

## Dusíkové pravidlo

**Základní formulace (platí pro  $M_R$  a  $OE^+$ ):**

- lichá  $M_R$  = lichý počet dusíků v molekule
- sudá  $M_R$  = sudý počet dusíků v molekule nebo nula

**Pro ionty  $EE^+$  přesně naopak:**

lichá hodnota  $m/z$  znamená sudý počet dusíků, sudá hodnota  $m/z$  lichý počet dusíků

- platí pro běžné organické prvky (C, H, N, O, F, Si, P, S, Cl, Br, I)
- proč toto pravidlo? dusík je jediný z běžných organických prvků, který má sudé atomové číslo a lichou vaznost, všechny ostatní mají obojí buď liché nebo sudé

Počet dusíků	$m/z$ lichá	$m/z$ sudá
0, 2, 4, ... (sudý)	$EE^+$	$OE^+$
1, 3, 5, ... (lichý)	$OE^+$	$EE^+$

## Příspěvek izotopů $^{13}C$ (v %)

### k intenzitě iontů $M+2$ a $M+3$ ( $M = 100\%$ )

Počet C	M+1	M+2	Počet C	M+1	M+2	M+3
<b>C1</b>	1.1	0.00	<b>C10</b>	11.0	0.54	-
<b>C2</b>	2.2	0.01	<b>C15</b>	16.5	1.3	-
<b>C3</b>	3.3	0.04	<b>C20</b>	22.0	2.3	0.2
<b>C4</b>	4.4	0.07	<b>C50</b>	55.0	15.0	2.6
<b>C5</b>	5.5	0.12	<b>C100</b>	110.0	60.0	22.0

## Rozbor hmotnostních spekter jednoduchých látek

- **normalizace spekter** - hmotnostní spektra jsou vždy uváděna v normalizovaném tvaru, tzn. nejintenzivnějšímu píku spektra je přiřazena relativní intenzita 100% a intenzity ostatních píků se dopočítají; kromě grafické formy lze spektrum uvést i v tabelární formě (přesně uvedené intenzity, ale málo přehledné pro interpretaci)
- hmotnostní spektrum - **osa y = relativní intenzita v %**, **osa x = poměr hmotnosti a náboje ( $m/z$ )**, ve většině případů je náboj roven jedné (kromě ESI) a potom hodnota na ose x odpovídá přímo hmotnosti
- pro reprodukovatelnost hmotnostních spekter (na sektoru) se uvádí chyba do  $\pm 0.2$  absolutních jednotek nebo  $\pm 10\%$  relativních (bere se to, co je větší)

## Obecný postup interpretace EI spekter

### a/ určení molekulové hmotnosti ( $M_R$ )

- pro určení iontu  $M^+$  platí:

**1/** ion s nejvyšší hodnotou  $m/z$  ve spektru (izotopické píky se neberou v úvahu)

**2/** musí to být ion s lichým počtem elektronů  $OE^+$  ("Odd Electron")

**3/** ion  $M^+$  obvykle poskytuje logické ztráty menších neutrálních molekul nebo radikálů, např. 15 (methyl), 18 (voda), 28 (ethylen nebo CO), 35 nebo 36 (Cl nebo HCl), apod.; nesmí se vyskytovat tzv. "zakázané ztráty" z molekulárního iontu (4-14 a 21-25), tyto ztráty jsou vysoce nepravděpodobné (např. ztráta  $CH_2$ ) a jejich přítomnost ukazuje na nesprávného určení molekulárního iontu

*Poznámka* – ztráta  $CH_2$  z molekulárního iontu  $M^+$  ( $\Delta m/z$  14) patří mezi zakázané ztráty a je velmi nepravděpodobná, ale diference mezi 2 fragmentovými ionty ve spektru  $\Delta m/z$  14 je naopak běžná (pozor na záměnu rozdílu mezi  $M^+$  a fragment vs. rozdíl mezi 2 fragmentovými ionty)

- pokud máme možnost, je vhodné správnost určení  $M_R$  potvrdit s použitím šetrnějších ionizačních technik (zejména v případě nejistoty)

