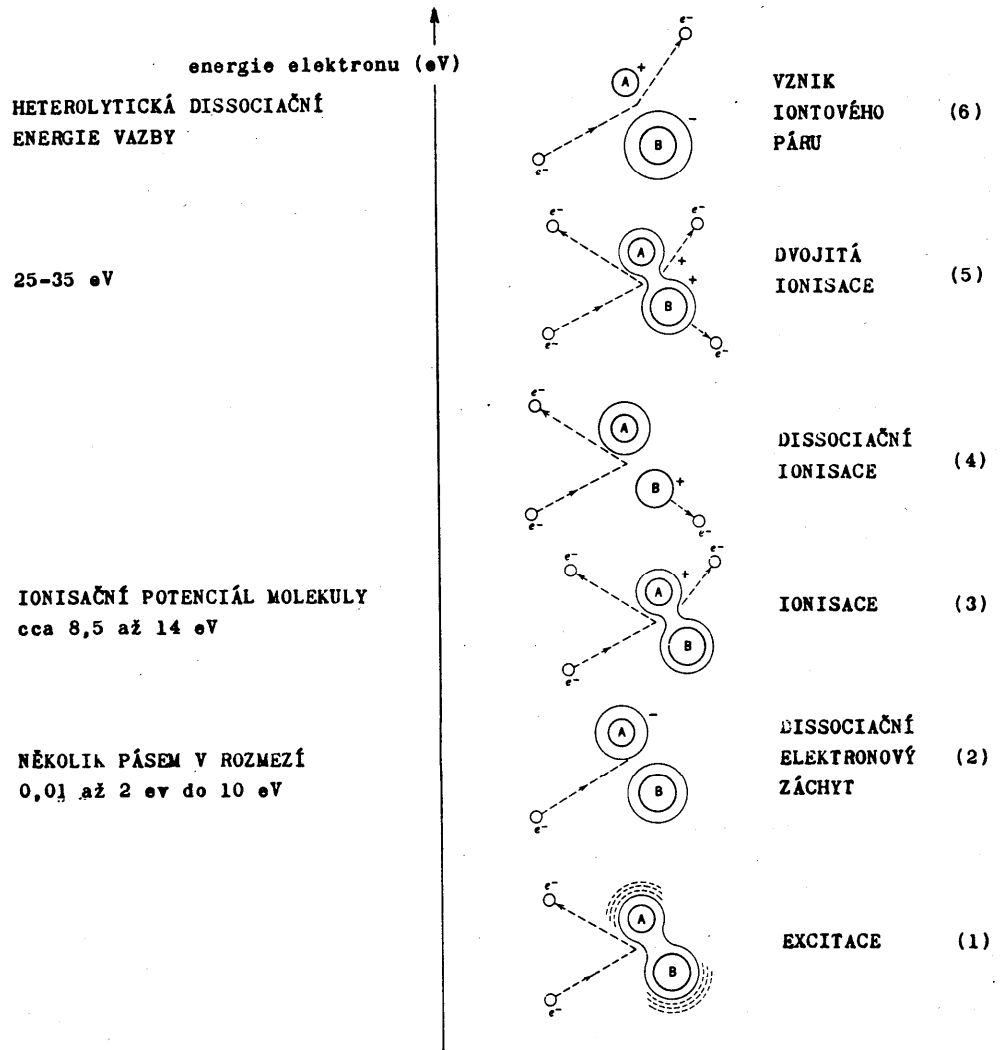
Molecular ion \Rightarrow 99 odd!

Basic formula $C_7 H_{16}$

1 Nitrogen: $C_7 H_{16} - CH_2 + N$

$C_6 H_{14} N$

Změny energie ionizace



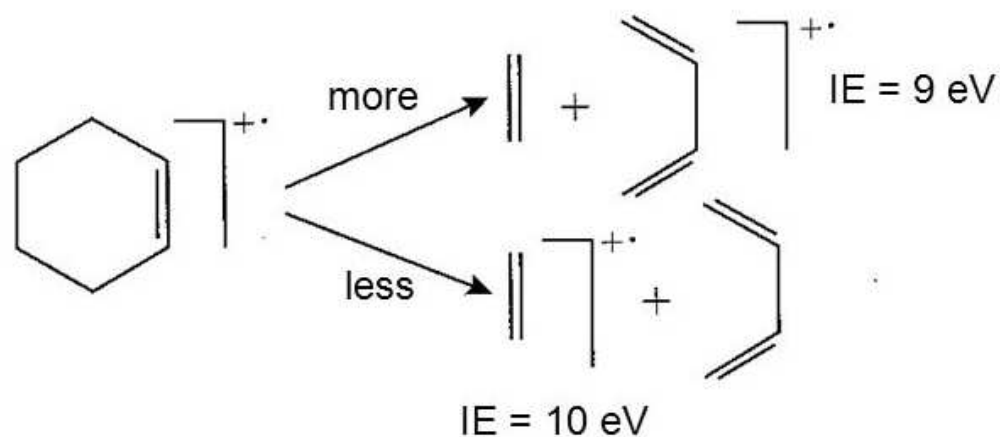
Hmotnostní spektrum ethylacetátu jako funkce energie elektronů použitých k ionisaci. Shora 14 eV, 20 eV a 60 eV. RA značí relativní intenzity iontů, jejichž hmotnosti jsou vyneseny na ose x.

Obrázek 2.1.
Neelastické kolize elektronu s biatomickou molekulou

Stevensonovo pravidlo

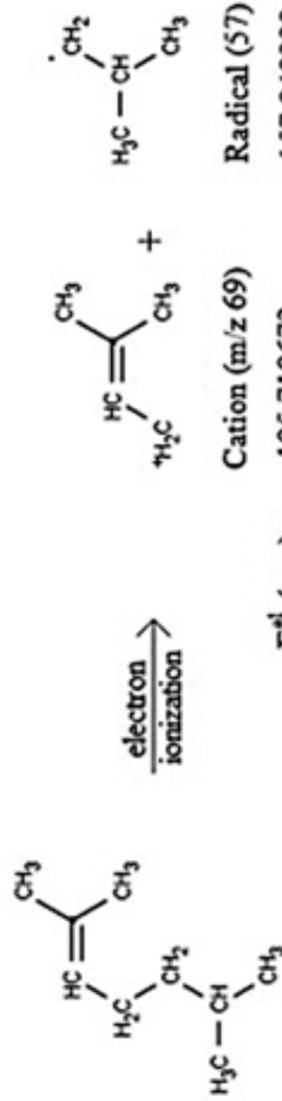
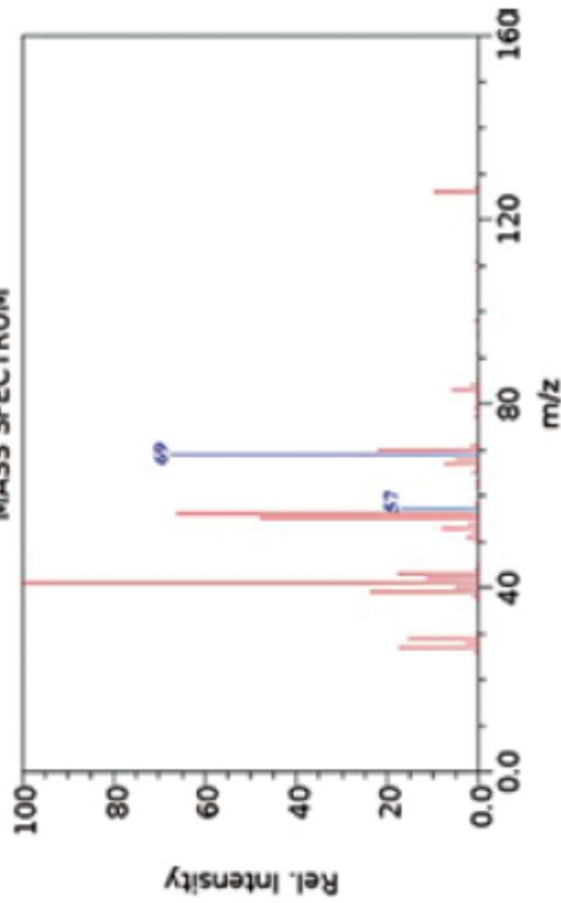
Dochází-li k fragmentaci, zůstává kladný náboj na fragmentu s nejnižší ionizační energií.

Stevenson's Rule for retro Diels-Alder and elimination reactions



- product ion enthalpy governs the dissociation pathway
- the fragment with the lowest ionization energy will preferentially take the charge
- the difference in activation energy equals the difference in IE (ionization energy)

2-Heptene, 2,6-dimethyl-
MASS SPECTRUM

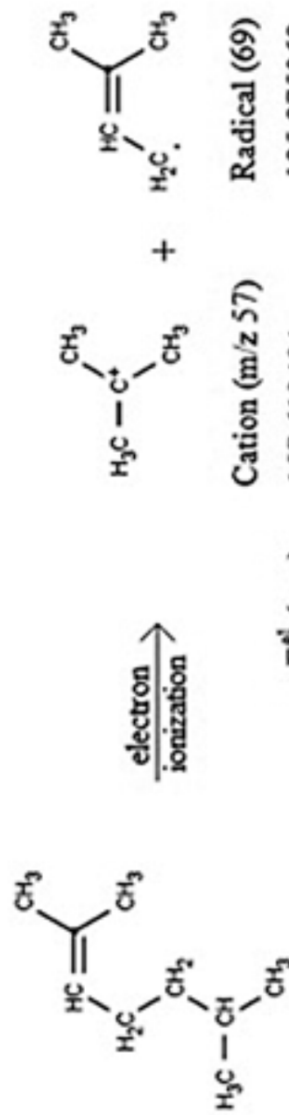


E^{el} (a.u.): -195.718672

ZPE (kJ/mol): 324.2

-157.848329

304.7



E^{el} (a.u.): -157.612484

ZPE (kJ/mol): 304.5

-195.975068

320.5

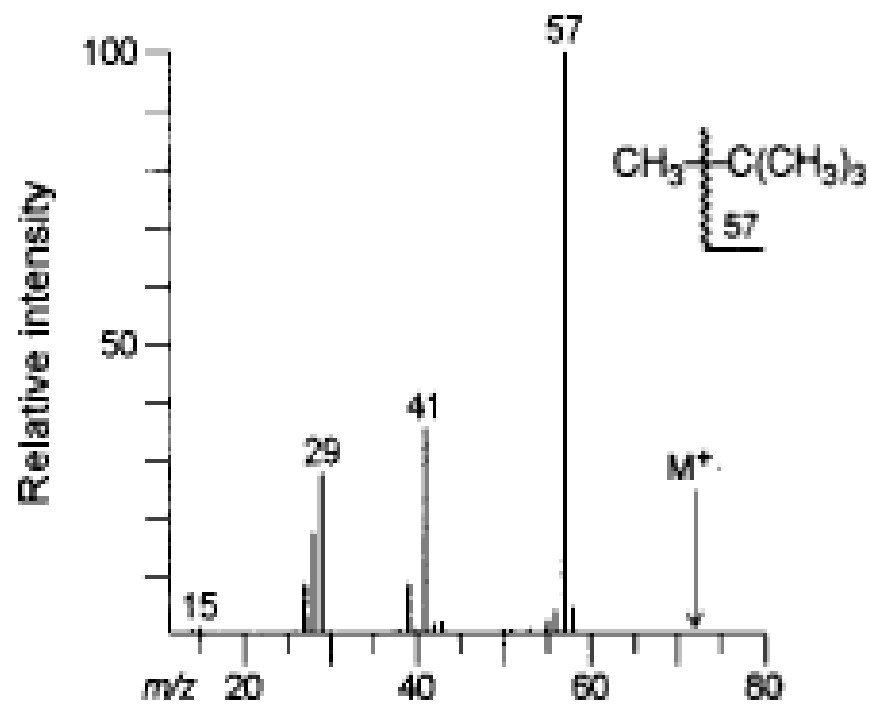
Hauptfragmentierungsreaktionen (EI-MS)

Typ	Beschreibung	Ausgangs-Ion	Wiederholung des gleichen Reaktionstyps	Beispiel
α -Spaltung	Spaltung der α -Bindung zu einem Heteroatom (N, O, S, seltener Halogen) in offenkettigen Systemen (unter Radikalverlust) oder in Ringen. In letzteren entstehen zunächst isomere $M^{+\bullet}$, die durch H-Verschiebungen (bevorzugt via 6-gliedrige Ringe) und Radikalabbruchreaktionen zur Bildung von Fragmentationen führen	Molekülion	nein	
McLafferty-Umlagerung	Voraussetzung: Ein zu einer Doppelbindung γ -ständiges H-Atom (Das an der Doppelbindung haftende ist das α -Atom) Reaktionsverlauf: Das H-Atom wird über einen 6-gliedrigen Ring an das andere Atom der Doppelbindung verschoben. Die Atomarten im 6-gliedrigen Übergangszustand sind beliebig	Molekül- und Fragmention	ja	
retro-Diels-Alder-Reaktion	Voraussetzung: 6-gliedriger alicyclischer oder heterocyclischer Ring mit mindestens einer Doppelbindung Reaktionsverlauf: Es tritt eine Entcyclisierungsreaktion zu En- und Dien-Komponenten ein. Beide Teile können Ladungsträger sein	Molekül- und Fragmention	ja	

Typ	Beschreibung	Ausgangs-Ion	Wiederholung des Reaktions-typs	Beispiel
CO-Verlust	<i>Voraussetzung:</i> Cyclische Carbonylverbindungen (Ketone, Chinone), Ketoformen von cyclischen Enolen, Phenolen; Metallcarbonyle; carbonylhaltigen Fragmenten (aus α -Spaltung)	Molekül- und Fragmention	ja	
Benzyl- oder Allylsplattung	<i>Reaktionsverlauf:</i> Spaltung einer Benzyl- oder Allylbinding (bzw. auch Dreifachbindung)	wie α -Spaltung	nein	
Onium-Reaktion	<i>Reaktionsverlauf:</i> Ein Alkylsubstituent (außer Methyl), der an einem die Ladung tragenden Heteroatom wie N (Immonium), O (Oxonium) etc. haftet, wird unter Transfer eines H-Atoms des Alkylsubstituenten an das Heteroatom abgespalten	Fragmention	ja	

Relativní důležitost píků

Nedostatek významných sudých iontů, především pro nízká m/z , indikuje sudou molekulovou hmotnost.



$M = 72.15 \text{ g/mol}$

Figure 3.1. Mass spectrum of neopentane.

Cykly a násobné vazby

Ekvivalent dvojné vazby (DBE, RDBE)

$$\text{RDBE} = C + H/2 + N/2 + 1$$

$$\text{RDBE} = C + Si - 1/2(H + F + Cl + Br + I) + 1/2(N + P) + 1$$

Index nenasycenosti (nedostatek vodíku), i

Číslo, jehož hodnota označuje počet kruhů a (nebo) dvojných vazeb (trojná vazba se počítá jako dvě dvojné vazby) přítomných v molekule známého molekulového vzorce. Vypočítá se podle vztahu

$$i = \frac{(2n_C + 2) - n_H}{2}$$

kde n_C a n_H je počet atomů uhlíku, resp. vodíku v molekule.

„Lewisovo“ oktetové pravidlo (pravidlo $6N + 2$)

počet ne-vodíkových atomů = N

počet elektronů v sigma vazbách = $2(N - 1)$

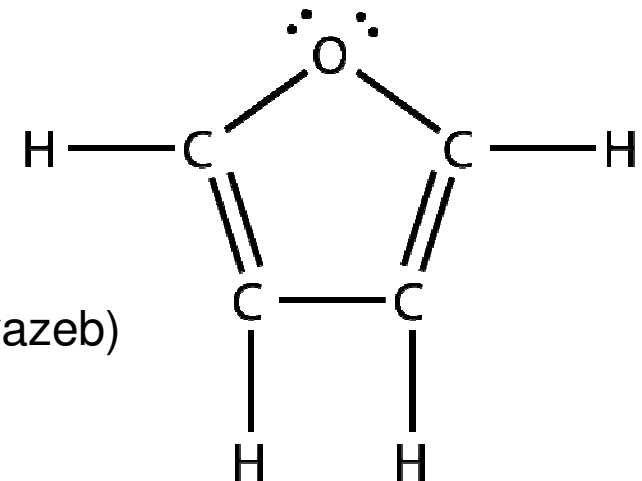
počet valenčních elektronů = $V = \sum \text{číslo skupiny atomu} - \text{náboj}$

počet valenčních elektronů v jednoduchých vazbách necyklické Lewisovy oktetové struktury = $A = 8N - 2(N - 1) = 6N + 2$

$$A = 6 \times 5 + 2 = 32$$

$$V = 4 \times 4 + 6 \times 1 + 1 \times 4 - 0 = 26$$

$$EB = (A - V)/2 = (32 - 26)/2 = 3 \text{ (počet cyklů a dvojných vazeb)}$$



furan
 C_4H_4O
 $M = 68.07 \text{ g/mol}$

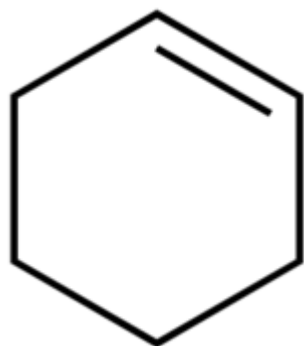
Pravidlo 13-ti



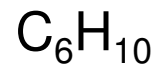
$$M/13 = n + r/13$$

$$u = (n - r + 2)/2$$

u = stupeň nenasycenosti
(cykly + dvojn  vazby)



cyklohexen



M = 82.143 g/mol

$$82/13 = 6.3077 = 6 + 0.3077$$

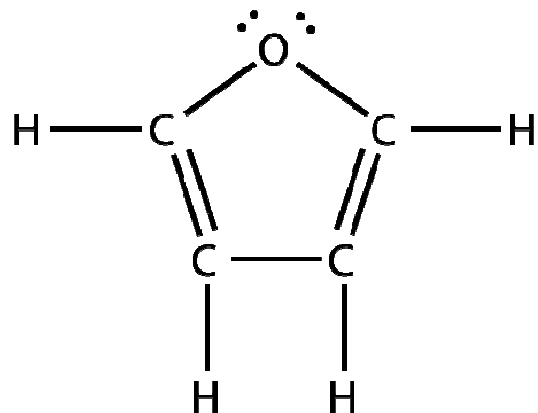
$$n = 6$$

$$r = 0.3077 \times 13 = 4$$

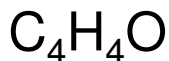
$$u = (6 - 4 + 2)/2 = \underline{2}$$

Pravidlo 13-ti

$$M/13 = n + r/13$$

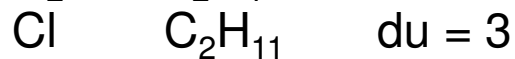
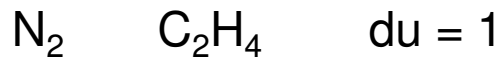
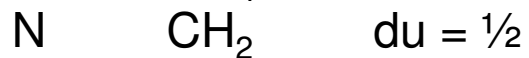


