

Espectrometria de massa

Os princípios que delineiam a espectrometria de massa são bem anteriores a todas as outras técnicas instrumentais descritas neste livro. Os princípios fundamentais datam do fim dos anos 1890, quando J. J. Thomson determinou a razão massa/carga do elétron, e Wien estudou a deflexão magnética de raios anódicos e determinou que os raios eram carregados positivamente. Cada estudioso recebeu um Prêmio Nobel (Thomson em 1906 e Wien em 1911) por seus trabalhos. Em 1912-1913, J. J. Thomson estudou os espectros de massa de gases atmosféricos e usou um espectro de massa para demonstrar a existência de néon-22 em uma amostra de néon-20, estabelecendo assim que elementos poderiam ter isótopos. O primeiro espectrômetro de massa, como se sabe hoje, foi construído por A. J. Dempster, em 1918. Contudo, o método de espectrometria de massa não se popularizou até mais ou menos 50 anos atrás, quando foram disponibilizados instrumentos baratos e confiáveis.

Nas décadas de 1980 e 1990, o desenvolvimento de técnicas de ionização para compostos com pesos moleculares (PM) altos e amostras biológicas introduziu a espectrometria de massa para uma nova comunidade de pesquisadores. A introdução de instrumentos comerciais baratos e de fácil manutenção que ofereciam alta resolução tornou a espectrometria de massa uma técnica indispensável em vários campos bem distantes daqueles dos laboratórios de Thomson e Wien. Hoje, a indústria de biotecnologia usa a espectrometria de massa para examinar e sequenciar proteínas, oligonucleotídeos e polissacarídeos. A indústria farmacêutica usa a espectrometria de massa em todas as fases do processo de desenvolvimento de remédios, desde a descoberta de compostos importantes e análise estrutural até desenvolvimento sintético e química combinatória, na farmacologia e no metabolismo de remédios. Em clínicas de saúde em todo o mundo, a espectrometria de massa é usada em testes de sangue e urina para tudo, desde registro da presença e do nível de certos compostos que são marcadores de estados patológicos, incluindo muitos cânceres, até detecção de presença e análise quantitativa de drogas ilícitas ou anabolizantes. Cientistas ambientais confiam na espectrometria de massa para monitorar a qualidade da água e do ar, e geólogos usam a espectrometria de massa para testar a qualidade das reservas de petróleo.

Até o momento, pelo menos cinco cientistas receberam o Prêmio Nobel por trabalhos diretamente ligados a espectrometria de massa: J. J. Thomson (Física, 1906), por “investigações teóricas e experimentais sobre a condução de eletricidade por gases”; F. W. Aston (Química, 1922), pela “descoberta, por meio de um espectrógrafo de massa, de isótopos em um grande número de elementos não radioativos”; W. Paul (Física, 1989), “pelo desenvolvimento da técnica de armadilha de íons”; e, mais recentemente, J. B. Fenn e K. Tanaka (Química, 2002), “pelo desenvolvimento de métodos suaves de ionização e dessorção em análises espectrométricas de massa de macromoléculas biológicas”.

8.1 ESPECTRÔMETRO DE MASSA: UMA VISÃO GERAL

Em sua forma mais simples, o espectrômetro de massa tem cinco componentes (Figura 8.1), e cada um será abordado separadamente neste capítulo. O primeiro componente do espectrômetro de massa é a *unidade de entrada da amostra* (Seção 8.2), que traz a amostra do ambiente laboratorial (1 atm) para a pressão mais baixa do espectrômetro de massa. As pressões dentro do espectrômetro de massa vão de alguns poucos milímetros de mercúrio em uma fonte de ionização química até alguns micrômetros de mercúrio nas regiões do analisador de massa e do detector do instrumento. A unidade de entrada da amostra leva até a *fonte de íons* (Seção 8.3), onde as moléculas da amostra são transformadas em íons em fase gasosa. Os íons são, então, acelerados por um campo eletromagnético. A seguir, o *analisador de massa* (Seção 8.4) separa os íons da amostra baseado em sua *razão massa/carga* (m/z). Os íons são, então, contados pelo *detector* (Seção 8.5), e o sinal é registrado e processado pelo *sistema de dados*, em geral um computador pessoal (PC). O produto do sistema de dados é o *espectro de massa* – um gráfico do número de íons detectados como uma função de sua razão m/z .



FIGURA 8.1 Componentes de um espectrômetro de massa. Fonte: Gross (2004). Reprodução autorizada.

8.2 INJEÇÃO DA AMOSTRA

Quando examinamos em detalhes cada uma das funções essenciais de um espectrômetro de massa, vemos que o espectrômetro de massa é, de certa forma, mais complexo do que a forma como foi descrito. Antes de os íons poderem ser formados, um fluxo de moléculas deve ser introduzido na *fonte de ionização* (câmara de ionização), na qual ocorre a ionização. Uma *unidade de injeção da amostra* gera esse fluxo de moléculas.

Uma amostra estudada por espectrometria de massa pode ser um gás, um líquido ou um sólido. Deve-se converter uma quantidade suficiente da amostra em vapor para se obter um fluxo de moléculas, o qual deve fluir para dentro da câmara de ionização. Com gases, logicamente, a substância já está vaporizada, e assim pode-se usar um sistema simples para introdução da amostra. Essa unidade é apenas parcialmente evacuada, de forma que a câmara de ionização está em uma pressão menor do que a unidade de entrada. A amostra é introduzida em um grande reservatório, a partir do qual as moléculas de vapor podem ser deslocadas para dentro da câmara de ionização, que está em baixa pressão. Para garantir que um fluxo de moléculas que entra na câmara de ionização seja constante, o vapor atravessa um pequeno furo, chamado de *escapamento molecular*, antes de entrar na câmara. O mesmo sistema pode ser usado com líquidos ou sólidos voláteis. Para materiais menos voláteis, o sistema pode ser projetado para caber em um forno, que aqueceria a amostra a fim de aumentar a pressão de vapor da amostra. Deve-se tomar cuidado para não aquecer a amostra até uma temperatura em que acabe por se decompor.

Com amostras não voláteis, devem-se usar outras unidades de injeção de amostra. Um método comum é o de *sonda direta*. A amostra é colocada sobre um laço fino de arame ou prendida na ponta de uma sonda, que é então inserida, por meio de uma comporta em vácuo, na câmara de ionização. A sonda da amostra é posicionada perto da fonte de ionização. A sonda pode ser aquecida, desenvolvendo assim va-

por da amostra próximo do feixe ionizante de elétrons. Um sistema como esse pode ser usado para estudar amostras de moléculas com pressões de vapor menores que 10^{-9} mmHg em temperatura ambiente.

As unidades de injeção de amostra mais versáteis são construídas conectando-se um cromatógrafo a um espectrômetro de massa. Essa técnica de introdução de amostra possibilita que uma mistura complexa de componentes seja separada pelo cromatógrafo, e o espectro de massa de cada componente pode, então, ser determinado individualmente. Uma desvantagem desse método ocorre quando há necessidade de varredura rápida pelo espectrômetro de massa. O instrumento deve determinar o espectro de massa de cada componente da mistura *antes* de o próximo componente sair da coluna cromatográfica, de forma que a primeira substância não fique contaminada pela seguinte antes de se ter obtido seu espectro. Como na cromatografia são usadas colunas de alta eficiência, na maioria dos casos os compostos são totalmente separados antes de o fluxo eluente ser analisado. O instrumento deve ter a capacidade de obter pelo menos uma varredura por segundo na faixa de 10 a 300 m/z . São necessárias até mais varreduras se uma faixa menor de massa tiver de ser analisada. O espectrômetro de massa acoplado ao cromatógrafo deve ser relativamente compacto e capaz de alta resolução.

Na *espectrometria de massa/cromatografia de gás* (GC-MS), o fluxo gasoso que sai de um cromatógrafo é admitido, por meio de uma válvula, em um tubo, onde atravessa um escapamento molecular. Parte do fluxo gasoso é, então, admitido na câmara de ionização do espectrômetro de massa. Dessa forma, é possível obter o espectro de massa de todo componente de uma mistura injetada no cromatógrafo de gás. Na verdade, o espectrômetro de massa cumpre o papel de detector. Da mesma forma, a *espectrometria de massa/cromatografia de líquido de alta performance* (HPLC-MS, ou mais simplesmente LC-MS) acopla um instrumento de HPLC em um espectrômetro de massa por meio de uma interface especial. As substâncias que eluem da coluna HPLC são detectadas pelo espectrômetro de massa, e seus espectros de massa podem ser mostrados, analisados e comparados a espectros padrão encontrados na biblioteca digital contida no instrumento.

8.3 MÉTODOS DE IONIZAÇÃO

A. Ionização por elétrons (EI)

Independentemente do método de introdução da amostra, depois que o fluxo de moléculas desta tiver entrado no espectrômetro de massa, as moléculas da amostra devem ser transformadas em partículas carregadas pela *fonte de ionização* antes de serem analisadas e detectadas. O método mais simples e comum de converter a amostra em íons é a *ionização por elétrons* (EI). Na EI-MS, é emitido um feixe de elétrons de alta energia a partir de um *filamento* aquecido até vários milhares de graus Celsius. Esses elétrons de alta energia atingem o fluxo de moléculas admitidas pela unidade de entrada da amostra. A colisão entre elétrons e moléculas retira um elétron da molécula, criando um cátion. Uma *placa repelente*, em um potencial elétrico positivo, direciona os íons recém-criados para uma série de *placas aceleradoras*. Uma grande diferença de potencial, que vai de 1 a 10 quilovolts (kV), aplicado nessas placas aceleradoras produz um feixe de íons positivos que viajam rapidamente. Uma ou mais *fendas colimadoras* geram um feixe uniforme de íons (Figura 8.2).

A maioria das moléculas da amostra nunca é ionizada, mas é continuamente sugada por bombas de vácuo conectadas à câmara de ionização. Algumas moléculas são convertidas em íons negativos por meio da absorção de elétrons. A placa repelente absorve esses íons negativos. Em alguns instrumentos, é possível inverter a polaridade das placas repelentes e aceleradoras, o que permite a análise de massa de íons negativos (ânions) criados pela captura de elétrons quando as moléculas da amostra são atingidas pelo feixe de elétrons. Uma pequena proporção dos íons positivos formados pode ter uma carga maior do que um (perda de mais de um elétron), e estes são acelerados da mesma forma que os íons positivos de carga única.

A energia necessária para remover um elétron de um átomo ou de uma molécula é seu *potencial de ionização* ou *energia de ionização*. A maioria dos compostos orgânicos tem potenciais de ionização entre 8 e 15 elétrons volts (eV). Entretanto, um feixe de elétrons não cria íons com alta eficiência até que atinja o fluxo de moléculas com energia entre 50 e 70 eV. Para obter características espectrais reproduzíveis, incluindo padrões de fragmentação que podem ser prontamente comparados com bases de dados eletrônicas, deve-se usar um feixe de elétrons padrão de 70 eV.

A EI-MS tem suas vantagens na espectrometria de massa de pequenas moléculas orgânicas. O equipamento de ionização de elétrons não é caro e é robusto. O excesso de energia cinética transmitida para a amostra durante o processo de EI leva a uma fragmentação significativa de íons moleculares (Seção 8.8). O padrão de fragmentação de um composto é reproduzível, e estão disponíveis muitas bibliotecas de dados EI-MS. Isso permite que se compare o espectro de massa de um composto da amostra com milhares de dados em uma biblioteca espectral, em questão de segundos, usando um PC, o que simplifica o processo de determinação ou de confirmação de identidade de um composto.

A fragmentação do íon molecular nas condições da EI pode também ser considerada uma desvantagem característica. Alguns compostos são tão facilmente fragmentados que o tempo de vida do íon molecular é muito curto para ser detectado pelo analisador de massa. Dessa forma, não se pode determinar a massa molecular do composto (Seção 8.6) em tais casos. Outra desvantagem da EI-MS é que a amostra deve ser relativamente volátil para que possa entrar em contato com o feixe de elétrons na câmara de ionização. Esse fato, juntamente com o problema de fragmentação, dificulta a análise, por meio de EI-MS, de compostos de peso molecular (PM) alto e da maioria das biomoléculas.

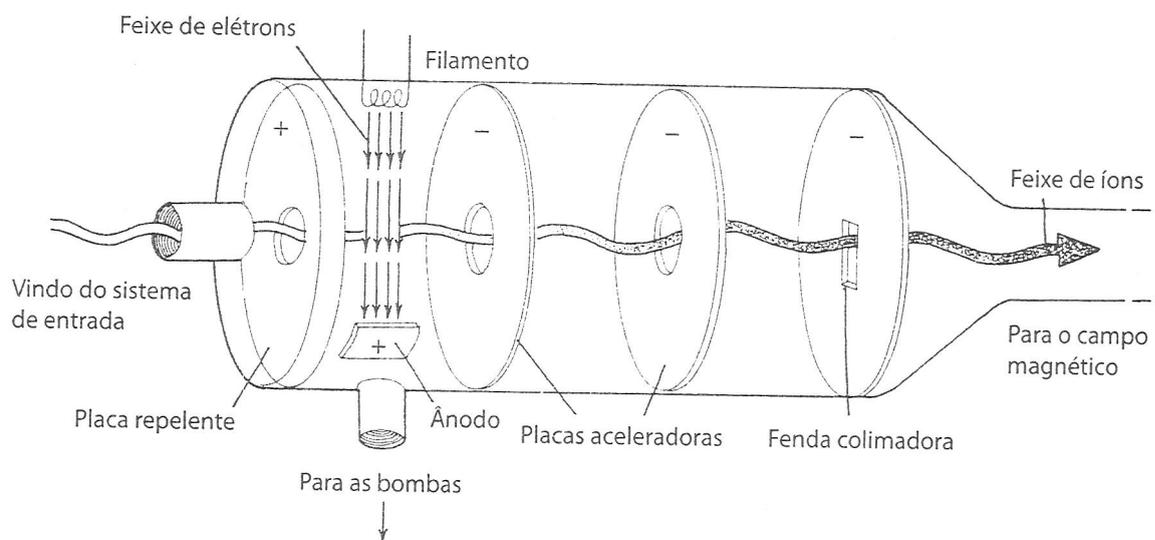


Figura 8.2 Câmara de ionização de elétrons.

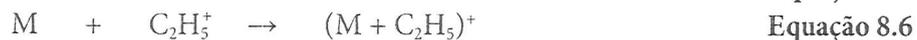
B. Ionização química (CI)

Na *espectrometria de massa/ionização química* (CI/MS), as moléculas da amostra são combinadas com um fluxo de gás reagente ionizado, presente em grande excesso em comparação com a amostra. Quando as moléculas da amostra colidem com o gás reagente pré-ionizado, algumas delas são ionizadas por vários mecanismos, como transferências de prótons, transferência de elétrons e formação de adutos. Quase todos os gases ou líquidos altamente voláteis podem ser usados como gás reagente na CI/MS.

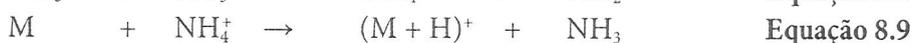
Alguns reagentes ionizantes comuns na CI/MS são metano, amônia, isobutano e metanol. Quando se usa o metano como gás reagente em CI, o evento de ionização predominante é a transferência de prótons de um íon CH_5^+ para a amostra. Íons em menor concentração são formados via adutos entre C_2H_5^+ , homólogos mais altos e a amostra. O metano é convertido em íons, como demonstrado nas Equações 8.1 a 8.4.



A molécula de amostra M é, então, ionizada, por meio de reação entre moléculas e íons nas Equações 8.5 e 8.6:



Essa situação é muito semelhante para CI tendo a amônia como gás reagente (Equações 8.7 a 8.9):



Usar o isobutano como gás reagente produz cátions *tert*-butila (Equações 8.10 e 8.11), que prontamente protonam sítios básicos na molécula da amostra (Equação 8.12). A formação de adutos também é possível usando o isobutano na CI/MS (Equação 8.13).

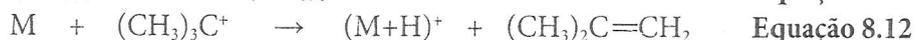


Tabela 8.1 Resumo dos gases reagentes de ionização química (CI)				
Gás Reagente	Afinidade Protônica (kcal/mole)	Íon(s) Reagente(s)	Íon(s) Analítico(s)	Comentários
H ₂	101	H ₃ ⁺	(M + H) ⁺	Produz fragmentação significativa
CH ₄	132	CH ₅ ⁺ , C ₂ H ₅ ⁺	(M + H) ⁺ , (M + C ₂ H ₅) ⁺	Menos fragmentação do que H ₂ , pode formar adutos
NH ₃	204	NH ₄ ⁺	(M + H) ⁺ , (M + NH ₄) ⁺	Ionização seletiva, fragmentação pequena, pouca formação de adutos
(CH ₃) ₃ CH	196	(CH ₃) ₃ C ⁺	(M + H) ⁺ [M + C(CH ₃) ₃] ⁺	Brando, protonação seletiva, fragmentação pequena
CH ₃ OH	182	CH ₃ OH ₂ ⁺	(M + H) ⁺	Grau de fragmentação observado entre o metano e o isobutano
CH ₃ CN	188	CH ₃ CNH ⁺	(M + H) ⁺	Grau de fragmentação observado entre o metano e o isobutano

Variar o gás reagente em CI/MS possibilita que se variem a seletividade da ionização e o grau de fragmentação dos íons. A escolha do gás reagente deve ser feita com cuidado para adequar melhor a *afinidade protônica* do gás reagente à da amostra, a fim de garantir uma ionização eficiente da amostra sem fragmentação excessiva. Quanto maior a diferença entre a afinidade protônica da amostra e a do gás reagente, mais

energia é transferida para a amostra durante a ionização. O excesso de energia produz um íon analito em um estado vibracional altamente excitado. Se for transmitida energia cinética suficiente, o íon da amostra será fragmentado por meio da quebra de ligações covalentes. Portanto, usar um gás reagente com uma afinidade protônica adequada à da amostra resultará em um número maior de íons moleculares intactos e em um número menor de íons fragmentos. Logicamente, não é provável que se saiba com precisão a afinidade protônica da amostra, mas pode-se estimar o valor observando as tabelas de valores determinados para compostos simples com grupos funcionais semelhantes aos da amostra em questão. A Tabela 8.1 apresenta um resumo dos gases reagentes em CI e suas propriedades/íons.

Como se pode ver na Figura 8.3, a CI/MS do acetato de lavandulila (PM 196) gera espectros de massa com aparências muito diferentes, dependendo do gás reagente usado para ionizar a amostra. No espectro de cima, o íon molecular protonado do acetato de lavandulila $[(M + H)^+, m/z = 197]$ é quase impossível de se ver, e o pico mais alto do espectro pertence ao fragmento em $m/z = 137$. No espectro do meio, obtido usando-se o isobutano como gás reagente, o íon molecular protonado em $m/z = 197$ é muito mais destacado, e há menos fragmentação geral. Entretanto, a fragmentação ainda é significativa nesse caso, já que o íon em $m/z = 137$ é o mais abundante no espectro. Por fim, quando o acetato de lavandulila for ionizado usando-se amônia, o íon molecular protonado será o íon mais abundante (o pico basal), e quase não se observará nenhuma fragmentação. Note a presença de um íon aduto $[(M + NH_4)^+, m/z = 214]$ nesse espectro.

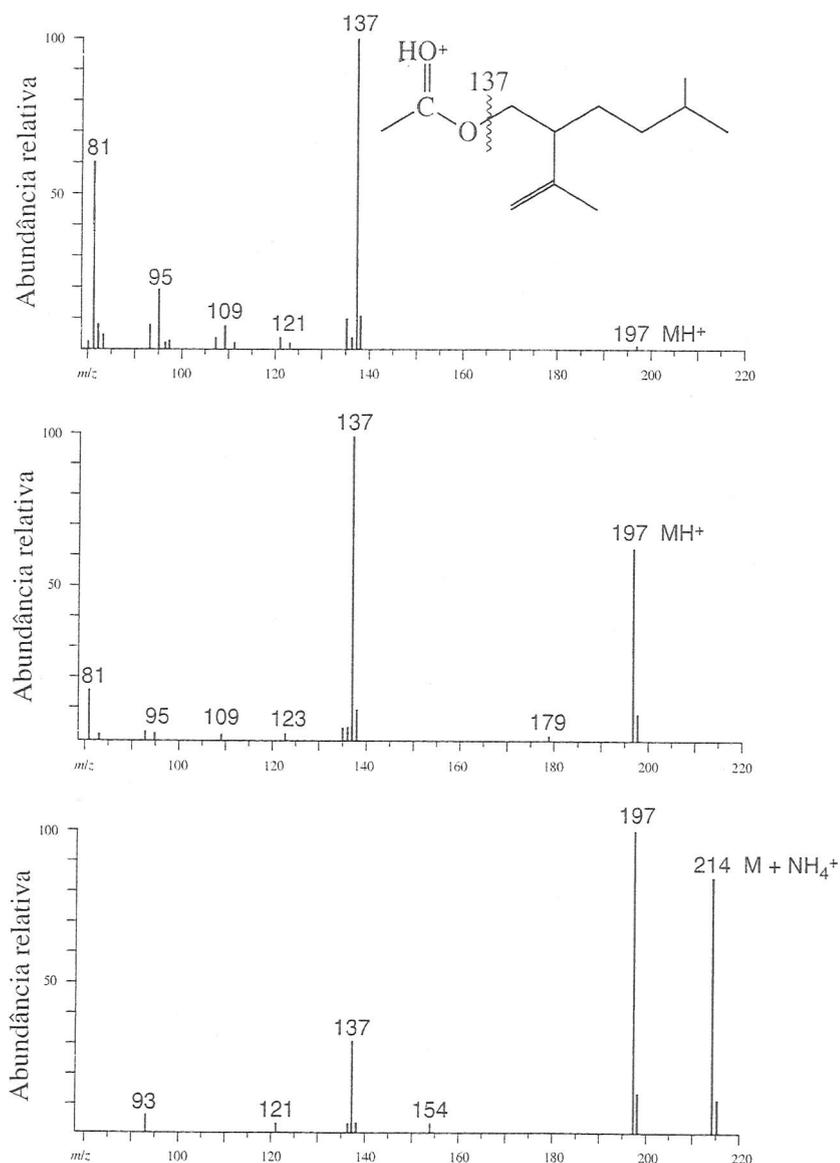


FIGURA 8.3 Comparação de dados CI/MS do acetato de lavandulila usando-se o metano (acima), isobutano (meio) e a amônia (baixo) como gases reagentes. Fonte: McLafferty & Tureček (1993). Reprodução autorizada.

Uma nota prática: espectros obtidos em condições de CI são, em geral, obtidos em uma faixa de massa acima do m/z dos íons do gás reagente. O gás reagente ionizado é também detectado pelo espectrômetro, e, como o gás reagente está presente em grande excesso (comparado à amostra), seus íons dominariam o espectro. Assim, espectros CI (metano) são normalmente obtidos acima de $m/z = 50$ (CH_5^+ é $m/z = 17$, é lógico, mas C_2H_5^+ [$m/z = 29$] e C_3H_5^+ [$m/z = 41$] também estão presentes), e espectros CI (isobutano) são tipicamente obtidos acima de $m/z = 60$ ou 70 .

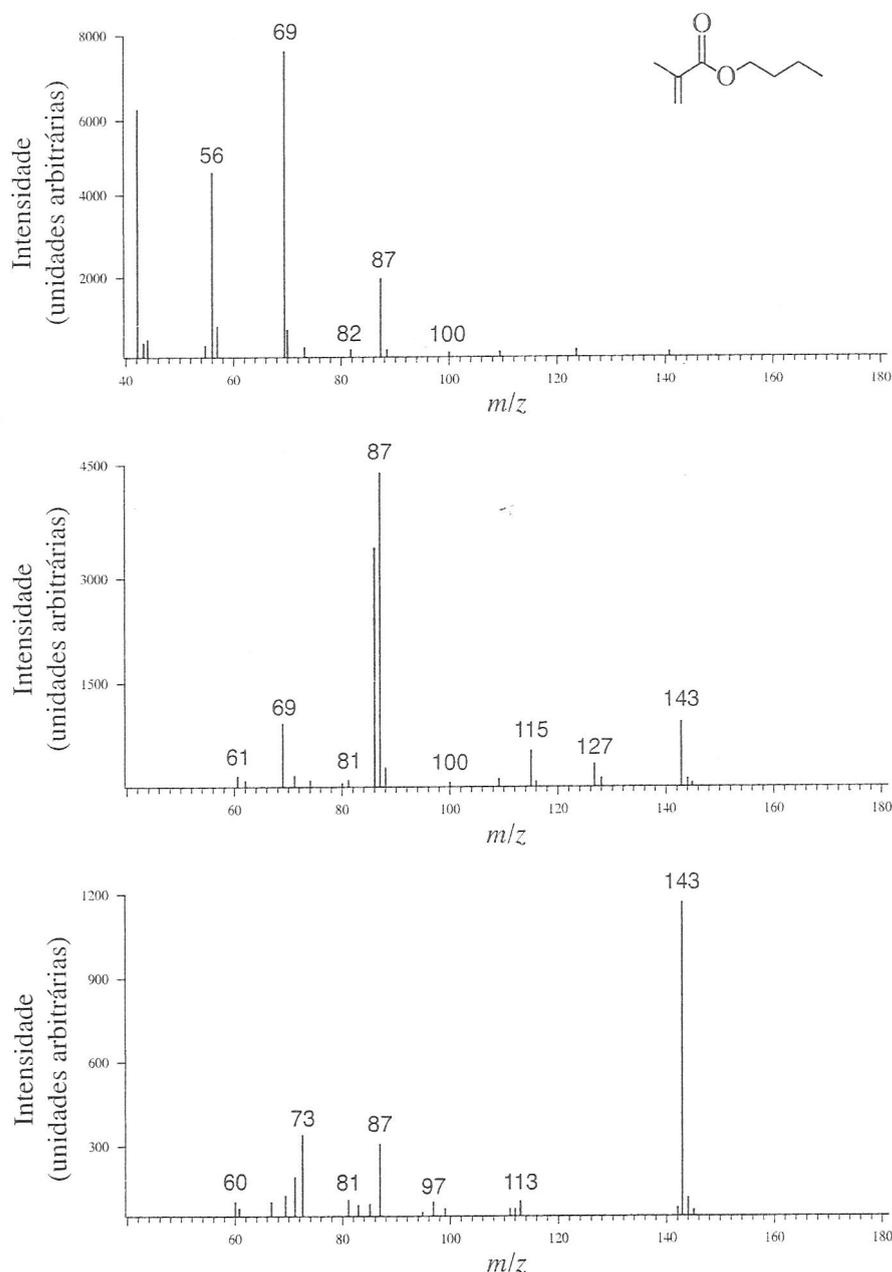


FIGURA 8.4 EM do metacrilato de butila obtido em condições EI (acima) e CI (metano, meio; isobutano, baixo). Fonte: DeHoffmann & Stroobant (1999). Reprodução autorizada.

A principal vantagem da CI/MS é a produção seletiva de íons quase moleculares $[(M + H)^+]$ intactos. A Figura 8.4 mostra o espectro de massa do metacrilato de butila obtido em diferentes condições de ionização. É quase impossível ver o íon molecular ($m/z = 142$) na EI-MS, mas o íon $(M + H)^+$ ($m/z = 143$) é bem destacado nos espectros CI/MS. A CI/MS obtida por meio do uso de isobutano tem muito menos fragmentação do que a CI/MS obtida usando metano como gás reagente. Outras vantagens da CI/MS são instrumentos baratos e robustos. Como na EI-MS, contudo, a amostra deve ser imediatamente vapo-

rizada para passar por ionização química, o que impede a análise de compostos de peso molecular alto e de muitas biomoléculas. As fontes de ionização CI são muito semelhantes, em desenho, às fontes EI, e a maioria dos espectrômetros de massa pode passar do modo EI para o CI em questão de minutos.

Apesar de a protonação ser o método de ionização mais comumente encontrado em CI/MS, outros processos podem ser explorados. Por exemplo, usar uma mistura de nitrito de metila e metano como gás reagente produz CH_3O^- , que abstrai um próton da amostra, levando a um íon-pai $(\text{M}-\text{H})^-$. Do mesmo modo, usar NF_3 como gás reagente produz um íon F^- como um agente de abstração do próton, também levando a íons $(\text{M}-\text{H})^-$. Também é possível formar adutos carregados negativamente em condições CI.

C. Técnicas de ionização por dessorção (SIMS, FAB e MALDI)

Tanto o método EI quanto o CI exigem uma amostra relativamente volátil (baixo peso molecular). Técnicas de ionização desenvolvidas mais recentemente permitem a análise de moléculas grandes, não voláteis, por espectrometria de massa. Três desses métodos, *espectrometria de massa de íon secundário* (SIMS), *bombardamento de átomos rápidos* (FAB) e *ionização por dessorção a laser assistido por matriz* (MALDI), são técnicas de *ionização por dessorção* (DI). Na ionização por dessorção, a amostra a ser analisada é dissolvida ou dispersa em uma matriz e colocada no caminho de um feixe de íons de energia alta (de 1 a 10-keV) (SIMS), de átomos neutros (FAB) ou de fótons de alta intensidade (MALDI). Feixes de Ar^+ ou Cs^+ são com frequência usados em SIMS, e feixe de átomos neutros de Ar ou Xe são comuns em FAB. A maioria dos espectrômetros MALDI usa um laser de nitrogênio que emite em 337 nm, mas algumas aplicações usam um laser de infravermelho (IV) para análises diretas de amostras contidas em géis ou placas de cromatografia em camada fina (CDC). A colisão desses íons/átomos/fótons com a amostra ioniza algumas moléculas da amostra e as expelle da superfície (Figura 8.5). Os íons expelidos são, então, acelerados na direção do analisador de massa, como ocorre em outros métodos de ionização. Como o FAB usa átomos neutros para ionizar a amostra, é possível a detecção de íons positivos e negativos. Íons moleculares em SIMS e FAB são tipicamente $(\text{M} + \text{H})^+$ ou $(\text{M} - \text{H})^-$, mas metais alcalinos

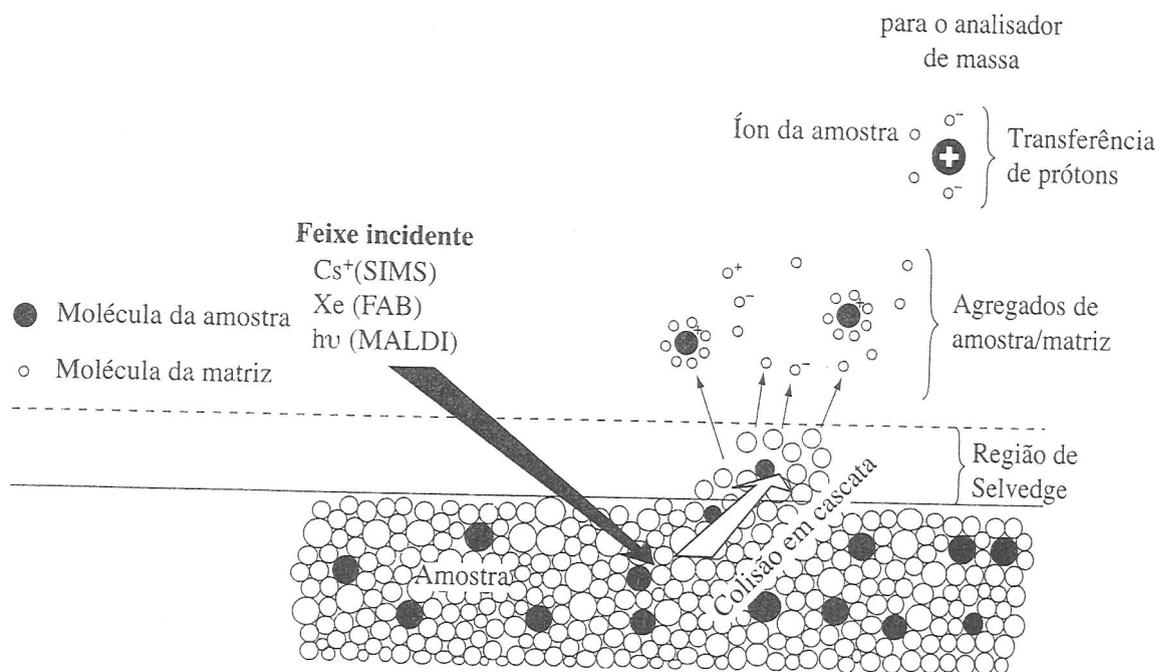


FIGURA 8.5 Representações esquemáticas de técnicas de ionização por dessorção.

adventícios podem também criar íons $(M + Na)^+$ e $(M + K)^+$. Métodos de ionização SIMS e FAB podem ser usados em compostos de amostra com pesos moleculares de até mais ou menos 20.000, como os polipeptídios e oligonucleotídios.

A matriz deve ser não volátil, relativamente inerte e um eletrólito razoável para permitir a formação de íons. Se o composto-matriz for mais ácido que o analito, serão formados predominantemente íons $(M + H)^+$, enquanto a maioria dos íons $(M - H)^-$ surgirão quando a matriz for menos ácida que o analito. A matriz absorve muito do excesso de energia transmitida pelo feixe de íons/átomos e produz íons que contribuem com uma grande quantidade de íons de fundo para o espectro de massa. Na verdade, reações químicas dentro da matriz durante a ionização podem oferecer íons de fundo na maioria das regiões de massa abaixo de mais ou menos 600 m/z . Compostos-matrizes comuns para SIMS e FAB incluem glicerol, tioglicerol, álcool 3-nitrobenzila, di- e trietanolamina e misturas de ditiotreitol (DTT) e ditioeritritol (Figura 8.6).

Os compostos-matrizes usados em MALDI são escolhidos por sua capacidade de absorver a luz ultravioleta (UV) de um pulso de laser (337 nm em lasers de N_2). Derivados de ácidos nicotínico, picolínico e cinâmico substituídos são muitas vezes usados em técnicas MALDI (Figura 8.7). A matriz absorve a maior parte da energia do pulso de laser, possibilitando assim a criação de íons intactos da amostra, os quais são expelidos da matriz. A espectrometria de massa MALDI é útil em analitos que abarcam uma grande faixa de pesos moleculares, desde pequenos polímeros com pesos moleculares medianos de alguns milhares de unidades de massa atômica (uma) até oligossacarídios, oligonucleotídios e polipeptídios, anticorpos e pequenas proteínas com pesos moleculares próximos de 300.000 uma. Além disso, a MALDI exige apenas alguns femtomoles (1×10^{-15} moles) de amostra!

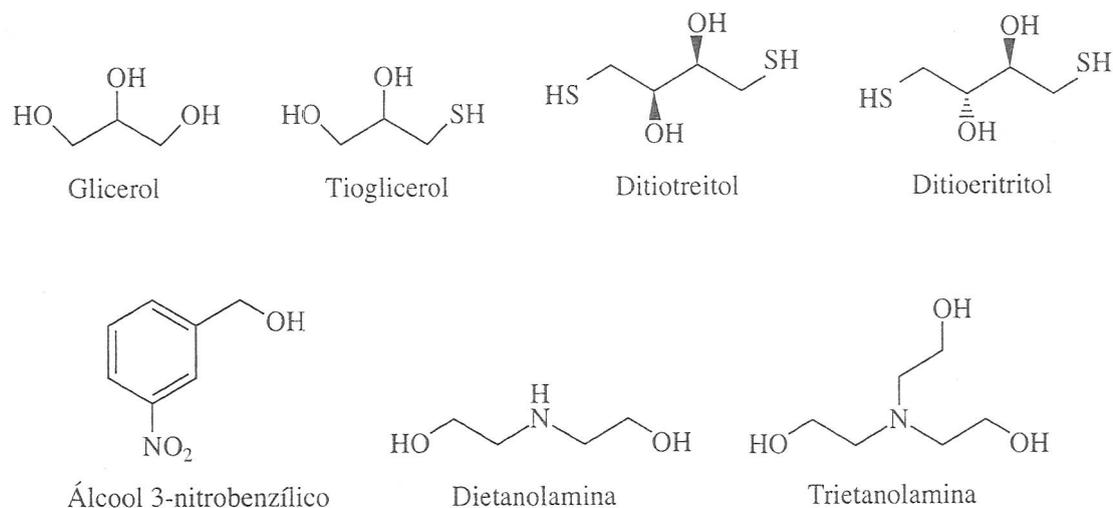


FIGURA 8.6 Matrizes comuns para espectrometria de massa SIMS e FAB.

D. Ionização por eletrospray (ESI)

Uma técnica ainda mais útil para estudar biomoléculas com peso molecular alto e outros compostos lábeis e não voláteis é a *ionização por eletrospray* (ESI) e sua prima *ionização por termospray* (TSI). Na ESI, uma solução contendo as moléculas da amostra é borrifada na ponta de um tubo capilar fino para dentro de uma câmara aquecida, isto é, em pressão quase atmosférica. O tubo capilar pelo qual a solução da amostra passa tem um potencial de alta voltagem em sua superfície, e pequenas gotículas carregadas são expulsas para dentro da câmara de ionização. As gotículas carregadas enfrentam um contrafluxo de um gás de secagem (em geral, nitrogênio) que evapora as moléculas de solvente das gotículas. Assim, a densidade de carga de cada gotícula aumenta até que as forças repulsivas eletrostáticas excedam a tensão superficial da gotícula (o limite de Rayleigh), quando então a gotícula divide-se em gotículas menores.

O processo continua até que íons da amostra, livres de solvente, sejam deixados na fase gasosa (Figura 8.8). A TSI ocorre por um mecanismo semelhante, mas depende de um tubo capilar aquecido, em vez de um com potencial eletrostático, para formar as gotículas carregadas. Na ESI, podem-se formar também íons negativos, por causa da perda de prótons da amostra para espécies básicas na solução. A ESI tornou-se muito mais comum do que a TSI nas últimas duas décadas e, como depende de uma amostra em solução, é o método mais lógico de se empregar em sistemas LC-MS.

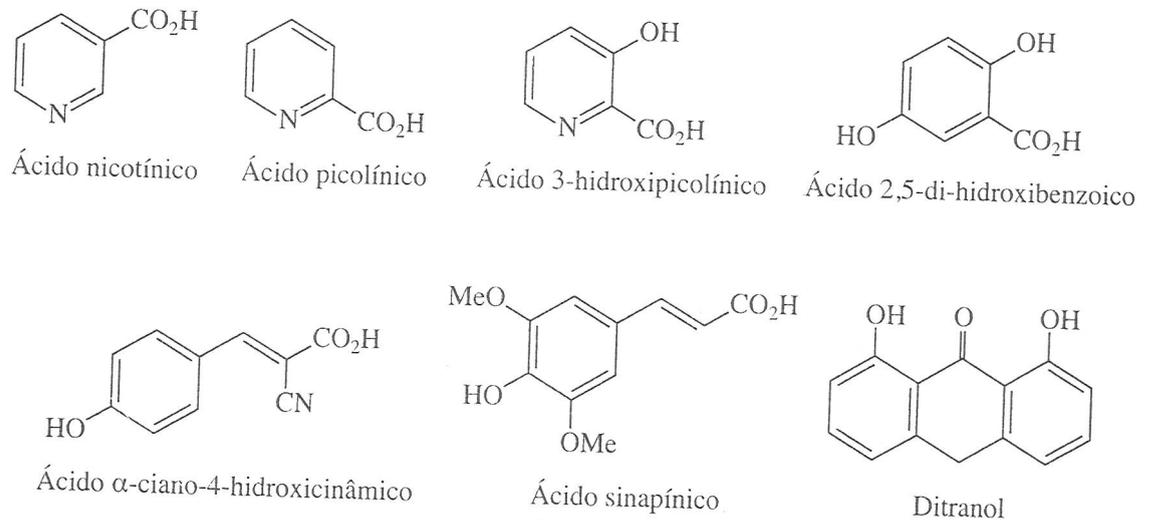


FIGURA 8.7 Matrizes comuns em aplicações MALDI.

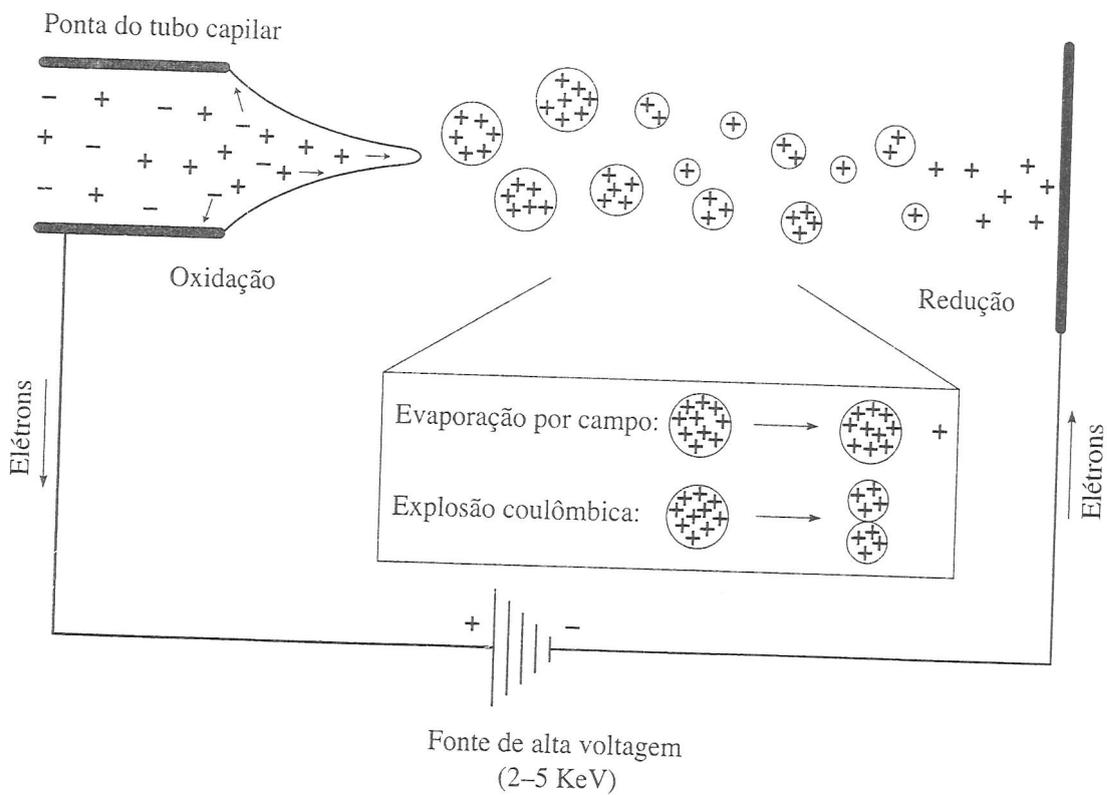


FIGURA 8.8 Representação esquemática da ionização por eletrospray (ESI) que mostra evaporação por campo e explosão coulômbica. Fonte: Gross (2004). Reprodução autorizada.

As cargas dos íons gerados quando se usa ESI não refletem necessariamente o estado de carga da amostra em solução. A carga transferida para as moléculas da amostra (em geral, na forma de prótons) surge de uma combinação de concentração de carga nas gotículas durante a evaporação do aerossol e de processos eletroquímicos resultantes de potenciais eletrostáticos do tubo capilar.

Os íons da amostra podem ter uma carga única ou várias cargas. A Figura 8.9 mostra a ESI-MS da lisozima da clara de ovo de galinha na ausência e presença de ditiotreitól. No primeiro espectro, observam-se íons representando moléculas de proteína com cargas 10^+ , 11^+ , 12^+ e 13^+ . O último espectro mostra íons ainda mais altamente carregados – inclusive um pico de proteína com carga 20^+ . A formação de múltiplos íons carregados é particularmente útil na análise MS de proteínas. Proteínas normais podem carregar muitos prótons, por causa da presença de cadeias laterais com aminoácidos básicos, resultando em picos em $m/z = 600\text{-}2000$ para proteína com peso molecular próximo de 200.000 uma.

Os dados mostrados na Figura 8.9 podem ser usados para calcular a massa molecular da lisozima. A massa é calculada multiplicando-se a carga da lisozima pelo valor m/z mostrado no cromatograma. Por exemplo:

$$(10)(1432) = 14.320 \text{ uma}$$

$$(12)(1193) = 14.316$$

$$(15)(955) = 14.325$$

Assim, a massa molecular da lisozima é de aproximadamente 14.320 uma.

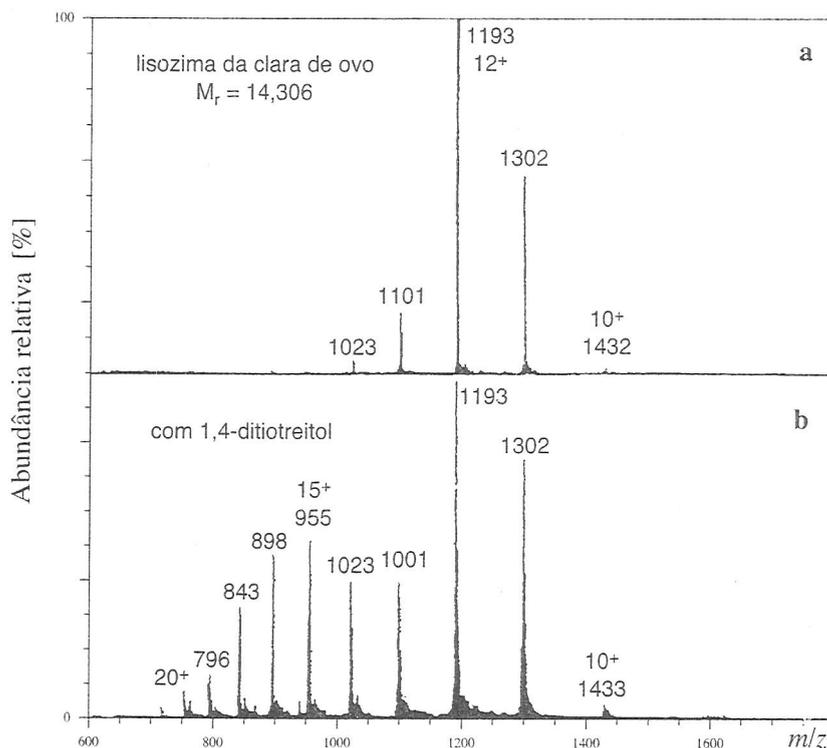


FIGURA 8.9 ESI-MS de proteínas. Lisozima da clara de ovo na ausência (acima) e presença (meio) de ditiotreitól. Fonte: Gross (2004). Reprodução autorizada.

A ESI-MS, no entanto, não é limitada ao estudo de biomoléculas grandes. Muitas moléculas pequenas, com peso molecular entre 100 e 1.500, podem ser estudadas por ESI-MS. Compostos muito pouco voláteis para serem introduzidos por métodos de sonda direta ou muito polares ou termicamente lábeis para serem introduzidos por métodos GC-MS são ideais para o estudo por LC-MS usando técnicas ESI.

8.4 ANÁLISE DE MASSA

Depois que a amostra é ionizada, o feixe de íons é acelerado por um campo elétrico e, então, entra no *analisador de massa*, a região do espectrômetro de massa onde os íons são separados de acordo com suas razões massa/carga (m/z). Assim como há muitos métodos diferentes de ionização para diferentes aplicações, há também diversos tipos de analisadores de massa.

A. Analisador de massa de setor magnético

A energia cinética de um íon acelerado é igual a

$$\frac{1}{2}mv^2 = zV \quad \text{Equação 8.14}$$

em que m é a massa do íon, v é a velocidade do íon, z é a carga no íon e V é a diferença de potencial das placas aceleradoras de íons. No analisador de massa de *setor magnético* (Figura 8.10), os íons passam entre os polos de um ímã. Na presença de um campo magnético, uma partícula carregada traça uma rota curva. A equação que gera o raio da curvatura dessa rota é

$$r = \frac{mv}{zB} \quad \text{Equação 8.15}$$

em que r é o raio da curvatura da rota e B é a intensidade do campo magnético. Se essas duas equações são combinadas para eliminar o fator velocidade, o resultado é

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2}{2V} \quad \text{Equação 8.16}$$

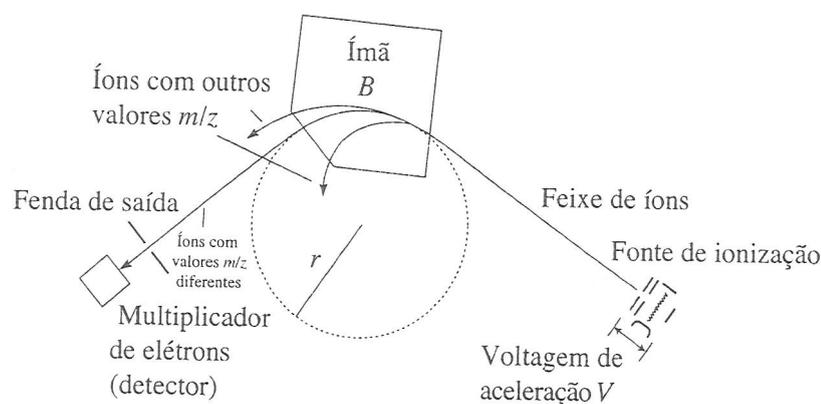


FIGURA 8.10 Esquema de um analisador de massa de setor magnético. Fonte: Smith (2004). Reprodução autorizada.

Como se pode ver na Equação 8.16, quanto maior for o valor de m/z , maior será o raio da rota curva. O tubo analisador do instrumento é construído para abranger um raio de curvatura fixo. Uma partícula com a razão m/z correta pode atravessar o tubo analisador curvo e chegar ao detector. Partículas com razões m/z grandes ou pequenas demais batem nas laterais do tubo analisador e não chegam ao detector. O método não seria muito interessante se fosse possível detectar íons de apenas uma massa. Portanto, a intensidade do campo magnético é continuamente variada (chamada de *varredura de campo magnético*) para que todos os íons produzidos na câmara de ionização possam ser detectados. O registro produzido pelo sistema detector está na forma de um gráfico de número de íons *versus* seus valores m/z .

Um fator importante para se considerar na espectrometria de massa é a *resolução*, definida de acordo com a relação

$$R = \frac{M}{\Delta M} \quad \text{Equação 8.17}$$

em que R é a resolução, M é a massa da partícula, e ΔM é a diferença de massa entre uma partícula de massa M e a partícula com a segunda massa mais alta que possa ser resolvida pelo instrumento. Um analisador de setor magnético pode ter valores de R entre 2.000 e 7.000, dependendo do raio da curvatura.

B. Analisador de massa de foco duplo

Para muitas aplicações, é necessária uma resolução muito maior, que pode ser obtida por meio de modificações nesse desenho básico do setor magnético. Na verdade, analisadores de setor magnético são usados hoje apenas em *espectrômetros de massa de foco duplo*. As partículas que saem da câmara de ionização não têm exatamente a mesma velocidade, assim o feixe de íons atravessa uma região de campo elétrico antes ou depois do setor magnético (Figura 8.11). Na presença de um campo elétrico, todas as partículas viajam na mesma velocidade. As partículas descrevem uma rota curva em cada uma dessas regiões, e a resolução do analisador de massa melhora – por um fator de 10 ou mais vezes com relação ao setor magnético simples

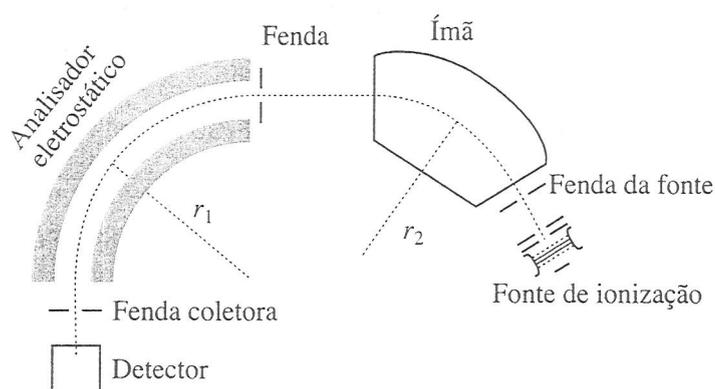


FIGURA 8.11 Esquema de um analisador de massa de foco duplo. Fonte: Smith (2004). Reprodução autorizada.

