

Štruktúra, vlastnosti a funkcie prírodných organických látok

(prístup k štúdiu, použitie rôznych analytických
metód a interpretácia získaných dát)

Natural organic matter / Přírodní organická hmota

- komplexná, heterogénna zmes zlúčenín na báze uhlíka, ktoré vznikajú rozkladom a transformáciou látok biomasy rastlín, živočíchov a mikroorganizmov, nachádzajúcich sa v suchozemskom (pôda) a vodnom prostredí (dnové sediment)
- heterogénna zmes organických molekúl, ktoré tvoria supramolekulárne koloidné agregáty alebo makromolekuly s vlastnosťami, ktoré umožňujú viacnásobné interakcie s minerálnymi povrchmi a rozpustenými kontaminantmi v rôznych geochemických podmienkach
- biomasa a nekromasa rastlín, živočíchov, húb a mikroorganizmov

Približné zastúpenie jednotlivých kategórií organických látok v biomase rôznych organizmov (hmotnostné % sušiny)

Biomasa	bielkoviny	lipidy	vodorozpustné sacharidy / cukry	štruktúrne polysacharidy	Lignín / látky štruktúrne blízke k fenolom	nukleové kyseliny	minerály / popol
Nižšie rastliny (riasy, machorasty)	15–45	5–30	5–20	10–40	0–10	3–10	5–20
Vyššie rastliny	3–15	1–8	5–25	35–70	10–30	<1–3	2–10
Prokaryotické mikroorganizmy (baktérie, archaea)	40–70	5–20	5–15	5–15	~0	8–20	2–10
Eukaryotické mikroorganizmy (kvasinky, prvoky, mikroskopické riasy)	20–60	5–40	10–30	5–25	0–5	3–10	2–10
Huby	15–45	2–15	5–20	30–60	0–15	2–8	5–15
Živočíchy	30–70	5–50	<5	1–15	~0	1–5	2–15

Natural organic matter / Prírodná organická hmota

jednotlivé látky sa (okrem iného) líšia v energetickej hodnote: lipidy $\sim 38\text{--}40 \text{ kJ g}^{-1}$, bielkoviny $\sim 17\text{--}24 \text{ kJ g}^{-1}$, sacharidy: $\sim 17 \text{ kJ g}^{-1}$, lignín $\sim 25\text{--}27 \text{ kJ g}^{-1}$

Fotosyntetické organizmy musia riešiť najmä: využívať svetlo, zachytávať CO_2 , udržiavať fyzickú štruktúru a vodnú bilanciu. Na tieto účely sú sacharidy mimoriadne vhodné.

Fotosyntéza prirodzene najprv produkuje molekuly podobné sacharidom:

$6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{svetlo} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$ (cukry sú „štandardným výstupom“ fotosyntézy)

Rastliny vyžadujú veľké množstvo celulózy, hemicelulózy a pektínu. Tieto zlúčeniny podporujú vertikálny rast, pomáhajú rastline vyrovnávať sa s gravitáciou, transportujú vodu, chránia tkanivá

Sacharidy sú hydrofilné, kompatibilné s bunkovými stenami, kompatibilné s osmotickou/turgorovou reguláciou.

Živočíchy vynakladajú veľké množstvo E na pohyb, svalové kontrakcie, nervový systém, krvný obeh, termoreguláciu. Obzvlášť vtáky, cicavce a aktívne predátory.

To vytvára silný evolučný tlak na kompaktné skladovanie vysokej energie. A lipidy sú ideálne, pretože majú $\sim 2\times$ vyššiu energetickú hustotu ako sacharidy, sú hydrofóbne, ukladajú sa bez pridruženej vody. Zároveň platí, že voda sa z lipidov uvoľňuje pri ich metabolizme (oxidácii)

Miera oxidácie/redukcie látok prítomných v biomase a ich energetická hodnota

zlúčenina	miera redukcie	energetická hustota
CO ₂	úplná oxidácia	žiadna
organické kyseliny	nízka	nízka
sacharidy	stredná	stredná
proteíny	stredná až vysoká	stredná až vysoká
lignín	vysoká	vysoká
lipidy	veľmi vysoká	veľmi vysoká
uhľovodíky (alkány, alkény,...)	extrémna	maximálna

(životné) Funkcie organických látok

Biomolekula (kategória)	Hlavná fyziologická funkcia
sacharidy	štruktúra + krátko- až strednodobé uskladnenie E
lipidy	membrány + bariéry + dlhodobé uskladnenie E
proteíny	katalýza + biofyzikálne procesy + regulácia
nukleové kyseliny	uskladnenie a prepis informácií
lignín / fenolové látky	štruktúrne spevnenie a obrana
sekundárne metabolity	komunikácia + obrana + signály

Biomolekula (kategória)	Funkcia – prirovnanie
sacharidy	základný materiál a infraštruktúra
lipidy	batéria + izolácia + membrány
proteíny	motor / náradie / robotika
nukleové kyseliny	softvér + pamäť
lignín	mechanicky vystužený kompozit
sekundárne metabolity	chemické zbrane / signalizácia

Sacharidy a polysacharidy

Hlavné funkcie: štrukturálne materiály, uskladnenie energie, osmotická regulácia, transportné formy uhlíka

Štrukturálna funkcia. Prevažujúca úloha v rastlinách a mnohých mikróboch. Príklady: celulóza v rastlinách, chitín v hubách, peptidoglykán v baktériách. Tieto zlúčeniny odolávajú mechanickému namáhaniu, udržiavajú tvar, odolávajú osmotickému tlaku. Sacharidy sú ideálne štrukturálne materiály, pretože: tvoria rozsiahle siete vodíkových väzieb, sú hydrofilné, môžu tvoriť vlákna a gély.

Uskladnenie energie: škrob, glykogén. Sú kompaktné, osmoticky zvládnuteľné, rýchlo mobilizovateľné zásoby glukózy. Prečo nepoužiť voľnú glukózu? Pretože voľná glukóza by vytvorila obrovský osmotický tlak. Polymerizácia tento problém rieši.

Transport uhlíka: sacharóza v rastlinách, trehalóza v hubách/hmyze. Rastliny transportujú fotosyntetický uhlík prevažne ako sacharózu cez floém.

Ochrana a hydratácia. Polysacharidy často viažu vodu, tvoria gély, chránia bunky pred vysušením. Príklady: bakteriálne biofilmy, sliz, alginát, kyselina hyaluronová.

Lipidy

Lipidy sú multifunkčné: súčasne riešia fyzikálne oddelenie nekompatibilných chemických procesov v bunke, uskladňovanie energie, hydroizoláciu, signalizáciu.

Tvorba membrán. Jedna s najdôležitejších funkcií lipidov. Fosfolipidy spontánne tvoria dvojvrstvy, pretože sú amfifilné. Táto vlastnosť umožňuje bunkám, organelám fungovať, podieľa sa vzniku a udržiavaní elektrochemických gradientov, komplexné fungovanie. Bez lipidov by bunky pravdepodobne neexistovali.

Dlhodobé ukladanie energie. Príklady: triacylglyceroly, oleje zo semien, tukové tkanivo. Výhody: energeticky bohaté, chemicky redukované, uskladnené bez vody. Vynikajúce pre migráciu, hibernáciu, klíčenie semien, odolnosť voči hladovaniu.

Hydroizolácia a tvorba bariér. Príklady: vosky, kutín, suberín. Funkcie: znižujú odparovanie, chránia pred patogénmi, dodávajú chemickú odolnosť. Rastlinná kutikula je v podstate lipidovou bariérou.

Signalizácia. Niektoré lipidy sú hormóny alebo signálne molekuly. Príklady: steroidy, prostaglandíny, jasmonáty. Regulujú zápal, vývoj, stresové reakcie, reprodukciu.

Izolácia a vztlak. Živočíchy: tepelná izolácia (tukové tkanivo). Vodné organizmy: regulácia vztlaku pomocou olejov

Bielkoviny

„Univerzálny molekulárny mechanizmus“ života. Sú jedinečné a všestranné zároveň. Aminokyseliny umožňujú obrovskú štruktúrnu rozmanitosť, chemickú katalýzu, konformačnú flexibilitu.

