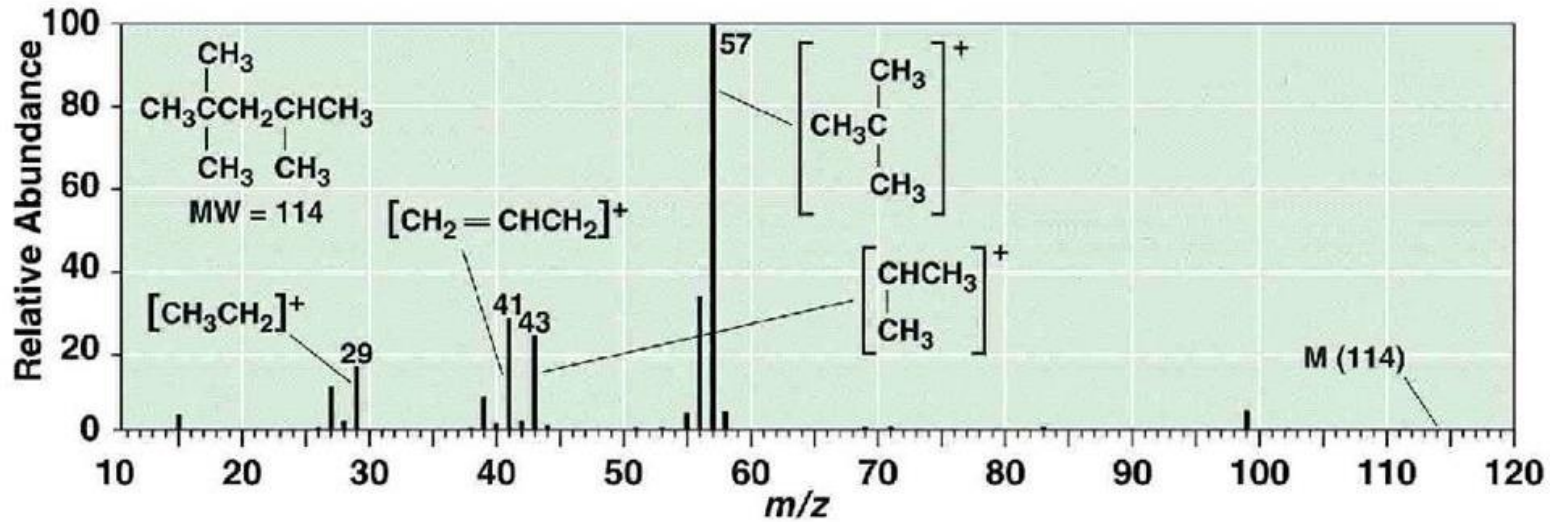


# **QFL1345 – Fundamentos de Espectroscopia e Métodos Espectroscópicos**

22 de maio de 2023 – Integral

## **Reações de fragmentação em EM: Princípios gerais**

# Espectro de massas do 2,2,4-trimetilpentano (MM 114 Da)

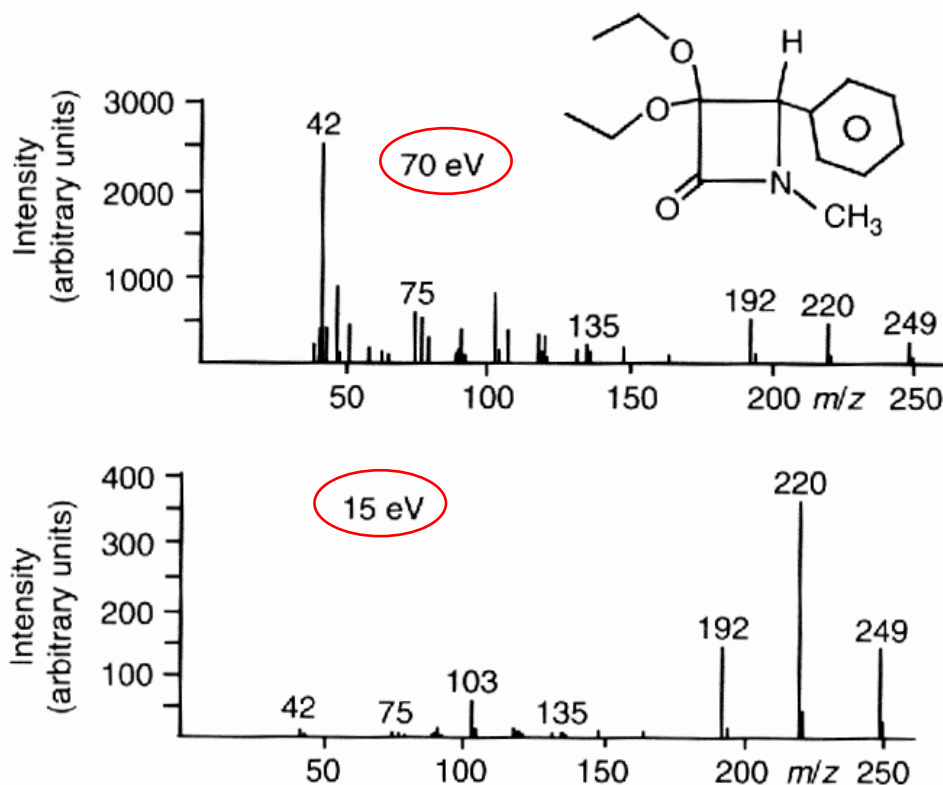


Alcanos ramificados possuem  $\text{M}^+$  de intensidade reduzida ou não são observados

Se o íon molecular for pouco visível  
no modo de ionização eletrônica:

- 1) Abaixar o potencial de ionização;
- 2) Obter o espectro por ionização química;
- 3) Obter o espectro no modo electrospray

# Espectros de massas de uma $\beta$ -lactama a duas energias eletrônicas diferentes: maior fragmentação a 70 eV

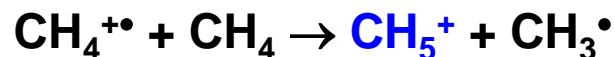


Íon molecular  
 $m/z$  249 Da

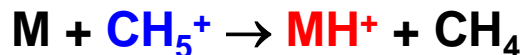
# Ionização química

## Método mais suave com menor fragmentação

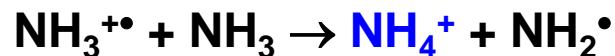
- Ionização produzida por uma reação química provocada por um gás ionizado.
- Gás reagente, p.ex. CH<sub>4</sub>



- CH<sub>5</sub><sup>+</sup> é um ácido de Brønsted muito forte em fase gasosa: leva a ionização suave com formação de MH<sup>+</sup> e fragmentos eventuais

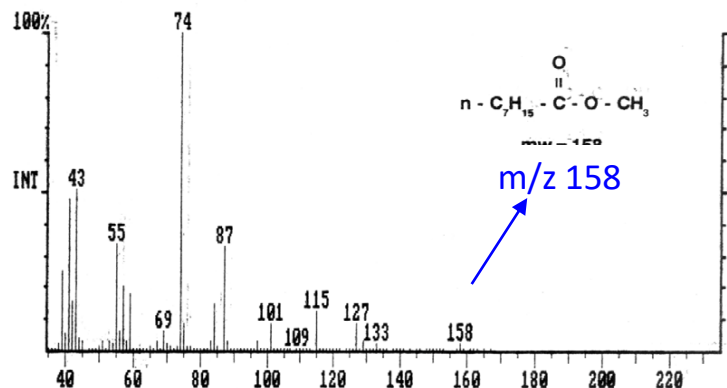


- Outros gases: isobutano, C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>, NH<sub>3</sub>



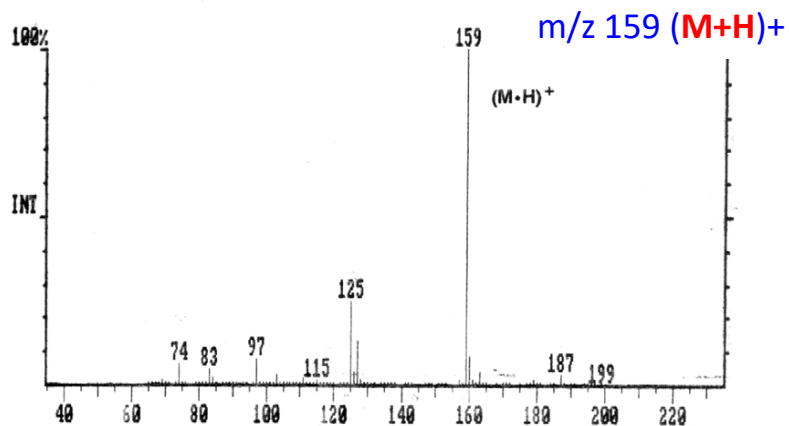
# Comparação entre Ionização eletrônica e ionização química