C. Analisador de massa quadrupolar

Um *analisador de massa quadrupolar* (Figura 8.12) é composto de quatro barras sólidas paralelas na direção do feixe de íons. As barras devem ter seção transversal hiperbólica, embora seja possível utilizar barras cilíndricas. Uma voltagem de corrente contínua (CC) e uma radiofrequência (RF) são aplicadas às barras, gerando um campo eletrostático oscilante na região entre as barras. Dependendo da razão entre a amplitude da RF e a voltagem CC, os íons adquirem uma oscilação nesse campo eletrostático. Íons com uma razão m/z incorreta (pequena demais ou grande demais) passam por uma oscilação instável. A amplitude da oscilação continua a aumentar até que a partícula chega a uma das barras. Íons com razão massa/carga correta passam por uma oscilação estável de amplitude constante e pelos eixos do quadrupolo com uma trajetória do tipo “saca-rolhas”. Esses íons não chegam às barras do quadrupolo, mas atravessam o analisador para chegar ao detector. Como o analisador de setor magnético, o quadrupolo pode ser varrido a partir de valores altos a baixos de m/z . Na maioria dos sistemas GC-MS “de bancada”, encontra-se um analisador de massa de quadrupolo que tipicamente tem um limite de m/z entre 0 a 1.000, apesar de haver analisadores de quadrupolo em sistemas LC-MS com limites de m/z próximos de

2.000. Espectrômetros de massa de quadrupolo são instrumentos de baixa resolução ($R \sim 3.000$), incapazes de oferecer uma composição elementar exata da amostra.

O analisador quadrupolar de massa com *armadilha de íons* opera de modo semelhante ao quadrupolo linear anteriormente descrito e é com frequência encontrado em instrumentos GC-MS. A armadilha de íons é composta de dois eletrodos hiperbólicos terminais e um eletrodo em forma de anel (os eletrodos terminais são conectados). Uma corrente alternada (CA ou CC) e um potencial RF são aplicados entre os eletrodos terminais e o eletrodo em forma de anel (Figura 8.13). No analisador quadrupolo linear, íons com diferentes valores de m/z podem atravessar, um de cada vez, o quadrupolo, por meio de ajuste das voltagens de RF e CC. Na armadilha de íons, íons de todos os valores m/z estão na armadilha ao mesmo tempo, oscilando em trajetórias concêntricas. Fazer uma varredura no potencial de RF resulta na remoção de íons com valores m/z crescentes, ao colocá-los em uma trajetória instável que permite que sejam ejetados da armadilha na direção axial rumo ao detector. Esse processo é chamado de *ejeção ressonante*. Analisadores de massa com armadilha de íons são, de alguma forma, mais sensíveis que instrumentos de quadrupolos lineares, mas têm capacidade de resolução semelhante.

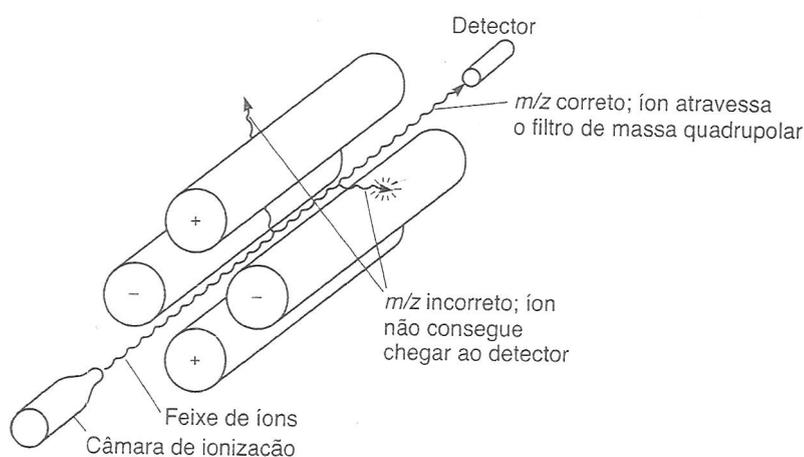


FIGURA 8.12 Analisador de massa quadrupolar.

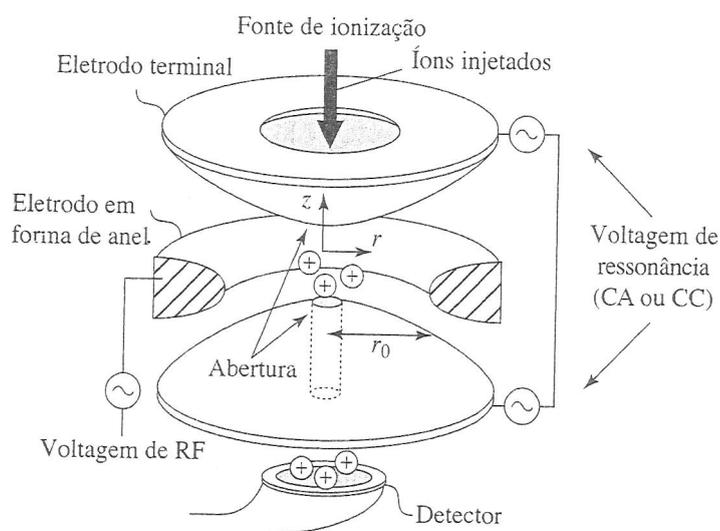
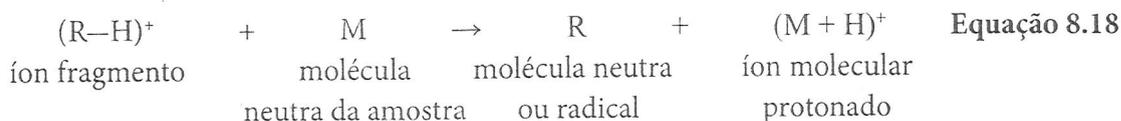


FIGURA 8.13 Analisador quadrupolar de massa com armadilha de íons. Fonte: Gross (2004). Reprodução autorizada.

Como a armadilha de íons contém íons de todos os valores de m/z ao mesmo tempo (assim como moléculas neutras que não foram ionizadas antes de entrarem na armadilha), analisadores de massa com

armadilha de íons também são sensíveis a sobrecarga e colisões entre moléculas e íons que complicam a definição de um espectro. Lembre-se de que nem todas as moléculas de amostra são ionizadas – muitas permanecem sem carga. Essas espécies neutras se movem em um caminho aleatório na armadilha de íons, resultando em colisões com íons, à medida que estes oscilam em suas trajetórias estáveis. Essas colisões geram eventos de ionização química (Equação 8.18), às vezes chamada de *auto-CI*.



O resultado é um pico anormalmente grande $(\text{M} + \text{H})^+$ no espectro de massa. Isso é visto na Figura 8.14, em que o pico-base na EI-MS do dodecanoato de metila, sob condições normais, tem $m/z = 215$, representando um íon $(\text{M} + \text{H})^+$ produzido na armadilha de íons nas condições íon-molécula. O processo de auto-CI pode ser minimizado aumentando a eficiência da ionização, reduzindo o número de íons na armadilha (injetando menos amostra), ou ambos os procedimentos. O espectro de baixo na Figura 8.14 foi obtido sob condições de armadilha de íons otimizadas com um tempo maior de residência de íons. Agora, o íon M^+ está bem visível, apesar de o pico $(\text{M} + 1)$ ser ainda muito maior do que seria com base apenas em contribuições isotópicas de ^{13}C (ver Seção 8.7). Felizmente, a presença do pico $(\text{M} + 1)$ maior raramente tem um efeito adverso nas pesquisas de dados espectrais feitas por um computador. A inspeção visual de um espectro de amostra e um espectro padrão impresso são coisas bem diferentes. O pico auto-CI fica bem problemático quando se tenta caracterizar amostras desconhecidas sem saber a fórmula molecular ou os grupos funcionais presentes.

D. Analisadores de massa por tempo de voo

O analisador de massa *por tempo de voo* (TOF) baseia-se na ideia simples de que as velocidades de dois íons, criados no mesmo instante, com a mesma energia cinética, variarão conforme a massa dos íons – o íon mais leve será mais rápido. Se esses íons forem na direção do detector do espectrômetro de massa, o íon mais rápido (mais leve) chegará primeiro ao detector. Com base nesse conceito, a energia cinética de um íon acelerado por um potencial elétrico V será

$$zV = \frac{mv^2}{2} \quad \text{Equação 8.19}$$

e a velocidade do íon será o comprimento da trajetória L dividido pelo tempo, t , que leva para o íon atravessar essa distância:

$$v = \frac{L}{t} \quad \text{Equação 8.20}$$

Substituindo essa expressão por v na Equação 8.19, teremos

$$zV = \frac{mL^2}{2t^2} \quad \text{Equação 8.21}$$

Assim, poderemos concluir que

$$\frac{m}{z} = \frac{2Vt^2}{L^2} \quad \text{Equação 8.22}$$

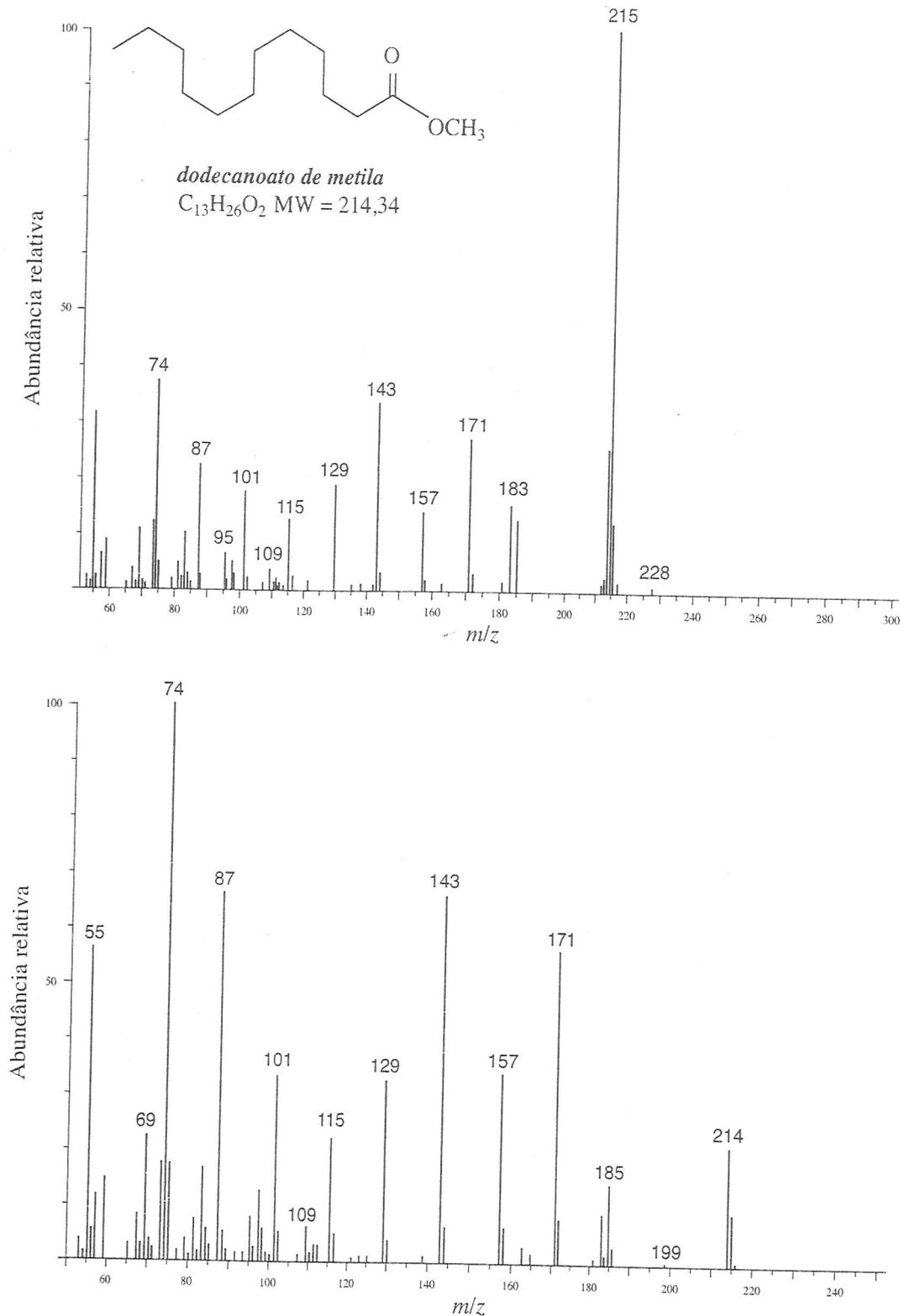


FIGURA 8.14 EI-MS do dodecanoato de metila em que se usou um analisador de massa de quadrupolo com armadilha de íons. Condições normais (acima) e condições otimizadas para minimizar as colisões entre íons e moléculas e auto-CI (abaixo). Fonte: Varian Inc.

O analisador de massa TOF (Figura 8.15) necessita de aparatos eletrônicos muito rápidos para medir os tempos de voo de íons, que podem ser menores que microssegundos. Além disso, os íons em um sistema TOP devem ser criados em pulsos breves, bem definidos, para que todos os íons iniciem suas trajetórias na direção do detector ao mesmo tempo. A primeira exigência explica por que instrumentos TOF (criados nos anos 1940 e 1950) não se tornaram populares até as décadas de 1980 e 1990, quando houve

redução do preço de circuitos elétricos adequados. A última exigência é perfeitamente válida para a técnica de ionização MALDI, e espectrômetros de massa MALDI/TOF tornaram-se bastante populares na análise de biomoléculas e polímeros sintéticos. Em teoria, analisadores de massa TOF não têm limite superior para massa efetiva e apresentam alta sensibilidade. Ao contrário de espectrômetros de setor magnético ou de quadrupolos, em que alguns íons são “jogados fora” durante o experimento, instrumentos TOF são capazes de analisar (a princípio) todo íon criado no pulso inicial. Foram obtidos dados sobre massa usando MALDI/TOF de amostra com pesos moleculares de 300.000 uma, mas também com poucas centenas de attomoles de material.

A grande desvantagem do analisador TOF é sua inevitável baixa resolução. A resolução de massa (R , Equação 8.17) do instrumento TOF é proporcional ao tempo de voo do íon, portanto usar tubos maiores aumenta a resolução. Tubos de voo com alguns metros de comprimento são comumente usados em instrumentos de alto custo. Com tubos menores, é possível R de apenas 200-500. Uma modificação ao analisador TOF que aumenta a resolução é o refletor de íons. O refletor é um campo elétrico atrás da região de caminho livre do espectrômetro que se comporta como um espelho de íons. O refletor é capaz de redirecionar íons de energias cinéticas levemente diferentes e, se ajustado em um ângulo pequeno, enviar os íons por um caminho de volta para a fonte de ionização original, o que, essencialmente, dobra a trajetória do íon também. Em instrumentos TOF com refletores, é possível uma resolução de massa na casa dos milhares.

Espectrômetros de massa por tempo de voo são relativamente simples, o que permite que sejam utilizados no campo. Durante a Guerra do Golfo, em 1991, havia o medo de que tropas iraquianas estivessem utilizando agentes químicos contra tropas norte-americanas. Para se proteger dessa possibilidade, o exército dos Estados Unidos deixou de prontidão diversos tanques, todos equipados com um espectrômetro de massa, que foi usado para coletar amostras do ar e oferecer um alerta prévio caso gases venenosos fossem liberados na atmosfera. Espectrômetros de massa TOF básicos também são usados para detectar resíduos de explosivos e drogas ilegais em postos de segurança e verificação em aeroportos. Por causa de sua capacidade de estudar espécies de vida curta, espectrômetros de massa TOF são particularmente úteis em estudos cinéticos, principalmente aplicados a reações muito rápidas, as quais, como combustão e explosão, podem ser analisadas por essa técnica.

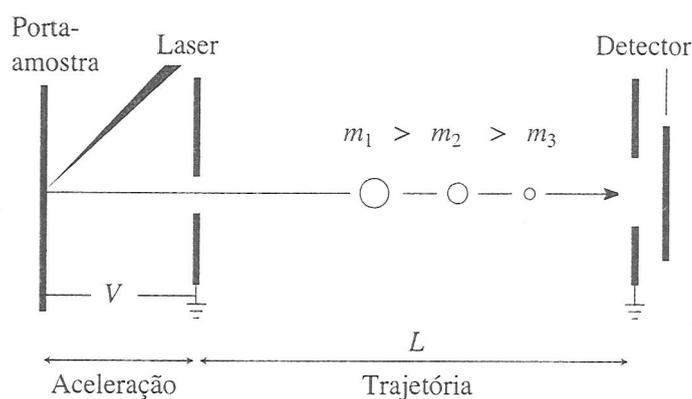


FIGURA 8.15 Representação esquemática de um espectrômetro de massa MALDI/TOF.

8.5 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO: O ESPECTRO DE MASSAS

O *detector* de um típico espectrômetro de massas é composto de um contador que produz uma corrente proporcional ao número de íons que o atingem. Isso parece bastante razoável até o momento em que se pensa sobre exatamente quantos íons batem no detector em um experimento típico. Consideremos uma aplicação típica – análise de uma pequena molécula orgânica ($PM = 250$) por meio de EI GC-MS. Uma injeção de $1,0 \mu\text{L}$ de uma amostra com $1,0 \text{ mg/mL}$ contém $3,6 \times 10^{15}$ moléculas. Se a GC estiver funcio-

nando em modo *split* com uma razão 1:100, apenas $3,6 \times 10^{13}$ moléculas entrarão na coluna cromatográfica. Um espectro de massa obtido no topo do pico GC pode corresponder a apenas 10% do material que elui, e se apenas 1 em 1.000 moléculas é convertida em um íon, estão disponíveis somente 3,6 bilhões de íons. Isso ainda parece muito com um monte de partículas carregadas, mas esperem! Em um espectrômetro de varredura, a maioria desses íons nunca bate no detector; por exemplo, quando o analisador de massa está varrendo na faixa de 35 a 300 m/z , a maioria dos íons descarrega nas hastes do quadrupolo. Em um caso como esse, um íon de um certo valor m/z atravessa o analisador apenas 1 vez entre 300. Claramente, cada pico no espectro de massa representa um sinal elétrico muito pequeno, e o detector deve ser capaz de amplificar essa corrente minúscula.

Usando-se circuitos *multiplicadores de elétrons*, essa corrente pode ser medida com tamanha precisão que é possível medir a corrente causada por apenas um íon batendo no detector. Quando o íon bate na superfície do multiplicador de elétrons (vidro dopado com chumbo e com revestimento de óxido de chumbo), dois elétrons são ejetados. Essa diferença de potencial de aproximadamente 2 kV entre a abertura e o fim do detector puxa o elétron ainda mais para dentro do multiplicador de elétrons, e todos os elétrons batem novamente na superfície, e cada um deles causa a ejeção de mais dois elétrons. Esse processo continua até chegar à extremidade do multiplicador de elétrons, e a corrente elétrica é analisada e registrada pelo sistema de dados. A ampliação de sinal anteriormente descrita será de 2^n , em que n é o número de colisões com a superfície do multiplicador de elétrons. Multiplicadores de elétrons típicos causam um aumento de sinal de 10^5 - 10^6 . A Figura 8.16 mostra duas configurações de multiplicadores de elétrons. Um multiplicador de elétrons curvado encurta a trajetória do íon, resultando em um sinal com menos ruído. Detectores fotomultiplicadores operam de acordo com um princípio semelhante, com a diferença de que as colisões de íons com a tela fluorescente no fotomultiplicador resultam em uma emissão de fótons proporcional ao número de colisões de íons. A intensidade da luz (em vez da corrente elétrica) é então analisada e registrada pelo sistema de dados.

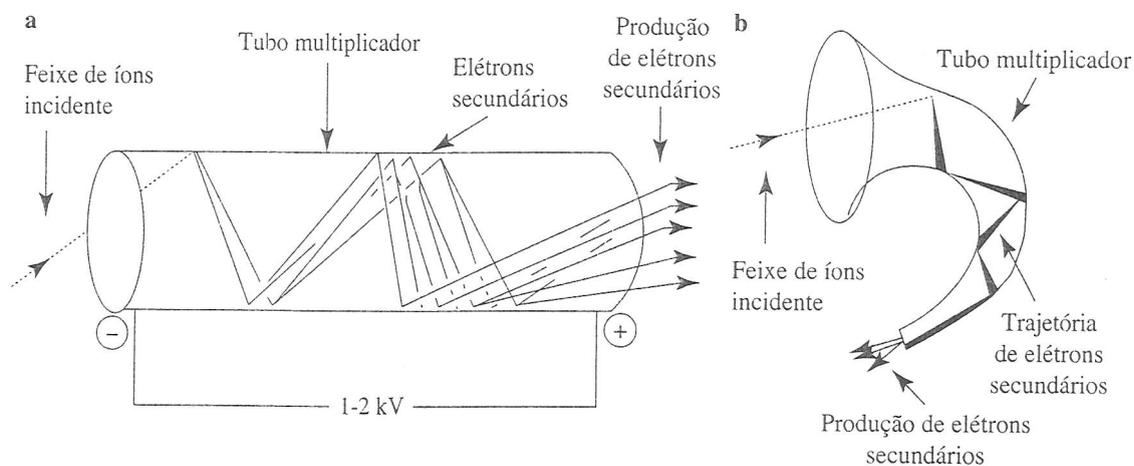


FIGURA 8.16 Representação esquemática de um multiplicador de elétrons de canal linear (a) e um multiplicador de elétrons de canal curvo (b). Fonte: Gross (2004). Reprodução autorizada.

O sinal do detector é enviado para um *registrador*, que produz o espectro de massa. Em instrumentos modernos, o resultado do detector é enviado, por meio de uma interface, a um computador. O computador pode armazenar os dados, mostrá-los tanto na forma de tabela quanto de gráfico e compará-los com espectros padrão, contidos nas bibliotecas de espectros também armazenadas no computador.

A Figura 8.17 é uma parte de um espectro de massa típico – o da dopamina, uma substância que age como um neurotransmissor no sistema nervoso central. O eixo x do espectro de massa é a razão m/z , e o eixo y , a abundância de íons. Resultados espectrais de massa também podem ser representados em tabelas, como na Tabela 8.2. O íon formado com maior abundância na câmara de ionização gera o pico

mais alto no espectro de massa, chamado de *pico-base*. No espectro de massa da dopamina, o *pico-base* é indicado em um valor m/z de 124. As intensidades espectrais são normalizadas ao se ajustar o *pico-base* para abundância relativa 100, e o restante dos íons é registrado como porcentagens da intensidade do *pico-base*. O limite inferior de m/z é normalmente de 35 ou 40, de forma a eliminar picos muito grandes de fragmentos de pouca massa de íons de fundo provenientes de gases e pequenos fragmentos alquila. Quando se obtêm dados sob condições de CI, o limite inferior de m/z é ajustado mais alto, a fim de eliminar os picos grandes de íons de gases reagentes.

Como visto anteriormente, na EI-MS o feixe de elétrons, na câmara de ionização, converte algumas das moléculas de amostra em íons positivos. A simples remoção de um elétron de uma molécula produz um íon com o mesmo peso molecular da molécula original. Trata-se do *íon molecular* que, em geral, é representado por M^+ ou $M^{+\cdot}$. No sentido mais exato, o íon molecular é um *cátion radical*, já que contém um elétron não emparelhado e uma carga positiva. O valor de m/z em que o íon molecular aparece no espectro de massa, assumindo que o íon tem apenas um elétron faltante, dá o peso molecular da molécula original. Se for possível identificar o *pico* do íon molecular no espectro de massa, será também possível usar o espectro para determinar o peso molecular de uma substância desconhecida. Deixando de lado, por enquanto, isótopos pesados, o *pico* do íon molecular é o *pico* no espectro de massa com maior valor (m/z 153) (ver gráfico da Figura 8.17).

Moléculas em seu estado natural não ocorrem como espécies isotopicamente puras. Praticamente todos os átomos têm isótopos mais pesados que ocorrem em abundâncias naturais características. O hidrogênio, na maioria das vezes, ocorre como ^1H , mas por volta de 0,02% dos átomos de hidrogênio são o isótopo ^2H . O carbono normalmente ocorre como ^{12}C , mas por volta de 1,1% de átomos de carbono são o isótopo mais pesado ^{13}C . Com a possível exceção do flúor e alguns poucos outros elementos, a maioria dos elementos tem uma certa porcentagem de isótopos mais pesados que ocorrem naturalmente.

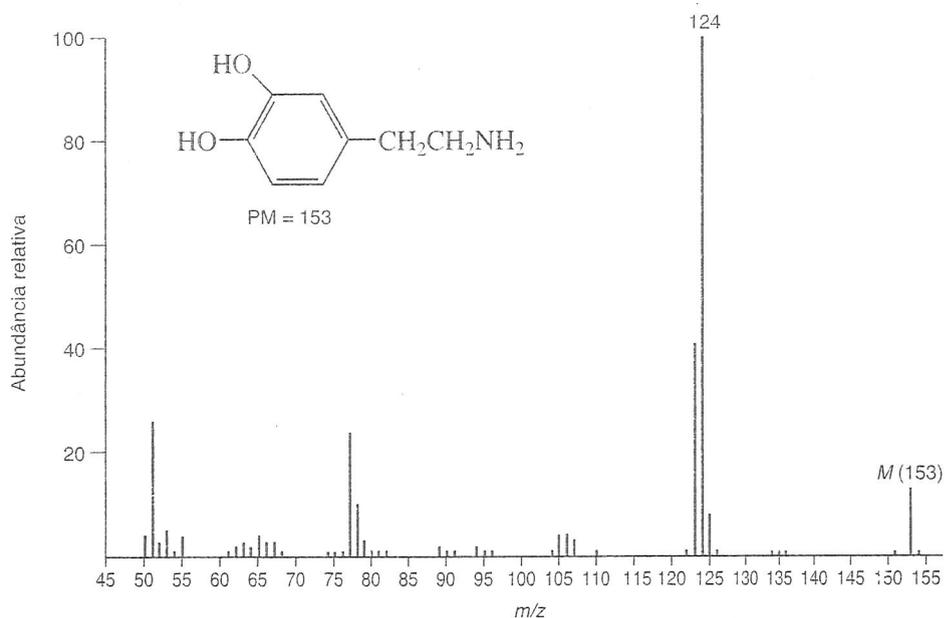


FIGURA 8.17 EI-MS parcial da dopamina.

Tabela 2.14. m/z da Iopamina. Representação em tabela dos dados da Figura 8.17

m/z	Abundância Relativa	m/z	Abundância Relativa	m/z	Abundância Relativa
50	4,00	76	1,48	114	0,05
50,5	0,05	77	24,29	115	0,19
51	25,71	78	10,48	116	0,24
51,5	0,19	79	2,71	117	0,24
52	3,00	80	0,81	118	0,14
52,5	0,62	81	1,05	119	0,19
53	5,43	82	0,67	120	0,14
53,5	0,19	83	0,14	121	0,24
54	1,00	84	0,10	122	0,71
55	4,00	85	0,10	123	41,43
56	0,43	86	0,14	124	100,00 (pico-base)
56,5	0,05 (pico metastável)	87	0,14	125	7,62
57	0,33	88	0,19	126	0,71
58	0,10	89	1,57	127	0,10
58,5	0,05	89,7	0,10 (pico metastável)	128	0,10
59	0,05	90	0,57	129	0,10
59,5	0,05	90,7	0,10 (pico metastável)	131	0,05
60	0,10	91	0,76	132	0,19
60,5	0,05	92	0,43	133	0,14
61	0,52	93	0,43	134	0,52
61,5	0,10	94	1,76	135	0,52
62	1,57	95	1,43	136	1,48
63	3,29	96	0,52	137	0,33
64	1,57	97	0,14	138	0,10
65	3,57	98	0,05	139	0,10
65,5	0,05	99	0,05	141	0,19
66	3,14	100,6	0,19 (pico metastável)	142	0,05
66,5	0,14	101	0,10	143	0,05
67	2,86	102	0,14	144	0,05
67,5	0,10	103	0,24	145	0,05
68	0,67	104	0,76	146	0,05
69	0,43	105	4,29	147	0,05
70	0,24	106	4,29	148	0,10
71	0,19	107	3,29	149	0,24
72	0,05	108	0,43	150	0,33
73	0,14	109	0,48	151	1,00
74	0,67	110	0,86	152	0,38
74,5	0,05	111	0,10	153	13,33 (íon molecular)
75	1,00	112	0,05	154	1,48
75,5	0,14	113	0,05	155	0,19

Picos causados por íons que trazem esses isótopos mais pesados também aparecem em espectros de massa. As abundâncias relativas de tais picos isotópicos são proporcionais às abundâncias dos isótopos em estado natural. Mais frequentemente, os isótopos ocorrem uma ou duas unidades de massa acima da massa do átomo “normal”. Portanto, além de procurar o pico do íon molecular (M^+), deve-se tentar

também localizar os picos $M + 1$ e $M + 2$. Como a Seção 8.6 demonstrará, as abundâncias relativas dos picos $M + 1$ e $M + 2$ podem ser usadas para determinar a fórmula molecular da substância estudada. Na Figura 8.17, os picos isotópicos são de baixa intensidade em valores m/z (154 e 155) mais altos do que o do pico do íon molecular (ver também Tabela 8.2).

Vimos que o feixe de elétrons na câmara de ionização pode produzir o íon molecular. Esse feixe é também suficientemente poderoso para quebrar algumas ligações da molécula, produzindo uma série de fragmentos moleculares. Os fragmentos carregados positivamente também são acelerados na câmara de ionização, enviados por meio do analisador, detectados e registrados no espectro de massa. Esses íons fragmentos aparecem em valores m/z correspondentes às suas massas individuais. Com muita frequência, um íon fragmento, e não o íon original, é o mais abundante no espectro de massa. Existe uma segunda forma de produzir íons fragmentos se o íon molecular, assim que formado, estiver instável a ponto de se desintegrar antes de poder passar pela região de aceleração da câmara de ionização. Tempos de vida menores que 10^{-6} s são comuns nesse tipo de fragmentação. Os fragmentos carregados, então, aparecem como íons fragmentos no espectro de massa. Pode-se determinar uma boa quantidade de informação estrutural sobre uma substância a partir de uma análise do padrão de fragmentação no espectro de massa. A Seção 8.8 examinará alguns padrões de fragmentação de classes comuns de compostos.

Íons com tempos de vida por volta de 10^{-6} s são acelerados na câmara de ionização antes de terem uma oportunidade de se desintegrar. Esses íons podem se desintegrar em fragmentos *quando estiverem entrando na região de análise* do espectrômetro de massa. Os íons fragmentos formados nesse ponto têm energia consideravelmente menor do que os normais, já que partes descarregadas do íon original tiram a energia cinética que o íon recebeu enquanto era acelerado. Em consequência, o íon fragmento produzido no analisador segue uma trajetória incomum no caminho para o detector. Esse íon aparece em uma razão m/z que depende de sua própria massa, assim como da massa do íon original a partir do qual foi formado. Tal íon gera o que é denominado *pico de íon metastável* no espectro de massa. Em geral, picos de íons metastáveis são largos e surgem em valores não integrais de m/z . A equação que relaciona a posição do pico de íon metastável no espectro de massa com a massa do íon original é

$$m_1^+ \rightarrow m_2^+ \quad \text{Equação 8.23}$$

e

$$m^* = \frac{(m_2)^2}{m_1} \quad \text{Equação 8.24}$$

em que m^* é a massa aparente do íon metastável no espectro de massa, m_1 é a massa do íon original a partir do qual se formou o fragmento e m_2 é a massa do novo fragmento de íon. Um pico de íon metastável é útil em algumas aplicações, já que sua presença une definitivamente dois íons. Podem-se usar picos de íons metastáveis para provar um padrão de fragmentação proposto ou como auxílio na solução dos problemas de prova estrutural.

8.6 DETERMINAÇÃO DO PESO MOLECULAR

A Seção 8.3 mostrou que, quando um feixe de elétrons de alta energia colide com uma corrente de moléculas de amostra, ocorre ionização das moléculas. Os íons resultantes, chamados de *íons moleculares*, são acelerados, atravessam um campo magnético e, por fim, são detectados. Se esses íons moleculares têm tempos de vida de pelo menos 10^{-5} s, atingem o detector e não se fragmentam. O usuário, então, observa a razão m/z , que corresponde ao íon molecular, para determinar o peso molecular das moléculas da amostra.

Na prática, determinar o peso molecular não é tão fácil como o parágrafo anterior sugere. Primeiro, deve-se entender que o valor da massa de qualquer íon acelerado em um espectrômetro de massa é sua massa verdadeira, a soma das massas de cada átomo naquele único íon, e não seu peso molecular calculado a partir dos pesos atômicos químicos. A escala química dos pesos atômicos baseia-se nas médias ponderadas dos pesos de todos os isótopos de um certo elemento. O espectrômetro de massa pode diferenciar entre massas de partículas com os isótopos mais comuns dos elementos e partículas com isótopos mais pesados. Consequentemente, as massas observadas em íons moleculares são as massas das moléculas em que cada átomo está presente em seu isótopo mais comum. Em segundo lugar, moléculas submetidas a bombardeamento por elétrons podem se quebrar em íons fragmentos. Como resultado dessa fragmentação, espectros de massa podem ser bem complexos, com picos aparecendo em uma variedade de razões m/z . Deve-se tomar muito cuidado antes de se ter certeza de que o pico suspeito é, mesmo, o do íon molecular, e não de um fragmento de íon. Essa distinção é, particularmente, importante quando a abundância do íon molecular é baixa, assim como quando o íon molecular é bem instável e se fragmenta com facilidade. As massas dos íons detectados no espectro de massa podem ser medidas com precisão. Um erro de apenas uma unidade de massa na definição dos picos espectrais de massa pode impossibilitar a determinação de uma estrutura.

Um método para confirmar se determinado pico corresponde a um íon molecular é variar a energia do feixe ionizante de elétrons. Se a energia do feixe for reduzida, a tendência do íon molecular será fragmentar menos. Em consequência, a intensidade do pico de íon molecular deveria crescer conforme a diminuição do potencial dos elétrons, enquanto as intensidades dos picos de íons fragmentos diminuiriam. Certos fatos devem ocorrer no caso de um pico de íon molecular:

1. O pico deve corresponder ao íon da massa mais alta do espectro, excluindo picos isotópicos que ocorram em massas mais altas. Em geral, os picos isotópicos apresentam intensidade muito mais baixa do que o pico do íon molecular. Nas pressões usadas na maioria dos estudos espectrais, a probabilidade de íons e moléculas colidirem para formar partículas mais pesadas é muito baixa. Deve-se atentar, principalmente em espectros GC-MS, para reconhecer íons de fundo que resultem de um sangramento da coluna capilar de CG – pequenos pedaços de fases estacionárias que contém silicone.
2. O íon deve ter um número ímpar de elétrons. Quando uma molécula é ionizada por um feixe de elétrons, ela perde um elétron para tornar-se um cátion radical. A carga em tal íon é 1, sendo assim um íon com um número ímpar de elétrons.
3. O íon deve ser capaz de formar os íons fragmentos mais importantes do espectro, particularmente aqueles de massa relativamente alta, por perda de fragmentos neutros óbvios. Íons fragmentos na faixa entre $(M - 3)$ a $(M - 14)$ e $(M - 21)$ a $(M - 25)$ não são perdas razoáveis. Da mesma forma, nenhum íon fragmento pode conter um número maior de átomos de qualquer elemento do que o íon molecular. A Seção 8.8 explicará em detalhes os processos de fragmentação.

A abundância observada do que se suspeita ser o íon molecular corresponde às expectativas baseadas na suposta estrutura molecular. Substâncias altamente ramificadas passam por fragmentação com muita facilidade. Assim, seria improvável observar um pico intenso de íon molecular em uma molécula altamente ramificada. Os tempos de vida de íons moleculares variam de acordo com a sequência generalizada mostrada no esquema a seguir.

Outra regra que às vezes é usada para verificar se um determinado pico corresponde ao íon molecular é a chamada *Regra do Nitrogênio*. De acordo com essa regra, se um composto tiver um número par de átomos de nitrogênio (zero é um número par), seu íon molecular aparecerá em um valor de massa par. Por sua vez, uma molécula com um número ímpar de átomos de nitrogênio formará um íon molecular com uma massa ímpar. A Regra do Nitrogênio resulta do fato de que o nitrogênio, mesmo tendo uma massa par, tem uma valência de número ímpar. Consequentemente, um átomo de hidrogênio extra é in-

cluído como parte da molécula, fazendo que tenha uma massa ímpar. Para ilustrar esse efeito, considere-mos a etilamina, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_2$. Essa substância tem um átomo de nitrogênio, e sua massa é um número ímpar (45), enquanto a etilenediamina, $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, tem dois átomos de nitrogênio, e sua massa é um número par (60).

Quando se estudam moléculas que contêm átomos de cloro ou bromo, é preciso muito cuidado, pois esses elementos têm dois isótopos que ocorrem comumente. O cloro tem isótopos 35 (abundância relativa = 75,77%) e 37 (abundância relativa = 24,23%); e o bromo tem isótopos 79 (abundância relativa = 50,5%) e 81 (abundância relativa = 49,5%). Quando esses elementos estão presentes, fique atento para não confundir o pico de íon molecular com um pico correspondente ao íon molecular com um isótopo de halogênio mais pesado presente. A Seção 8.7B abordará detalhadamente essa situação.

Em muitos dos casos possíveis na espectrometria da massa, pode-se observar o íon molecular no espectro de massa. Assim que o pico for identificado no espectro, o problema da determinação do peso molecular estará resolvido. Porém, com moléculas que formam íons moleculares instáveis, pode-se não observar o pico de íon molecular. Íons moleculares com tempos de vida menores que 10^{-5} segundos quebram-se em fragmentos antes de poderem ser acelerados. Os únicos picos observados em tais casos são aqueles decorrentes de íons fragmentos. Em muitos desses casos, usar um método CI suave permitirá a detecção do íon pseudomolecular $(M + H)^+$, e pode-se determinar o peso molecular do composto apenas subtraindo uma unidade de massa do átomo de H extra presente. Se não for possível detectar um íon molecular por esse método, será necessário deduzir o peso molecular da substância a partir do padrão de fragmentação com base nos padrões conhecidos de fragmentação de certas classes de compostos. Por exemplo, alcoóis passam muito facilmente por desidratação. Em consequência, o íon molecular inicialmente formado perde água (massa = 18), um fragmento neutro, antes de poder ser acelerado na direção do analisador de massa. Para determinar a massa de um íon molecular alcoólico, deve-se localizar o fragmento mais pesado e ter em mente que pode ser necessário adicionar 18 à sua massa. Do mesmo modo, ésteres acetatos facilmente sofrem perda de ácido acético (massa = 60). Se há perda de ácido acético, o peso do íon molecular é 60 unidades de massa maior do que a massa do fragmento mais pesado.

Como compostos de oxigênio formam íons oxônio razoavelmente estáveis e compostos de nitrogênio formam íons amônia, colisões íon-molécula formam picos no espectro de massa que aparecem uma unidade de massa *maior* do que a massa do íon molecular. Na Seção 8.4, isso foi chamado de auto-CI. Às vezes, a formação de produtos íon-molécula pode ser útil para determinar o peso molecular de um composto de oxigênio ou de nitrogênio, mas esse auto-CI pode, outras vezes, confundir quando se estiver tentando determinar o verdadeiro íon molecular em um espectro de uma amostra desconhecida.

Tempo de vida
do íon molecular

- Compostos aromáticos
- Alcenos conjugados
- Compostos alicíclicos
- Sulfetos orgânicos
- Hidrocarbonetos não ramificados
- Mercaptanas
- Cetonas
- Aminas
- Ésteres
- Éteres
- Ácidos carboxílicos
- Hidrocarbonetos ramificados
- Alcoóis

8.7 DETERMINAÇÃO DE FÓRMULAS MOLECULARES

A. Determinação precisa de massa

Talvez a aplicação mais importante dos espectros de massa de alta resolução seja a determinação, muito precisa, de pesos moleculares de substâncias. Estamos acostumados a pensar em átomos com massas atômicas integrais – por exemplo, $H = 1$, $C = 12$ e $O = 16$. Porém, se determinarmos massas atômicas com precisão suficiente, descobriremos que isso não é verdade. Em 1923, Aston descobriu que toda massa isotópica é caracterizada por um pequeno “defeito de massa”. A massa de cada átomo, na realidade, difere de um número de massa inteiro por uma quantidade conhecida como *fração de empacotamento nuclear*. A Tabela 8.4 apresenta as massas reais de alguns átomos.

Dependendo dos átomos contidos em uma molécula, é possível que partículas com a mesma massa nominal tenham massas medidas diferentes quando é possível uma determinação precisa. Para ilustrar, uma molécula com peso molecular de 60,1 g/mol poderia ser C_3H_8O , $C_2H_8N_2$, $C_2H_4O_2$ ou CH_4N_2O (Tabela 8.3). Assim, um *espectro de massa de baixa resolução* (LRMS) não será capaz de distinguir essas fórmulas. Se forem calculadas as massas precisas de cada fórmula usando-se a massa do isótopo mais comum de cada elemento, as diferenças de massa entre as fórmulas aparecerão na segunda e na terceira casa decimal. Observar um íon molecular com massa de 60,058 estabeleceria que a molécula desconhecida é C_3H_8O . Um instrumento com resolução de aproximadamente 5.320 seria necessário para diferenciar esses picos. Isso está de acordo com a capacidade dos espectrômetros de massa modernos que podem chegar a resoluções maiores que uma parte em 20.000. Um *espectro de massa de alta resolução* (HRMS), então, não apenas determina a massa exata do íon molecular, como também permite que se saiba a fórmula molecular exata (ver Apêndice 11). Instrumentos típicos de alta resolução podem determinar o valor m/z de um íon com até quatro ou cinco casas decimais. Quando a massa precisa é medida com esse grau de precisão, apenas uma fórmula (excluindo os isótopos) se adequará aos dados. Um HRMS é extremamente valioso para químicos sintéticos, assim como para pesquisadores que determinam estrutura/isolamento de produtos naturais ou que pesquisam o metabolismo de remédios. É interessante comparar a precisão das determinações de peso molecular por espectrometria de massa com os métodos químicos descritos no Capítulo 1, na Seção 1.2. Métodos químicos geram resultados com apenas dois ou três algarismos significativos (de $\pm 0,1\%$ a 1%). Pesos moleculares determinados por espectrometria de massa têm uma exatidão de aproximadamente $\pm 0,005\%$. Não há dúvida de que a espectrometria de massa é muito mais precisa do que métodos químicos de determinação de peso molecular. A Tabela 8.4 apresenta os valores de massa precisos de alguns elementos comumente encontrados.

Tabela 8.3 Comparações selecionadas de pesos moleculares e massas precisas

Peso Molecular (PM)	Fórmula Molecular (FM) (g/mol)	Massa Precisa
C_3H_8O	60,1	60,05754
$C_2H_8N_2$	60,1	60,06884
$C_2H_4O_2$	60,1	60,02112
CH_4N_2O	60,1	60,03242

B. Dados de razões isotópicas

A seção anterior descreveu um método para determinar fórmulas moleculares usando dados de espectrômetros de massa de alta resolução. Outro método para determinar fórmulas moleculares é examinar as intensidades relativas dos picos devidas ao íon molecular e aos íons relacionados que têm um ou mais

isótopos pesados (o grupo de íons moleculares). Esse método não é muito usado por pesquisadores que têm à disposição um espectrômetro de massa de alta resolução ou que podem enviar suas amostras a um laboratório para uma análise exata de massa. Usar o grupo de íons moleculares pode ser útil, porém, em uma determinação relativamente rápida de fórmulas moleculares que não exigem instrumentos de alta resolução, mais caros. Esse método é inútil, logicamente, quando o pico de íon molecular é muito fraco ou não aparece. Às vezes, é difícil localizar no espectro de massa os picos isotópicos ao redor do íon molecular, e os resultados obtidos por esse método podem, em algumas situações, ser considerados ambíguos.

Tabela 8.4: Massas precisas de alguns elementos comuns.

Elemento	Peso Atômico	Nuclídeo	Massa
Hidrogênio	1,00797	^1H	1,00783
		^2H	2,01410
Carbono	12,01115	^{12}C	12,0000
		^{13}C	13,00336
Nitrogênio	14,0067	^{14}N	14,0031
		^{15}N	15,0001
Oxigênio	15,9994	^{16}O	15,9949
		^{17}O	16,9991
		^{18}O	17,9992
Flúor	18,9984	^{19}F	18,9984
Silício	28,086	^{28}Si	27,9769
		^{29}Si	28,9765
		^{30}Si	29,9738
Fósforo	30,974	^{31}P	30,9738
Enxofre	32,064	^{32}S	31,9721
		^{33}S	32,9715
		^{34}S	33,9679
Cloro	35,453	^{35}Cl	34,9689
		^{37}Cl	36,9659
Bromo	79,909	^{79}Br	78,9183
		^{81}Br	80,9163
Iodo	126,904	^{127}I	126,9045

O exemplo do etano (C_2H_6) pode ilustrar a determinação de uma fórmula molecular a partir de uma comparação entre as intensidades de picos espectrais de massa do íon molecular e os íons com isótopos mais pesados. O etano tem um peso molecular de 30 quando contém os isótopos mais comuns do carbono e do hidrogênio. Seu pico de íon molecular deve aparecer em uma posição no espectro correspondente a $m/z = 30$. Por vezes, porém, uma amostra de etano produz uma molécula em que um dos átomos de carbono é um isótopo pesado do carbono, ^{13}C . Essa molécula apareceria no espectro de massa em $m/z = 31$. A abundância relativa de ^{13}C em estado natural é 1,08% dos átomos ^{12}C . Na enorme quantidade de moléculas em uma amostra de gás etano, um dos átomos de carbono do etano, em 1,08% das vezes, acabará sendo um átomo ^{13}C . Como há dois átomos de carbono na molécula, um etano com massa 31 surgirá ($2 \times 1,08$) ou 2,16% das vezes. Assim, espera-se observar um pico em $m/z = 31$ com uma intensidade de 2,16% da intensidade do pico de íon molecular em $m/z = 30$. Esse pico de massa 31 é chamado de pico $M + 1$, já que sua massa é uma unidade maior do que a do íon molecular. Pode-se notar que uma partícula de massa 31 poderia ser formada de outra maneira. Se um átomo de deutério, ^2H , substituir um dos átomos de H do etano, a molécula também terá uma massa de 31. A abundância natural do deutério é apenas 0,016% da abundância dos átomos ^1H . A intensidade do pico $M + 1$ seria ($2 \times 0,016$) ou 0,032% da intensidade do

pico de íon molecular se considerarmos apenas contribuições devidas ao deutério. Quando adicionamos essas contribuições às do ^{13}C , obtemos a intensidade observada do pico $M + 1$, que é 2,26% da intensidade do pico do íon molecular. Um íon com $m/z = 32$ poderá ser formado se *ambos* os átomos de carbono na molécula do etano forem ^{13}C . A probabilidade de uma molécula de fórmula $^{13}\text{C}_2\text{H}_6$ aparecer em uma amostra natural de etano é de $(1,08 \times 1,08)/100$ ou 0,01%.

Um pico que aparece duas unidades de massa mais alto do que a massa do pico do íon molecular é chamado de pico $M + 2$. A intensidade do pico $M + 2$ do etano é apenas 0,01% da intensidade do pico do íon molecular. A contribuição devida a dois átomos de deutério substituindo átomos de hidrogênio seria $(0,016 \times 0,016)/100 = 0,0000256\%$, um valor insignificante. Para ajudar na determinação das razões de íons moleculares e de picos $M + 1$ e $M + 2$, a Tabela 8.5 lista as abundâncias naturais de alguns elementos comuns e seus isótopos. Nessa tabela, as abundâncias relativas dos isótopos de cada elemento são calculadas ao se ajustarem as abundâncias dos isótopos mais comuns em 100.

Para demonstrar como as intensidades dos picos $M + 1$ e $M + 2$ oferecem um valor único para uma determinada fórmula molecular, consideremos duas moléculas de massa 42: propeno (C_3H_6) e diazometano (CH_2N_2). No propeno, a intensidade do pico $M + 1$ seria $(3 \times 1,08) + (6 \times 0,016) = 3,34\%$, e a intensidade do pico $M + 2$, 0,05%. A abundância natural de isótopos ^{15}N do nitrogênio é 0,38% da abundância dos átomos ^{14}N . No diazometano, a intensidade relativa do pico $M + 1$ seria $1,08 + (2 \times 0,016) + (2 \times 0,38) = 1,87\%$ da intensidade do pico do íon molecular, e a intensidade do pico $M + 2$, 0,01% da intensidade do pico do íon molecular. A Tabela 8.6 resume essas razões entre intensidades, mostrando que duas moléculas têm praticamente o mesmo peso molecular, mas as intensidades relativas dos picos $M + 1$ e $M + 2$ gerados por elas são bem diferentes.

Como um dado adicional, a Tabela 8.7 compara as razões do íon molecular, os picos $M + 1$ e $M + 2$ de três substâncias de massa 28: monóxido de carbono, nitrogênio e eteno. Mais uma vez, note que as intensidades relativas dos picos $M + 1$ e $M + 2$ possibilitam um meio de distinguir essas moléculas.

Tabela 8.5 Abundâncias naturais de elementos comuns e seus isótopos

Elemento			Abundância Relativa			
Hidrogênio	^1H	100	^2H	0,016		
Carbono	^{12}C	100	^{13}C	1,08		
Nitrogênio	^{14}N	100	^{15}N	0,38		
Oxigênio	^{16}O	100	^{17}O	0,04	^{18}O	0,20
Flúor	^{19}F	100				
Silício	^{28}Si	100	^{29}Si	5,10	^{30}Si	3,35
Fósforo	^{31}P	100				
Enxofre	^{32}S	100	^{33}S	0,78	^{34}S	4,40
Cloro	^{35}Cl	100			^{37}Cl	32,5
Bromo	^{79}Br	100			^{81}Br	98,0
Iodo	^{127}I	100				

Conforme as moléculas ficam maiores e mais complexas, aumenta o número de combinações possíveis que produzem picos $M + 1$ e $M + 2$. Para uma certa combinação de átomos, as intensidades desses picos em relação à intensidade do pico de íon molecular são únicas. Assim, um método de razão isotópica pode ser usado para estabelecer a fórmula molecular de um composto. Examinar a intensidade do pico $M + 2$ também é útil para obter informações sobre elementos que podem estar presentes na fórmula molecular. Um pico $M + 2$ extraordinariamente intenso pode indicar que enxofre ou silício está presente na substância desconhecida. As abundâncias relativas de ^{33}S e ^{34}S são 0,78 e 4,40, respectivamente, e a abundância relativa de ^{30}Si é 3,35. Um químico experiente sabe que um pico $M + 2$ maior do que o normal

pode ser a primeira indicação de que enxofre ou silício está presente. Cloro e bromo também têm importantes isótopos $M + 2$ e serão estudados separadamente mais adiante.

Tabela 8.6 Razões de Isótopos em picos $M + 1$ e $M + 2$

Composto	Massa Molecular	Intensidades Relativas		
		M	$M + 1$	$M + 2$
C_3H_6	42	100	3,34	0,05
CH_2N_2	42	100	1,87	0,01

Tabela 8.7 Razões de Isótopos em $M + 1$ e $M + 2$

Composto	Massa Molecular	Intensidades Relativas		
		M	$M + 1$	$M + 2$
CO	28	100	1,12	0,2
N_2	28	100	0,76	
C_2H_4	28	100	2,23	0,01

Foram desenvolvidas tabelas de possíveis combinações de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio e razões de intensidade em picos $M + 1$ e $M + 2$ para cada combinação. Um exemplo desse tipo de tabela está no Apêndice 11. Tabelas mais extensas de razões de intensidade em picos $M + 1$ e $M + 2$ podem ser encontradas em livros especializados em interpretação de espectros de massa. Cálculos precisos de intensidades relativas de picos isótopos em um grupo de íons moleculares de compostos contendo diversos elementos com isótopos levam muito tempo para serem feitos manualmente, pois exigem expansões polinomiais. Felizmente, muitos sites que tratam de espectrometria de massa têm calculadoras de isótopos, que facilitam essa tarefa. Alguns desses sites podem ser encontrados no fim deste capítulo.