Enzymatická katalýza. Pravdepodobne najdôležitejšia úloha. Bielkoviny veľmi efektívne urýchľujú reakcie. Bez enzýmov by bol metabolizmus pre život príliš pomalý.

Štruktúrna funkcia. Príklady: kolagén, keratín, aktín, tubulín. Živošichy túto funkciu využívajú v oveľa väčšej miere ako rastliny.

Transport. Príklady: hemoglobín, membránové transportéry, iónové kanály, príjem živín, dýchanie, elektrochemické gradienty.

Pohyb. Príklady: myozín, kinezín, dyneín. Pohyb na rôznych úrovniach závisí od bielkovín: svaly, intracelulárny transport, bičíky.

Signalizácia a regulácia. Príklady: receptory, transkripčné faktory, peptidové hormóny. Proteíny sú hlavnými regulačnými činidlami.

Obrana. Príklady: protilátky, toxíny, antimikrobiálne peptidy

Uskladnenie (v menšej miere). Príklady: zásobné proteíny semien, feritín. Avšak proteíny vo všeobecnosti nie sú ideálnymi zásobníkmi energie, pretože dusík je metabolicky drahý.

Nukleové kyseliny

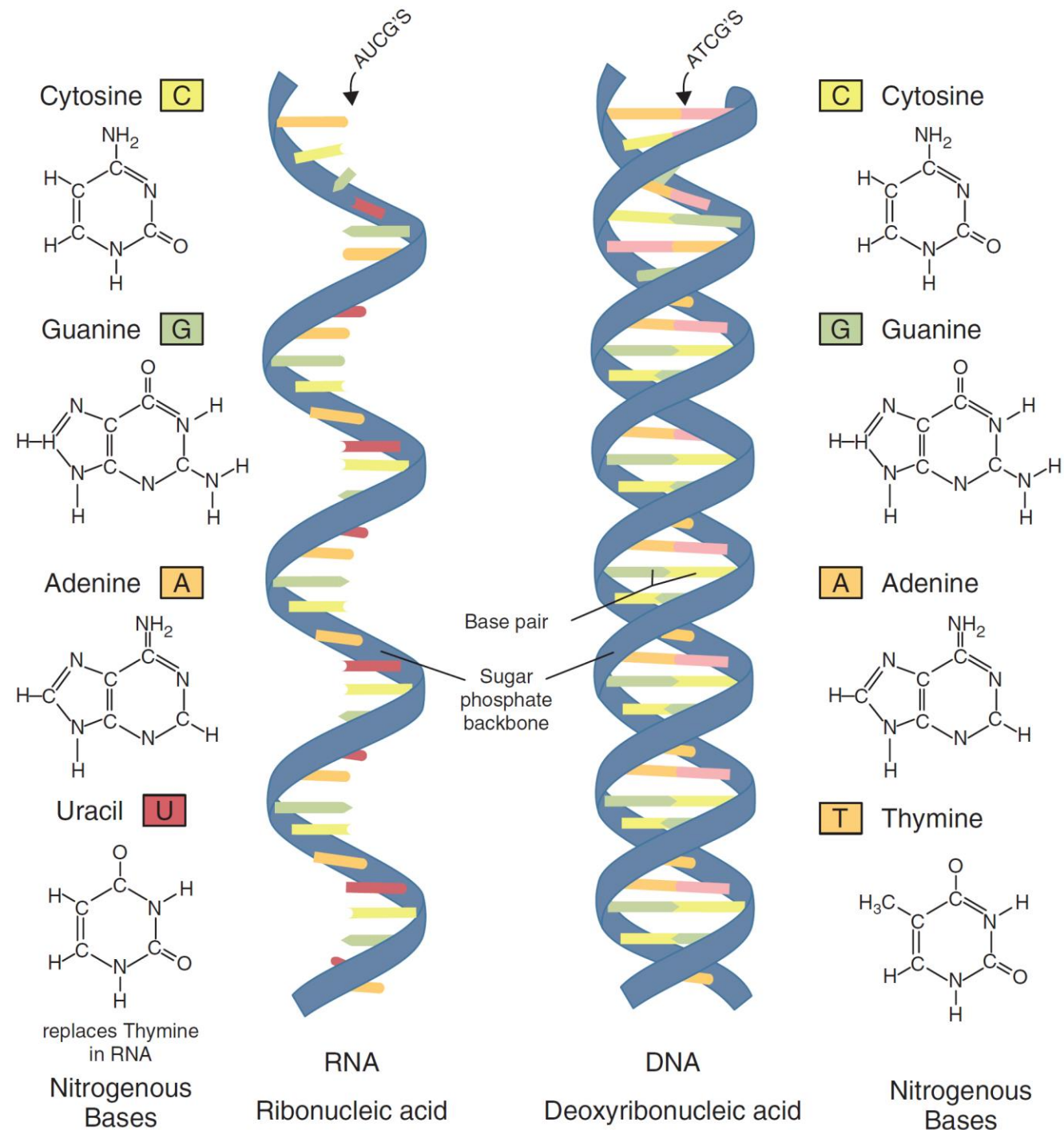
Ich ústrednou úlohou je manažment/riadenie informácií.

Ukladanie informácií: DNA. Dlhodobé dedičné uloženie genetickej informácie.

Prenos informácií: RNA. Transkripcia, translácia, regulácia.

Katalýza. Niektoré molekuly RNA sú katalytické: ribozýmy, ribozomálna RNA. To podporuje myšlienku starovekého „sveta RNA“.

Prenos energie. Nukleotidové deriváty: ATP, GTP, NADH, FADH₂. Slúžia ako biochemické energetické meny. ATP je obzvlášť dôležité: $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i + \text{energia}$



Lignín a fenolové polyméry

Biochemicky nedocenená skupina

Mechanická funkcia. Lignín: spevňuje bunkové steny, umožňuje tvorbu dreva, umožňuje vysoký rast. Bez lignínu by lesy a stromy neexistovali.

Podpora transportu vody. Lignifikovaný xylém odoláva kolapsu pri negatívnom tlaku počas transpirácie. Významná evolučná inovácia.

Obrana. Fenoly: antimikrobiálne, antioxidačné, mechanickú pevnosť možno vnímať ako ochranu pred patogénmi a čiastočne aj bylinožravcami.

Odolnosť. Lignín zámerne znižuje odbúrateľnosť, čo chráni žijúce tkanivá.

Sekundárne metabolity

Nie sú primárne určené pre základný metabolizmus, ale pre ekologické interakcie.

Príklady: alkaloidy, terpény, flavonoidy, toxíny, pigmenty

Humínové látky

Najhojnejšie sa vyskytujúce komplexotvorné látky v prírode

Tvoria väčšinu organického podielu pôd. Vo významných množstvách sú prítomné v uhlí, rôznych kaloch, prírodných vodách a sedimentoch

Tmavo sfarbené - vďaka aromatickým fenolovým a chinónovým štruktúram

Hlavným zdrojom organických látok pre tvorbu humusu v prírode je najmä rastlinná a mikrobiálna biomasa (v menej miere živočíšna)

Množstvo organického uhlíka viazaného v pôde je 2,5 až 3 väčšie v porovnaní s C v atmosfére a 3 až 5 krát väčšie ako v biosfére

Humínové látky / Pôdna organická hmota (vývoj metodických prístupov)

Pri štúdiu chemických parametrov humínových látok hrá podstatnú úlohu fakt, že hodnotený material obsahuje spravidla anorganické komponenty, čo môže byť z pohľadu aplikovanej analytickej metódy nežiaduce → prevažná väčšina prác zameraná na charakterizáciu chemických vlastností pôdnej organickej hmoty vychádzala zo separácie, najčastejšie použitím roztokov (ich **chemická selektivita** / **reaktivita** sa líši → rôzna miera **modifikácie** vzorky)

Notoricky známe sú schémy frakcionácie humínových látok, kedy sa dominantná časť organického podielu vzorky prevedie do kvapalného skupenstva vďaka prítomnosti NaOH a následne sa okyslí pridaním HCl, čo spôsobí vyzrážanie **humínových kyselín**. Frakcia **fulvokyselín** ostáva v kvapalnej fáze naprieč celou škálou pH a pevné organické rezídium, ktorého nerozpustí ani pri vysokom pH je **humín**.