Ion Trap Electron Ionization Mass Spectrum of Methyl Octanoate



Ionização eletrônica

Methane Chemical Ionization Mass Spectrum of Methyl Octanoate



ionização química

# Reações de produção de íons em EM

## Electrospray (ESI)

### Impacto de elétrons

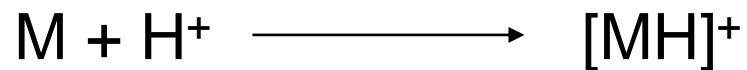
#### Remoção de elétrons



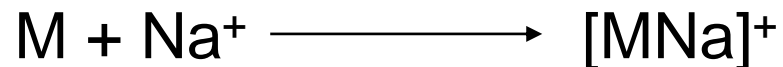
#### Captura de elétrons



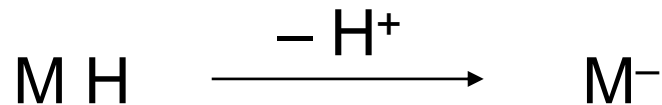
#### Protonação



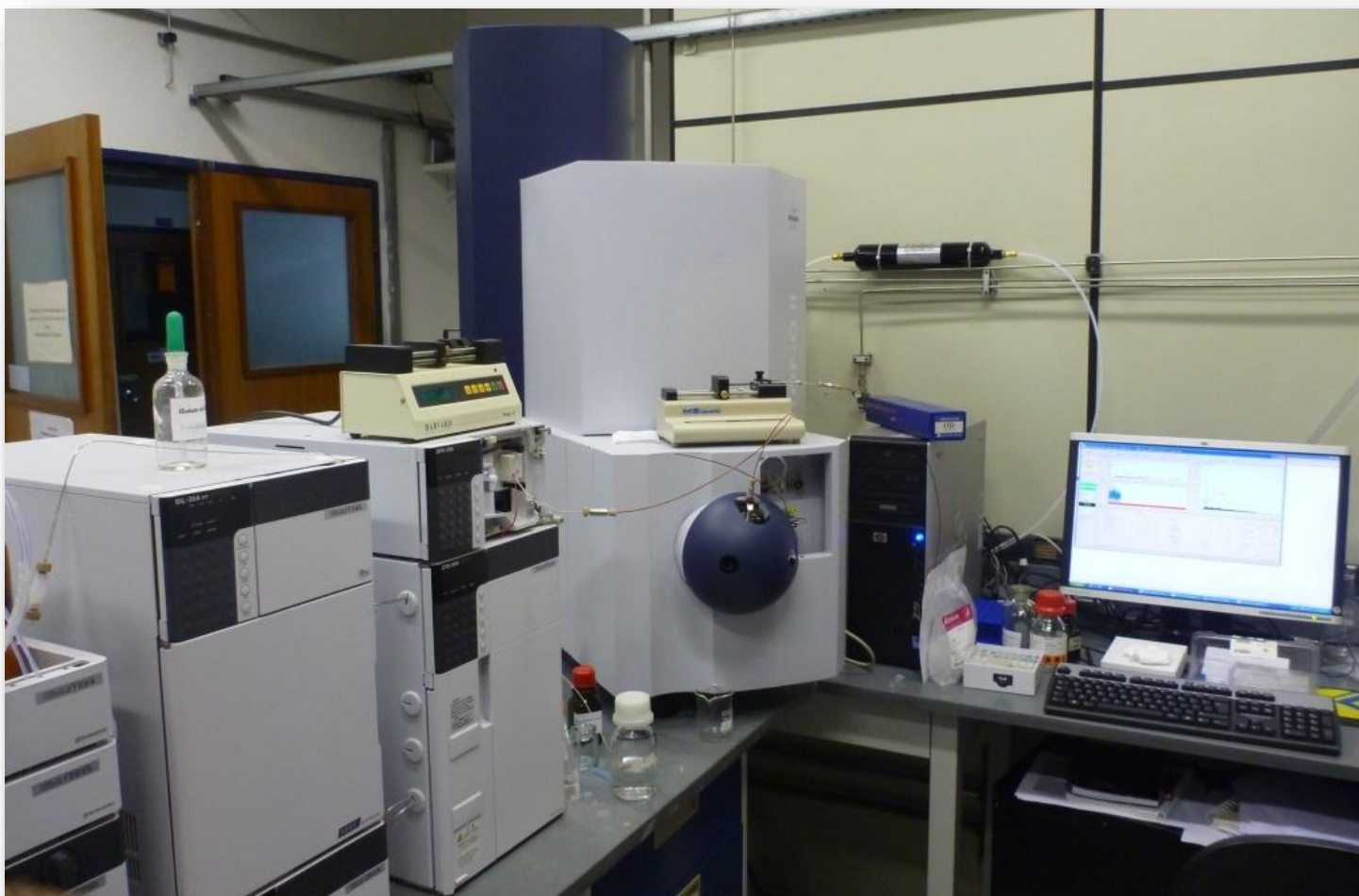
#### Cationização



#### Desprotonação

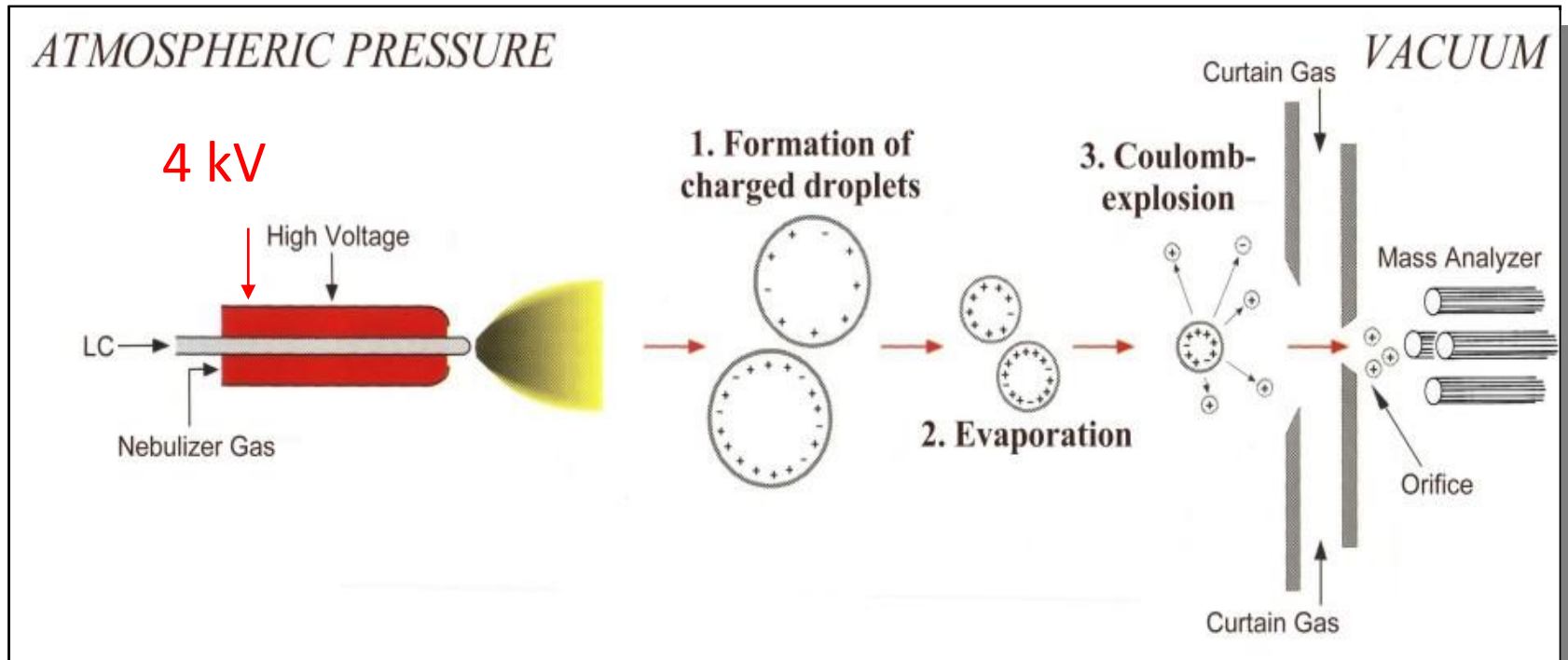


# HPLC - Bruker Q-ToF





# Ionização por Nebulização Eletrônica (ESI)

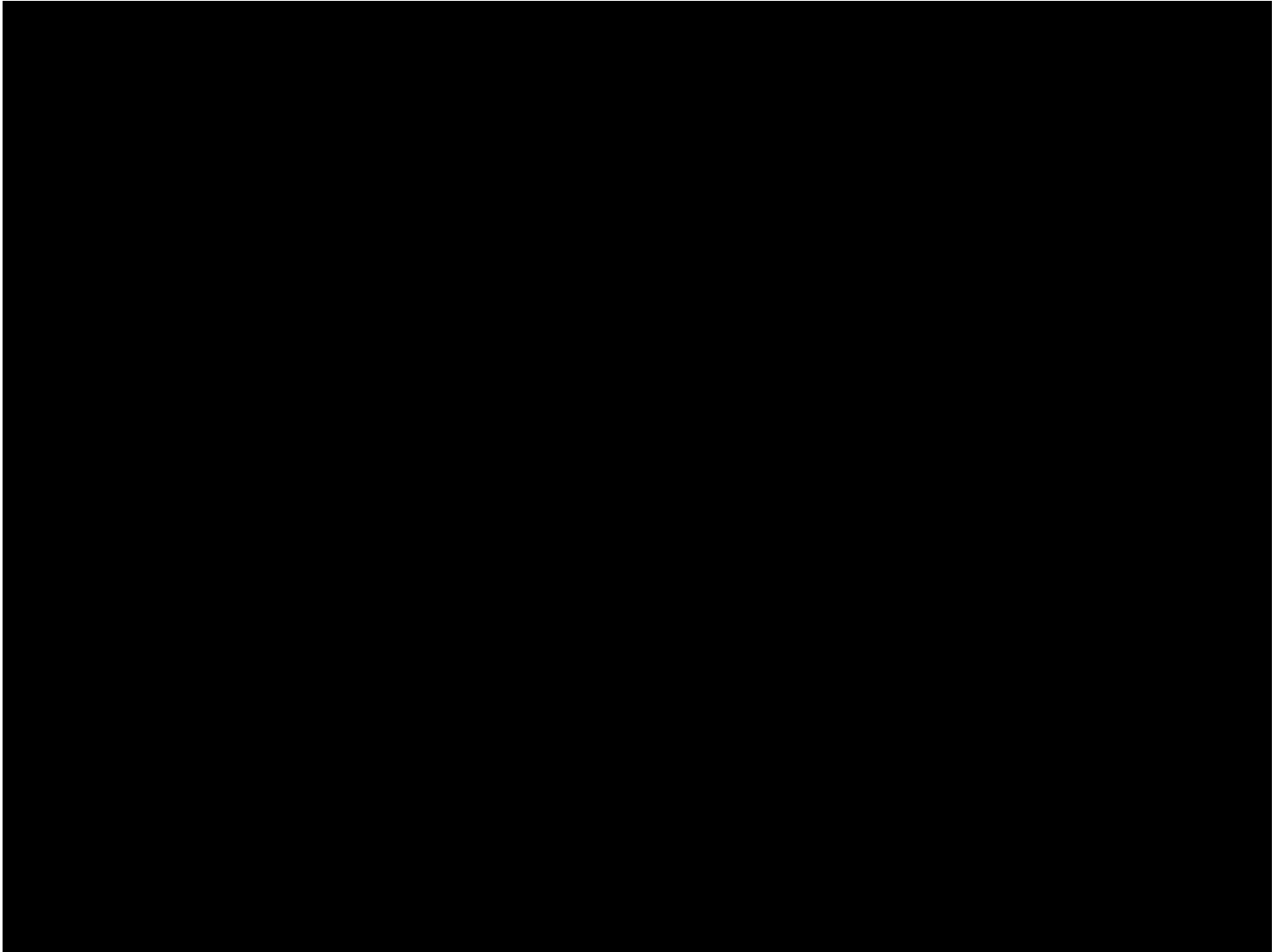


- Técnica “branda” de ionization
- Aplicável à compostos polares e iônicos.

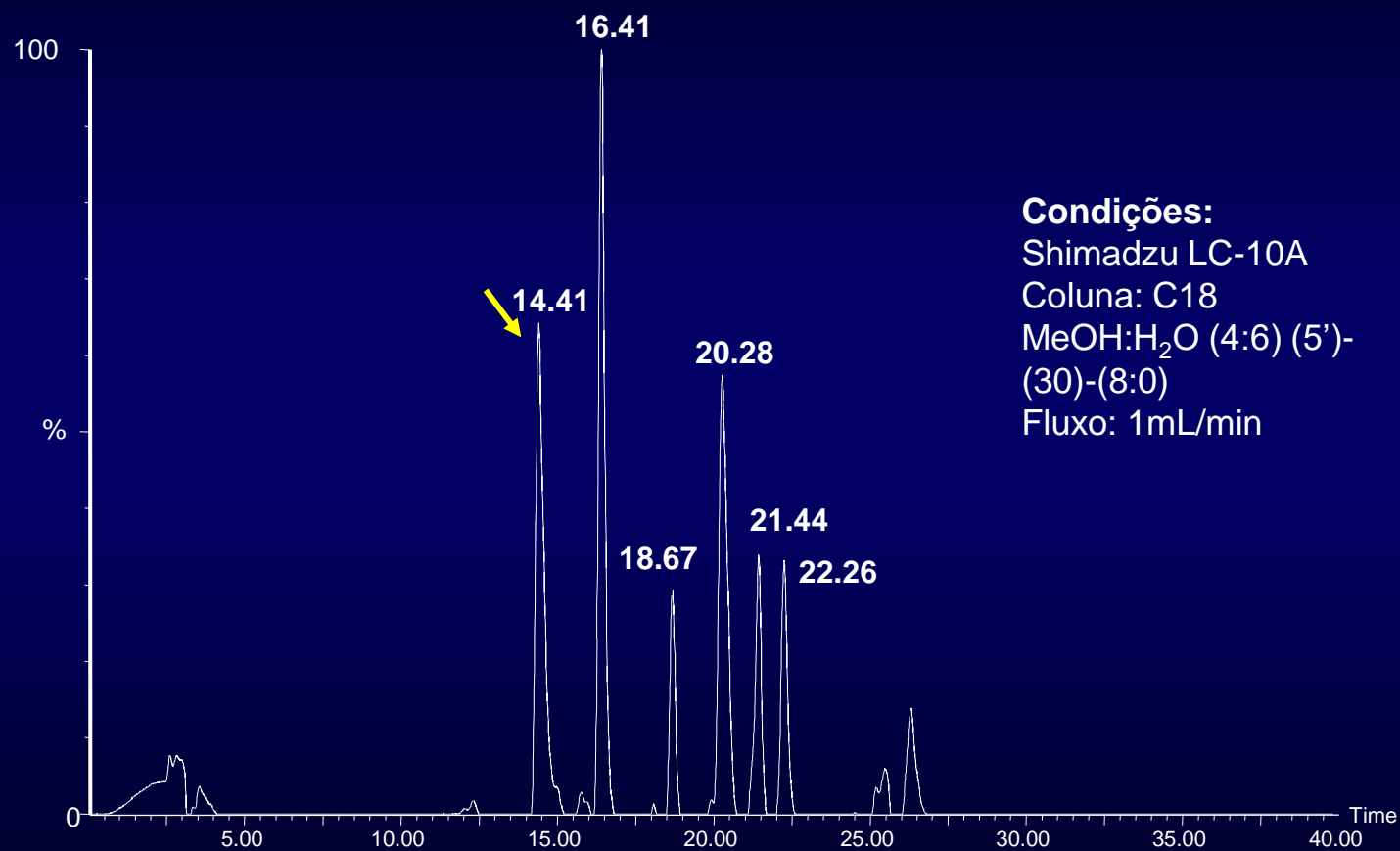
Vídeo sobre Electrospray:

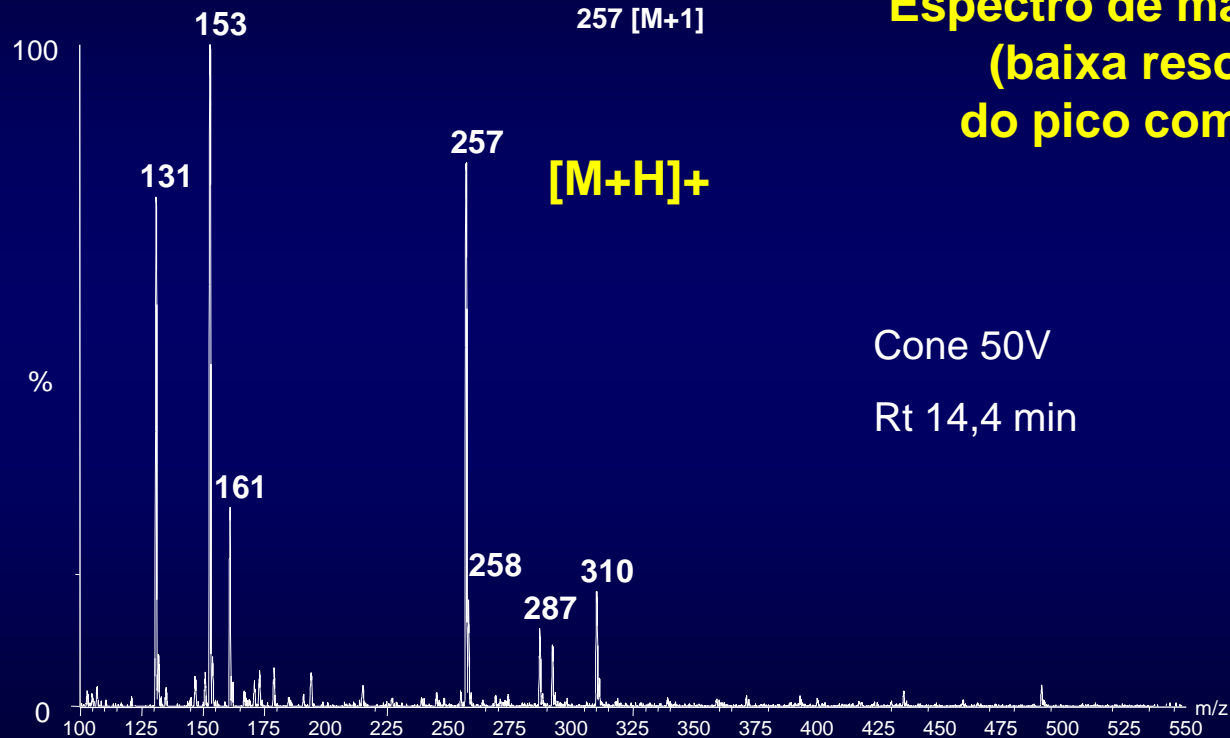
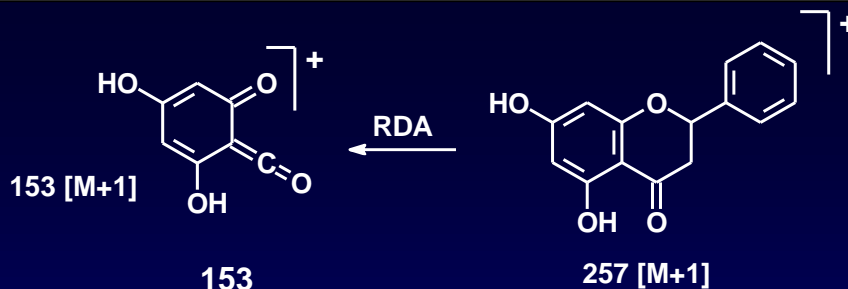
<https://www.youtube.com/watch?v=daSSRj41Mlo>

**Electrospray ionization (ESI) veja o video no Moodle**



## Análise do extrato de folhas de uma planta X por CLAE-ESI (baixa resolução)





**Espectro de massas ESI +  
 (baixa resolução)  
 do pico com tR 14.4**

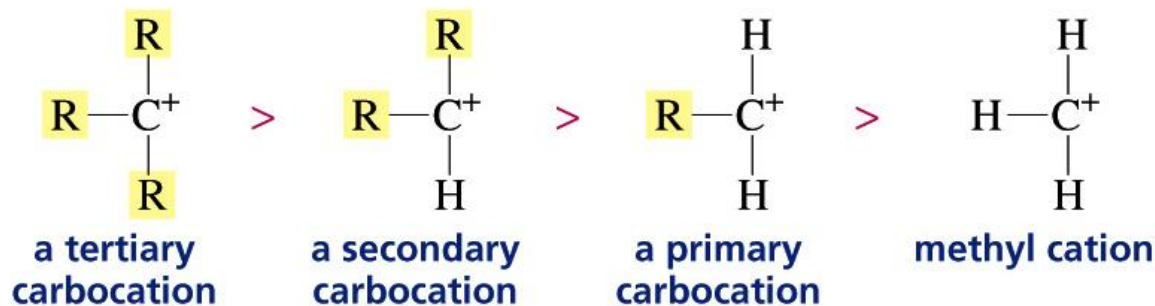
**[M+H]<sup>+</sup>**

Cone 50V

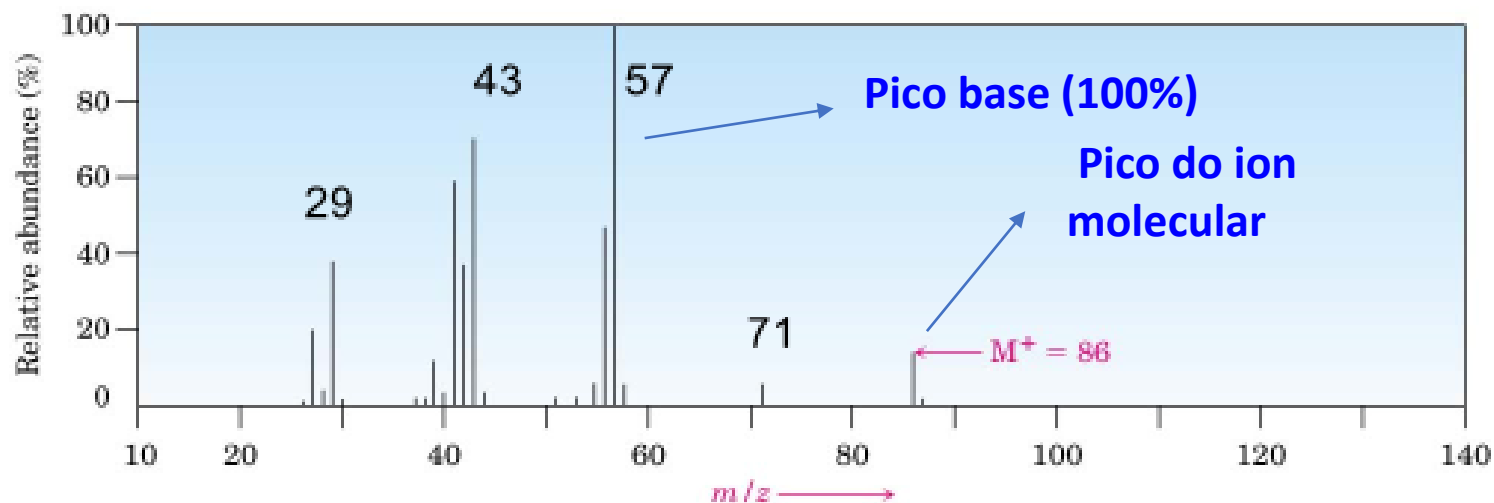
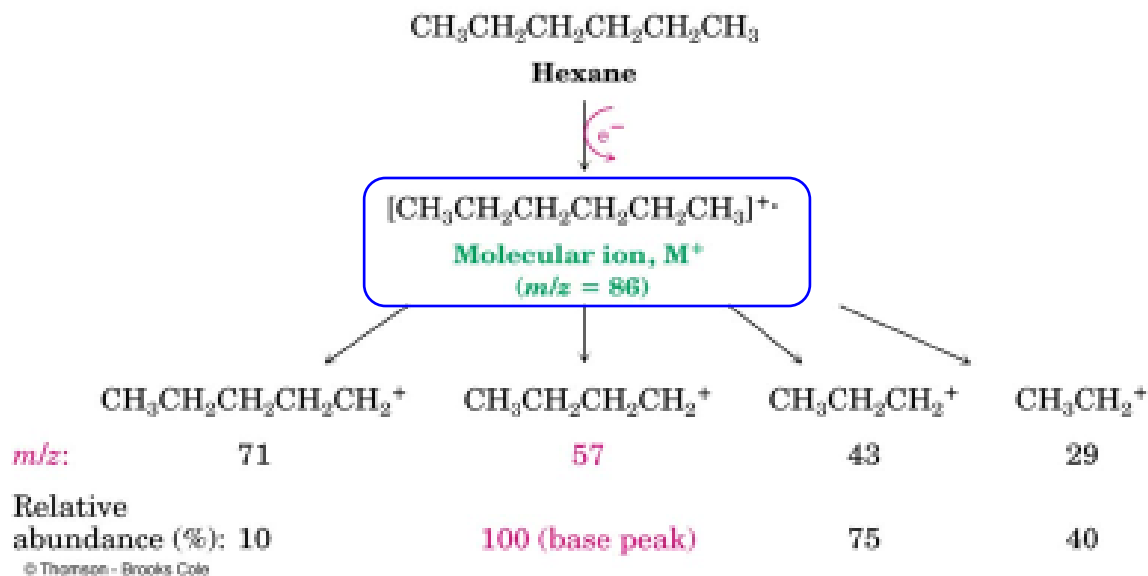
Rt 14,4 min