Para compostos que contém apenas C, H, N, O, F, Si, P e S, as intensidades relativas de picos $M + 1$ e $M + 2$ podem ser rapidamente estimadas por meio de cálculos simplificados. A fórmula de calcular a intensidade do pico $M + 1$ (relativa a $M^+ = 100$) de determinado composto está na Equação 8.25. Do mesmo modo, a intensidade de um pico $M + 2$ (relativa a $M^+ = 100$) pode ser encontrada usando a Equação 8.26.

$$[M + 1] = (\text{número de C} \times 1,1) + (\text{número de H} \times 0,015) + (\text{número de N} \times 0,37) + (\text{número de O} \times 0,04) + (\text{número de S} \times 0,8) + (\text{número de Si} \times 5,1) \quad \text{Equação 8.25}$$

$$[M + 2] = \frac{(\text{número de C} \times 1,1)^2}{200} + (\text{número de O} \times 0,2) + (\text{número de S} \times 4,4) + (\text{número de Si} \times 3,4)$$

Equação 8.26

Tabela 8.8 Intensidades relativas de picos de isótopos em várias combinações de bromo e cloro

Halogênio	Intensidades Relativas			
	M	$M + 2$	$M + 4$	$M + 6$
Br	100	97,7		
Br ₂	100	195,0	95,4	
Br ₃	100	293,0	286,0	93,4
Cl	100	32,6		
Cl ₂	100	65,3	10,6	
Cl ₃	100	97,8	31,9	3,47
BrCl	100	130,0	31,9	
Br ₂ Cl	100	228,0	159,0	31,02
Cl ₂ Br	100	163,0	74,4	10,4

Quando cloro ou bromo está presente, o pico $M + 2$ fica bem significativo. O isótopo pesado de cada um desses elementos é duas unidades de massa mais pesado do que o isótopo mais leve. A abundância natural do ³⁷Cl é 32,5% a do ³⁵Cl, e a abundância natural do ⁸¹Br é 98,0% a do ⁷⁹Br. Quando algum desses elementos está presente, o pico $M + 2$ fica bastante intenso. Se um composto contém dois átomos de cloro ou bromo, deve ser observado um pico $M + 4$ distinto, assim como um pico $M + 2$ intenso. Em tal caso, é importante ter cuidado na identificação do pico de íon molecular no espectro de massa. A Seção 8.8V abordará em detalhes as propriedades espectrais de massa de compostos de halogênios. A Tabela 8.8 apresenta as intensidades relativas de picos de isótopos de várias combinações de átomos de bromo e cloro, e a Figura 8.18 as ilustra.

8.8 ANÁLISE ESTRUTURAL E PADRÕES DE FRAGMENTAÇÃO

Na EI-MS, uma molécula é bombardeada por elétrons de alta energia na câmara de ionização. A colisão entre as moléculas de amostra e os elétrons resulta inicialmente na perda, pela molécula de amostra, de um elétron para formar um cátion radical. A molécula também absorve uma quantidade considerável de energia extra durante a colisão com os elétrons incidentes. Essa energia extra coloca o íon molecular em estado vibracional altamente excitado. O íon molecular vibracionalmente excitado pode ser instável e perder parte de sua energia extra ao se quebrar em fragmentos. Se o tempo de vida do íon molecular for maior que 10^{-5} s, um pico correspondente ao íon molecular aparecerá no espectro de massa. Entretanto, íons moleculares com tempos de vida menores que 10^{-5} s quebram-se em fragmentos antes de serem acelerados dentro da câmara de ionização e entrarem no analisador de massa. Em tais casos, picos correspondentes às razões massa/carga (m/z) desses fragmentos aparecem no espectro de massa. Em um determinado composto, nem todos os íons moleculares formados por ionização têm precisamente o mesmo tempo de vida; alguns têm tempos de vida menores que outros. Como resultado, em um espectro de massa EI típico observam-se picos correspondentes tanto ao íon molecular quando aos íons fragmentos.

Na maioria das classes de compostos, o modo de fragmentação é de alguma forma característico e, portanto, previsível. Esta seção apresenta alguns dos modos mais importantes de fragmentação de grupos funcionais orgânicos comuns. É útil iniciar descrevendo alguns princípios gerais dos processos de formação. A ionização da molécula de amostra forma um íon molecular que tem não apenas uma carga positiva, mas também um elétron não emparelhado. O íon molecular, então, é na verdade um cátion radical que contém um número ímpar de elétrons. Íons com número ímpar de elétrons (OE^+) têm massa par (se nenhum nitrogênio estiver presente no composto), e íons com número par de elétrons (EE^+) têm massa ímpar.

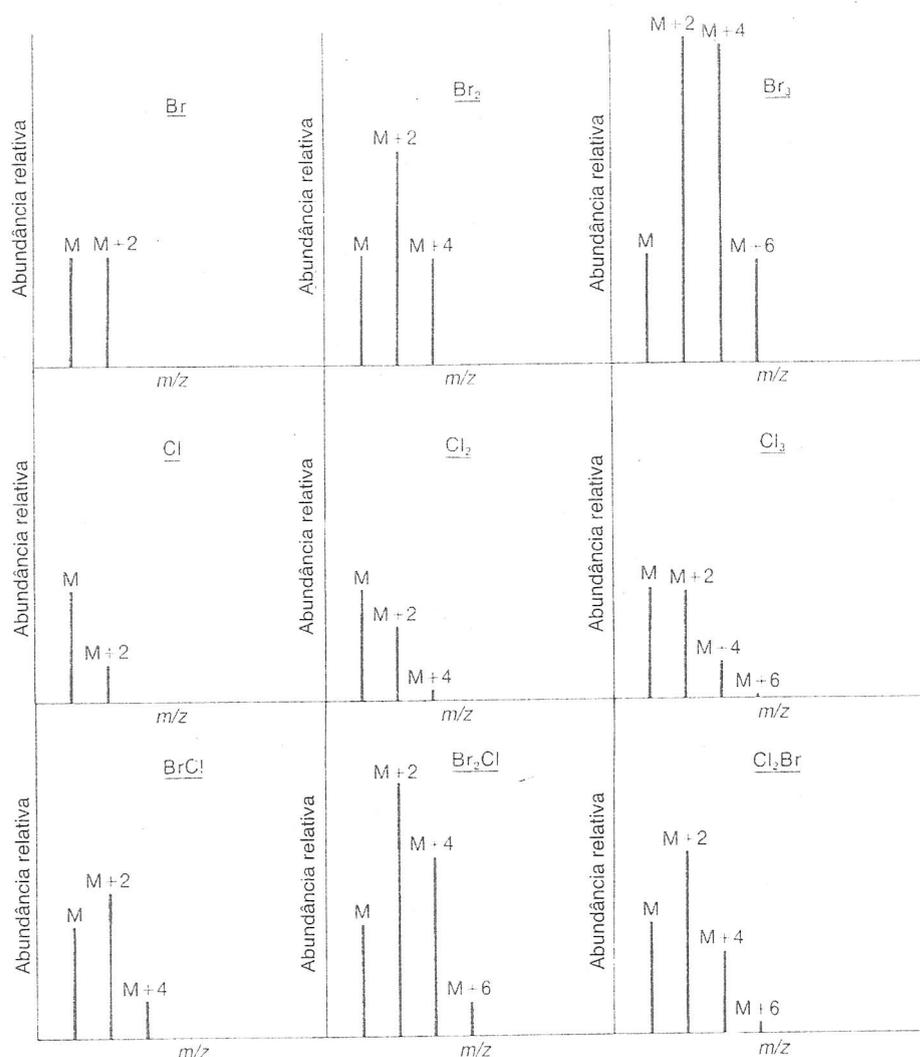


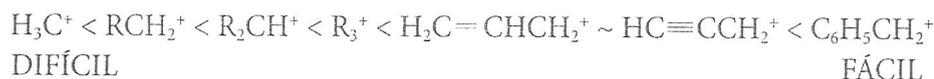
FIGURA 8.18 Espectros de massa esperados para várias combinações de bromo e cloro.

A. Regra de Stevenson

Quando se formam íons fragmentos no espectrômetro de massa, isso quase sempre ocorre por meio de processos unimoleculares. A baixa pressão da câmara de ionização torna improvável que ocorra um número significativo de colisões bimoleculares. Os processos unimoleculares energeticamente mais favoráveis geram a maioria dos íons fragmentos. Esta é a ideia por trás da *Regra de Stevenson*: a fragmentação mais provável é a que deixa a carga positiva no fragmento com a energia de ionização mais baixa. Em outras palavras, processos de fragmentação que levam à formação de íons mais estáveis são preferíveis a processos que levam a íons menos estáveis. Essa ideia se fundamenta nos mesmos conceitos da Regra de Markovnikov, segundo a qual, na adição de um haleto de hidrogênio a um alceno, o carbocátion mais estável se forma mais rápido e leva ao produto com maior rendimento da reação de adição. Na verdade, pode-se explicar bem a química associada à fragmentação iônica em termos do que se sabe sobre carbocátions em solução. Por exemplo, uma substituição alquílica estabiliza íons fragmentos (e promove sua formação) da mesma forma que estabiliza carbocátions. Outros conceitos conhecidos ajudarão a prever processos prováveis de fragmentação: eletronegatividade, polarizabilidade, deslocalização por ressonância, regra do octeto etc.

Com frequência, a fragmentação envolve a perda de um fragmento eletricamente neutro. Esse fragmento não aparece no espectro de massa, mas pode-se deduzir sua existência por meio das diferenças das massas do íon fragmento e do íon molecular. Mais uma vez, processos que levam à formação de um fragmento neutro mais estável são preferíveis às que levam a fragmentos neutros menos estáveis.

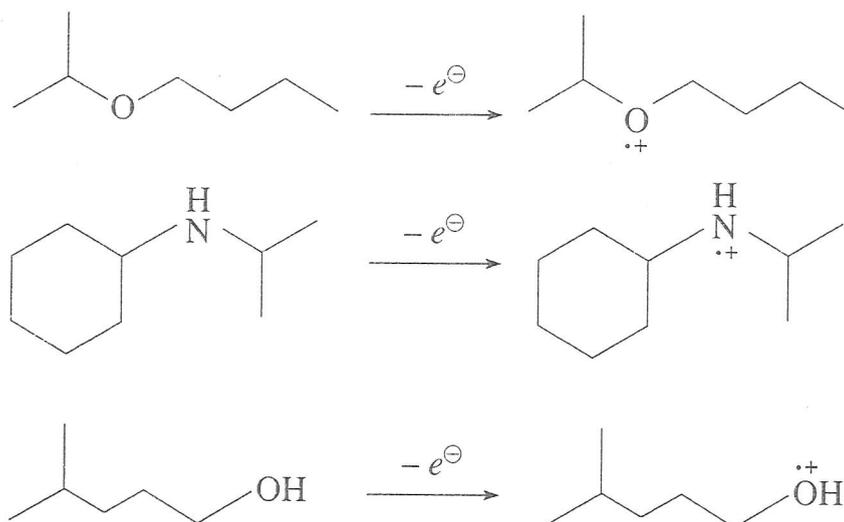
Um OE^+ pode ser fragmentado de duas formas: segmentação de uma ligação para criar um EE^+ e um radical (R^\cdot) ou segmentação de ligações para criar outro OE^+ e uma molécula neutra de camada fechada (N). Um EE^+ , por sua vez, pode ser fragmentado de uma única maneira: segmentação de ligações para criar outro EE^+ e uma molécula neutra de camada fechada (N). Essa é a chamada *regra do número par de elétrons*. O modo de fragmentação mais comum envolve a segmentação de uma ligação. Nesse processo, o OE^+ produz um radical (R^\cdot) e um íon fragmento EE^+ . Segmentações que levam à formação de carbocátions mais estáveis são preferíveis. Quando pode ocorrer a perda de mais de um radical possível, um corolário à Regra de Stevenson é que o maior radical alquila seja o primeiro a ser perdido. Assim, a facilitação da fragmentação para formar íons aumenta na seguinte ordem:



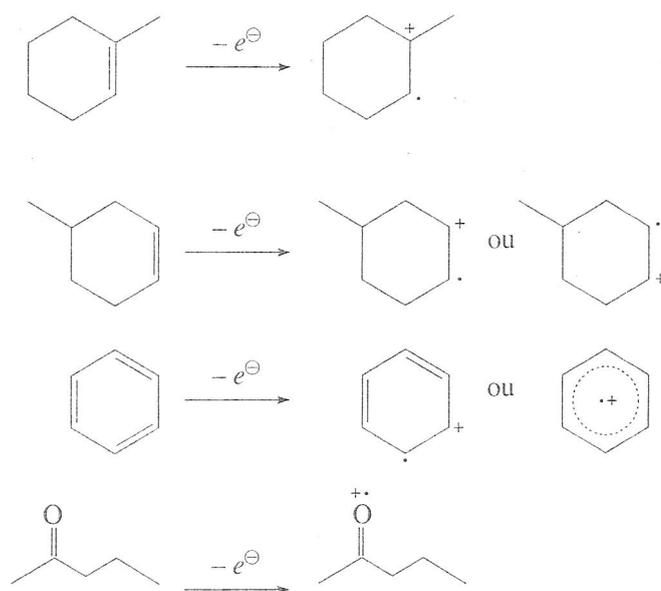
B. Evento inicial de ionização

Não é possível aprofundar os estudos sobre fragmentação de íons sem considerar que um elétron é perdido no evento inicial de ionização para formar M^+ . Os elétrons que mais provavelmente serão ejetados durante o evento de ionização são aqueles que estão nos orbitais moleculares com maior energia potencial, isto é, os elétrons mantidos mais fracamente pela molécula. Assim, é mais fácil remover um elétron de um orbital não ligante n do que retirar um elétron de um orbital π . Do mesmo modo, é muito mais fácil ejetar um elétron de um orbital π do que em um orbital σ . O íon molecular pode ser representado por uma região de carga localizada ou não localizada. Alguns exemplos de perda de um elétron e a notação do íon molecular são mostrados a seguir.

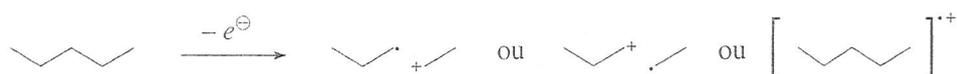
Perda de um elétron de um orbital não ligante:



Perda de um elétron de um orbital π :



Perda de um elétron de um orbital σ :



Ao desenhar mecanismos de fragmentação, é essencial traçar as áreas de carga e radical com cuidado, a fim de prevenir uma designação errada de qual fragmento é o íon e qual é neutro e evitar que se desenhem fragmentações altamente improváveis. É também importante ter em mente que a fragmentação ocorre na fase gasosa com um íon em um estado vibracional altamente excitado. É tentador desenhar mecanismos de fragmentação da mesma forma que se desenham mecanismos de reações químicas – com eventos concertados de quebra de ligação e de criação de ligação. A maioria das fragmentações no espectrômetro de massa tende a ocorrer por etapas, apesar de alguns processos, como a fragmentação retro Diels-Alder, serem frequentemente representados de um modo concertado para enfatizar o paralelismo com a reação química, que é mais conhecida. Por fim, precisamos ser consistentes no uso de uma seta de uma única ponta (anzol, \curvearrowright) para movimentação de um único elétron e setas de duas pontas (\curvearrowleft) para processos de dois elétrons.

C. Segmentação iniciada no sítio radical: segmentação α

Antes de examinar os padrões de fragmentação característicos de grupos funcionais orgânicos comuns, vamos considerar alguns dos modos de fragmentação mais comuns. Fragmentação iniciada *no sítio radical* é uma das segmentações de ligação mais conhecidas e normalmente é chamada de segmentação α . O termo “segmentação α ” é confuso para alguns porque a ligação que é quebrada não está diretamente anexa a um sítio radical, mas, sim, ao átomo vizinho (a posição α). Segmentações α podem ocorrer em áreas saturadas e não saturadas, que podem ou não envolver um heteroátomo (Y na Figura 8.19).

D. Segmentação iniciada em sítio carregado: segmentação indutiva

Outra segmentação de uma ligação comum é a iniciada em *sítio carregado* ou *segmentação indutiva*, com frequência indicada em um mecanismo de fragmentação pelo símbolo *i*. A segmentação indutiva envolve a atração de um par de elétrons por um heteroátomo eletronegativo, que acaba como um radical ou

como uma molécula neutra de camada fechada. Enquanto a segmentação α é uma fragmentação apenas de OE^+ , a segmentação indutiva pode operar em OE^+ ou em EE^+ , como visto na Figura 8.20.

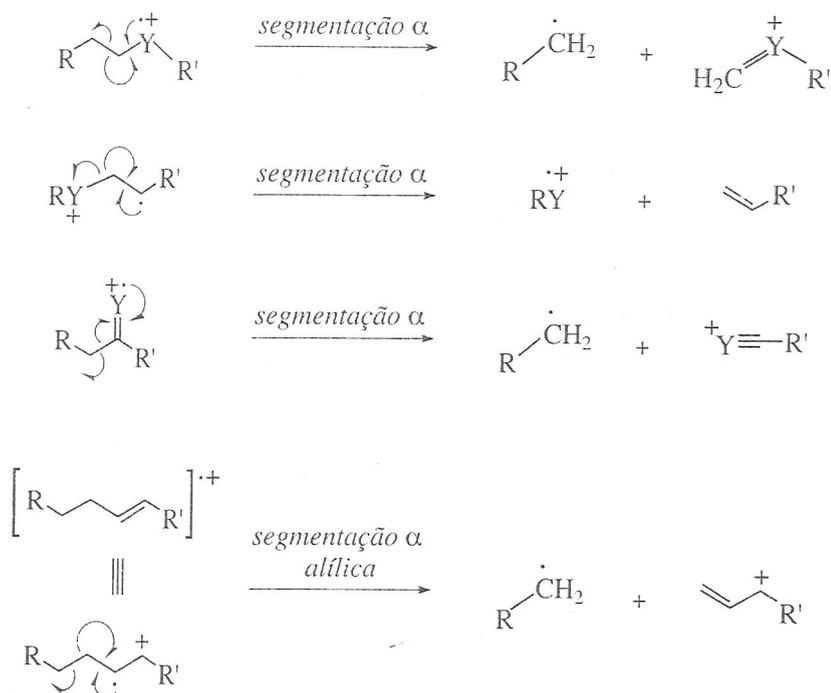


FIGURA 8.19 Fragmentações representativas de uma segmentação α ($Y = \text{heteroátomo}$).

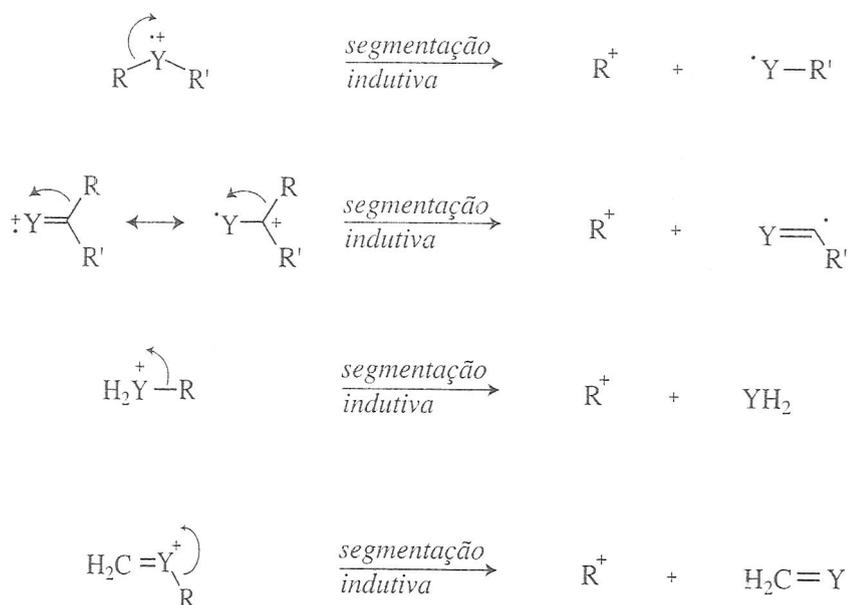


FIGURA 8.20 Fragmentações representativas de uma segmentação indutiva ($Y = \text{heteroátomo}$).

E. Segmentação de duas ligações

Algumas fragmentações envolvem segmentação simultânea de duas ligações. Nesse processo, ocorre uma eliminação, e o íon molecular com número ímpar de elétrons produz um OE^+ e um fragmento N neutro com número par de elétrons, normalmente uma molécula pequena de algum tipo: H_2O , um haleto de hidrogênio ou um alceno. Alguns exemplos desse tipo de segmentações de duas ligações são apresentados na Figura 8.21.

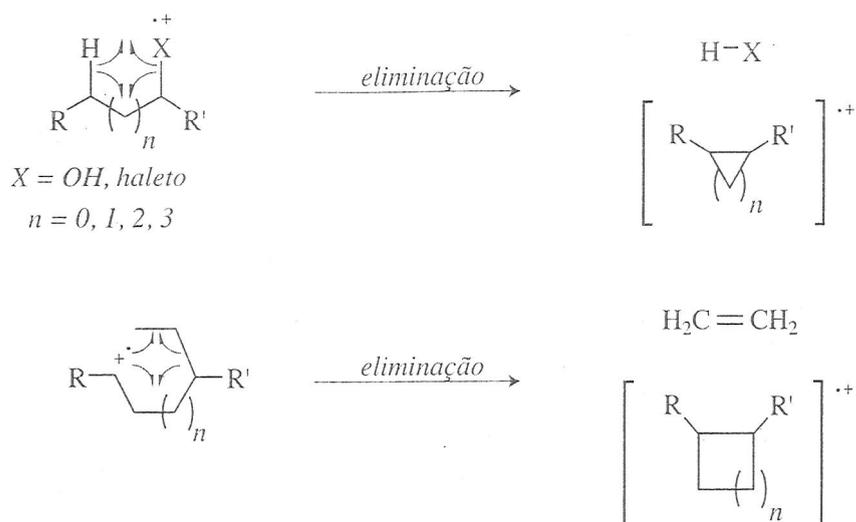


FIGURA 8.21 Fragmentações de duas ligações comuns ($X = \text{heteroátomo}$).

F. Segmentação retro Diels-Alder

Anéis de seis membros não saturados podem passar por uma fragmentação *retro Diels-Alder* para produzir o cátion radical de um dieno e um alceno neutro – os precursores hipotéticos dos derivados do cicloexeno se ele tivesse sido preparado na direção para frente, por meio da cicloadição do $[4\pi + 2\pi]$ dieno + dienófilo, bem conhecida por todo químico orgânico como reação de Diels-Alder. Uma representação esquemática da fragmentação retro Diels-Alder é mostrada na Figura 8.22 Note que o elétron desemparelhado e a carga permanecem com o fragmento dieno, de acordo com a Regra de Stevenson.

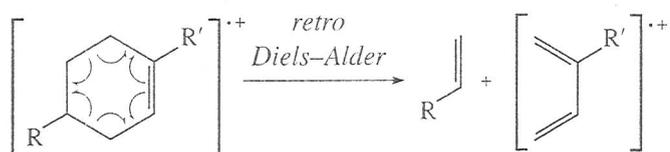


FIGURA 8.22 Fragmentação retro Diels-Alder.

G. Rearranjos de McLafferty

Outra fragmentação muito comum que pode ocorrer com muitos substratos é o *rearranjo de McLafferty* (Figura 8.23). Essa fragmentação foi descrita por Fred McLafferty em 1956 e é a primeira das fragmentações mais previsíveis, depois da fragmentação α simples. No rearranjo de McLafferty, um átomo de hidrogênio em um átomo de carbono, a três átomos de distância do cátion radical de um alceno, aro, carbonila ou imina (conhecido como hidrogênio γ), é transferido para a área carregada por meio de um estado de transição de seis membros, com segmentação concorrente da ligação sigma entre as posições α e β da cadeia. Isso forma um novo cátion radical e um alceno com uma ligação π entre o que eram os carbonos β e γ originais. Para simplificar, o mecanismo do rearranjo de McLafferty é normalmente representado como um processo concertado, como na Figura 8.23. Há evidências experimentais, porém, que indicam que a fragmentação ocorre por etapas, e, regra geral, fragmentações que envolvem a quebra de mais de uma ligação ocorrem provavelmente em etapas. O rearranjo de McLafferty é imediatamente observado nos espectros de massa de muitos grupos funcionais orgânicos, e diversos exemplos serão mostrados nas próximas seções deste capítulo.



FIGURA 8.23 Rearranjo de McLafferty.

H. Outros tipos de segmentação

Além desses processos, também são possíveis fragmentações que envolvem rearranjos, migrações de grupos e fragmentações secundárias de íons fragmentos. Esses modos de fragmentação ocorrem com menos frequência do que os dois casos já descritos, e mais discussão sobre eles será reservada para os compostos em que eles são importantes. Para ajudá-lo a identificar possíveis íons fragmentos, o Apêndice 12 apresenta uma tabela com as fórmulas moleculares de fragmentos comuns com m/z menores que 105. Podem-se encontrar tabelas mais completas nos livros indicados no fim deste capítulo.

I. Alcanos

Em hidrocarbonetos saturados e estruturas orgânicas contendo grandes esqueletos de hidrocarbonetos saturados, os métodos de fragmentação são bem previsíveis. O que se sabe sobre as estabilidades dos carbocátions em solução pode ser usado para ajudar a entender os padrões de fragmentação de alcanos. Os espectros de massa de alcanos são caracterizados por picos de íon-molécula fortes e uma série regular de picos de íon fragmento separados por 14 uma.

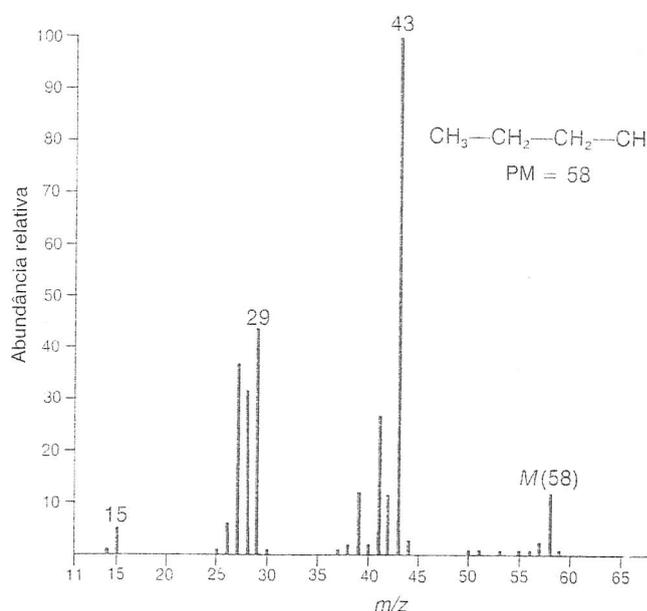


FIGURA 8.24 Espectro de massa do butano.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Alcanos	
ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTOS
M^+ forte	Perda de unidades CH_2 em uma série: $M - 14$, $M - 28$, $M - 42$ etc.

Em uma cadeia linear ou “normal” de alcanos, pode-se observar um pico correspondente ao íon molecular como nos espectros de massa do butano (Figura 8.24) e do octano (Figura 8.25). Conforme o esqueleto do carbono fica mais ramificado, diminui a intensidade do pico do íon molecular. Alcanos de cadeia linear têm fragmentos que são sempre carbocátions primários. Como esses íons são bem instáveis, é difícil ocorrer fragmentação. Um número significativo de moléculas originais sobrevive ao bombardeamento de elétrons sem se fragmentar. Consequentemente, observa-se um pico de íon molecular de intensidade significativa. Esse efeito será facilmente visto se for comparado o espectro de massa do butano com o do isobutano (Figura 8.26). O pico do íon molecular no isobutano é muito menos intenso do que no butano. Comparar o espectro de massa do octano e do 2,2,4-trimetilpentano (Figura 8.27) oferece uma ilustração mais significativa do efeito de ramificação da cadeia na intensidade do pico do íon molecular. O pico do íon molecular no 2,2,4-trimetilpentano é muito fraco para ser observado, enquanto o pico do íon molecular em seu isômero de cadeia linear é facilmente observado. O efeito de ramificação da cadeia na intensidade do pico do íon molecular pode ser entendido examinando-se o método pelo qual hidrocarbonetos passam por fragmentação.

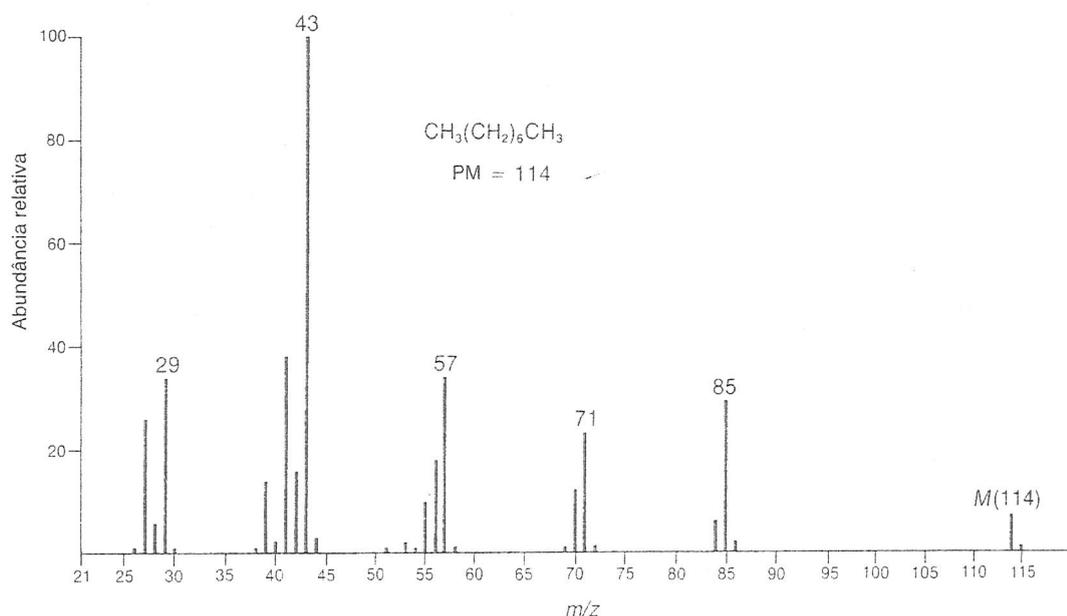


FIGURA 8.25 Espectro de massa El do octano.

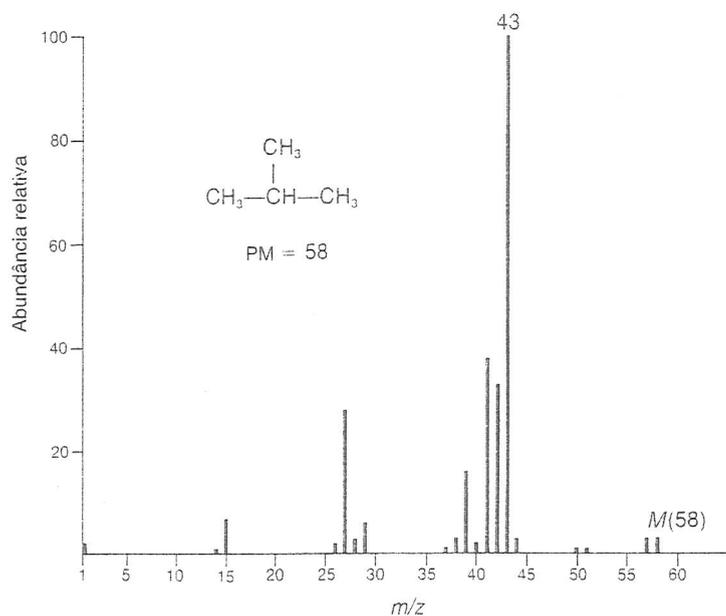


FIGURA 8.26 Espectro de massa El do isobutano.

Hidrocarbonetos de cadeia linear passam por fragmentação pela quebra de ligações carbono-carbono, resultando em uma série homóloga de produtos de fragmentação. Por exemplo, no caso do butano, a segmentação da ligação C1–C2 resulta na perda de um radical metila e na formação do carbocátion propila ($m/z = 43$). A segmentação da ligação C2–C3 resulta na perda de um radical etila e na formação do carbocátion etila ($m/z = 29$). No caso do octano, são observados picos fragmentos devidos ao íon hexila ($m/z = 85$), ao íon pentila ($m/z = 71$), ao íon butila ($m/z = 57$), ao íon propila ($m/z = 43$) e ao íon etila ($m/z = 29$). Note que alcanos fragmentam para formar grupos de picos que estão a 14 unidades de massa (correspondente a um grupo CH_2) de distância um do outro. Outros fragmentos dentro de cada grupo correspondem a perdas adicionais de um ou dois átomos de hidrogênio. Como fica evidente no espectro de massa do octano, os íons de três carbonos parecem ser os mais abundantes, com as intensidades de cada fragmento diminuindo uniformemente conforme o peso do fragmento aumenta. É interessante notar que, em alcanos de cadeia longa, o fragmento correspondente à perda de um átomo de carbono normalmente está ausente. No espectro de massa do octano, um fragmento de sete carbonos deve ocorrer em uma massa 99, mas não é observado.

A quebra de ligações carbono-carbono de alcanos de cadeia ramificada pode levar a carbocátions secundários ou terciários. Esses íons, logicamente, são mais estáveis do que os primários, e assim a fragmentação torna-se um processo mais favorável. Uma boa parte das moléculas originais passa por fragmentação, e assim os picos do íon molecular de alcanos de cadeia ramificada são consideravelmente mais fracos ou até mesmo ausentes. No isobutano, quebrar uma ligação carbono-carbono produz um carbocátion isopropila, que é mais estável do que um íon propila normal. O isobutano passa por fragmentação mais facilmente do que o butano por causa da estabilidade crescente de seus produtos de fragmentação. Com o 2,2,4-trimetilpentano, o evento de segmentação dominante é a ruptura da ligação C2–C3, que leva à formação de um carbocátion *tert*-butila. Como os carbocátions terciários são os mais estáveis dos carbocátions alquilas saturados, essa segmentação é particularmente favorável e responsável pelo pico intenso de fragmento em $m/z = 57$.

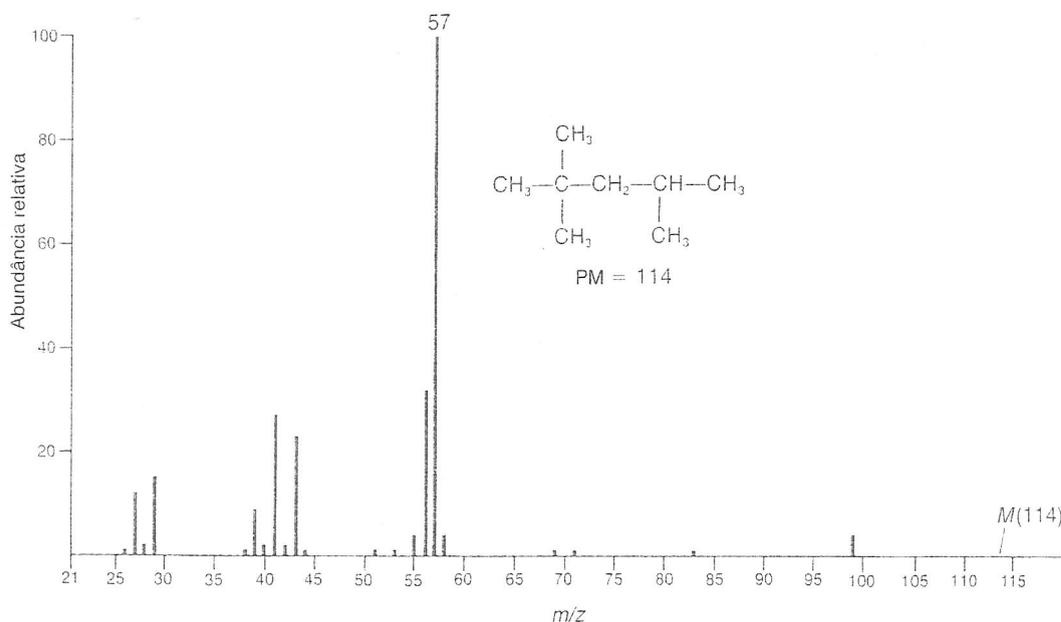


FIGURA 8.27 Espectro de massa EI do 2,2,4-trimetilpentano (isooctano).

J. Cicloalcanos

Em geral, cicloalcanos formam picos de íon molecular fortes. É comum uma fragmentação por meio da perda de uma molécula de eteno ($M - 28$). O espectro de massa típico de um cicloalcano mostra um pico de íon molecular relativamente intenso. Fragmentar os compostos anelares exige a quebra de duas

ligações carbono-carbono, que é um processo mais difícil do que a quebra de apenas uma dessas ligações. Portanto, mais moléculas do cicloalcano sobrevivem ao bombardeamento de elétrons, sem passar por fragmentação, do que moléculas de um alcano acíclico. Nos espectros de massa do ciclopentano (Figura 8.28) e do metilciclopentano (Figura 8.29), podem-se observar fortes picos de íon molecular.

Os padrões de fragmentação dos cicloalcanos podem apresentar grupos de massa arranjados em uma série semelhante aos dos alcanos. Contudo, o modo mais significativo de segmentação dos cicloalcanos envolve a perda de uma molécula de eteno ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$), seja da molécula original seja do OE^+ intermediário. O pico em $m/z = 42$ no ciclopentano e o pico em $m/z = 56$ no metilciclopentano resultam da perda do eteno da molécula original. Cada um desses picos fragmentos é o mais intenso no espectro de massa. Quando o cicloalcano tem uma cadeia lateral, perder essa cadeia lateral é um modo favorável de fragmentação. O pico fragmento em $m/z = 69$ no espectro de massa do metilciclopentano deve-se à perda da cadeia lateral CH_3 , que resulta em um carbocátion secundário.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Cicloalcanos	
ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTO
M^+ forte	$M - 28$ Uma série de picos: $M - 15$, $M - 29$, $M - 43$, $M - 57$ etc.

Aplicando essas informações ao espectro de massa do biciclo[2.2.1]heptano (Figura 8.30), podemos identificar picos fragmentos causados pela perda da cadeia lateral (a ponte de um carbono, mais um átomo de hidrogênio adicional) em $m/z = 81$ e pela perda de eteno em $m/z = 68$. O pico do íon fragmento em $m/z = 67$ deve-se à perda de eteno mais um átomo de hidrogênio adicional.

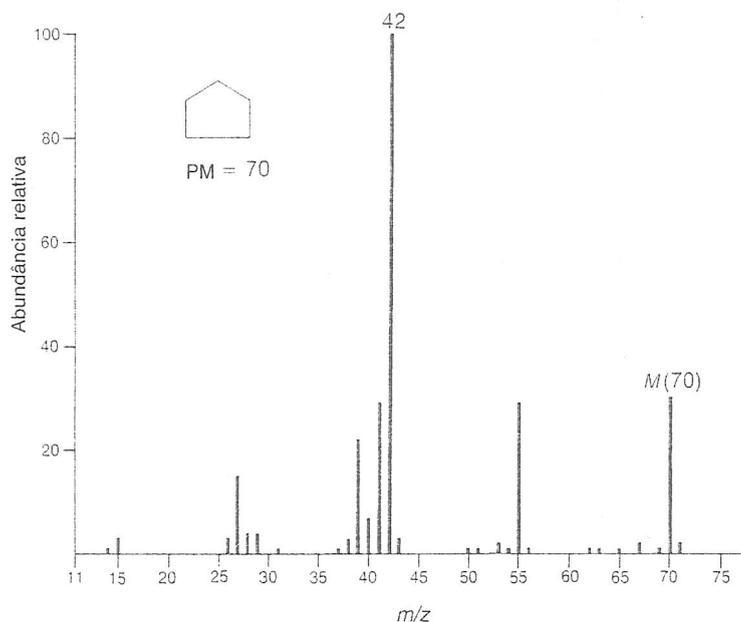


FIGURA 8.28 Espectro de massa EI do ciclopentano.

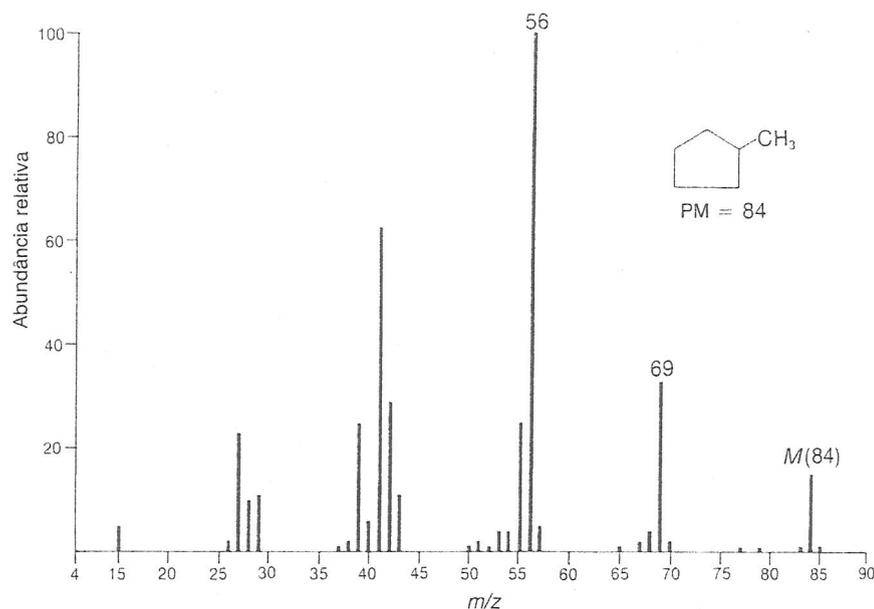


FIGURA 8.29 Espectro de massa EI do metilciclopentano.

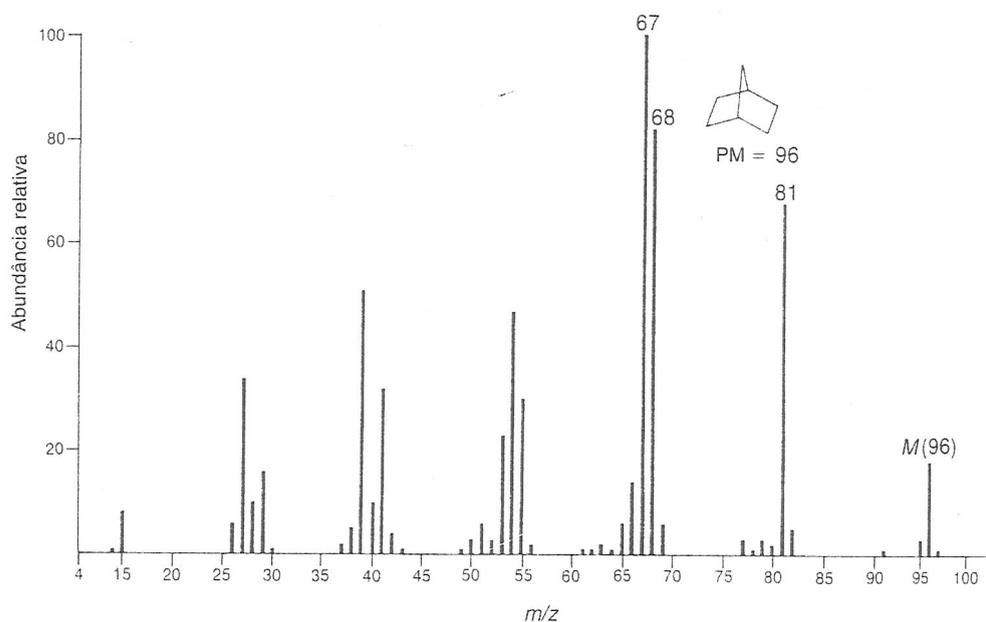


FIGURA 8.30 Espectro de massa EI do biciclo[2.2.1]heptano.

K. Alcenos

Os espectros de massa da maioria dos alcenos mostram diferentes picos de íon molecular. Naturalmente, a massa do íon molecular deve corresponder a uma fórmula molecular com um índice de deficiência de hidrogênio igual a pelo menos um (ver Capítulo 1). O bombardeamento de elétrons, aparentemente, remove um dos elétrons da ligação π , deixando o esqueleto do carbono relativamente não perturbado. Quando alcenos passam por processos de fragmentação, os íons fragmentos resultantes têm fórmulas correspondentes a $C_nH_{2n}^+$ e $C_nH_{2n-1}^+$. Às vezes, é difícil localizar ligações duplas em alcenos, já que elas migram imediatamente. É fácil ver a semelhança dos espectros de massa de isômeros de alceno nos espectros de massa de três isômeros da fórmula C_5H_{10} (Figuras 8.31, 8.32 e 8.33). Os espectros de massa são praticamente idênticos, a única diferença refere-se a um fragmento grande em $m/z = 42$ no espectro do 1-penteno. Esse íon deve se formar por um rearranjo do tipo de McLafferty do íon molecular. O carbocátion alila ($m/z = 41$) é um fragmento importante nos espectros de massa de alcenos terminais e forma-se por meio de uma segmentação α , como se vê na Figura 8.19. O fragmento em $m/z = 55$ vem

da perda de um radical metila. Esse fragmento é o pico-base nos espectros de isômeros do penteno diastereoméricos, já que a perda do grupo metila distal ao alceno cria um cátion alílico, que é estabilizado por ressonância.

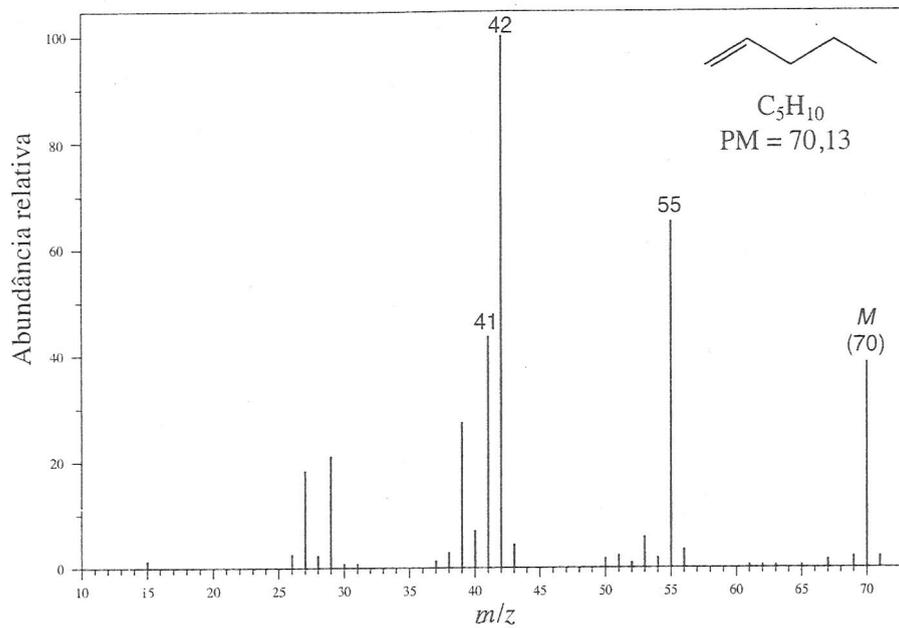


FIGURA 8.31 Espectro EI-MS do 1-penteno.

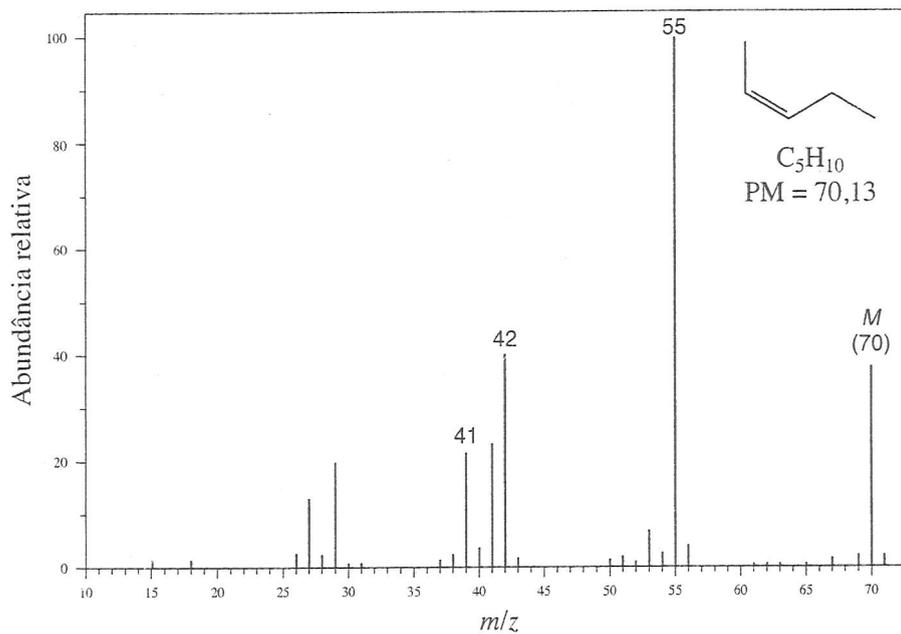


FIGURA 8.32 Espectro EI-MS do Z-2-penteno.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Alcenos

ÍON MOLECULAR

M^+ forte

ÍONS FRAGMENTO

$m/z = 41$

Uma série de picos: $M - 15$,
 $M - 29$, $M - 43$, $M - 57$ etc.

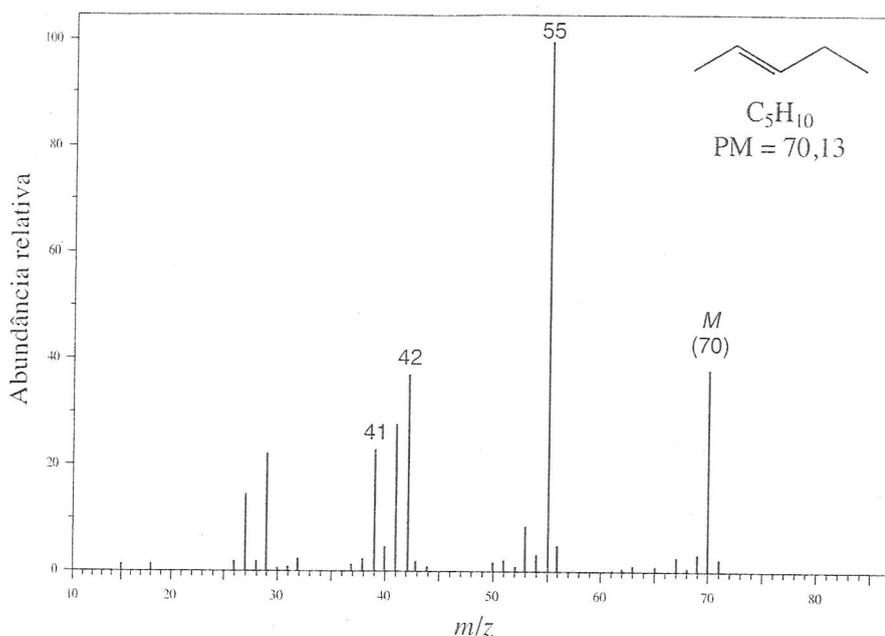


FIGURA 8.33 Espectro EI-MS do *E*-2-penteno.

Os espectros de massa de cicloalcenos mostram picos de íon molecular bem distintos. Em muitos cicloalcenos, a migração de ligações gera espectros de massa virtualmente idênticos. Consequentemente, pode ser impossível localizar a posição da ligação dupla em um cicloalcano, particularmente um ciclopenteno ou um ciclohepteno. Cicloexenos têm um padrão de fragmentação característico que corresponde a uma reação retro Diels-Alder (Figura 8.22). No espectro de massa do monoterpene limoneno (Figura 8.34), o pico intenso em $m/z = 68$ corresponde ao fragmento dieno que surge da fragmentação retro Diels-Alder.

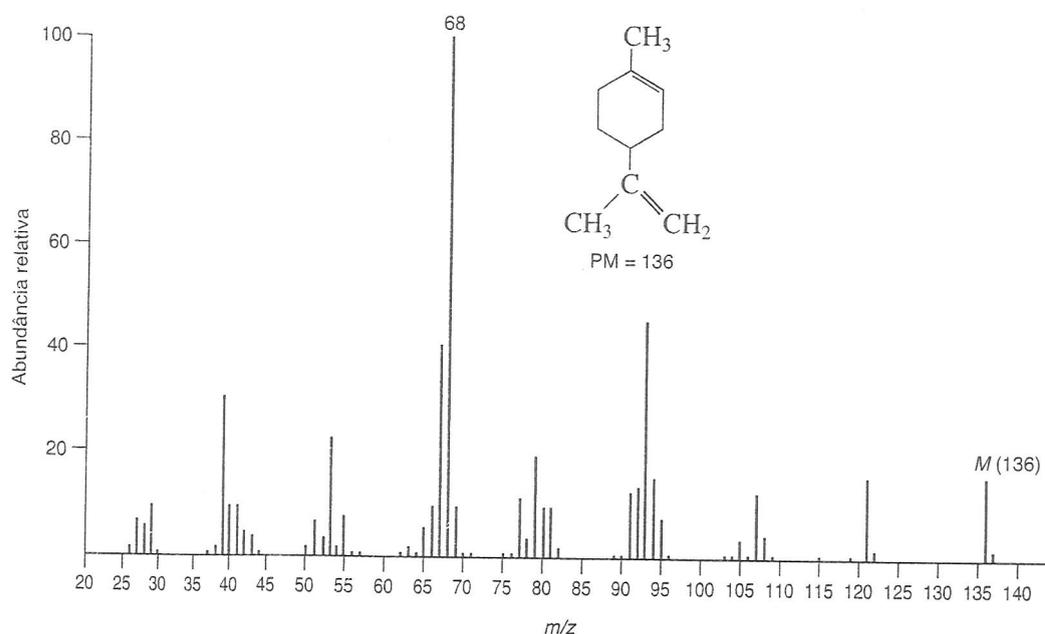


FIGURA 8.34 Espectro EI-MS do limoneno.