furan



$$M = 68.07 \text{ g/mol}$$

U derivátů uhlovodíků se heteroatomy nahrazují uhlovodíkovými ekvivalenty:



$$u = (n - r + 2)/2$$

u = stupeň nenasycenosti
(cykly + dvojně vazby)

$$68/13 = 5.231 = 5 + 0.231$$

$$n = 5$$

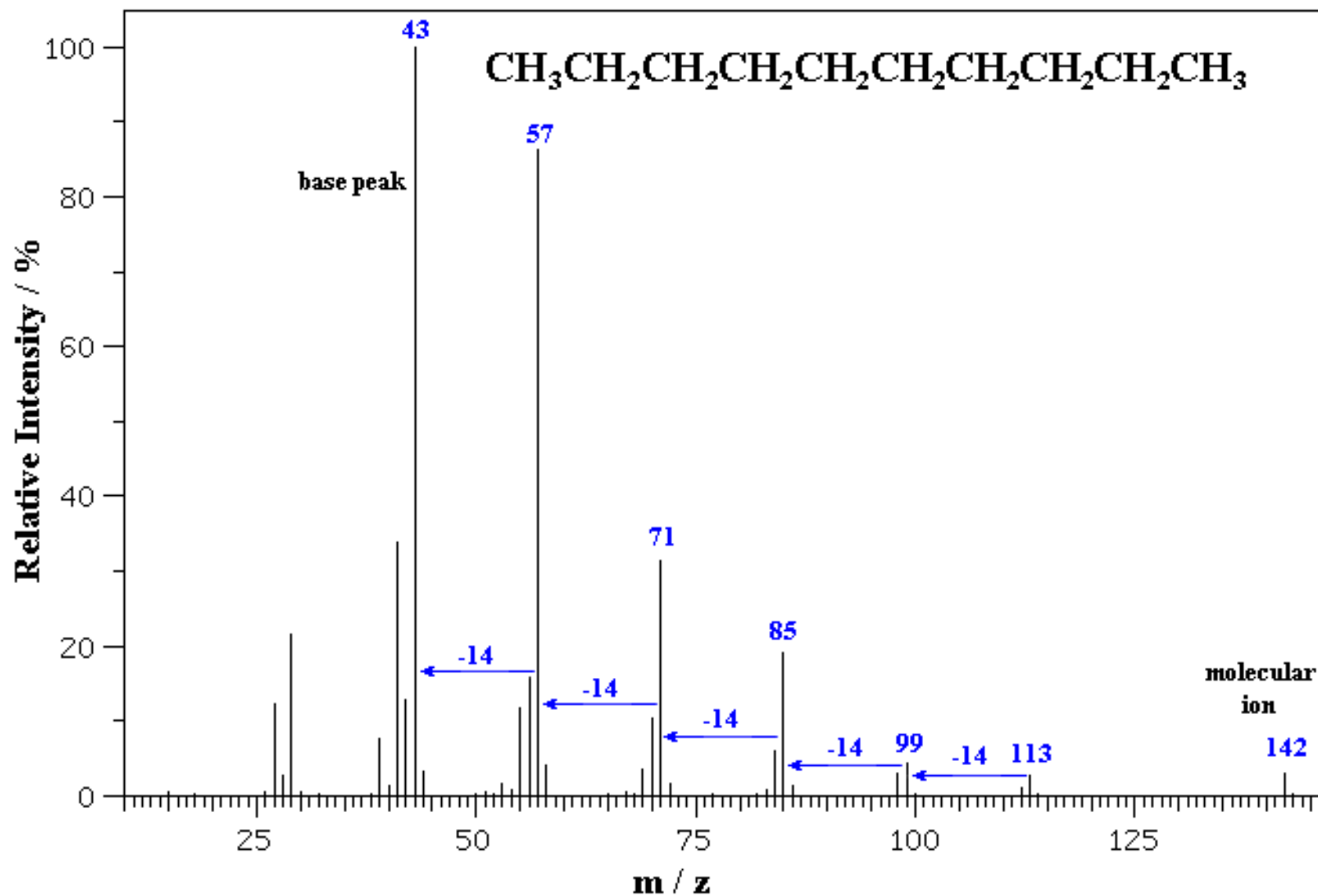
$$r = 0.231 \times 13 = 3$$



$$ue = (5 - 3 + 2)/2 = 2$$

$$u = ue + de = ue + 1 = \underline{3}$$

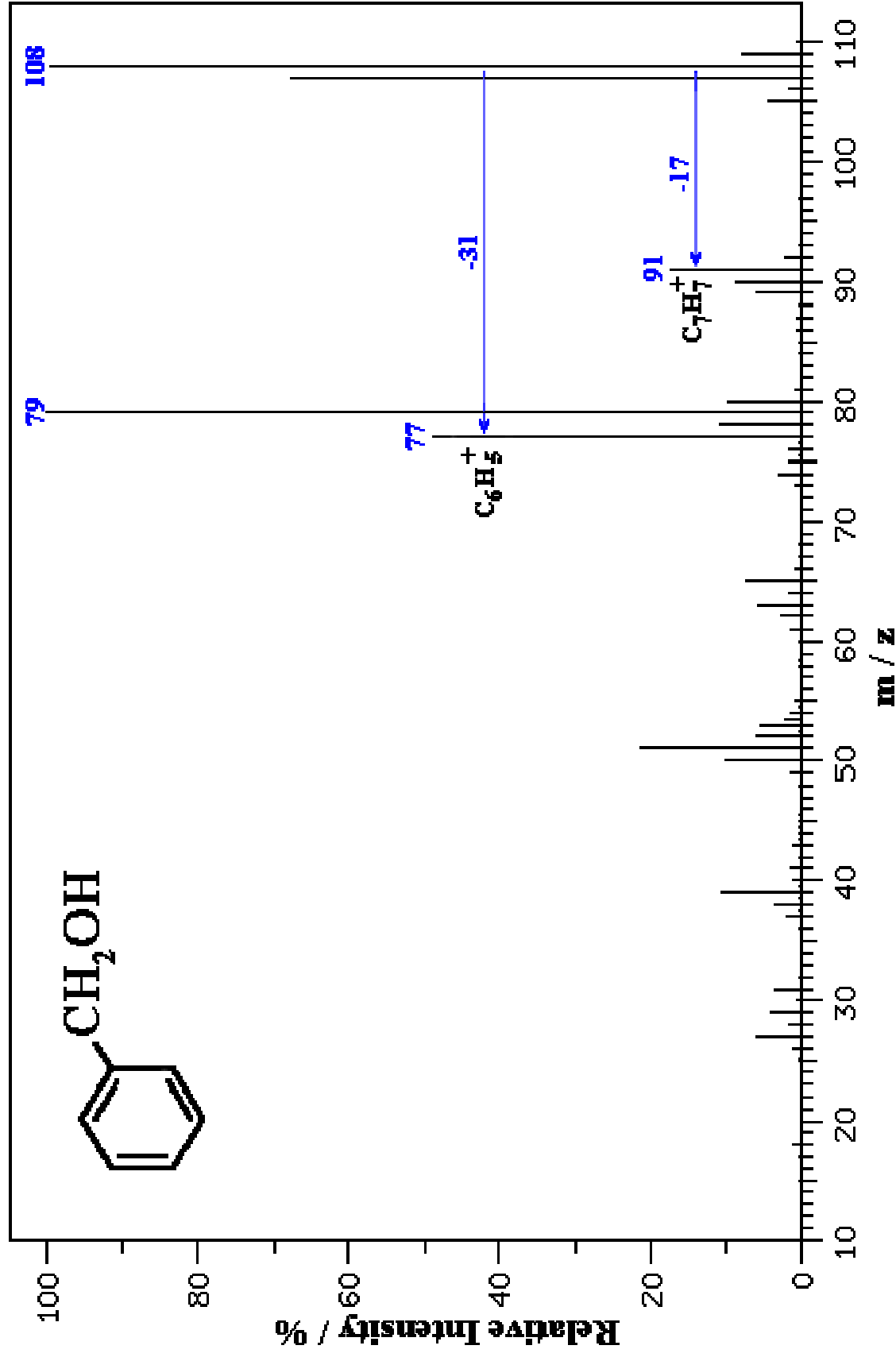
Fragmentové ionty



Prehľad najdôležitejších fragmentových iónov

<i>m/z</i>	Ión	Štruktúrny typ	<i>m/z</i>	Ión	Štruktúrny typ
30	NO ⁺	R-NO ₂ R-ONO ₂ R-ONO	58	[CH ₂ =C(OH)-CH ₃] ⁺	R-CO-R
30	H ₂ C=NH ₂ ⁺	R-NH ₂	58	[CH ₃ CH=CH-OH] ⁺	R-COH
31	H ₂ C=OH ⁺	R-OH, R-O-R	58	[C ₃ H ₆ N] ⁺	R-NH ₂
33	HS ⁺	R-SH, R-S-R	59	[C ₃ H ₇ O] ⁺	R-OH, R-O-R
34	H ₂ S ⁺	R-SH, R-S-R	59	[CH ₂ =C(OH)-NH ₂] ⁺	R-CONH ₂
35	H ₃ S ⁺	R-SH, R-S-R	59	⁺ O≡C-OCH ₃	R-COOCH ₃
35	³⁵ Cl ⁺	R-Cl, Ar-Cl	60	[CH ₂ =C(OH) ₂] ⁺	R-COOH
36	H ³⁵ Cl ⁺	R-Cl, Ar-Cl	60	CH ₂ = ⁺ O-NO	R-CH ₂ -ONO
37	³⁷ Cl ⁺	R-Cl, Ar-Cl	61	CH ₃ -C(OH)=OH ⁺	CH ₃ -COOR
38	H ³⁷ Cl ⁺	R-Cl, Ar-Cl	61	[C ₂ H ₅ S] ⁺	R-SH, R-S-R
39	C ₃ H ₃ ⁺	<i>a</i>	62	[C ₂ H ₆ S] ⁺	R-S-C ₂ H ₅
43	CH ₃ CO ⁺	R-COCH ₃	63	[C ₃ H ₃] ⁺	<i>c</i>
44	CO ⁺	<i>b</i>	65	[C ₃ H ₃] ⁺	<i>d</i>
44	CH ₃ CH=NH ₂ ⁺	R-NH ₂	72	[C ₄ H ₁₀ N] ⁺	R-NH ₂
44	[CH ₂ NO] ⁺	R-CONH ₂	72	H ₂ C= ⁺ SCN	R-CH ₂ -SCN
45	CH ₃ CH=OH ⁺	R-CH(OH)CH ₃	72	H ₂ C= ⁺ NCS	R-CH ₂ -NCS
45	CH ₃ O=CH ₂ ⁺	R-CH ₂ -OCH ₃	72	[C ₄ H ₈ O] ⁺	R-CHO, R-CO-R
45	CHS ⁺	R-S-H, R-S-R	73	C ₃ H ₇ -CH=OH ⁺	R-OH
46	CH ₂ S ⁺	R-SH, R-S-R	73	C ₃ H ₇ - ⁺ O=CH ₂	R-O-R
46	NO ₂ ⁺	R-ONO ₂ R-NO ₂	73	CH ₂ =CH-C(OH)=OH ⁺	R-(CH ₂) ₅ -COOH
47	CH ₃ S ⁺	R-S-CH ₃	74	[CH ₂ =C(OH)-OCH ₃] ⁺	R-COOCH ₃
47	H ₂ C=SH ⁺	R-SH, R-S-R	74	[CH ₃ -CH=C(OH) ₂] ⁺	R-CH(CH ₃)-COOH
48	CH ₃ -SH ⁺	R-S-CH ₃	75	[C ₃ H ₇ S] ⁺	R-SH, R-S-R
49	CH ₃ -SH ₂ ⁺	R-S-CH ₃	76	[C ₆ H ₄] ⁺	C ₆ H ₅ X
51	[C ₄ H] ⁺	<i>a</i>	77	[C ₆ H ₅] ⁺	C ₆ H ₅ -X
86	C ₅ H ₁₂ N ⁺	R-NH ₂	91	[C ₇ H ₇] ⁺	C ₆ H ₅ R, C ₆ H ₅ -CH ₂ X
87	CH ₂ =CH- -C(OCH ₃)=OH ⁺	R-COOCH ₃	105	C ₆ H ₅ -CO ⁺	C ₆ H ₅ -CO-X
87	C ₃ H ₁₁ O ⁺	R-OH, R-O-R			

a — aromatické a heterocyklické zlúčeniny, *b* — pozadie, prípadne produkt rozkladu, *c* — aromatické zlúčeniny, *d* — zlúčeniny s benzylovou skupinou, R — alkyl, X — substituent, Ar — aromatický zvyšok



Ztráty neutrálních molekul

Table 4.1. Common neutral losses

M - 1	H [*]	M - 32	CH ₃ OH; S ^o
M - 15	[*] CH ₃	M - 33	HS ^o
M - 16	O (rare; N → O cmpds.); [*] NH ₂ (amides)	M - 35	Cl ^o
M - 17	[*] OH; NH ₃ (rare)	M - 36	HCl [*]
M - 18	H ₂ O	M - 42	H ₂ C=C=O; H ₂ C=CH-CH ₃
M - 19	F [*]	M - 43	CH ₃ C [*] O; [*] C ₃ H ₇
M - 20	HF	M - 44	CO ₂
M - 26	HCCH, [*] CN	M - 45	CH ₃ CH ₂ O [*] ; [*] CO ₂ H
M - 27	HCN; H ₂ C=C [*] H	M - 46	NO ₂ (nitro cmpds.)
M - 28	CO; H ₂ C=CH ₂	M - 57	CH ₃ CH ₂ C [*] O; [*] C ₄ H ₉
M - 29	CH ₃ C [*] H ₂ ; HCO [*]	M - 77	[*] C ₆ H ₅ (phenyl)
M - 30	NO (nitro cmpds.); H ₂ CO	M - 79	Br ^o
M - 31	CH ₃ O [*]	M - 91	C ₆ H ₅ C [*] H ₂ (benzyl)
		M - 127	I [*]

^{*}Check for loss of or change in isotope peak intensity pattern.

Derivatizace

Zvýšení těkavosti (GC)

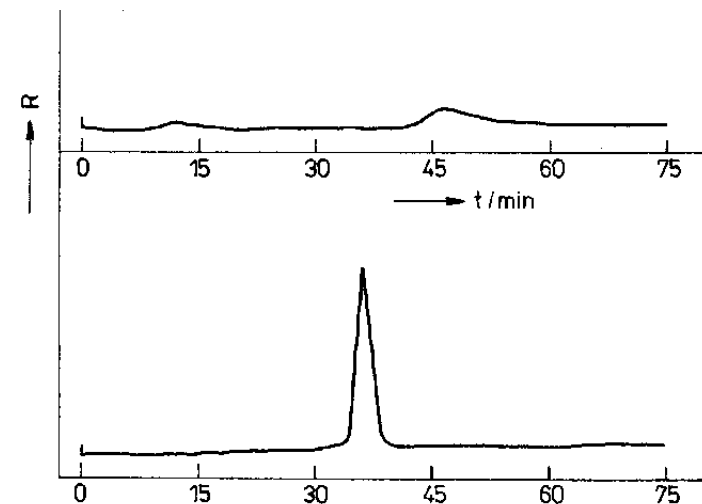
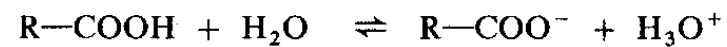
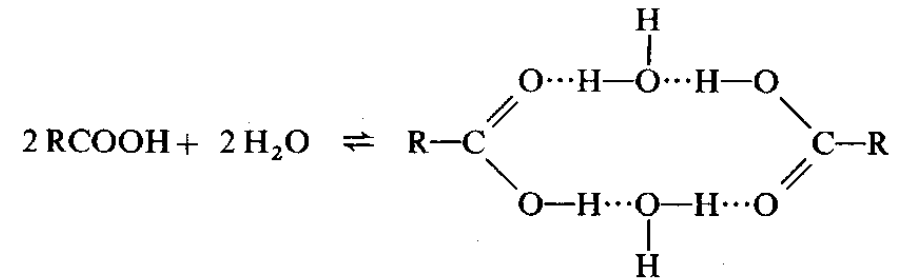
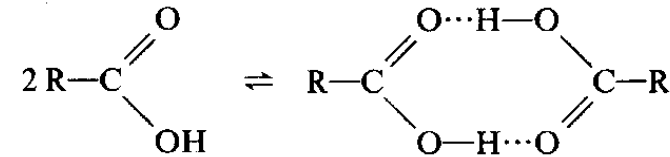
Snadnější identifikace látek
(kyseliny vs. estery)

Silylaceace

Alkylace

Určení polohy dvojně vazby

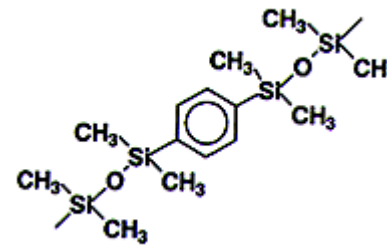
Adice dimethyldisulfidu



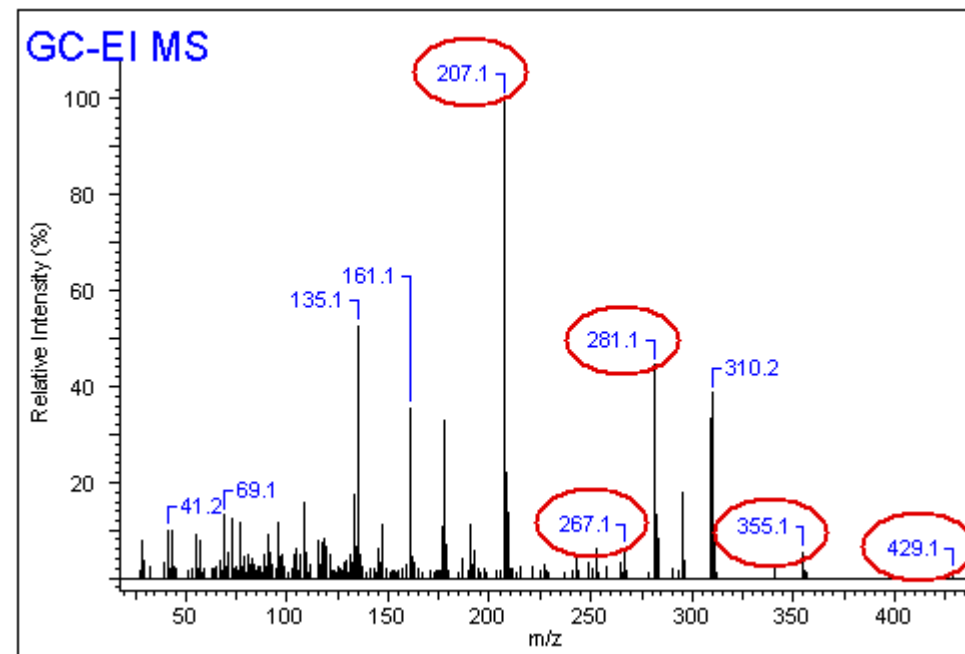
Obr. 5.1 Porovnání chromatogramu volného cholesterolu a jeho trimethylsilylderivátu na neupraveném nosiči se stacionární fází F-60

Kontaminace vzorků

“ghost” píky



“krvácení” kolony (bleeding)
(5MS Methylpolysiloxan)



Ftaláty (plasty)

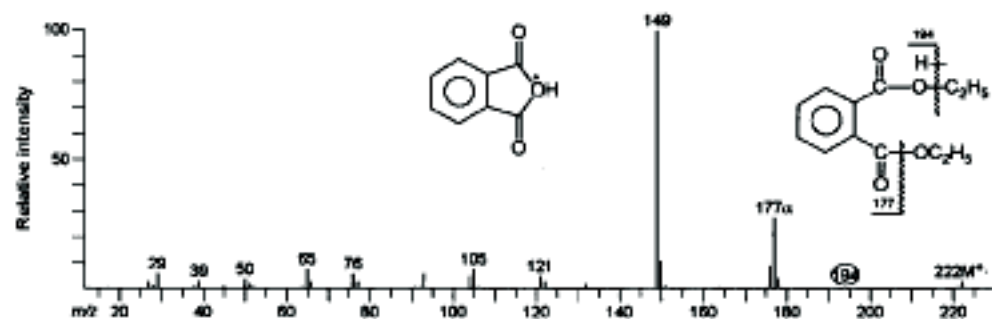


Figure 5.4. Mass spectrum of diethyl phthalate.