## Regras comuns de fragmentação em espectrometria de massas (EI)

1) Quebra de ligações  $\sigma$  resultando em cations mais estáveis



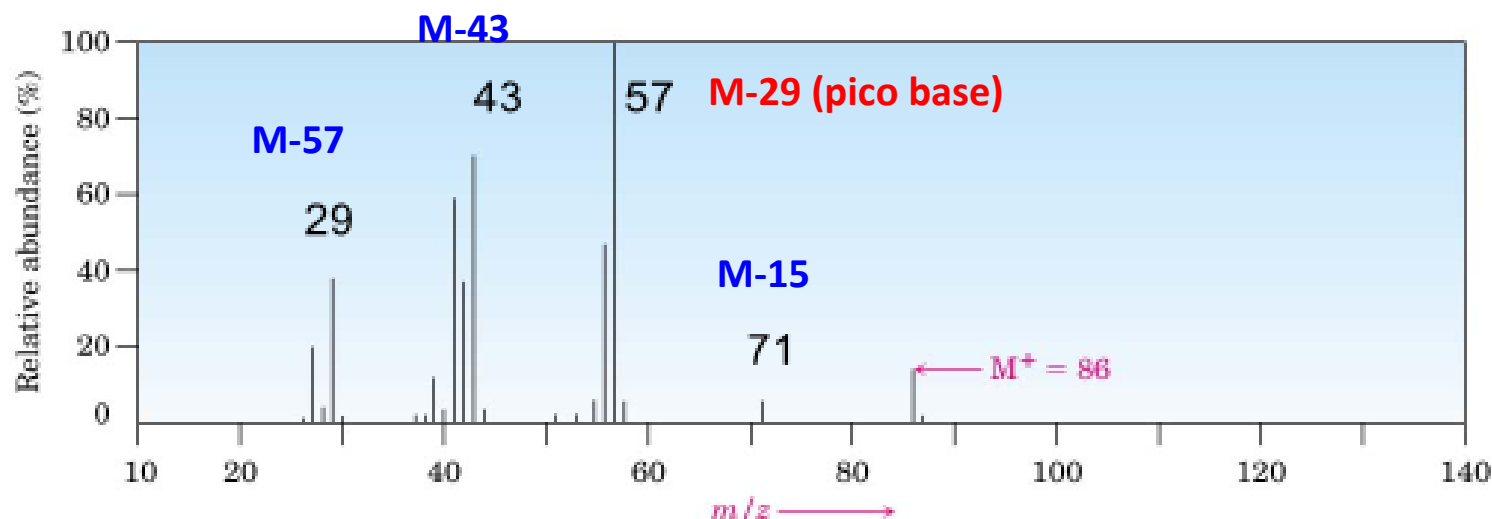
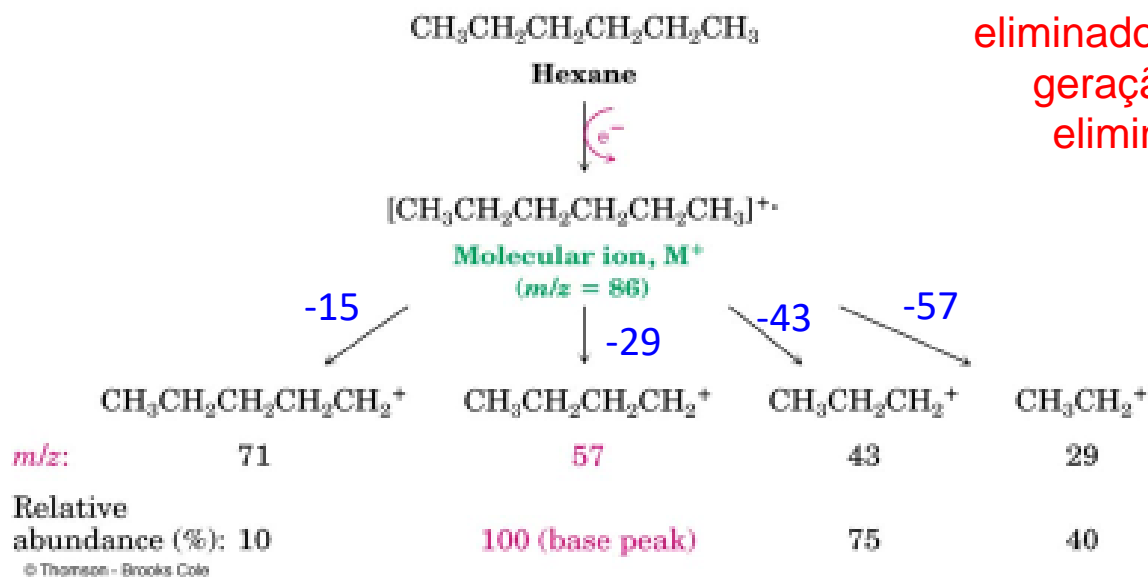
# Espectro de massas (IE) do hexano



# Espectro de massas do hexano

Há uma complementariedade entre as fragmentações:

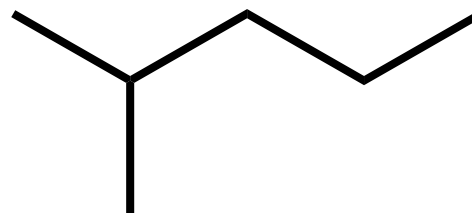
Para gerar o cátion em  $m/z$  57 é eliminado o radical etila (M-29) e para a geração do cátion etila ( $m/z$  29) é eliminado o radical butil (M-57).



Como diferenciar o hexano do 2-metilpentano  
por espectrometria de massas ?  
(IV?)