A simples presença de uma porção cicloexênica não garante que uma fragmentação retro Diels-Alder será observada no espectro de massa. Consideremos os espectros de massa da ionona α e β (Figura 8.35). O espectro da ionona α mostra, em geral, muito mais fragmentação e um pico em $m/z = 136$, em

particular, criado por uma fragmentação retro Diels-Alder do anel cicloexeno e por perda de isobuteno. A fragmentação retro Diels-Alder da ionona β deve gerar um pico em $m/z = 164$ da perda de eteno, mas o pico naquela posição é minúsculo. No caso da ionona β , a perda de um radical metila por meio de uma segmentação α adjacente à ligação dupla anelar produz um cátion alílico terciário relativamente estável. Essa fragmentação não está disponível na ionona α .

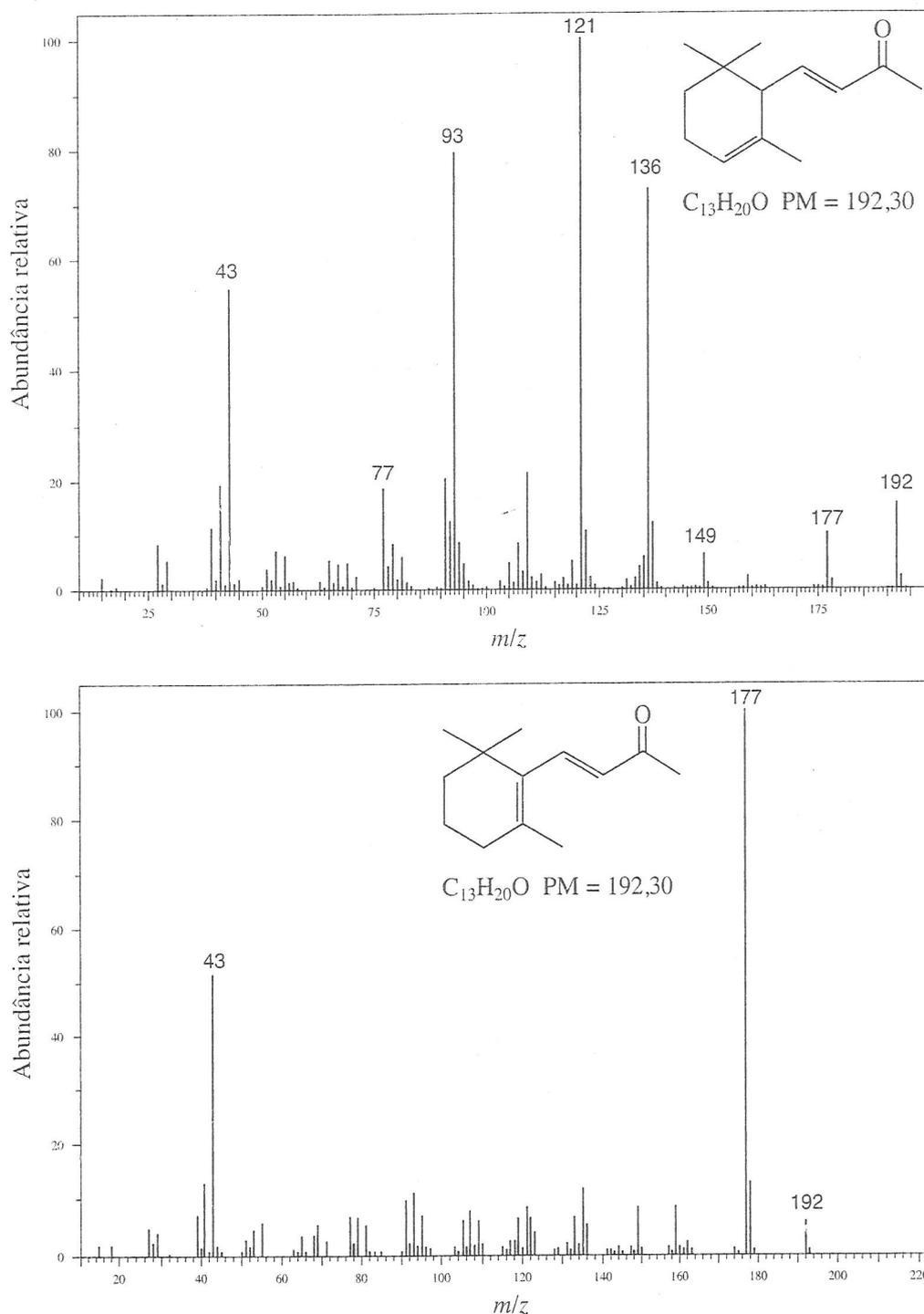


FIGURA 8.35 Espectros EI-MS das iononas α (acima) e β (abaixo).

L. Alcinos

Os espectros de massa de alcinos são muito semelhantes aos dos alcenos. Os picos de íon molecular costumam ser bem intensos e, em geral, têm padrões de fragmentação parecidos com os dos alcenos. Como se pode ver no espectro de massa do 1-pentino (Figura 8.36), uma fragmentação importante é a perda de um radical etila por meio de uma segmentação α para produzir o íon propargila ($m/z = 39$). Do mesmo modo, a perda de um radical metila em uma segmentação α do 2-pentino produz um cátion propargílico estabilizado por ressonância em ($m/z = 53$) (Figura 8.37). Outro modo importante de fragmentar alcinos terminais é pela perda do hidrogênio terminal, produzindo um pico $M - 1$ forte, que aparece como o pico-base ($m/z = 67$) no espectro do 1-pentino.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Alcinos	
ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTO
M^+ forte	$m/z = 39$
	Pico $M - 1$ forte

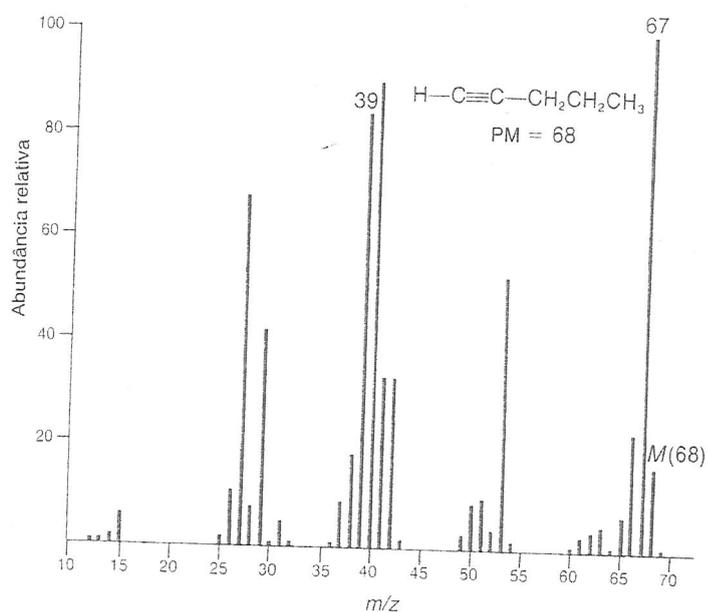


FIGURA 8.36 Espectro EI-MS do 1-pentino.

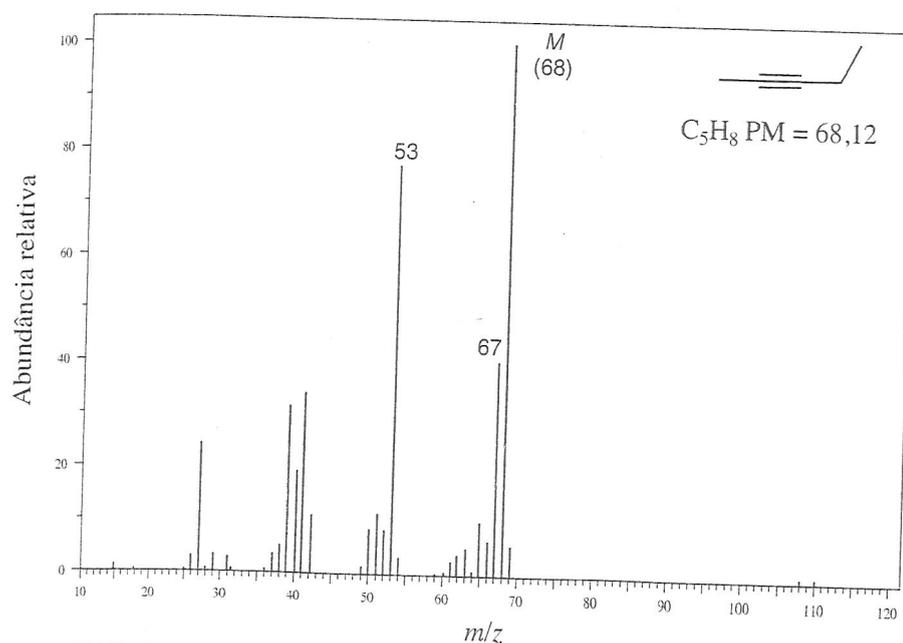


FIGURA 8.37 Espectro EI-MS do 2-pentino.

M. Hidrocarbonetos aromáticos

Os espectros de massa da maioria dos hidrocarbonetos aromáticos mostram picos de íon molecular muito intensos. Como se vê no espectro de massa do benzeno (Figura 8.38), fragmentar o anel benzênico exige uma boa quantidade de energia. Tal fragmentação não é observada de maneira significativa. No espectro de massa do tolueno (Figura 8.39), a perda de um átomo de hidrogênio do íon molecular gera um pico forte em $m/z = 91$. Embora haja suposições de que esse pico de íon fragmento se deve ao carbocátion benzila ($C_6H_5CH_2^+$), experimentos com marcação isotópica sugerem que o carbocátion benzila, na verdade, rearranja-se para formar o *íon tropílio*, com deslocalização aromática ($C_7H_7^+$, Figura 8.43). Quando um anel benzênico contém cadeias laterais maiores, o modo de fragmentação preferível é a quebra da cadeia lateral para formar, inicialmente, um *cátion benzila*, que se arranja de maneira espontânea ao íon tropílio. Quando a cadeia lateral anexa a um anel benzênico contém três ou mais carbonos, podem-se observar íons formados por rearranjo de McLafferty.

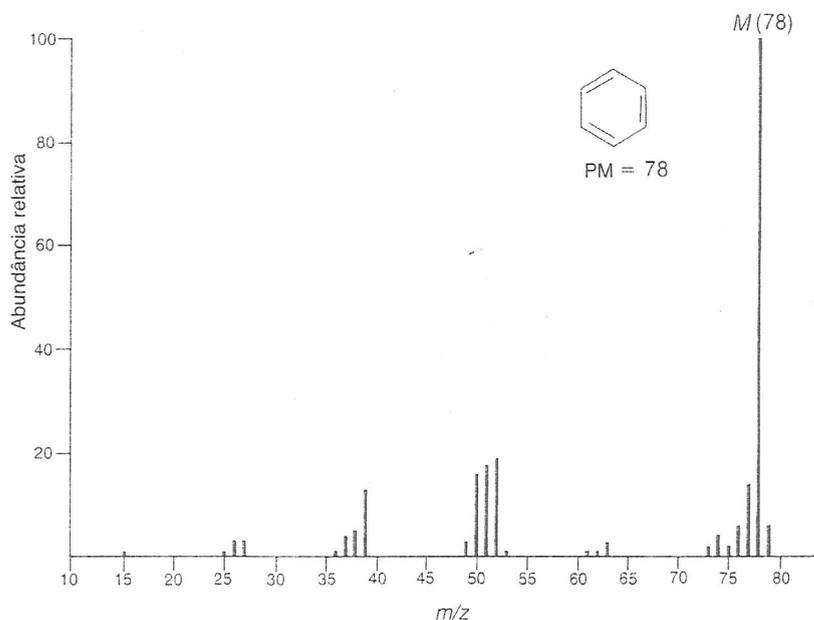


FIGURA 8.38 Espectro EI-MS do benzeno.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL – Hidrocarbonetos aromáticos

ÍON MOLECULAR

M^+ forte

ÍONS FRAGMENTO

$m/z = 91$

$m/z = 92$

Os espectros de massa dos isômeros do xileno (Figuras 8.40 e 8.41, por exemplo) apresentam um pico médio em $m/z = 105$, que se deve à perda de um átomo de hidrogênio e à formação do íon metiltropílio. Mais importante ainda, o xileno perde um grupo metila para formar o tropílio ($m/z = 91$). Os espectros de massa de anéis aromáticos *orto*, *meta* e *para*-dissubstituídos são essencialmente idênticos. Como resultado, o padrão de substituição de benzenos polialquilados não pode ser determinado por espectrometria de massa.

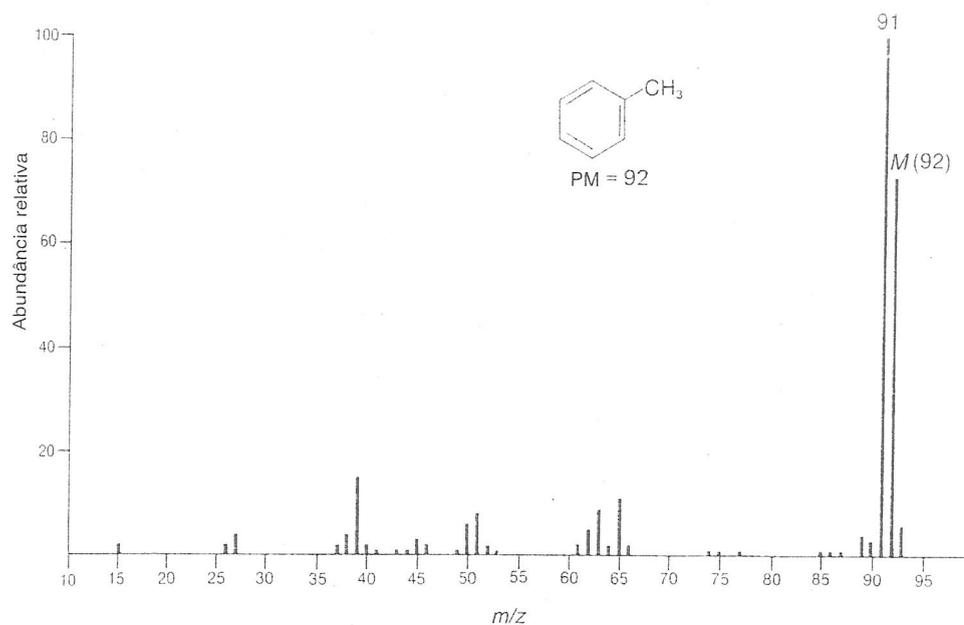


FIGURA 8.39 Espectro EI-MS do tolueno.

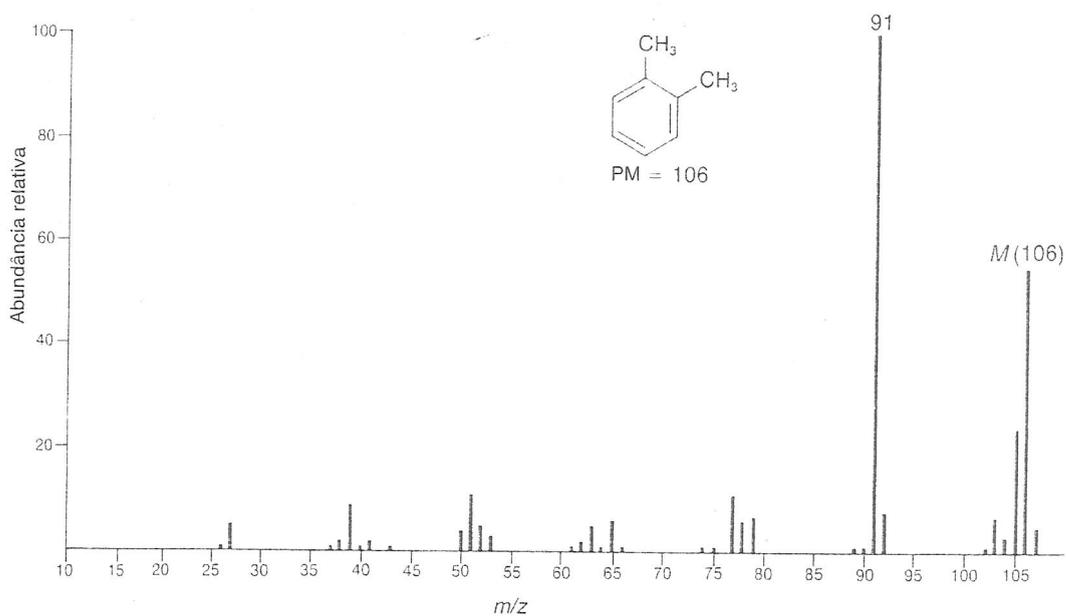


FIGURA 8.40 Espectro EI-MS do *ortho*-xileno.

A formação de um íon tropílio substituído é típica em benzenos alquil-substituídos. No espectro de massa do isopropilbenzeno (Figura 8.42), aparece um pico forte em $m/z = 105$, que pico corresponde à perda de um grupo metila para formar um íon tropílio metilsubstituído. O íon tropílio tem suas próprias fragmentações características e pode se fragmentar para formar o cátion ciclopentadienila aromático ($m/z = 65$) mais etino (acetileno). O cátion ciclopentadienila, por sua vez, pode se fragmentar para formar outro equivalente do etino e o cátion ciclopentenila aromático ($m/z = 39$) (Figura 8.43).

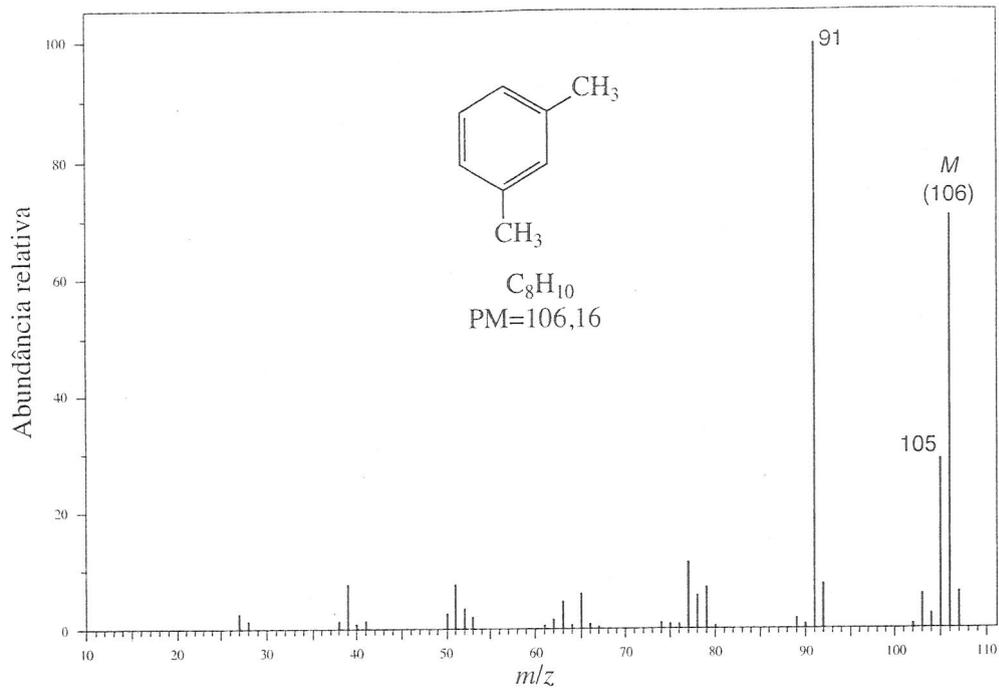


FIGURA 8.41 Espectro EI-MS do *meta*-xileno.

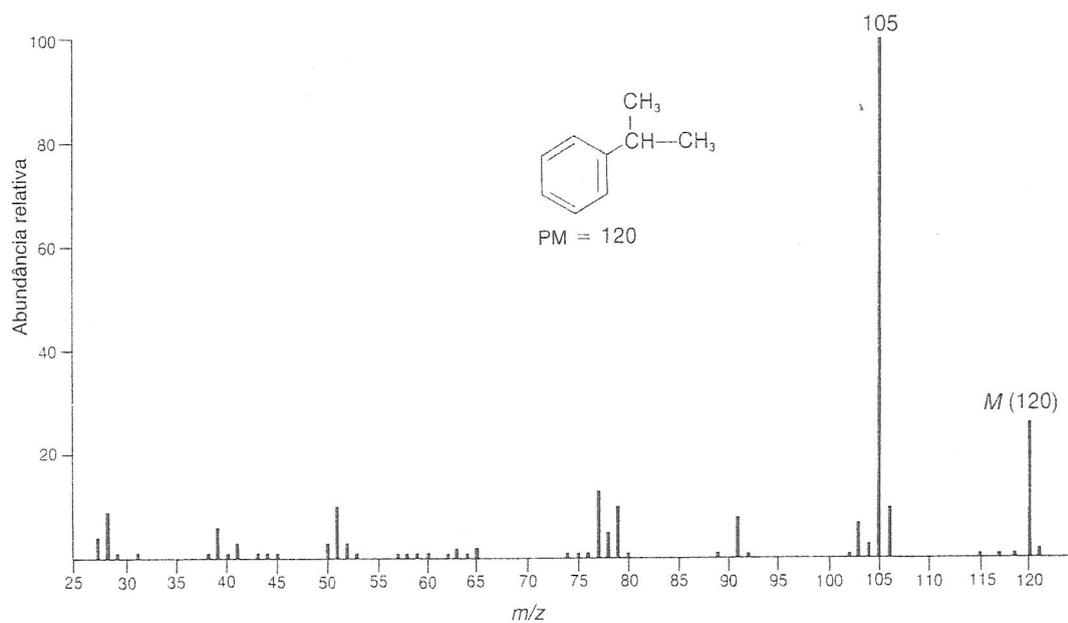


FIGURA 8.42 Espectro EI-MS do isopropilbenzeno (cumeno).

No espectro de massa do butilbenzeno (Figura 8.44), aparece um pico forte em virtude do tropílio em $m/z = 91$. Quando o grupo alquila anexo ao anel benzênico é um grupo propila ou maior, é provável que ocorra um rearranjo de McLafferty, produzindo um pico em $m/z = 92$. Na verdade, todos os alquilbenzenos com uma cadeia lateral de três ou mais carbonos e pelo menos um hidrogênio no carbono γ exibirão um pico em $m/z = 92$ em seus espectros de massa a partir do rearranjo de McLafferty. Usando o butilbenzeno como exemplo, esse rearranjo é ilustrado a seguir.

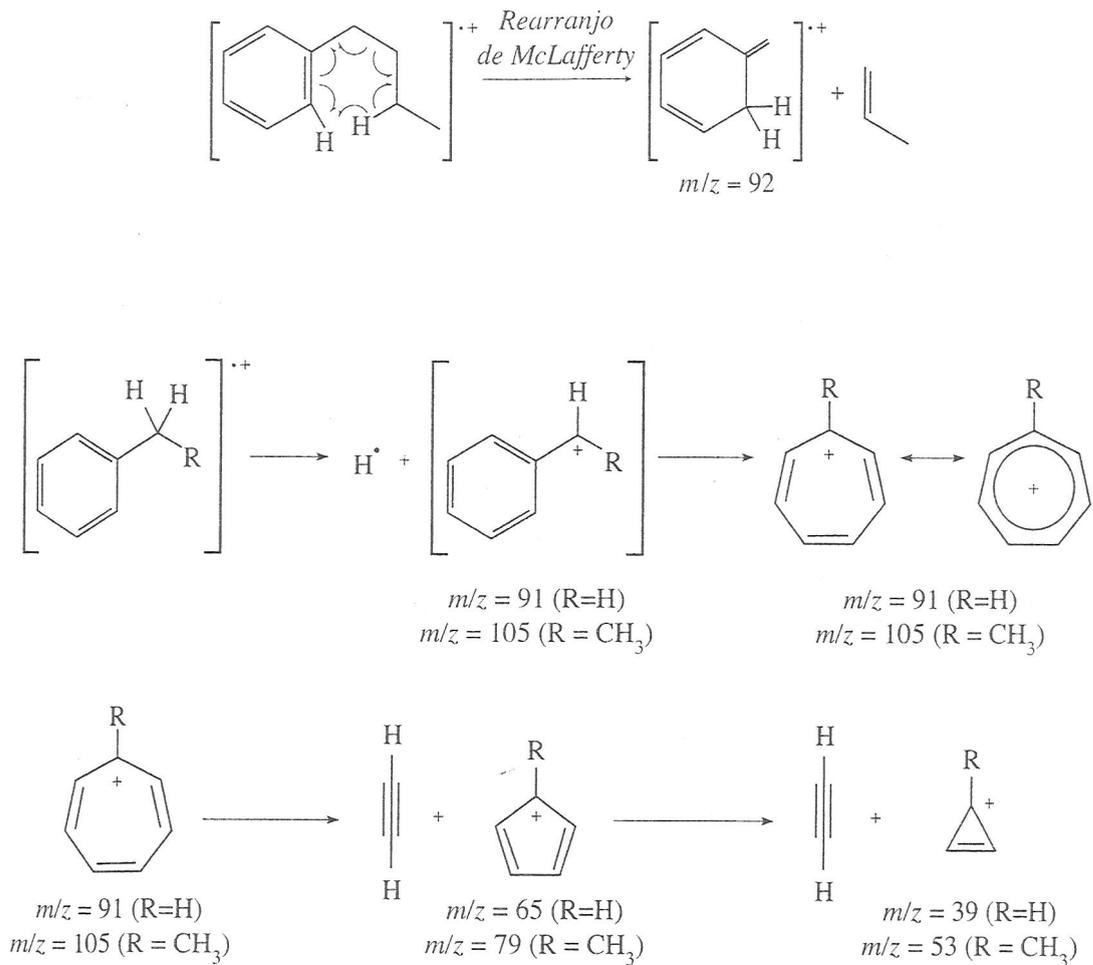


FIGURA 8.43 Formação e fragmentação do íon tropílio.

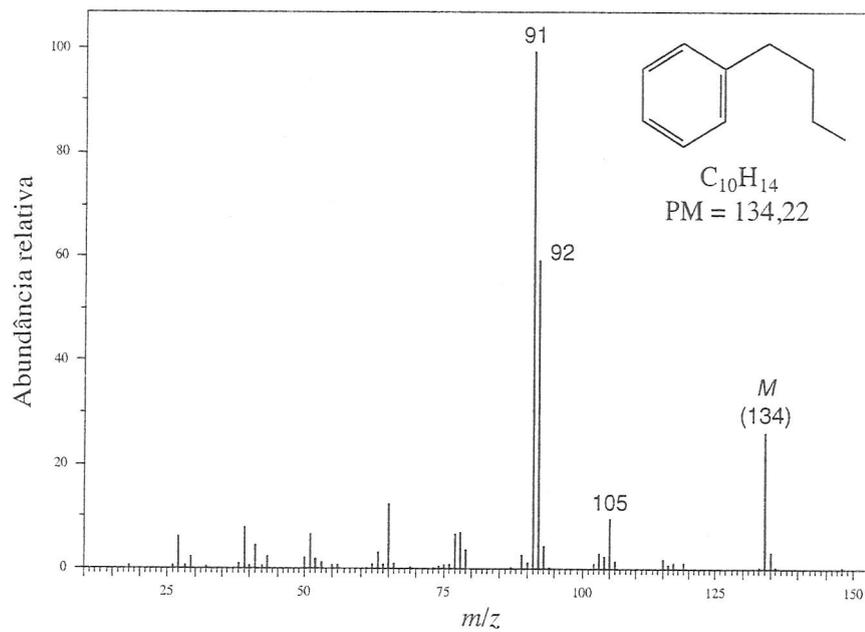


FIGURA 8.44 Espectro EI-MS do butilbenzeno.

N. Alcoóis e fenóis

A intensidade do pico do íon molecular no espectro de massa de um álcool primário ou secundário é normalmente bem baixa, e o pico do íon molecular é com frequência totalmente ausente no espectro de massa de um álcool terciário. Duas fragmentações comuns em alcoóis são segmentação α adjacente ao grupo hidroxila e desidratação.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Alcoóis	
ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTO
M^+ fraco ou ausente	Perda de grupo alquila $M - 18$

Todos os espectros de massa de isômeros do pentanol de cadeia linear – 1-pentanol (Figura 8.45), 2-pentanol (Figura 8.46) e 3-pentanol (Figura 8.47) – exibem picos de íon molecular muito fracos em $m/z = 88$, enquanto o íon molecular no espectro de massa do álcool terciário 2-metil-2-butanol (Figura 8.48) é totalmente ausente. A reação de fragmentação mais importante em alcoóis é a perda de um grupo alquila por segmentação α . Como visto anteriormente, o maior grupo alquila é, na maioria das vezes, prontamente perdido. No espectro do 1-pentanol (Figura 8.45), o pico em $m/z = 31$ deve-se à perda de um grupo butila para formar um íon $H_2C=OH^+$. O 2-pentanol (Figura 8.46) perde ou um grupo propila para formar o fragmento $CH_3CH=OH^+$ em $m/z = 45$ ou um radical metila para formar o pico relativamente pequeno em $m/z = 73$ correspondente a $CH_3CH_2CH_2CH=OH^+$. O 3-pentanol perde um radical etila para formar o íon $CH_3CH_2CH=OH^+$ em $m/z = 59$. A simetria do 3-pentanol significa que há duas trajetórias de segmentação α idênticas, deixando o pico correspondente a esse íon ainda mais prevalente. O 2-metil-2-butanol (Figura 8.48) passa por segmentação α para perder um radical metila de duas maneiras diferentes, criando um pico de tamanho considerável em $m/z = 73$, além do pico em $m/z = 59$ correspondente ao íon $(CH_3)_2C=OH^+$ formado pela perda de um radical etila.

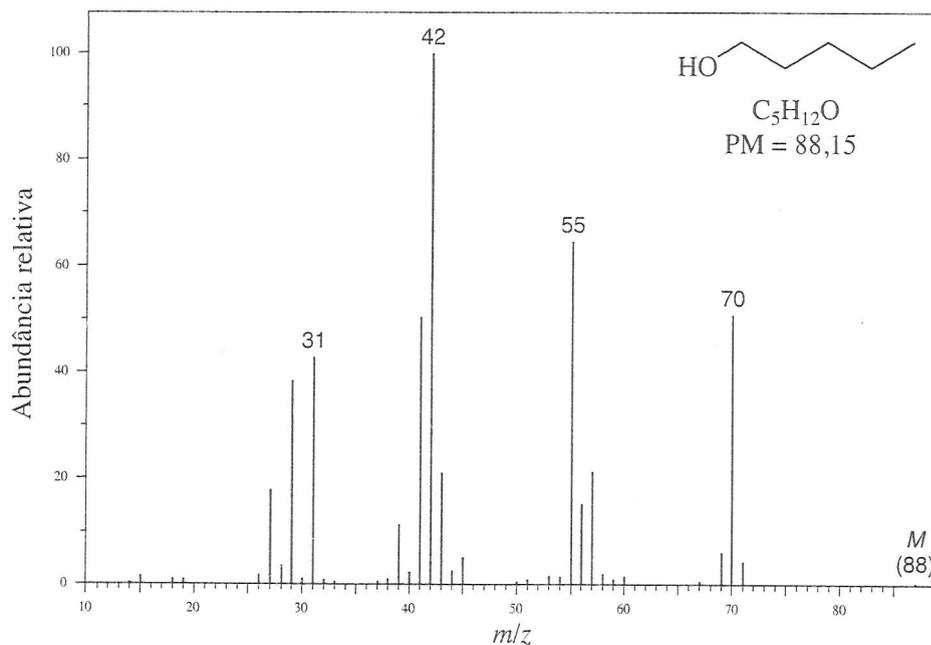


FIGURA 8.45 Espectro EI-MS do 1-pentanol.

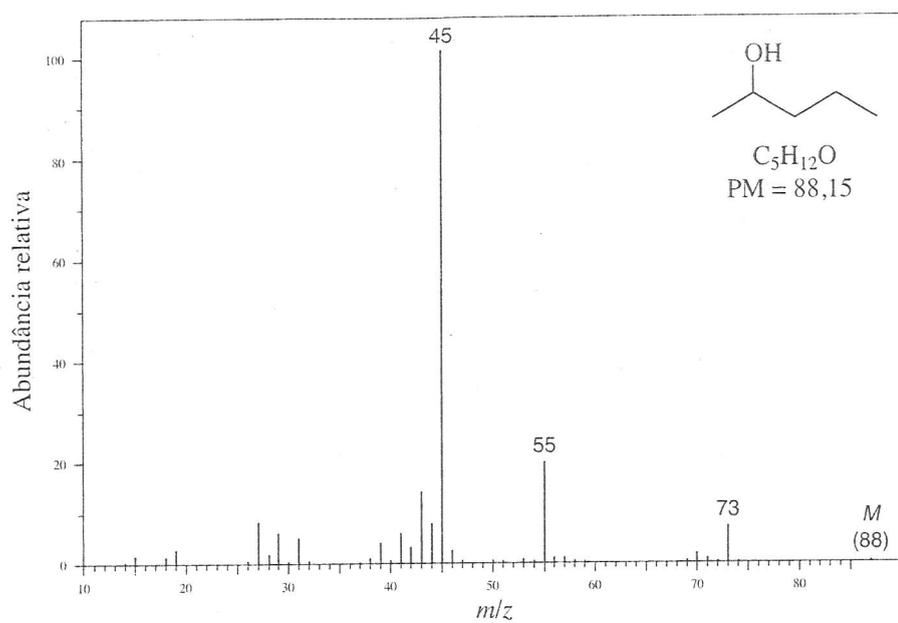


FIGURA 8.46 Espectro EI-MS do 2-pentanol.

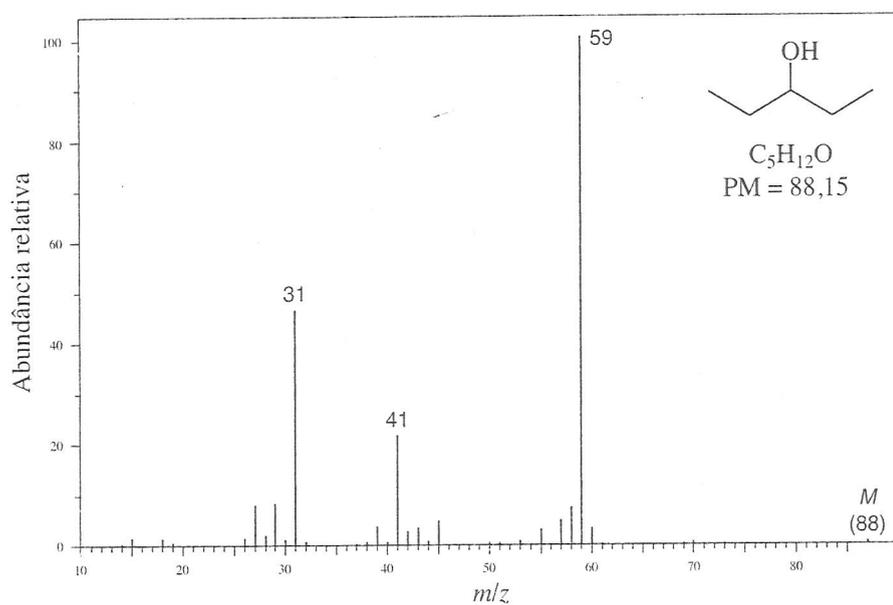


FIGURA 8.47 Espectro EI-MS do 3-pentanol.

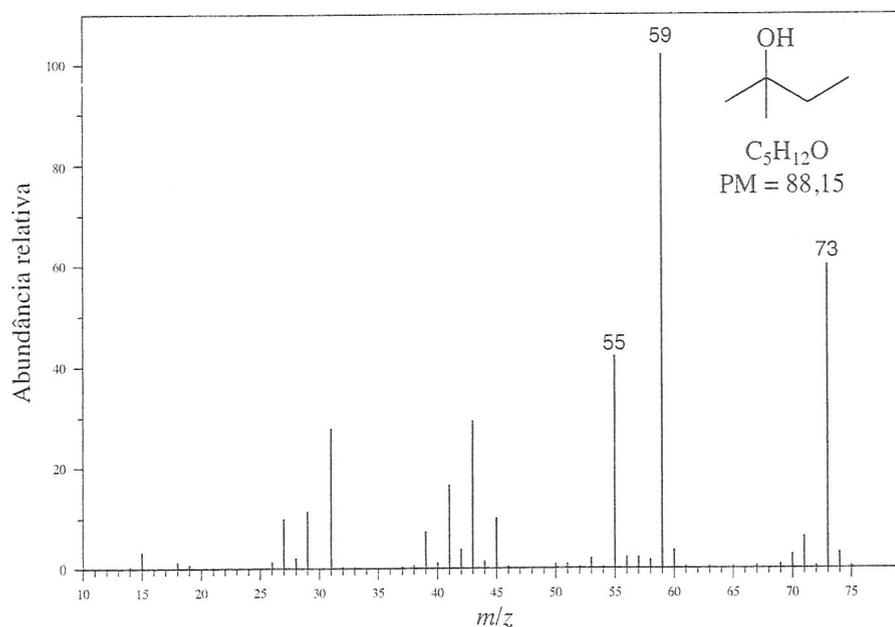
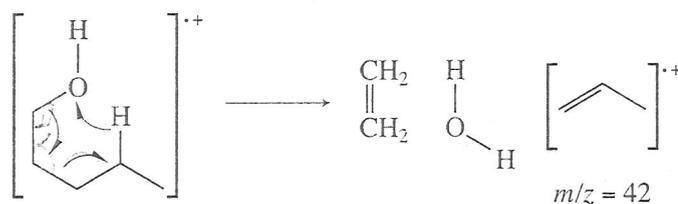


FIGURA 8.48 Espectro EI-MS do 2-metil-3-butanol.

Um segundo método comum de fragmentação envolve desidratação. A importância da desidratação aumenta conforme o comprimento da cadeia do álcool aumenta. Enquanto o pico de íon fragmento resultante da desidratação ($m/z = 70$) é muito intenso no espectro de massa do 1-pentanol, ele é bem fraco em outros isômeros do pentanol. A desidratação pode ocorrer por *desidratação térmica* antes da ionização ou por fragmentação do íon molecular. Desidratação térmica é especialmente problemática em amostras alcoólicas analisadas por GC-MS. A porta de injeção do cromatógrafo a gás é normalmente mantida a mais de 200 °C, e muitos alcoóis, principalmente terciários ou alílicos/benzílicos, se desidratam antes de as moléculas da amostra chegarem à coluna GC e certamente antes de as moléculas chegarem à fonte de ionização do espectrômetro de massa. A desidratação térmica é a *eliminação-1,2* de água. Entretanto, se as moléculas do álcool chegarem intactas à fonte de ionização, a desidratação do íon molecular ainda pode ocorrer, mas, nesse caso, é uma *eliminação-1,4* de água por um mecanismo cíclico:



Alcoóis com quatro ou mais carbonos podem passar por perda *simultânea* de água e etileno. Esse tipo de fragmentação não é importante para o 1-butanol, mas é responsável pelo pico-base em $m/z = 42$ no espectro de massa do 1-pentanol (Figura 8.45).



Alcoóis cíclicos podem passar por fragmentação por pelo menos três trajetórias diferentes, as quais são ilustradas para o caso do ciclohexanol na Figura 8.49. A primeira fragmentação é simplesmente uma segmentação α e perda de um átomo de hidrogênio para produzir um íon fragmento $M - 1$. A segunda trajetória de fragmentação começa com uma segmentação α inicial de uma ligação anelar adjacente ao carbono que contém a hidroxila, seguida por uma migração-1,5 de hidrogênio. Isso traz de volta o sítio radical para uma posição, estabilizada por ressonância, adjacente ao íon oxônio. Uma segunda segmentação α resulta na perda de um radical propila e na formação de um íon acroleína protonado com $m/z = 57$. Essa trajetória de fragmentação é praticamente idêntica à que ocorre em derivados da ciclohexanona (Seção 8.8Q). A terceira trajetória de fragmentação de alcoóis cíclicos é a desidratação por abstração de um átomo de hidrogênio de três ou quatro carbonos de distância (o átomo de hidrogênio em um estado de transição cíclico com cinco ou seis membros) para produzir um cátion radical bicíclico com $m/z = 82$. Pode-se observar um pico correspondente a cada um desses íons fragmentos no espectro de massa do ciclohexanol (Figura 8.50).

Em geral, alcoóis benzílicos exibem picos fortes de íon molecular. A sequência de reações apresentada adiante ilustra os principais modos de fragmentação deles. A perda de um átomo de hidrogênio do íon molecular leva a um íon hidroxitropílio ($m/z = 107$). O íon hidroxitropílio pode perder monóxido de carbono para formar um cátion cicloexadienila estabilizado por ressonância ($m/z = 79$). Esse íon pode eliminar hidrogênio molecular para criar um cátion fenila, $C_6H_5^+$, $m/z = 77$. Podem-se observar picos que surgem desses íons fragmentos no espectro de massa do álcool benzila (Figura 8.51).

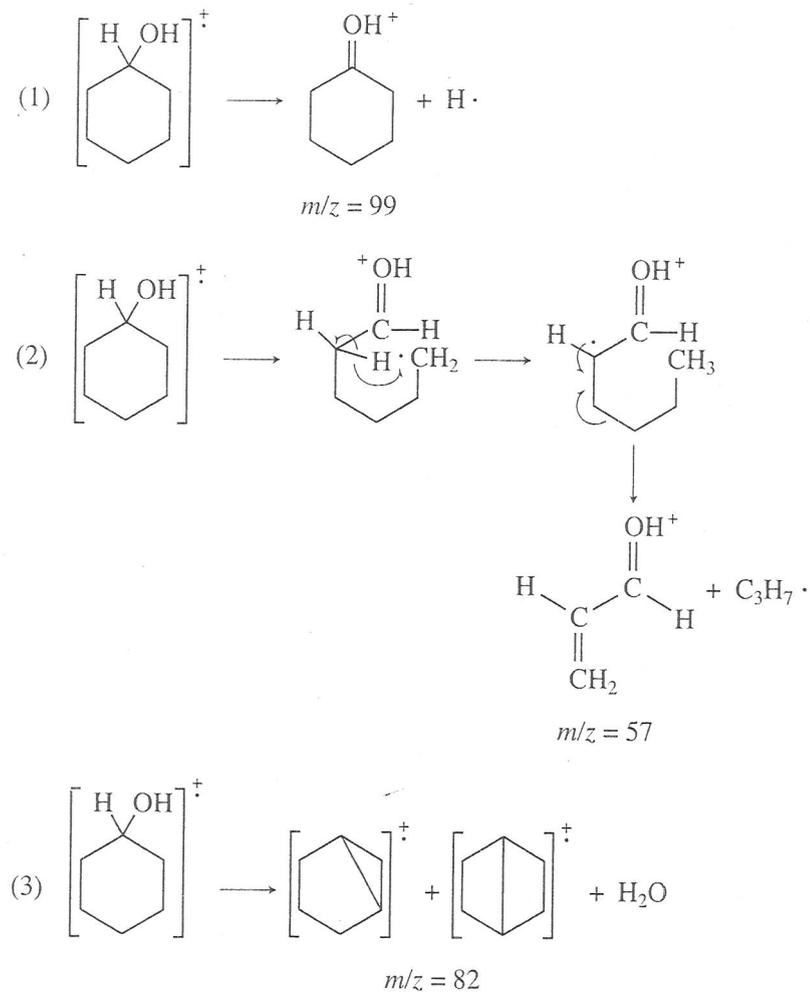


FIGURA 8.49 Trajetórias de fragmentação do cicloexanol.

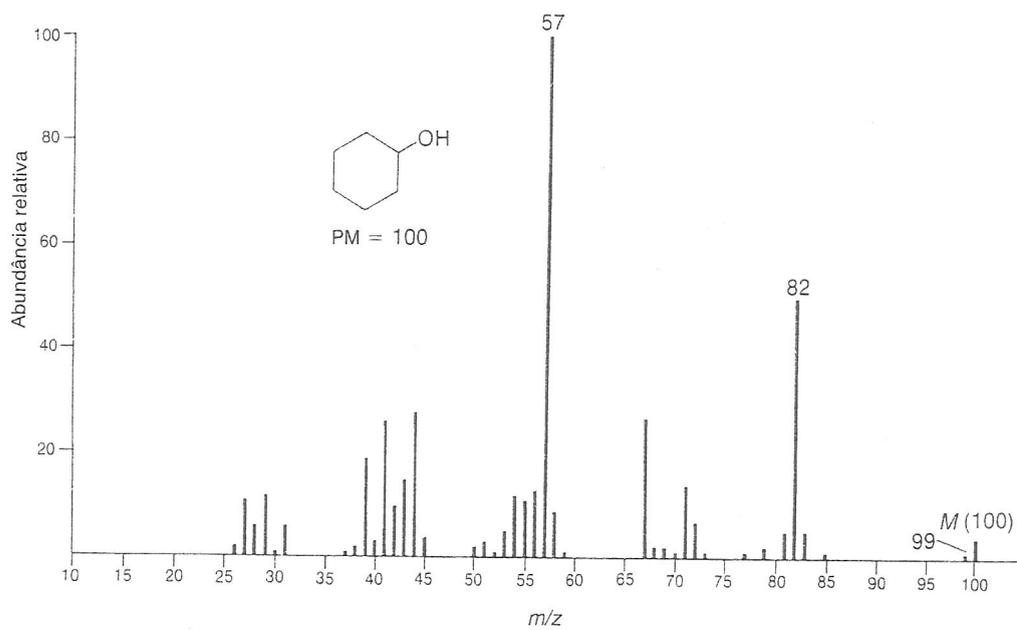


FIGURA 8.50 EI-MS do cicloexanol.

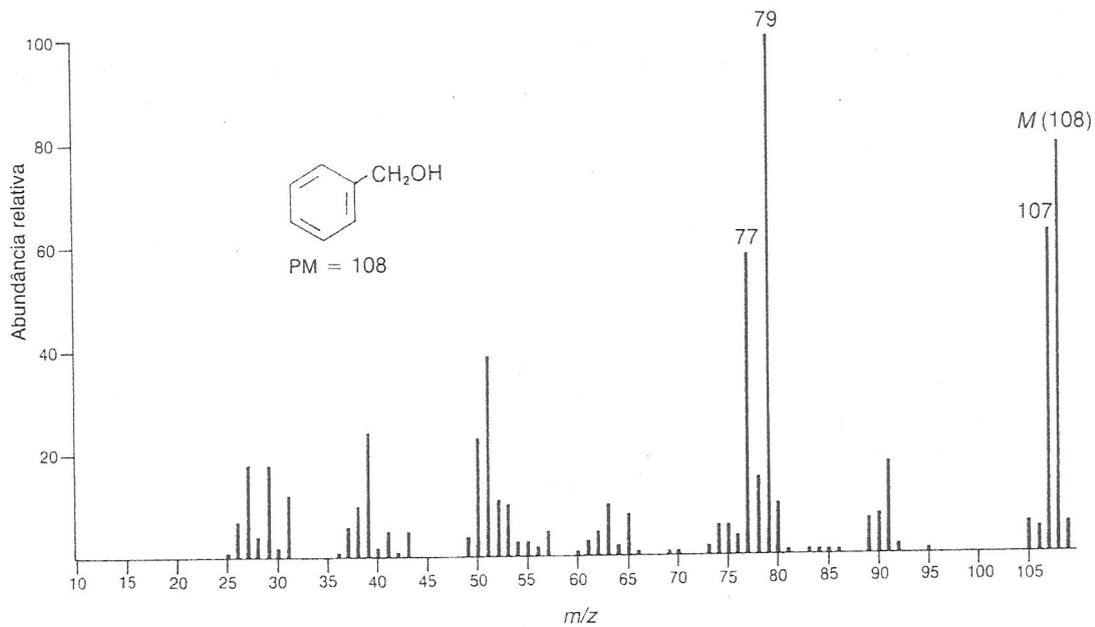
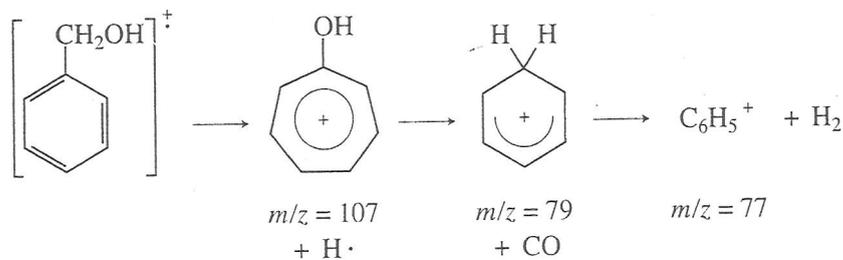


FIGURA 8.51 EI-MS do álcool benzílico.



Em geral, os espectros de massa de fenóis mostram picos fortes de íon molecular. Na verdade, o íon molecular em $m/z = 94$ é o pico-base na EI-MS do fenol (Figura 8.52). Modos preferíveis de fragmentação envolvem perda de um átomo de hidrogênio para criar um pico $M - 1$ (um pequeno pico em $m/z = 93$), perda de monóxido de carbono (CO) para produzir um pico em $M - 28$ ($m/z = 66$) e perda de um radical formila ($HCO\cdot$) para gerar um pico em $M - 29$. No caso do próprio fenol, isso cria o cátion ciclopentadienila aromático em $m/z = 65$. Em alguns casos, a perda de 29 unidades de massa pode ser sequencial: perda inicial de monóxido de carbono seguida por perda de um átomo de hidrogênio. O espectro de massa do *orto*-cresol (2-metilfenol) exibe um pico muito maior em $M - 1$ (Figura 8.53) do que o fenol não substituído. Note também os picos em $m/z = 80$ e $m/z = 79$ no espectro *o*-cresol, por perda de CO e radical formila, respectivamente.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Fenóis

ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTO
M^+ forte	$M - 1$
	$M - 28$
	$M - 29$

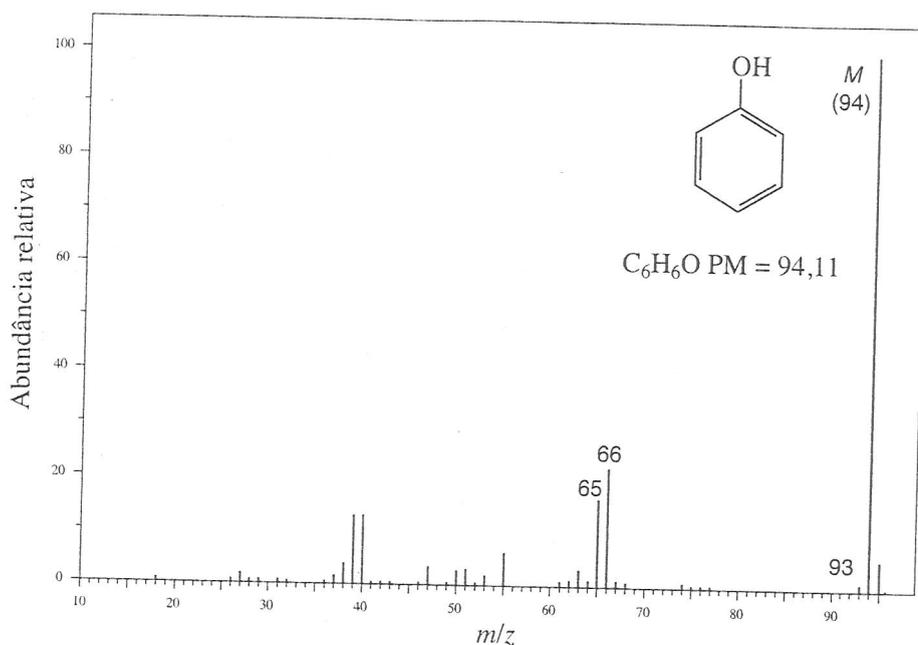
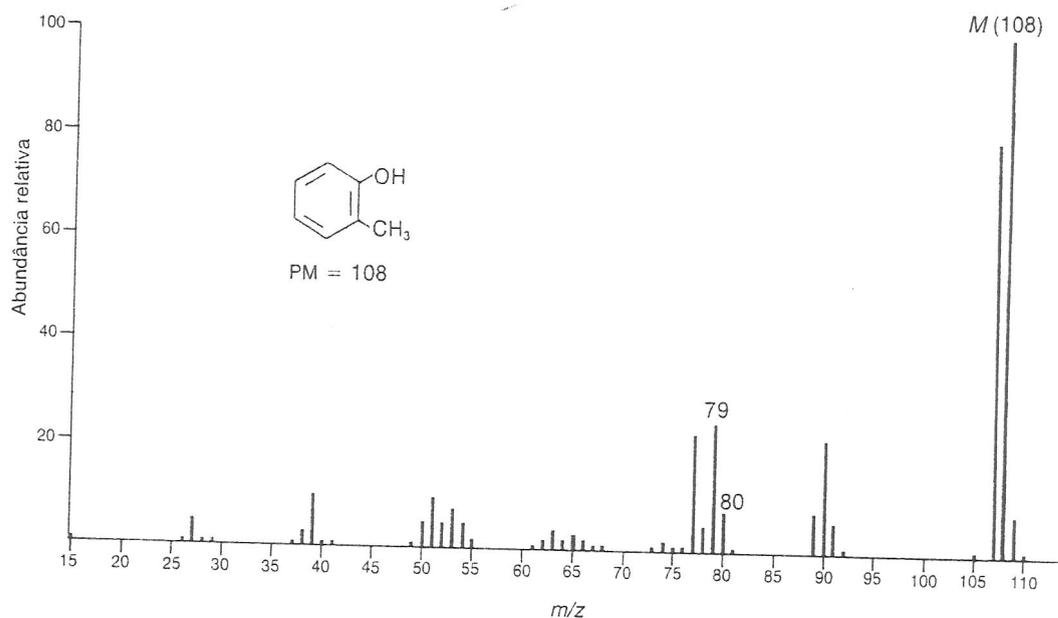


FIGURA 8.52 EI-MS do fenol.