## Obecný postup interpretace EI spekter (pokrač.)

### b/ určení elementárního složení molekuly (alespoň částečně nebo odhad)

- pokud je možnost, použít měření s vysokým rozlišením (lze použít např. TOF, QqTOF, sektorový magnetický analyzátor s dvojitou fokusací iontů, Orbitrap, ICR)

- podle dusíkového pravidla určit lichý  $\times$  sudý počet dusíků v molekule

- určení počtu A+2 atomů (nejdříve Cl a Br, potom S a Si, nakonec odhad O - nezapomenout odečíst vliv  $2^{*13}C$ )

- odhad počtu uhlíků  $\pm 1$

## Obecný postup interpretace EI spekter (pokrač.)

### c/ výpočet počtu míst nenasycenosti

- počet míst nenasycenosti (Ring + Double Bonds, R+DB):

$$R+DB = x - 1/2y + 1/2z + 1,$$

kde x je počet uhlíků (obecně čtyřvazných atomů, např. C, Si), y je počet vodíků (obecně jednovazných, např. halogeny), z je počet dusíků (obecně trojvazných atomů)

**Příklad:** fenol -  $R+DB = 6 - 1/2*6 + 1/2*0 + 1 = 4$ , tzn. jeden kruh + 3 dvojně vazby na aromatickém jádře - aromatickému jádru odpovídá hodnota 4, pokud je méně, není aromát přítomen

- použijeme-li tento výpočet pro molekulární ion  $M^{+}$  nebo pro jiný iont s lichým počtem elektronů  $OE^{+}$ , získáme celočíselnou hodnotu
- v případě iontů se sudým počtem elektronů  $EE^{+}$  získáme hodnotu zakončenou jednou polovinou

**Příklad:** fenylový ion se sudým počtem elektronů  $[C_6H_5]^{+}$ :

$$R+DB = 6 - 1/2*5 + 0 + 1 = 4.5 \text{ (tzn. počet nenasyceností} = 4, \text{ polovina znamená } EE^{+} \text{ ion)}$$

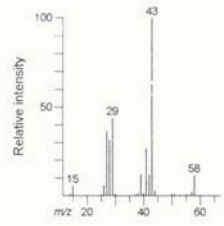
## Obecný postup interpretace EI spekter (pokrač.)

### d/ identifikace iontů aromatické a alifatické série

- **charakteristické ionty aromatické série:** (26 a 27), 38 a 39, 50 - 52, 63 - 65, 75 - 78 (nemusí být všechny, obvykle přítomen alespoň jeden ion v sérii)
- pokud je na aromatickém jádře elektrondonorní substituent, pak spíše ionty s vyšším počtem vodíků v sérii (např. 39, 52, 65, 77), pokud je substituent elektronakceptorní, pak spíše s nižším počtem H v sérii (např. 38, 50, 63, 75)
- 91 tropyliový ion  $[C_7H_7]^{+}$  typický pro alkylaromáty (většinou základní pík)
- 92  $[C_7H_8]^{+}$  (ion  $OE^{+}$ ) - pokud je jeho intenzita  $>30\%$   $\Rightarrow$  důkaz alkylaromátu s alkylem delším než propyl (velmi průkazné); pro ethyl 7.7%, pro propyl 10%, pro butyl 44%
- 105 ion benzoylový  $[C_6H_5CO]^{+}$  (alternativně může být i fenylethylenový  $[C_6H_5CH_2CH_2]^{+}$ , ale s nižší intenzitou), pokud je delší alifatický substituent, tato řada může dále pokračovat 119, 133, 147, atd. (nebo podle typu substituce na benzenovém jádře)
- pro alkylnaftaleny navíc charakteristické ionty m/z 141 (analogie tropyliového iontu) a 115 (ztráta ethylenu)
- pro aromáty a polyaromáty (obecně sloučeniny s vysokou konjugací a tím možnou stabilizací nepárového elektronu delokalizací) je též typický vznik dvakrát nabitých iontů typu  $M^{2+}$  (tzn. poloviční hodnota m/z a diference mezi izotopickými píky  $\Delta m/z = 0.5$ )

