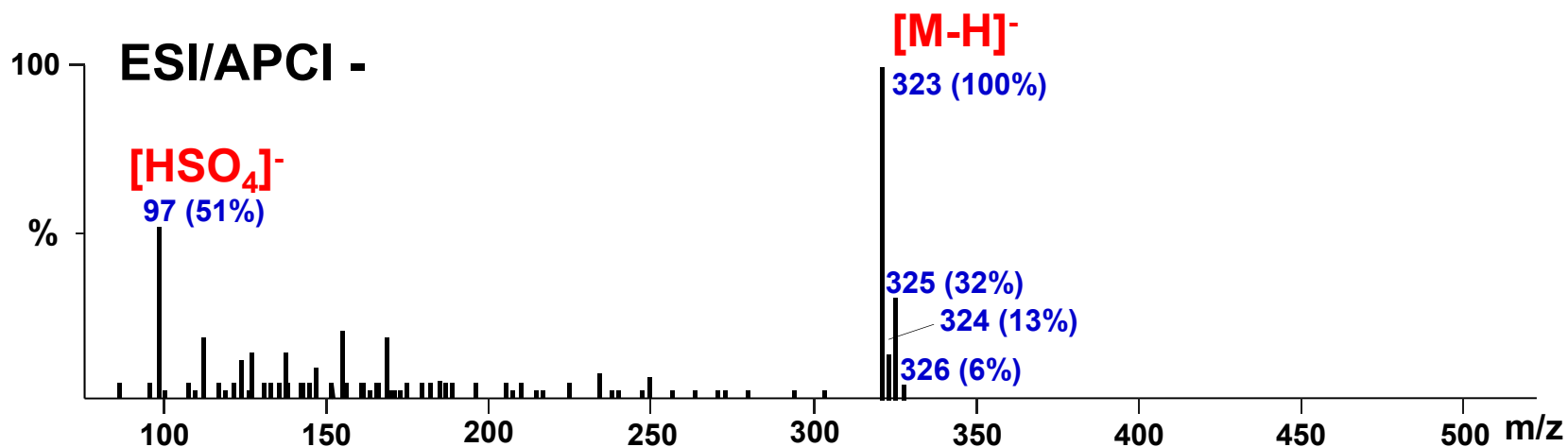
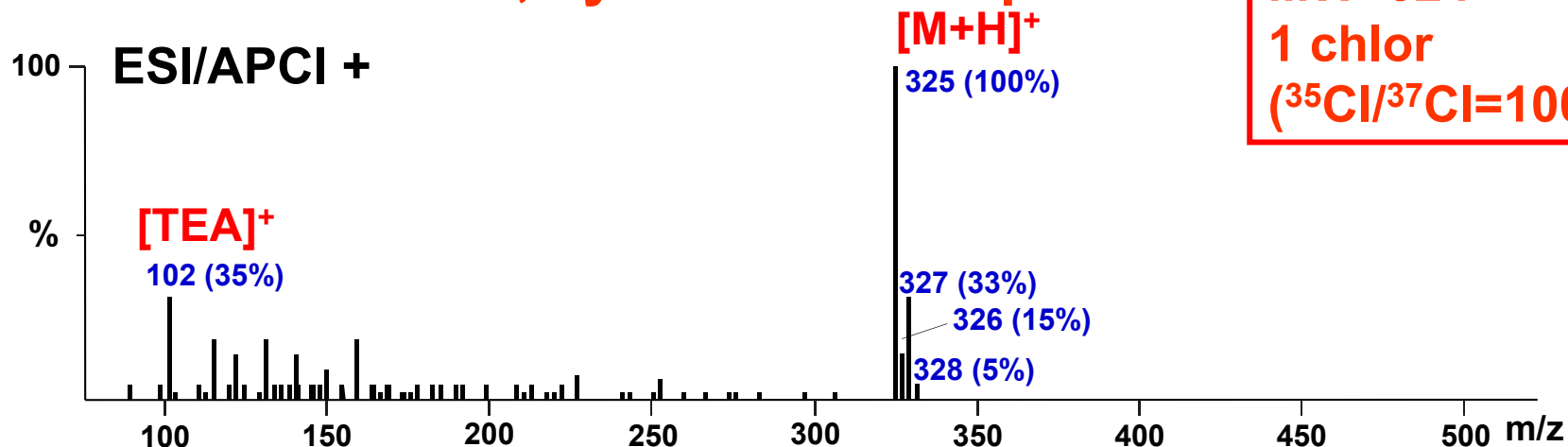


No. 1- určete MW, vysvětlení izotopů

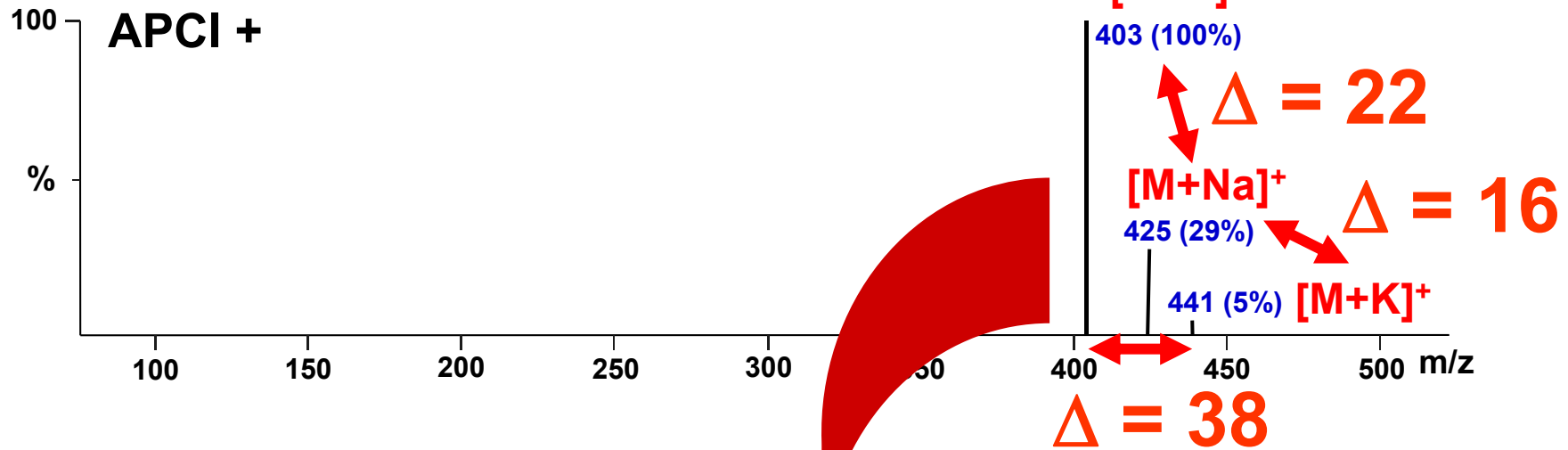
MW=324
1 chlor
(³⁵Cl/³⁷Cl=100:32)



- šum bude v dalších spektrech pro jednoduchost zanedbán
- izotopické píky nebudou většinou zakresleny