FIGURA 8.53 EI-MS do 2-metilfenol (*orto*-cresol).

O. Éteres

Éteres alifáticos costumam exibir picos de íon molecular mais fortes do que alcoóis com os mesmos pesos moleculares. Todavia, os picos de íon molecular de éteres ainda são bem fracos. Os principais modos de fragmentação incluem segmentação α , formação de fragmentos carbocátions por meio de segmentação indutiva (segmentação β) e perda de radicais alcoxi.

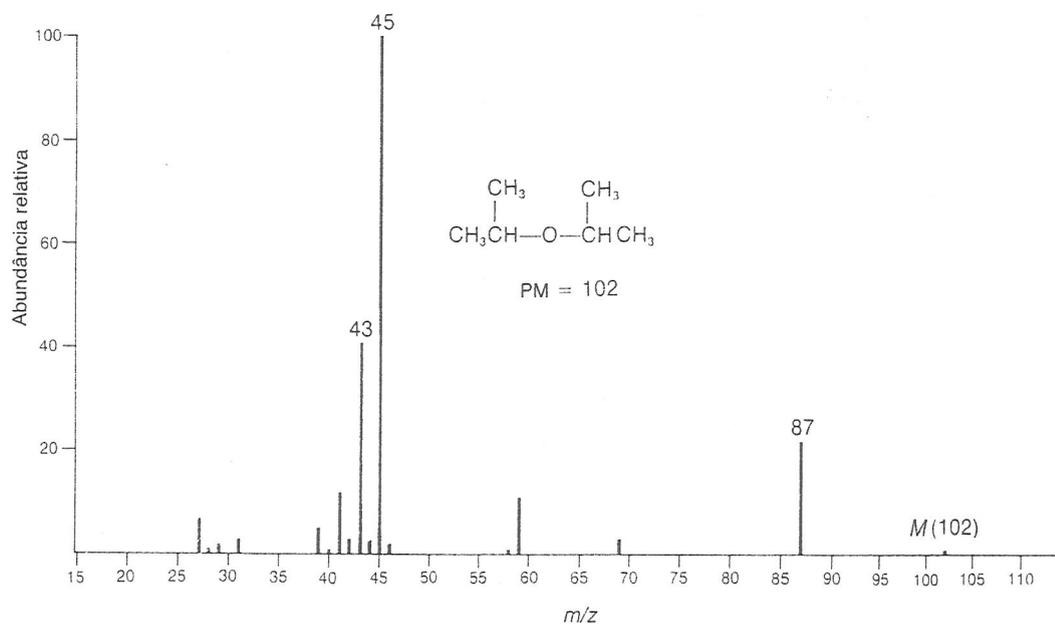
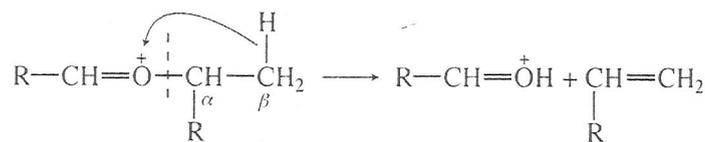
QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Éteres
ÍON MOLECULAR
 M^+ fraco, mas observável

ÍONS FRAGMENTOS

 Segmentação α
 $m/z = 43, 59, 73$ etc.

 $M - 31, M - 45, M - 59$ etc.

A fragmentação dos éteres é, de alguma forma, semelhante à dos alcoóis. No espectro de massa do éter de diisopropila (Figura 8.54), uma segmentação α gera um pico em $m/z = 87$ por causa da perda de um radical metila. Um segundo modo de fragmentação envolve quebra da ligação carbono-oxigênio de um éter para produzir um radical isopropoxila e um carbocátion isopropila. Esse tipo de segmentação no diisopropil éter é responsável pelo fragmento $C_3H_7^+$ em $m/z = 43$. Um terceiro tipo de fragmentação ocorre como reação de rearranjo de um dos íons fragmentos em vez de no próprio íon molecular. O rearranjo envolve a transferência de um hidrogênio β ao íon oxônio com formação concorrente de um alceno. Esse tipo de rearranjo é particularmente favorecido quando o carbono α do éter é ramificado. No caso do diisopropil éter, esse rearranjo gera um fragmento $(HO=CHCH_3)^+$ em $m/z = 45$.


FIGURA 8.54 EI-MS do diisopropil éter.

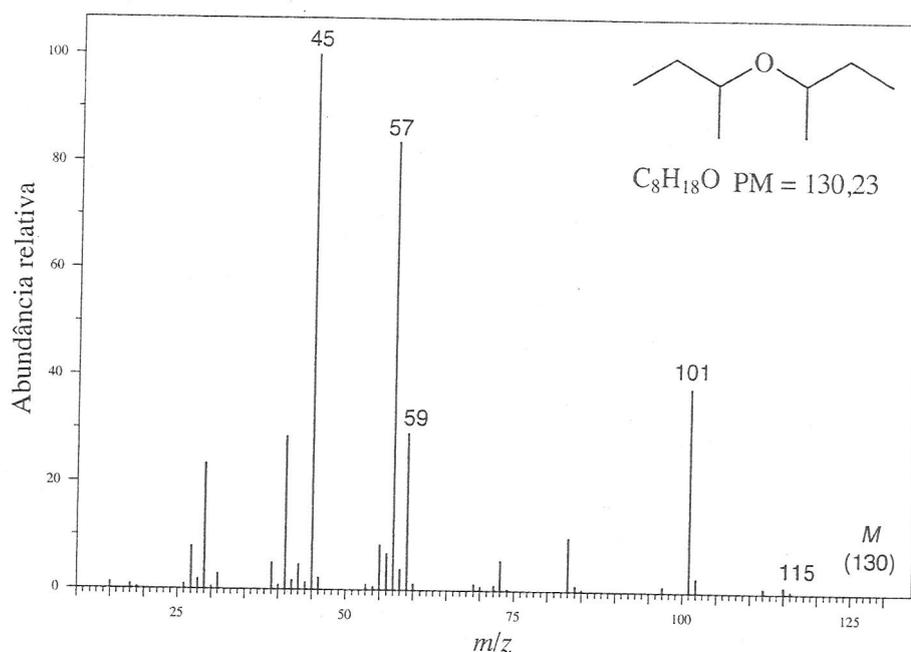


FIGURA 8.55 EI-MS do éter di-*sec*-butila.

O espectro de massa do éter di-*sec*-butila (Figura 8.55) mostra as mesmas fragmentações. Há, contudo, duas segmentações α possíveis nesse composto. A perda de um radical metila gera o pico $M - 15$ muito fraco em $m/z = 115$, mas a perda do radical etila, maior, gera o pico substancialmente maior em $m/z = 101$. Uma segmentação indutiva da ligação C—O cria um cátion *sec*-butila em $m/z = 57$. Novos rearranjos dos produtos da segmentação α produzem íons em $m/z = 45$ e 59, correspondentes a $(HO=CHCH_3)^+$ e $(HO=CHCH_2CH_3)^+$, respectivamente.

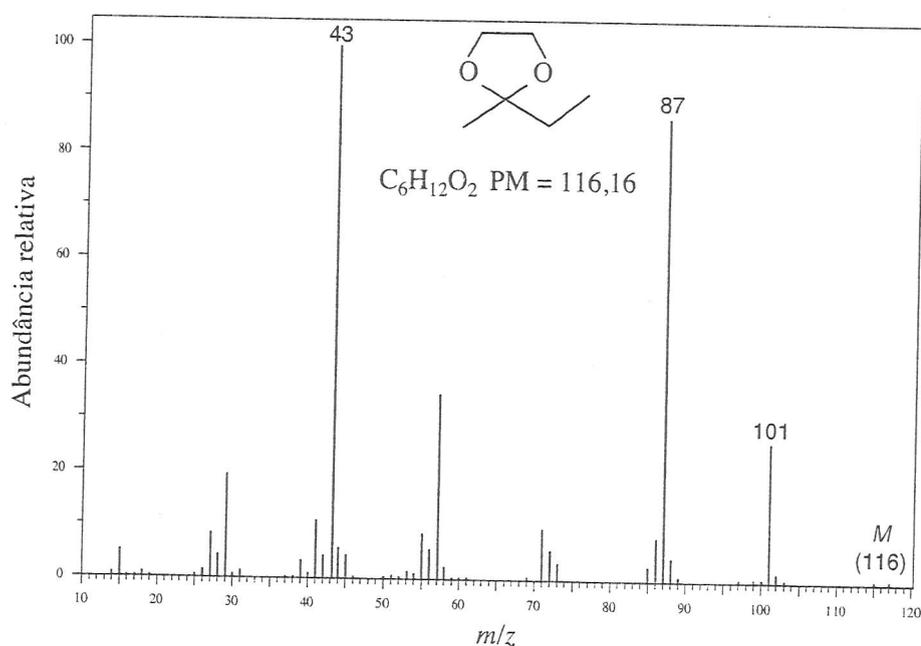


FIGURA 8.56 EI-MS do 2-etil-2-metil-1,3-dioxolano.

Acetais e cetais comportam-se de maneira muito semelhante aos éteres. Contudo, a fragmentação é ainda mais favorável em acetais e cetais do que em éteres, e assim o pico de íon molecular de um acetal ou cetal pode ser ou extremamente fraco ou totalmente ausente. Por exemplo, no espectro de massa do 2-etil-2-metil-1,3-dioxolano (o cetal etilênico da etil-metil cetona), não é visível o íon molecular (Figura 8.56).

O pico de massa mais alto está em $m/z = 101$, por causa da perda de um radical metila por meio de segmentação α , e uma segmentação α produz o pico grande em $m/z = 87$ formado pela perda de um radical etila. O pico-base no espectro encontra-se em $m/z = 43$, típico de 2-metil-1,3-dioxolanos.

Éteres aromáticos podem passar por reações de segmentação que envolvem perda do grupo alquila para formar íons $C_6H_5O^+$. Esses íons fragmentos, então, perdem monóxido de carbono para formar cátions ciclopentadienila ($C_5H_5^+$). Além disso, um éter aromático pode perder todo o grupo alcoxi para produzir cátions fenila ($C_6H_5^+$). O espectro de massa do éter 4-metilfenila etila (*p*-metifenetol) exibe um íon molecular forte em $m/z = 136$, assim como um fragmento em $m/z = 107$, por causa da perda de um radical etila (Figura 8.57). O pico-base em $m/z = 108$ surge da perda do eteno por um rearranjo de McLafferty.

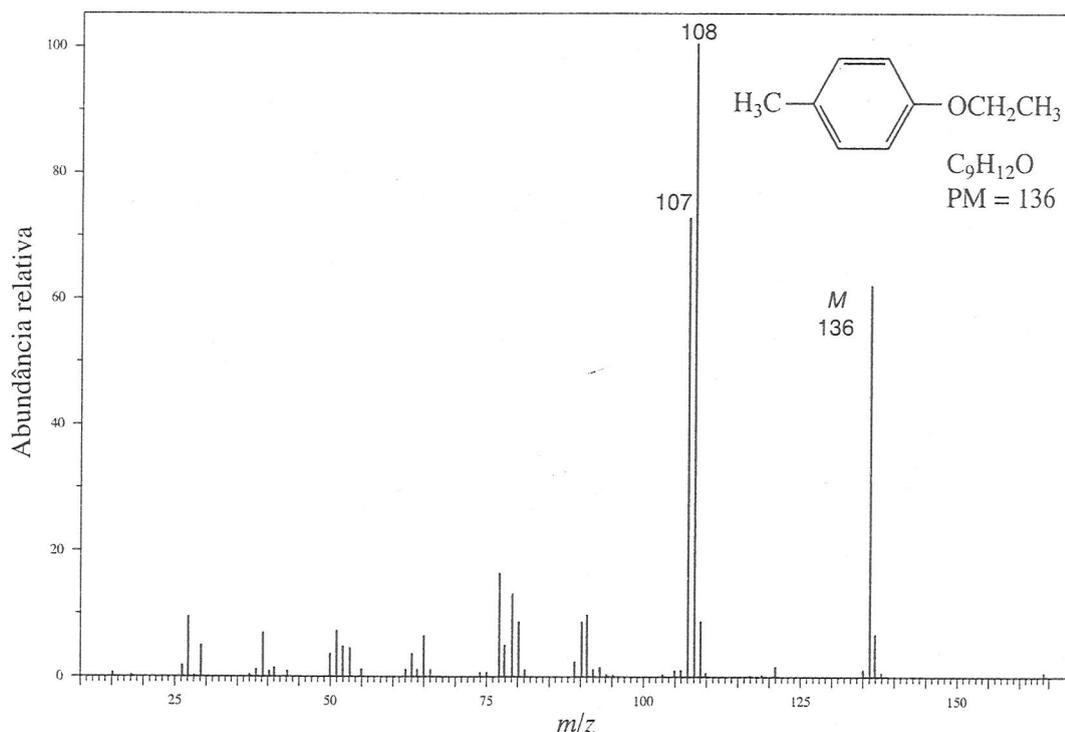


FIGURA 8.57 EI-MS do 4-metilfenetol.

P. Aldeídos

Em geral, é possível observar o pico de íon molecular de um aldeído alifático, apesar de às vezes estar bem fraco. Os principais modos de fragmentação são segmentação α e segmentação β . Se a cadeia de carbono ligada ao grupo carbonila contiver pelo menos três carbonos, é comum observar-se um rearranjo de McLafferty.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL - Aldeídos

ÍON MOLECULAR

M^+ fraco, mas observável (alifático)
 M^+ forte (aromático)

ÍONS FRAGMENTO

Alifático:
 $m/z = 29, M - 29,$
 $M - 43, m/z = 44$
 Aromático:
 $M - 1, M - 29$

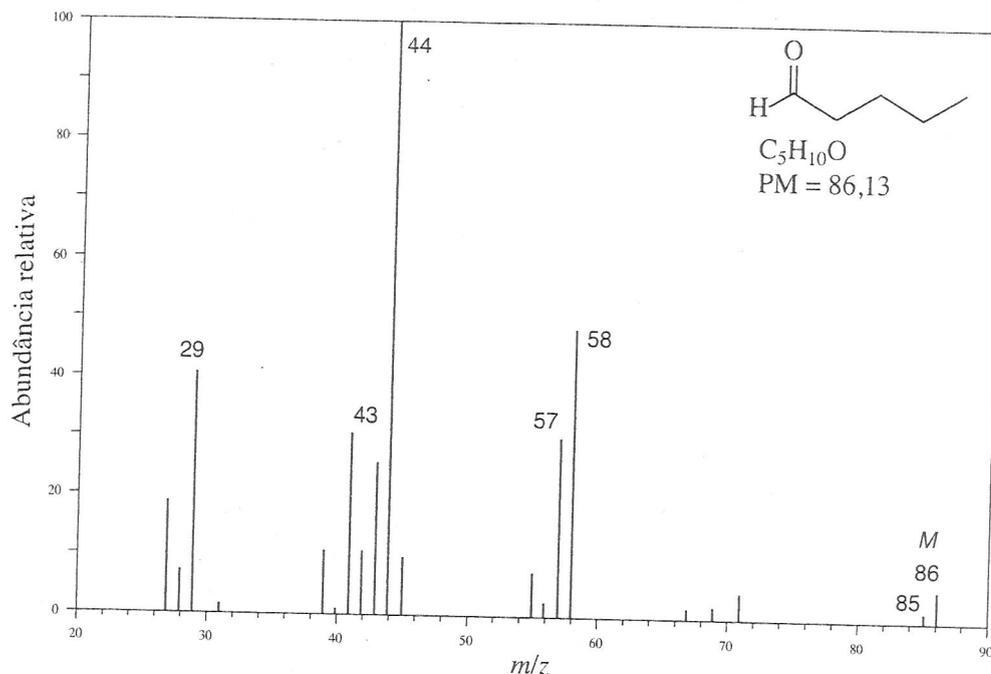
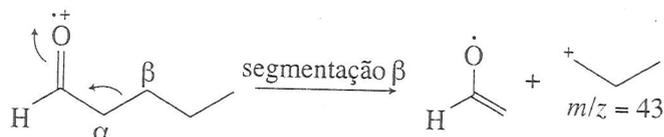


FIGURA 8.58 EI-MS do valeraldeído.

A aparência de um pico $M - 1$ devido à perda de um átomo de hidrogênio é muito característico de aldeídos. No espectro de massa do valeraldeído (Figura 8.58), o pico é observado em $m/z = 85$. O pico devido à formação de HCO^+ pode ser observado em $m/z = 29$; esse é também um pico muito característico nos espectros de massa de aldeídos. O segundo modo importante de fragmentação de aldeídos é conhecido como *segmentação β* (segmentação indutiva). No caso do valeraldeído, uma segmentação β cria um cátion propila ($m/z = 43$).



A terceira trajetória de fragmentação importante de aldeídos é o rearranjo de McLafferty. O íon fragmento formado nesse rearranjo tem $m/z = 44$ e é o pico-base no espectro do valeraldeído. O pico $m/z = 44$ é considerado bem característico de aldeídos. Assim como em todos os rearranjos de McLafferty, logicamente, esse ocorre apenas se a cadeia anexa ao grupo carbonila tiver três ou mais carbonos.

Aldeídos aromáticos também exibem picos de íon molecular intensos, e a perda de um átomo de hidrogênio por segmentação α é um processo muito favorável. O pico $M - 1$ resultante pode, em alguns casos, ser mais intenso do que o pico de íon molecular. No espectro de massa do benzaldeído (Figura 8.59), o pico $M - 1$ aparece em $m/z = 105$. Observe também o pico em $m/z = 77$, que corresponde ao cátion fenila formado pela perda do radical formila.

Q. Cetonas

Os espectros de massa de cetonas mostram um pico de íon molecular intenso. A perda de grupos alquila anexos ao grupo carbonila é um dos processos de fragmentação mais importantes. O padrão de fragmentação é semelhante ao dos aldeídos. A perda de grupos alquila por meio de segmentação α é um modo importante de fragmentação, e o maior dos dois grupos alquila anexos ao grupo carbonila é o mais provavelmente perdido, de acordo com a Regra de Stevenson. O íon formado por esse tipo de segmentação

α em cetonas (e aldeídos) é o íon acílio ($\text{RC}\equiv\text{O}^+$). No espectro de massa da 2-butanona (Figura 8.60), o pico em $m/z = 43$ é mais intenso do que o pico em $m/z = 57$, por causa da perda do grupo metila. Do mesmo modo, no espectro de massa da 2-octanona (Figura 8.61), é mais provável perder o grupo hexila, gerando um pico em $m/z = 43$, do que perder o grupo metila, que gera o pico fraco em $m/z = 113$.

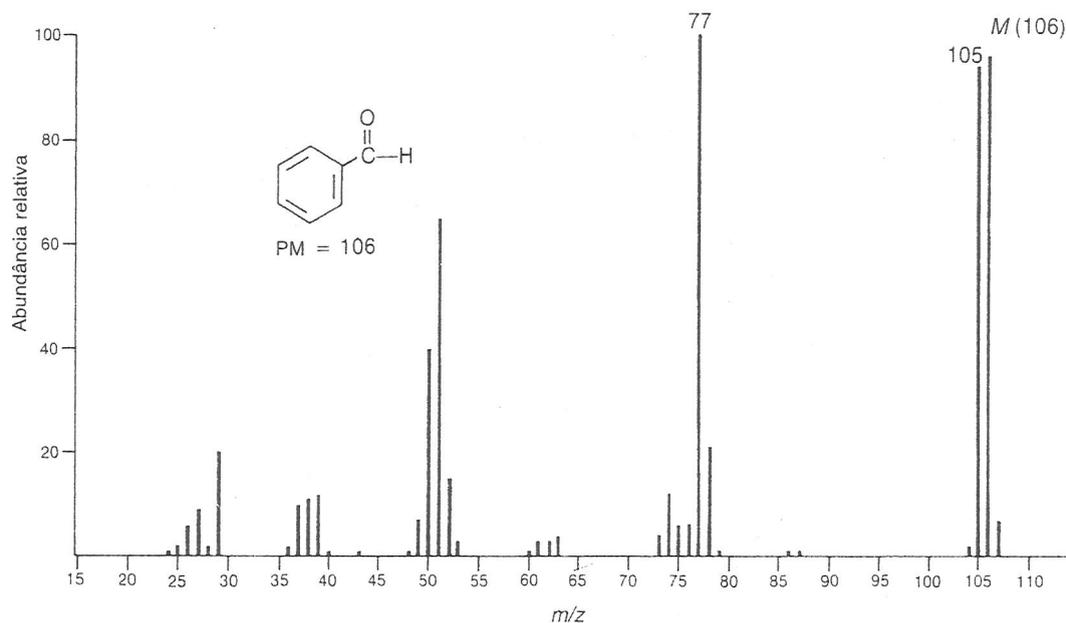


FIGURA 8.59 EI-MS do benzaldeído.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL – Cetonas

ÍON MOLECULAR

M^+ forte

ÍONS FRAGMENTO

Alifático:

$M - 15, M - 29, M - 43$ etc.

$m/z = 43$

$m/z = 58, 72, 86$ etc.

$m/z = 42, 83$

Aromático:

$m/z = 105, 120$

Quando o grupo carbonila de uma cetona tem anexo pelo menos um grupo alquila com três ou mais átomos de carbono de comprimento, é possível um rearranjo de McLafferty. O pico em $m/z = 58$ no espectro de massa da 2-octanona deve-se ao íon fragmento resultante desse rearranjo.

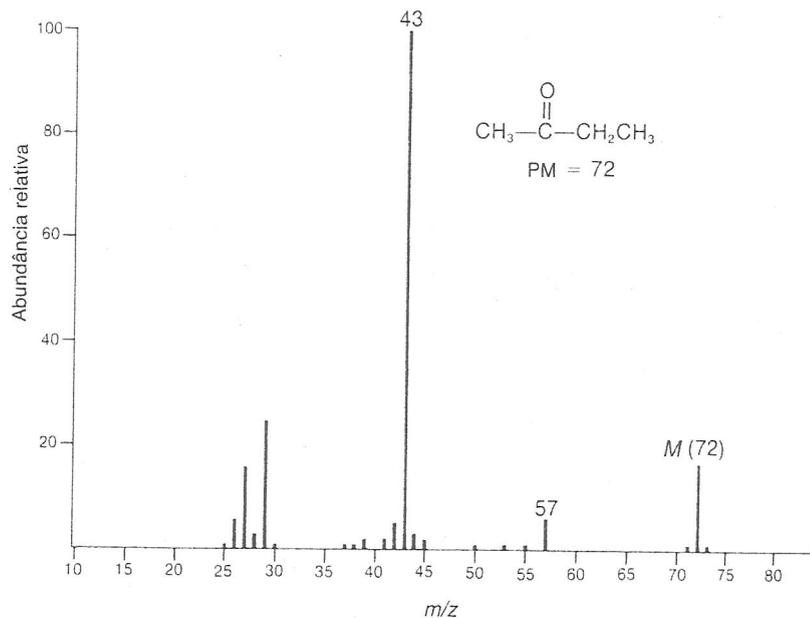


FIGURA 8.60 EI-MS da 2-butanona.

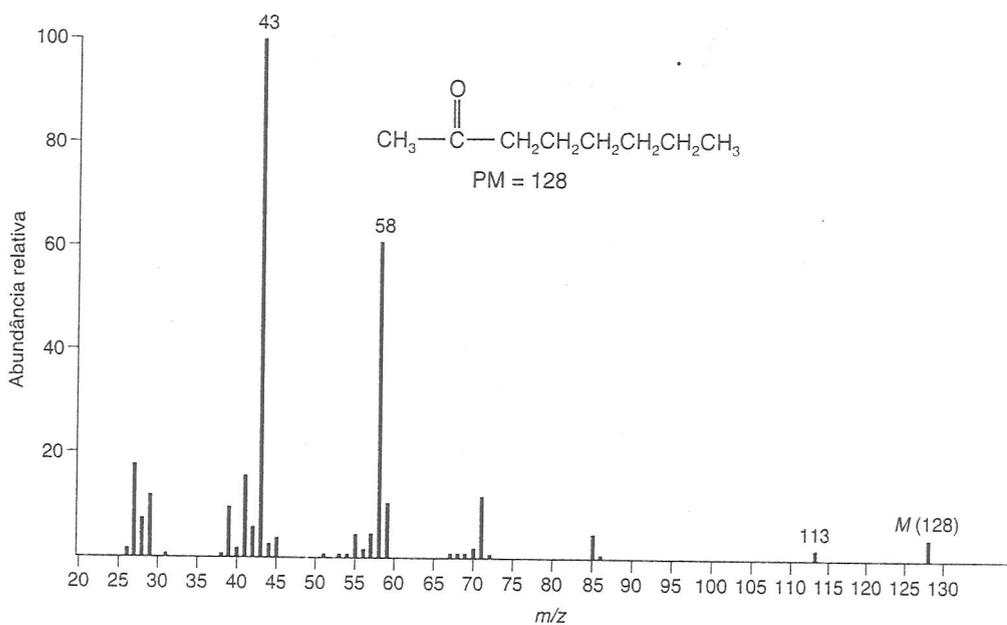


FIGURA 8.61 EI-MS da 2-octanona.

Cetonas cíclicas podem passar por uma variedade de processos de fragmentação e rearranjo. A seguir, apresentamos os esboços desses processos no caso da ciclohexanona. Um pico de íon fragmento correspondente a cada processo aparece no espectro de massa da ciclohexanona (Figura 8.62).

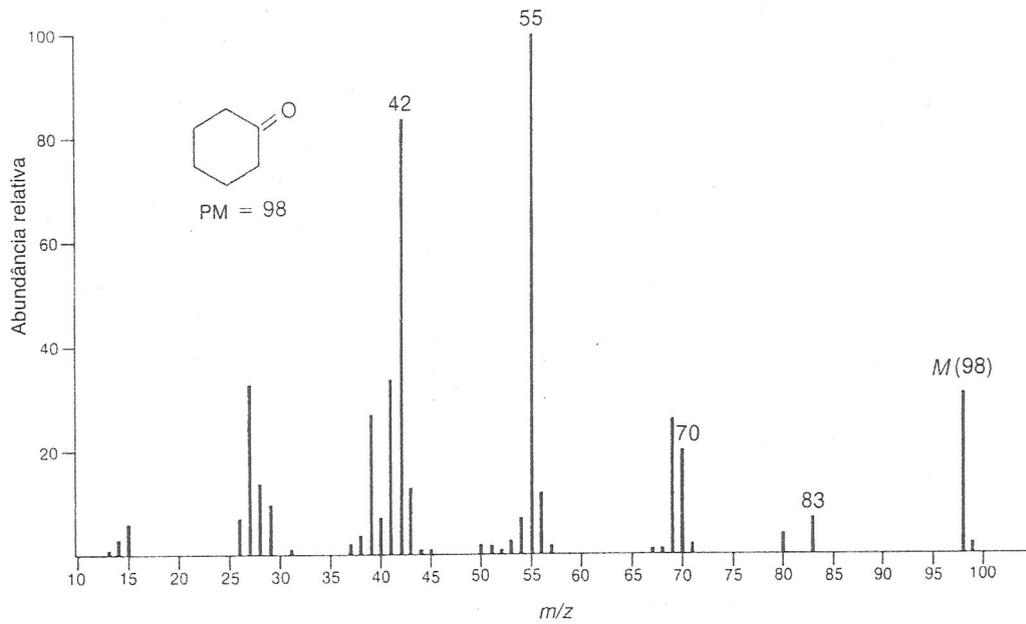
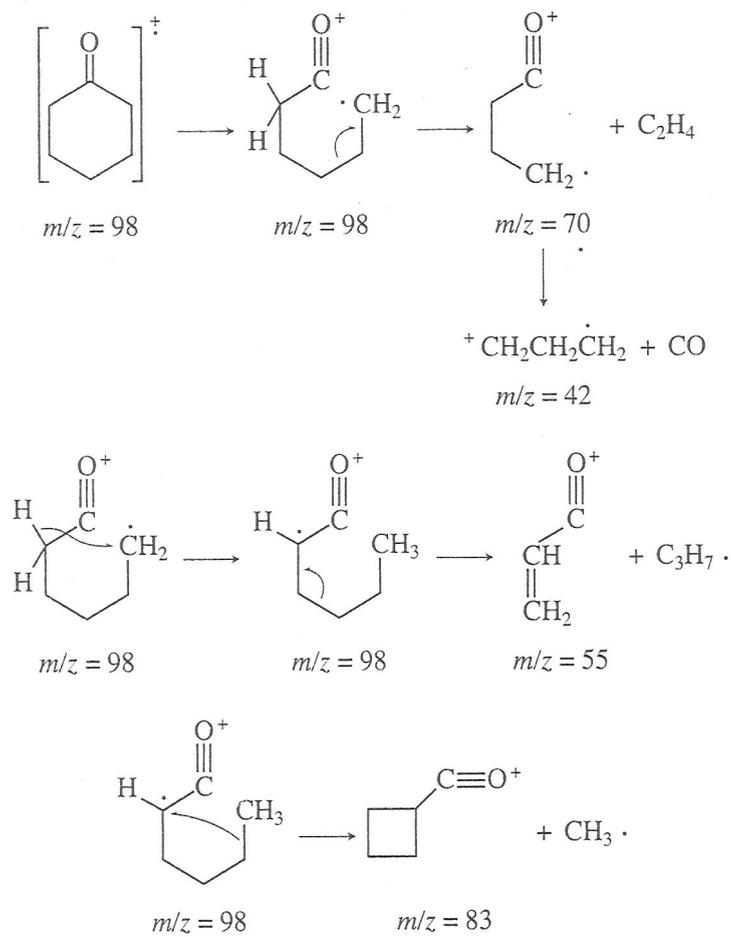


FIGURA 8.62 EI-MS da ciclohexanona.



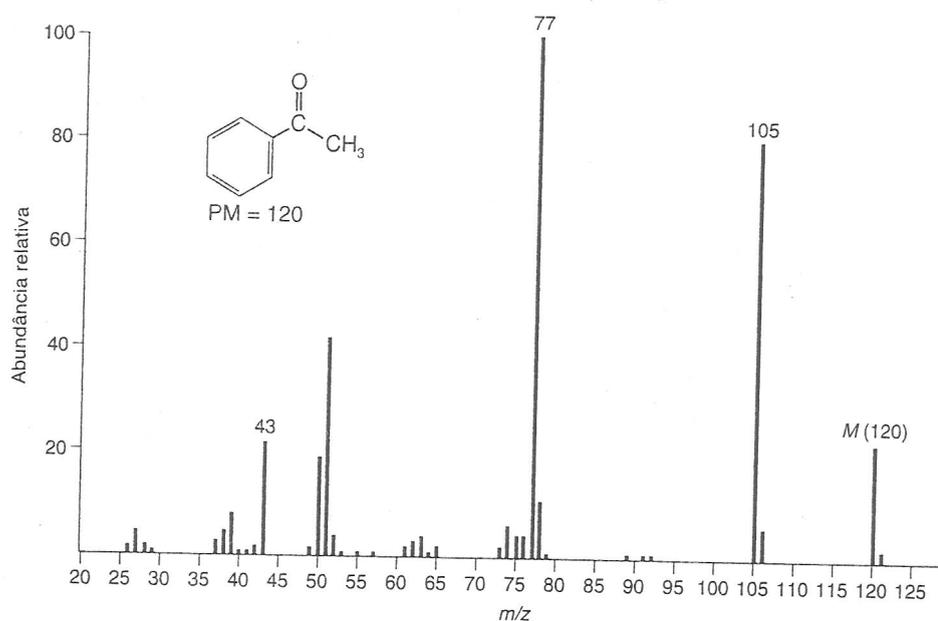
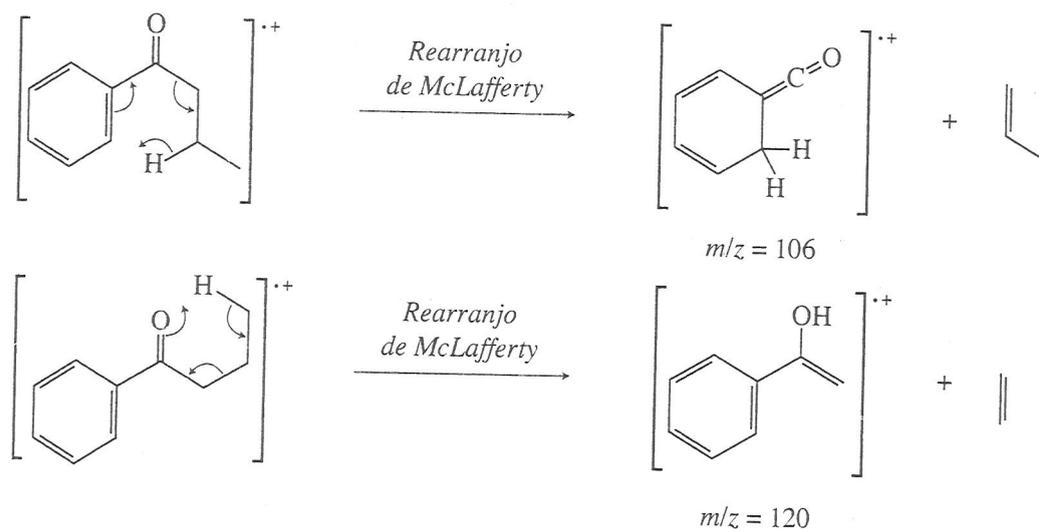


FIGURA 8.63 EI-MS da acetofenona.

Cetonas aromáticas passam por segmentação α para perder o grupo alquila e formar o íon fenilacílio ($C_6H_5CO^+$, $m/z = 105$). Esse íon pode passar por fragmentação secundária para formar monóxido de carbono, formando o íon $C_6H_5^+$ ($m/z = 77$). Esses picos aparecem com destaque no espectro de massa da acetofenona (Figura 8.63). Com grupos alquila maiores anexos ao grupo carbonila de uma cetona aromática, é provável que haja um rearranjo do tipo de McLafferty, que pode ocorrer na carbonila e no anel aromático. No caso da butirofenona, o rearranjo de McLafferty no anel aromático produz o fragmento visto em $m/z = 106$, e o rearranjo na carbonila produz o fragmento em $m/z = 120$ (Figura 8.64). O íon fragmento $m/z = 120$ pode passar por uma segmentação α adicional para produzir o íon $C_6H_5CO^+$ em $m/z = 105$.



R. Ésteres

Fragmentar ésteres é especialmente fácil, mas, em geral, podem-se observar picos de íon molecular fracos nos espectros de massa de ésteres de metila. Os ésteres de alcoóis maiores formam picos de íon molecular, e ésteres de alcoóis com mais de quatro carbonos podem formar picos de íon molecular que se frag-

mentam muito rapidamente para serem observados. A mais importante fragmentação de ésteres é uma segmentação α que envolve a perda do grupo alcoxi para formar o íon acílio correspondente, $\text{RC}\equiv\text{O}^+$. O pico de íon acílio aparece em $m/z = 71$ no espectro de massa do butirato de metila (Figura 8.65). Outro pico útil resulta da perda do grupo alquila do lado acil do éster, deixando um fragmento $\text{H}_3\text{C}-\text{O}-\text{C}=\text{O}^+$ que aparece em $m/z = 59$ no espectro de massa do butirato de metila. Outros picos de íon fragmento incluem o fragmento $^+\text{OCH}_3$ ($m/z = 31$) e o fragmento R^+ da porção acil da molécula de éster, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2^+$ no caso do butirato de metila, em $m/z = 43$.

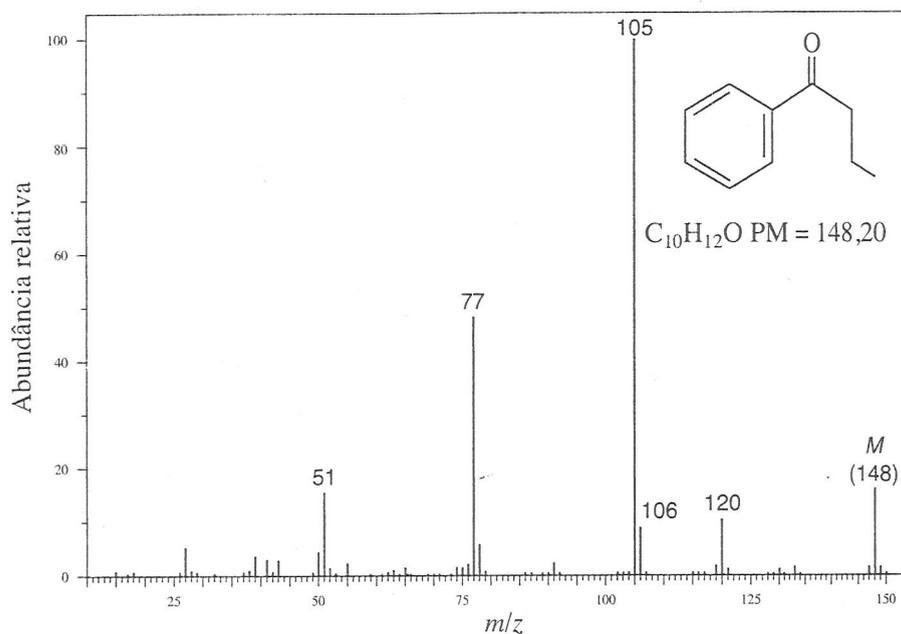


FIGURA 8.64 EI-MS da butirofenona.

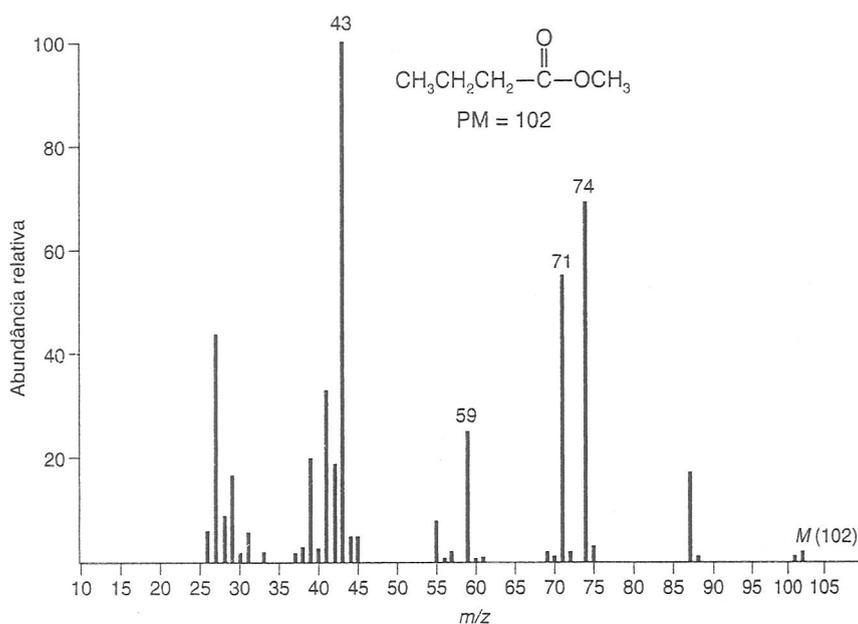


FIGURA 8.65 EI-MS do butirato de metila.

mentam muito rapidamente para serem observados. A mais importante fragmentação de ésteres é uma segmentação α que envolve a perda do grupo alcoxi para formar o íon acílio correspondente, $RC\equiv O^+$. O pico de íon acílio aparece em $m/z = 71$ no espectro de massa do butirato de metila (Figura 8.65). Outro pico útil resulta da perda do grupo alquila do lado acil do éster, deixando um fragmento $H_3C-O-C\equiv O^+$ que aparece em $m/z = 59$ no espectro de massa do butirato de metila. Outros picos de íon fragmento incluem o fragmento $^+OCH_3$ ($m/z = 31$) e o fragmento R^+ da porção acil da molécula de éster, $CH_3CH_2CH_2^+$ no caso do butirato de metila, em $m/z = 43$.

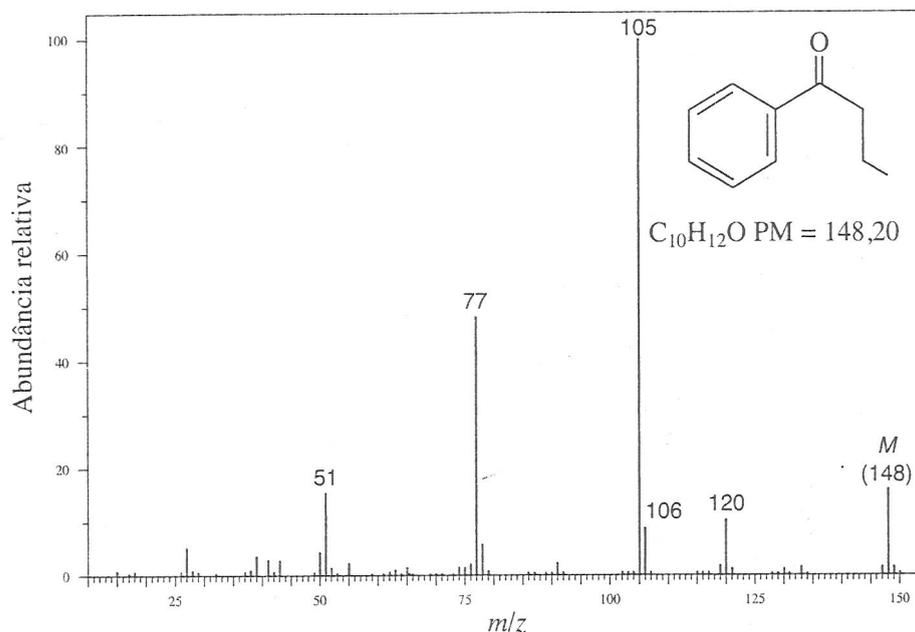


FIGURA 8.64 EI-MS da butirofenona.

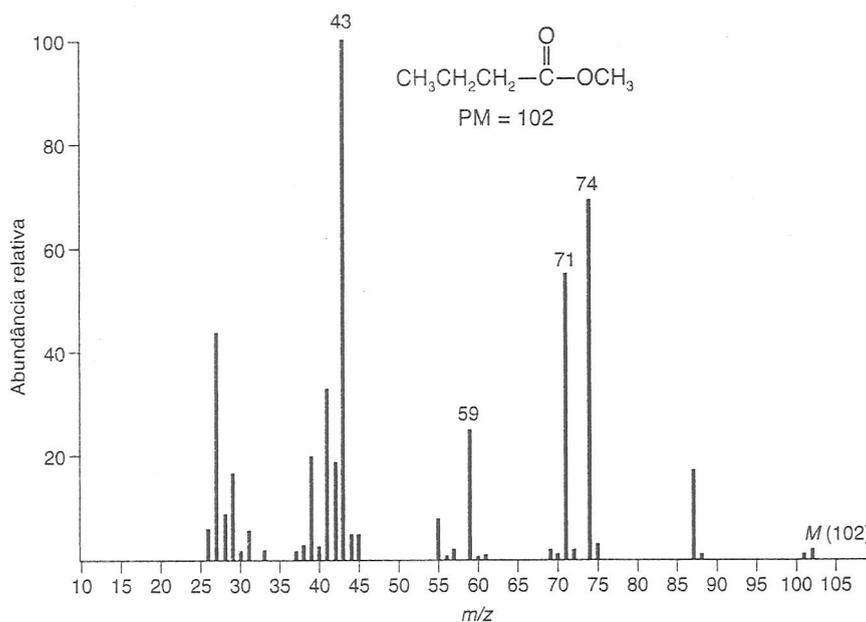


FIGURA 8.65 EI-MS do butirato de metila.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL – Ésteres	
ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTOS
M^+ fraco, mas em geral observável	Ésteres de metila: $M - 31, m/z = 59, 74$
	Ésteres mais altos: $M - 45, M - 59, M - 73$ $m/z = 73, 87, 101$ $m/z = 88, 102, 116$ $m/z = 61, 75, 89$ $m/z = 77, 105, 108$ $M - 32, M - 46, M - 60$

Outra fragmentação de ésteres importante é o rearranjo de McLafferty que produz o pico em $m/z = 74$ (em ésteres metilas). Ésteres de etila, propila, butila e alquila de cadeia maior também passam por segmentação α e rearranjos de McLafferty típicos de ésteres de metila. Além disso, esses ésteres podem passar por um rearranjo adicional da porção alcoxi do éster, que resulta em fragmentos que aparecem na série $m/z = 61, 75, 89$, e por aí vai. Mais adiante, ilustra-se esse processo para butirato de butila que é, em geral, denominado *rearranjo de McLafferty + 1* ou rearranjo de McLafferty com transferência dupla de hidrogênio (Figura 8.66). Vários outros picos no espectro de massa do butirato de butila são rapidamente atribuídos, considerando as fragmentações comuns. A perda de um radical propila por segmentação α forma o íon butoxiacílio em $m/z = 101$, e o rearranjo de McLafferty no lado acil do éster cria o íon observado em $m/z = 73$, enquanto a perda do radical butoxi do íon molecular produz o íon acílio visto em $m/z = 71$.

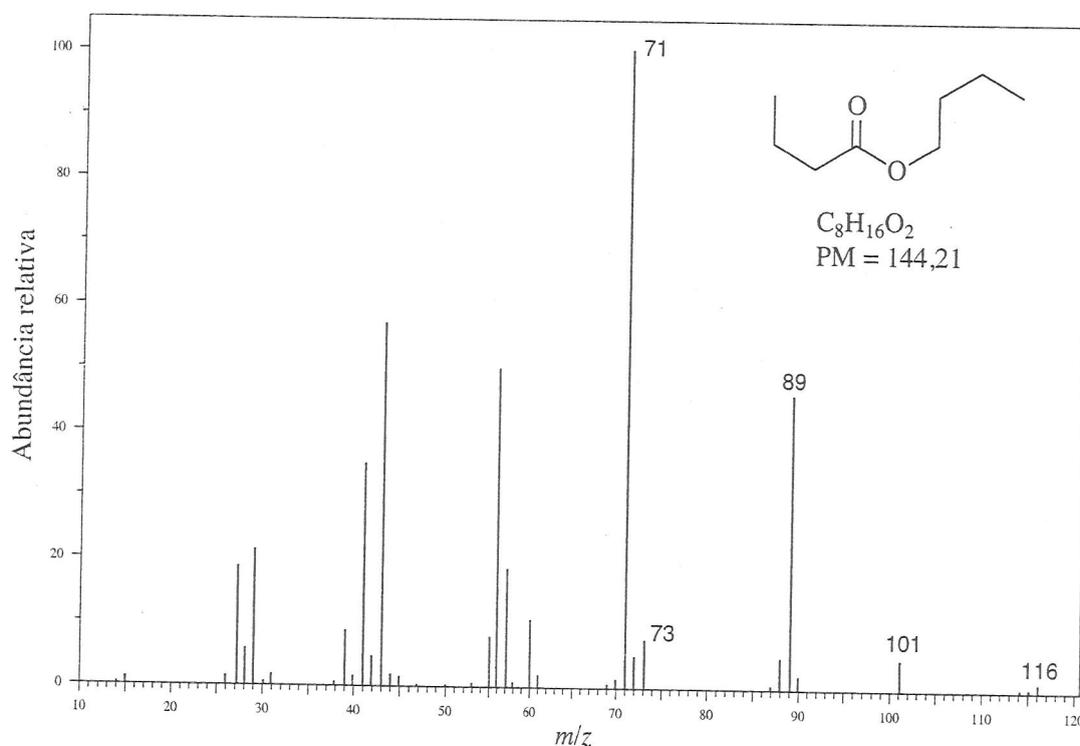
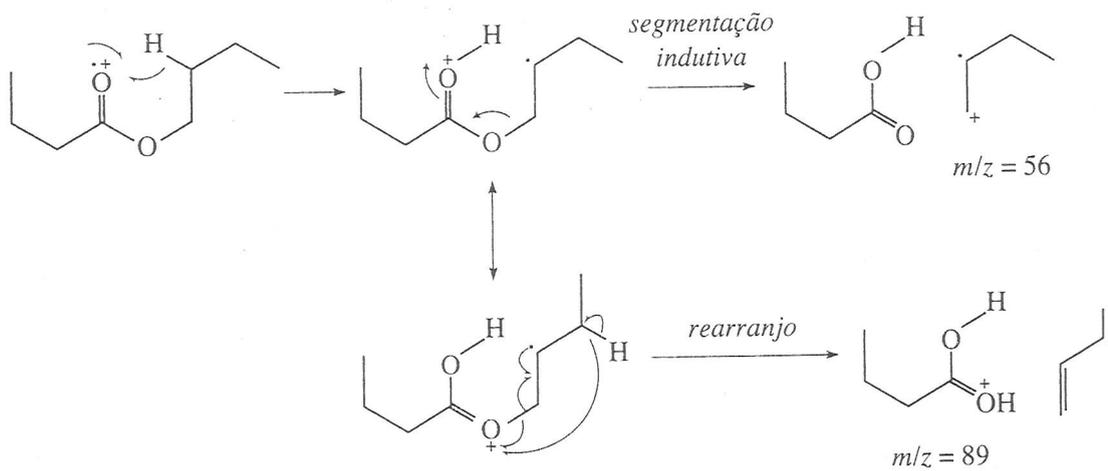


FIGURA 8.66 EI-MS do butirato de butila.



Ésteres de benzila passam por rearranjo para eliminar uma molécula neutra de ceteno, e o cátion radical do álcool benzílico aparece em $m/z = 108$. O íon resultante é frequentemente o pico mais intenso no espectro de massa desse composto. Essa fragmentação é dominante no espectro de massa do laurato de benzila, com o cátion benzila/íon tropílio em $m/z = 91$ (Figura 8.67). Outros fragmentos de grande massa no espectro de laurato de benzila incluem um pico em $m/z = 199$, por causa da perda de um radical benzila, e o pico em $m/z = 183$, causado pela perda de radical benziloxi por segmentação α .