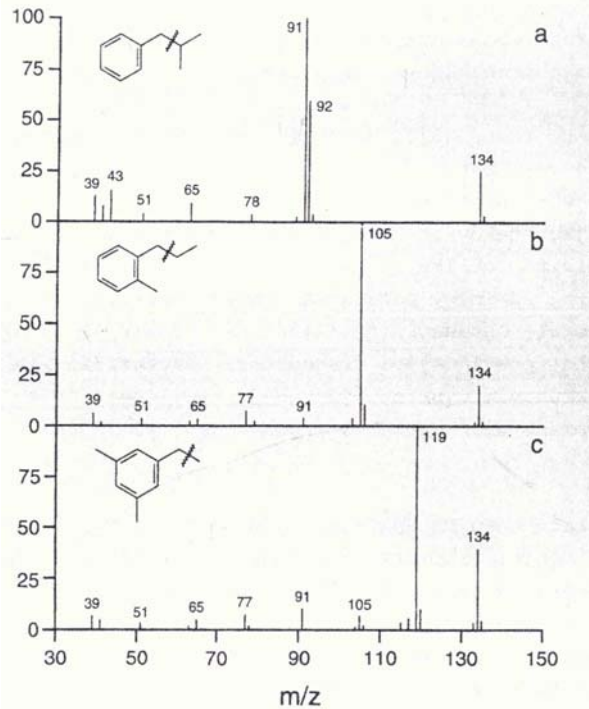
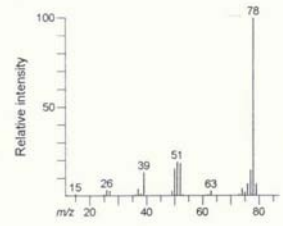
**Unknown 2.4**

m/z	Int.	m/z	Int.
12	0.1	40	1.6
13	0.3	41	27.
14	1.0	42	12.
15	5.3	43	100.
25	0.5	44	3.3
25.5	0.4	48	0.1
26	6.1	49	0.4
26.5	0.1	50	1.2
27	37.	51	1.0
27.5	0.1	52	0.3
28	32.	53	0.7
29	44.	54	0.2
30	1.0	55	0.9
36	0.1	56	0.7
37	1.0	57	2.4
38	1.8	58	12.
39	12.	59	0.5



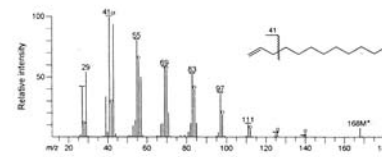
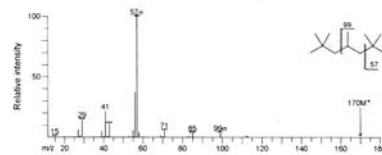
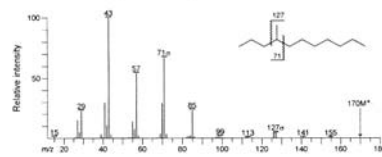
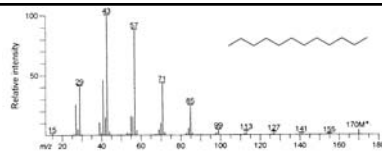
**Unknown 2.5**

m/z	Int.	m/z	Int.
12	0.2	53	0.8
13	0.4	60	0.2
14	0.4	61	0.4
15	1.0	62	0.8
24	0.4	63	2.9
25	0.8	64	0.2
26	3.2	72	0.4
27	2.6	73	1.0
36	0.9	74	3.9
37	3.8	75	2.2
39	13.	76	7.0
40	0.4	77	15.
50	16.	78	100.
51	19.	79	6.8
52	20.	80	0.2



## Obecný postup interpretace EI spekter (pokrač.)

- **charakteristické ionty alifatické série ( $\Delta = 14$ ):**
- 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, atd.
- spíše malá skupina píků než jediný pík, často pozorovány méně intenzivní ionty o 2 jednotky nižší než uvedená série
- maximum této série pro nerozvětvený alkyl bývá pro propyl nebo butyl ( $m/z$  43 a 57)
- s rostoucí délkou alkylu klesá intenzita vyšších členů řady
- pokud jde o nerozvětvený alkyl, pokles intenzity má pravidelný průběh
- u rozvětvených alkylů dojde k nárůstu intenzity fragmentových iontů, které vedou ke vzniku sekundárních nebo terciárních alkylových iontů, které mají vyšší stabilitu a tudíž i vyšší relativní intenzitu (určení místo rozvětvení alkylu)