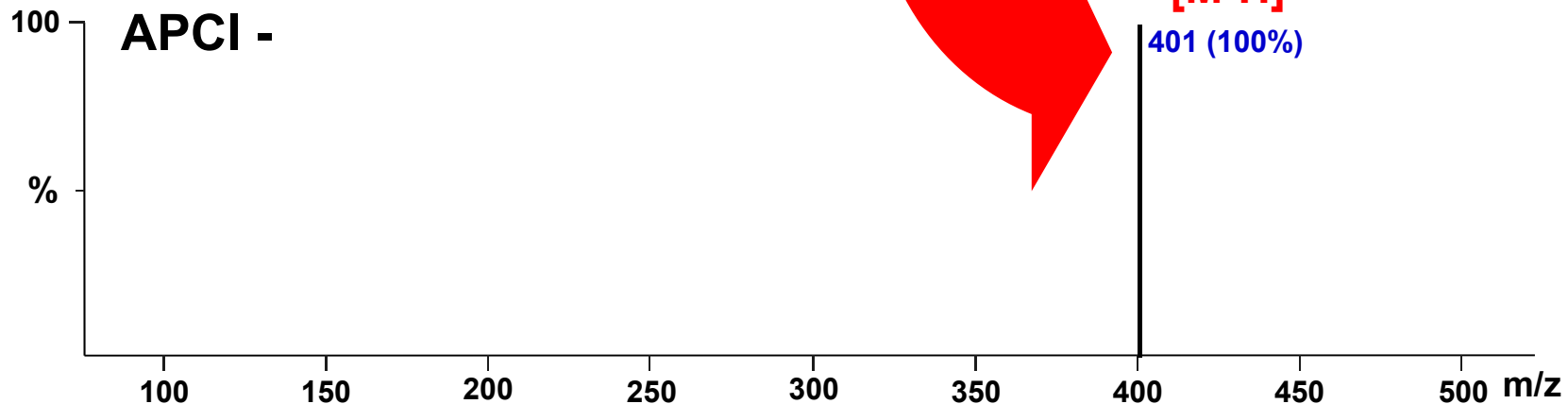
No. 2 - určete MW, popište ionty

MW=402



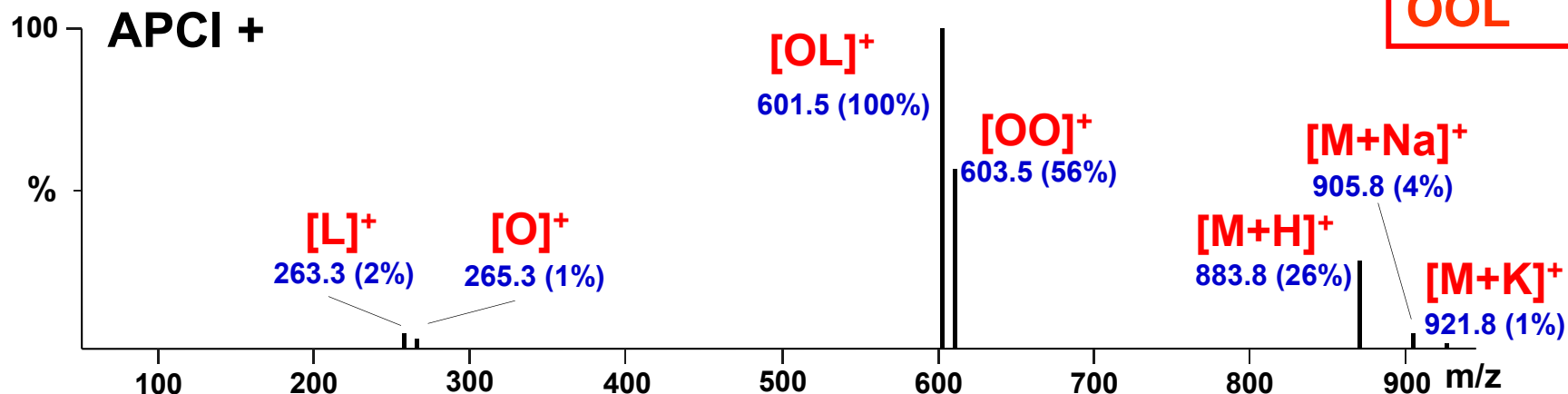
$\Delta = 2$

Úkol: jaké změny očekáváte po přidavku 5 mM octanu amonného do mobilní fáze

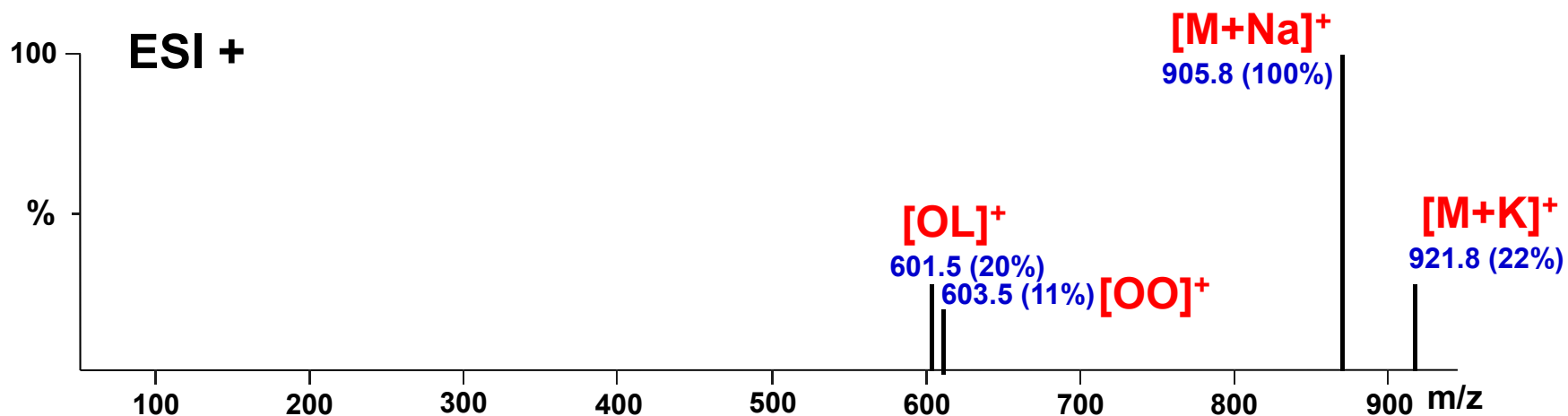


No. 3 - určete MW, ionizační mód, popište ionty

MW=882.8
OOL

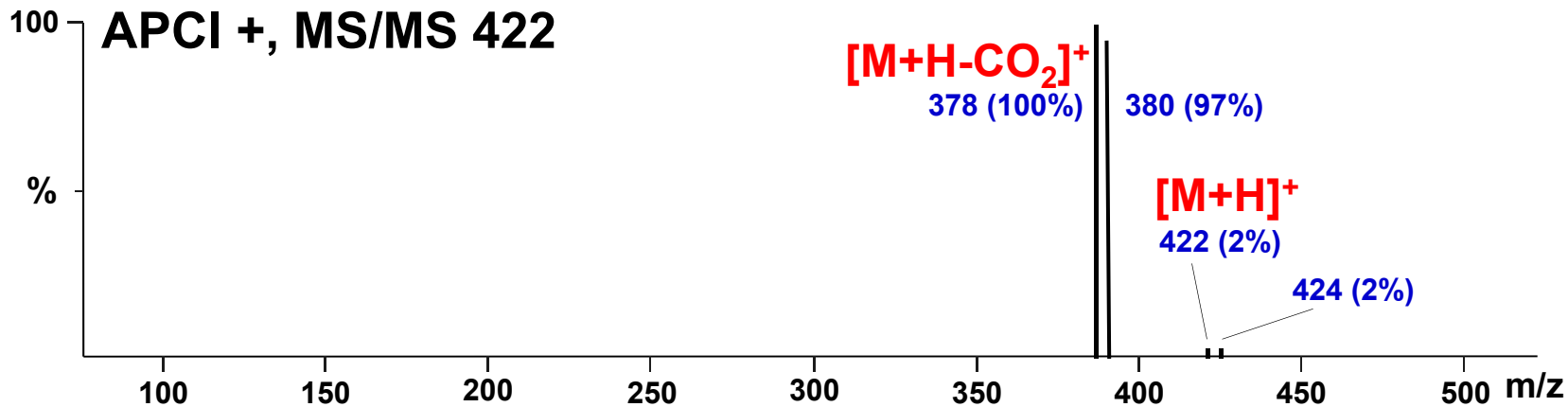
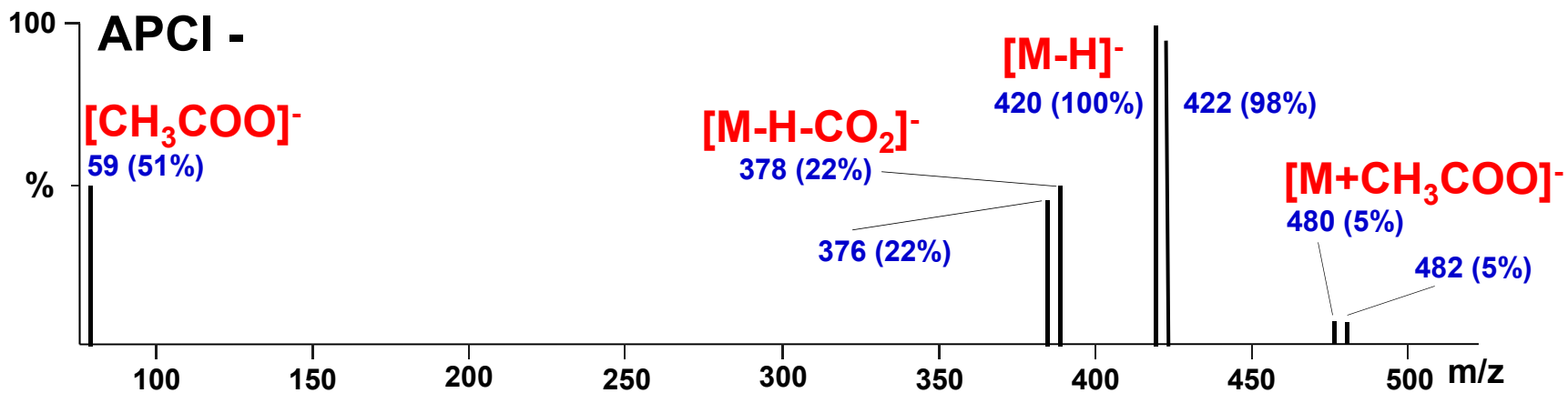
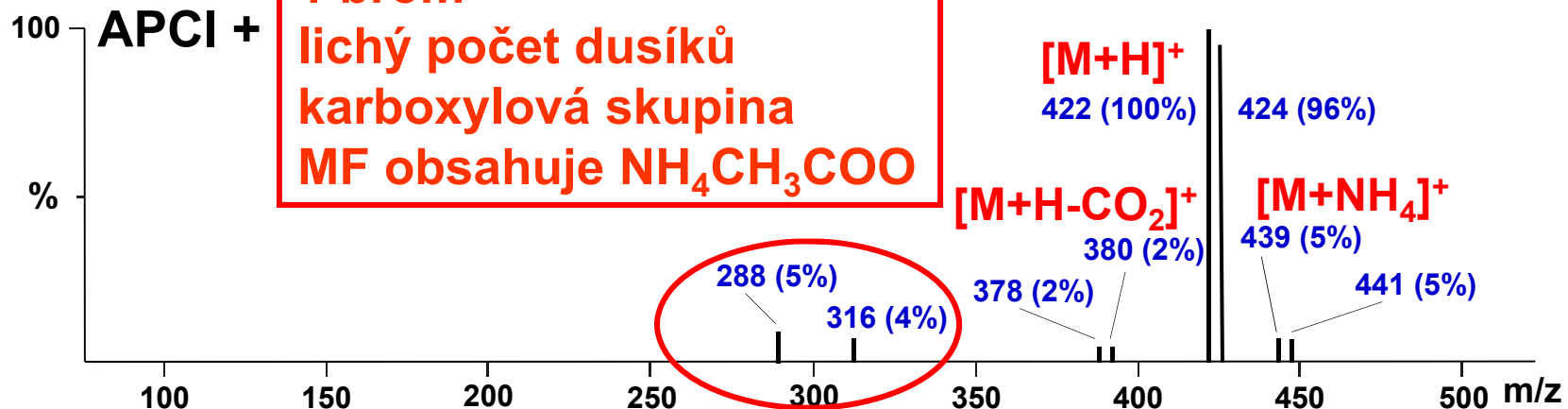


| | | |
|------------------|-------------------|--------------------|
| [O] ⁺ | [OO] ⁺ | [M+H] ⁺ |
| $C_{18}H_{33}O$ | $C_{39}H_{71}O_4$ | $C_{57}H_{102}O_6$ |
| 265.25 | 603.54 | 882.77 |



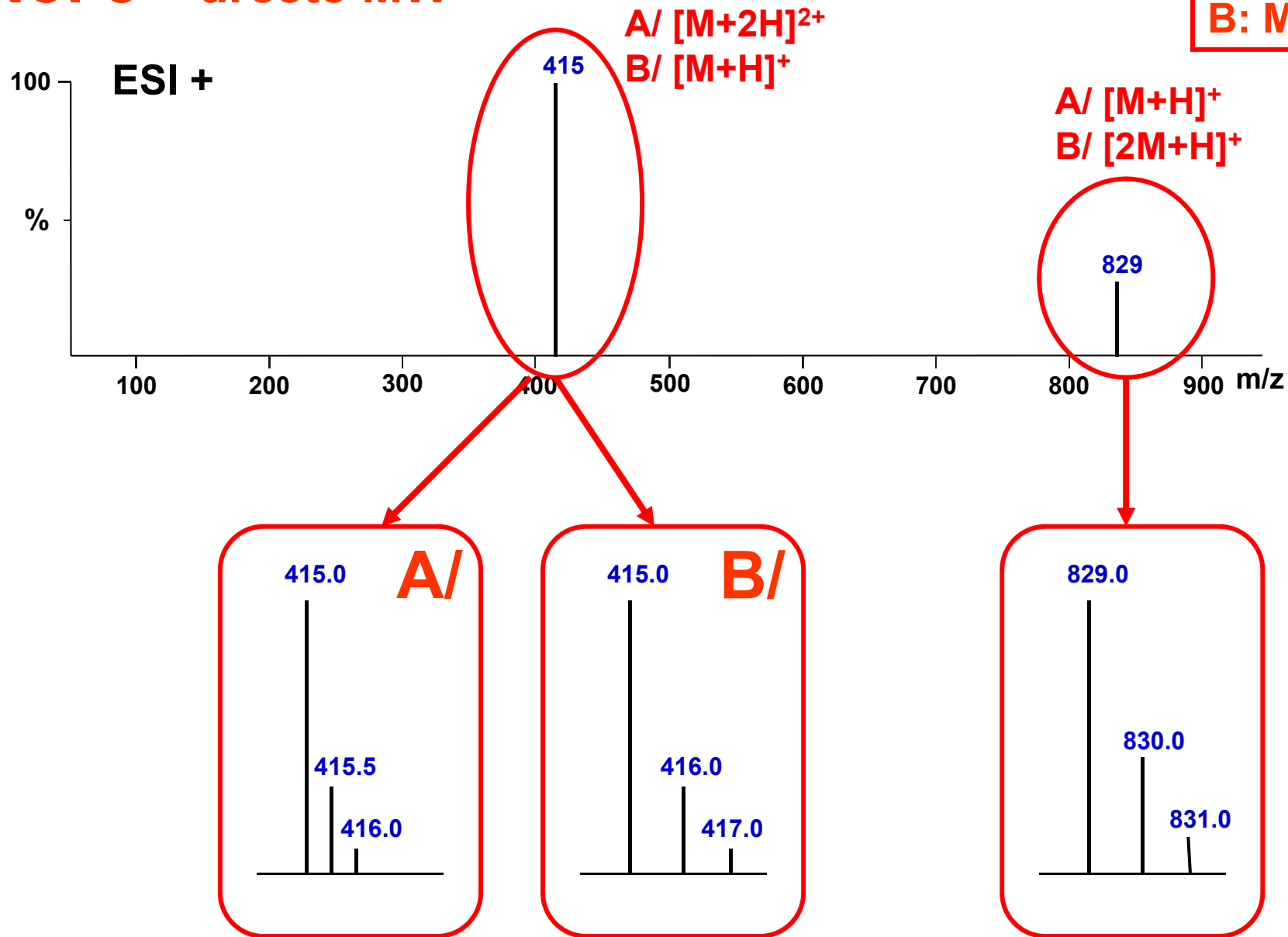
No. 4

MW=421
1 brom
lichý počet dusíků
karboxylová skupina
MF obsahuje $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$