hexano

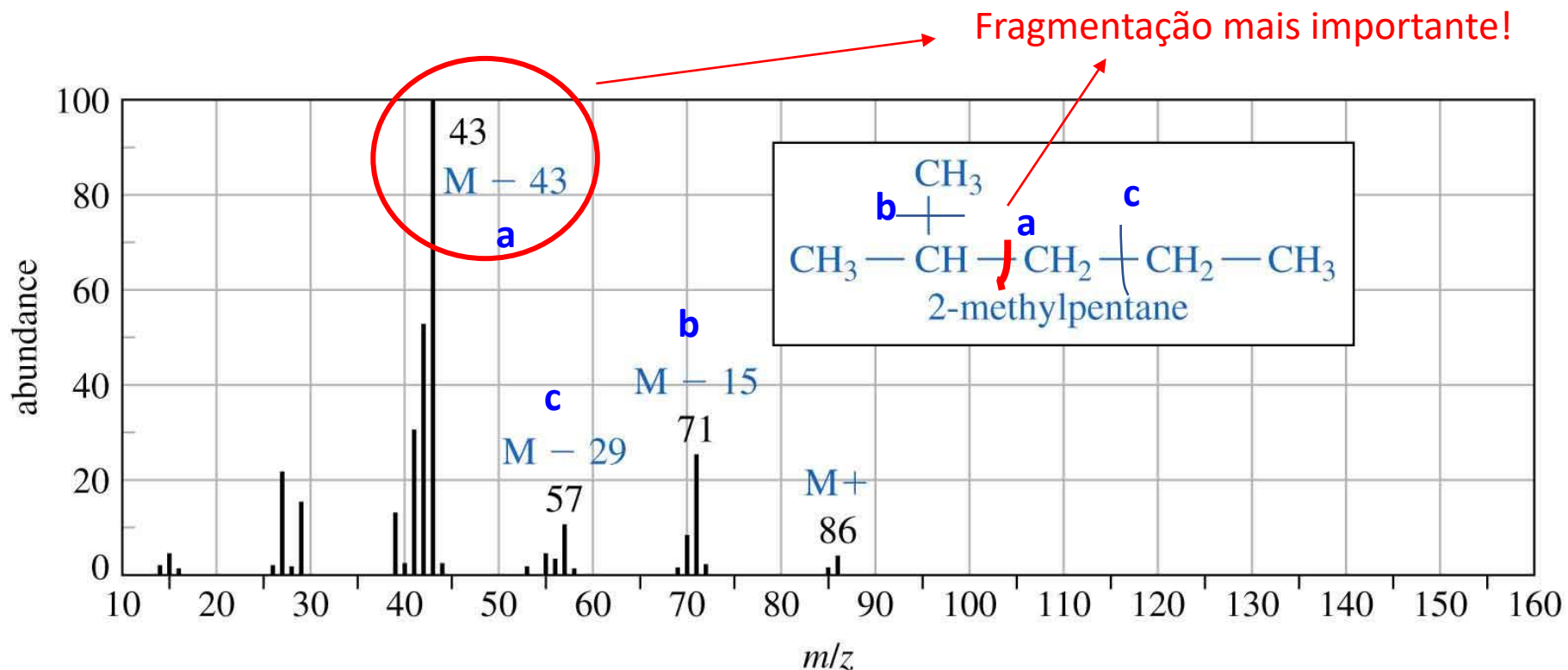


2-metilpentano

**$M^+$  86 Da ( $C_6H_{14}$ )**  
**(Não são distinguíveis por EM**  
**de alta resolução - HRMS)**

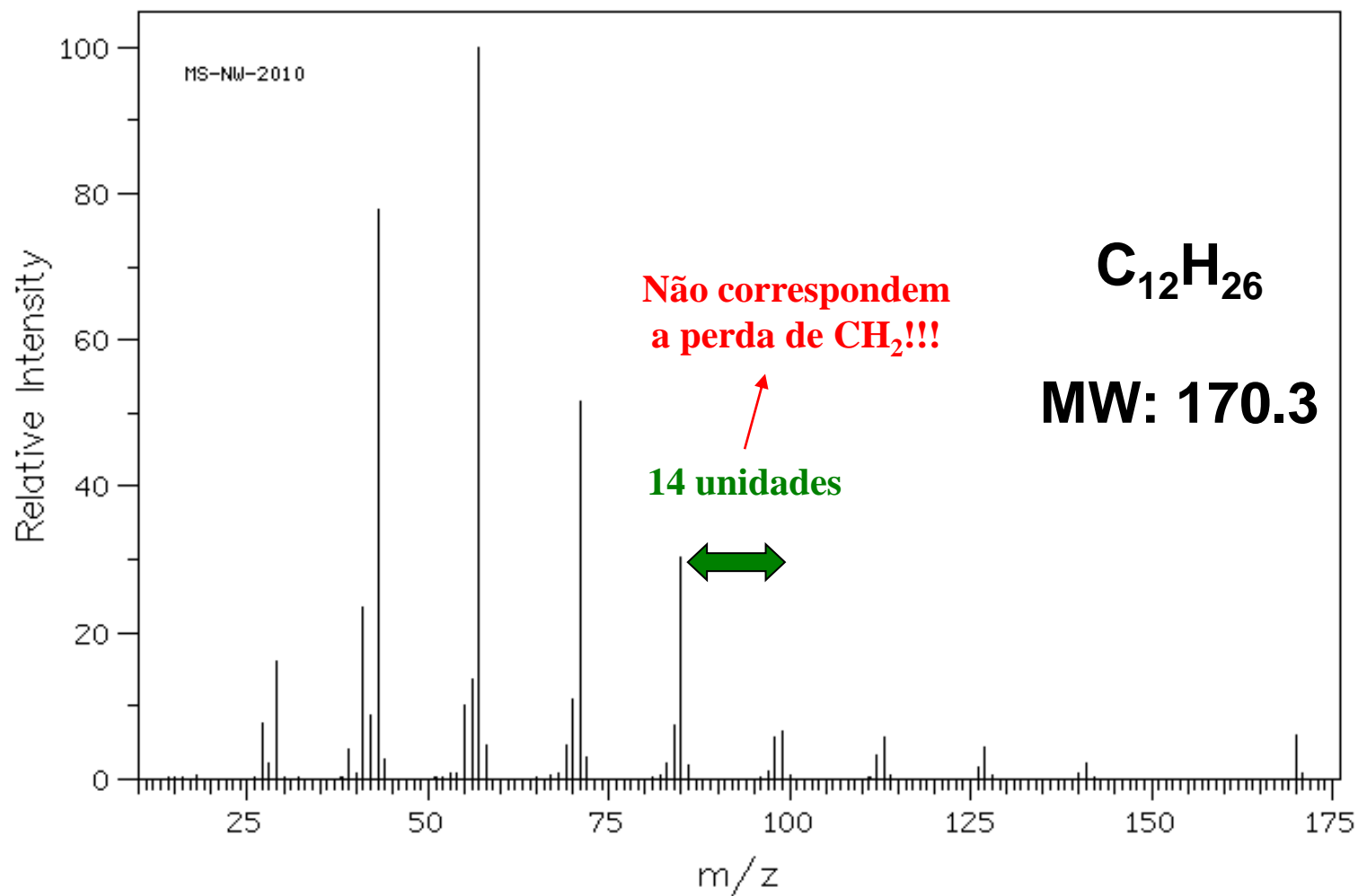


# Espectro de massas do 2-metilpentano

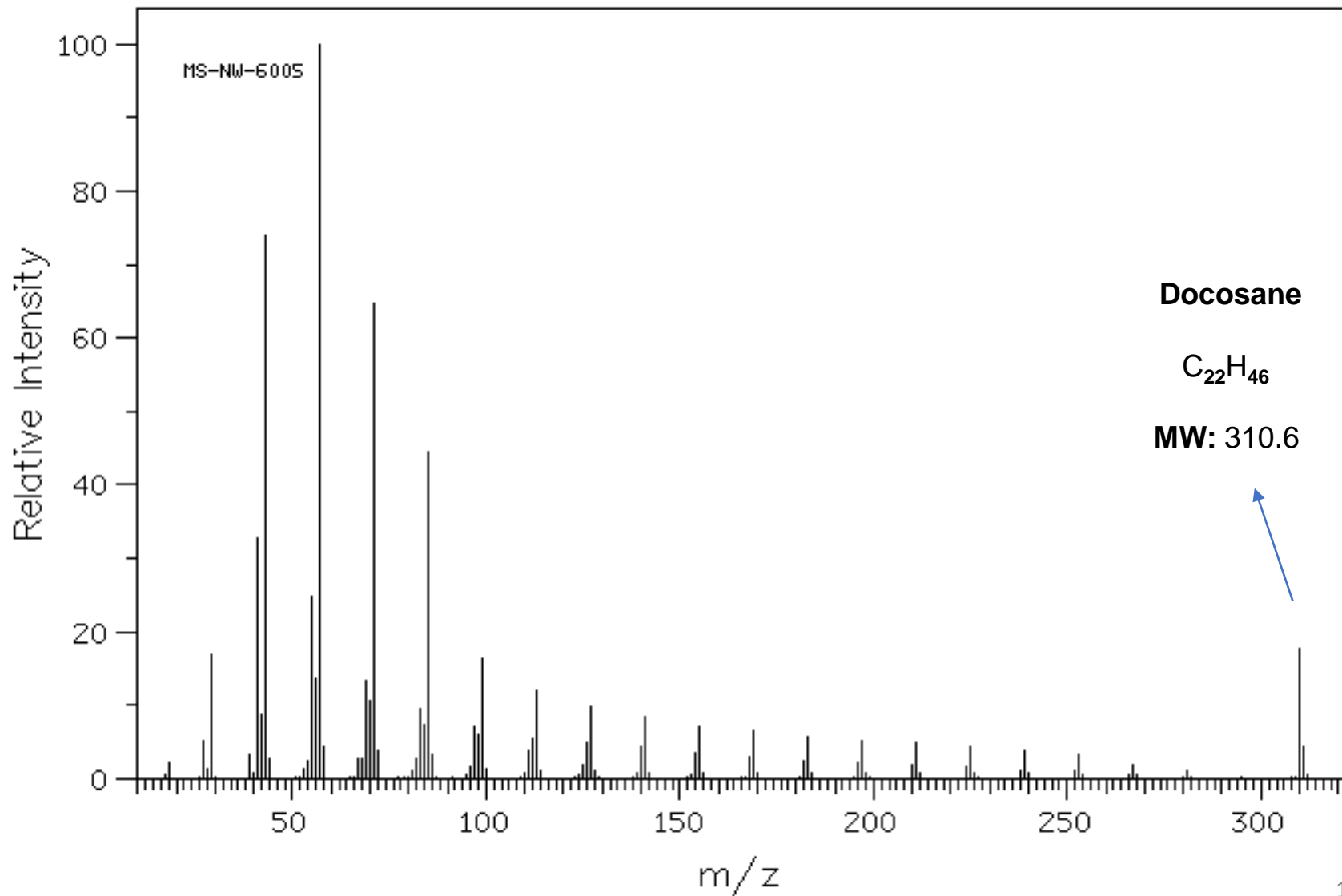


Uma ramificação altera de forma significativa a intensidade dos íons formados por causa da maior estabilidade dos mesmos  
(Regra de Stevenson: forma-se o cátion com a menor energia de ionização)