## Obecný postup interpretace EI spekter (pokrač.)

### e/ další charakteristické série iontů ( $\Delta = 14$ )

- sudé série iontů odpovídají iontům obsahující dusík nebo lichý počet elektronů  $OE^+$ .

Funkční skupina	Vzorec	Koeficient*1	m/z série
alkyl	$[C_nH_{2n+1}]^+$	0	15, 29, 43, ...
nitril	$[C_nH_{2n-2}N]^+$	-3	40, 54, 68, ...
alkenyl, cykloalkyl	$[C_nH_{2n-1}]^+$	-2	27, 41, 55, ...
alkeny, cykloalkeny, alkyl-Y <sup>2</sup>	$[C_nH_{2n}]^{+}$	-1	28, 42, 56, ...
aldehydy, ketony	$[C_nH_{2n-1}O]^+$	0	29, 43, 57, ...
aminy	$[C_nH_{2n+2}N]^+$	+1	30, 44, 58, ...
alkoholy, etery	$[C_nH_{2n+1}O]^+$	+2	31, 45, 59, ...
kyseliny, estery	$[C_nH_{2n-1}O_2]^+$	+2	45, 59, 73, ...
thioly, sulfidy	$[C_nH_{2n+1}S]^+$	+4	33, 47, 61, ...
chloralkyly	$[C_nH_{2n}Cl]^+$	-8	35, 49, 63, ...
aromáty	$[C_nH_{\leq n}]^+$	-4 až -10	38, 39, 50 - 52, 63 - 65, 75 - 78

\*1 ve srovnání s alkylovou sérií

\*2 HY je molekula s nízkou protonovou afinitou

## Obecný postup interpretace EI spekter (pokrač.)

### f/ shrnutí získaných informací, detailní interpretace, návrhy možných struktur a jejich korelace se spektry

- v předchozích krocích jsme již určili:

a/ molekulovou hmotnost

b/ elementární složení molekuly, zejména počet atomů s intenzivními izotopickými píky (nebo alespoň pravděpodobné možnosti)

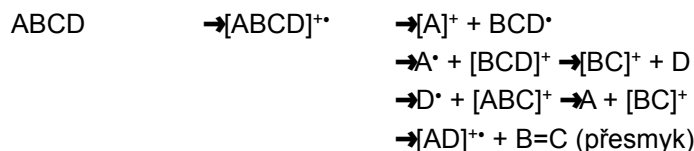
c/ určení aromatické a alifatické série

d/ nalezení intenzivních  $OE^+$  iontů důležitých pro interpretaci

- nyní je třeba "dát dohromady" získané informace a pokusit se navrhnout potenciální struktury či podstruktury molekuly (vždy zvažovat všechny teoretické možnosti a mezi nimi vybrat nejvhodnější na základě interpretace!)
- znovu vzít v úvahu všechny informace o vzorku, které máme a korelovat, zda souhlasí s našimi návrhy, popř. nejasnosti ověřit v odborné literatuře
- konečný návrh struktury, popř. další měření
- za jednoznačné potvrzení struktury lze považovat až porovnání spektra identického standardu a analyzované látky za stejných podmínek (často v praxi obtížné až nemožné, tak alespoň porovnání spektra z knihovny spekter)

## Základní pravidla interpretace

- štěpení při EI jsou vzhledem k nízkému tlaku **monomolekulární** (bimolekulární reakce probíhají pouze u chemické ionizace a měkkých ionizačních technik)
- v závislosti na energii mohou vznikat různé neutrální nebo nabitě fragmenty



**Stevenson-Audierovo pravidlo:** při monomolekulárním rozpadu iontu s lichým počtem  $e^-$   $[\text{AB}]^{+\bullet}$  mohou teoreticky vzniknout dvě série iontu a radikálu:  $[\text{A}]^+$  a  $\text{B}^\bullet$  anebo  $\text{A}^\bullet$  a  $[\text{B}]^+$