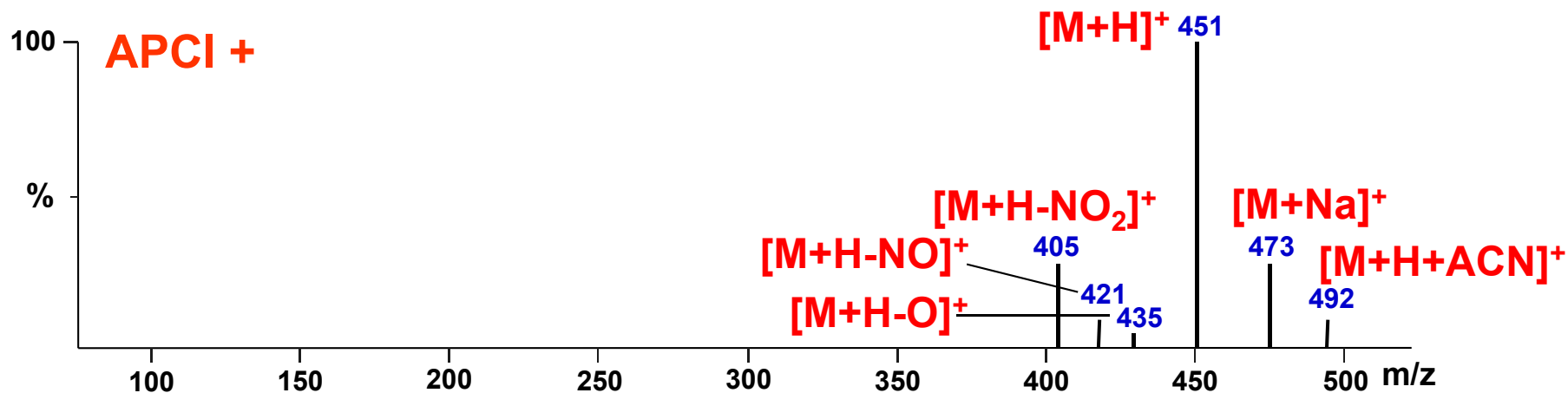


No. 5 - určete MW

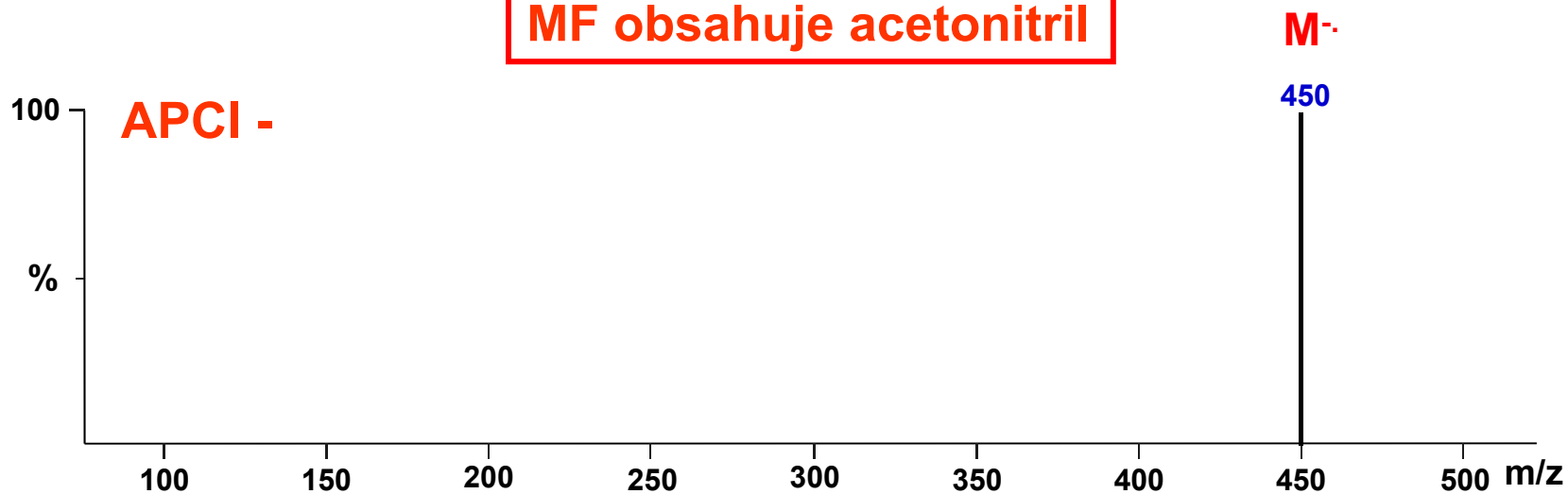
A: MW=828
B: MW=414



No. 6 - určete MW a další strukturní informace

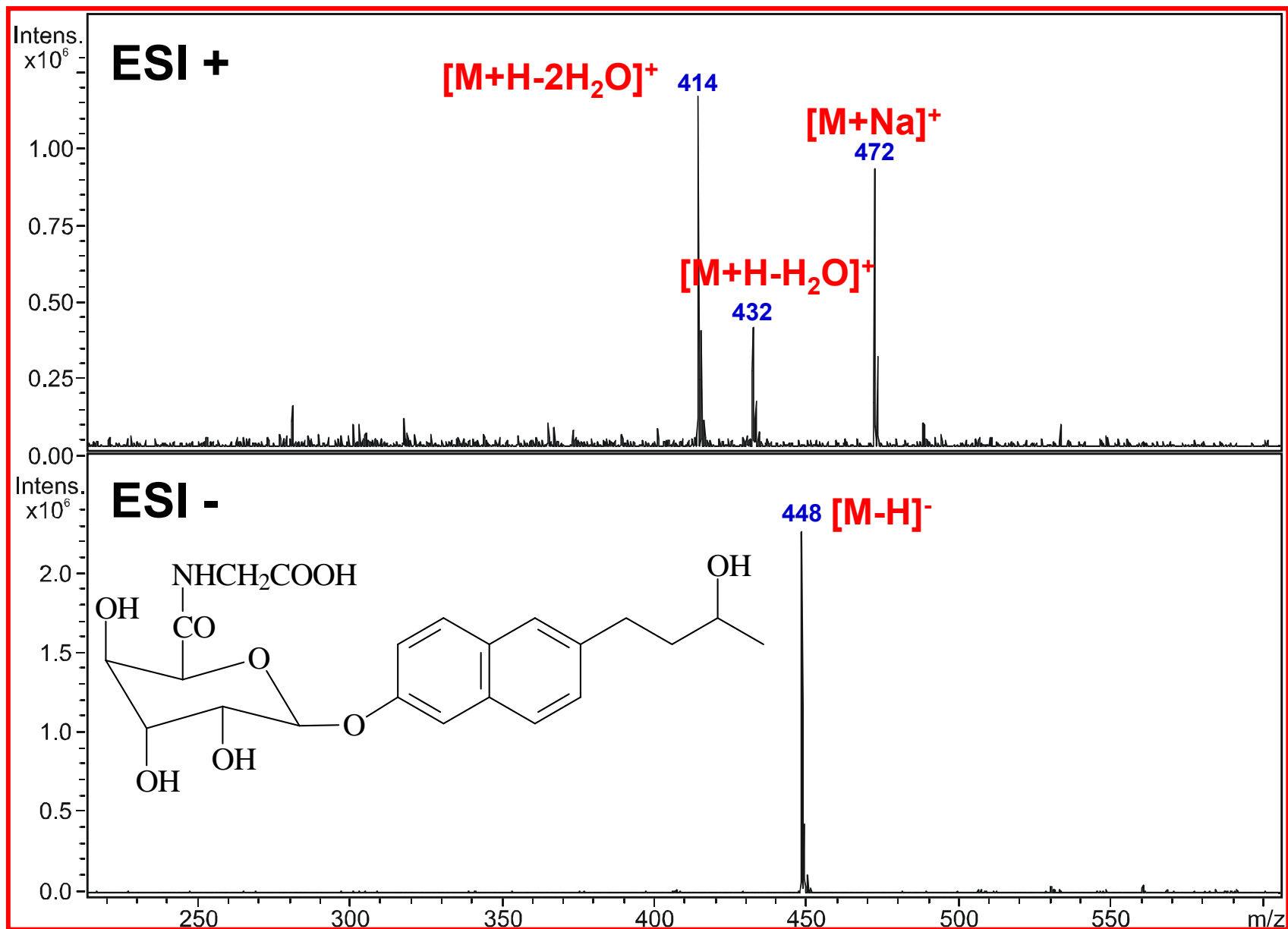


MW=450
nitroskupina
sudý počet dusíků
MF obsahuje acetonitril



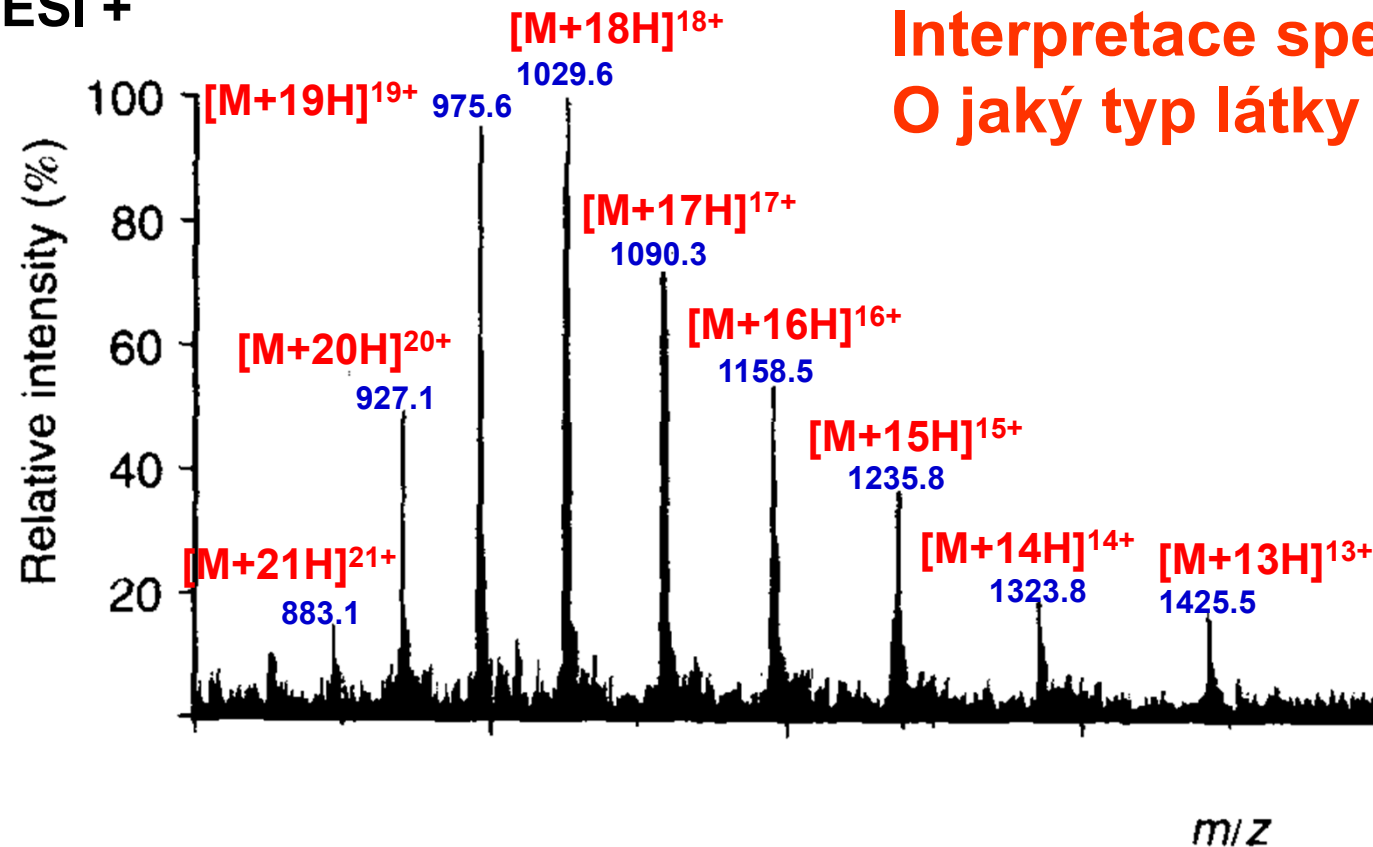
No. 7 - určete MW a popište ionty

MW=449



No. 8

ESI +



Interpretace spektra?
O jaký typ látky jde?