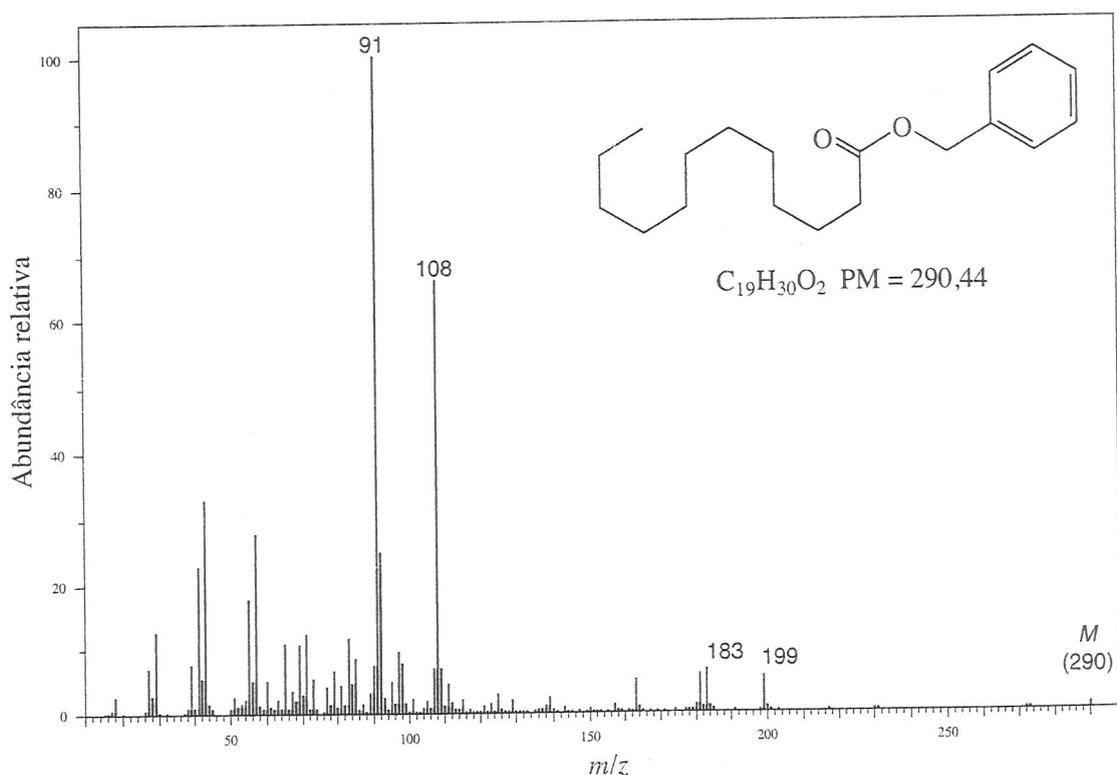
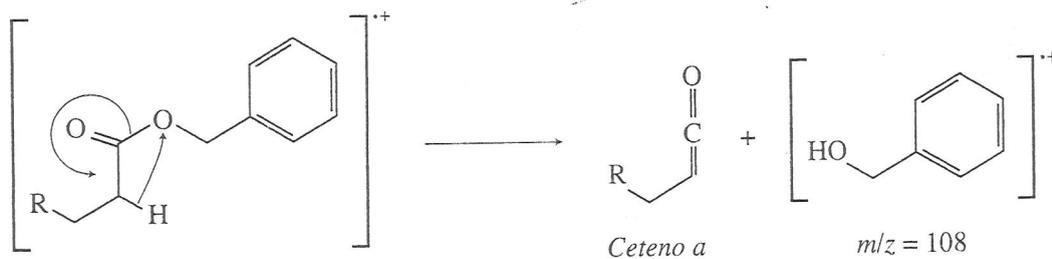


FIGURA 8.67 EI-MS do laurato de benzila.

Ésteres benzoato de alquila preferem perder o grupo alcoxi para formar o íon $C_6H_5C\equiv O^+$ ($m/z = 105$). Esse íon pode perder monóxido de carbono para formar o cátion fenila ($C_6H_5^+$) em $m/z = 77$. Cada um desses picos aparece no espectro de massa do benzoato de metila (Figura 8.68). Parece que uma substituição alquila nos ésteres benzoato tem pouco efeito nos resultados espectrais de massa, a não ser que o grupo alquila esteja na posição *orto* em relação ao grupo funcional éster. Nesse caso, o grupo alquila pode interagir com a função éster, com a eliminação de uma molécula de álcool. Isso é observado no espectro de massa do salicilato de isobutila (Figura 8.69). O pico-base em $m/z = 120$ surge da eliminação de álcool isobutílico por esse efeito *orto*. O fragmento em $m/z = 121$ vem da perda do radical isobutila por segmentação α padrão, e o pico em $m/z = 138$ provavelmente surge por eliminação de isobuteno do íon molecular.

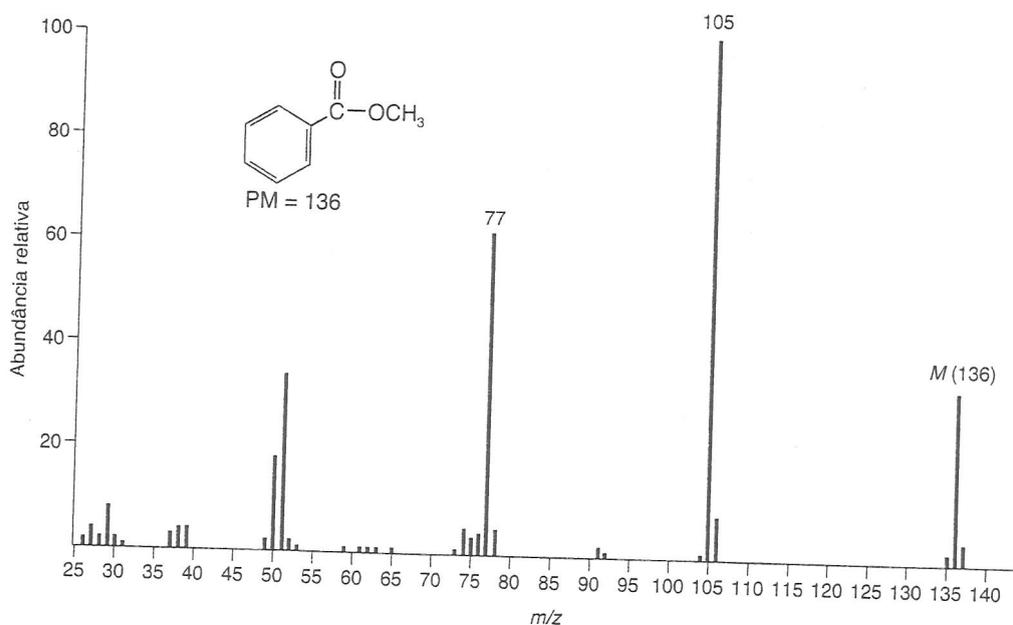
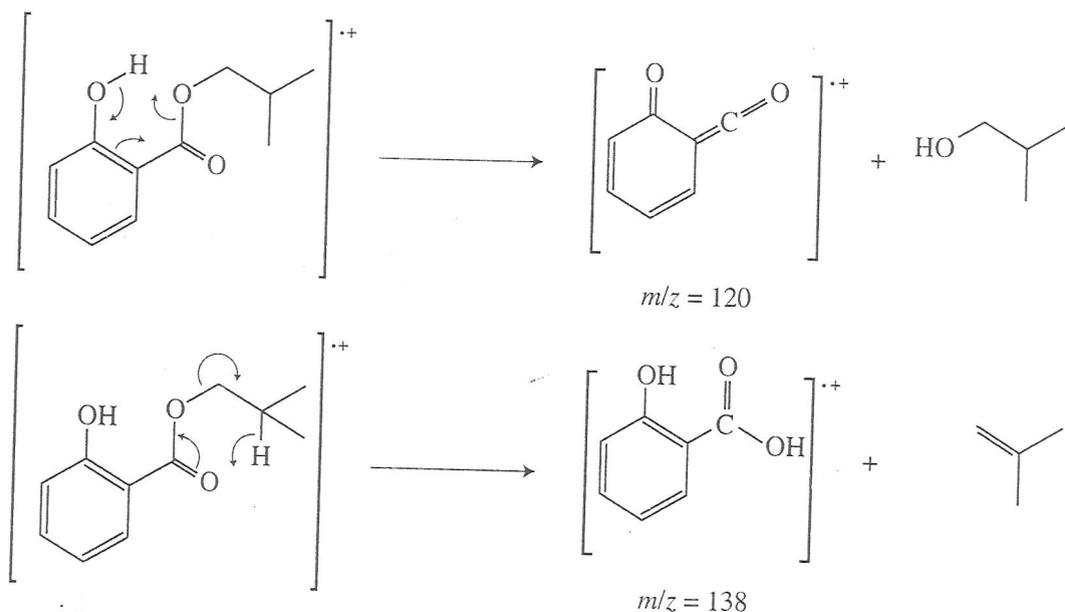


FIGURA 8.68 EI-MS do benzoato de metila.

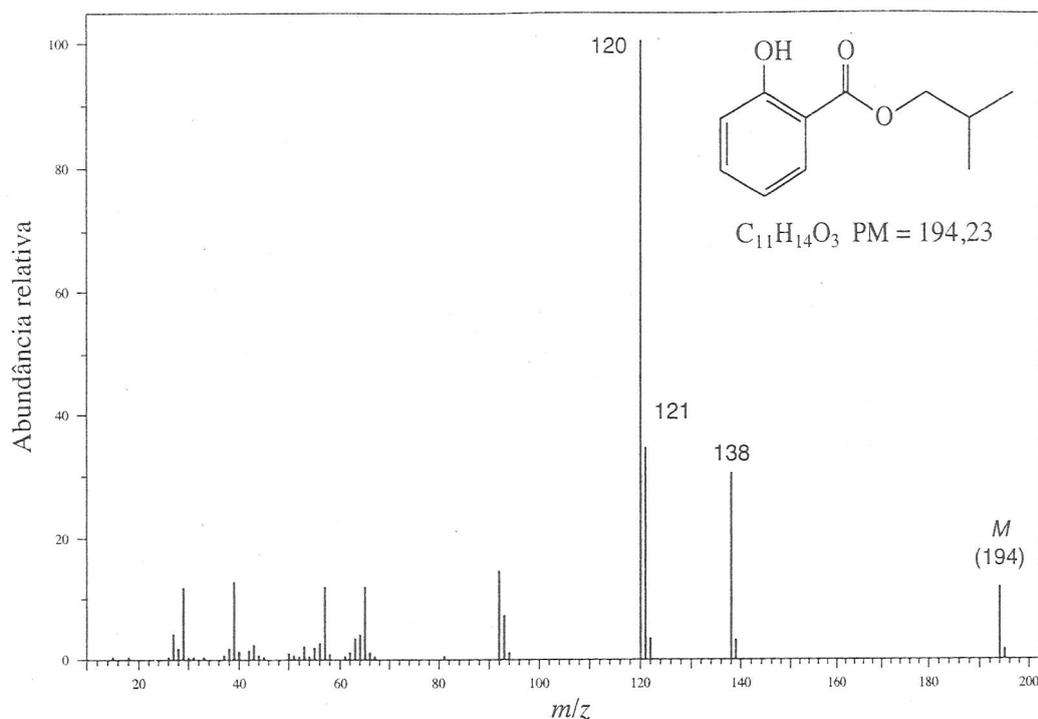


FIGURA 8.69 EI-MS do salicilato de isobutila.

S. Ácidos carboxílicos

Em geral, ácidos carboxílicos alifáticos apresentam picos de íon molecular fracos, mas observáveis. Ácidos carboxílicos aromáticos, por sua vez, apresentam picos de íon molecular fortes. Os principais modos de fragmentação são parecidos com os dos ésteres metila.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL – Ácidos carboxílicos

ÍON MOLECULAR

Ácidos carboxílicos alifáticos:
 M^+ fraco, mas observável

Ácidos carboxílicos aromáticos:
 M^+ forte

ÍONS FRAGMENTO

Ácidos carboxílicos alifáticos:
 $M - 17$, $M - 45$
 $m/z = 45, 60$

Ácidos carboxílicos aromáticos:
 $M - 17$, $M - 45$
 $M - 18$

Com ácidos de cadeia curta, pode-se observar perda de OH e COOH por segmentação α em ambos os lados do grupo C=O. No espectro de massa do ácido butírico (Figura 8.70), a perda de \bullet OH gera um pico pequeno em $m/z = 71$. A perda de COOH gera um pico em $m/z = 45$. A perda do grupo alquila como um radical livre, deixando o íon COOH⁺ ($m/z = 45$), também aparece no espectro de massa e é uma característica dos espectros de massa dos ácidos carboxílicos. Com ácidos que contenham hidrogênios γ , a principal trajetória de fragmentação é o rearranjo de McLafferty. No caso de ácidos carboxílicos, esse rearranjo produz um pico destacado em $m/z = 60$.

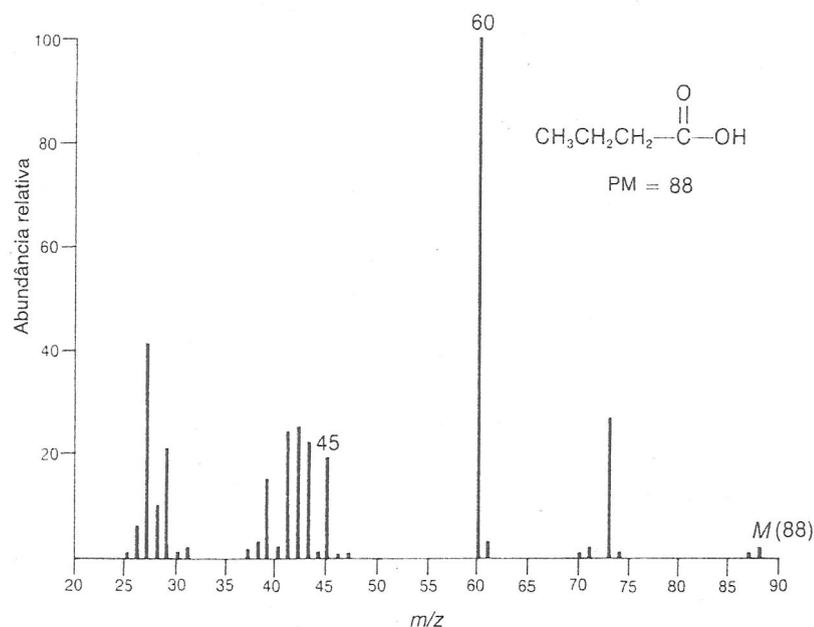


FIGURA 8.70 EI-MS do ácido butírico.

Ácidos carboxílicos aromáticos produzem picos de íon molecular intensos. A trajetória de fragmentação mais importante envolve perda de $\cdot\text{OH}$ para formar o $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}\equiv\text{O}^+$ ($m/z = 105$), seguida pela perda de CO para formar o íon C_6H_5^+ ($m/z = 77$). No espectro de massa do ácido *para*-anísico (Figura 8.71), a perda de $\cdot\text{OH}$ gera um pico em $m/z = 135$. A perda adicional de CO desse íon gera um pico em $m/z = 107$. Ácidos benzoicos com substituintes *orto* alquila, hidroxí ou amina sofrem perda de água por uma reação de rearranjo semelhante à observada em ésteres benzoatos *orto*-substituídos, como ilustrado no fim da Seção 8.8R.

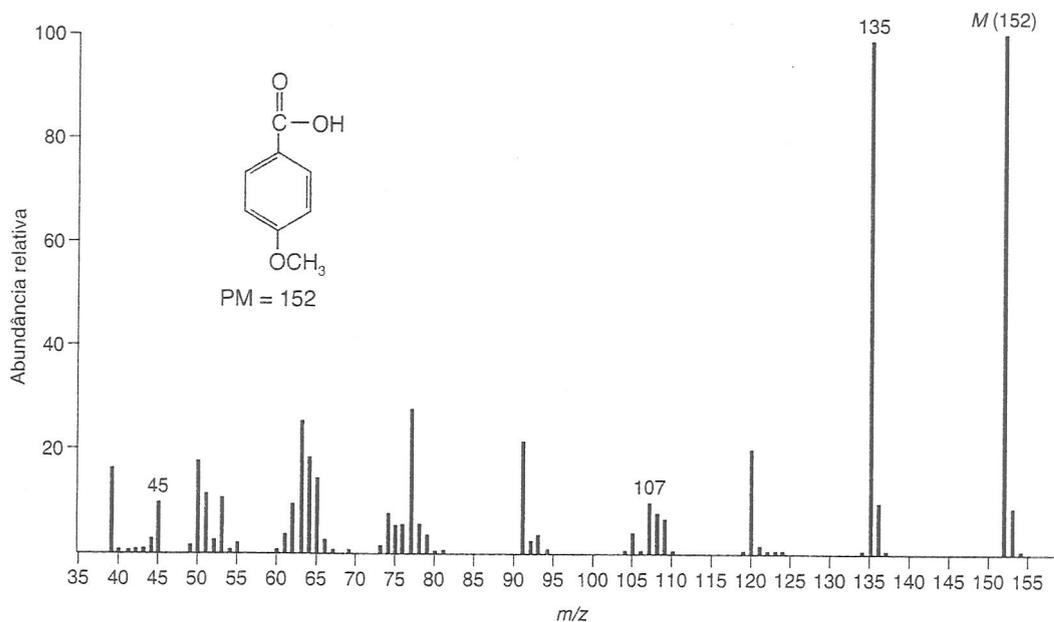


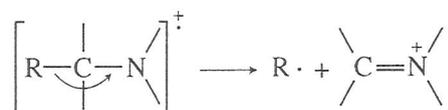
FIGURA 8.71 EI-MS do ácido *para*-anísico.

T. Aminas

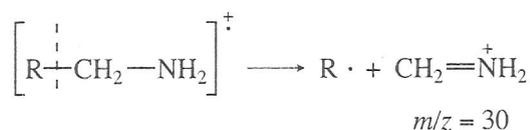
O valor da massa do íon molecular pode ser de grande ajuda na identificação de uma substância como amina. Como informado na Seção 8.6, um composto com número ímpar de átomos de nitrogênio deve ter um peso molecular ímpar. Desse modo, é possível rapidamente determinar se uma substância poderia ser uma amina. Infelizmente, no caso de aminas alifáticas, o pico de íon molecular pode ser muito fraco ou até mesmo ausente.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL – Aminas	
ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTOS
M ⁺ fraco ou ausente	Segmentação α
Regra do Nitrogênio obedecida	m/z = 30

O pico mais intenso no espectro de massa de uma amina alifática surge de segmentação α:

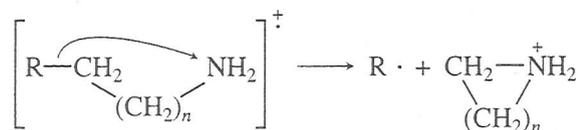


Para que haja uma perda nesse processo, opta-se pelo maior grupo R. Em aminas primárias que não são ramificadas no carbono próximo ao nitrogênio, o pico mais intenso no espectro ocorre em $m/z = 30$. Surge da segmentação α:



A presença desse pico é uma forte evidência, embora não conclusiva, de que a substância em teste é uma amina primária. O pico pode surgir da fragmentação secundária de íons formados na fragmentação de aminas secundárias ou terciárias. No espectro de massa da etilamina (Figura 8.72), o pico $m/z = 30$ pode ser visto claramente.

O mesmo pico de segmentação β pode também ocorrer em aminas primárias de cadeia longa. Fragmentação subsequente do grupo R da amina leva a grupos de fragmentos com 14 unidades de massa de diferença por causa da perda sequencial de unidades CH₂ do grupo R. Aminas primárias de cadeia longa também podem passar por fragmentação pelo processo



Isso é particularmente favorável quando $n = 4$, já que daí resulta um anel estável de seis membros. Nesse caso, o íon fragmento aparece em $m/z = 86$.

Aminas secundárias e terciárias também passam por processos de fragmentação conforme descrito anteriormente. A fragmentação mais importante é a segmentação β. No espectro de massa da dietilamina (Figura 8.73), o pico intenso em $m/z = 58$ deve-se à perda de um grupo metila. Mais uma vez, no espectro de massa da trietilamina (Figura 8.74), a perda de metila produz o pico mais intenso do espectro, em $m/z = 86$. Em cada caso, fragmentações subsequentes desse íon fragmento inicialmente formado produzem um pico em $m/z = 30$.

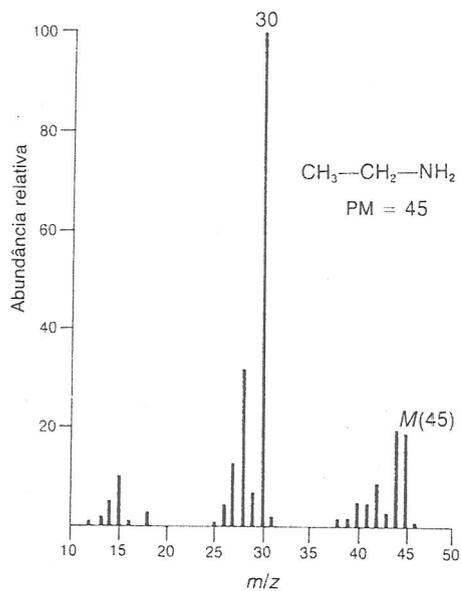


FIGURA 8.72 Espectro de massa da etilamina.

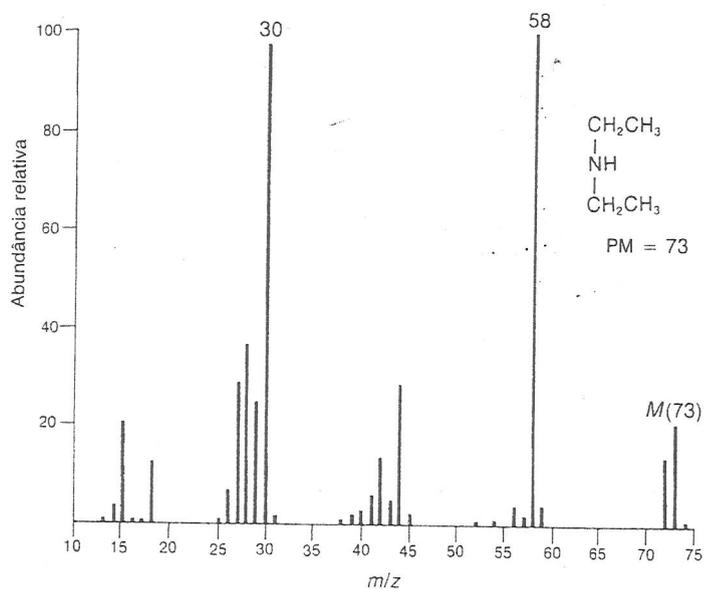


FIGURA 8.73 Espectro de massa da dietilamina.

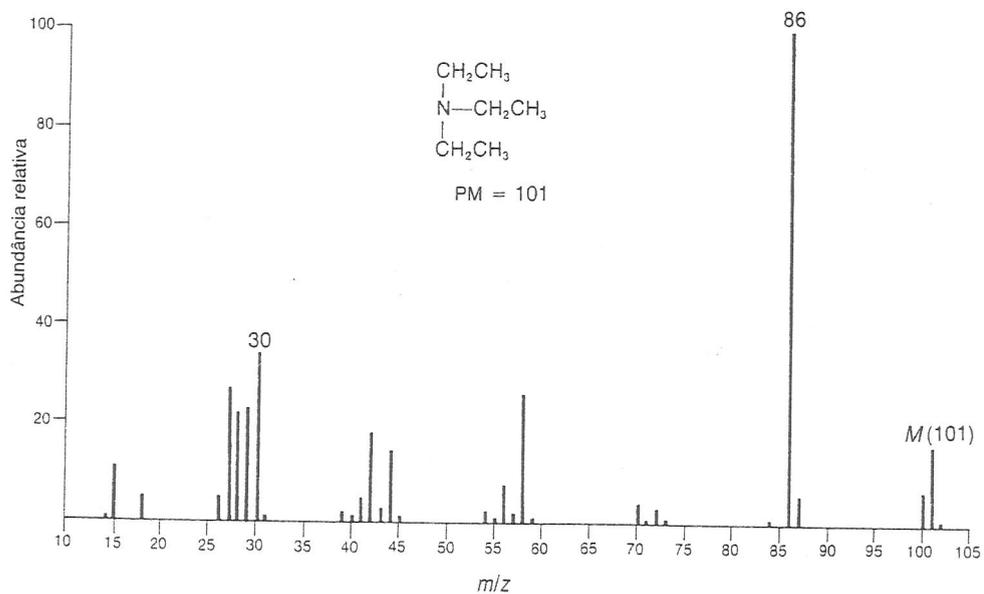
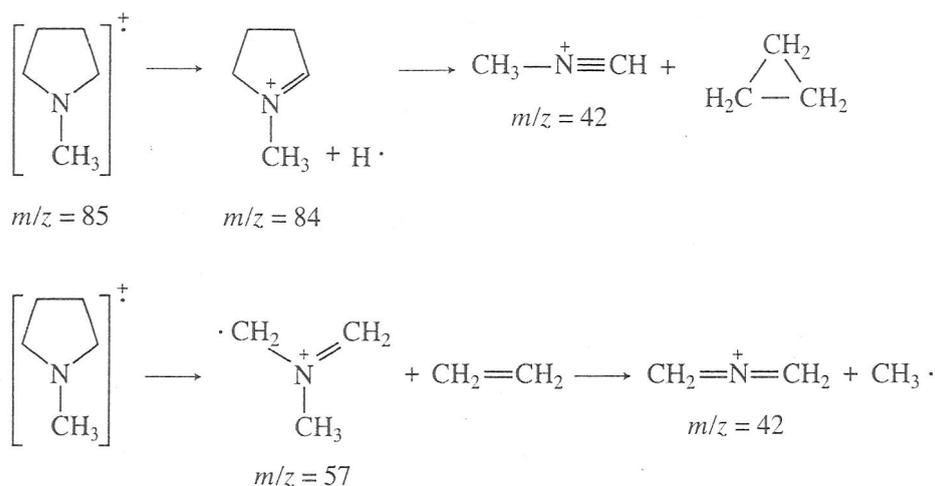
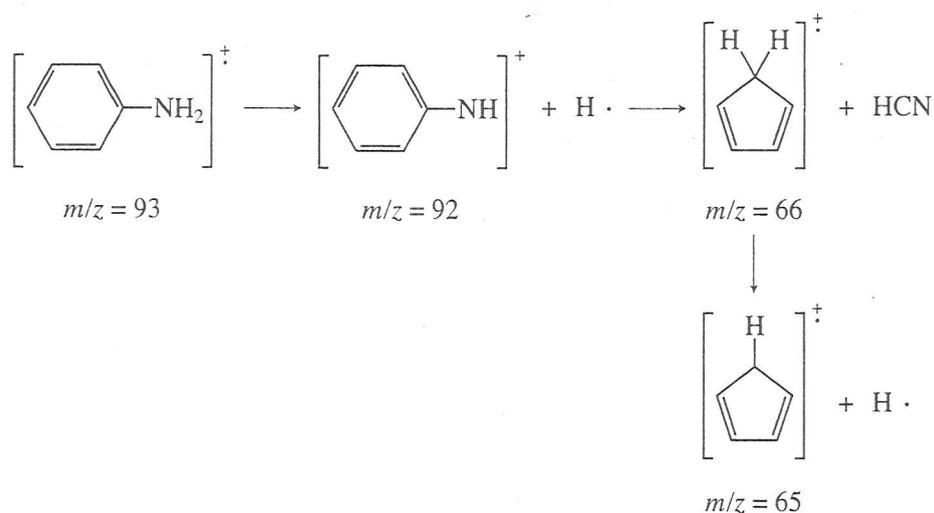


FIGURA 8.74 Espectro de massa da trietilamina.

Aminas alifáticas cíclicas produzem, em geral, picos de íon molecular intensos. Seus principais modos de fragmentação são os seguintes:



Aminas aromáticas apresentam picos de íon molecular intensos. Um pico de intensidade moderada pode aparecer em um valor m/z com uma unidade de massa menor que o íon molecular por causa da perda de um átomo de hidrogênio. A fragmentação de aminas aromáticas pode ser ilustrada no caso da anilina:



Picos de íon molecular muito intensos caracterizam piridinas substituídas. Com frequência, também se observa perda de um átomo de hidrogênio para produzir um pico em um valor m/z com uma unidade de massa menor do que o íon molecular.

O processo de fragmentação mais importante para o anel piridina é a perda de cianeto de hidrogênio. Isso produz um íon fragmento 27 unidades de massa mais leve que o íon molecular. No espectro de massa da 3-metilpiridina (Figura 8.75), pode-se ver o pico decorrente da perda de hidrogênio ($m/z = 92$) e aquele causado pela perda de cianeto de hidrogênio ($m/z = 66$).

Quando a cadeia lateral alquila ligada a um anel piridina contém três ou mais carbonos arranjados linearmente, pode ocorrer também fragmentação por rearranjo de McLafferty.

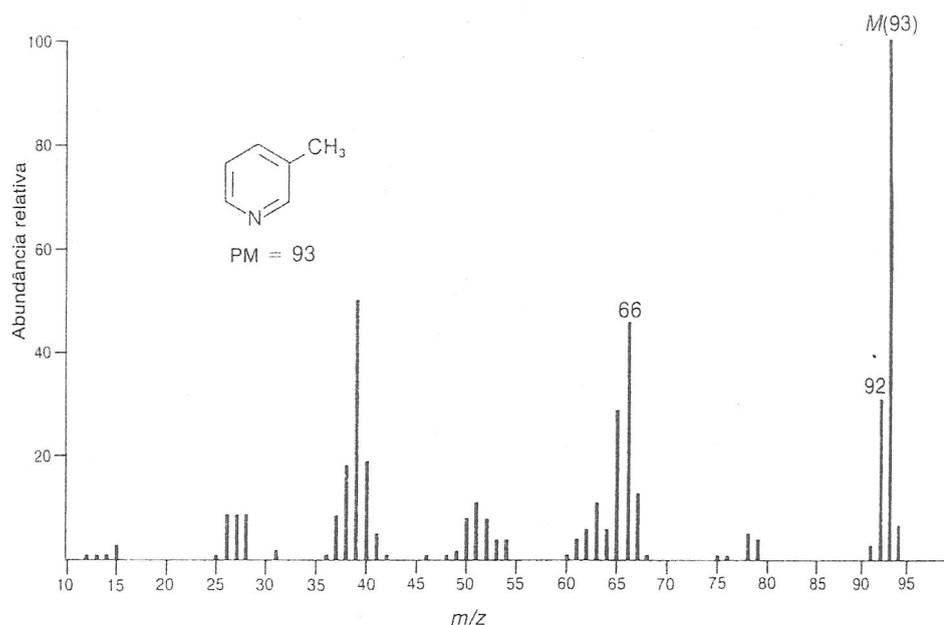
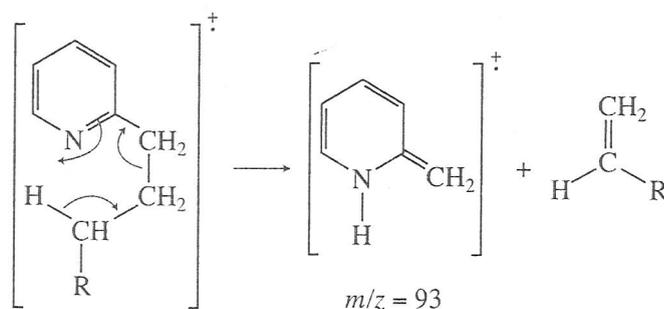


FIGURA 8.75 Espectro de massa da 3-metilpiridina.



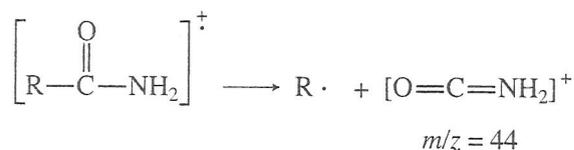
Esse modo de segmentação é mais importante para substituintes anexos à posição número 2 do anel.

U. Compostos selecionados de nitrogênio e enxofre

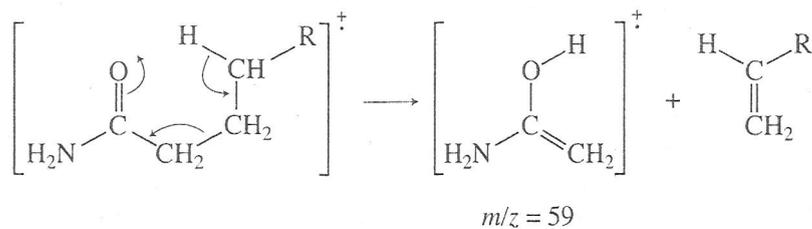
Como acontece com as aminas, compostos com nitrogênio (por exemplo, amidas, nitrilas e compostos nitros) devem seguir a Regra do Nitrogênio (mais bem explicada na Seção 8.6): se contêm um número ímpar de átomos de nitrogênio, devem ter um peso molecular ímpar.

Amidas

Em geral, os espectros de massa de amidas apresentam picos de íon molecular observáveis. Os padrões de fragmentação de amidas são muito semelhantes aos dos ésteres e ácidos correspondentes. A presença de um pico de íon fragmento forte em $m/z = 44$ é normalmente indicativa de uma amida primária. Esse pico surge de uma segmentação α do seguinte tipo:



Assim que a cadeia de carbono na parte acil de uma amida fica longa o suficiente para permitir a transferência de um hidrogênio anexo à posição γ , tornam-se possíveis rearranjos de McLafferty. Em amidas primárias, esses rearranjos geram um pico de íon fragmento em $m/z = 59$. Em *N*-alquilamidas, picos análogos em valores m/z de 73, 87, 101, entre outros, aparecem com frequência.



Nitrilas

Em geral, nitrilas alifáticas passam por fragmentação tão rapidamente que o pico de íon molecular é muito fraco para ser observado. Contudo, a maioria das nitrilas forma um pico em consequência da perda de um átomo de hidrogênio, produzindo um íon do tipo $\text{R}-\text{CH}=\text{C}=\text{N}^+$. Apesar de esse pico ser fraco, é um pico diagnóstico útil para caracterizar nitrilas. No espectro de massa da hexanonitrila (Figura 8.76), esse pico aparece em $m/z = 96$.

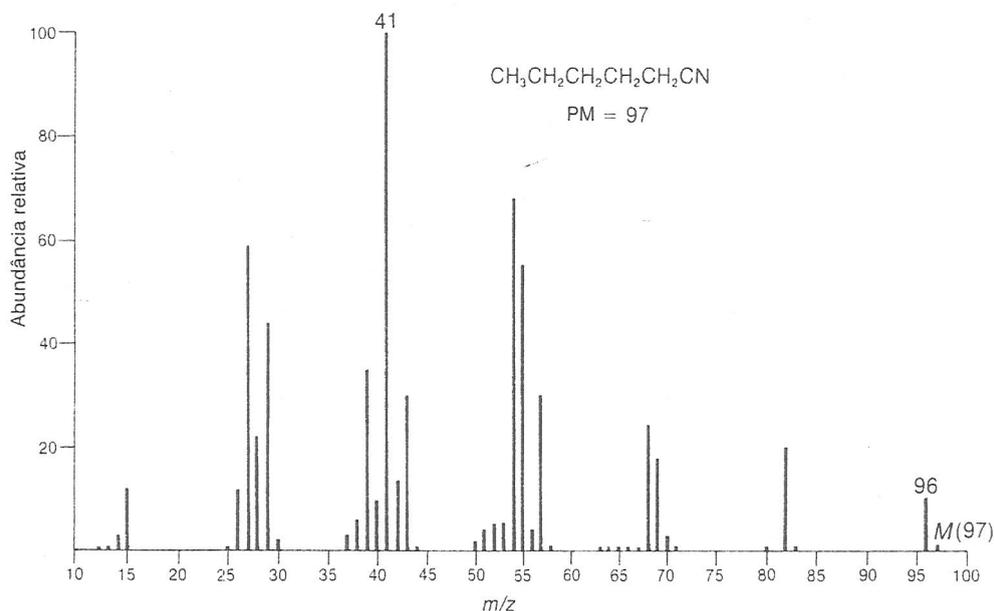
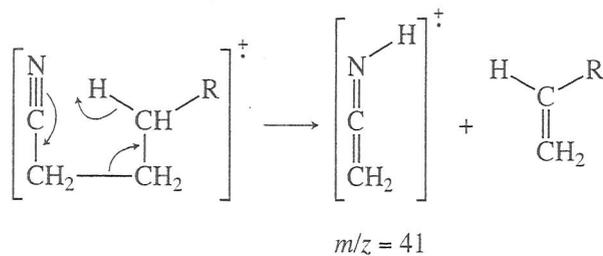


FIGURA 8.76 Espectro de massa da 3-hexanonitrila.

Quando o grupo alquila anexo ao grupo funcional nitrila é um grupo propila ou algum grupo hidrocarbônico maior, o pico mais intenso do espectro de massa resulta de um rearranjo de McLafferty:



Esse pico, que aparece no espectro de massa da hexanonitrila, pode ser bastante útil para caracterizar uma nitrila alifática. Infelizmente, conforme o grupo alquila de uma nitrila torna-se maior, a probabilidade de se formar o íon C_3H_5^+ , que também aparece em $m/z = 41$, aumenta. Com nitrilas de peso molecular alto, a maioria dos íons fragmentos de massa 41 são íons C_3H_5^+ em vez de íons formados via rearranjo de McLafferty.

O pico mais forte no espectro de massa de uma nitrila aromática é um pico de íon molecular. Ocorre perda de cianeto, gerando, no caso da benzonitrila (Figura 8.77), o íon $C_6H_5^+$ em $m/z = 77$. Uma fragmentação mais importante envolve perda de elementos do cianeto de hidrogênio. Na benzonitrila, isso gera um pico em $m/z = 76$.

Nitrocompostos

O pico de íon molecular de um composto nitroalifático é dificilmente observado. O espectro de massa é o resultado de fragmentação da parte do hidrocarboneto da molécula. Contudo, os espectros de massa de compostos nitro podem apresentar um pico moderado em $m/z = 30$, correspondente ao íon NO^+ , e um pico mais fraco em $m/z = 46$, correspondente ao íon NO_2^+ . Esses picos aparecem no espectro de massa do 1-nitropropano (Figura 8.78). O pico intenso em $m/z = 43$ deve-se ao íon $C_3H_7^+$.

Compostos nitro aromáticos apresentam picos de íon molecular intensos. Os picos característicos NO^+ ($m/z = 30$) e NO_2^+ ($m/z = 46$) aparecem no espectro de massa. O principal padrão de fragmentação, contudo, envolve perda da totalidade ou de parte do grupo nitro. Usando o nitrobenzeno (Figura 8.79) como exemplo, esse padrão de fragmentação pode ser descrito da seguinte forma:

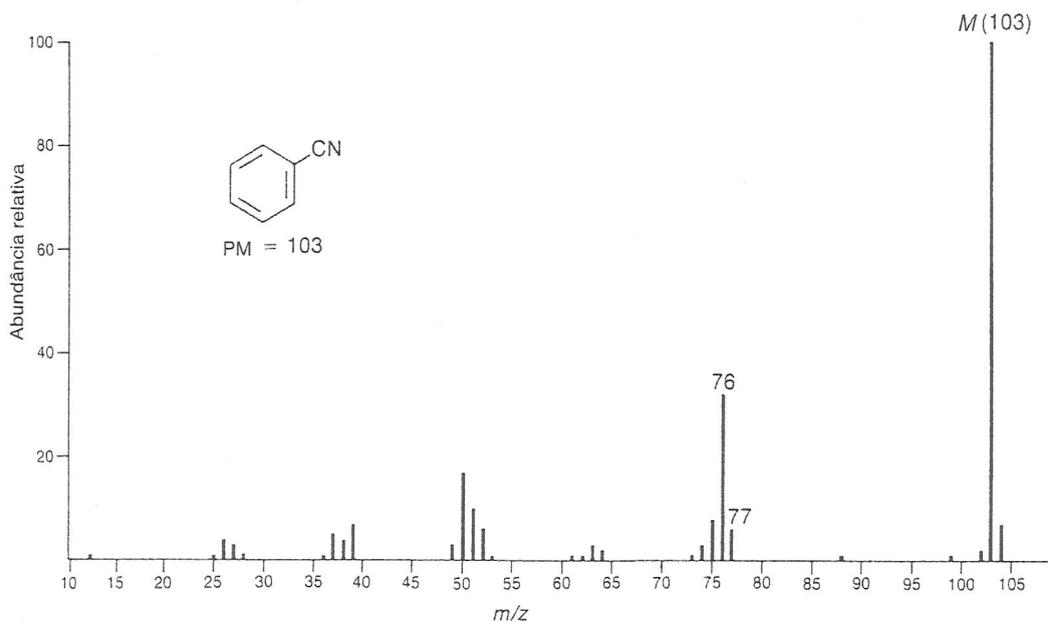
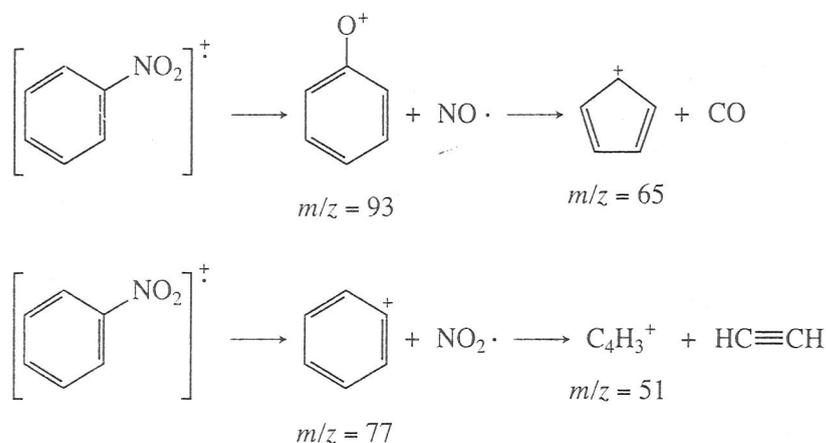


FIGURA 8.77 Espectro de massa da benzonitrila.

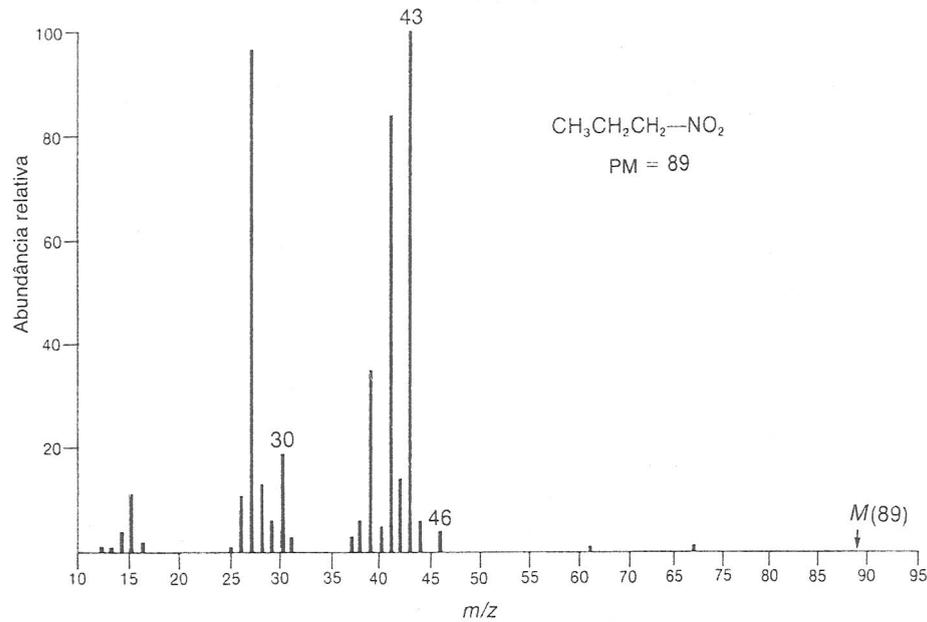


FIGURA 8.78 Espectro de massa do 1-nitropropano.

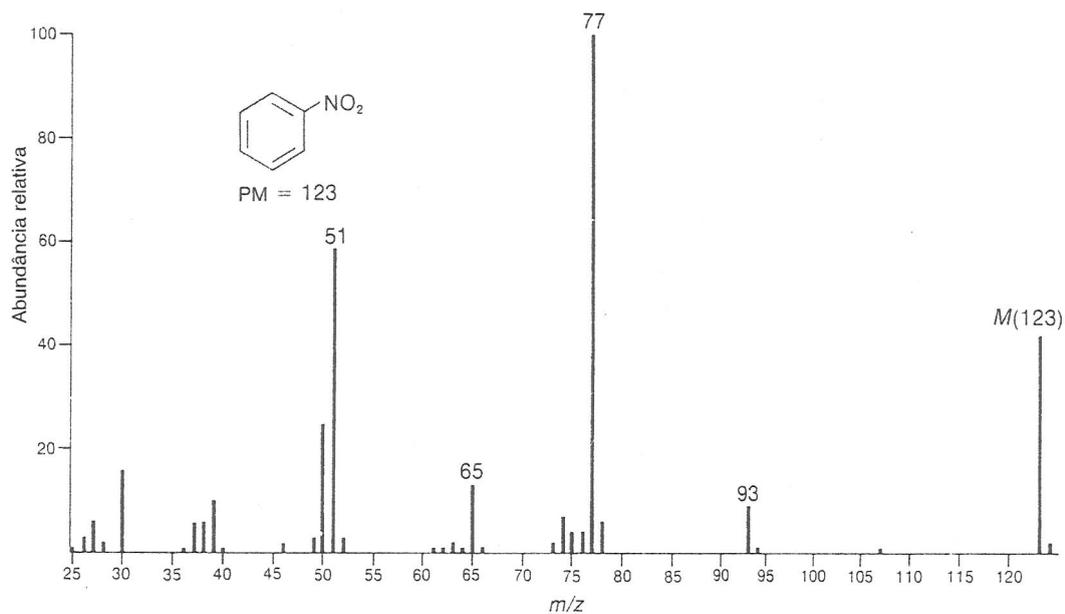


FIGURA 8.79 Espectro de massa do nitrobenzeno.

Tióis e tioéteres

Tióis apresentam picos de íon molecular mais intensos do que os dos alcoóis correspondentes. Um detalhe característico dos espectros de massa de compostos sulfurados é a presença de um pico $M + 2$ significativo, o qual surge por causa da presença do isótopo pesado, ^{34}S , que tem uma abundância natural de 4,4%.

Os padrões de fragmentação dos tiois são muito parecidos com os dos alcoóis. Assim como alcoóis tendem a sofrer desidratação sob certas condições, tiois tendem a perder os elementos do sulfeto de hidrogênio, gerando um pico $M - 34$.

Tioéteres apresentam padrões espectrais de massa que são muito parecidos com os dos éteres. Como no caso dos tióis, tioéteres apresentam picos de íon molecular que devem ser mais intensos do que os dos éteres correspondentes.

V. Cloretos de alquila e brometos de alquila

A característica mais marcante dos espectros de massa dos cloretos de alquila e brometos de alquila é a presença de um importante pico $M + 2$. Esse pico surge porque tanto o cloreto como o brometo estão presentes na natureza em duas formas isotópicas, cada qual com uma abundância natural significativa.

Em compostos de halogênios alifáticos, o pico de íon molecular é mais forte com iodetos de alquila, menos forte com brometos, fraco com cloretos e mais fraco com fluoretos. Além disso, conforme o grupo alquila aumenta em tamanho ou aumenta a quantidade de ramificações na posição α , há redução da intensidade do pico de íon molecular.

QUADRO DE ANÁLISE ESPECTRAL – Haletos de alquila	
ÍON MOLECULAR	ÍONS FRAGMENTOS
Pico $M + 2$ forte (para Cl, $M/M + 2 = 3:1$; para Br, $M/M + 2 = 1:1$)	Perda de Cl ou Br Perda de HCl Segmentação α

Há vários mecanismos de fragmentação importantes para os haletos de alquila. Talvez o mais importante seja a simples perda do átomo de halogênio, formando um carbocátion. Essa fragmentação é mais importante quando o halogênio é um bom grupo de saída. Portanto, esse tipo de fragmentação é mais destacado nos espectros de massa de iodetos de alquila e de brometos de alquila. No espectro de massa do 1-bromoetano (Figura 8.80), o pico em $m/z = 85$ deve-se à formação do íon hexila. Esse íon passa por mais fragmentação para formar um íon $C_3H_7^+$ em $m/z = 43$. O íon heptila correspondente a $m/z = 99$ no espectro de massa do 2-cloroetano (Figura 8.81) é bem fraco.

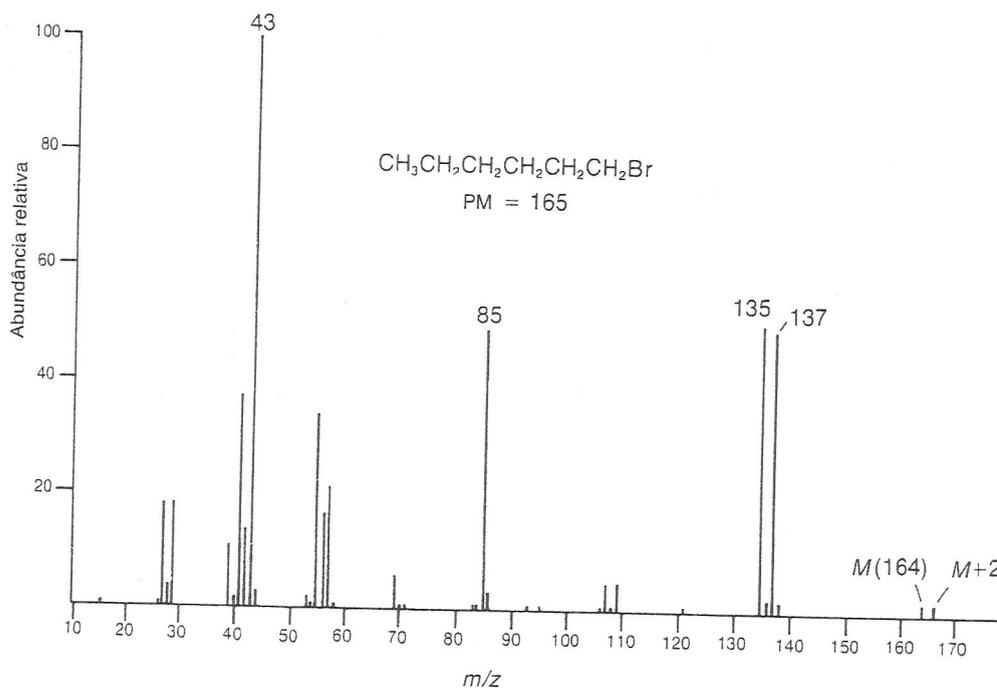


FIGURA 8.80 Espectro de massa do 1-bromoetano.

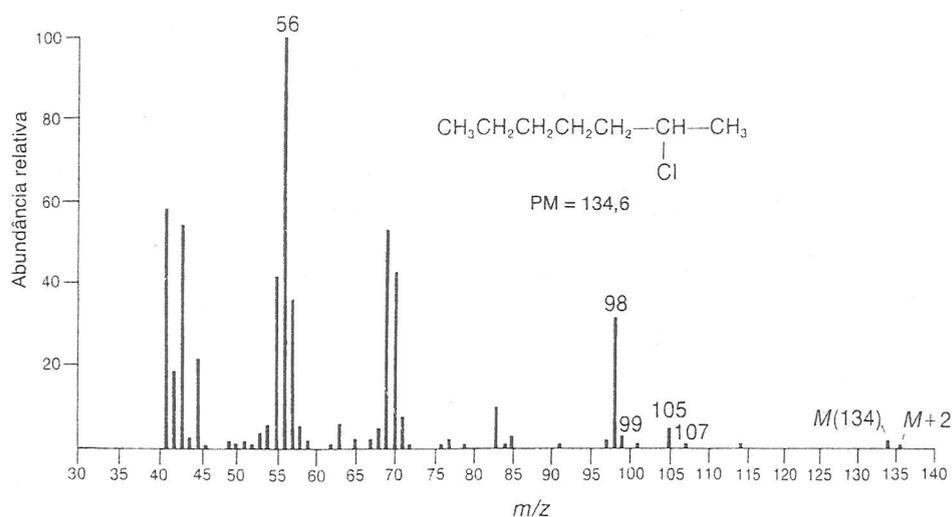


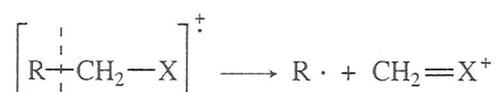
FIGURA 8.81 Espectro de massa do 2-cloroheptano.

Haleto de alquila também podem perder uma molécula de haleto de hidrogênio, de acordo com o processo



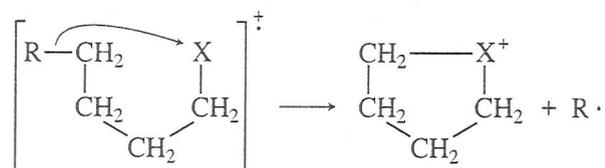
Esse modo de fragmentação é mais importante para fluoretos e cloretos, e menos importante para brometos e iodetos. No espectro de massa do 1-bromoexano, é muito fraco o pico correspondente à perda de brometo de hidrogênio em $m/z = 84$. Porém, para o 2-cloroheptano, o pico correspondente à perda de cloreto de hidrogênio em $m/z = 98$ é bastante intenso.

Um modo de fragmentação menos importante é a segmentação α , para a qual um mecanismo de fragmentação pode ser



Quando a posição α é ramificada, o grupo alquila mais pesado anexo ao carbono α é perdido com grande facilidade. Os picos que surgem da segmentação α são, em geral, bem fracos.

Um quarto mecanismo de fragmentação envolve rearranjo e perda de um radical alquila:



O íon cíclico correspondente pode ser observado em $m/z = 135$ e 137 , no espectro de massa do 1-bromoexano, e em $m/z = 105$ e 107 , no espectro de massa do 2-cloroheptano. Tal fragmentação é importante apenas nos espectros de massa de cloretos e brometos de alquila de cadeia longa.