- vznikne převážně ion s nižší ionizační energií, přesněji poměr intenzit iontů ve spektru se bude řídit poměrem jejich ionizačních energií  $[\text{A}]^+ : [\text{B}]^+ = \text{IE}(\text{A}) : \text{IE}(\text{B})$

- platí i pro ionty se sudým počtem elektronů  $\text{EE}^+$

**Ztráta největšího alkylu** (základní výjimka Stevenson-Audierova pravidla):

- poměr intenzit vznikajících iontů u látky typu  $[\text{Bu-Pr-Me-CH}]^{+\bullet}$  bude klesat v pořadí:  $[\text{Pr-CH-Me}]^+ > [\text{Bu-CH-Me}]^+ > [\text{Pr-CH-Bu}]^+ > [\text{Pr-Bu-C-Me}]^+$

## Základní pravidla interpretace (pokrač.)

**Stabilita vznikajícího iontu:** čím více rezonančních struktur (zejména s využitím nevazebných  $e^-$ ) může stabilizovat vznikající ion, tím vyšší bude jeho relativní intenzita (jinak řečeno: stabilita iontu se zvyšuje s možnou delokalizací náboje)

**Důležitost píku ve spektru roste s:**

- a/ rostoucí relativní intenzitou
- b/ rostoucí hmotou ve spektru
- c/ rostoucí intenzitou v rámci malé skupiny píků lišících se počtem H
- d/ zvláštní důležitost mají všechny ionty s lichým počtem  $e^-$   $\text{OE}^{+\bullet}$

- nedostatek iontů se sudou hodnotou  $m/z$  (zejména v nízkomolekulární oblasti) ukazuje na sudou  $M_R$

## Základní pravidla interpretace (pokrač.)

### Pořadí snadnosti ionizace při EI:

n-elektrony (volný elektronový pár - halogeny, O, N, S) >

$\pi$ -elektrony konjugované (aromáty) >

$\pi$ -elektrony nekonjugované (alkeny) >>

$\sigma$ -elektrony (alkany - vazba C-C) >

$\sigma$ -elektrony (alkany - vazba C-H)

### Přibližné pořadí stability molekulárních iontů $M^{+}$ :

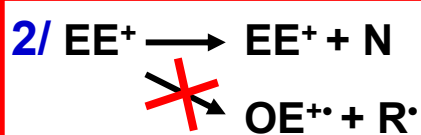
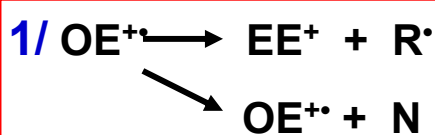
aromáty > konjugované olefiny > cyklické látky > sulfidy > nerozvětvené uhlovodíky > ketony > aminy > estery > etery > karboxylové kyseliny > rozvětvené uhlovodíky > alkoholy

### Fieldovo pravidlo:

při fragmentaci iontu  $EE^+$  dochází přednostně k odštěpení neutrální molekuly s nižší protonovou afinitou (PA), resp. poměr intenzit vznikajících iontů odpovídá poměru PA odstupujících neutrálních molekul

**Příklad:** tvorba  $[C_2H_5]^+$  z  $[C_2H_5O=CH_2]^+$  odštěpením neutrální molekuly  $CH_2=O$  (PA = 7.4 eV) bude mnohem intenzivnější ve srovnání s tvorbou  $[C_2H_5]^+$  z  $[C_2H_5S=CH_2]^+$  odštěpením neutrální molekuly  $CH_2=S$  (PA = 8.9 eV)

## Pravidlo sudého počtu elektronů (Even-Electron Rule)



**1/ Fragmentace iontů s lichým počtem  $e^-$  ( $OE^{+\cdot}$ )** – mohou vznikat opět ionty s lichým počtem  $e^-$  anebo se sudým počtem  $e^-$