Izotopový pattern

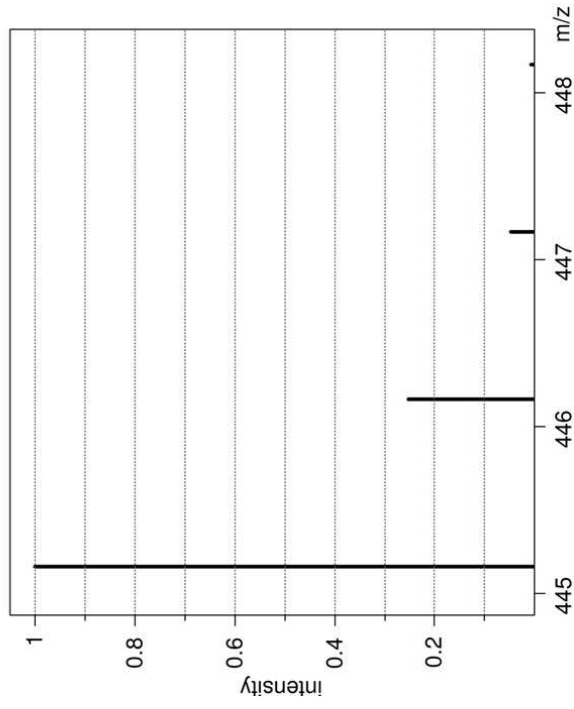
Table 2.1. Natural isotopic abundances of common elements.^a

Element	A		A + 1		A + 2		Element type
	Mass	%	Mass	%	Mass	%	
H	1	100	2	0.015			"A"
C	12	100	13	1.1 ^b			"A + 1"
N	14	100	15	0.37			"A + 1"
O	16	100	17	0.04	18	0.20	"A + 2"
F	19	100					"A"
Si	28	100	29	5.1	30	3.4	"A + 2"
P	31	100					"A"
S	32	100	33	0.79	34	4.4	"A + 2"
Cl	35	100			37	32.0	"A + 2"
Br	79	100			81	97.3	"A + 2"
I	127	100					"A"

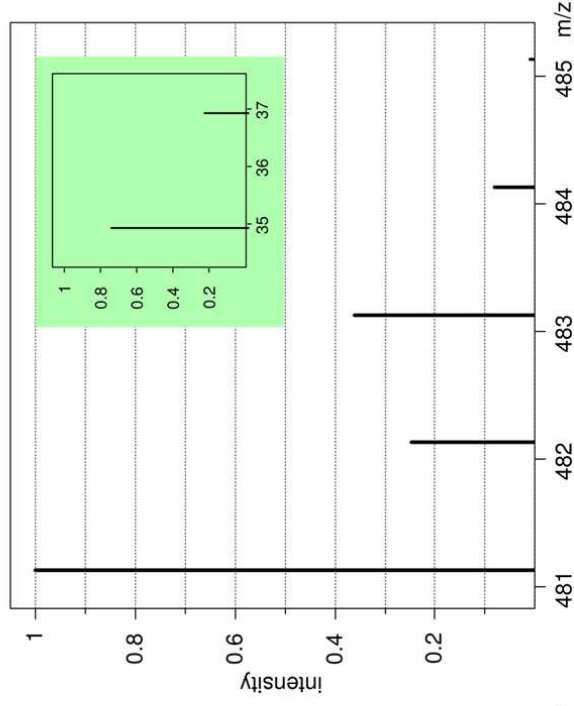
^aWapstra and Audi (1995).

^b1.1 ± 0.02, depending on source.