Za účelom extrakcie biologicky aktívnych a bio-prístupných foriem, či už anorganických alebo organických látok, sa zvyknú používať **solí**, ktoré zo vzorky uvoľnia slabo viazané polyméry (polysacharidy, bielkoviny), alebo **chelatačné** látky, ktoré narúšajú väzby pôdnych koloidov s kovmi

Jednoduchý prístup reprezentuje extrakcia pôdy **vodou**, ktorá sa používa pri štúdiu najlabilnejšej frakcie. Často uplatňovaný prístup spočíva v pridávaní disperzných látok za účelom rozrušenia pôdnych agregátov vzorky. Pôdne častice možno vzájomne odseparovať, aj bez disperzných činidiel a detergentov, použitím **ultrazvuku**, čo prináša výhodu eliminácie chemickej modifikácie vzorky.

Humínové látky / Pôdna organická hmota (funkcie – sorbent)

Pre sorpčné procesy sú podstané vlastnosti **špecifického povrchu**; k základným patria jeho veľkosť a náboj.

V prípade pôdnej organickej hmoty is o premenlivý parameter, pričom platí, že s narastajúcou mierou transformácie veľkosť špecifického povrchu narastá.

Najväčší špecifický povrch majú spravidla organo-ílové komplexy (napr. org. hmota – alofán, alebo org. hmota – smektit)

materiál	veľkosť špecifického povrchu ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)
piesok	0.01–0.1
prach	0.1–10
kaolinit	5–30
ilit	50–150
smektit	600–800
vermikulit	300–700
chlorit	10–70
alofán	300–1000
ferihydrit	200–800
humínové látky	100–900
čerstvá rastlinná biomasa	1–50
drevné uhlie / biochar	100–1500+
aktívne uhlie	500–2500

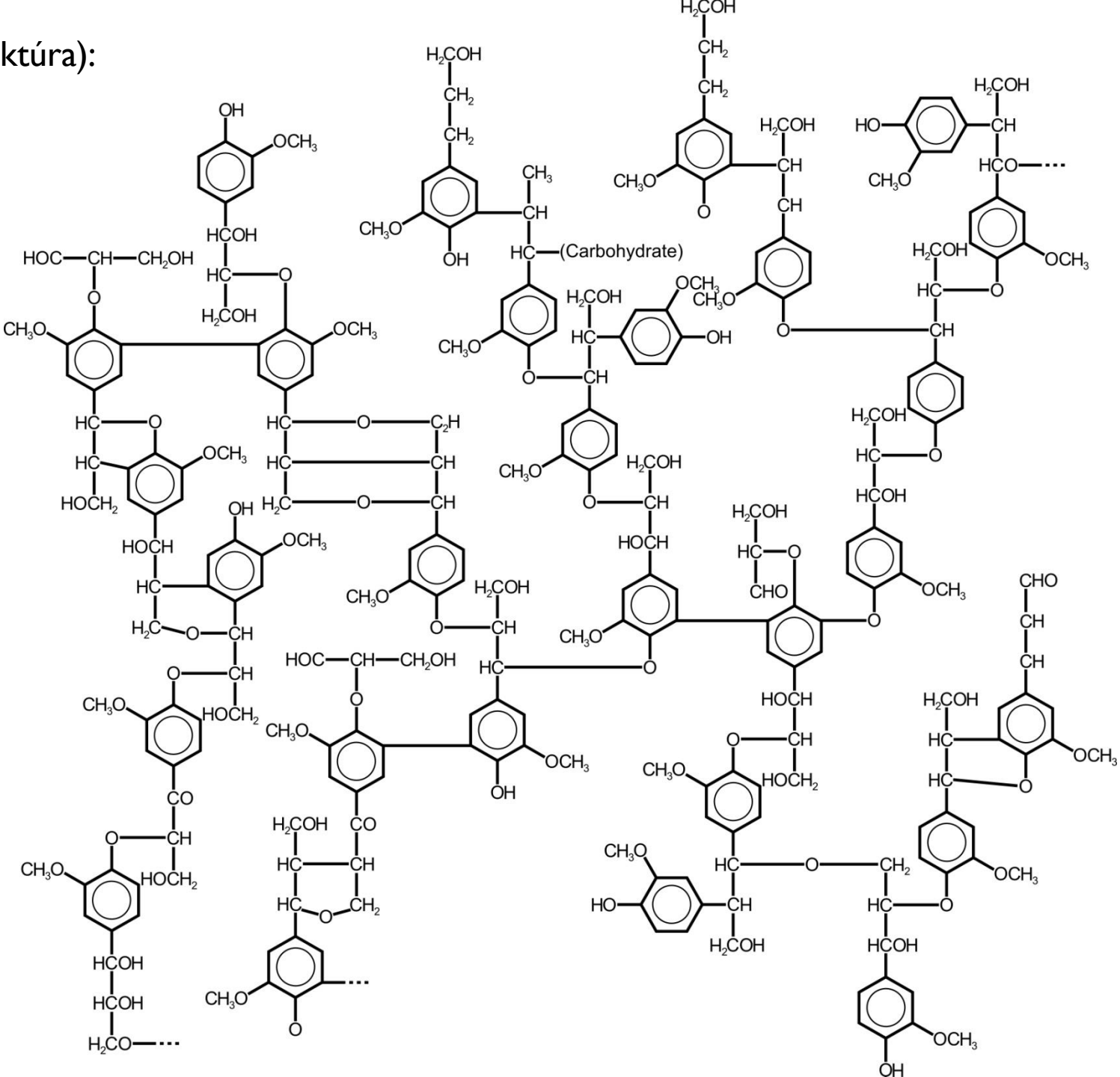
Humínové látky / Pôdna organická hmota (funkcie – zdroj živín)

Okrem toho, že pôdna organická hmota (za určitých okolností) viaže a uvoľňuje nasorbované ióny; poskytuje energetický substrát pre heterotrofné organizmy.