Os picos de íon molecular nos espectros de massa de haleto de benzila têm, em geral, intensidade suficiente para serem observados. A fragmentação mais importante envolve perda de halogênio para formar o íon C_7H_7^+ . Quando o anel aromático de um haleto de benzila contém substituintes, também pode aparecer um cátion fenila substituído.

O pico de íon molecular de um haleto aromático é, em geral, bem intenso. O modo de fragmentação mais significativo envolve perda de halogênio para formar o íon $C_6H_5^+$.

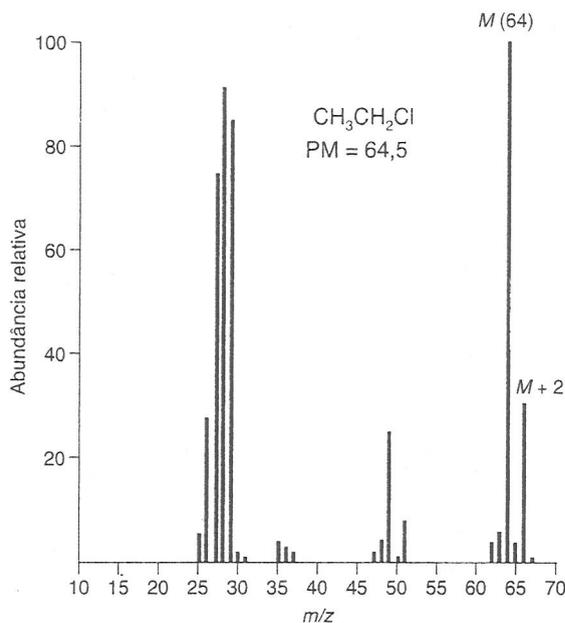


FIGURA 8.82 Espectro de massa do cloreto de etila.

Apesar de os padrões de fragmentação descritos serem bem caracterizados, a característica mais importante dos espectros de massa de compostos que contém cloro e bromo é a presença de dois picos de íon molecular. Conforme indicado na Seção 8.7, o cloro ocorre naturalmente em duas formas isotópicas. A abundância natural do cloro de massa 37 é 32,5% da do cloro 35. A abundância natural do bromo de massa 81 é 98,0% da do ^{79}Br . Portanto, a intensidade do pico $M+2$ em um composto que contenha cloro deveria ser 32,5% a intensidade do pico de íon molecular, e a intensidade do pico $M+2$ em um composto que contenha bromo deveria ser quase igual à intensidade do pico de íon molecular. Esses pares de picos de íon molecular (às vezes chamados de dubletos) aparecem nos espectros de massa do cloreto de etila (Figura 8.82) e do brometo de etila (Figura 8.83).

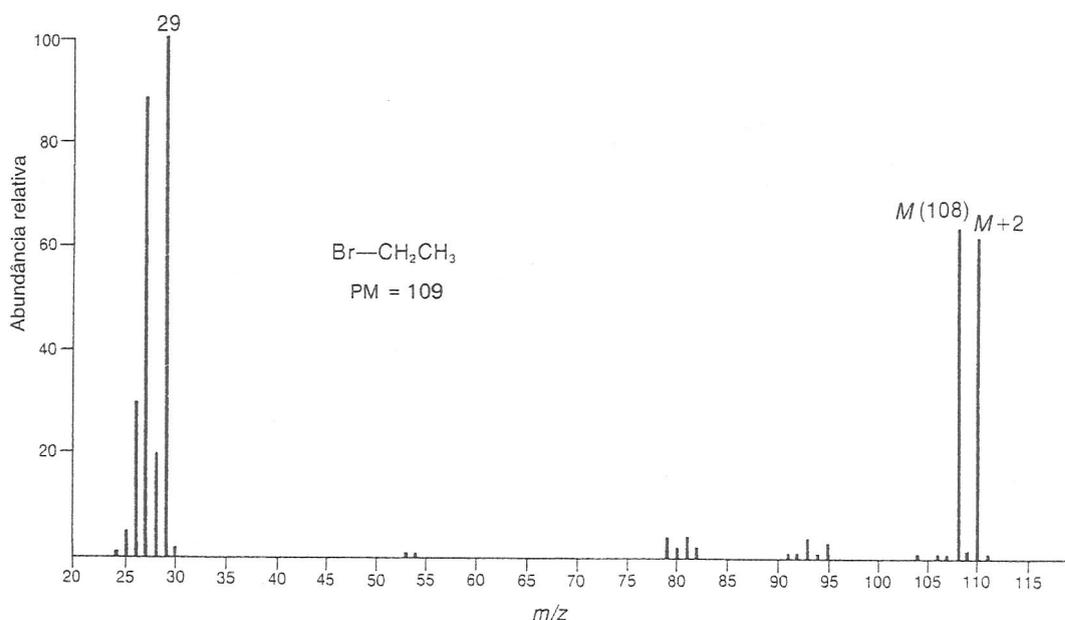


FIGURA 8.83 Espectro de massa do brometo de etila.

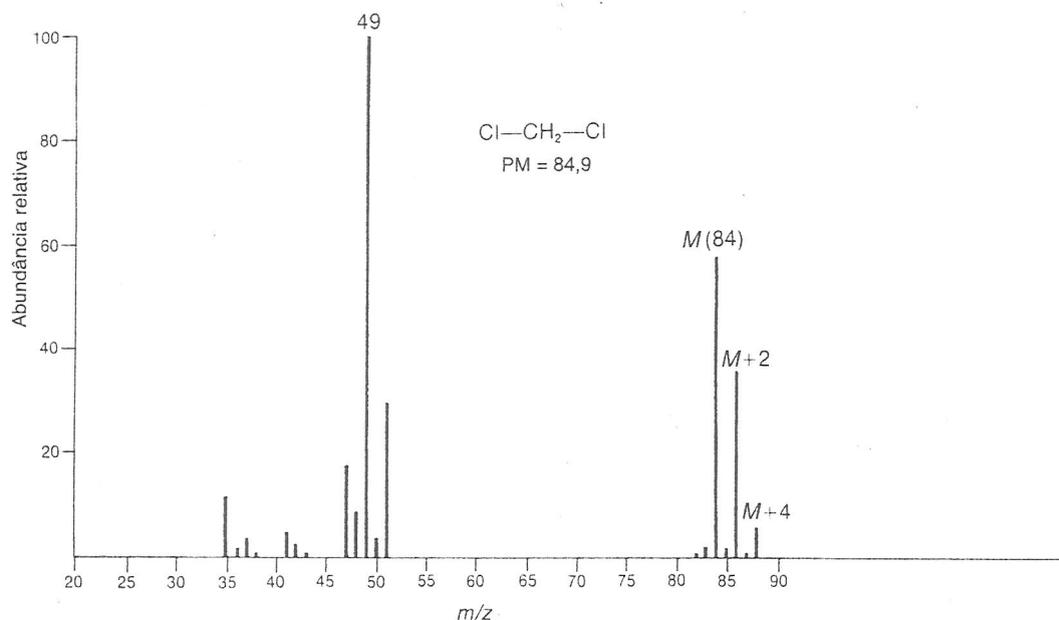


FIGURA 8.84 Espectro de massa do diclorometano.

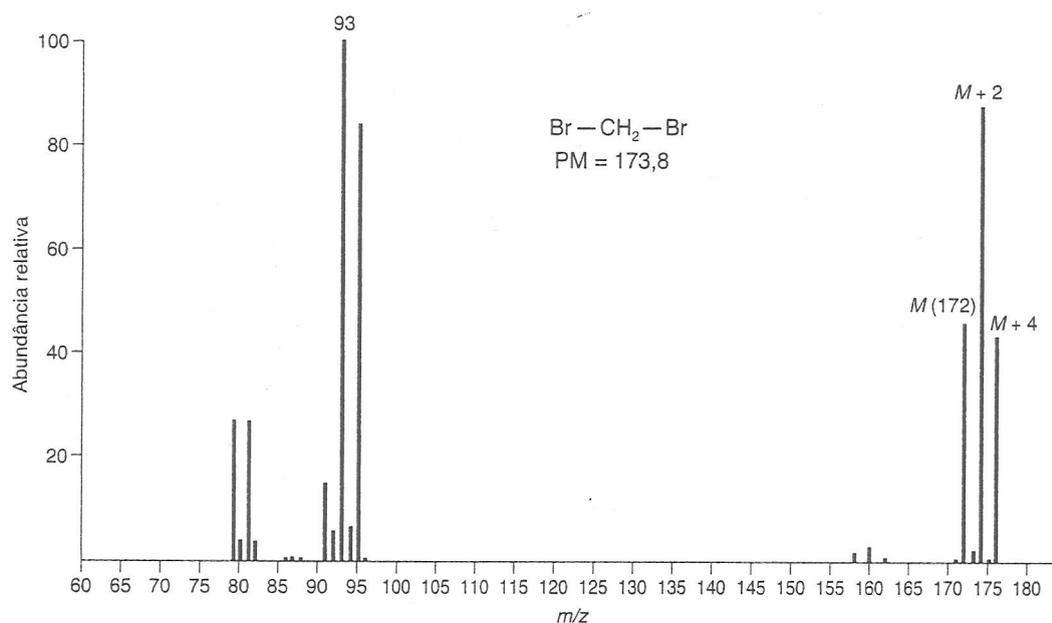


FIGURA 8.85 Espectro de massa do dibromometano.

A Tabela 8.8 pode ser usada para determinar a razão entre as intensidades do íon molecular e dos picos isotópicos quando mais de um cloro ou bromo estão presentes na mesma molécula. Os espectros de massa do diclorometano (Figura 8.84), dibromometano (Figura 8.85) e 1-bromo-2-cloroetano (Figura 8.86) são aqui apresentados para ilustrar algumas das combinações de halogênios listadas na Figura 8.18.

Infelizmente, nem sempre é possível aproveitar esses padrões característicos para identificar compostos de halogênios. Frequentemente, os picos de íon molecular são muito fracos para permitir uma medição precisa da razão entre as intensidades do íon molecular e dos picos isotópicos. Entretanto, muitas vezes é possível fazer uma comparação entre picos de íon fragmento no espectro de massa de um composto de halogênio. O espectro de massa do 1-bromoetano (Figura 8.80) pode servir como exemplo desse método. A presença de bromo pode ser determinada pela utilização dos picos de íon fragmento em valores m/z de 135 e 137.

Como iodo e flúor existem, em estado natural, na forma de apenas um isótopo, seus espectros de massa não apresentam picos isotópicos. A presença de um halogênio deve ser deduzida ao se verificar um pico $M + 1$ estranhamento fraco ou ao se observar a diferença de massa entre os íons fragmentos e o íon molecular.

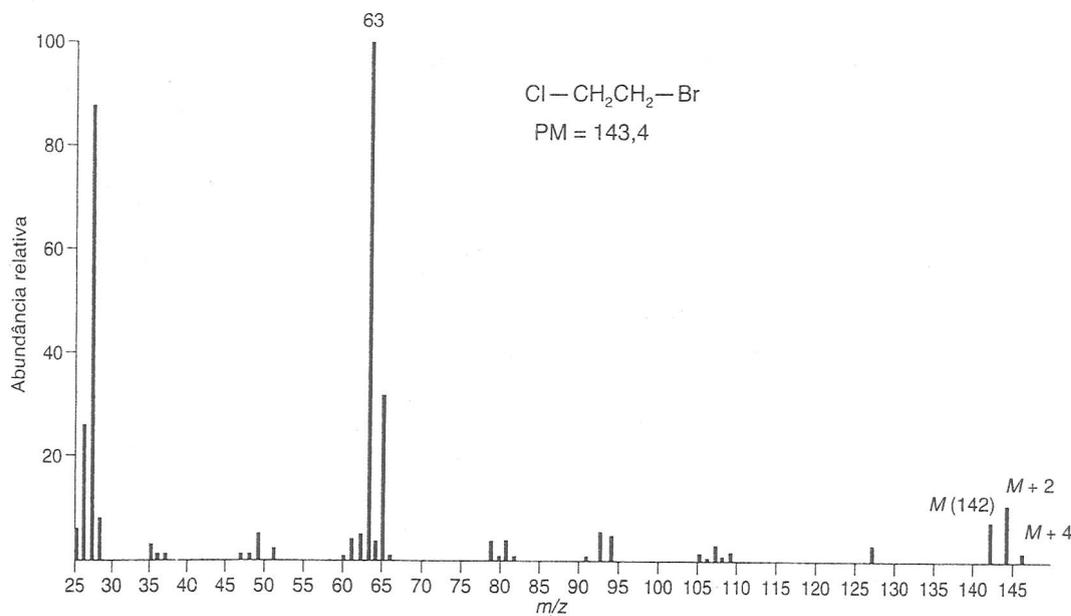


FIGURA 8.86 Espectro de massa do 1-bromo-2-cloroetano.

8.9 ABORDAGEM ESTRATÉGICA PARA ANALISAR ESPECTROS DE MASSA E RESOLVER PROBLEMAS

Como qualquer outro problema que envolva a correlação entre dados espectrais e estrutura, a chave do sucesso é ter uma estratégia bem definida para analisar espectros de massa. É também verdade que intuição química tem um papel importante, e logicamente não há o que substitua a experiência prática. Antes de se aprofundar no espectro de massa, faça um inventário do que sabe sobre a amostra. A composição de elementos é conhecida? A fórmula molecular foi determinada a partir de uma análise de massa exata? Que grupos funcionais estão presentes no composto? Qual é o “histórico químico” da amostra? Por exemplo, como se lidou com a amostra? De que tipo de reação química o composto foi isolado? E as perguntas continuam.

O primeiro passo para analisar o espectro de massa é identificar o íon molecular. Releia a Seção 8.6 para revisar os requisitos de um íon molecular. Assim que o íon molecular for identificado, verifique sua massa nominal e examine se o conjunto isotópico (se a fórmula ainda não for conhecida) contém Cl, Br e outros elementos $M + 2$. Dependendo de o valor m/z do íon molecular ser par ou ímpar, a Regra do Nitrogênio dirá quantos nitrogênios, se houver, devem ser incorporados à sua análise. Se o íon molecular não for visível, deve-se colocar a amostra sob condições CI para determinar a massa molecular da amostra. Se não for possível obter mais dados, tente descobrir quais perdas plausíveis poderiam ter gerado os picos altos de massa no espectro apresentado (perda de água por um álcool, por exemplo).

Depois de analisar o grupamento molecular do íon molecular, examine os picos de massa alta em seu espectro para determinar se as perdas de massa são ímpares ou pares. Se um número par de nitrogênios estiver presente (zero é par), perdas de massa ímpares corresponderão a simples segmentações homolíticas, e perdas de massa pares, a rearranjos (o inverso vale se houver um número ímpar de nitrogênios presentes). Tente atribuir essas perdas de massa a um fragmento radical ou a uma molécula neutra. A seguir, procure fragmentos facilmente identificáveis: íons fenilacílio, íons tropílio, cátions fenila, cátions ciclopentadienila, entre outros.

Por fim, use a informação de fragmentação para compor uma estrutura proposta. Se houver mais de uma estrutura potencial, pode ser razoável realizar uma análise mais aprofundada. Em alguns casos, será possível chegar apenas a uma estrutura parcial. Apesar de, às vezes, ser tentador, lembre-se de que é muito arriscado propor estruturas (ou eliminar estruturas possíveis) na *ausência* de dados: “Aquele estrutura deveria gerar um pico em $m/z = Q$ por meio de um rearranjo de McLafferty, mas não há pico lá; portanto, a estrutura está errada”. Quando tiver encontrado uma estrutura potencial, analise de novo a fragmentação daquela estrutura e veja se coincide com os dados experimentais. Comparar seus dados com espectros de referência de compostos com estruturas e grupos funcionais semelhantes pode ser muito informativo. Buscar, em um banco de dados, seu espectro em bibliotecas espectrais de massa oferecerá pistas sobre a identidade do composto ou, pelo menos, uma coincidência perfeita.

8.10 COMPARAÇÃO COMPUTADORIZADA DE ESPECTROS COM BIBLIOTECAS ESPECTRAIS

Quando tiver em mãos um espectro de massa digitalizado, um PC simples pode comparar aquele grupo de dados com uma biblioteca de dezenas de milhares de espectros de massa em questão de segundos e produzir uma lista de compatibilidades potenciais. Cada pico de um espectro é caracterizado pelo programa de busca por unicidade e abundância relativa. Picos de massa mais altos são, em geral, mais característicos do composto em questão do que picos de massas baixas comumente encontrados, e assim os picos com m/z maiores podem ser indicados mais decisivamente no algoritmo de busca. Quando se realiza essa busca, obtém-se uma tabela que lista os nomes dos possíveis compostos, suas fórmulas moleculares e um indicador da probabilidade de o espectro do composto de teste coincidir com o espectro no banco de dados. A probabilidade é determinada pelo número de picos (e suas intensidades) que podem ser equiparados. Esse tipo de tabela, normalmente, é chamado de *lista de acertos*. A Figura 8.87 é o espectro de massa de um líquido desconhecido com ponto de ebulição observado entre 158 °C e 159 °C. A Tabela 8.9 reproduz o tipo de informação que o computador produziria como uma lista de acertos. Note que a informação inclui o nome de cada composto que o computador usou para comparar, seu peso molecular e fórmula molecular, e seu número de registro no Chemical Abstracts Service (CAS).

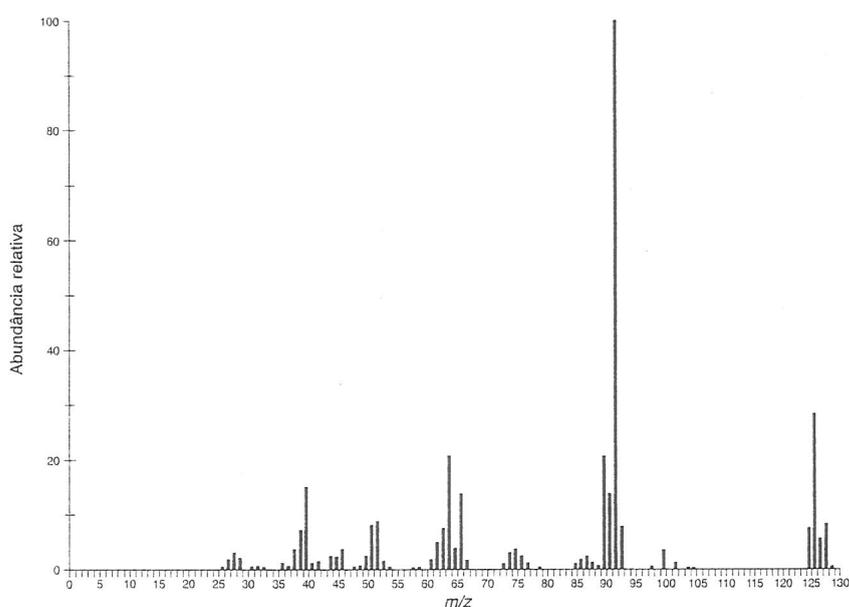


FIGURA 8.87 EI-MS de um líquido desconhecido.

A Tabela 8.9 indica que o líquido desconhecido é provavelmente *1-cloro-2-metilbenzeno*, com probabilidade de uma coincidência perfeita em torno de 94%. É interessante notar que os isômeros *meta* e *para* apresentam probabilidades de 70% e 60%, respectivamente. É tentador simplesmente aceitar como corretos os resultados da busca feita pelo computador, mas o método não é uma garantia absoluta de que a identidade de uma amostra foi corretamente determinada. Uma inspeção visual dos espectros e da biblioteca deve ser incluída como parte do processo. Um computador pode comparar um espectro de massa que determinou com os espectros nesses bancos de dados.

Tabela 8.9 Resultado da busca em biblioteca para líquido desconhecido

Nome	Peso Molecular	Fórmula	Probabilidade	Nº CAS
1. Benzeno, 1-cloro-2-metila-	126	C ₇ H ₇ Cl	94	000095-49-8
2. Benzeno, 1-cloro-3-metila-	126	C ₇ H ₇ Cl	70	000108-41-8
3. Benzeno, 1-cloro-4-metila-	126	C ₇ H ₇ Cl	60	000106-43-4
4. Benzeno, (clorometila)-	126	C ₇ H ₇ Cl	47	000100-44-7
5. 1,3,5-Cicloheptatrieno, 1-cloro-	126	C ₇ H ₇ Cl	23	032743-66-1

PROBLEMAS

- *1. Um espectro de massa de baixa resolução do alcaloide vobtusina mostrou que o peso molecular é 718. Esse peso molecular é correto para as fórmulas moleculares C₄₃H₅₀N₄O₆ e C₄₂H₄₆N₄O₇. Um espectro de massa de alta resolução ofereceu um peso molecular de 718,3743. Qual das possíveis fórmulas moleculares é a correta para a vobtusina?
- *2. Descobriu-se por espectrometria de massa de baixa resolução que uma tetrametiltriacetila derivada da oregonina, um xilósido diarilheptanoide encontrado no amieiro vermelho, tem peso molecular de 600. Entre as possíveis fórmulas moleculares estão C₃₂H₃₆O₁₅, C₃₃H₄₀O₁₄, C₃₄H₄₄O₁₃, C₃₅H₄₈O₁₂, C₃₂H₅₂O₁₄ e C₃₃H₅₆O₁₃. Uma espectrometria de massa de alta resolução indicou que o peso molecular exato era 660,278. Qual é a fórmula molecular correta desse derivado da oregonina?
- *3. Uma substância desconhecida mostra um pico de íon molecular em $m/z = 170$, com uma intensidade relativa de 100. O pico $M + 1$ tem intensidade de 13,2, e o pico $M + 2$ tem intensidade de 1,00. Qual é a fórmula molecular da substância?
- *4. Um hidrocarboneto desconhecido tem um pico de íon molecular em $m/z = 84$, com uma intensidade relativa de 31,3. O pico $M + 1$ tem intensidade de 2,06, e o pico $M + 2$ tem intensidade relativa de 0,08. Qual é a fórmula molecular dessa substância?
- *5. Uma substância desconhecida mostra um pico de íon molecular em $m/z = 107$, com uma intensidade relativa de 100. A intensidade relativa do pico $M + 1$ é 8,00, e a intensidade relativa do pico $M + 2$ é 0,30. Qual é a fórmula molecular da substância?
- *6. O espectro de massa de um líquido desconhecido mostra um pico de íon molecular em $m/z = 78$, com uma intensidade relativa de 23,6. As intensidades relativas dos picos isotópicos são as seguintes:

$m/z = 79$	Intensidade relativa = 0,79
80	7,55
81	0,25

Qual é a fórmula molecular desse líquido?

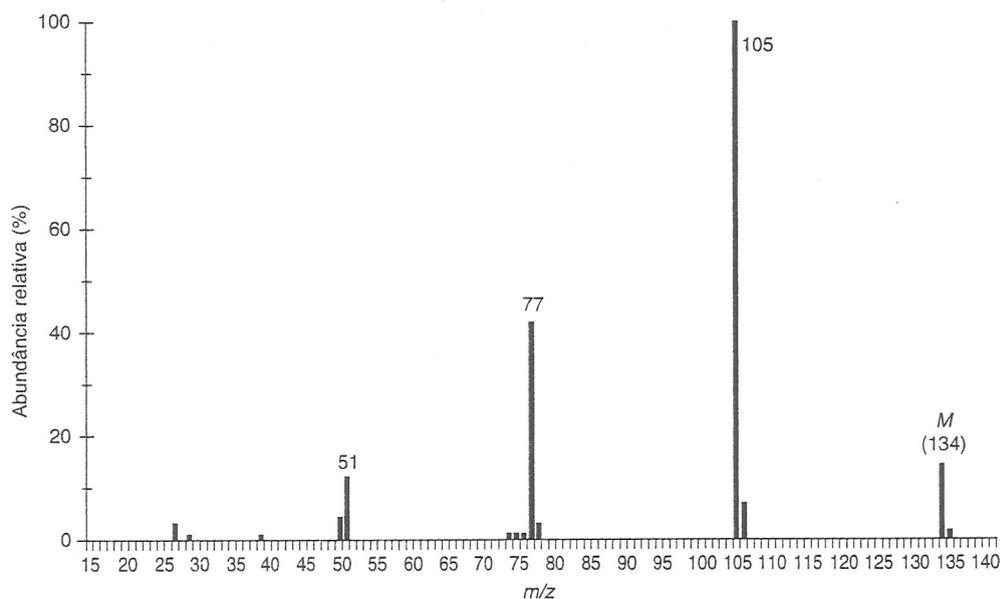
7. Atribua uma estrutura que por ser gerada por cada um dos seguintes espectros de massa. *Nota:* Alguns desses problemas podem ter mais de uma resposta razoável. Em alguns casos, foram incluídos dados espectrais de infravermelho a fim de deixar mais razoável a solução do problema. Recomendamos que você reveja o índice de deficiência de hidrogênio (Seção 1.4) e a Regra do Treze (Seção 1.5) e aplique esses métodos a cada um dos problemas a seguir. Para ajudá-lo, apresentamos um problema com solução.

EXEMPLO RESOLVIDO

Um composto desconhecido tem o espectro de massa indicado a seguir. O espectro infravermelho do composto mostra picos significativos em

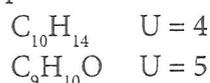
3102 cm^{-1}	3087	3062	3030	1688
1598	1583	1460	1449	1353
1221	952	746	691	

Há também uma banda do estiramento C–H alifático entre 2879 e 2979 cm^{-1} .



SOLUÇÃO

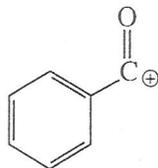
1. O íon molecular aparece em um valor m/z de 134. A aplicação da Regra do Treze produz as seguintes fórmulas moleculares possíveis:



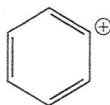
2. O espectro infravermelho mostra um pico C=O em 1688 cm^{-1} . A posição desse pico, juntamente com os picos do estiramento C–H na faixa entre 3030 e 3102 cm^{-1} e os picos do

estiramento $C=C$ na faixa entre 1449 e 1598 cm^{-1} , sugere uma cetona em que o grupo carbonila é conjugado com um anel benzênico. Tal estrutura seria consistente com a segunda fórmula molecular e com o índice de deficiência de hidrogênio.

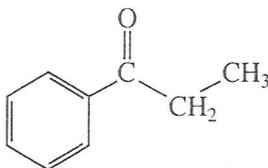
3. O pico-base no espectro de massa aparece em $m/z = 105$. Esse pico provavelmente se deve à formação de um cátion benzoíla.



Subtrair a massa do íon benzoíla da massa do íon molecular produz uma diferença de 29, sugerindo que um grupo etila está anexo ao carbono carbonila. O pico que aparece em $m/z = 77$ é proveniente do cátion fenila.

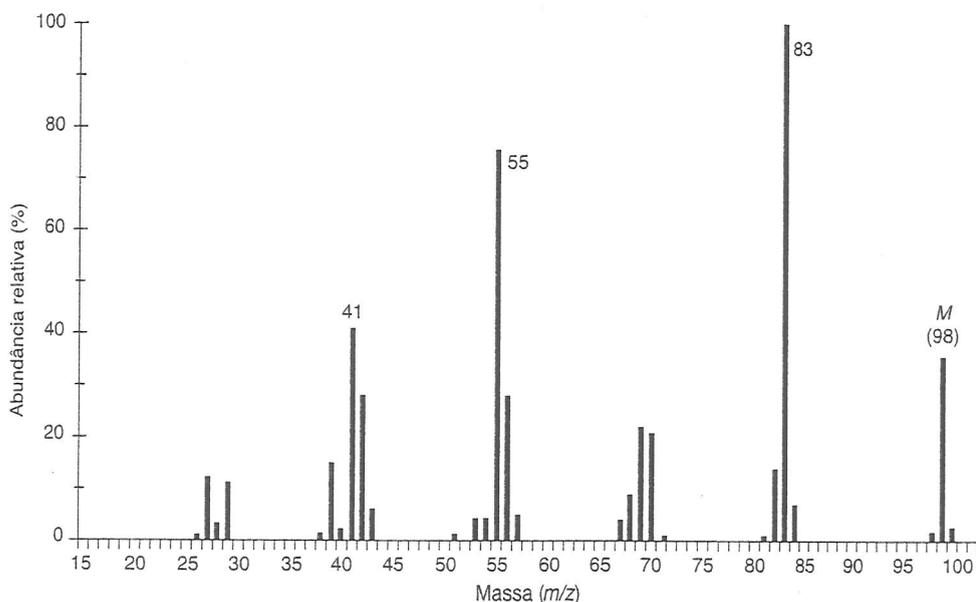


4. Se juntarmos todas as “peças” sugeridas pelos dados, como descrito anteriormente, concluiremos que o composto desconhecido é *propiofenona* (*1-fenil-1-propanona*).

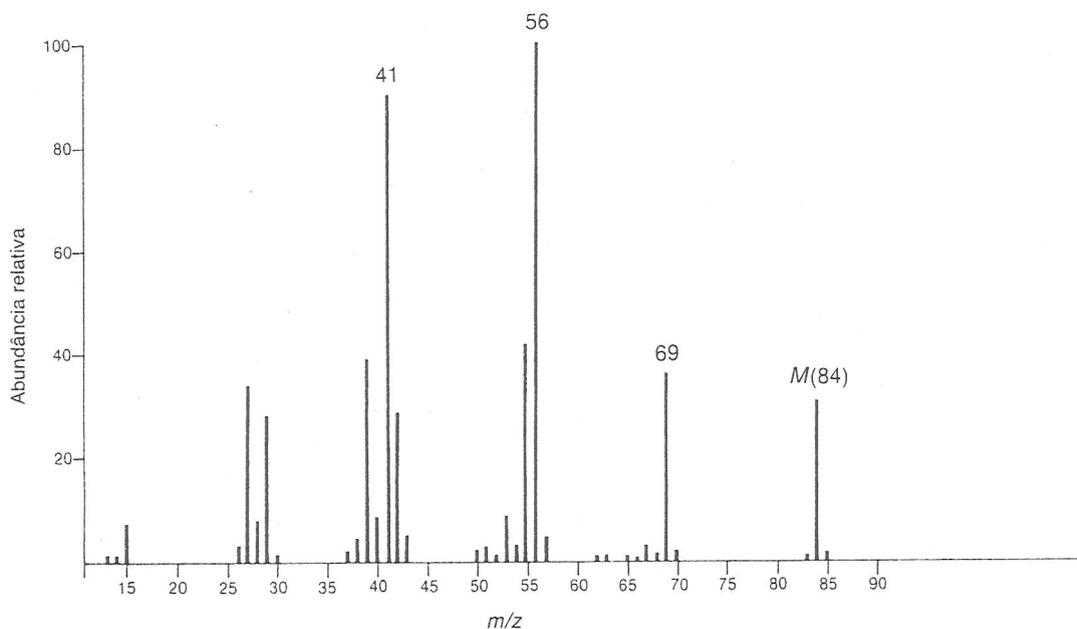


Problema 7 (continuação)

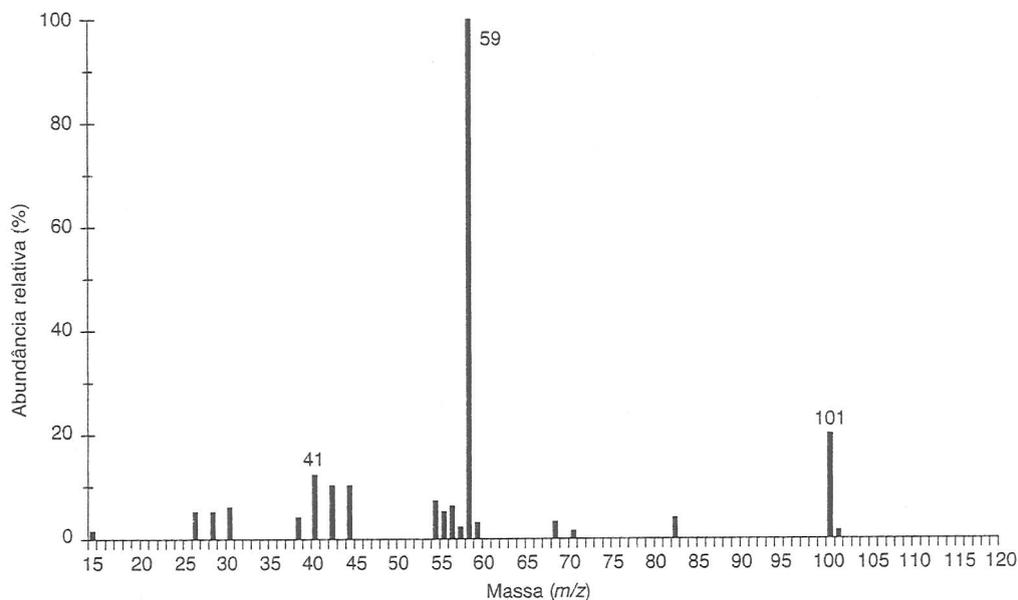
- *(a) O espectro infravermelho não tem características interessantes, a não ser estiramento e dobramento $C-H$ alifáticos.



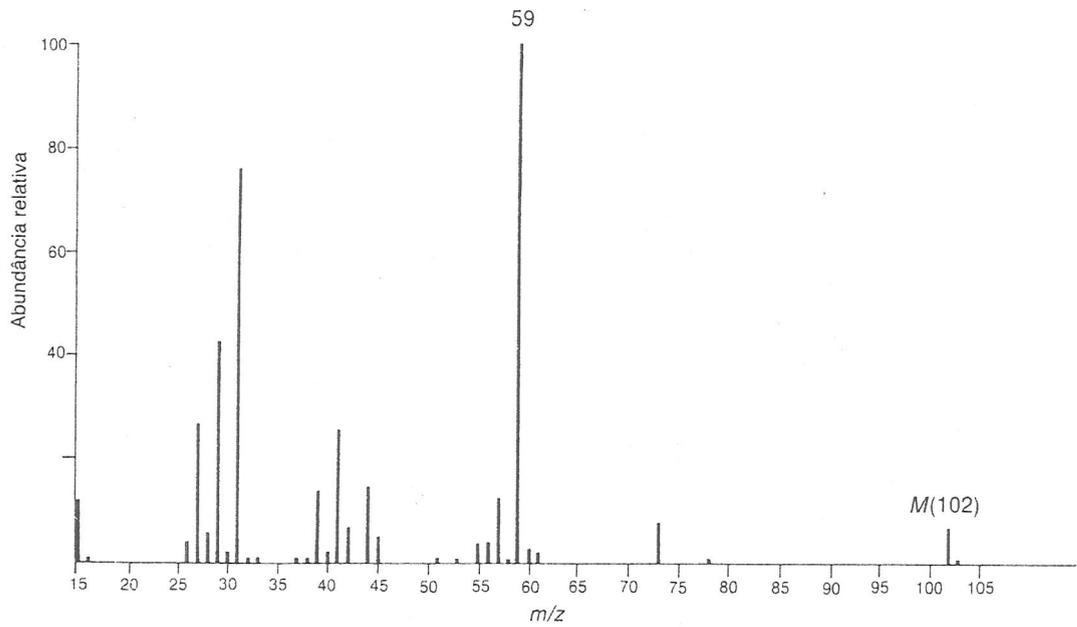
- *(b) O espectro infravermelho tem um pico de intensidade média em aproximadamente 1650 cm^{-1} . Há também um pico de dobramento C—H fora do plano próximo de 880 cm^{-1} .



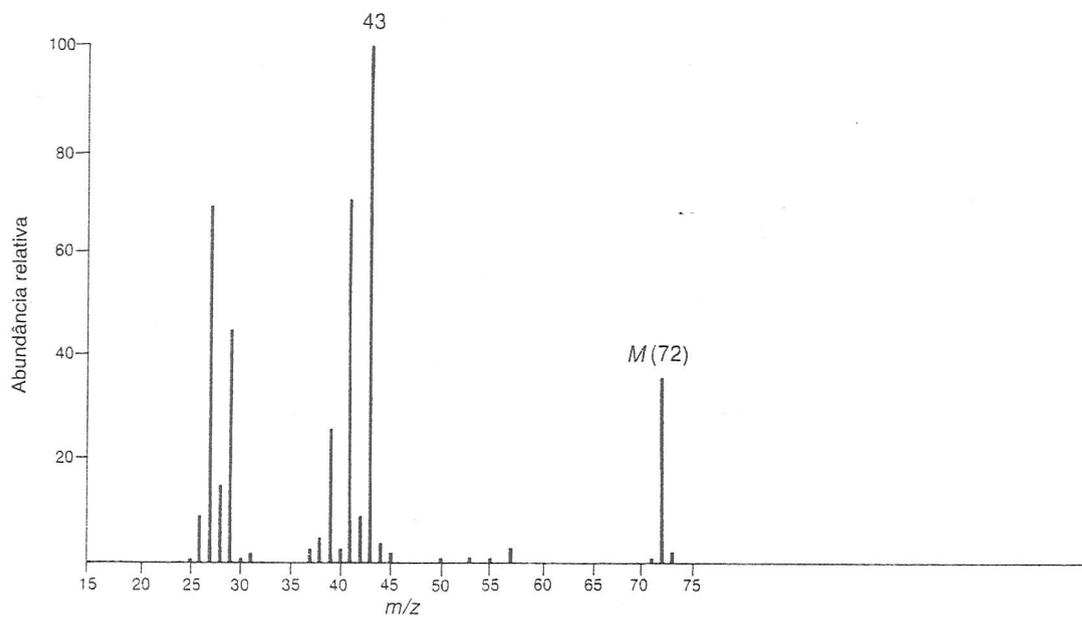
- *(c) O espectro infravermelho da substância tem um pico destacado, largo, em 3370 cm^{-1} . Há também um pico forte em 1159 cm^{-1} . O espectro de massa dessa substância não apresenta um pico de íon molecular. Você terá de deduzir o peso molecular dessa substância a partir do pico de íon fragmento mais pesado, que surge da perda de um grupo metila do íon molecular.



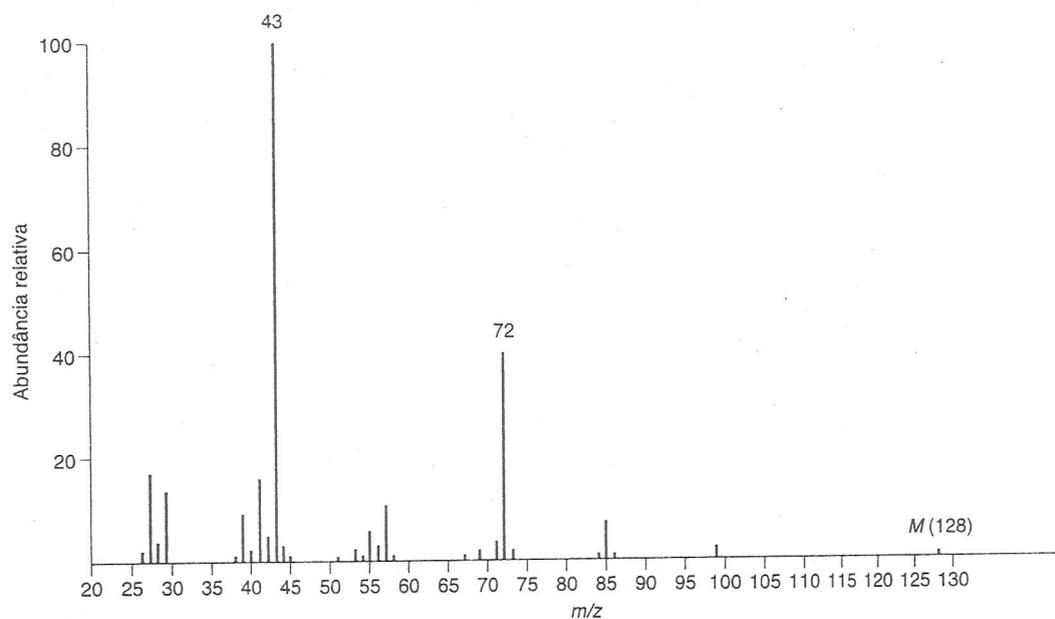
*(d) Essa substância contém oxigênio, mas não apresenta nenhum pico de absorção significativo no infravermelho acima de 3000 cm^{-1} .



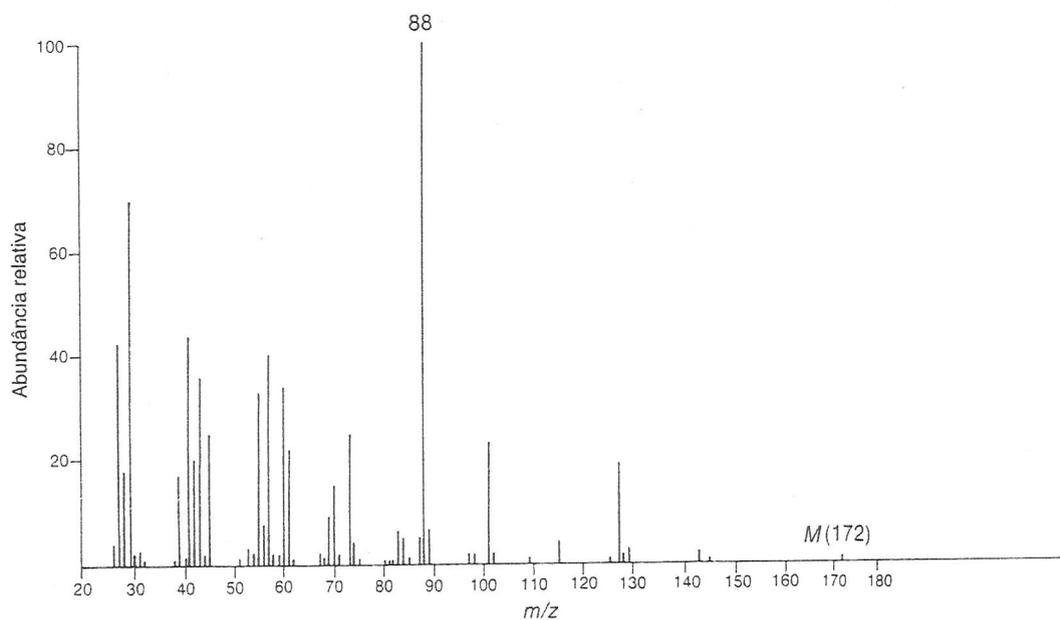
*(e) O espectro infravermelho dessa substância apresenta um pico forte próximo de 1725 cm^{-1} .



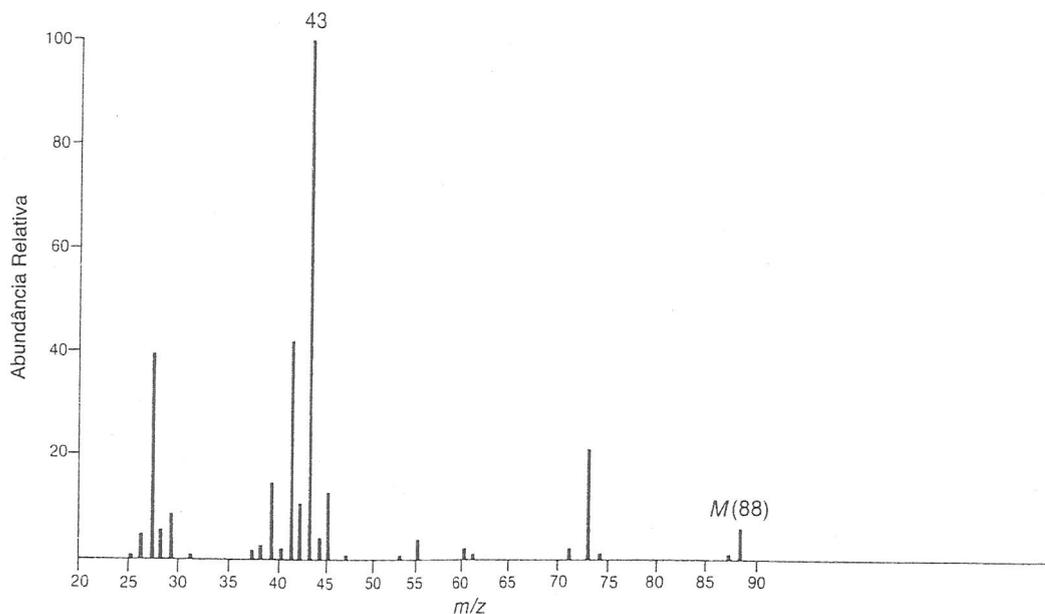
* (f) O espectro infravermelho dessa substância apresenta um pico forte próximo de 1715 cm^{-1} .



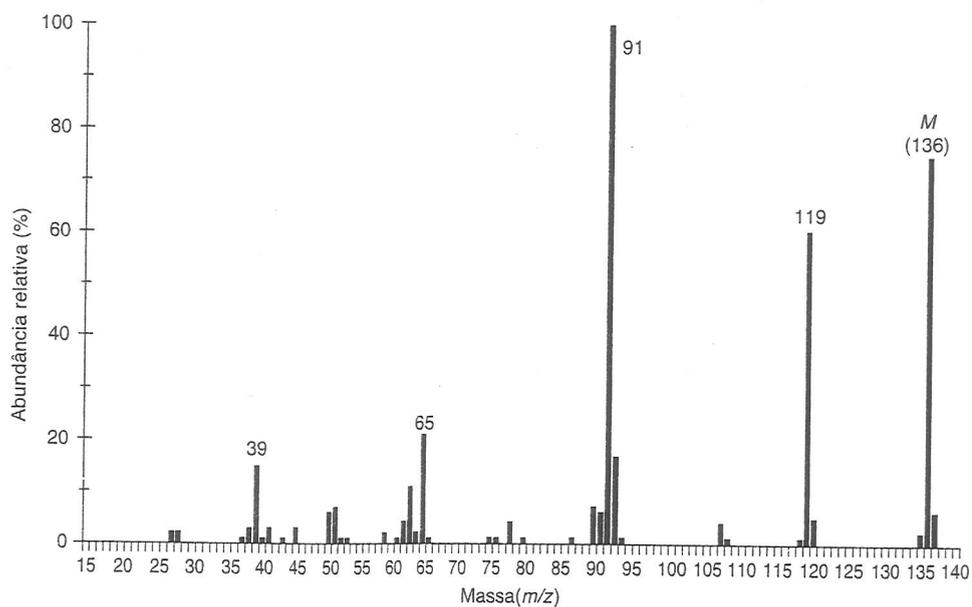
* (g) O espectro infravermelho desse composto não apresenta nenhuma absorção significativa acima de 3000 cm^{-1} . Há um pico destacado próximo de 1740 cm^{-1} e um pico forte por volta de 1200 cm^{-1} .



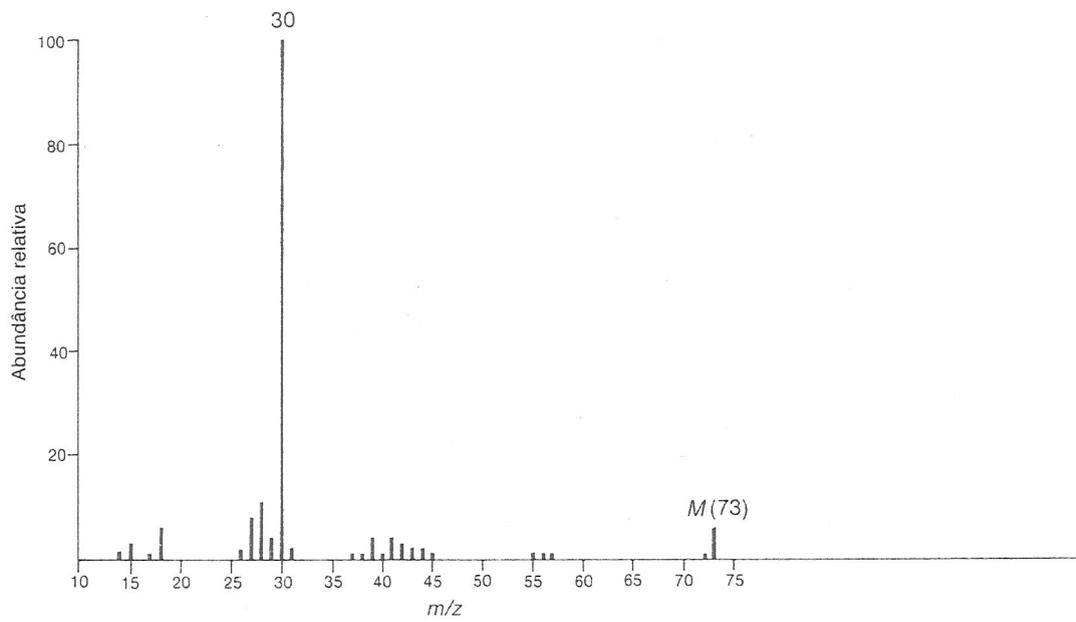
- *(h) O espectro infravermelho dessa substância apresenta um pico muito forte, largo, na faixa entre 2500 e 3000 cm^{-1} , assim como um pico forte, um tanto alargado, por volta de 1710 cm^{-1} .



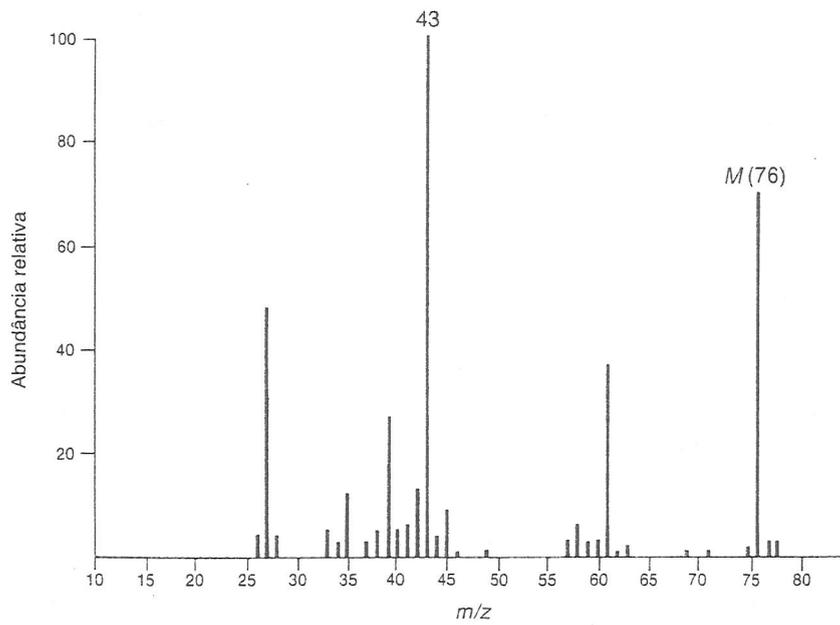
- *(i) O espectro de RMN ^{13}C dessa substância apresenta apenas quatro picos na região entre 125 e 145 ppm . O espectro infravermelho apresenta um pico muito forte e largo que vai de 2500 a 3500 cm^{-1} e também um pico forte, um tanto largo, em 1680 cm^{-1} .



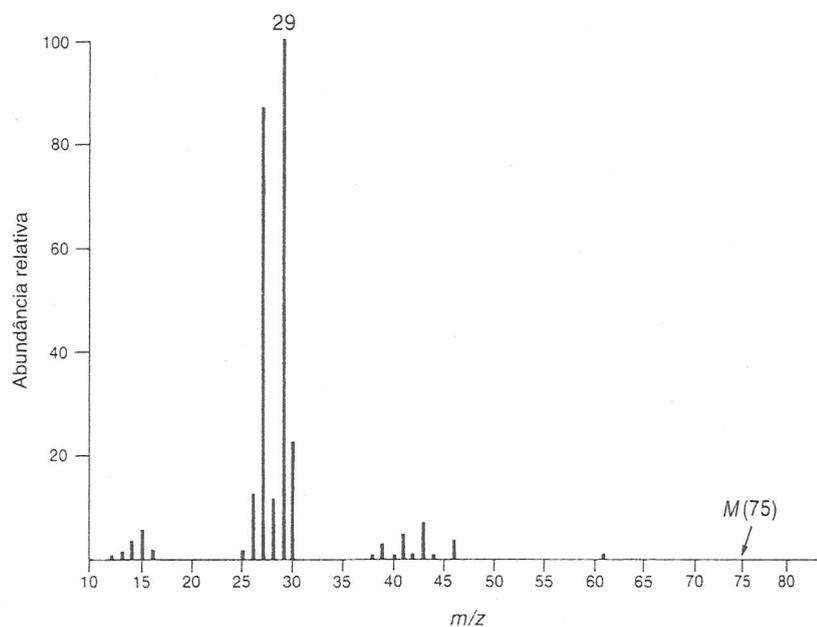
*(j) Note o valor ímpar de massa do íon molecular nessa substância.