Příklad výpočtu MW:

$$A = 1029.6 = (MW + z) / z$$

$$B = 975.6 = (MW + z + 1) / (z + 1)$$

- řešením vyjde $z = 18.05 = 18$

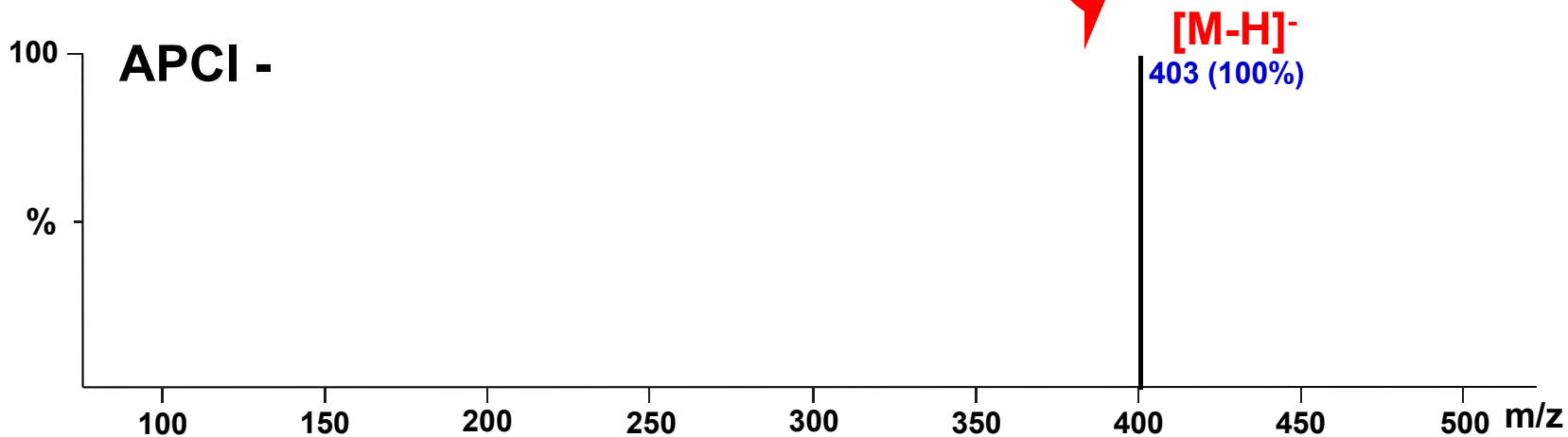
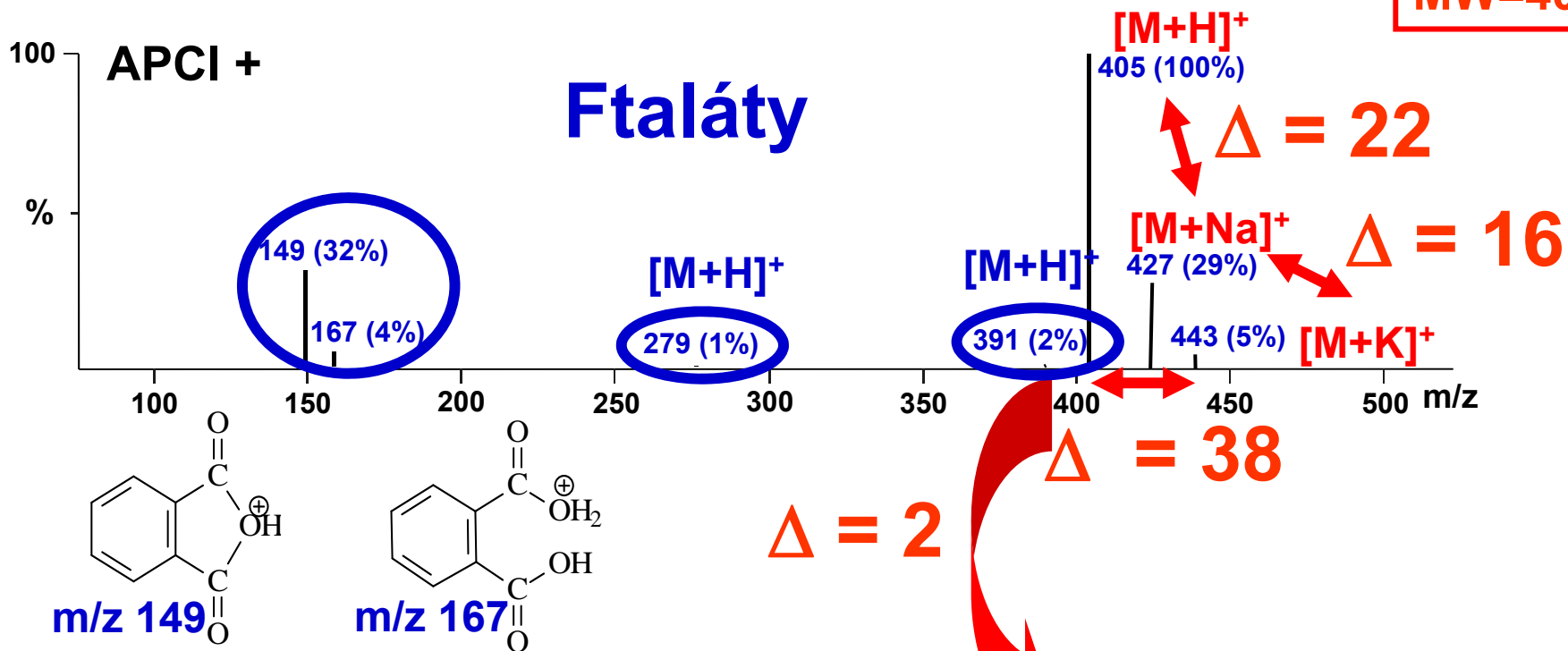
$$A: MW = 1029.6 * 18 - 18 = 18514.8$$

$$B: MW = 975.6 * 19 - 19 = 18517.4, \text{ atd.}$$

**Správná MW proteinu:
MW=18521 Da**

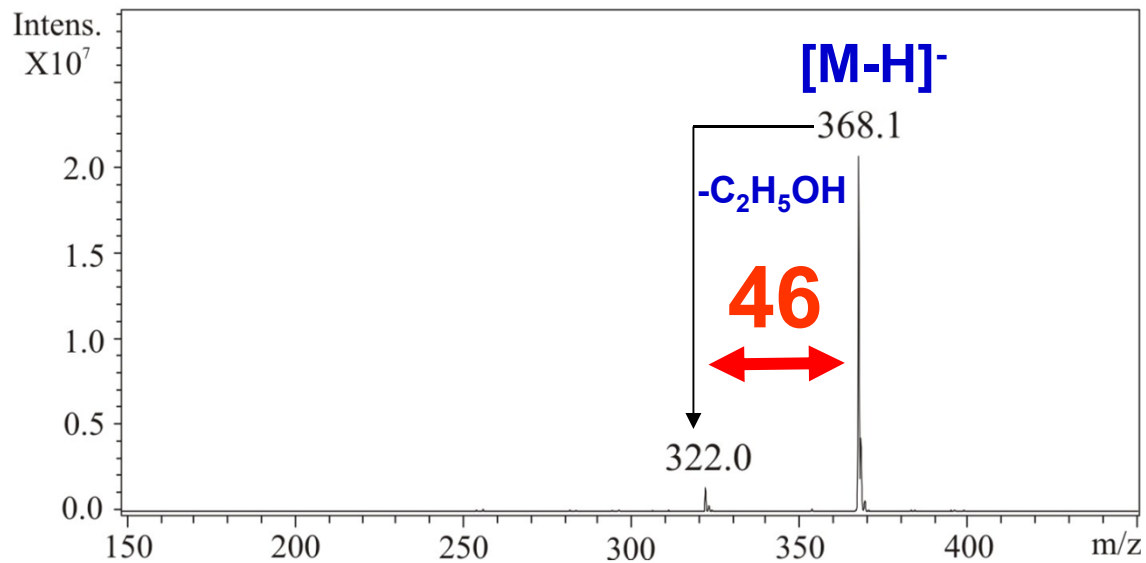
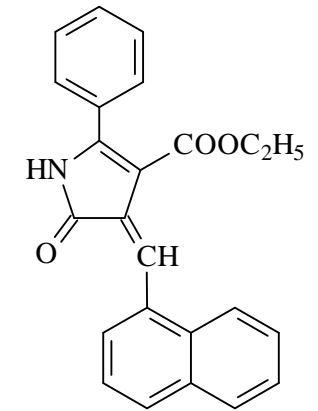
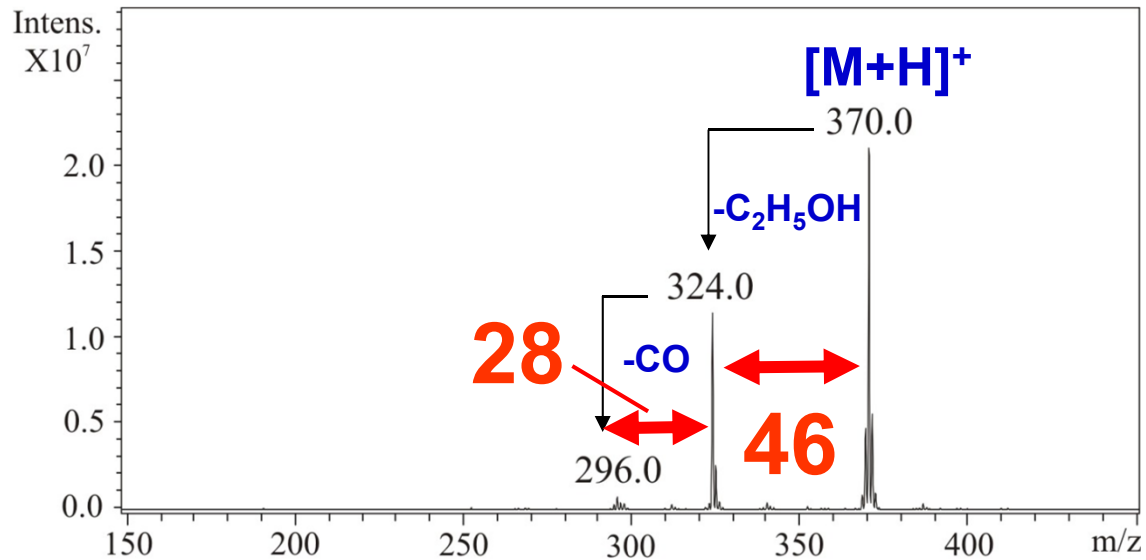
No. 9 - určete MW, popište ionty

MW=404



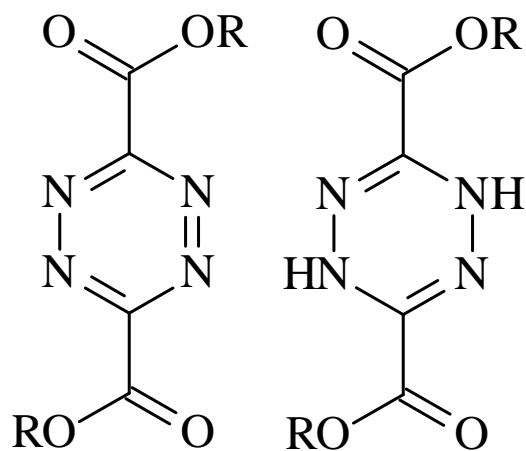
No. 10

- 1/ Určete polaritu záznamů.
- 2/ Určete MW a popište ionty.

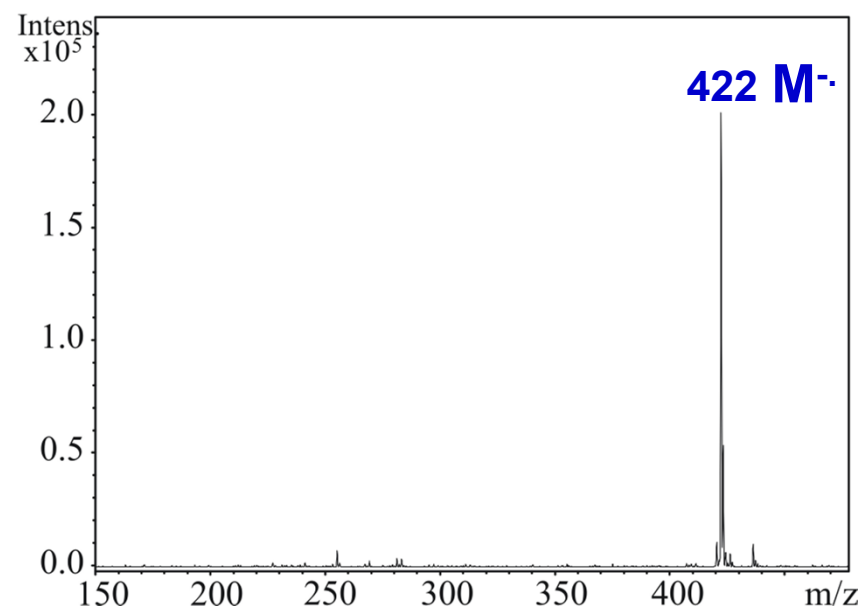
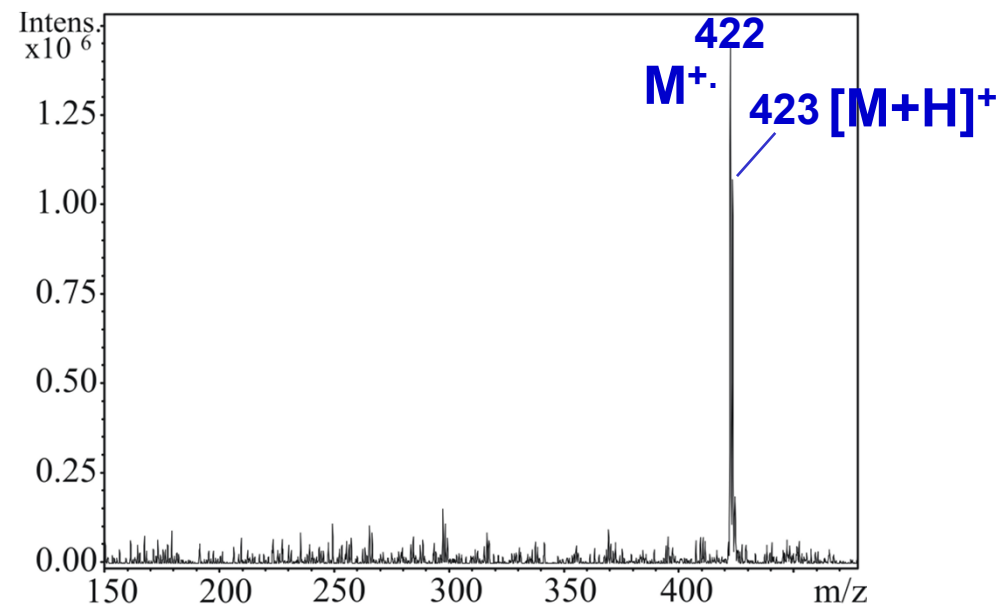