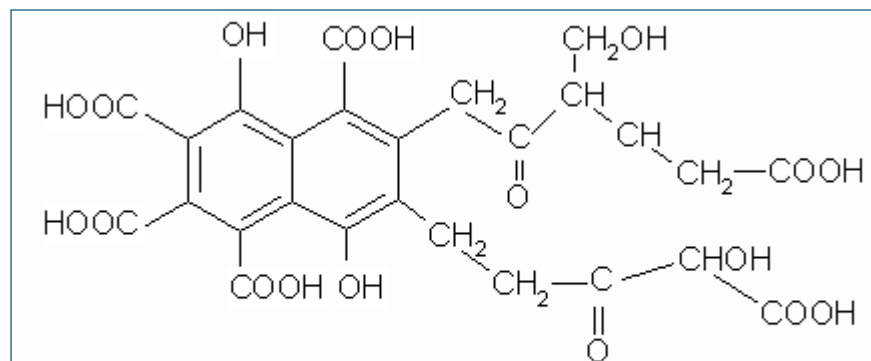
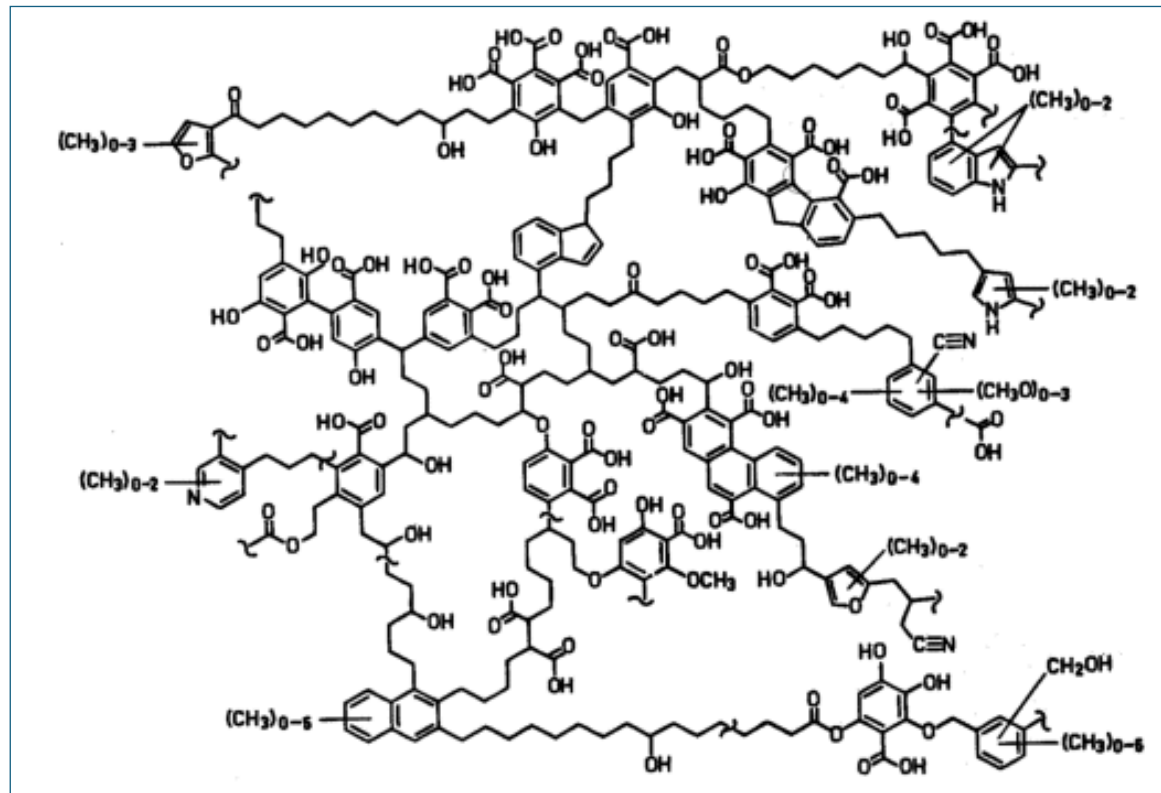
Viacere esenciálne prvky, ktoré organizmy prijímajú v rozpustenej (často anorganickej forme) sa primárne dostáva do pôd v organických zvyškov biomasy (napr. N, S, P)

sorpcia/desorpcia kationov a aniónov sú v značnej miere ovplyvňované, nielen veľkosťou špecifického povrchu, ale aj hodnotami pH a Eh prostredia, keďže pH a Eh modifikujú náboj daných povrchov aj samotných iónov

Lignín (odhadovaná štruktúra):

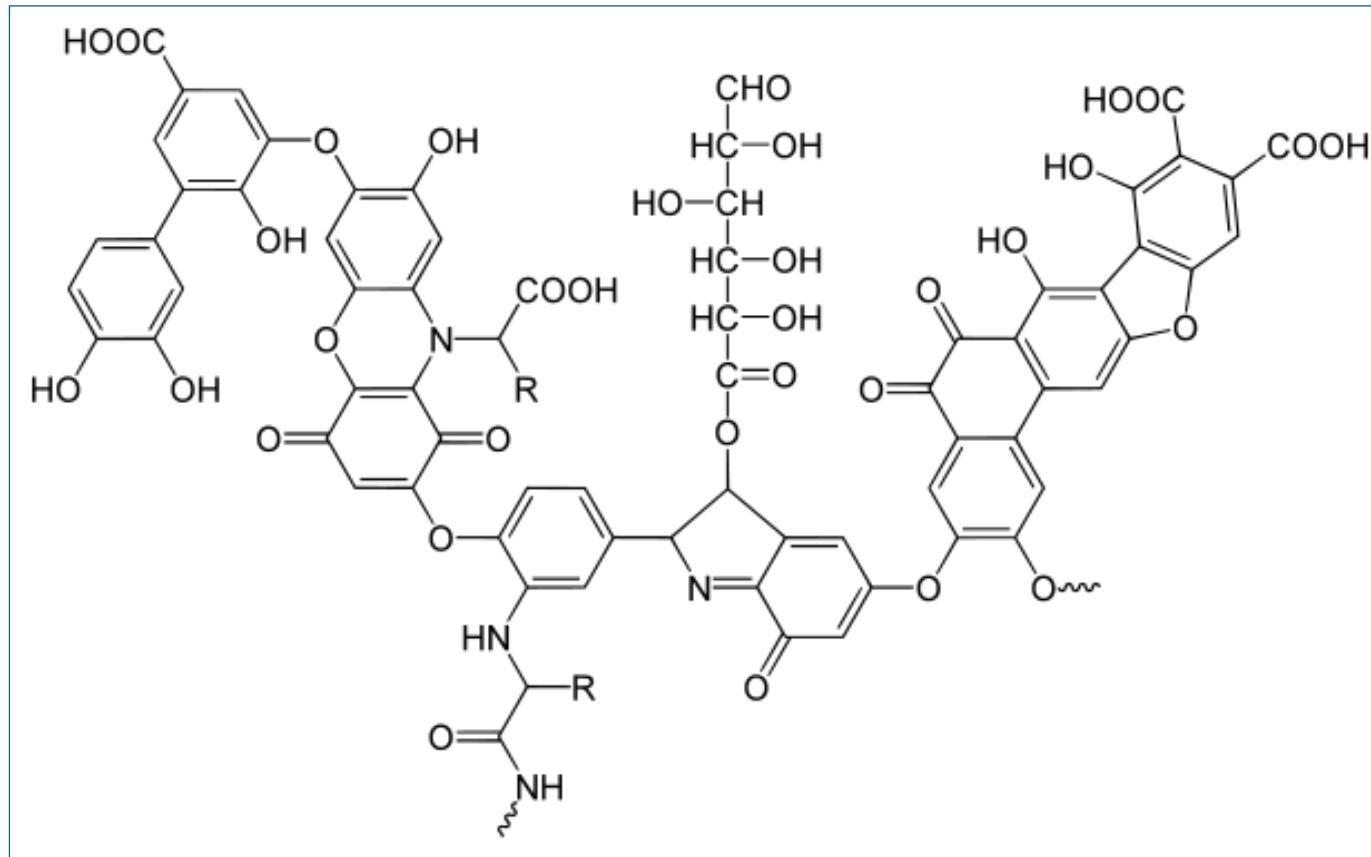


Fulvokyselina (odhadovaná štruktúra):