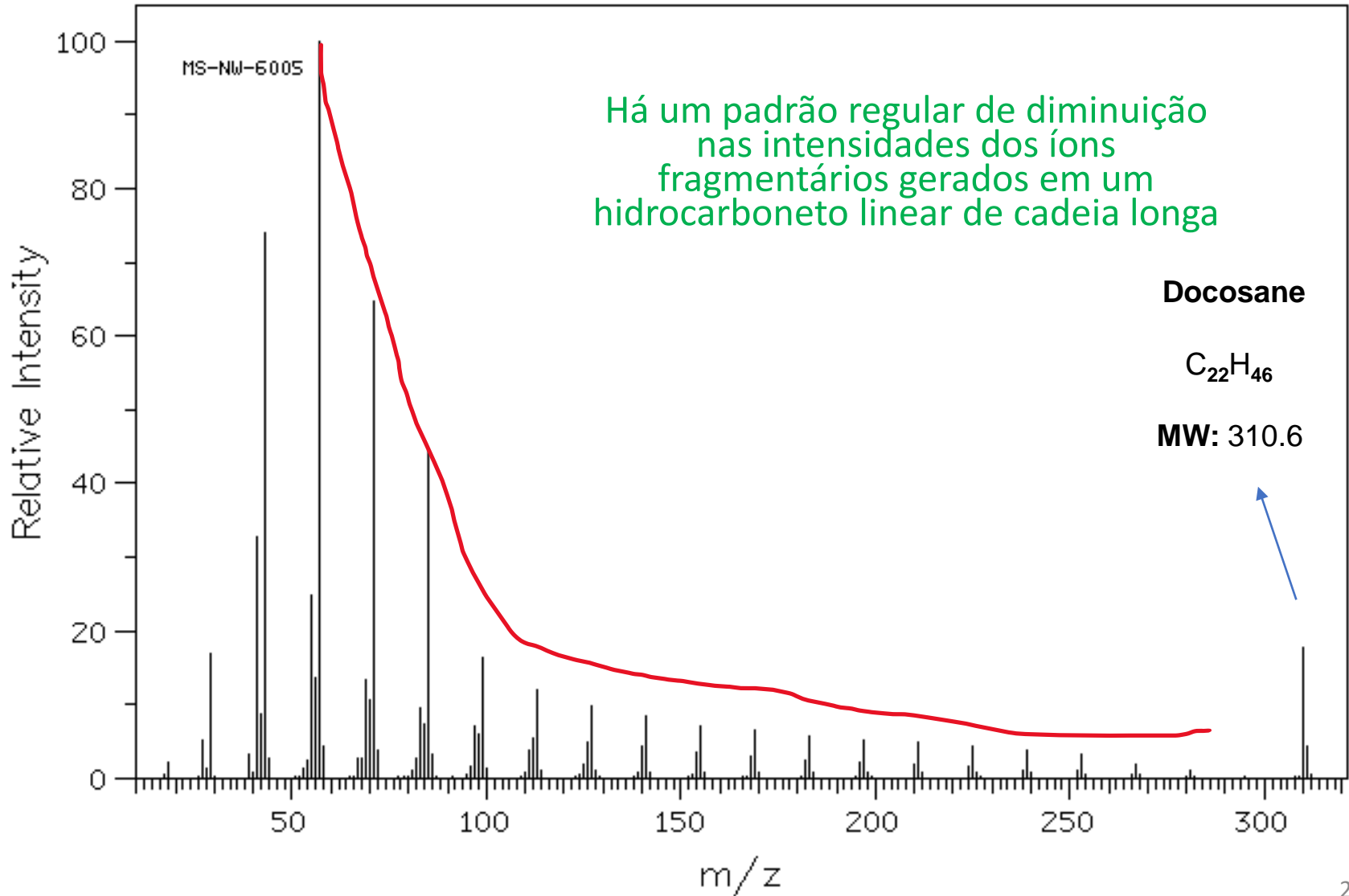
# Espectro de massas do dodecano



# Espectro de massas do docosano

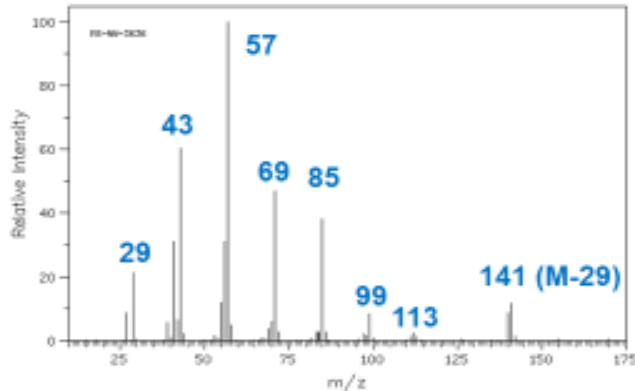


# Espectro de massas do docosano

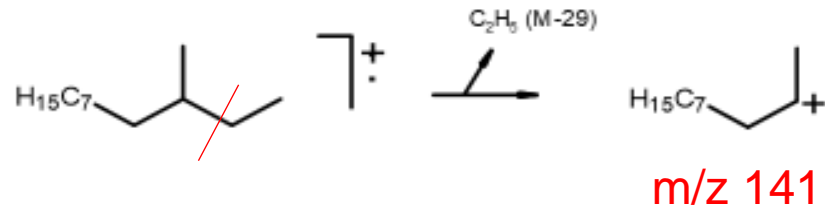


# Localização da ramificação em hidrocarbonetos isoméricos ramificados

## 3-metilundecano

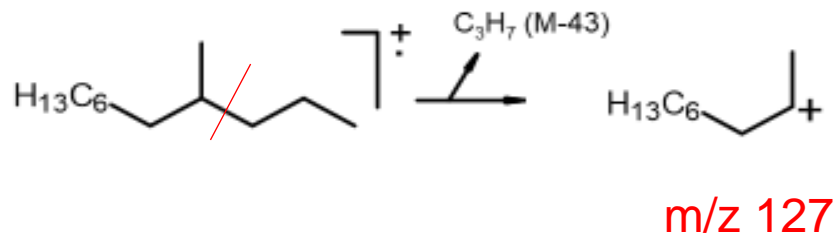
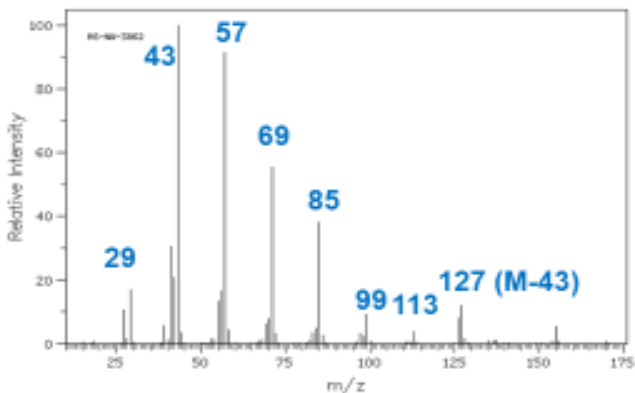


Isômeros ramificados do dodecano  
MM 170.33 (não detectado)