No. 11 - Tvorba radikál iontů

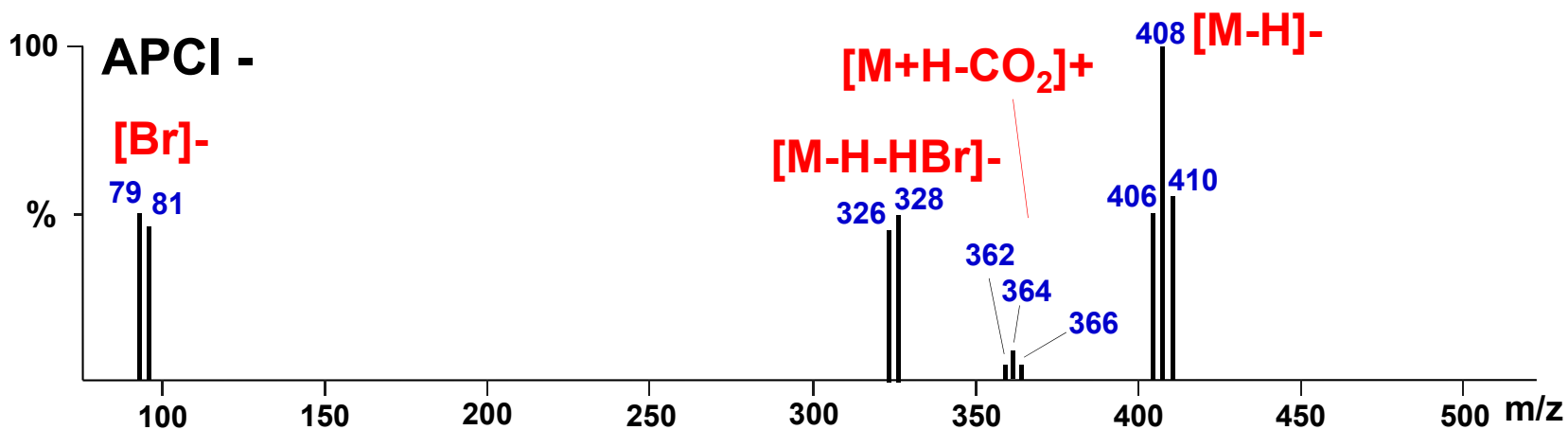
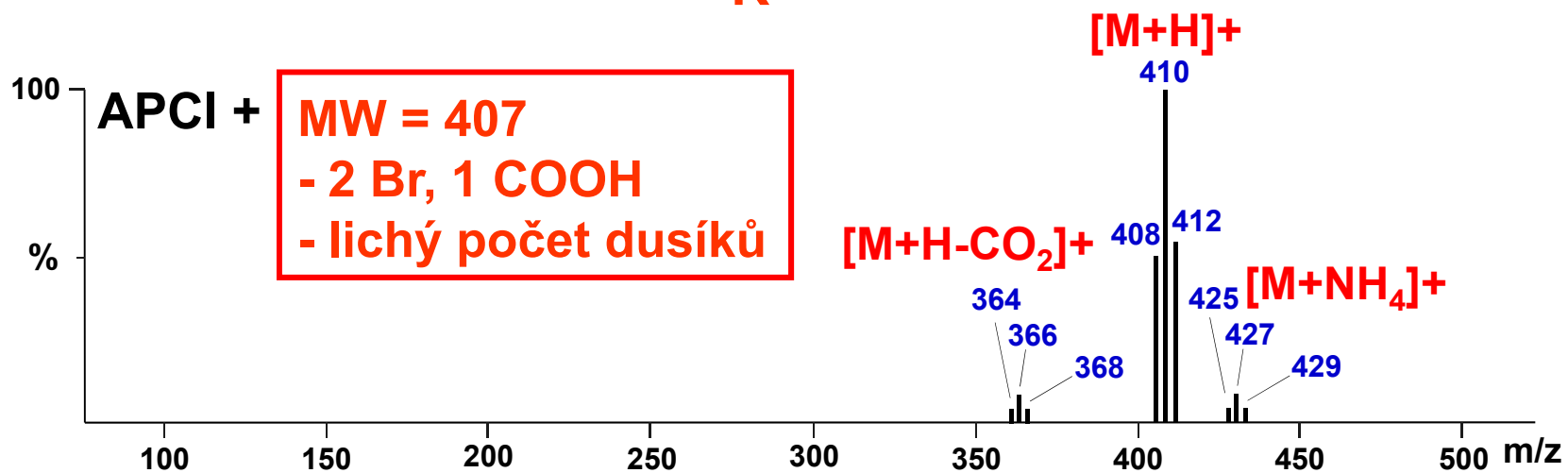
Určete MW a popište ionty?
Existuje alternativní řešení?



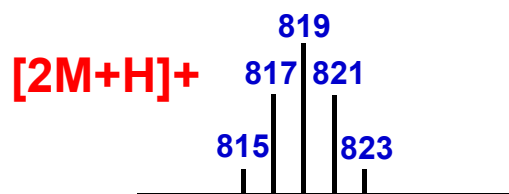
R = C₉H₁₉, M_R = 422



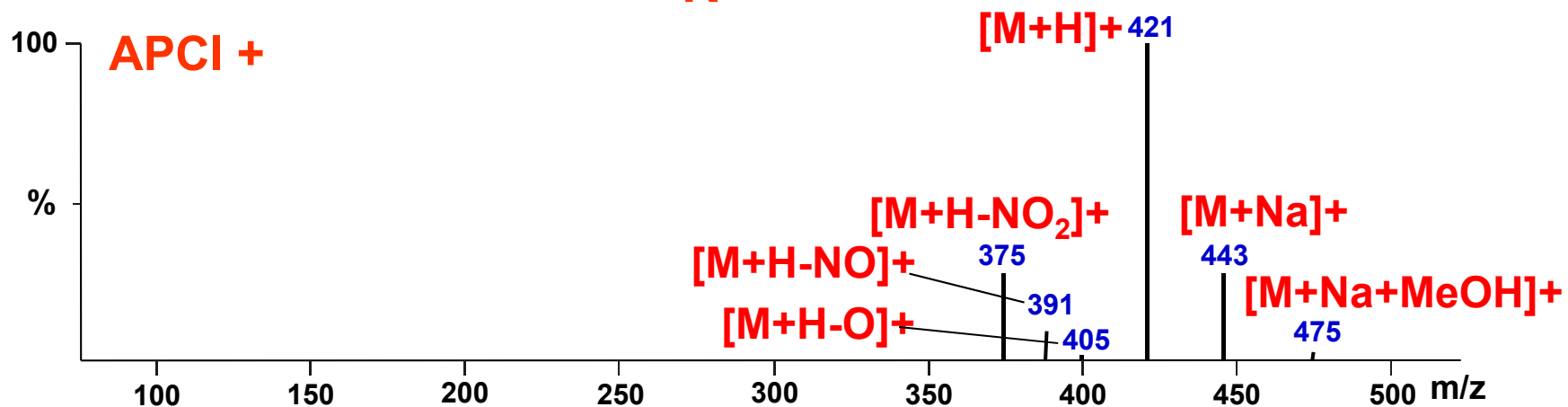
No. 12 - určete M_R a maximum informací



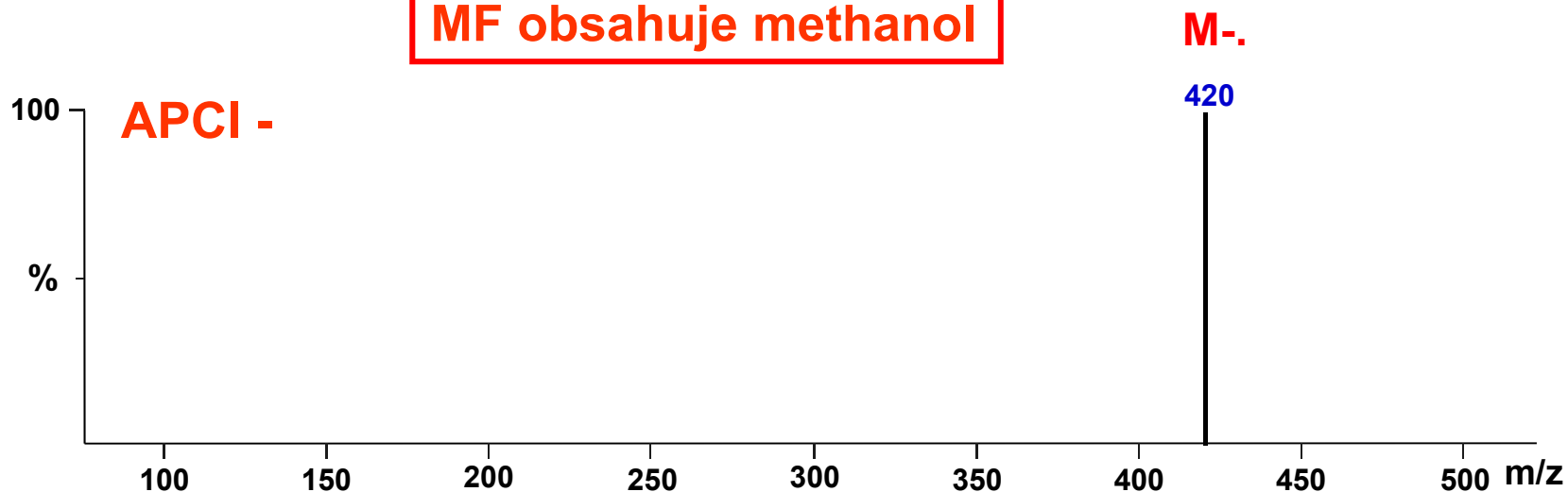
Úkol: nakreslete izotopickou obálku včetně intenzit pro dimerní ion $[2M+H]^+$