Model structure of fulvic acid

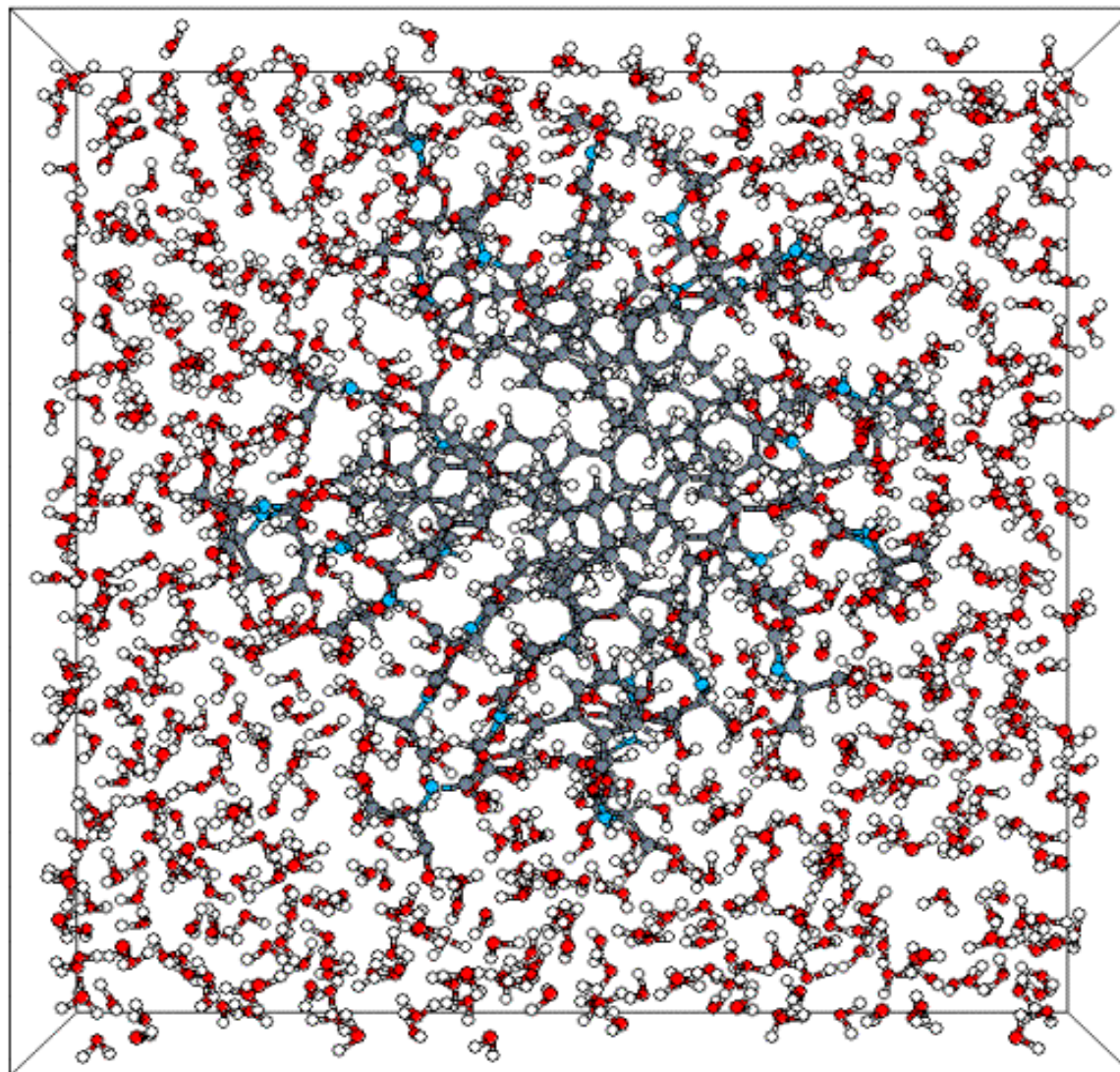
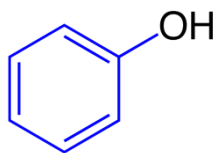
Humínová kyselina (odhadovaná štruktúra): I. príklad



Humínová kyselina (odhadovaná štruktúra): 2. príklad - molekula humínovej kyseliny vo vode

atómy **kyslíka** sú zobrazené červenou, uhlíka čiernou,
dusíka modrou a **vodíka** v bielou farbou

podstatnú časť štruktúry
humínových látok
tvoria fenolové skupiny:



Class	General Structural Formula ^a	Example	Preferred IUPAC Name ^b	Other Name(s)
Alkane	R—H	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Hexane	—
Alkene		CH ₂ =CHCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Pent-1-ene	1-Pentene
Alkyne	—C≡C—	CH ₃ C≡CCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Oct-2-yne	2-Octyne
Alcohol	R—OH	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	Butan-1-ol	1-Butanol
Alkyl halide	R—X ^c	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Br	1-Bromohexane	—
Ether	R—O—R'	CH ₃ —O—CH ₂ CH ₂ CH ₃	1-Methoxypropane	Methyl propyl ether ^d
Amine	R—NH ₂	CH ₃ CH ₂ CH ₂ —NH ₂	Propan-1-amine	1-Propanamine, 1-aminopropane, Propylamine ^d
Aldehyde		CH ₃ CH ₂ CH ₂ C(=O)H	Butanal	Butyraldehyde ^d
Ketone		CH ₃ CH ₂ C(=O)CH ₂ CH ₂ CH ₃	Hexan-3-one	3-Hexanone, ethyl propyl ketone ^d

^aThe functional group is shown in red. R and R' represent alkyl groups.

^bIn the preferred IUPAC name, the carbon number is placed immediately before the part of the name to which it relates.

For example, it appears before *ene* in the name of an alkene; before *-yne* in an alkyne; before *-ol* in the name of an alcohol

^cX stands for a halogen atom: F, Cl, Br, or I.

^dCommon name.

^eAr stands for an aromatic (*aryl*) group, such as the benzene ring.

Chemické zloženie prírodných makromolekúl vychádza zo zastúpenia funkčných skupín (podobne ako pri jednoduchších organických látkach)

Class	General Structural Formula ^a	Example	Preferred IUPAC Name ^b	Other Name(s)
Ketone		CH ₃ CH ₂ C(=O)CH ₂ CH ₂ CH ₃	Hexan-3-one	3-Hexanone, ethyl propyl ketone ^d
Carboxylic acid		CH ₃ CH ₂ CH ₂ C(=O)OH	Butanoic acid	Butyric acid ^d
Ester		CH ₃ CH ₂ CH ₂ C(=O)OCH ₃	Methyl butanoate	Methyl butyrate ^d
Amide		CH ₃ CH ₂ CH ₂ C(=O)NH ₂	Butanamide	Butyramide
Arene	Ar—H ^e		Ethylbenzene	—
Aryl halide	Ar—X ^c		Bromobenzene	—
Phenol	Ar—OH		4-Chlorophenol	<i>p</i> -Chlorophenol

Výstupom z laboratórneho merania je však často “iba” informácia o relatívnej početnosti funkčných skupín → chýba komplexnejšia informácia o štruktúre

Metódy laboratórnej analýzy chemickej štruktúry prírodných makromolekúl

Keďže viacero vlastností organických látok závisí od ich štruktúry, ponúka sa otázka, ako chemickú štruktúru biomakromolekúl analyzujeme?

- Hmotnostná spektrometria
- Nukleárna magnetická rezonancia
- Infračervená spektroskopia
- ...
- existujú rôzne modifikácie a kombinácie jednotlivých metód

Metódy laboratórnej analýzy chemickej štruktúry prírodných makromolekúl

Hmotnostná spektrometria

- umožňuje určiť: molekulovú hmotnosť, elementárne zloženie, štruktúrne parametre
- pri MS meraní dochádza v typickom prípade k:

1. transformácii molekúl na ióny

2. separácii iónov na základe pomeru hmotnosti a náboja

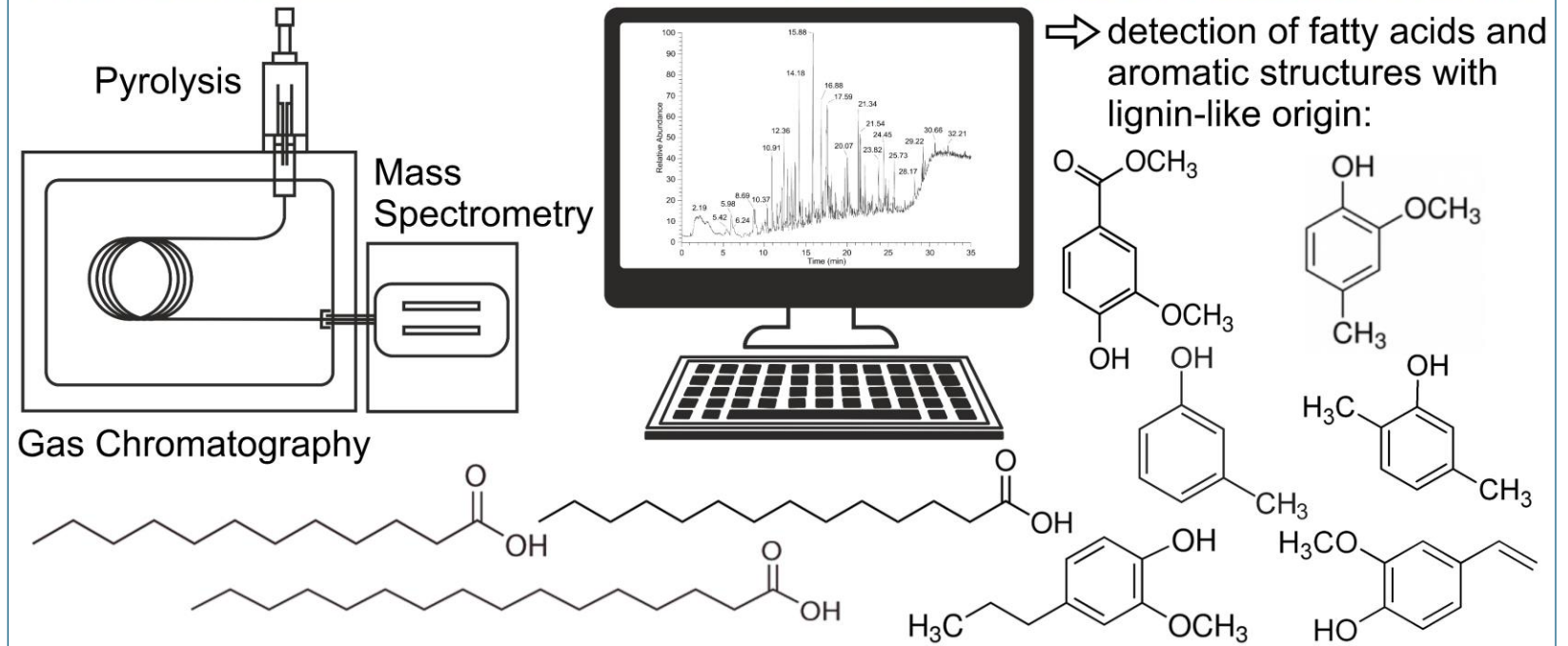
3. detekcii

- | | metóda | použitie |
|---|---------------------------|--|
| • ionizácia nastáva v dôsledku → | elektrónová alebo | prchavé organické látky |
| | elektrosprejová ionizácia | biomolekuly, polárne látky |
| • ióny sa separujú na základe parametra m/z (m = hmotnosť, z = náboj). Väčšina organických iónov má $z = 1$, takže m/z zodpovedá približne molekulovej hmotnosti. | MALDI
APCI | proteíny, polyméry
menej polárne látky |
| • detekcia množstva iónov → | spektrum. | grafické znázornenie: os $x \rightarrow m/z$, os $y \rightarrow$ relatívna abundancia |

Pri pyrolýze v dôsledku aplikácie prudkého ohrevu (600°C) malého množstva vzorky (zhomogenizovaný prášok) v inertnej atmosfére dôjde k rozrušeniu makromolekúl na štruktúrne fragmenty, ktoré sú následne identifikované princípom plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrometrie.

1. Pine-Oak Forest:
soils developed
on aeolian sands
temperature $\approx 9.5^{\circ}\text{C}$
precipitation $\approx 600\text{ mm}$
evapotranspiration $\approx 750\text{ mm}$
soil pH ≈ 4.7 , C/N ≈ 25.3

2. Spruce Forest:
soils developed on
igneous moraine gravel
temperature $\approx 5^{\circ}\text{C}$
precipitation $\approx 950\text{ mm}$
evapotranspiration $\approx 200\text{ mm}$
soil pH ≈ 3.5 , C/N ≈ 22.1



Metódy laboratórnej analýzy chemickej štruktúry prírodných makromolekúl

Nukleárna magnetická rezonancia (NMR)

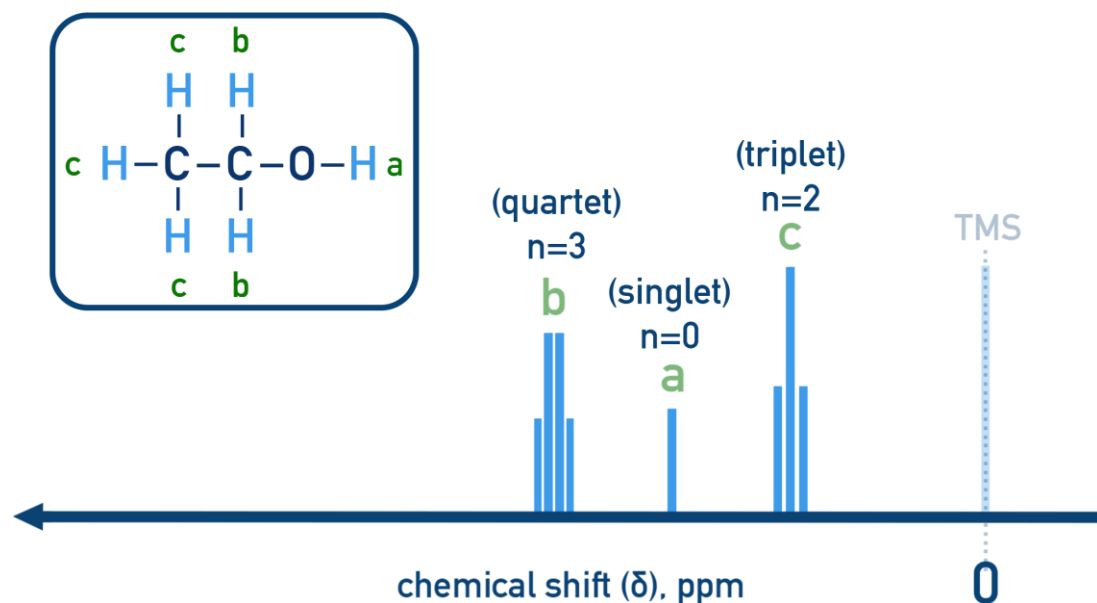
- NMR je metóda používaná na určenie štruktúry organických molekúl na základe správania atómových jadier v magnetickom poli.
- Najdôležitejšie jadrá v organickej chémii sú:
 - ^1H NMR → študuje atómy vodíka
 - ^{13}C NMR → študuje atómy uhlíka
- obe techniky poskytujú informácie o chemickom prostredí atómov v molekule.
- Princíp NMR: Jadrá (^1H a ^{13}C) sa správajú ako malé magnety, pretože majú jadrový spin.
- Keď je vzorka umiestnená v silnom magnetickom poli:
 1. Orientácia jadier je buď v súlade so smerom pôsobenia magnetického poľa alebo proti nemu.
 2. Aplikuje sa rádiový frekvenčný žiarenie.
 3. Jadrá absorbujú energiu so špecifickou frekvenciou.
 4. Absorbované frekvencie závisia od okolitých elektrónov a susedných atómov.
- podobne ako pri iných spektroskopických meraniach, výstup z analýzy označujeme “spektrum” → pozície detegovaných pík a ich intenzita vypovedajú o chemickej štruktúre analyzovanej látky

NMR: dve často používané modifikácie

^1H NMR poskytuje informácie o:

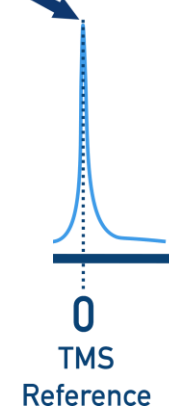
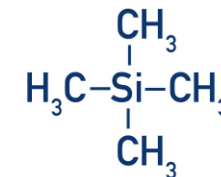
- počte rôznych typov vodíkov
- počte určitého typu vodíkov (spoločnej množiny)
- ktoré susedné atómy sú v blízkosti
- ako sú vodíky prepojené