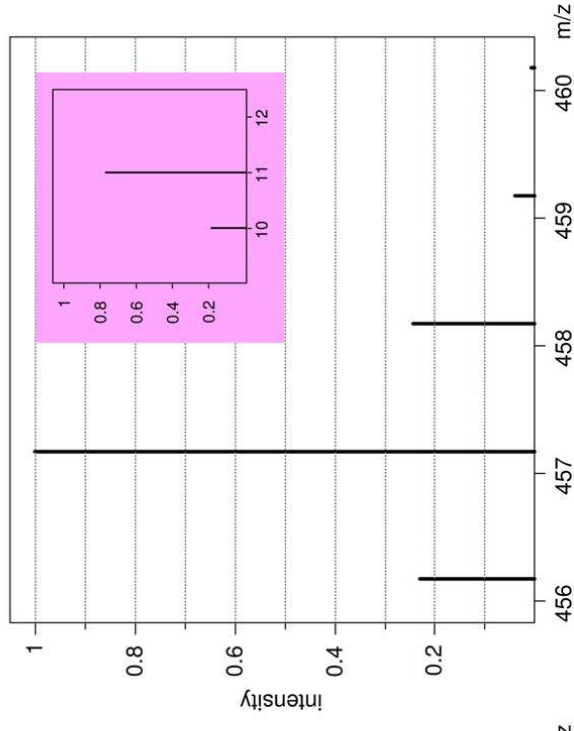
C₂₂H₂₄N₂O₈



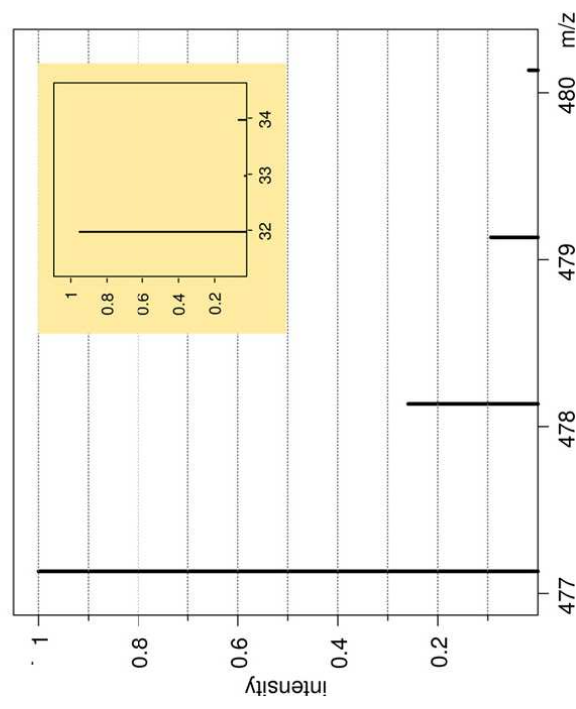
C₂₂H₂₅N₂O₈Cl



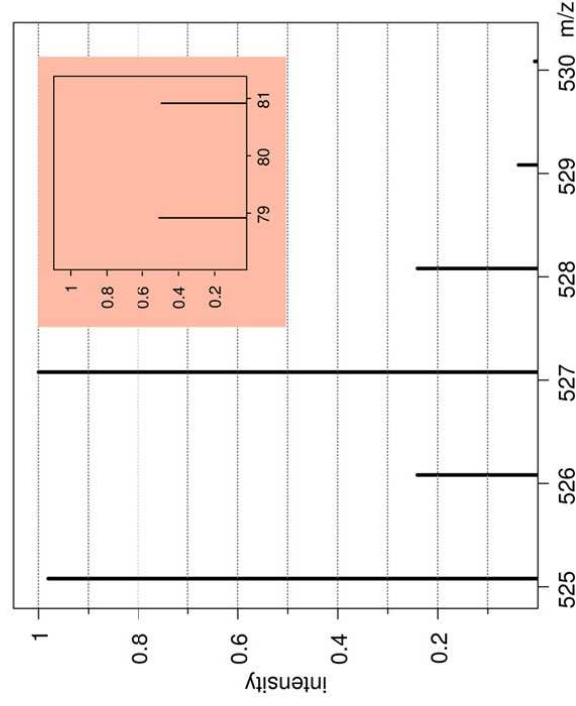
C₂₂H₂₅N₂O₈B



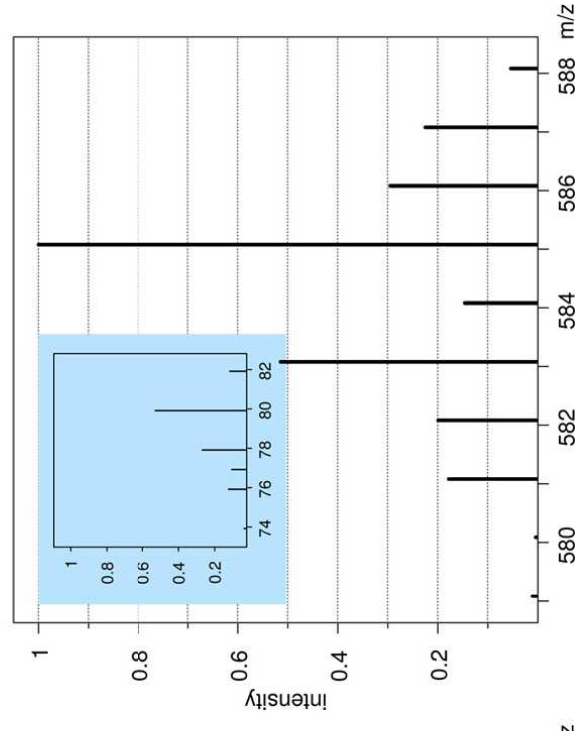
C₂₂H₂₄N₂O₈S

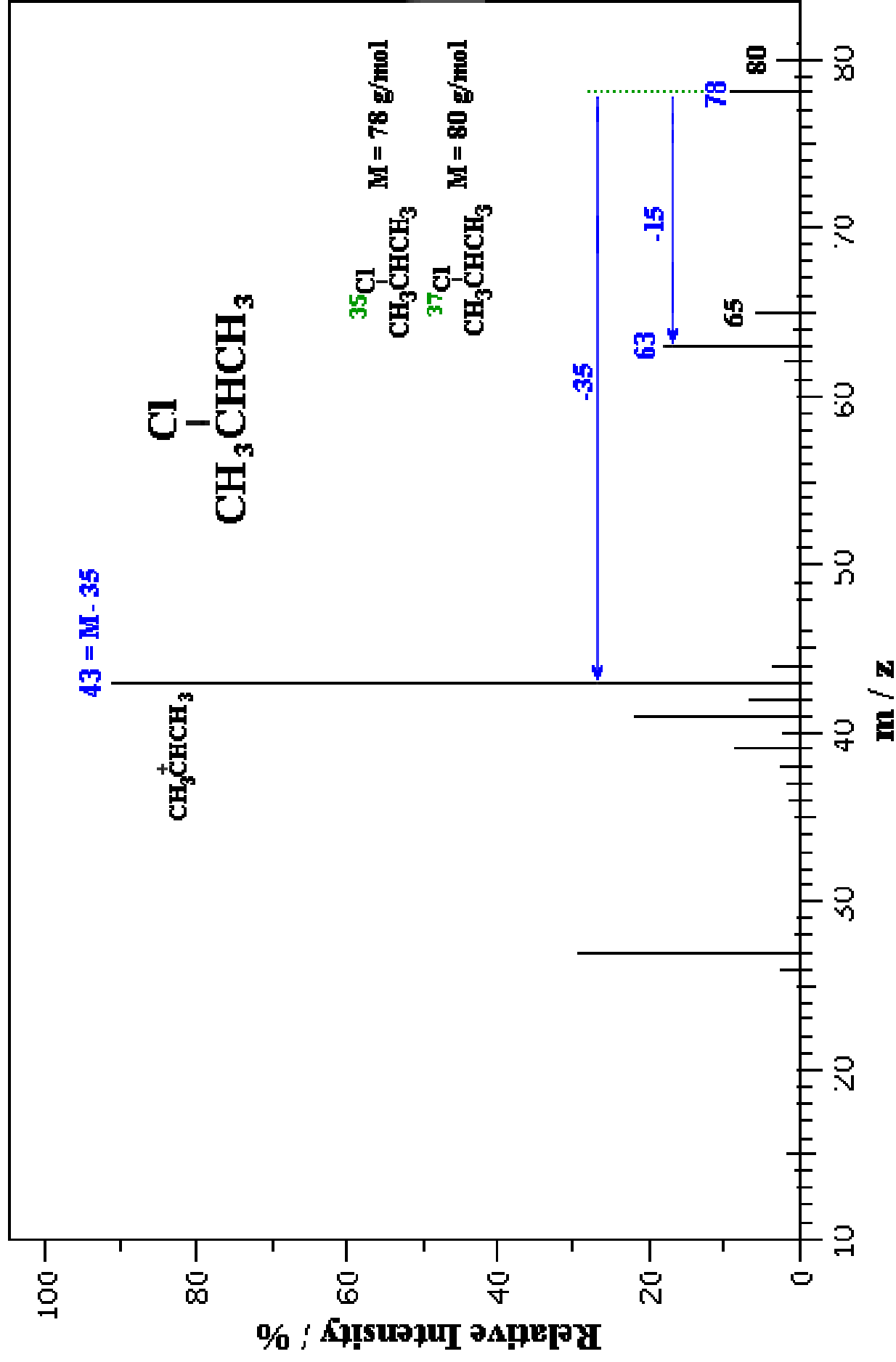


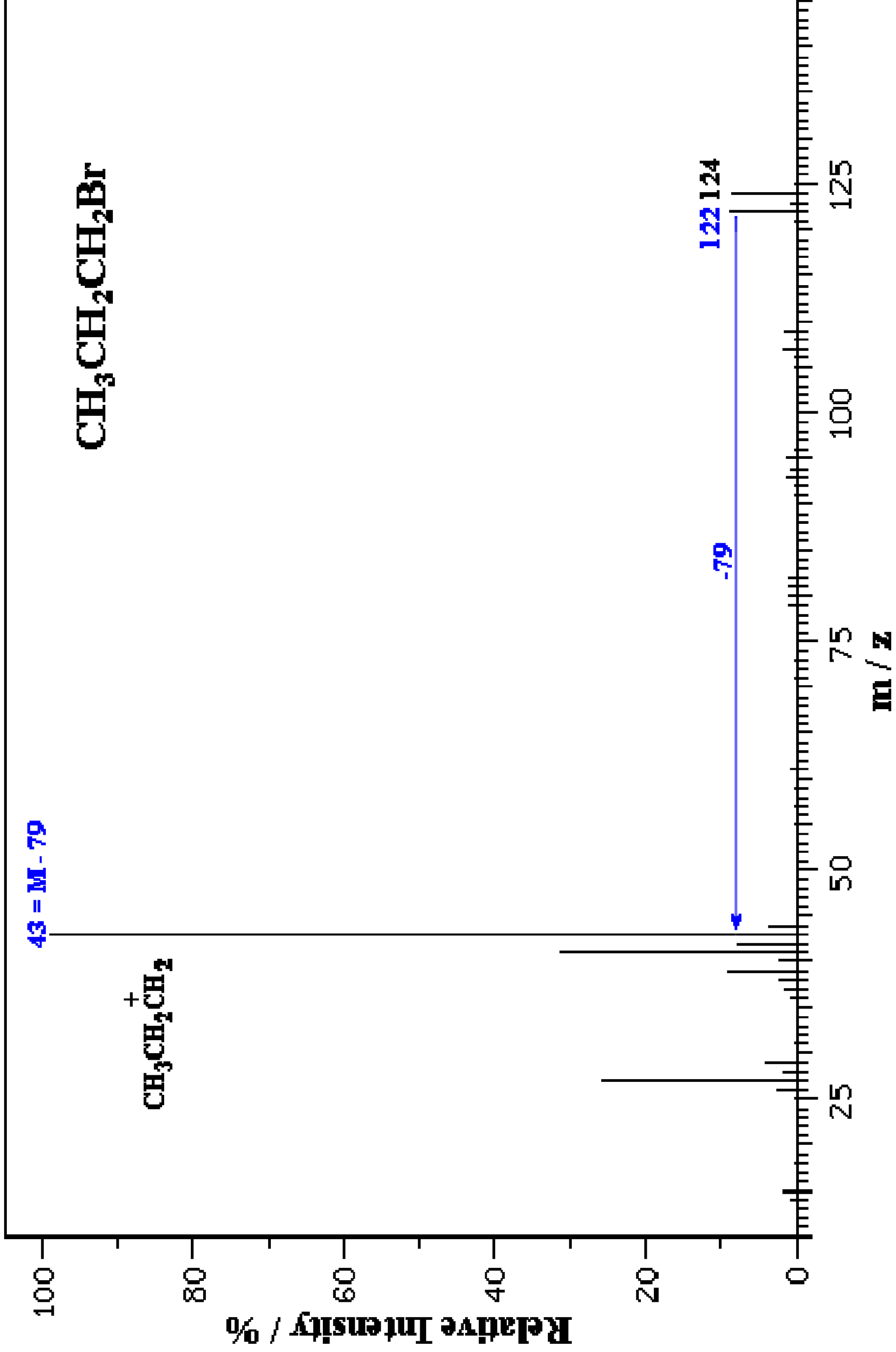
C₂₂H₂₅N₂O₈Br

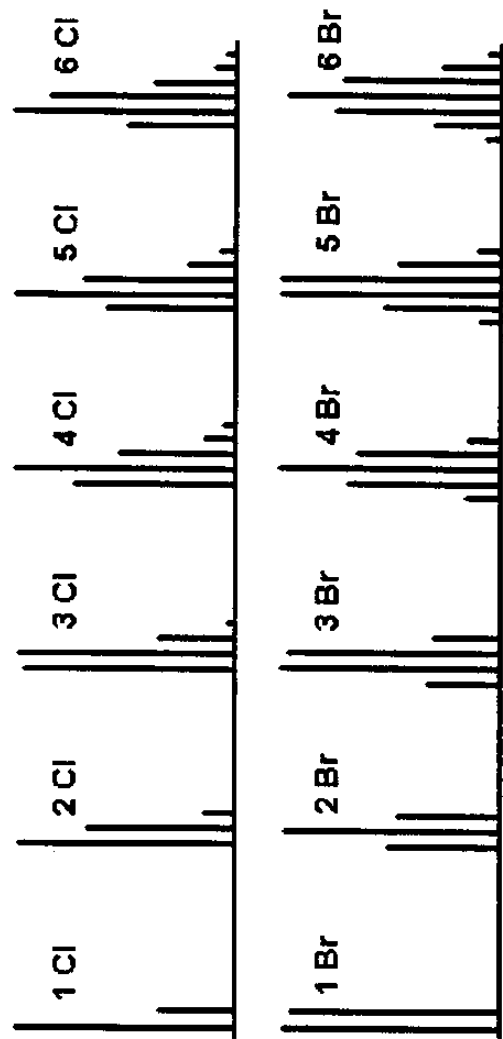


C₂₇H₂₄N₂O₈Se

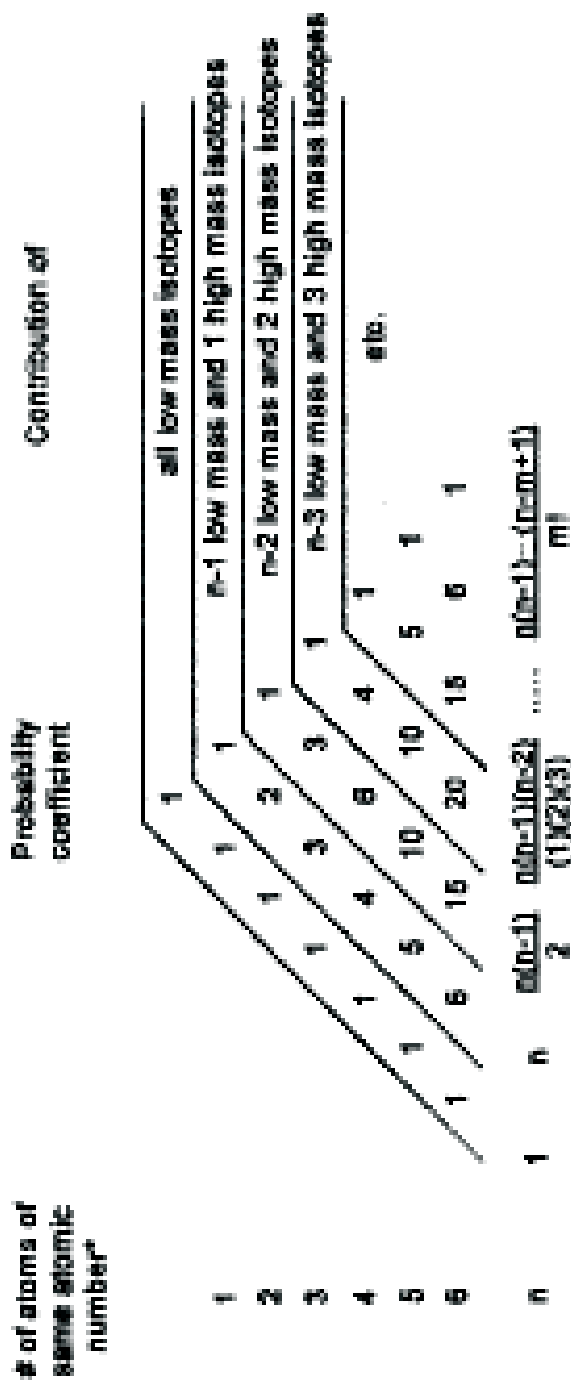






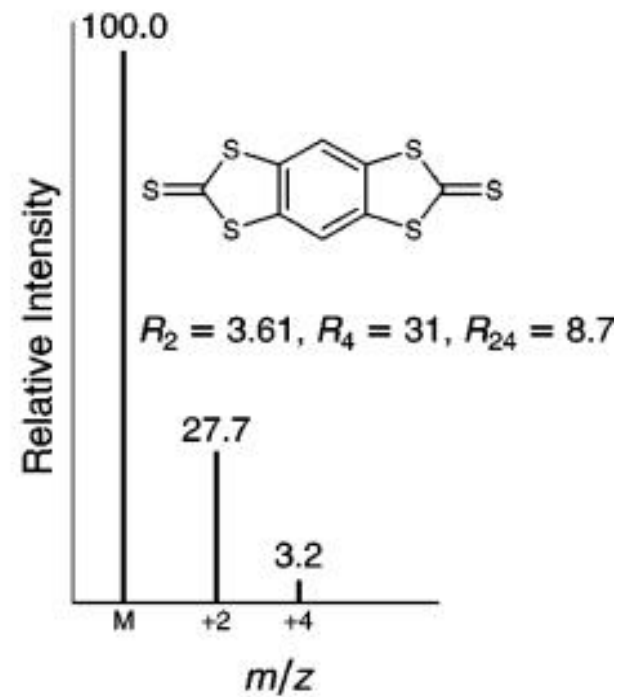
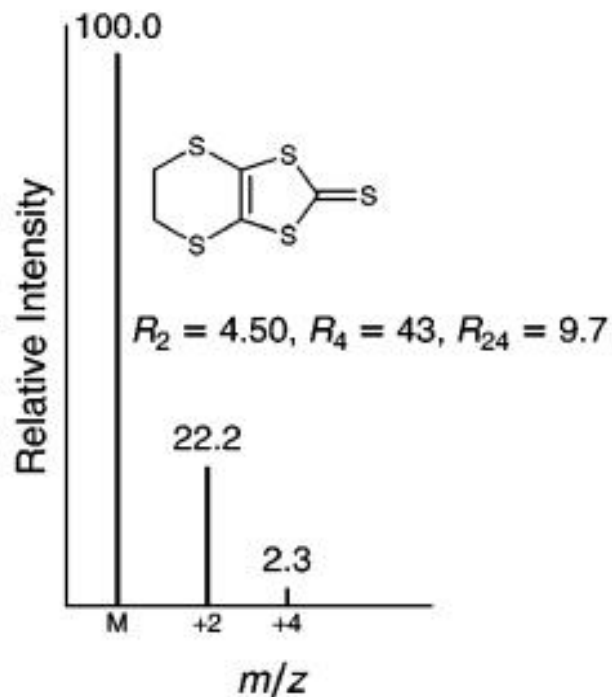
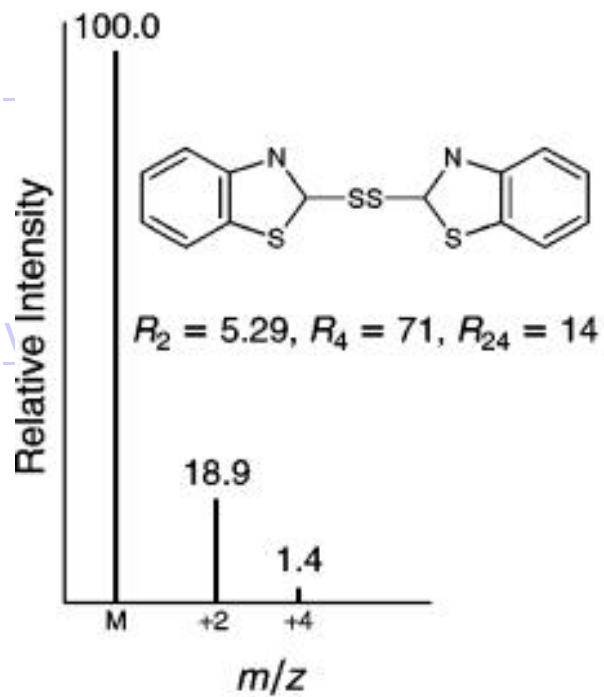
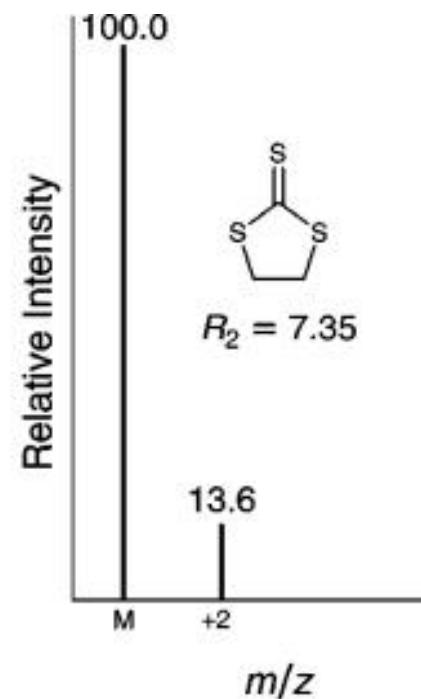
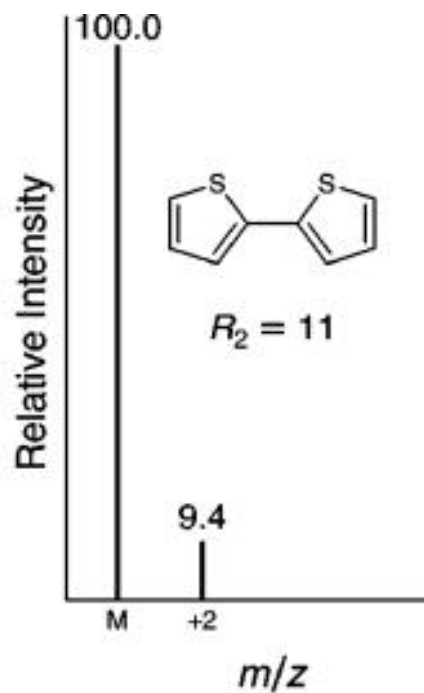
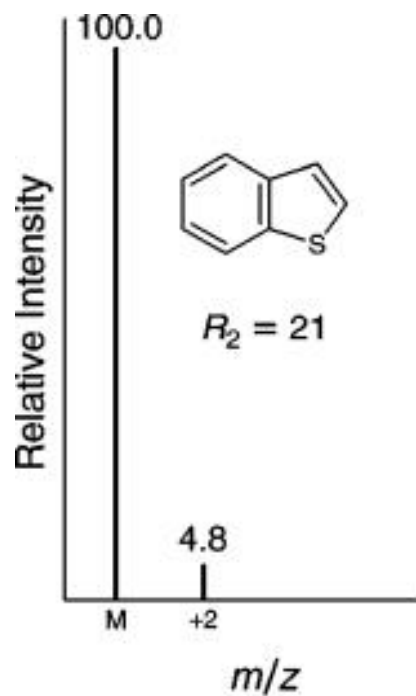


Obr.12.12 Vypočítaný izotopový vzor pre molekuly s rôznym počtom atómov chlóru a brómu



*Assuming the element has only two isotopes contributing to isotope peak ratios.

Figure 2.9. Binomial expansion (Pascal's) triangle.



Te

%Int.

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0

100 120 140 160 180 200 220 240 260 280 300 320 340 360 380 400 420 440 460 480 500 520 540
m/z

129.91
127.90
125.90
124.90
123.90
121.90
119.90

Te₂

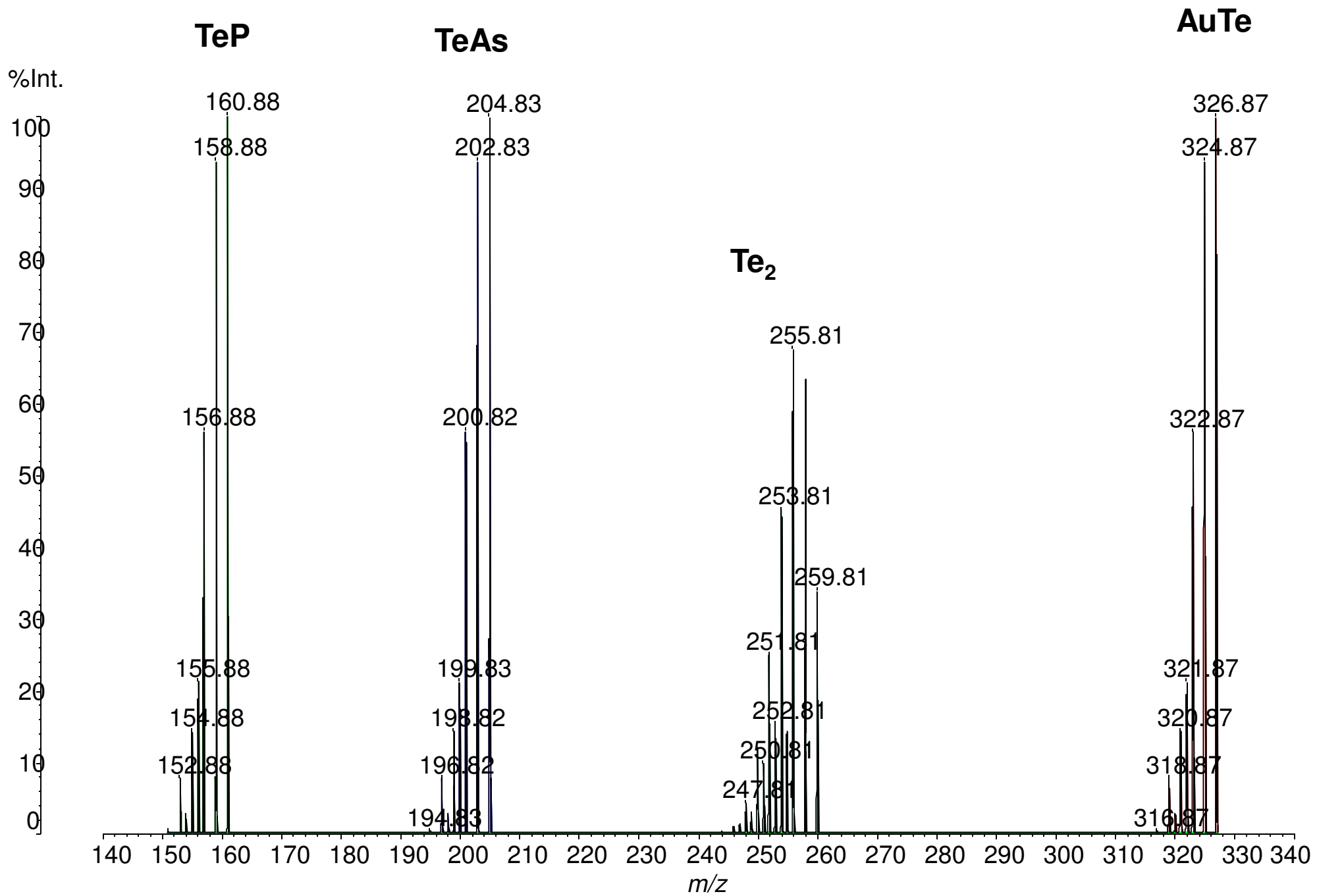
255.81
253.81
259.81
251.81
252.81
250.81
247.81