No. 13 - určete M_R a strukturní informace

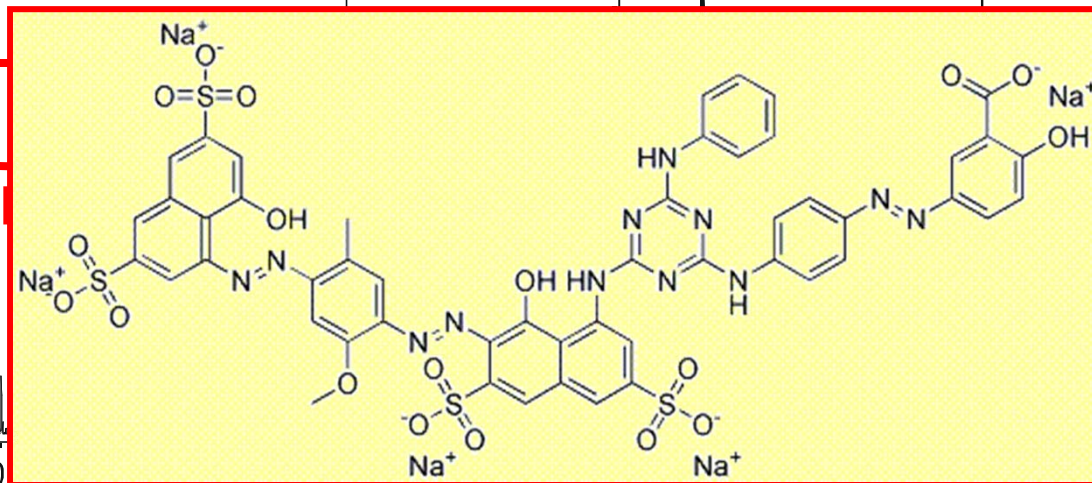
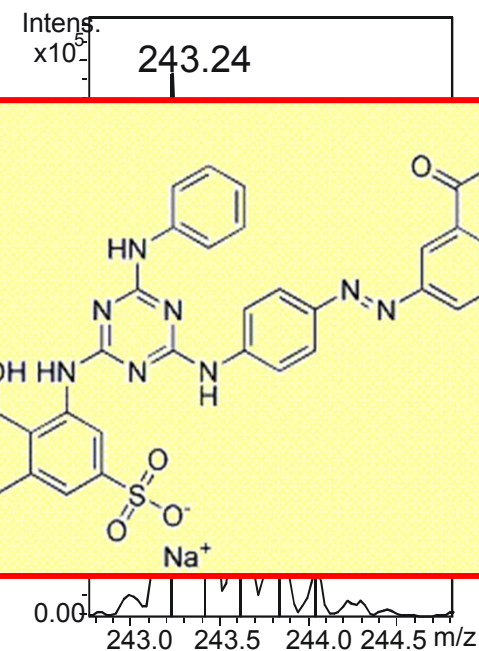
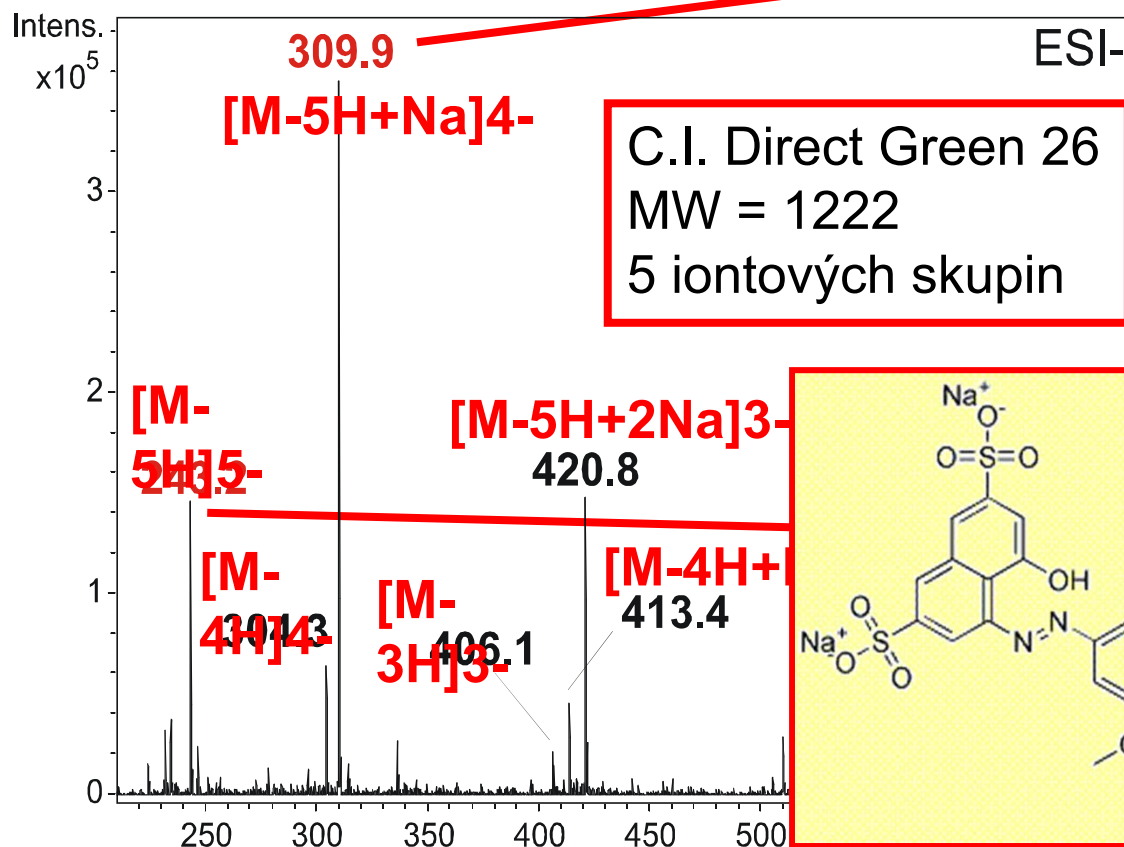
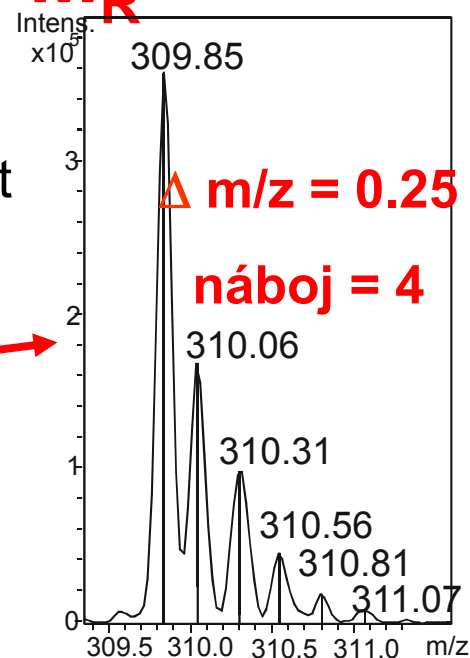


MW=420
nitroskupina
sudý počet dusíků
MF obsahuje methanol



No. 14 – popište ionty a určete M_R

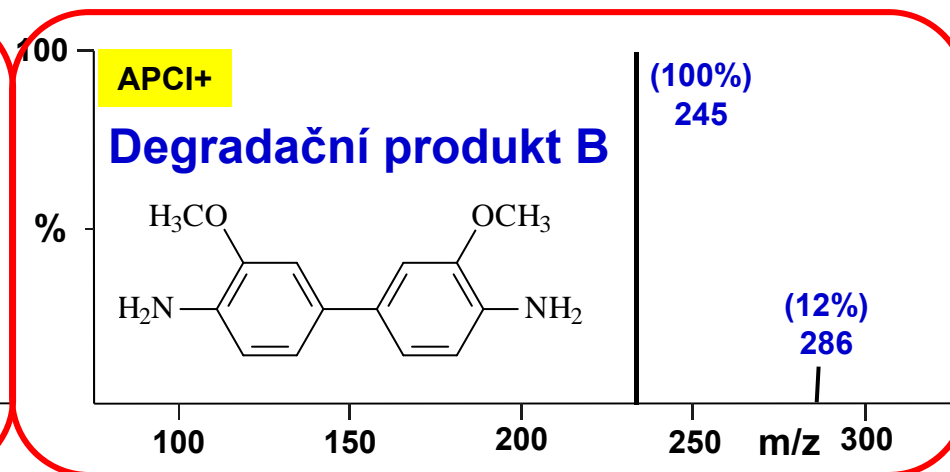
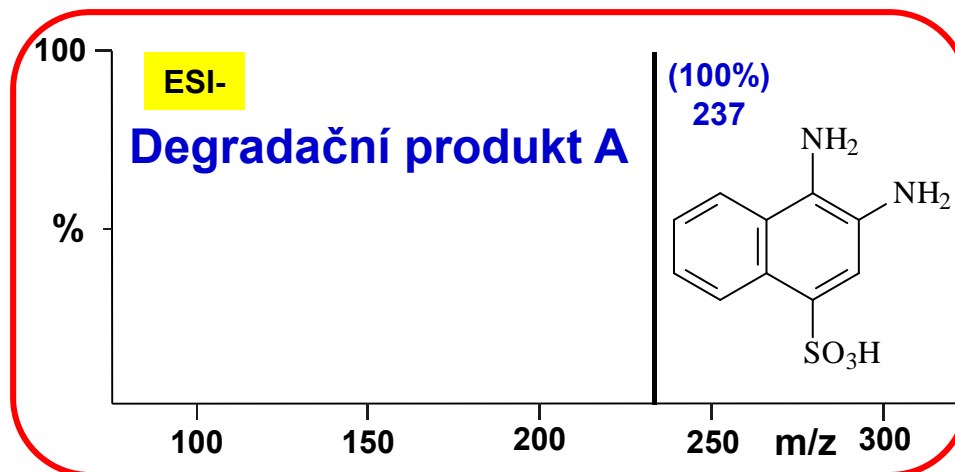
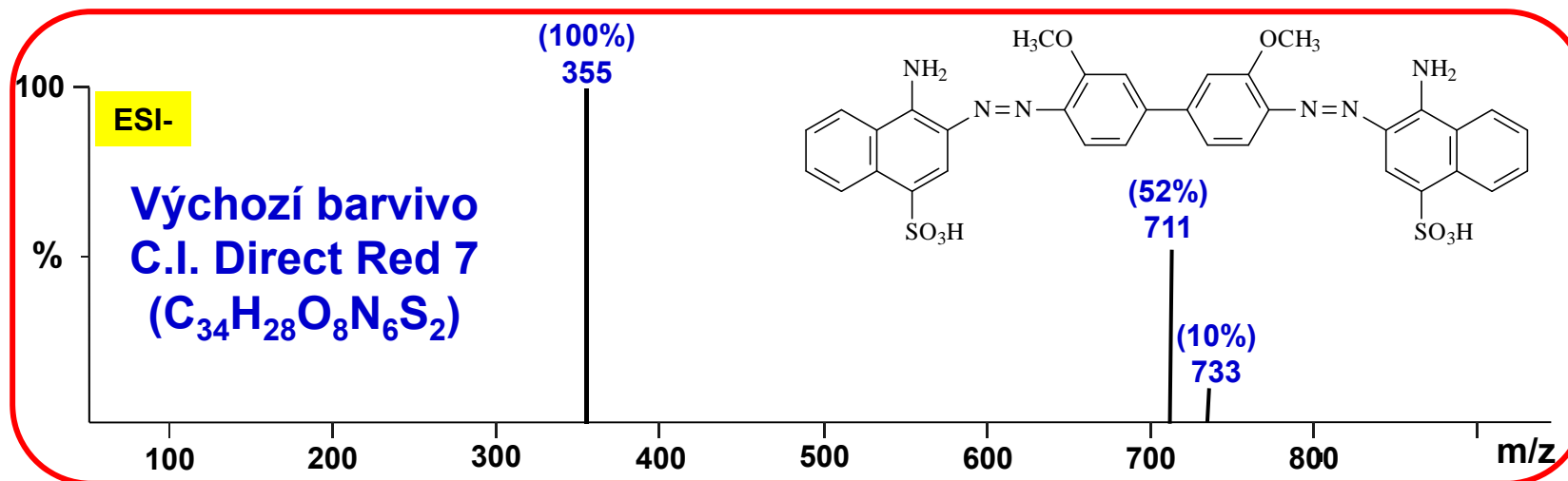
- série iontů $[M-xH]^{x-}$ a $[M-(x+y)H+yNa]^{x-}$
- maximální pozorovaný náboj x a/nebo maximální počet vyměnitelných protonů $y =$ počet iontových skupin