^1H NMR $\rightarrow$ prostredie a konektivita v okolí H



Tetrametylsilán (TMS) sa používa ako základný referenčný štandard pri NMR $\rightarrow$

only 1 unique C
and 1 unique H
environment

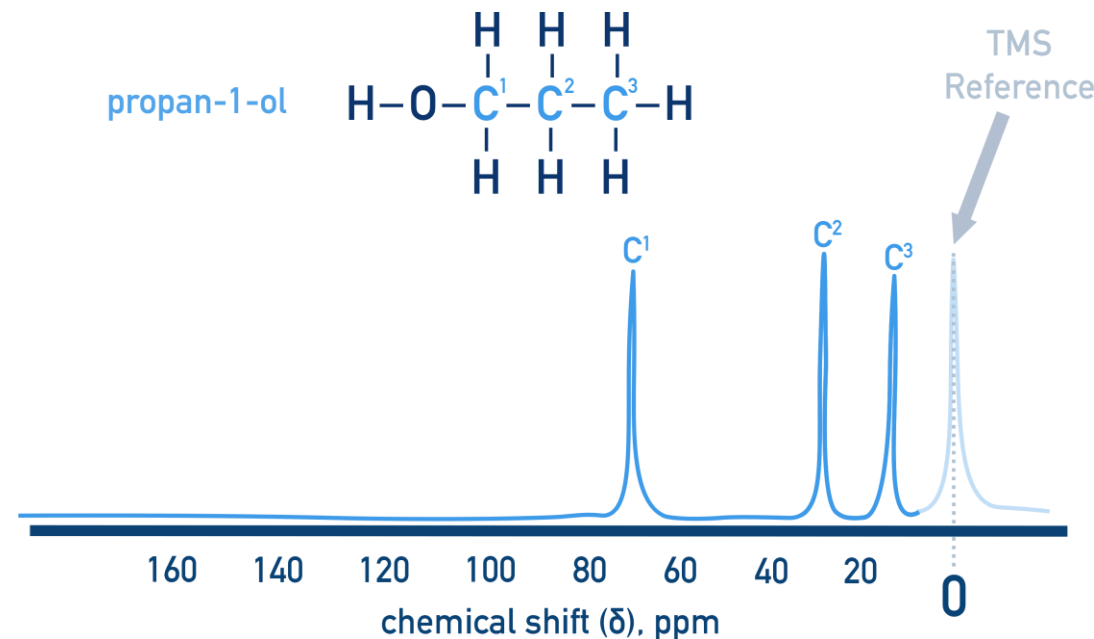


^{13}C izotop uhlíka (~1,1 %) je NMR-aktívny.

^{13}C NMR poskytuje informácie o:

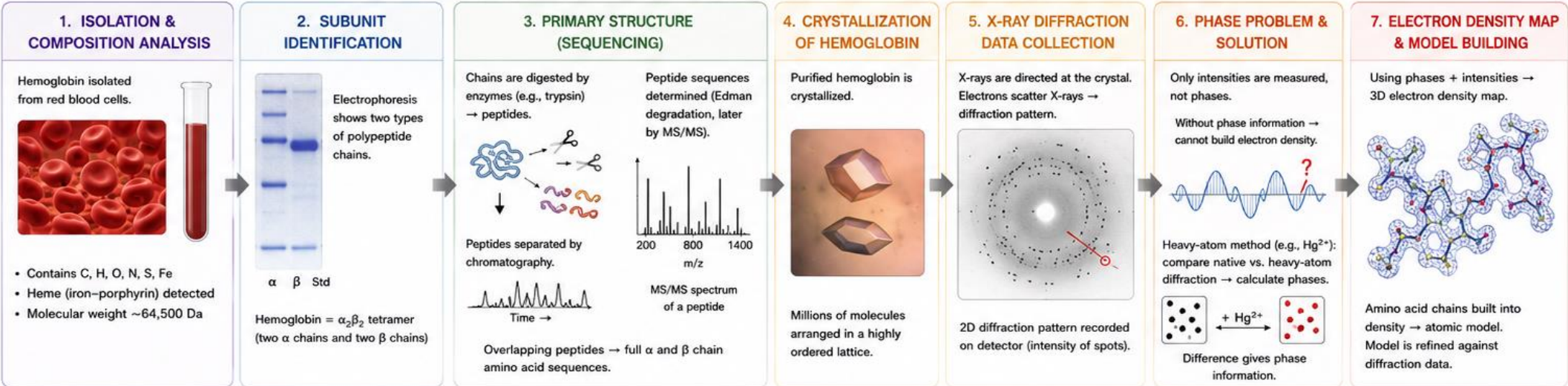
- počte chemicky odlišných uhlíkov
- funkčných skupinách
- molekulovej symetrii

^{13}C NMR $\rightarrow$ C kostra (skeleton) molekuly a funkčné skupiny

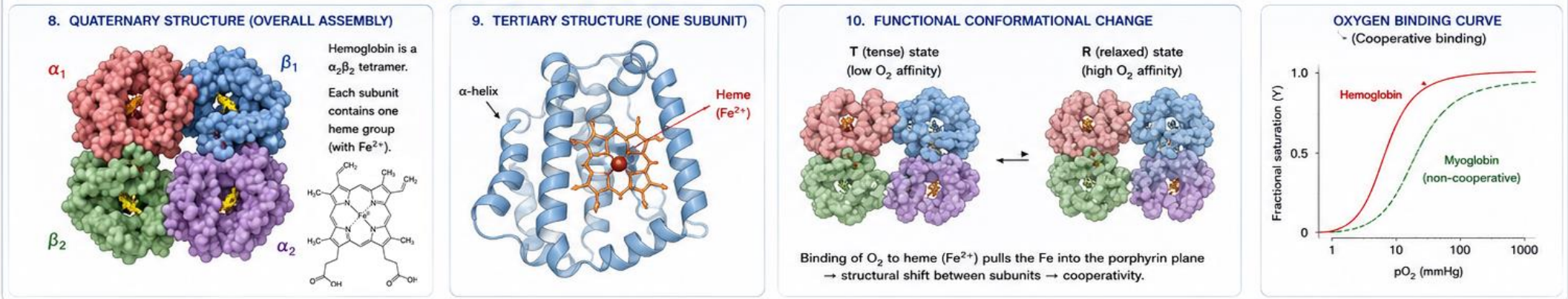


Ako už bolo naznačené, skutočne silným nástrojom pri odhaľovaní chemickej štruktúry organických látok je použitie viacerých metód. Každá je selektívna vo vzťahu k inej stránke štruktúry molekúl. K naviac preskúmaným látkam patria proteíny, keďže sú životne dôležité. Obrázok ilustruje aké rôzne metódy chemickej analýzy boli použité pri štúdiu štruktúry hemoglobínu.

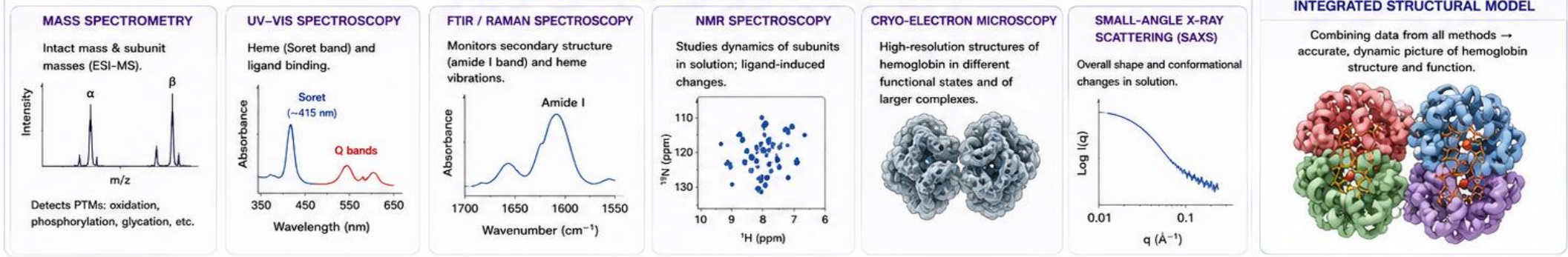
THE ANALYTICAL WORKFLOW: HOW HEMOGLOBIN STRUCTURE WAS DETERMINED



WHAT THE STRUCTURE REVEALED

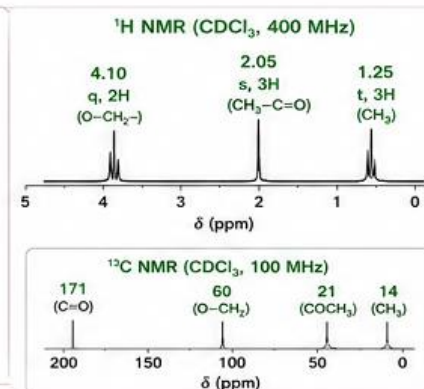
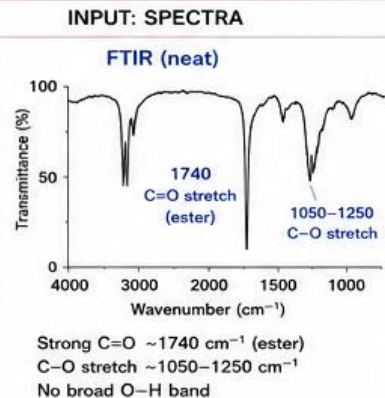
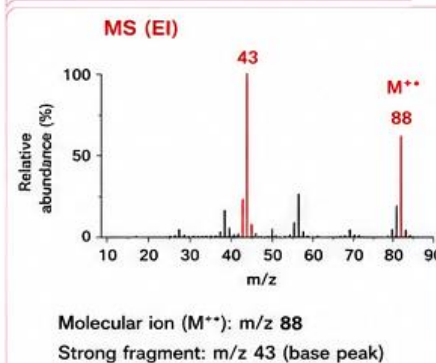