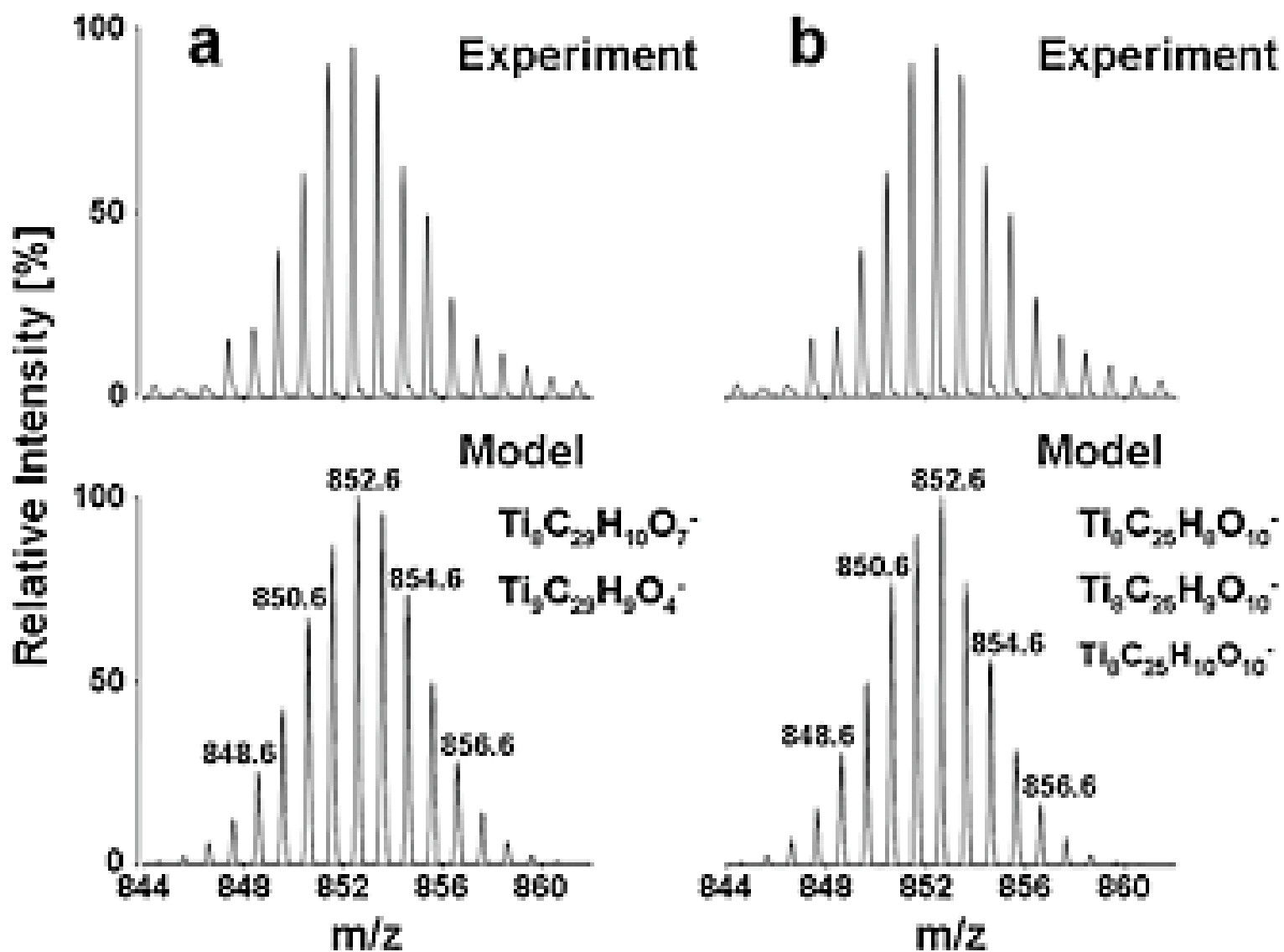
Te₃

383.71
381.71
387.72
379.71
380.71
369.71

Te₄

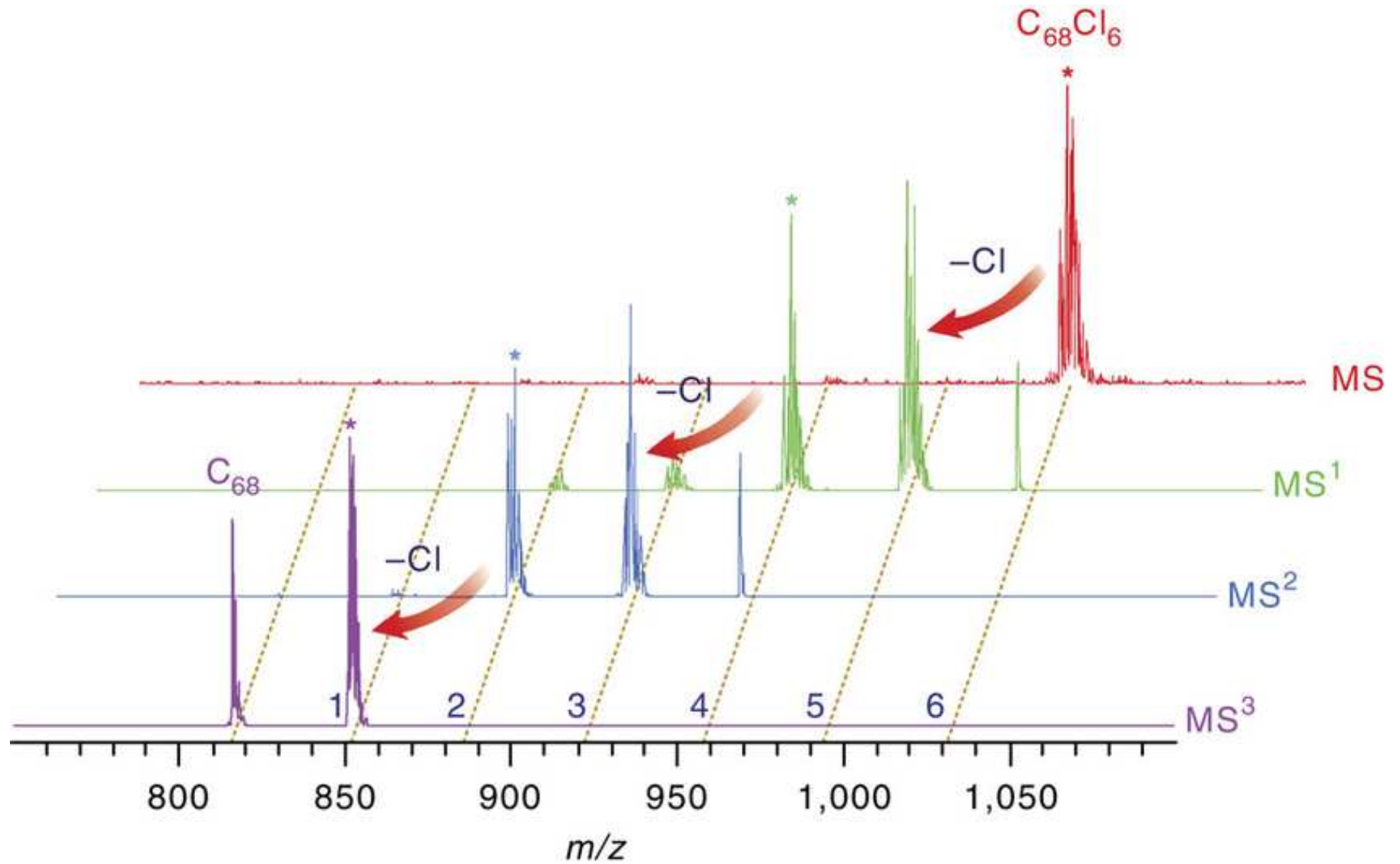
511.62
509.62
515.62
505.62
503.62
501.62



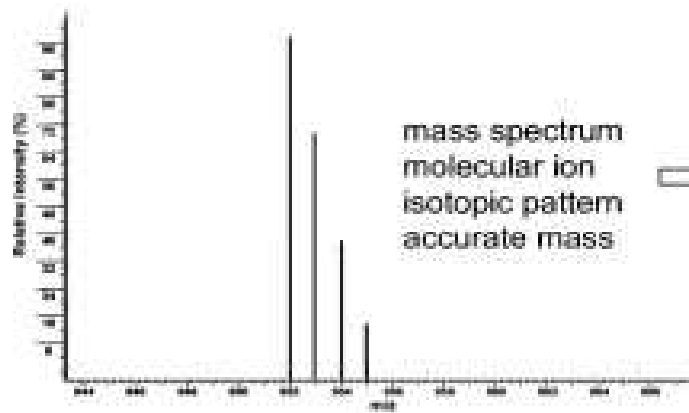


Hmotnostní spektrum (negativní mod, energie laseru 150 a.u.) a model. Model indikuje tvorbu iontů (a) $[\text{Ti}_8\text{C}_{29}\text{O}_7\text{H}_{10}]^-$ ($38.3 \pm 0.6\%$) a $[\text{Ti}_9\text{C}_{29}\text{O}_4\text{H}_9]^-$ ($61.8 \pm 0.5\%$); (b) $[\text{Ti}_8\text{C}_{25}\text{O}_{10}\text{H}_8]^-$ ($11 \pm 1\%$), $[\text{Ti}_8\text{C}_{25}\text{O}_{10}\text{H}_9]^-$ ($43 \pm 3\%$), a $[\text{Ti}_8\text{C}_{25}\text{O}_{10}\text{H}_{10}]^-$ ($44 \pm 1\%$).

MSⁿ fragmentace



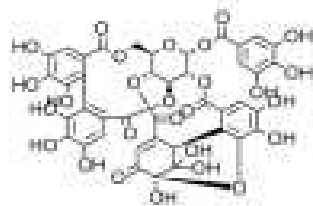
Určení sumárního vzorce



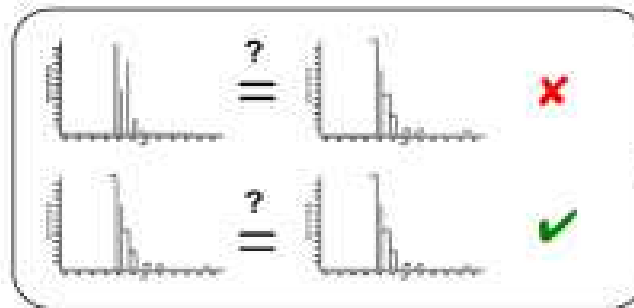
mass spectrum
molecular ion
isotopic pattern
accurate mass

Formula
Generator

No.	Formula	Mass
861	C ₈ H ₂₂ N ₄ O ₃ P ₂ S ₂	352.071
862	C ₈ H ₂₂ N ₄ O ₃ P ₂ S	352.069
863	C ₈ H ₂₂ N ₄ O ₃ P ₂ S	352.061
864	C ₈ H ₂₂ N ₄ O ₃ P ₃	352.068
865	C ₈ H ₂₄ N ₄ O ₄	352.09
866	C ₈ H ₂₅ O ₄ P ₂ S	352.067
867	C ₈ H ₂₀ O ₂ P ₂ S ₃	352.069
868	C ₈ H ₂ P ₃ S ₃	352.09
869	C ₈ H ₂ P ₂ S ₃	352.069
870	C ₈ H ₂ P ₄ S ₂	352.09
871	C ₈ H ₁ PN ₂ O	351.945
872	C ₈ H ₁ PN ₂ O ₂ S	351.914
873	C ₈ H ₁ PN ₂ O ₂	351.932
874	C ₈ H ₁ PN ₂ O ₂ P ₂ S	351.909
875	C ₈ H ₁ PN ₂ O ₄ P	351.924
876	C ₈ H ₁ PN ₂ O ₂ P ₂	351.915
877	C ₈ H ₁ PN ₂ P ₃	351.907
878	C ₈ H ₁ PN ₂ O ₂ S ₂	351.944
879	C ₈ H ₁ PN ₂ O ₂ S ₂	351.962



(possible result)



(exhaustive
drill down)

Automatic
Isotopic
Pattern
Filter

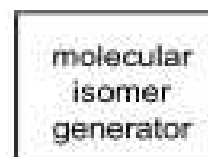


No.	Formula	Mass
1	C ₄₁ H ₂₈ O ₂₇	852.082
2	C ₄₁ H ₂₈ N ₈ O ₂₀	852.142
3	C ₄₁ H ₂₈ N ₄ O ₁₃	852.202
4	C ₄₁ H ₂₈ N ₂ O ₆	852.262



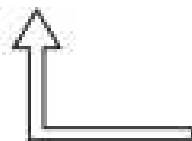
DB
Search

{fast approach but
non comprehensive}



molecular
isomer
generator

{slow approach,
needs constraints,
comprehensive}



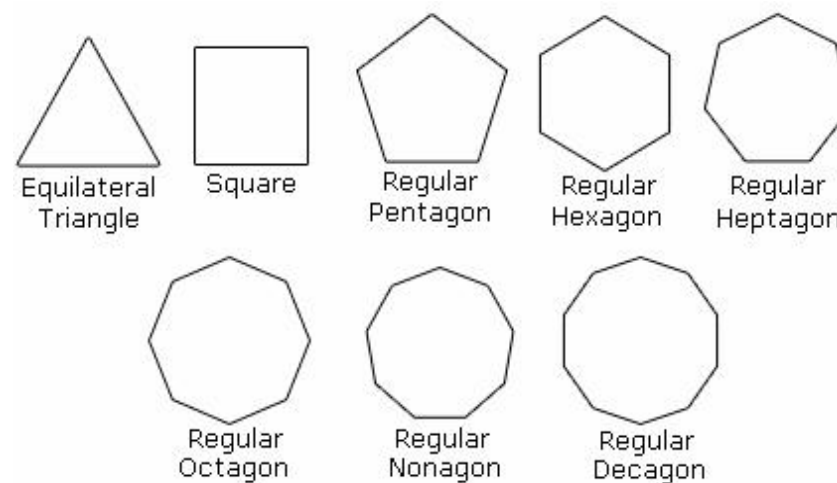
Cyklické a nenasycené uhlovodíky

$$v - e + f = 1$$

v = počet vrcholů (vertices)

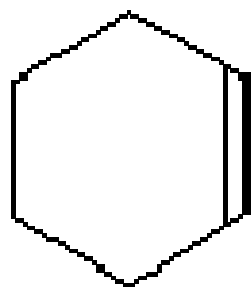
e = počet hran (edges)

f = počet ploch (faces)

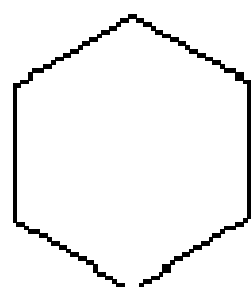


$$f = e - v + 1$$

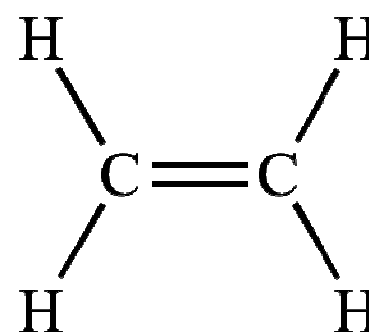
f = tzv. cyklomatické číslo (počet cyklů v molekule)



cyclohexene



cyclohexane

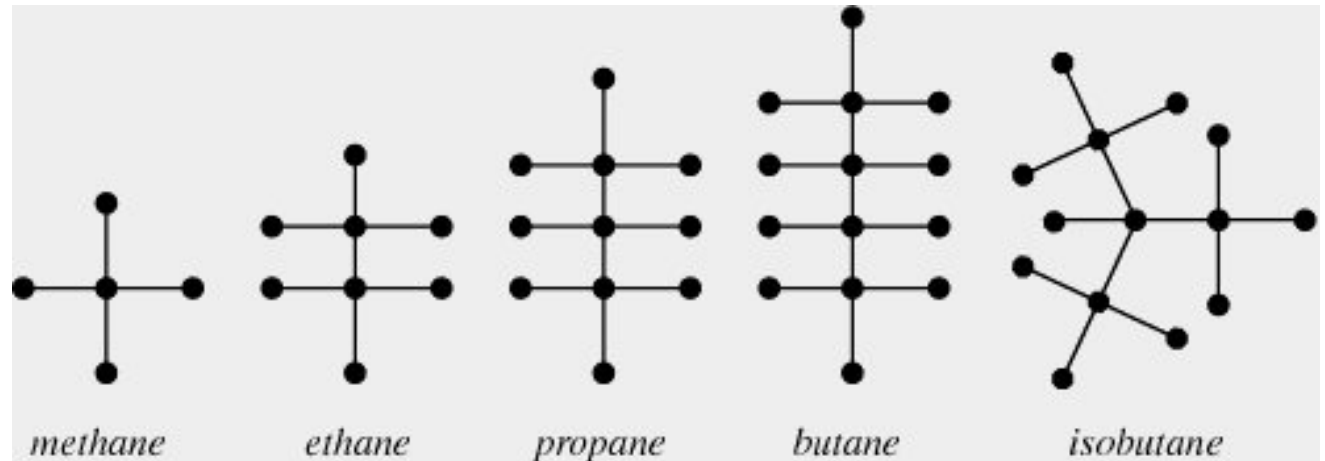


Alifatické alkany

$$v - e + 0 = 1$$

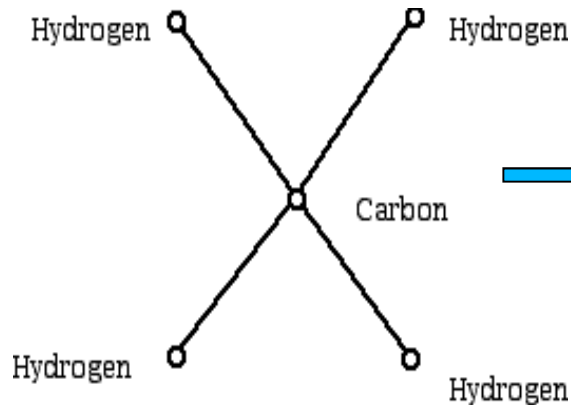
$$v = e - 1$$

v = počet vrcholů (vertices)
 e = počet hran (edges)
 f = počet ploch (faces) = 0



Stupeň vrcholu grafu (valence vrcholu) = počet hran zasahujících do daného vrcholu

$$\text{deg}(v_1) + \text{deg}(v_2) + \dots + \text{deg}(v_p) = 2(v - 1)$$



$$\text{deg}(C) = 4$$

$$\text{deg}(H) = 1$$

$$1 + 1 + 1 + 1 + 4 = 2(4 + 1 - 1)$$

$$h + 4c = 2(c + h - 1)$$

$$h = 2c + 2$$

Seniorovo pravidlo

Vychází ze Seniorova teorému z teorie grafů. Podmínky existence molekuly jsou:

1. Suma valencí nebo celkový počet atomů s lichou valencí jsou sudé.
2. Suma valencí je větší nebo rovna dvojnásobku maximální valence.
3. Suma valencí je větší nebo rovna dvojnásobku $(N - 1)$

Další pravidla

$$\begin{aligned}1 < n_C < N \\ 0 \leq n_H \leq 2n_C + 2 \\ 0 \leq n_O \leq 2n_C\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}n_C = N/12 \\ n_H \leq 2n_C + 2n_N + 2 \\ n_O \leq 2n_C + 2n_N + 2\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}n_N < N \\ n_H < 2n_C + 2n_N + 2 - n_x \\ n_O < 2n_C + n_N \\ n_H + n_N + n_x = \text{sudé číslo}\end{aligned}$$

Heuristické metody

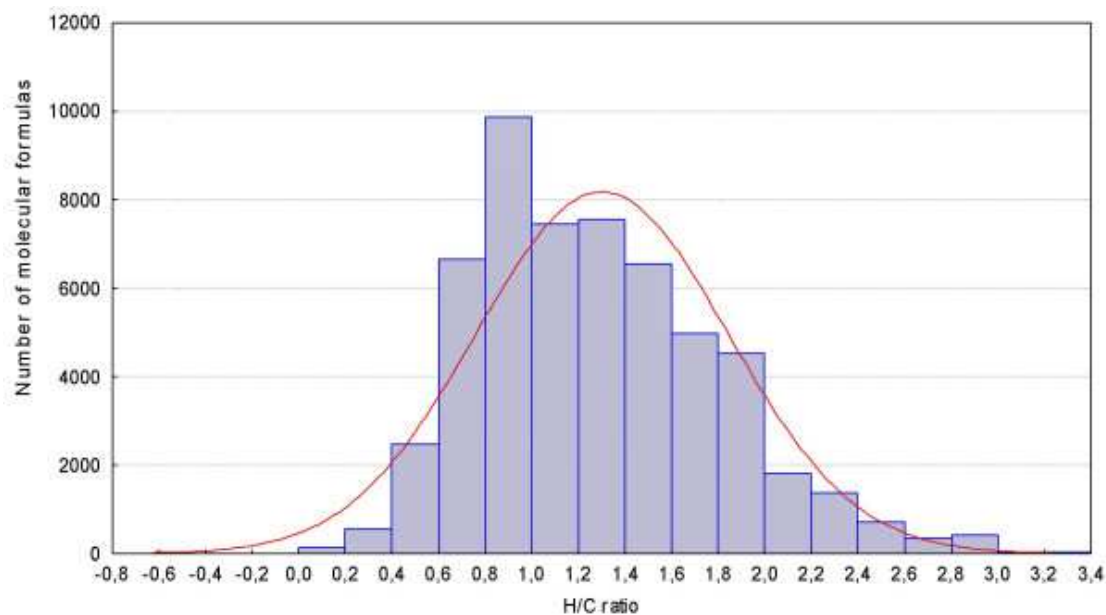
Heuristika = zkusmé řešení problémů, pro něž neznáme algoritmus nebo přesnější metodu. Heuristické řešení je často jen přibližné, založené na poučeném odhadu, intuici, zkušenosti nebo prostě na zdravém rozumu.

NOPS all > 1	N < 10, O < 20, P < 4, S < 3
NOP all > 3	N < 11, O < 22, P < 6
OPS all > 1	O < 14, P < 3, S < 3
PSN all > 1	P < 3, S < 3, N < 4
NOS all > 6	N < 19 O < 14 S < 8

Multiple element count restriction for compounds < 2000 Da, based on the examination of the Beilstein database and the Dictionary of Natural Products

Heuristické metody

Element ratios	Common range (covering 99.7%)	Extended range (covering 99.99%)	Extreme range (beyond 99.99%)
H/C	0.2–3.1	0.1–6	< 0.1 and 6–9
F/C	0–1.5	0–6	> 1.5
Cl/C	0–0.8	0–2	> 0.8
Br/C	0–0.8	0–2	> 0.8
N/C	0–1.3	0–4	> 1.3
O/C	0–1.2	0–3	> 1.2
P/C	0–0.3	0–2	> 0.3
S/C	0–0.8	0–3	> 0.8
Si/C	0–0.5	0–1	> 0.5



Hydrogen/Carbon ratio (H/C) for 42,000 diverse molecules (containing C, H, N, S, O, P, F, Cl, Br, I, Si) taken from the Wiley mass spectral library.