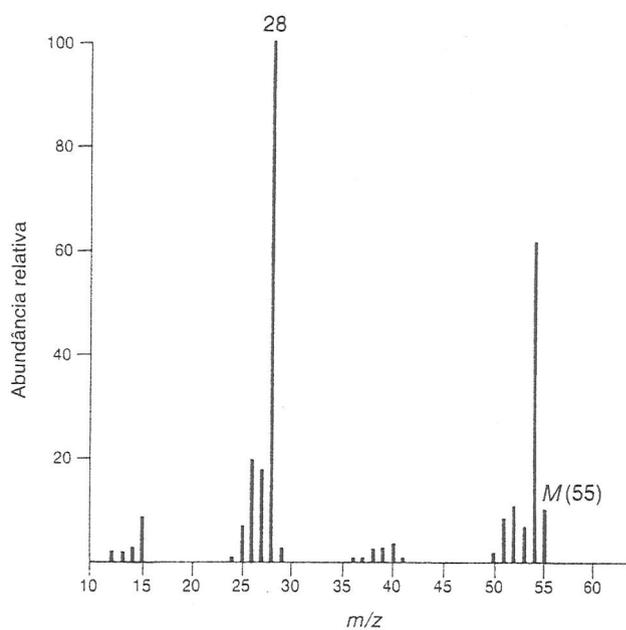
*(k) Note o pico $M + 2$ no espectro de massa.



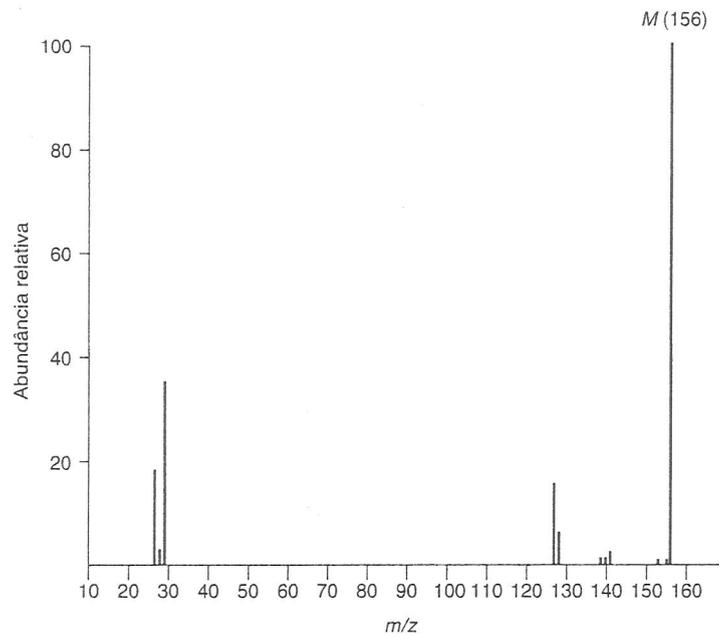
*(l) O espectro infravermelho dessa substância apresenta dois picos fortes, um próximo de 1350 cm^{-1} e o outro por volta de 1550 cm^{-1} . Note que a massa do íon molecular é *ímpar*.



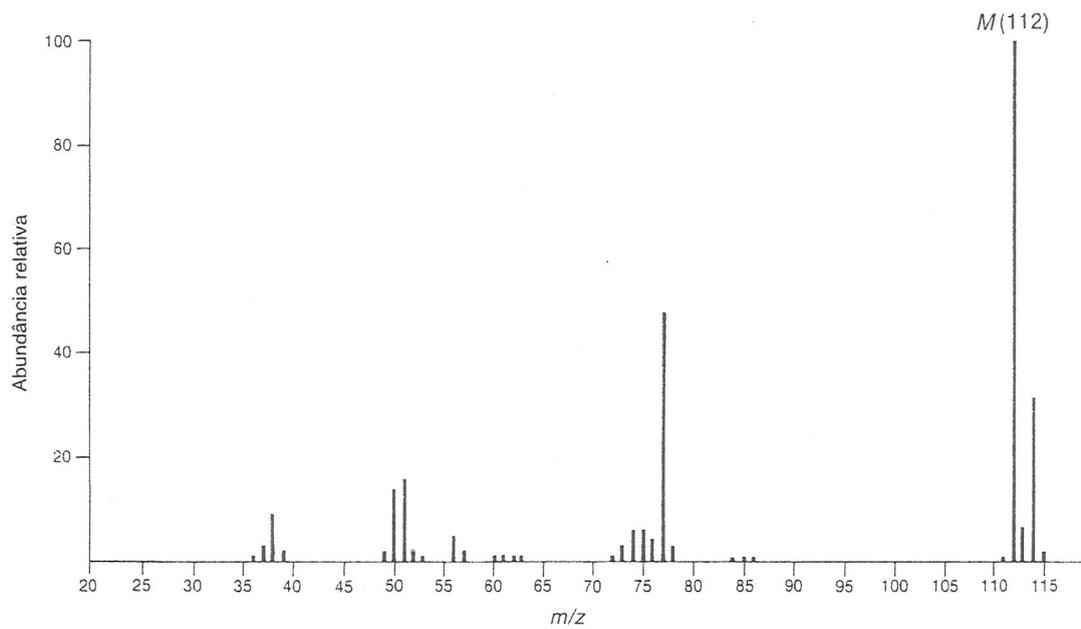
*(m) Há um pico agudo de intensidade média por volta de 2250 cm^{-1} no espectro infravermelho desse composto.



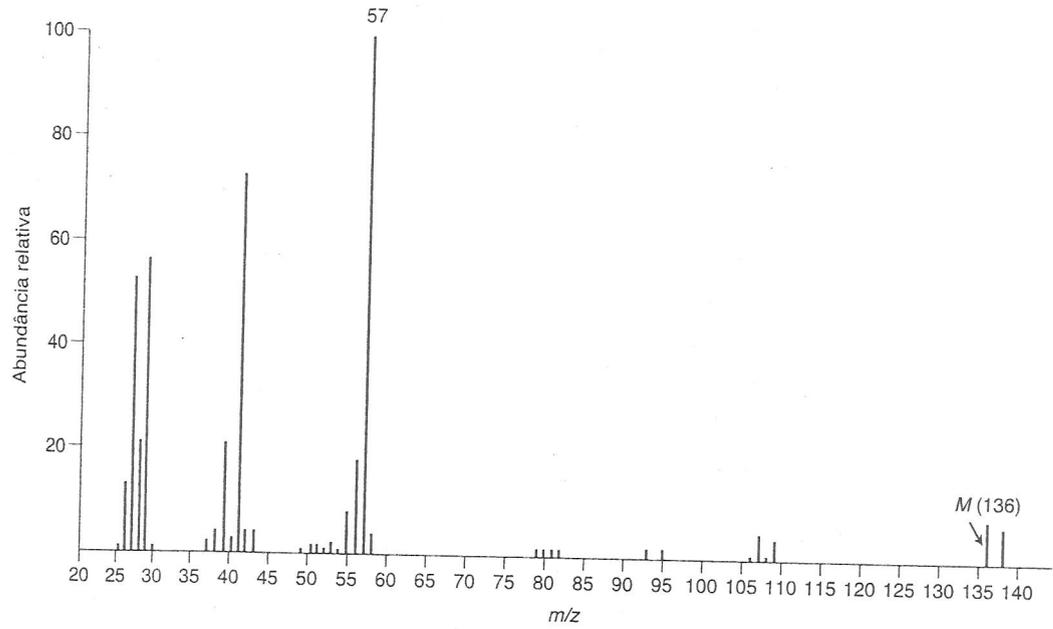
*(n) Observe os íons fragmentos em $m/z = 127$ e 128 . De que íons esses picos podem surgir?



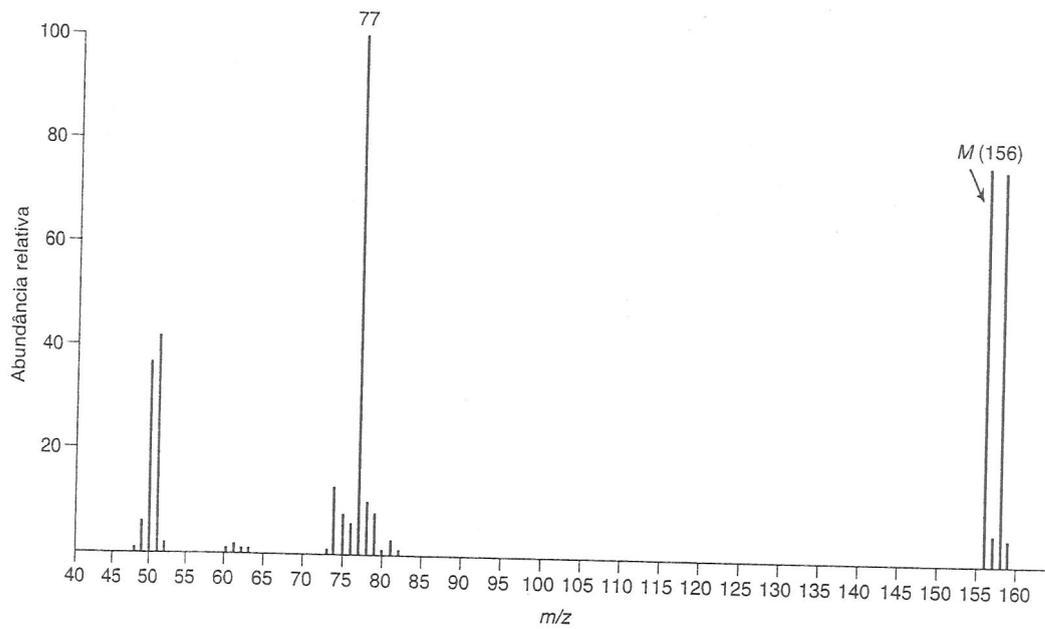
*(o)



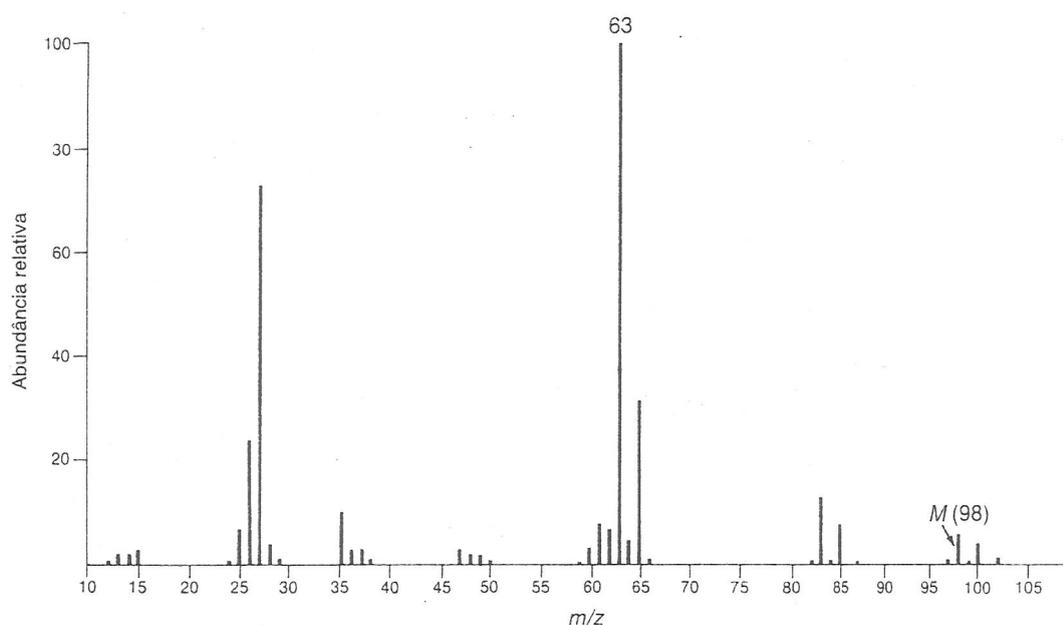
*(p)



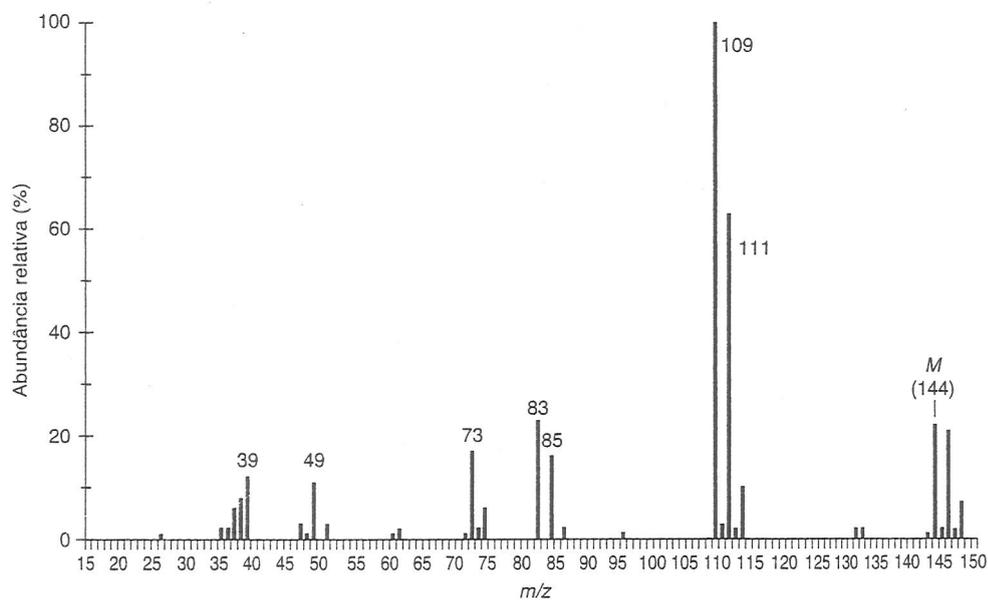
*(q)



*(r)

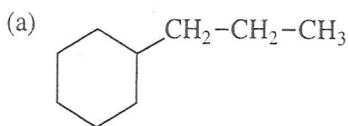


*(s) O espectro infravermelho dessa substância apresenta um pico agudo em 3.087 cm^{-1} e um pico agudo em 1.612 cm^{-1} , além de outras absorções. A substância contém átomos de cloro, mas alguns dos picos isotópicos ($M + n$) são fracos demais para serem vistos.

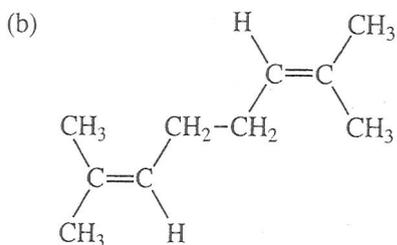
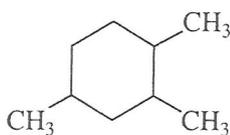


8. O espectro de massa do 3-butan-2-ol apresenta um pico grande em $m/z = 55$. Desenhe a estrutura do fragmento e explique por que ele é particularmente estável.

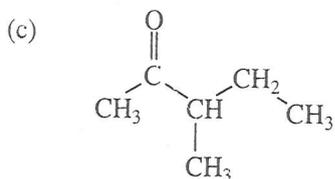
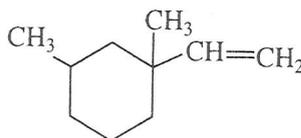
9. Como podem os pares de compostos isoméricos apresentados a seguir ser diferenciados por espectrometria de massa?



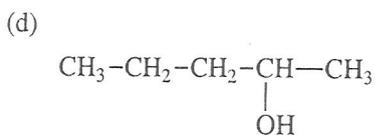
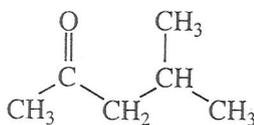
e



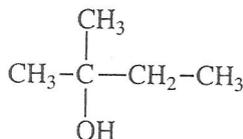
e



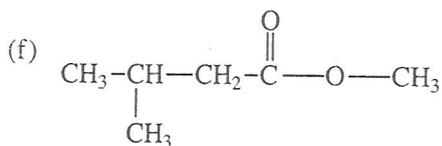
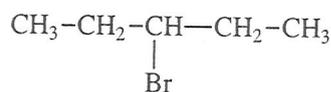
e



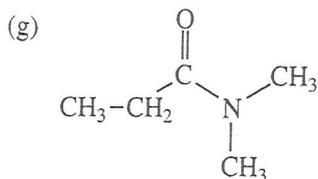
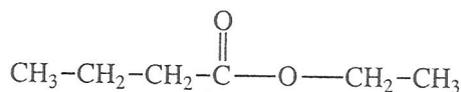
e



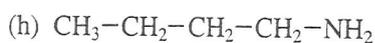
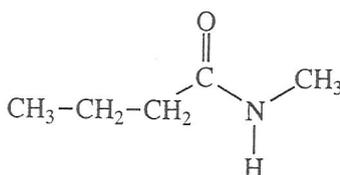
e



e

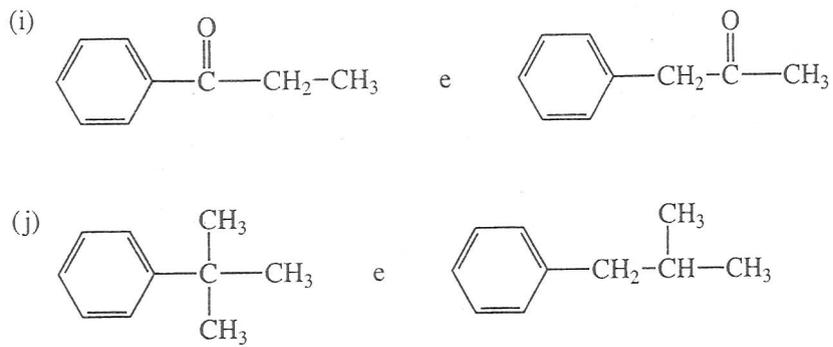


e



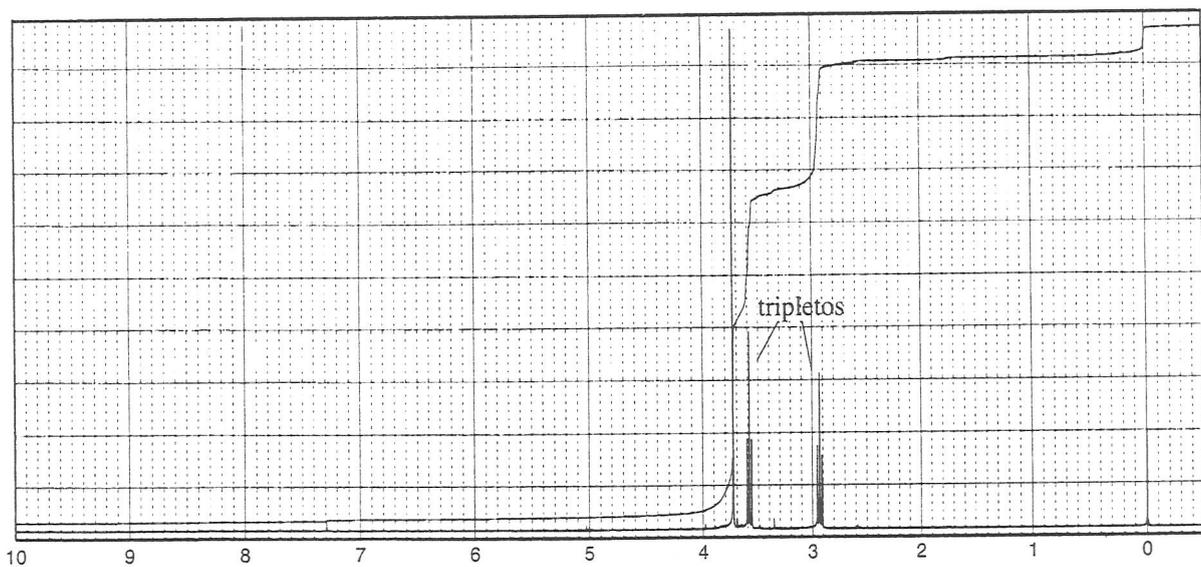
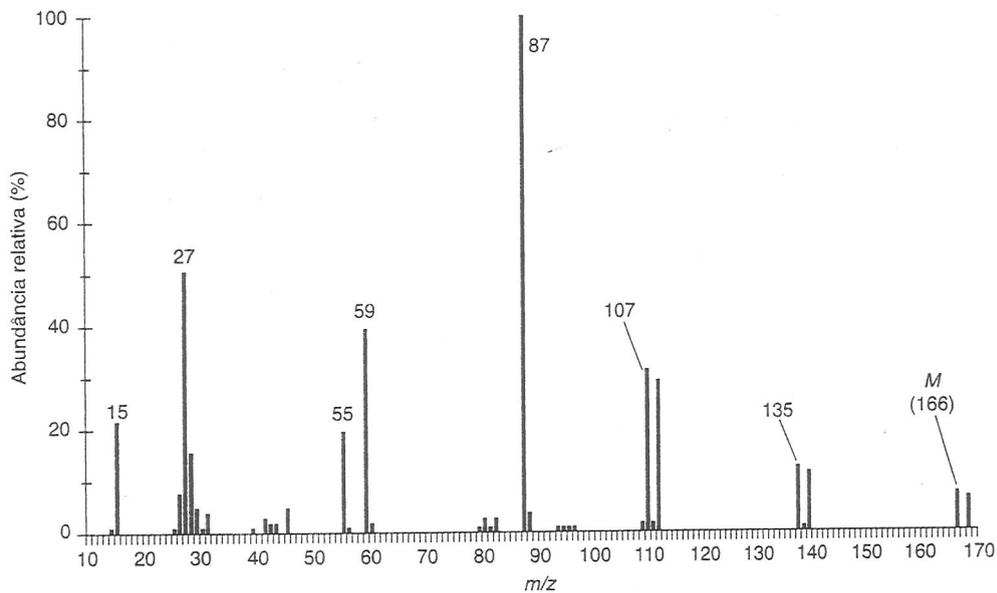
e

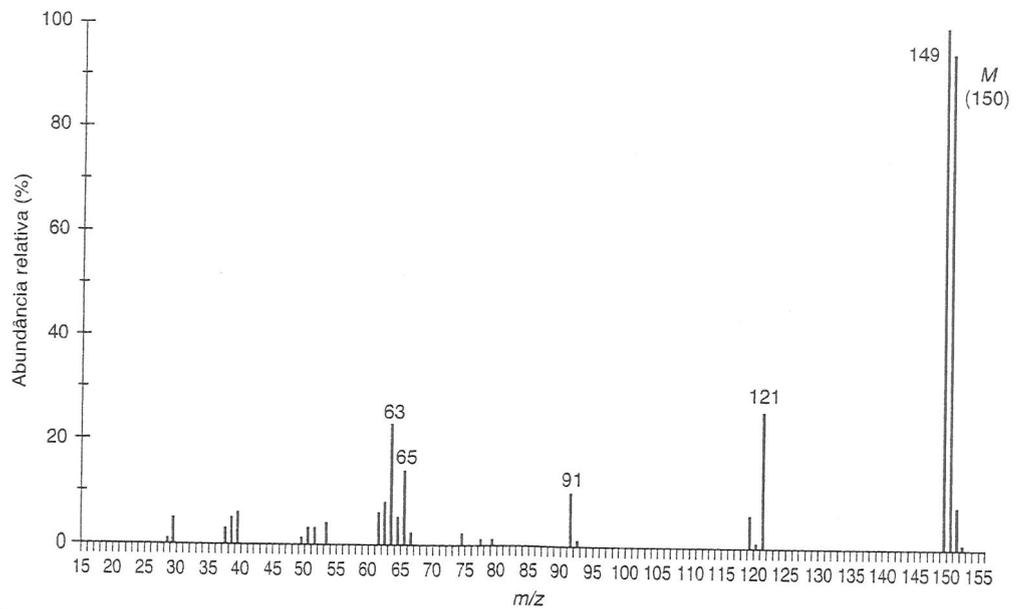
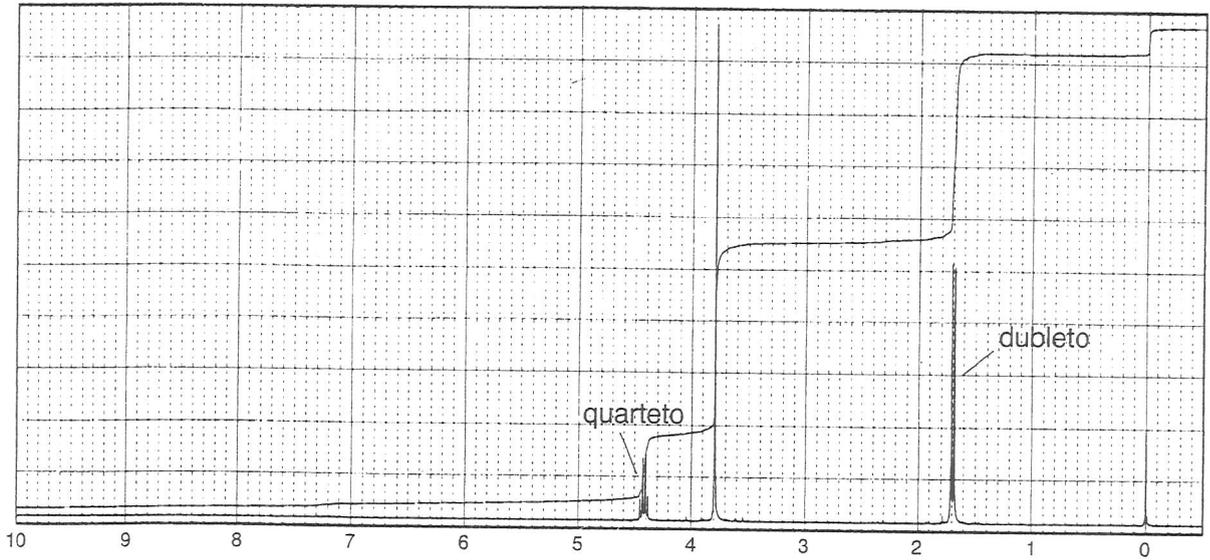
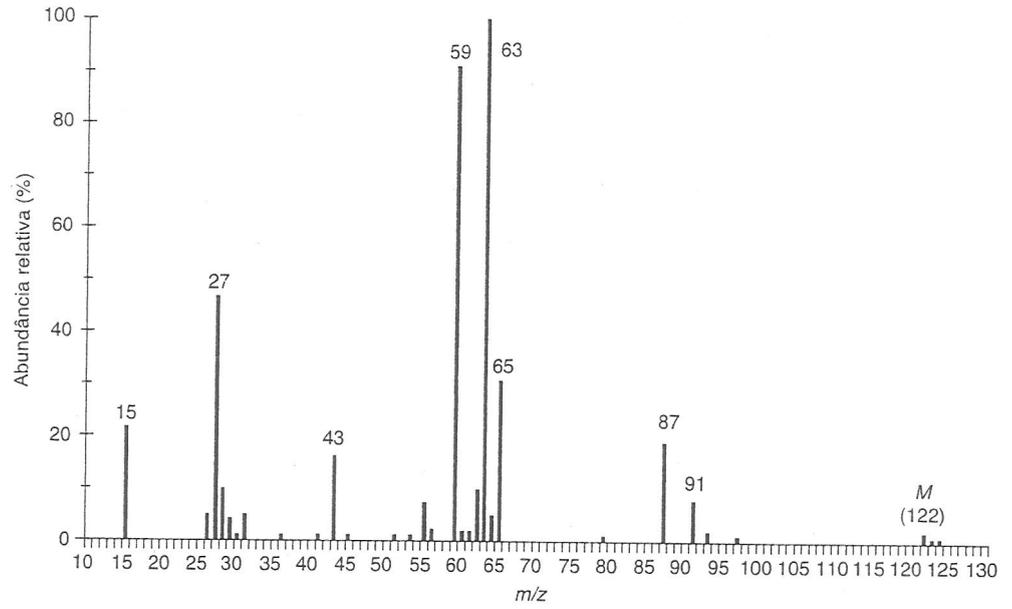
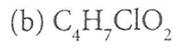


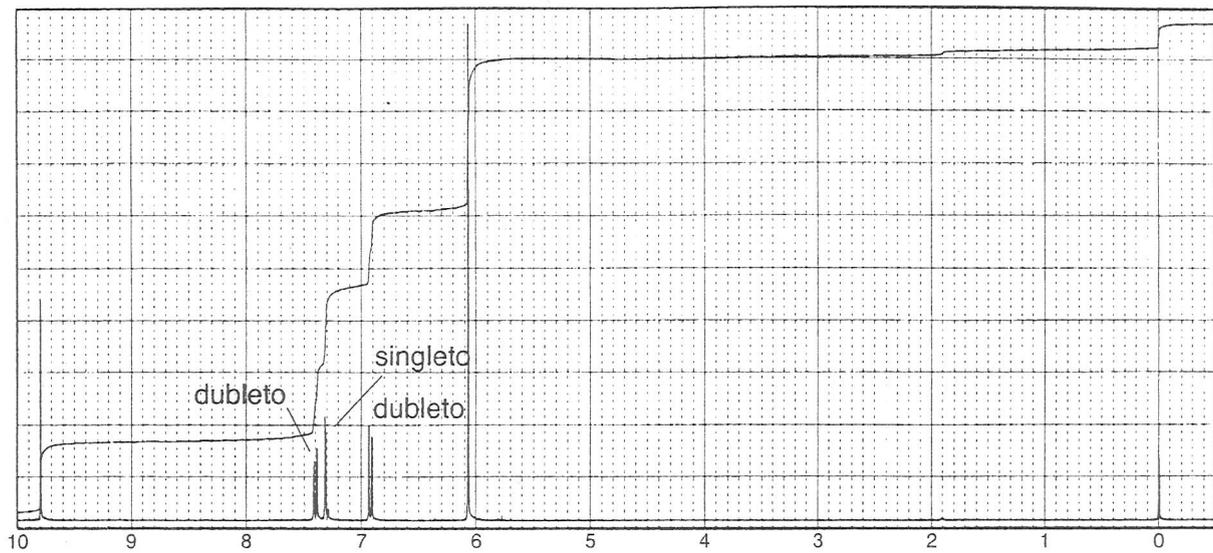


10. Use o espectro de massa e os dados espectrais adicionais fornecidos para deduzir a estrutura de cada um dos compostos a seguir:

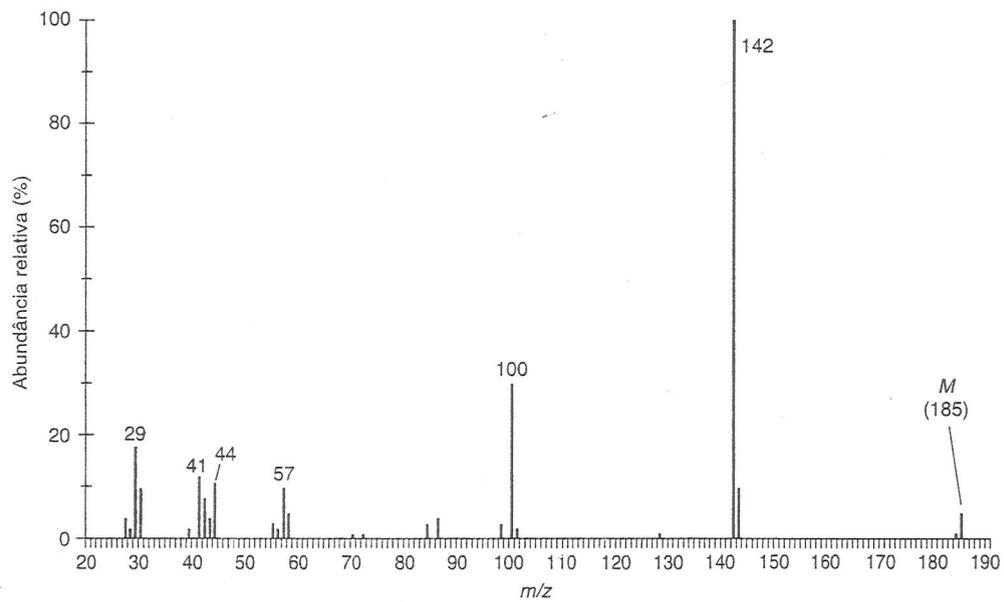
(a) $C_4H_7BrO_2$



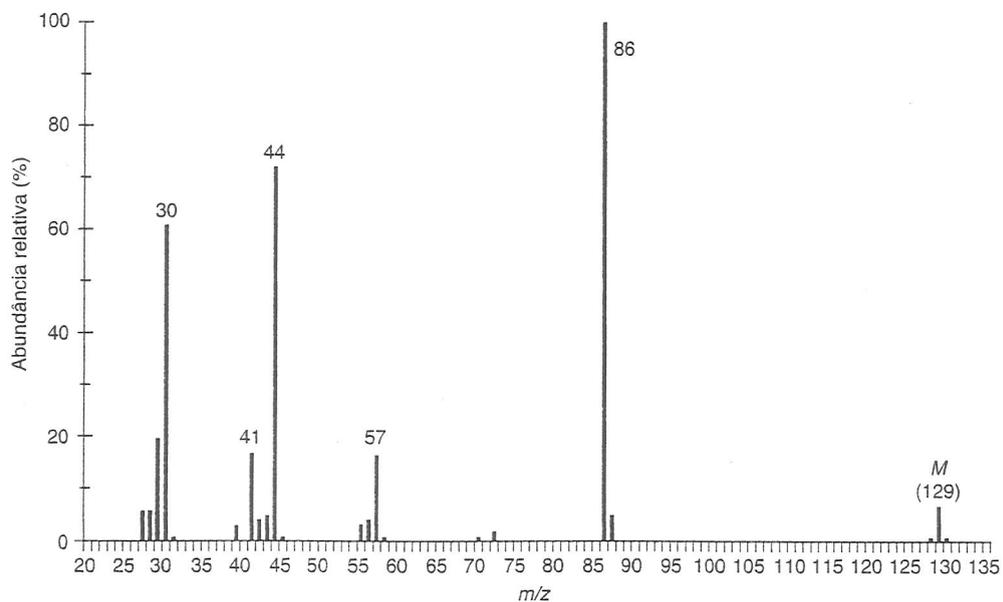




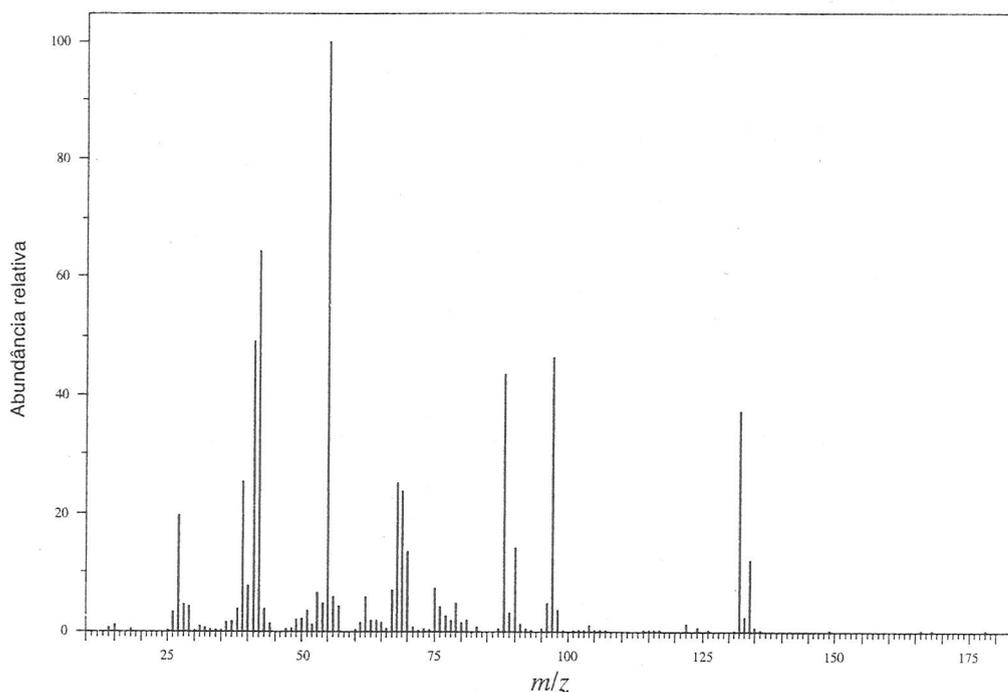
(d) O espectro infravermelho não apresenta picos significativos acima de 3000 cm^{-1} .



(e) O espectro infravermelho contém um único pico forte em 3280 cm^{-1} .



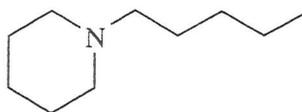
(f) O espectro infravermelho contém um único pico forte em 1723 cm^{-1} .



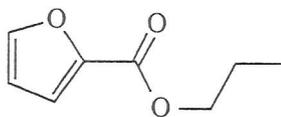
11. Para cada estrutura apresentada a seguir:

- Identifique o sítio de ionização inicial sob condições EI.
- Determine a estrutura do íon indicado pelo(s) valor(es) m/z .
- Esquematize um mecanismo de fragmentação que explique a formação dos íons fragmentos.

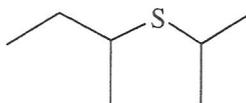
(a) Íon fragmento em $m/z = 98$ (pico-base no espectro)



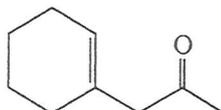
(b) Íon fragmento em $m/z = 95$ (pico-base no espectro)



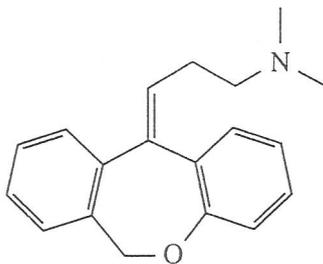
(c) Íons fragmentos em $m/z = 103$ e 61 (pico-base)



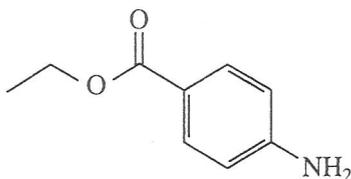
(d) Íons fragmentos em $m/z = 95$ (pico-base) e 43



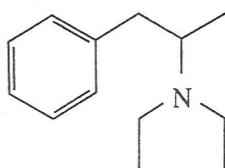
(e) Íon fragmento em $m/z = 58$ (pico-base)



(f) Íon fragmento em $m/z = 120$ (pico-base)

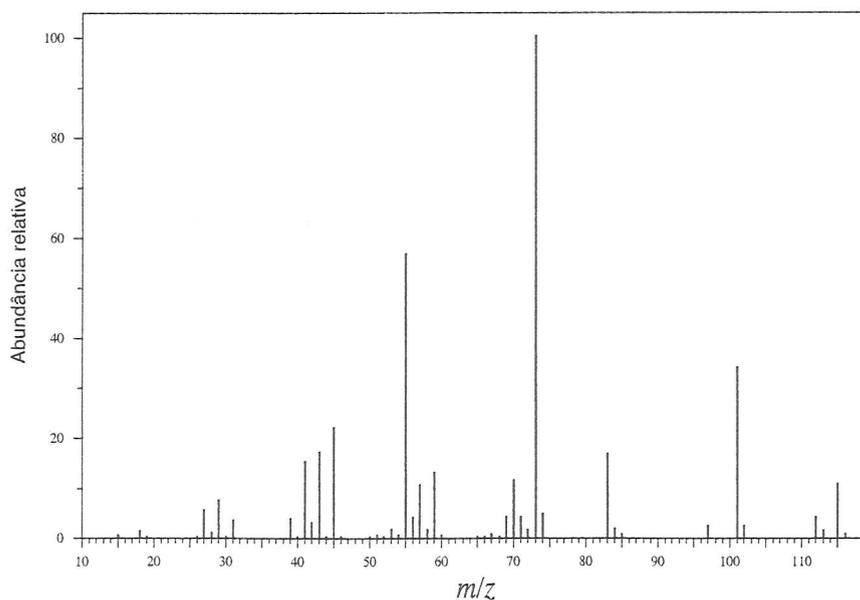


(g) Íons fragmentos em $m/z = 100$ (pico-base), 91, 72 e 44

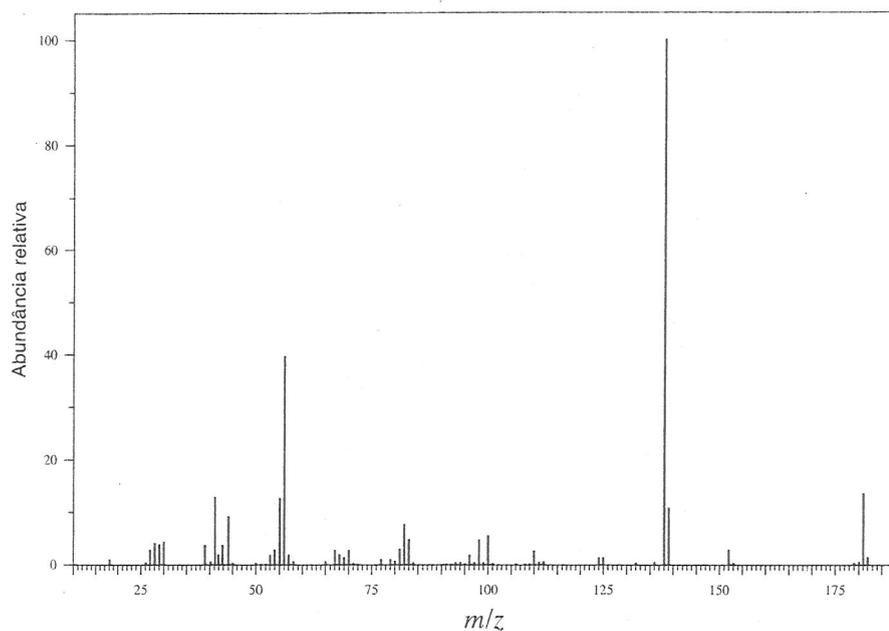


12. Para cada espectro de massa apresentado a seguir, determine a estrutura dos íons fragmentos proeminentes e esquematize um mecanismo de fragmentação para explicar sua formação.

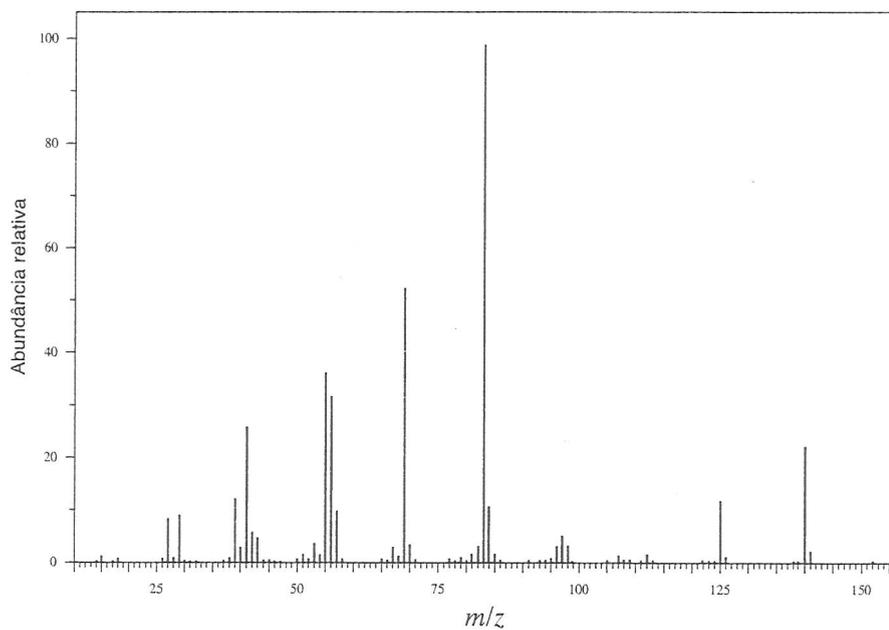
(a) 3-metil-3-heptanol



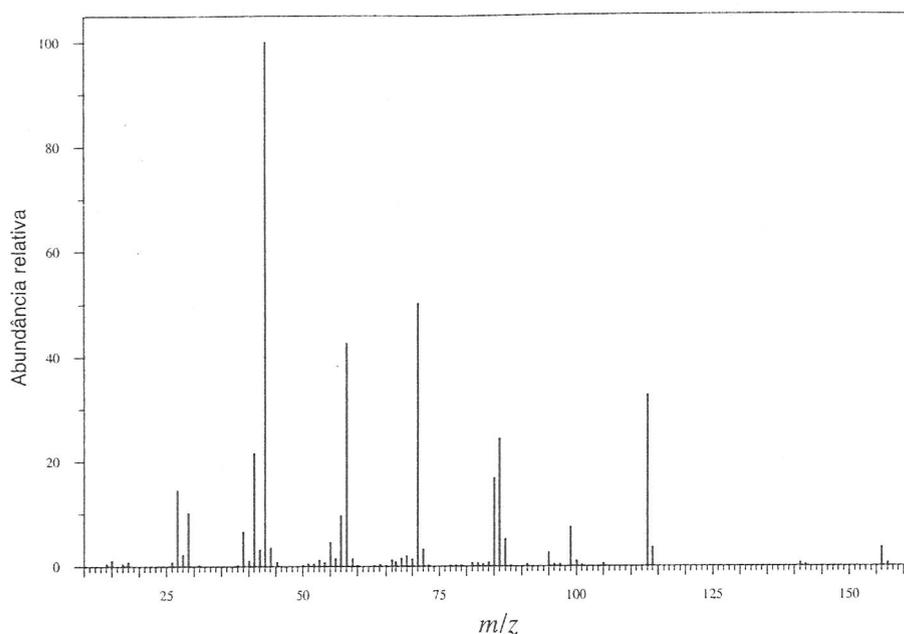
(b) Dicicloexilamina



(c) 3,3,5-trimetilciclohexanona

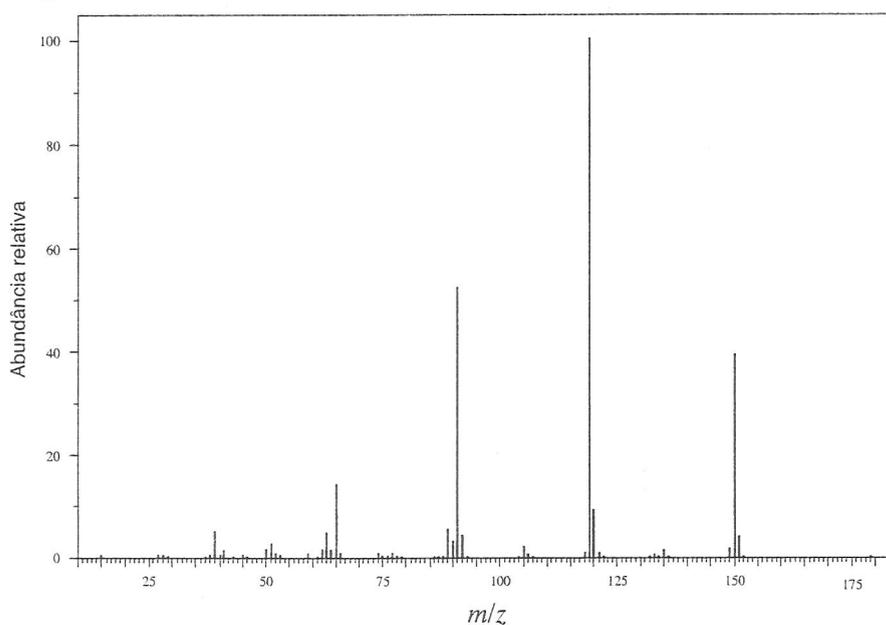


13. Ao descartar amostras velhas de seu laboratório, você encontra um frasco cuja etiqueta diz simplesmente “decanona”. Você realiza uma EI GC-MS do material e obtém o espectro de massa mostrado a seguir. Use o padrão de fragmentação para determinar qual isômero de decanona está no frasco.

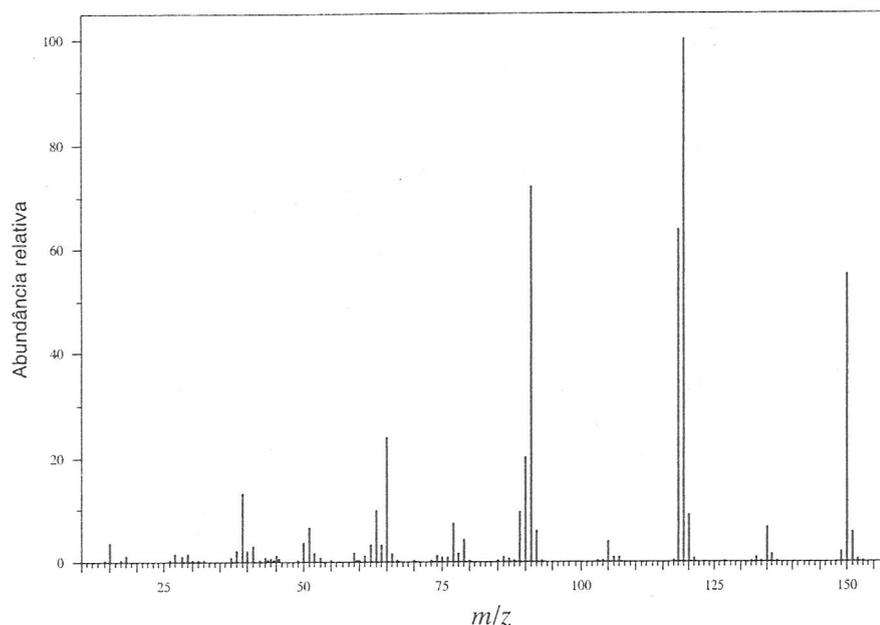


14. Todos os ésteres ftalatos dialquílicos exibem um pico base em $m/z = 149$. Qual é a estrutura desse íon fragmento? Desenhe um mecanismo que explique sua formação a partir do ftalato de dietila.
15. (a) A EI-MS do *orto*-nitrotolueno (PM = 137) apresenta um íon fragmento grande em $m/z = 120$. A EI-MS do α,α,α -trideutero-*orto*-nitrotolueno *não* tem um íon fragmento significativo em $m/z = 120$, mas tem um pico em $m/z = 122$. Mostre o processo de fragmentação que explica essas observações.
- (b) Os espectros de massa EI do 2-metilbenzoato de metila e do 3-metilbenzoato de metila são reproduzidos a seguir. Determine que espectro pertence a que isômero e explique sua resposta.

Espectro 1



Espectro 2



REFERÊNCIAS

- BEYNON, J. H. *Mass spectrometry and its applications to organic chemistry*. Amsterdã: Elsevier, 1960.
- BEYNON, J. H.; BRENTON, A. G. *Introduction to mass spectrometry*. Swansea: University of Wales Press, 1982.
- BIEMANN, K. *Mass spectrometry: organic chemical applications*. Nova York: McGraw-Hill, 1962.
- BUDZIKIEWICZ, H. *et al. Mass spectrometry of organic compounds*. San Francisco: Holden-Day, 1967.
- CHAPMAN, J. R. *Computers in mass spectrometry*. Nova York: Academic Press, 1978.
- CHAPMAN, J. R. *Practical organic mass spectrometry*. Nova York: John Wiley and Sons, 1985.
- CONSTANTIN, E. *et al. Mass spectrometry*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990.
- CREWS, P. *et al. Organic structure analysis*. Nova York: Oxford University Press, 1998.
- DAWSON, P. H. *Quadrupole mass spectrometry*. Nova York: Elsevier, 1976.
- DeHOFFMANN, E.; STROOBANT, V. *Mass spectrometry: principles and applications*. 2. ed. Nova York: John Wiley and Sons, 1999.
- DUCKWORTH, H. E. *et al. Mass spectroscopy*. 2. ed. Cambridge, England: Cambridge University Press, 1986.
- GROSS, J. H. *Mass spectrometry: a textbook*. Berlim: Springer, 2004.
- LAMBERT, J. B. *et al. Organic structural spectroscopy*. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1998.
- McFADDEN, W. H. *Techniques of combined gas chromatography/mass spectrometry: applications in organic analysis*. Nova York: Wiley-Interscience, 1989.
- McLAFFERTY, F. W.; TURECEK, F. *Interpretation of mass spectra*. 4. ed. Mill Valley: University Science Books, 1993.
- PRETSCH, E. *et al. Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data*. Berlim: Springer, 2000.

SILVERSTEIN, R. M. *et al.* *Spectrometric identification of organic compounds*. 7. ed. Nova York: John Wiley and Sons, 2005.

SMITH, R. M. *Understanding mass spectra, a basic approach*. 2. ed. Nova York: John Wiley and Sons, 2004.

Sites

<http://www.aist.go.jp/RIODG/SDBS/menu-e.html>

Instituto Nacional de Materiais e Pesquisas Químicas, Tsukuba, Ibaraki, Japão, Integrated Spectra Data Base System for Organic Compounds (SDBS).

<http://webbook.nist.gov/chemistry/>

Instituto Nacional de Padronizações e Tecnologia, NIST Chemistry WebBook.

<http://winter.group.shef.ac.uk/chemputer/>

<http://www.sisweb.com/mstools.htm>