MODERN COMPLEMENTARY TECHNIQUES THAT PROVIDE ADDITIONAL INSIGHT



Kombinácia
hmotnostnej
spektrometrie,
IČ a NMR
spektroskopie
ako efektívny
nástroj pri
odhaľovaní
chemickej
štruktúry
organických
látok.

EXAMPLE 1 – Unknown A



KEY INTERPRETATION

- $M^{++} = 88 \rightarrow$ Molecular formula likely $C_4H_8O_2$ (one degree of unsaturation)
- FTIR: ester ($C=O + C-O$, no $O-H$)
- ^1H NMR: ethyl group (q 2H + t 3H) plus acetyl methyl (s 3H)
- ^{13}C NMR: ester carbonyl (~ 171 ppm) and $O-CH_2$ (~ 60 ppm)

$\rightarrow$ Consistent with an ester having CH_3CO- and $-OCH_2CH_3$ groups

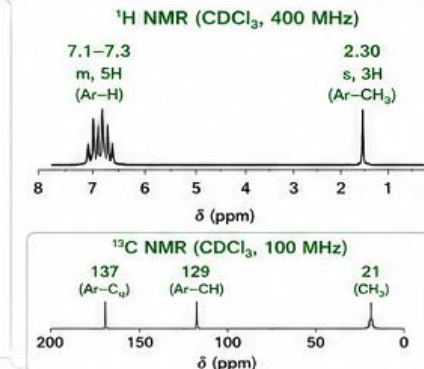
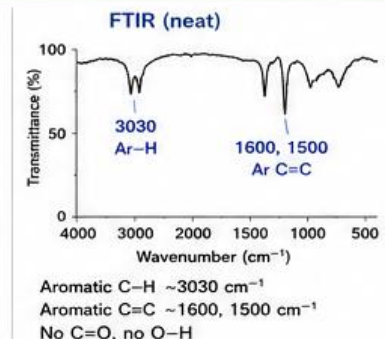
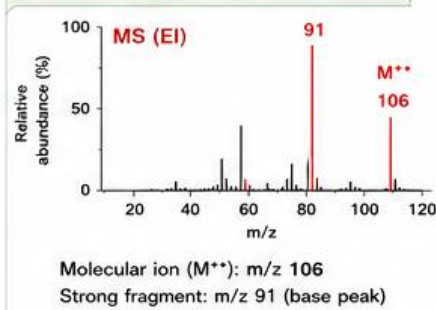
STRUCTURE IDENTIFICATION

ETHYL ACETATE

CC(=O)OCC

- ✓ Matches MW (88)
- ✓ Explains base peak m/z 43 (CH_3CO^+)
- ✓ All spectroscopic features accounted for

EXAMPLE 2 – Unknown B



KEY INTERPRETATION

- $M^{++} = 106 \rightarrow$ Formula consistent with C_8H_{10}
- MS fragment m/z 91 = tropylium ion ($C_7H_7^+$) $\rightarrow$ indicates benzene ring with side chain
- FTIR: aromatic ring present
- ^1H NMR: monosubstituted benzene (5H) + methyl singlet (3H)
- ^{13}C NMR: aromatic carbons + CH_3

$\rightarrow$ Structure is methylbenzene

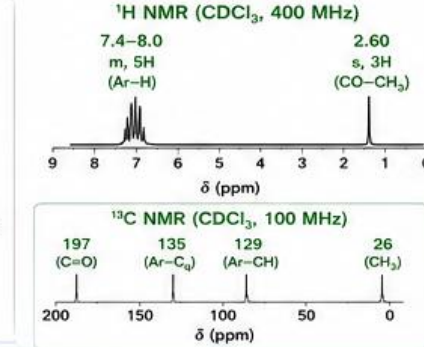
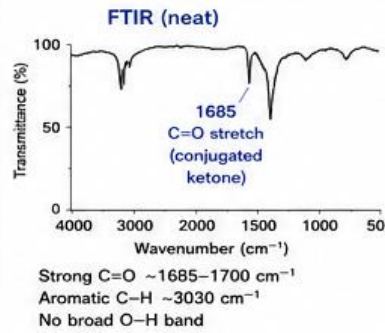
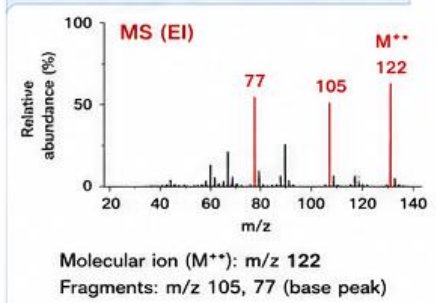
STRUCTURE IDENTIFICATION

TOLUENE

Cc1ccccc1

- ✓ Matches MW (106)
- ✓ Explains m/z 91 (tropylium ion)
- ✓ Consistent with all NMR & FTIR data

EXAMPLE 3 – Unknown C



KEY INTERPRETATION

- $M^{++} = 122 \rightarrow$ Formula consistent with $C_8H_{10}O$
- FTIR: carbonyl present (ketone)
- ^{13}C NMR: carbonyl at ~ 197 ppm $\rightarrow$ ketone (not ester/acid)
- ^1H NMR: monosubstituted benzene (5H) + acetyl methyl singlet (3H)
- MS fragments: m/z 105 ($M-17$, loss of $\cdot OH$) and m/z 77 ($C_6H_5^+$)

$\rightarrow$ Acyl-substituted benzene: acetophenone

STRUCTURE IDENTIFICATION

ACETOPHENONE

CC(=O)c1ccccc1

- ✓ Matches MW (122)
- ✓ Ketone confirmed by FTIR & ^{13}C NMR
- ✓ All spectroscopic data consistent

HOW THE TECHNIQUES COMPLEMENT EACH OTHER



GENERAL STRATEGY

1. Determine molecular weight (M^{++}) from MS $\rightarrow$ possible formula.
2. Identify functional groups from FTIR.
3. Use NMR to determine the carbon skeleton and proton environments.
4. Verify consistency across all data (MS fragments, FTIR, NMR).
5. Propose and confirm the structure.

Legend: m = multiplet, s = singlet, t = triplet, q = quartet

Note: Data shown are typical values. Small shifts may occur with instruments and compounds.

- K moderným analytickým metódam umožňujúcim efektívne štúdium štruktúry látok patrí aj **spektroskopia XANES** (X-ray absorption near edge structure), nazývaná aj **NEXAFS** (near edge X-ray absorption fine structure).
- Nie je v tomto kontexte dôležité vysvetľovať jej princíp, ale skôr upriamiť pozornosť na zákonitosť ktorá nachádza časté uplatnenie v analytickej chémii, a síce, že parametre píkovej detegovaných v spektre (napr. plocha, intenzita) vypovedajú o relatívnom zastúpení štruktúrnych jednotiek (funkčných skupín) viazaných v analyzovanom materiáli vzorky.