Heuristické metody

Restrictions for number of elements during formula generation for small molecules based on examination of the DNP and Wiley mass spectral databases. For each element, the higher count was taken for denominating the element restriction rule #1

Mass Range [Da]	Library	C max	H max	N max			O max	P max
< 500	DNP	29	72	10			18	4
	Wiley	39	72	20			20	9
< 1000	DNP	66	126	25			27	6
	Wiley	78	126	20	27	9		
< 2000	DNP	115	236	32	63	6		
	Wiley	156	180	20	40	9		
< 3000	DNP	162	208	48	78	6		

Mass Range [Da]	Library	S max	F max	Cl max	Br max	Si max
< 500	DNP	7	15	8	5	
	Wiley	10	16	10	4	8
< 1000	DNP	8	16	11	8	
	Wiley	14	34	12	8	14
< 2000	DNP	8	16	11	8	
	Wiley	14	48	12	10	15
< 3000	DNP	9	16	11	8	

Zastoupení izotopických iontů

Přístroje s nízkým rozlišením

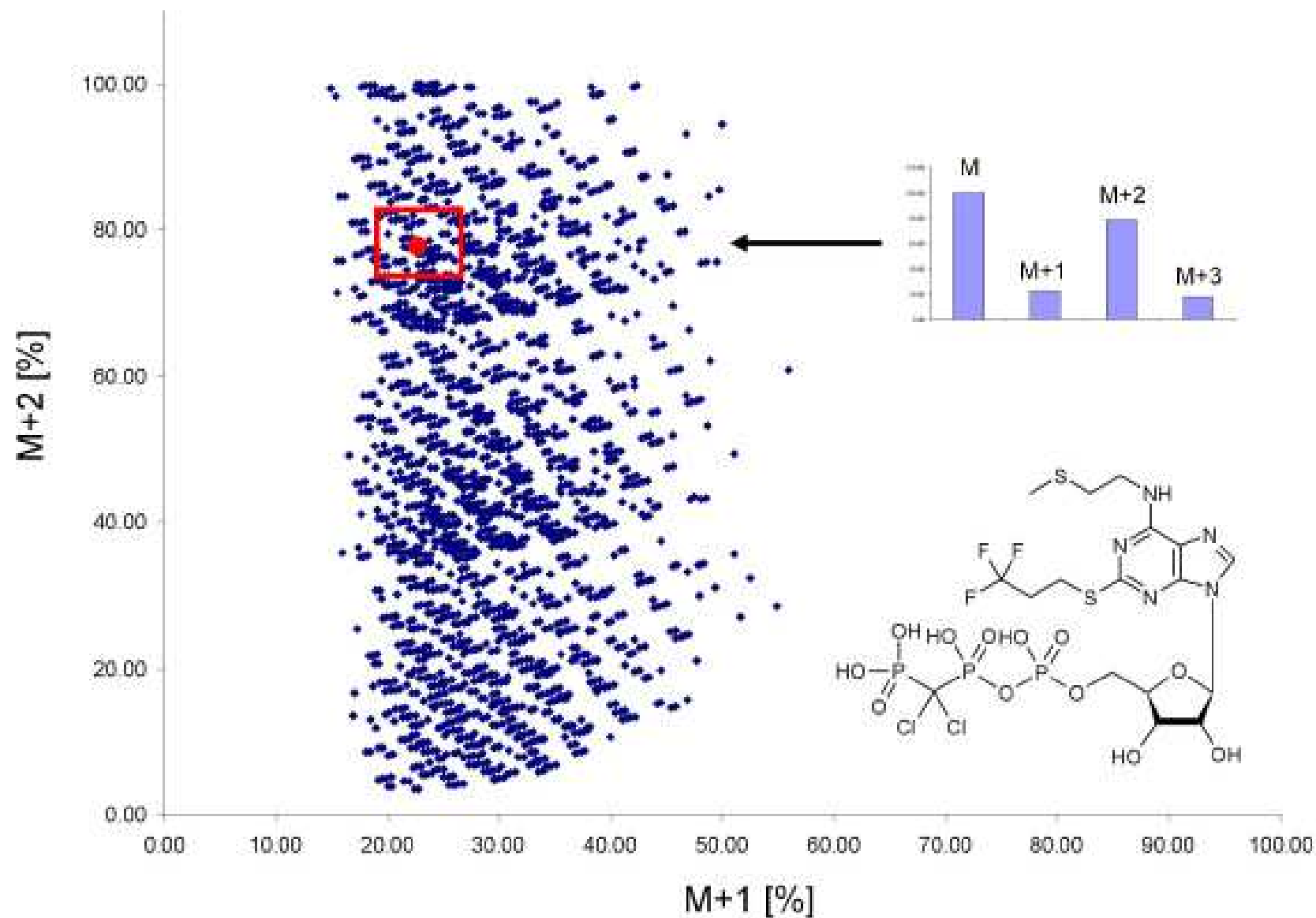


$$C_U = \frac{100I(M+1)}{[1.1I(M)]}$$

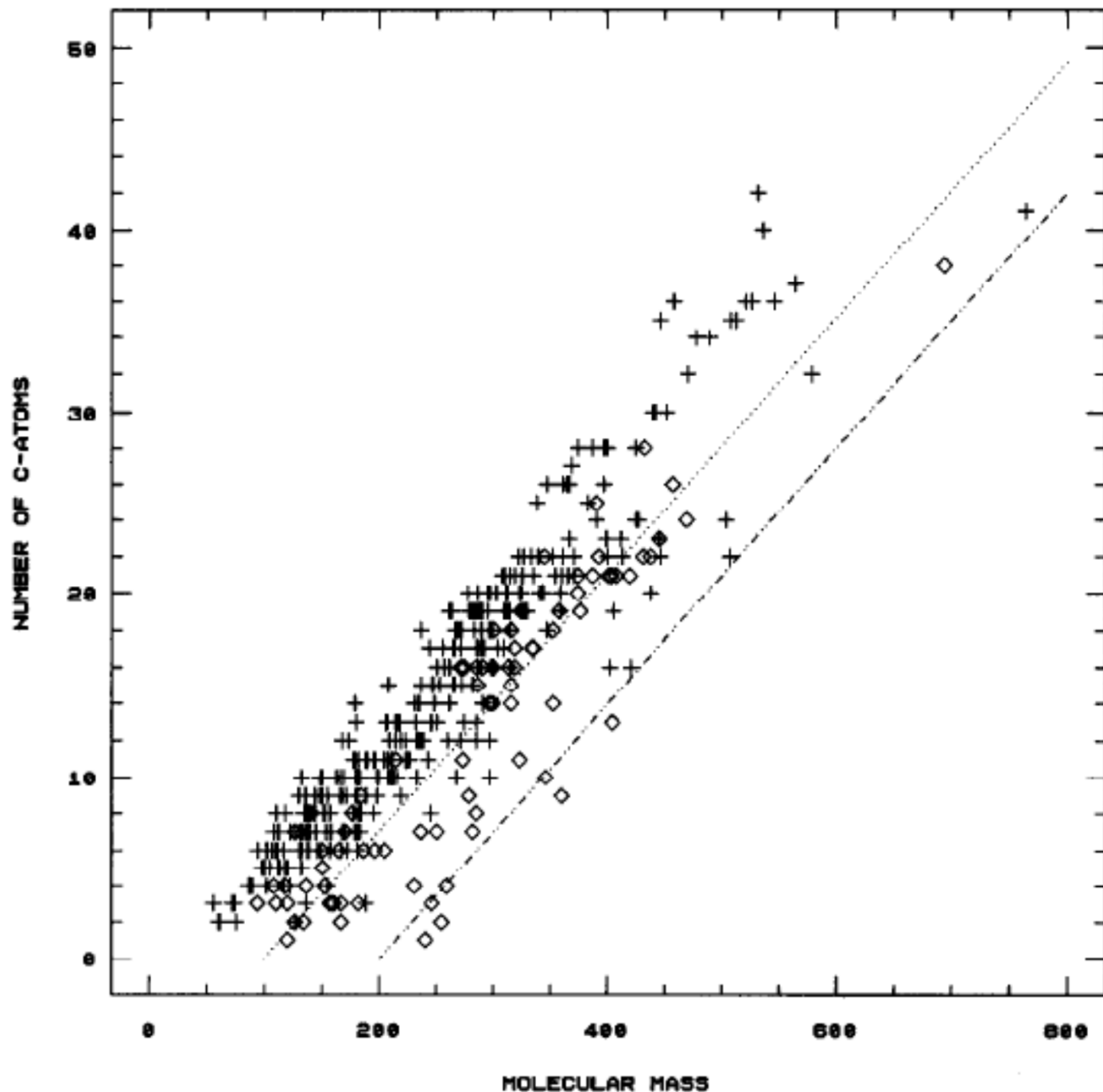


c	% ¹³ C
h	% ² H
n	% ¹⁵ N
o1 a o2	% ¹⁷ O a ¹⁸ O

$$\frac{I_{M+1}}{I_M} = n_1 \cdot \frac{c}{100 - c} + n_2 \cdot \frac{h}{100 - h} + n_3 \cdot \frac{n}{100 - n} + n_4 \cdot \frac{o_1}{100 - o_1 - o_2}$$



Relative isotopic abundances of the M+1 and M+2 peak for all elemental compositions that would fit a measured mass of 774.94831 Da (Cangrelor), determined at 1 ppm mass accuracy (values exceeding 100% are removed in graphics). Most formulas can be discarded if isotope ratios are measured with an accuracy of $\pm 5\%$ and used as search constraint (red box).



$$n_C = 0.07M - 6.9$$

$$n_C = 0.07M - 14$$

Fig. 1. First filter; lower limit to the number of C atoms. (+) Without halogen atoms; (Δ) with halogen atoms; (\cdots) arbitrary lower limit for molecules without halogen atoms; ($-\cdots-$) arbitrary lower limit for molecules with halogen atoms.

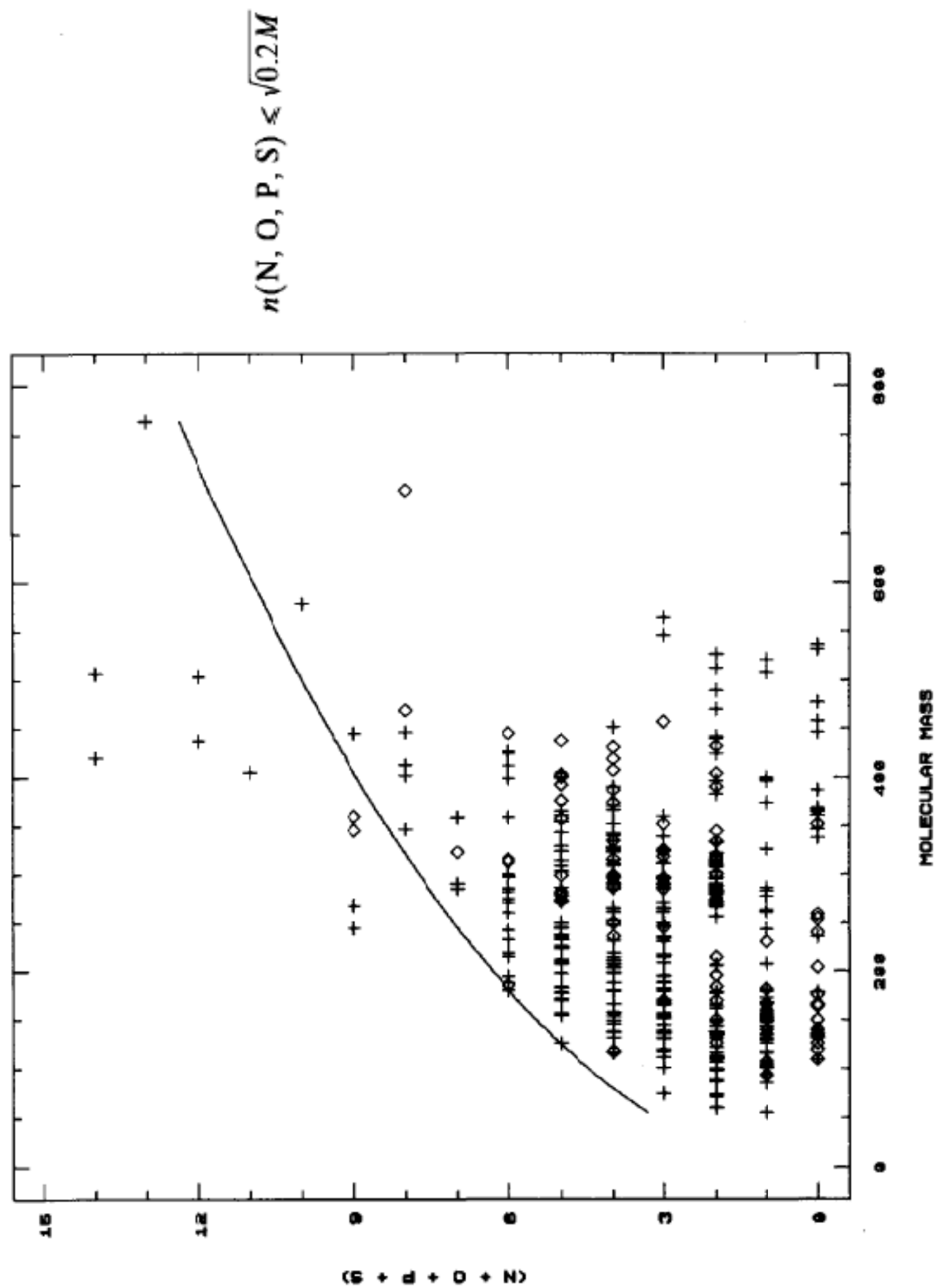


Fig. 2. Second filter; upper limit to the number of N, O, P and S. (+) Without halogen atoms; (Δ) with halogen atoms; (—) arbitrary upper limit.