**2/ Fragmentace iontů se sudým počtem elektronů ( $EE^+$ )** - přednostně vnikají opět ionty se sudým počtem elektronů

-vznik kation-radikálů při fragmentaci iontů se sudým počtem elektronů vyžaduje energeticky velmi nevýhodné rozdělení elektronového páru

- výjimky: některé polyhalogenované sloučeniny, aromatické o-substituované sloučeniny s alkeny nebo alkenyl a alkylem, substituované dihydroaromatické sloučeniny (asi 200)

- obecně jsou  $EE^+$  ionty stabilnější ve srovnání s  $OE^{+\cdot}$ , a proto ve spektru většina iontů je  $EE^+$  (všechny  $OE^{+\cdot}$  ionty je třeba poznat a pečlivě zkoumat!)



## Základní způsoby štěpení vazeb

**1/ homolytické štěpení** – z dvouelektronové vazby získají oba vznikající fragmenty po jednom elektronu



**2/ heterolytické štěpení** – z dvouelektronové vazby získá oba elektrony jeden fragmentový ion



**3/ přesmykové reakce** – štěpení nejméně dvou vazeb a vznik nové vazby, dojde k přenosu určité skupiny na jiné místo molekuly přes transitní stav, kterým je obvykle 3, 4 nebo 6 členný cyklický systém



- přenos jednoho elektronu se značí pološipkou (tzv. rybářský háček z anglického „fish hook“)
- přenos elektronového páru (tzn. celé vazby) se značí klasickou plnou šipkou

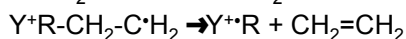
## Základní typy fragmentací - iniciace ztrátou sigma-elektronu

- ztrátou jednoho  $e^-$  z jednoduché vazby dojde k jejímu výraznému oslabení, což často přímo vede k fragmentaci
- pro nasycené uhlovodíky je to energeticky nejméně náročný proces (protože jiný „snadněji“ ionizovatelný elektron není k dispozici, pro všechny ostatní třídy sloučenin je to energeticky nejméně výhodný proces)
- alkany:  $R + \cdot CR_3 \rightarrow R\cdot + [CR_3]^+$
- přítomnost heteroatomu:  $R + \cdot YR \rightarrow R\cdot + [YR]^+$
- přednostně bude docházet ke štěpení **v místech rozvětvení**, protože stabilita vznikajících iontů je v pořadí: terciární > sekundární > primární, což nám umožní určit polohu rozvětvení
- v případě přítomnosti heteroatomu Y bude vznikající ion stabilizován zapojením jeho nevazebných  $e^-$

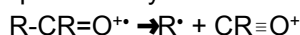
## Základní typy fragmentací - iniciace radikálovým centrem ( $\alpha$ -štěpení)

- **hnací silou je snaha nepárového  $e^-$  vytvořit elektronový pár**
- lichý elektron je donorem pro vytvoření nové vazby se sousedním atomem, což je doprovázeno štěpením jiné vazby na tomto atomu
- náboj zůstává na stejném místě, radikál migruje
- **schopnost radikálových center iniciovat reakce** je shodná s jejich schopností být elektronovým donorem: **N > S, O,  $\pi$ , R $^\bullet$  > Cl > Br > I**

Nasycená skupina:



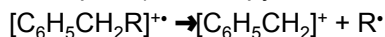
- typické pro karbonylové sloučeniny (obecně nenasycený heteroatom):



Allylové štěpení:



Benzylové štěpení (vznik tropyliového iontu m/z 91):

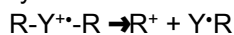


- pokud je náboj i nepárový  $e^-$  dislokován na jiném místě = tzv. **distonický ion**

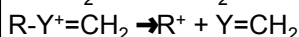
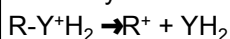
## Základní typy fragmentací - iniciace nábojovým centrem (i-štěpení)

- **hnací silou je přitažlivost elektronového páru kladným nábojovým centrem**
- méně časté ve srovnání s  $\alpha$ -štěpením
- nábojové centrum při fragmentaci migruje, radikál zůstává zachován
- důležitý faktor je stabilizace vznikajícího iontu
- **snaha tvorby R $^+$  z RY klesá v řadě: halogeny > O, S > N, C**