No. 15 – identifikujte degradační produkty

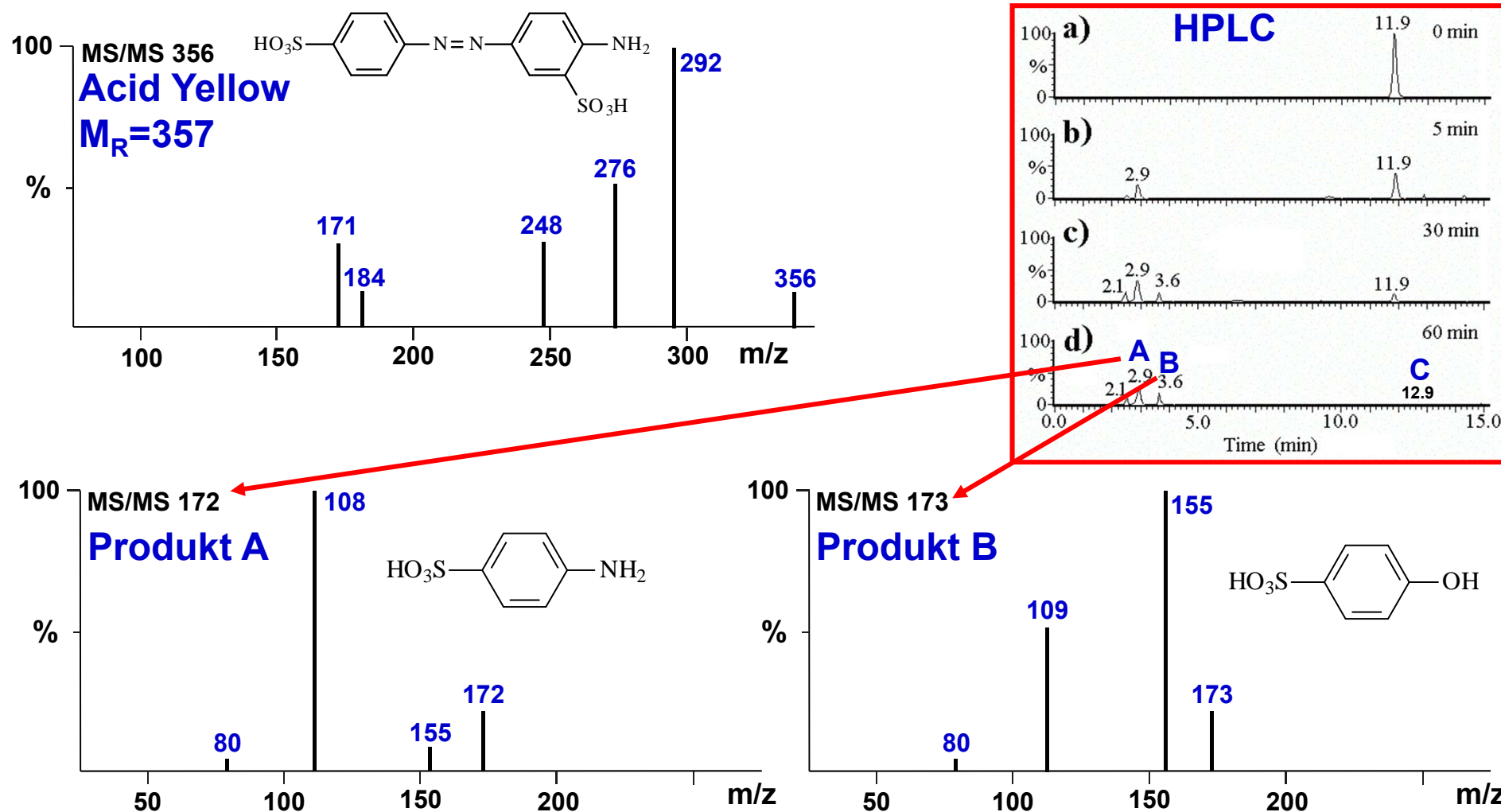
Výchozí informace: barvivo C.I. Direct Red 7 bylo elektrolyticky degradováno za redukčních podmínek, vzniklé produkty byly analyzovány pomocí HPLC/MS

Úkol: identifikujte produkty a navrhněte reakční mechanismus degradace



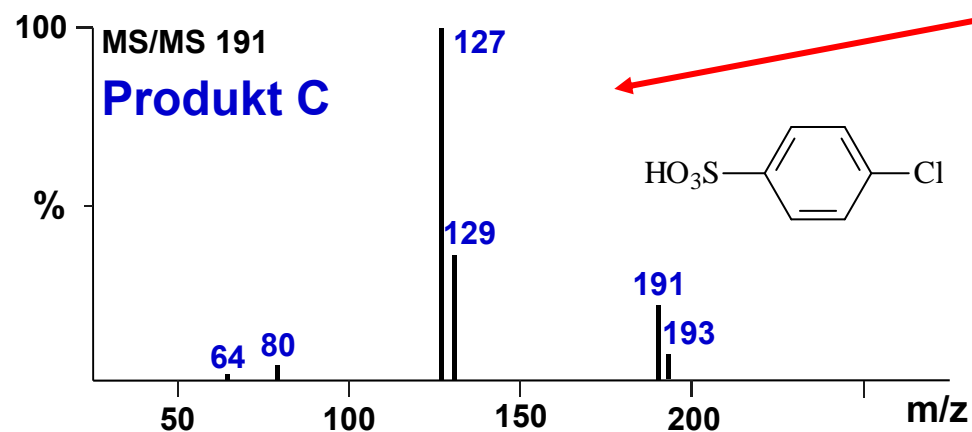
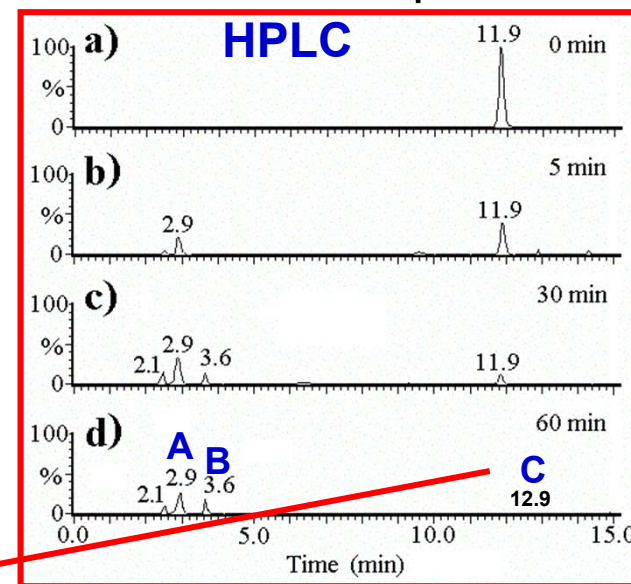
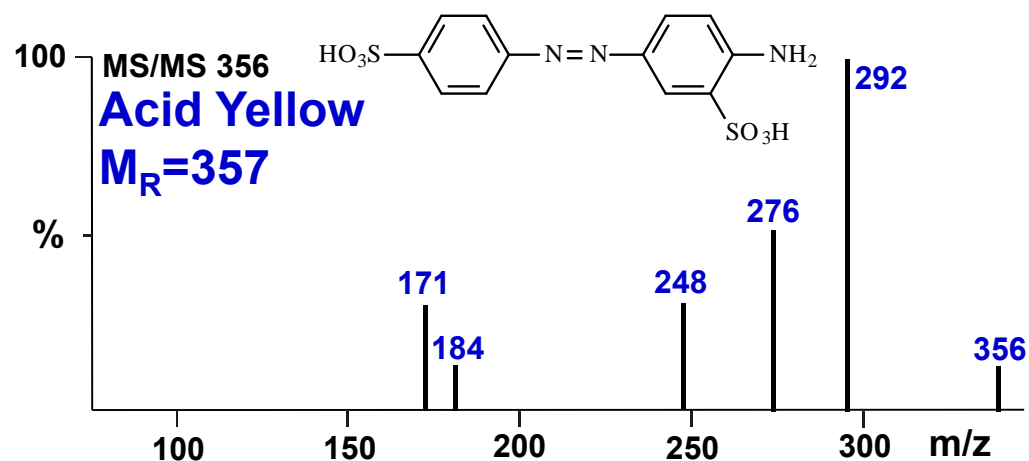
No. 15 – identifikujte degradační produkty

- **barvivo C.I. Acid Yellow 9** bylo elektrochemicky degradováno v NaCl kvůli čistění odpadních vod, HPLC/ESI-MS záporný mód, v základním skenu převládá ion, ze kterého bylo následně automaticky měřeno MS/MS spektrum



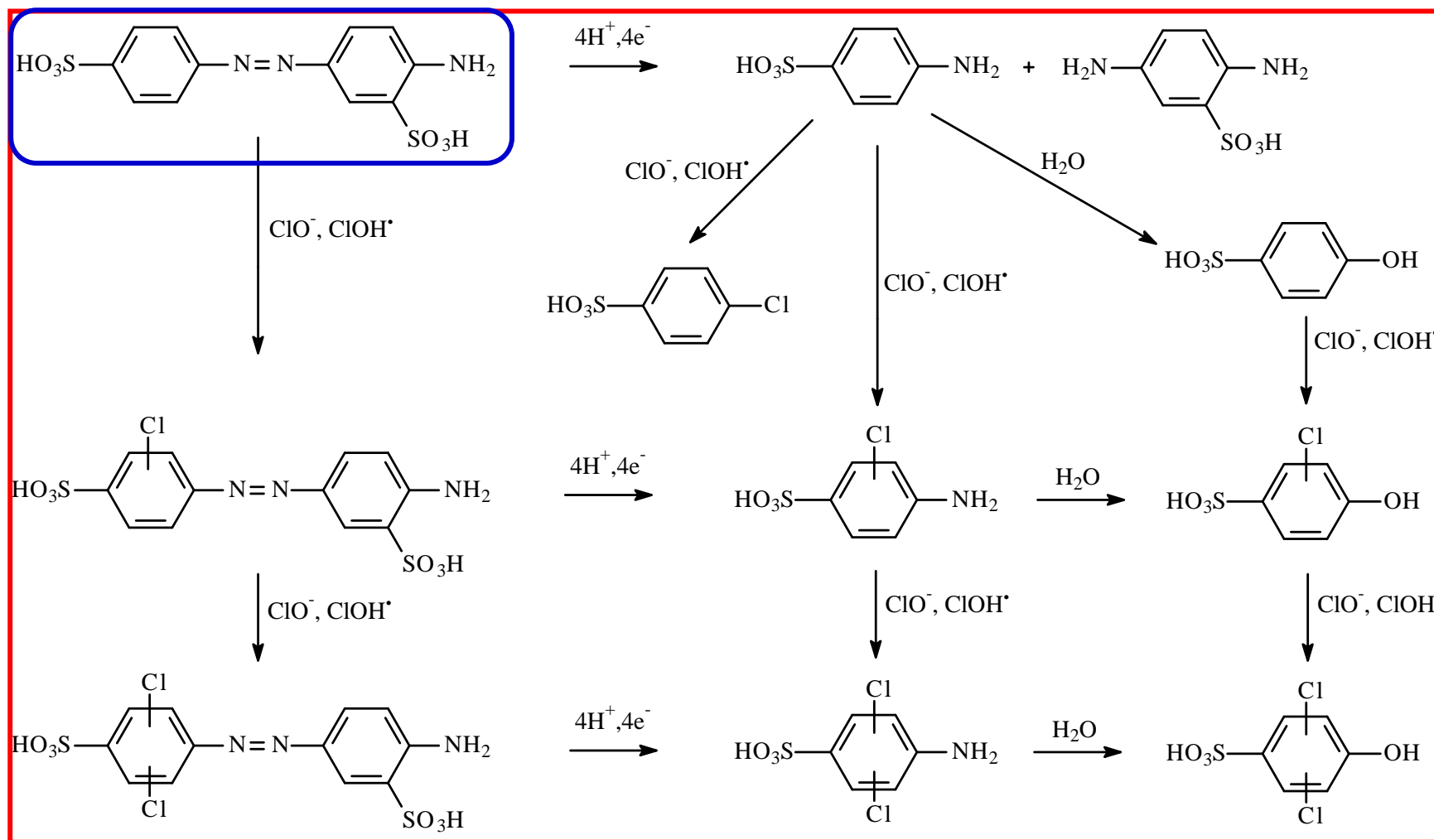
No. 15 – identifikujte degradační produkty

- **barvivo C.I. Acid Yellow 9** bylo elektrochemicky degradováno v NaCl kvůli čistění odpadních vod, HPLC/ESI-MS záporný mód, v základním skenu převládá ion, ze kterého bylo následně automaticky měřeno MS/MS spektrum



No. 15 – shrnutí výsledků

- **barvivo C.I. Acid Yellow 9** bylo elektrochemicky degradováno v NaCl kvůli čistění odpadních vod, HPLC/ESI-MS záporný mód, v základním skenu převládal ion, ze kterého bylo následně automaticky měřeno MS/MS spektrum

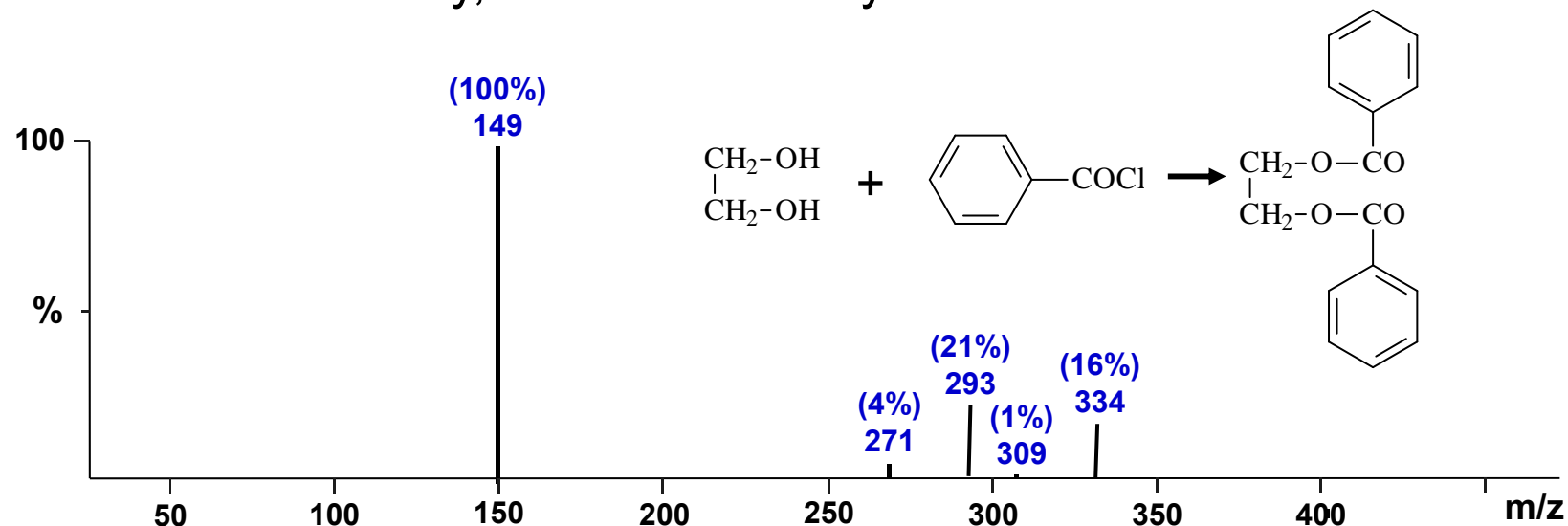


Reference: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (2006) 2807

No. 16 – identifikujte neznámou látku

Výchozí informace: stopové stanovení polární látky v odpadních vodách se nezdařilo kvůli složité matici a problémům s nízkou retencí této polární látky. Po derivatizaci s benzoylchloridem, extrakci do pentanu, následném odpaření do sucha, rozpuštěním v mobilní fázi a HPLC/ESI-MS analýze (C18 kolona, mobilní fáze 55% acetonitril - voda izokraticky) bylo dosaženo požadované citlivosti, selektivity i zlepšení retence.