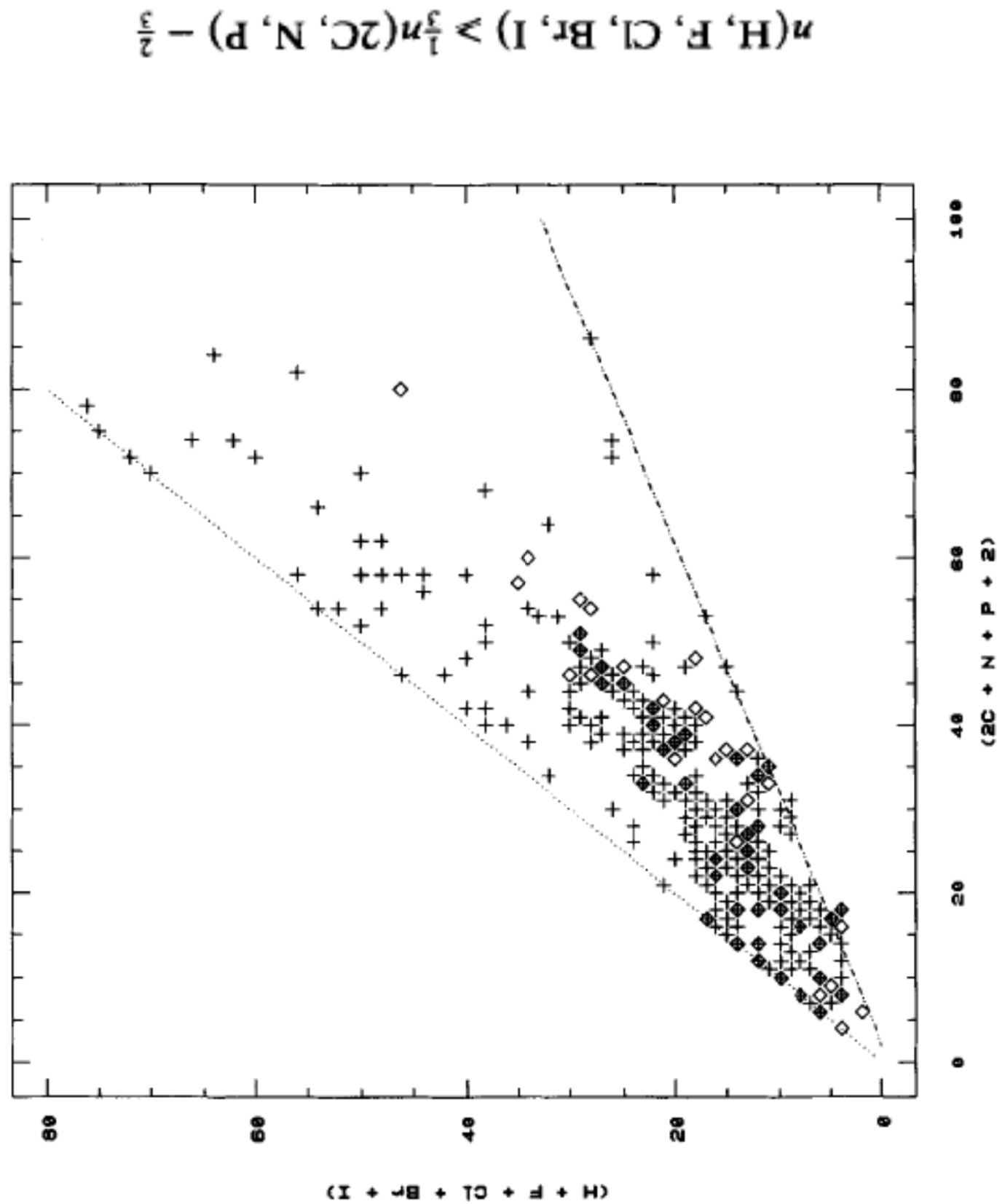
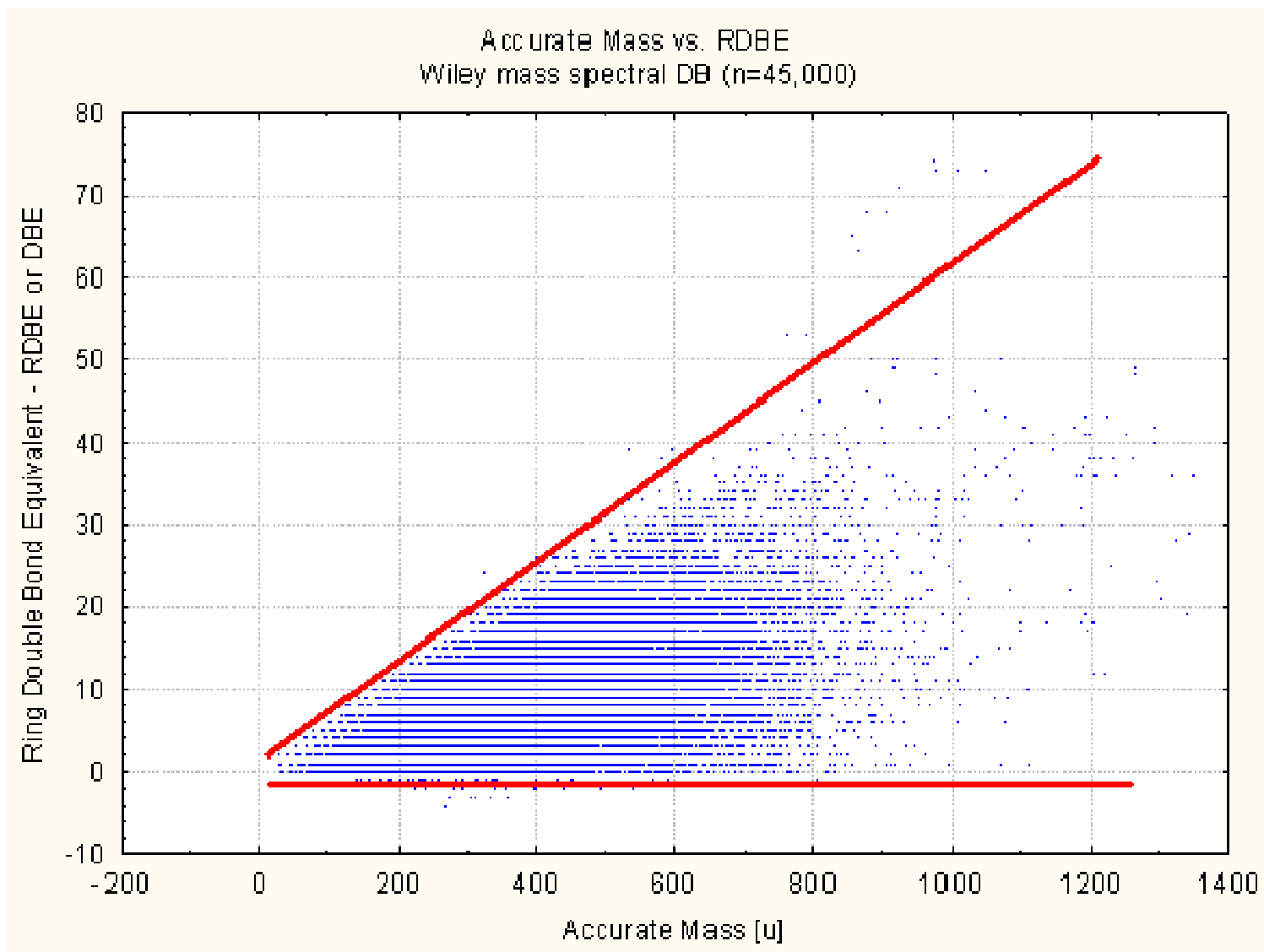
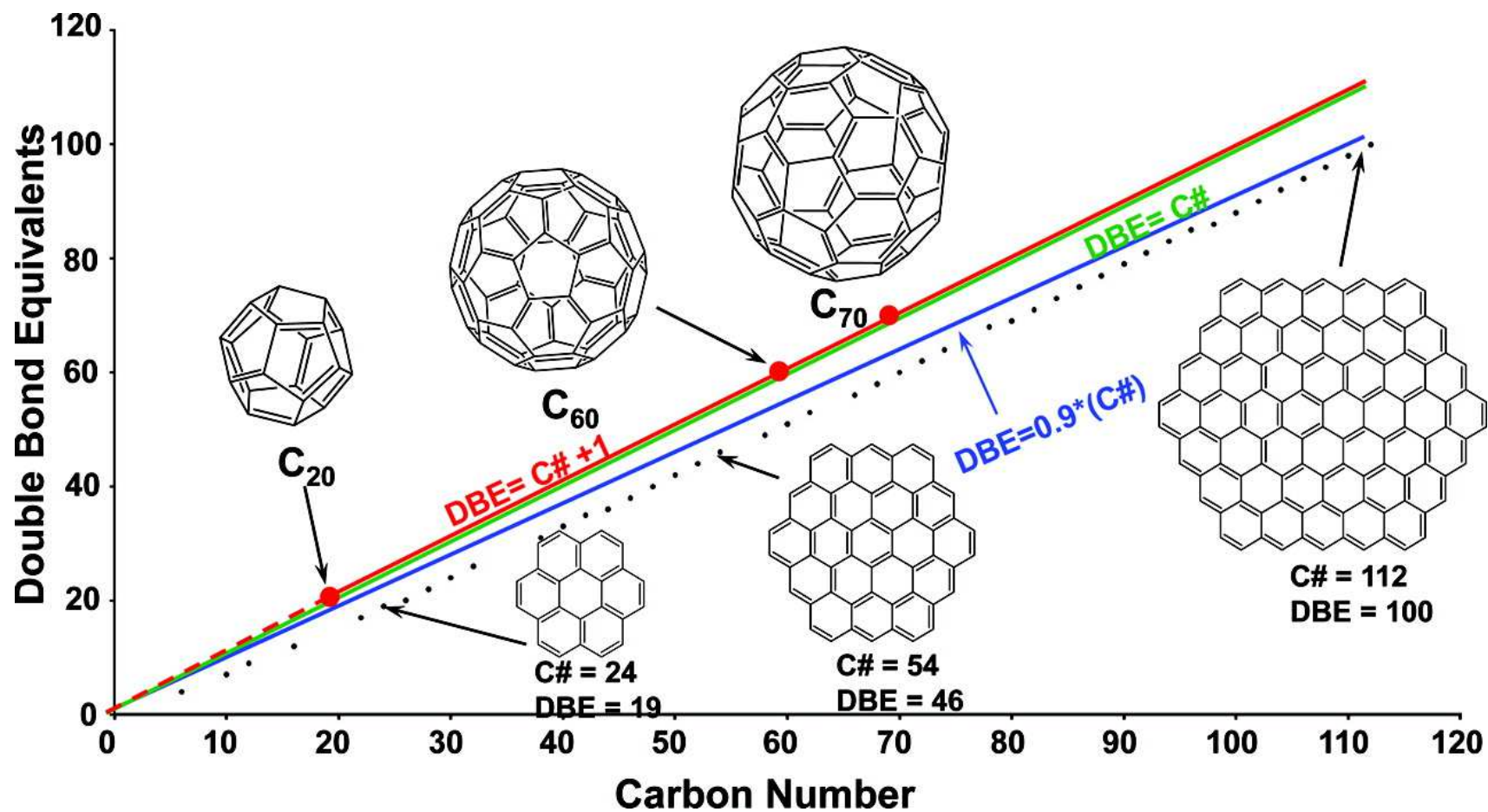


Fig. 3. Third filter; dynamic upper limit to the number of double bonds and rings. (+) Without halogen atoms; (Δ) with halogen atoms; (\dots) without double bond equivalents; ($-\cdot-\cdot-$) arbitrary limit.

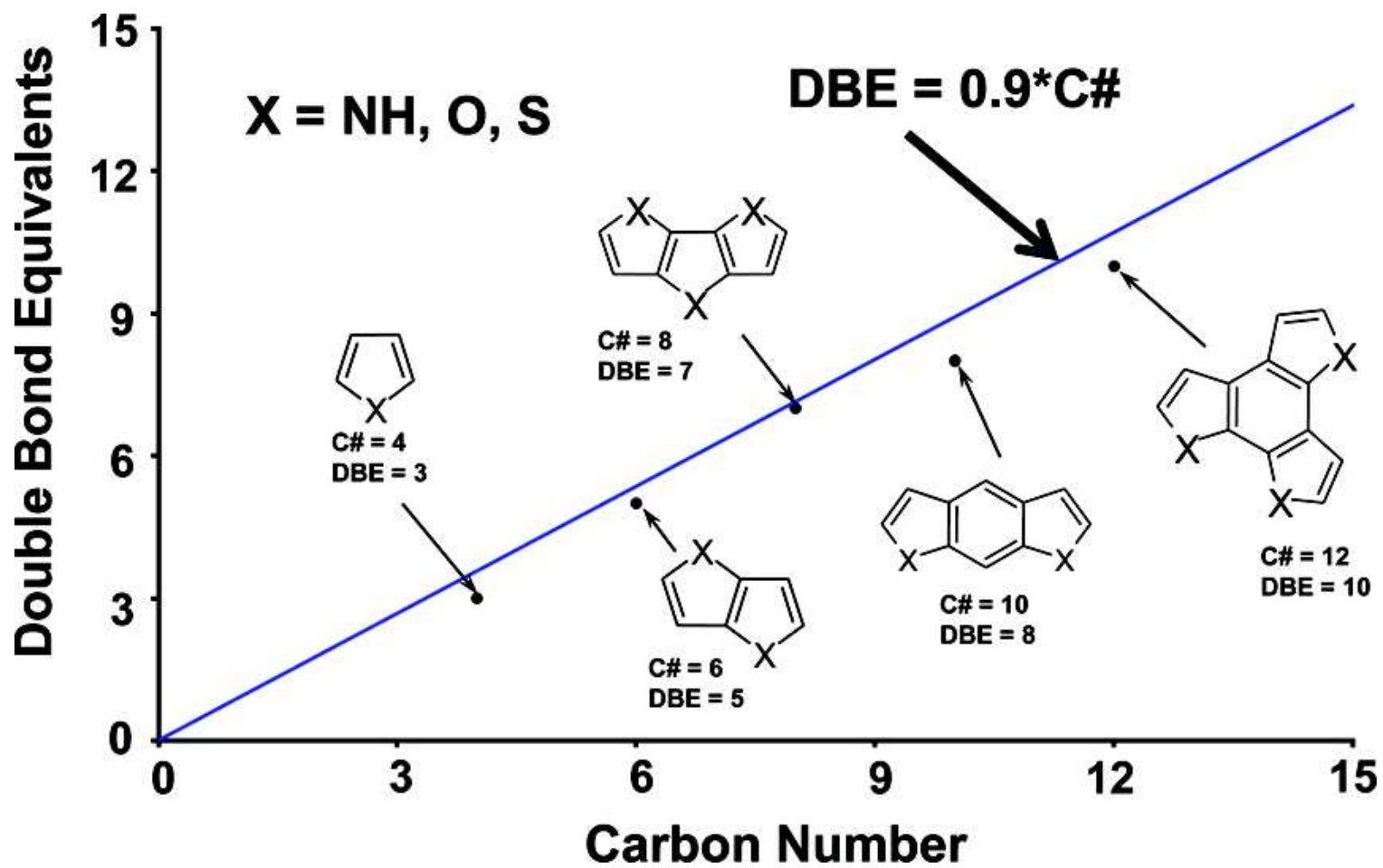
$$\text{RDBE} = \text{C} + \text{Si} - \frac{1}{2}(\text{H} + \text{F} + \text{Cl} + \text{Br} + \text{I}) + \frac{1}{2}(\text{N} + \text{P}) + 1$$



Compositional boundaries



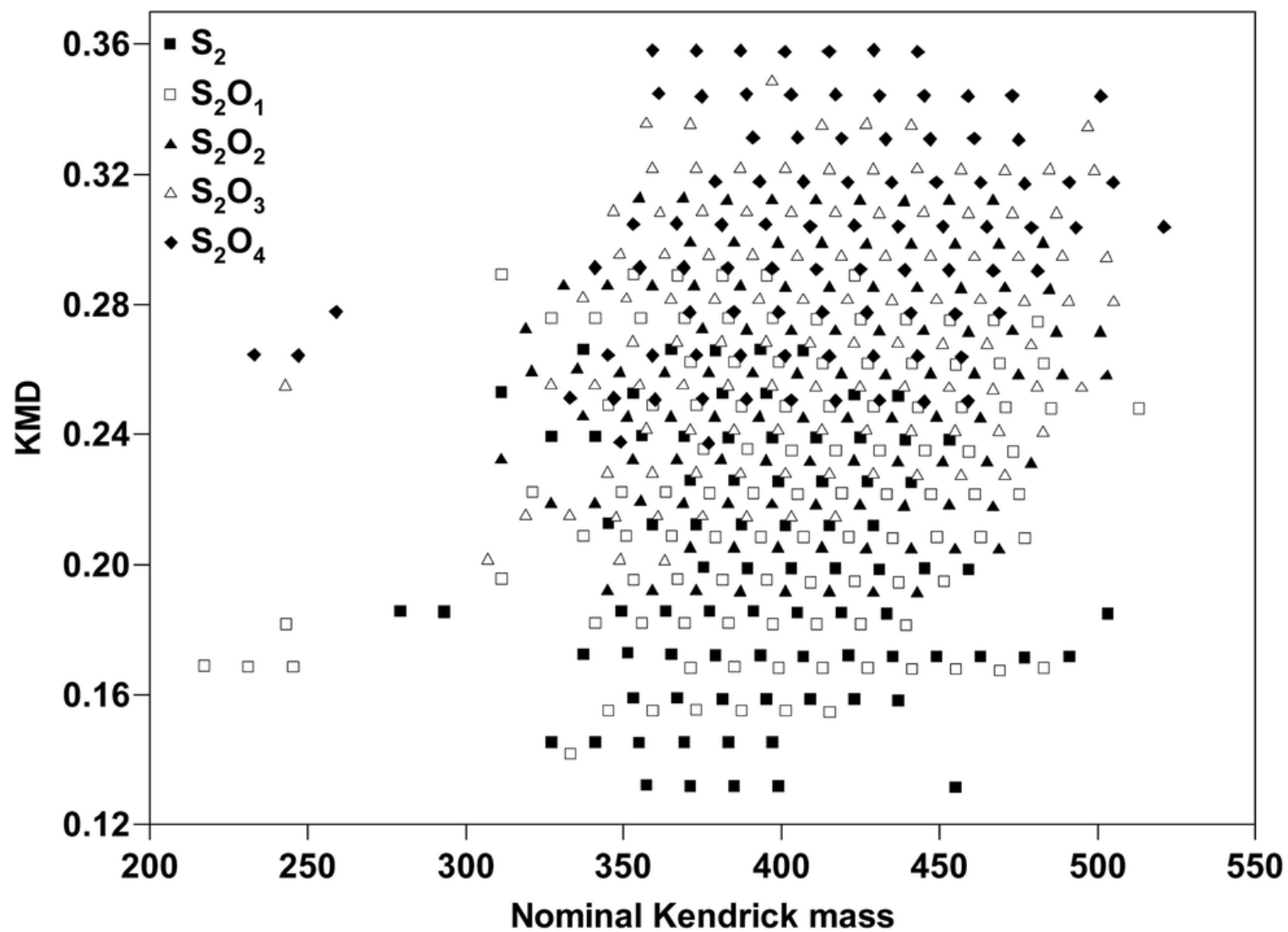
Compositional boundaries

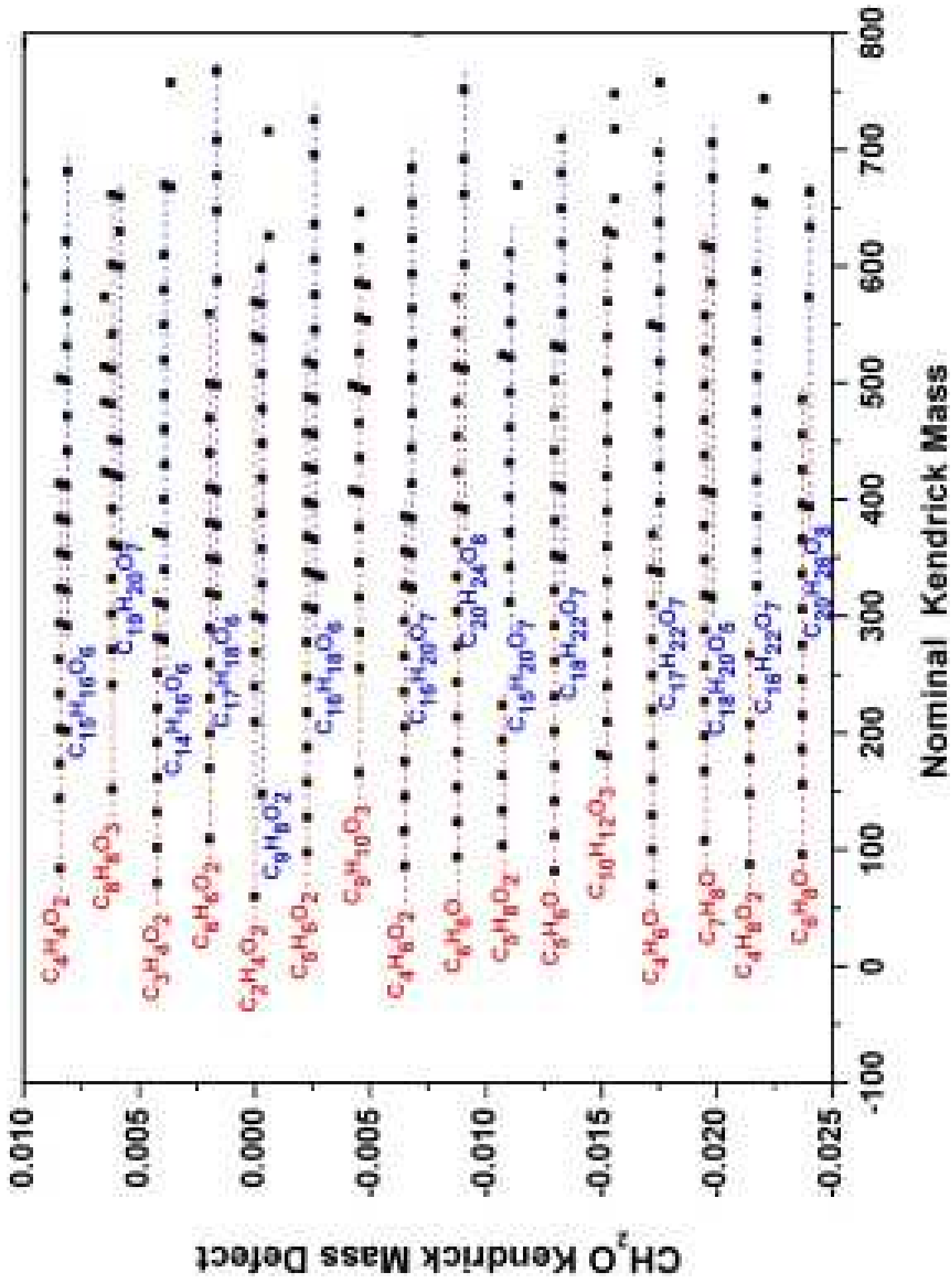


Kendrickova hmotnost

Kendrick mass = IUPAC mass \times (14.00000/14.01565)