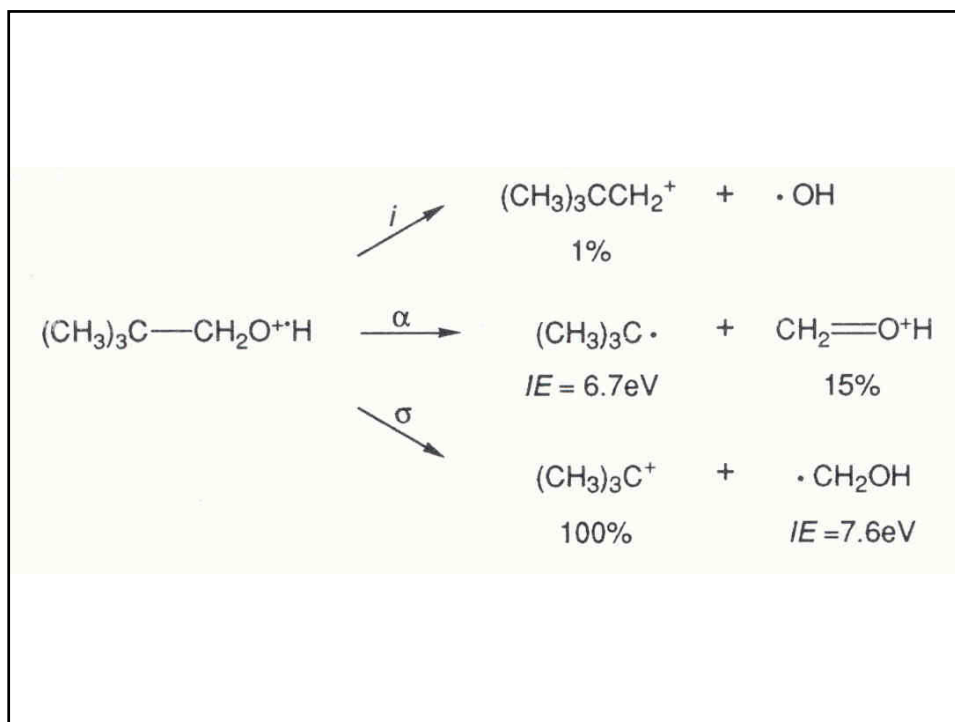
OE $^+$  ionty:



EE $^+$  ionty:



**Úkol:** Kyslík je schopen iniciovat jak  $\alpha$ -štěpení, tak i-štěpení. Navrhněte oba typy štěpení a m/z vznikajících produktů pro ethylpropyléter a ethylpropylketon



## Základní typy fragmentací - přesmykové reakce

- dochází k vytvoření nové vazby na jiný atom (důležité sterické předpoklady) a zániku jiné vazby a následnému uvolnění neutrálního fragmentu (dojde k přesmyku části molekuly)  $[\text{ABCD}]^{+*} \rightarrow [\text{AD}]^{+*} + \text{B}=\text{C}$

- pokud je přesmyková reakce specifická a dobře popsána pro daný typ látek, pak je velmi cenná pro strukturní analýzu

- **McLaffertyho přesmyk** ( $\beta$ -štěpení s přesmykem vodíku):

- **3 základní podmínky pro uskutečnění tohoto nejznámějšího přesmyku:**

**1/ iont s lichým počtem elektronů  $\text{OE}^{+*}$**

**2/ sloučenina s dvojnou vazbou**

**3/ přítomnost  $\gamma$ -vodíku**

- Hodnoty  $m/z$  fragmentů se zachováním náboje pro některé sloučeniny typu  $\text{RCOX}$ :

X	H	$\text{CH}_3$	OH	$\text{OCH}_3$	$\text{NH}_2$	$\text{NHCH}_3$	Cl
$m/z$	44	58	60	74	59	73	78

- celou řadu dalších přesmyků lze nalézt v odborné literatuře, např. retro Diels-Alderův přesmyk se zachováním nebo migrací náboje, přenos 2 vodíků, alkybenzenový přesmyk, cyklohexanový