Úkoly: 1/ pokuste se zinterpretovat pozorované ionty, určit M_R a navrhnout strukturu neznámé látky, 2/ zdůvodněte vysokou intenzitu iontu m/z 149



Reference: *Anal. Chem.* 71 (1999) 2288

No. 17 – identifikujte neznámou látku

Výchozí informace: platí všechny informace z předchozího příkladu, kromě hlavní složky byly ve vzorku odpadní vody detegovány další látky, spektrum jedné z nich je uvedeno zde

Úkol: identifikujte na základě analogie

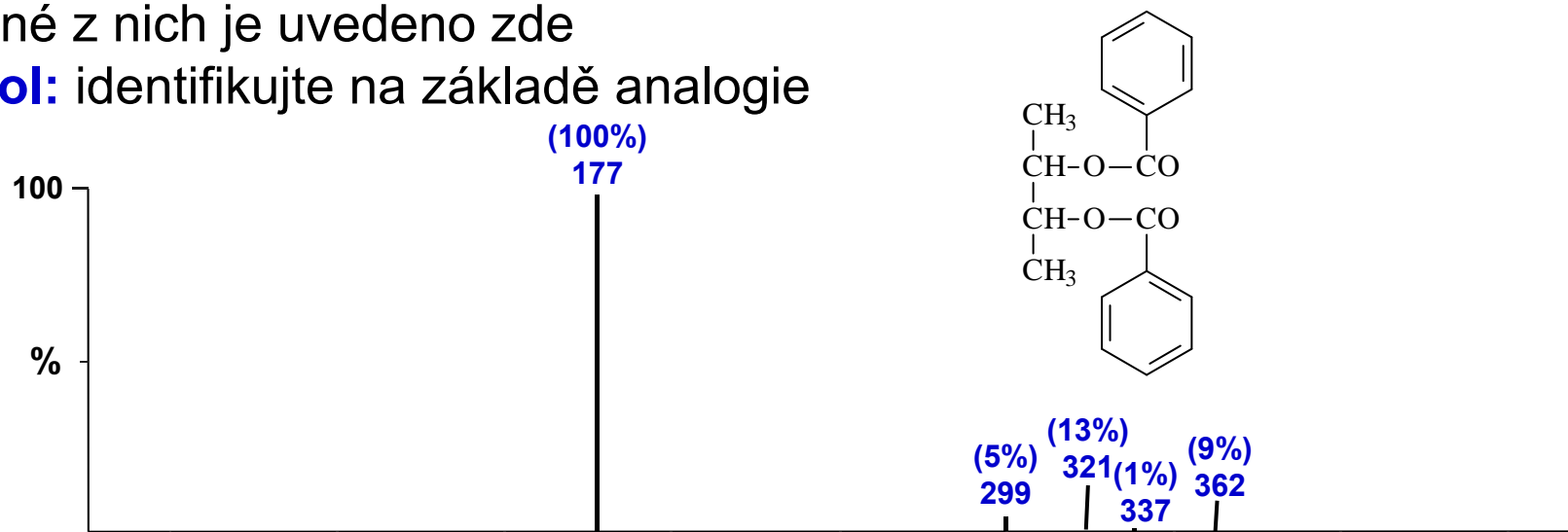
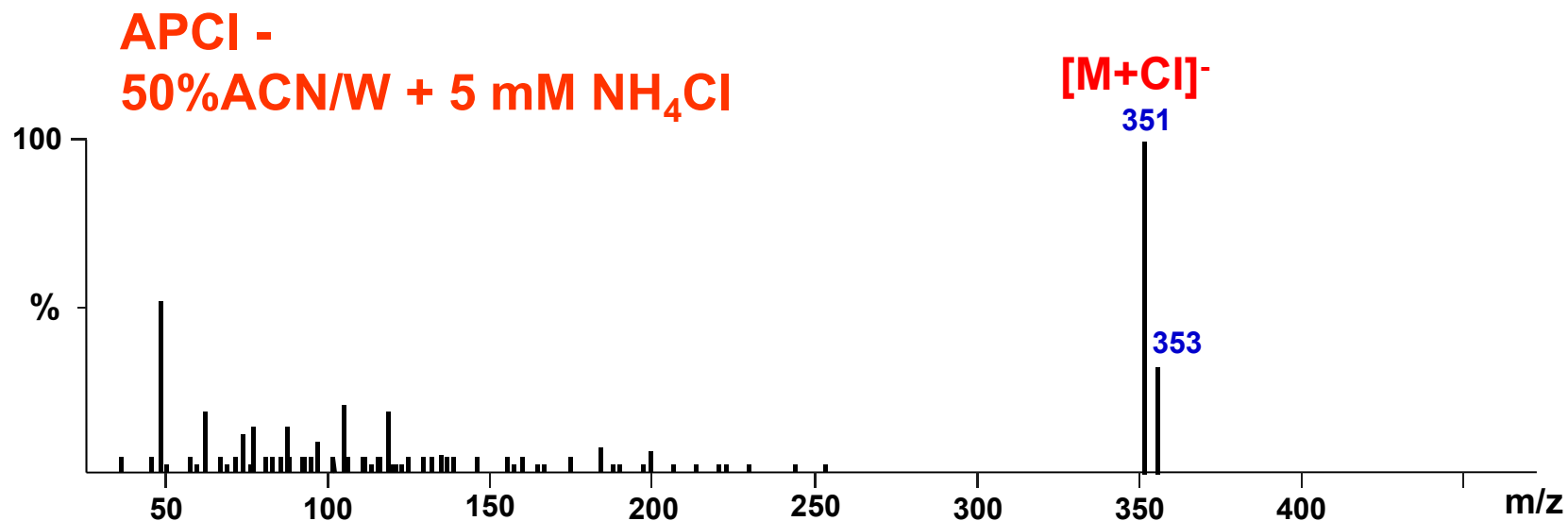
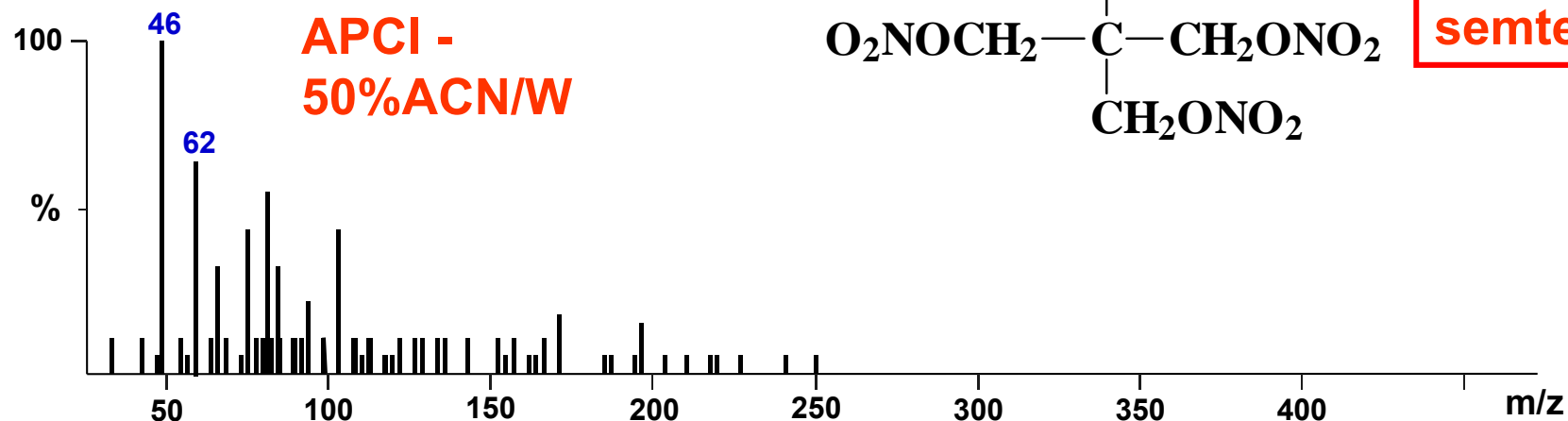


Table 1. Percent Relative Intensity and m/z Values (in Parentheses) of the Most Abundant Ions in Electrospray Mass Spectra of Dibenzoyl Derivatives of Various Diols and of Phenol as the Internal Standard^a

| compd | ring ion ^b | $[M + H - C_6H_5COOH]^+$ | $[M + H]^+$ | $[M + Na]^+$ | $[M + K]^+$ | $[M + Na + ACN]^+$ |
|------------------|-----------------------|--------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------------|
| EG | 5 | 100 (149) | 4 (271) | 21 (293) | 1.1 (309) | 16 (334) |
| 1,3-PG | 6 | 100 (163) | 4 (285) | 11 (307) | 0.6 (323) | 8 (348) |
| 1,2-PG | 5 | 100 (163) | 5 (285) | 30 (307) | 1.9 (323) | 23 (348) |
| 1,3-BG | 6 | 100 (177) | 5 (299) | 13 (321) | 0.6 (337) | 9 (362) |
| 2,3-BG | 5 | 100 (177) | 5 (299) | 47 (321) | 2.1 (337) | 28 (362) |
| 1,4-BG | 7 | 100 (177) | 17 (299) | 26 (321) | 0.9 (337) | 13 (362) |
| DEG ^d | 5 | 100 (193) | 4 (315) | 64 (337) | 0.8 (353) | 9 (378) |
| phenol | | | 199 | 221 | 237 | 262 |

^a $[M + H - C_6H_5COOH]^+$ ions are the base peaks in all mass spectra. ^b Number of atoms in the ring structure of the $[M + H - C_6H_5COOH]^+$ ion. ^c Acetonitrile. ^d DEG means the derivative of diethylene glycol.

No. 18 - identifikujte!



Nápověda: jde o původní pardubický produkt

Nápověda 2: ... nejde o hmotnostní spektrum perníku:-)

Typické zkouškové otázky

- význam izotopů v hmotnostní spektrometrii, vysvětlit na příkladech
- dusíkové pravidlo
- vysvětlit principy ionizačních technik: EI, CI, ESI, APCI, APPI, MALDI
- určení M_R proteinů pomocí ESI
- jaký je rozdíl mezi EI spektry a spektry měřenými měkkými ionizačními technikami, vysvětlit na modelovém příkladu
- vysvětlit fyzikální principy hmotnostních analyzátorů: magnetický analyzátor s dvojí fokusací iontů, Q, iontová past (sférická vs. lineární), TOF (včetně použití reflektoru a QqTOF uspořádání)
- co je to tandemová hmotnostní spektrometrie a MS^n ? k čemu se používá?
- vysvětlíte, jak byste správně provedli kvantitativní měření s pomocí HPLC/MS
- jakými způsoby lze provést kalibraci v hmotnostní spektrometrii? u jakým typů analyzátorů je kalibrace zvlášť důležitá?
- vysvětlit princip a praktické využití GC/MS a HPLC/MS
- jak budete volit ionizační techniku podle typu analytu? na čem bude volba záviset?
- základy interpretace hmotnostních spekter