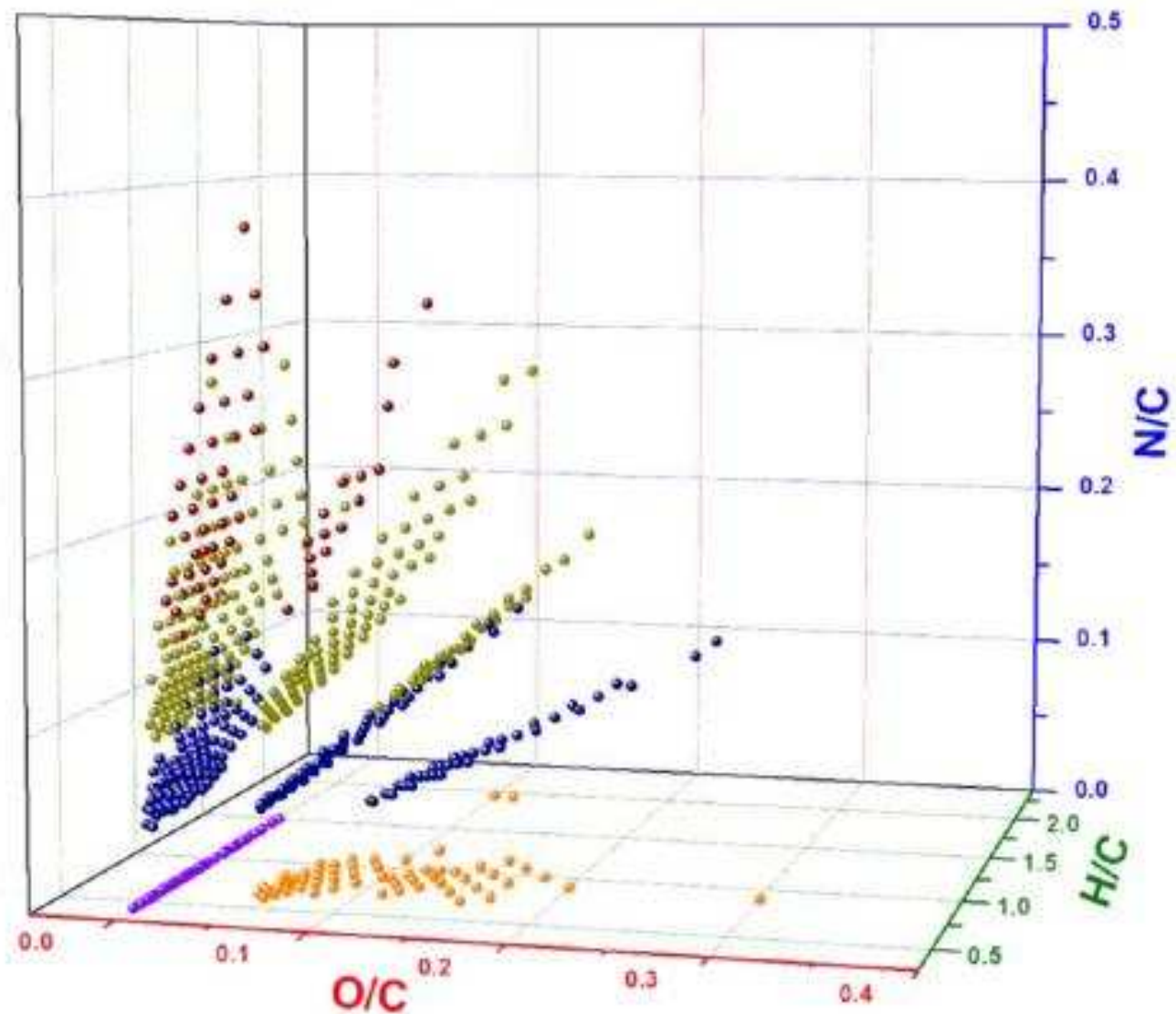
Kendrick mass defect = (Kendrick nominal mass - Kendrick exact mass)





Van Krevelenův diagram

- $C_n H_m^{+(-)}$
- $C_n H_m O_p^{+(-)}$
- $C_n H_m O N_p^{+(-)}$
- $C_n H_m O N_2^{+(-)}$
- $C_n H_m O N_3^{+(-)}$



Index aromaticity

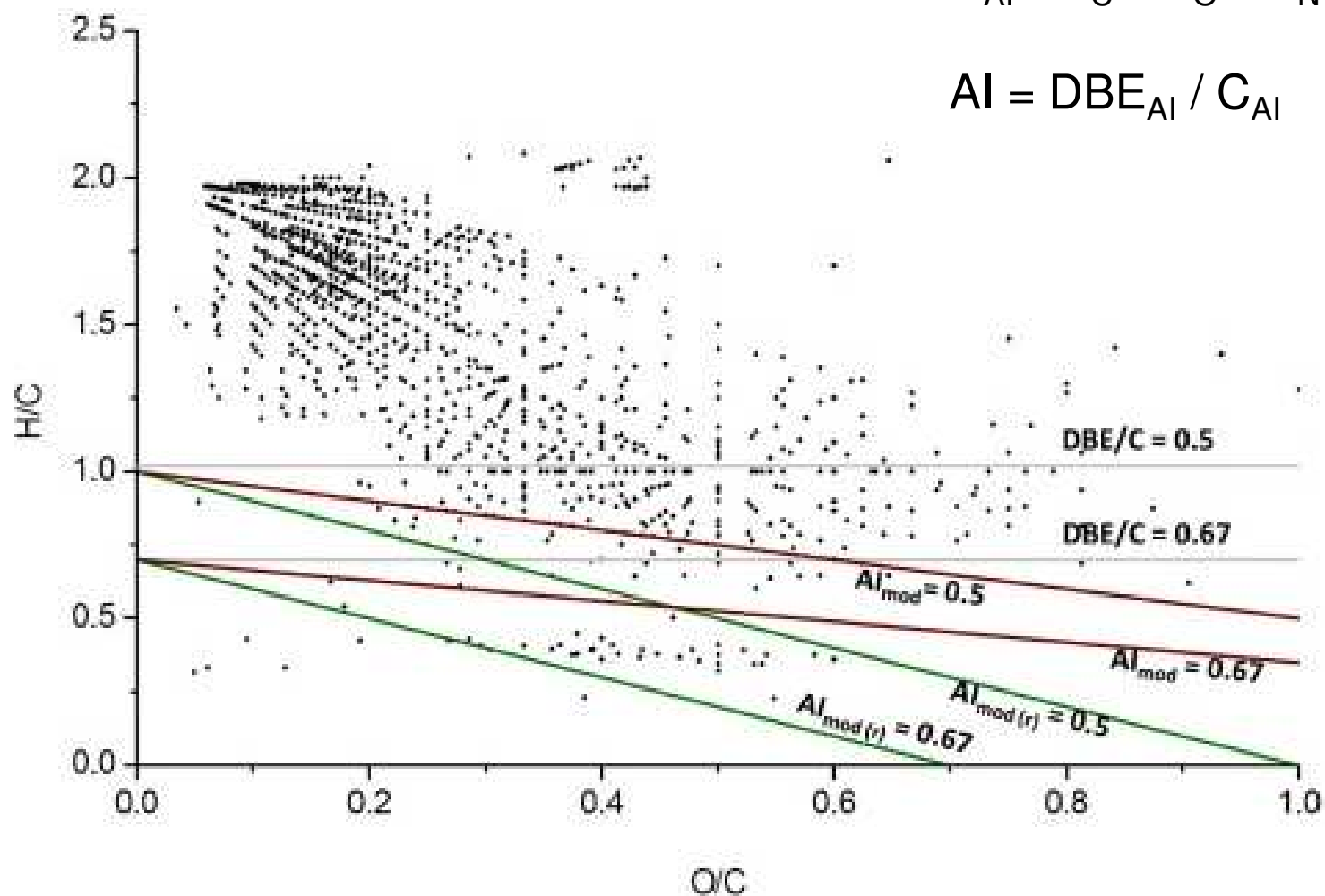
Kondenzované aromatické látky: $AI > 0.67$

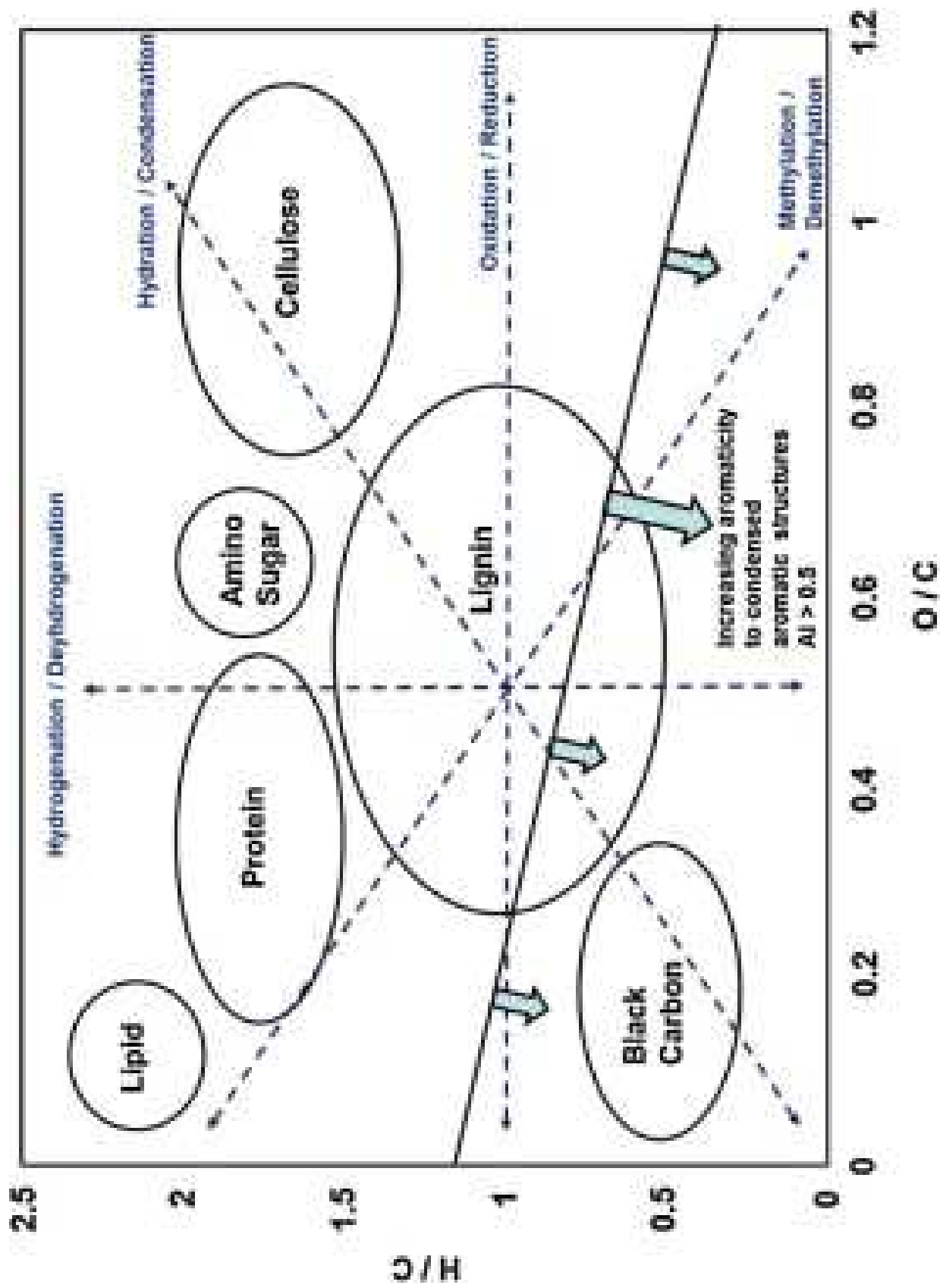
Aromatické látky: $AI > 0.5$

$$DBE_{AI} = 1 + n_C - n_O - n_S - 0.5n_H$$

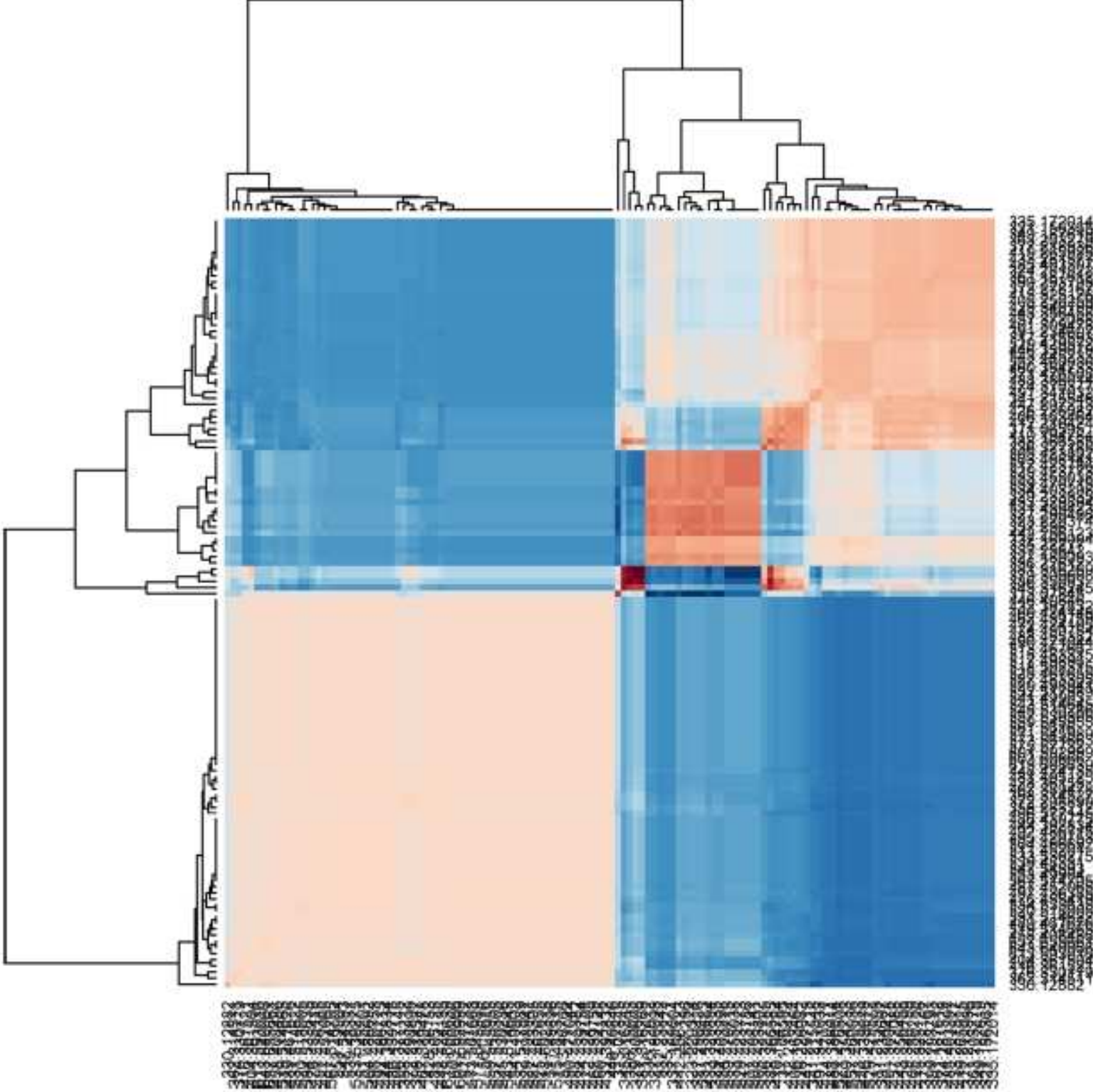
$$C_{AI} = n_C - n_O - n_N - n_S - n_P$$

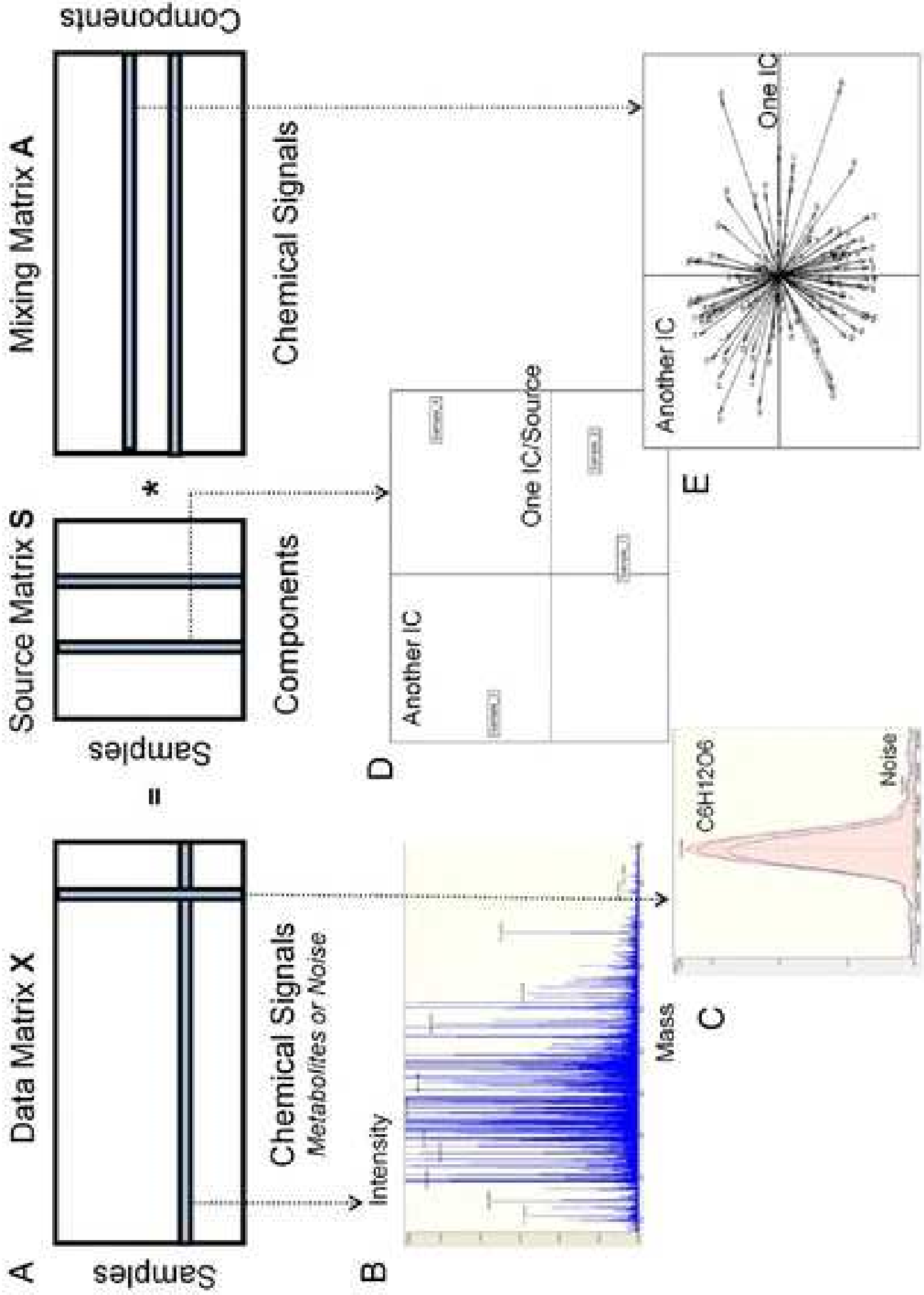
$$AI = DBE_{AI} / C_{AI}$$





Heatmap





Děkuji za pozornost !!