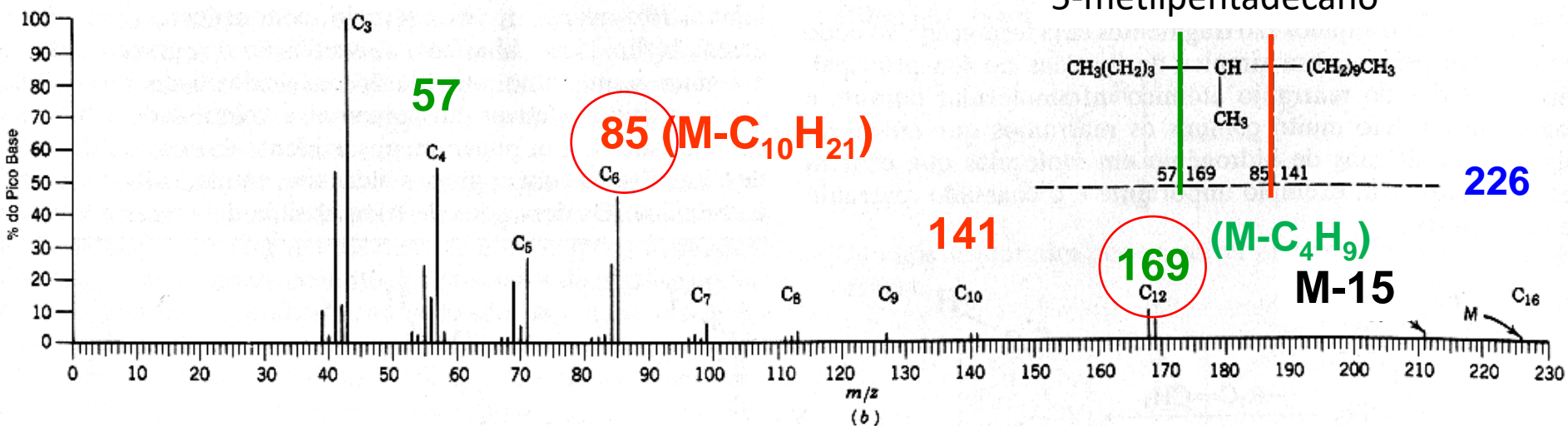
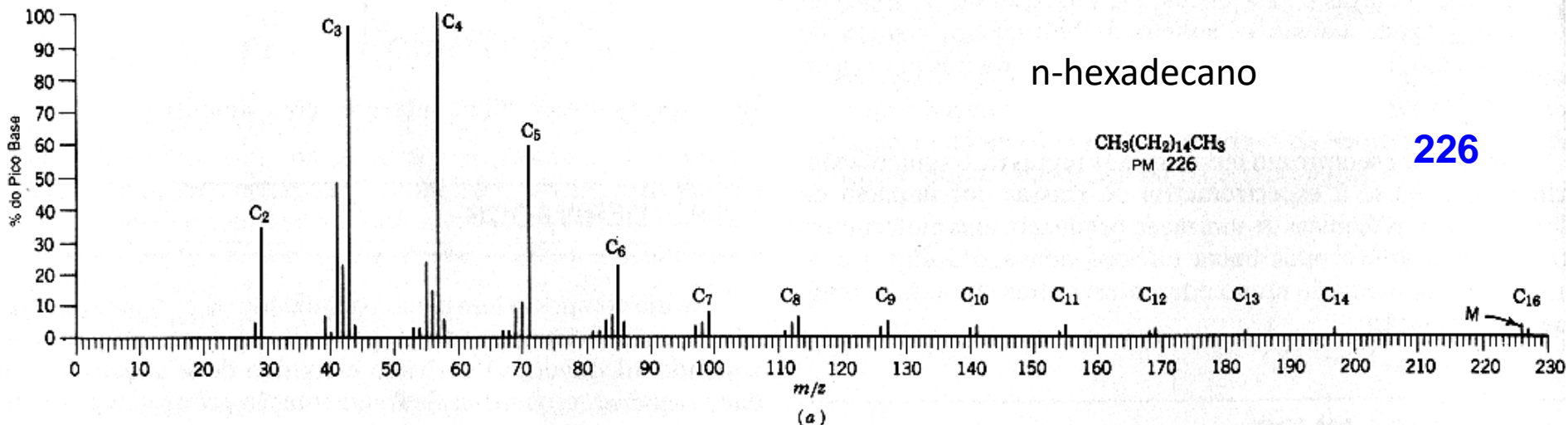
Fragmentação alfa:  
gerando cátion secundários

## 4-metilundecano



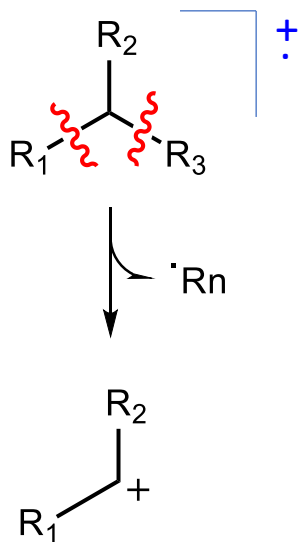
Fator importante: estabilização de cations por efeitos +I e hiperconjugação.

# Hidrocarbonetos isoméricos de 16 átomos de carbonos (MM 226)



## Fragmentações $\alpha$ são favorecidas por fatores que estabilizam os cátions resultantes

hidrocarbonetos

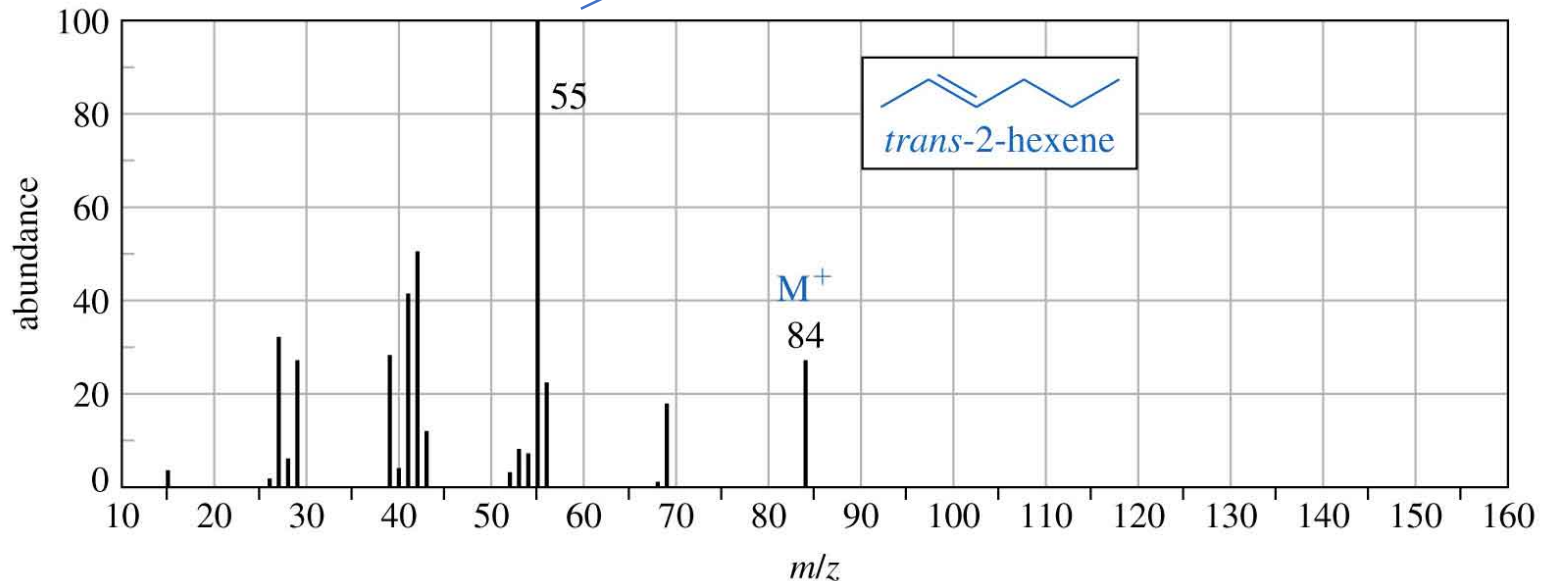
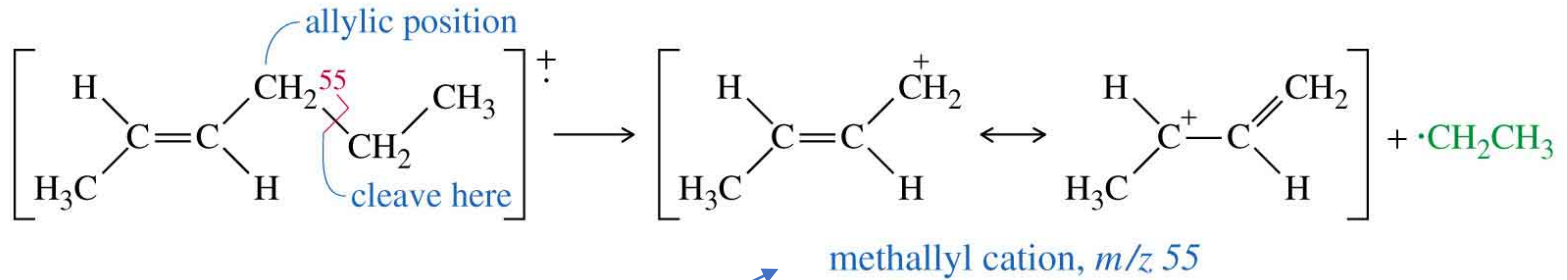


Cátions mais substituídos são estabilizados por efeitos indutivos, hiperconjugativos; conjugações à insaturações;

As fragmentação de radicais alquílicos maiores são favorecidas.

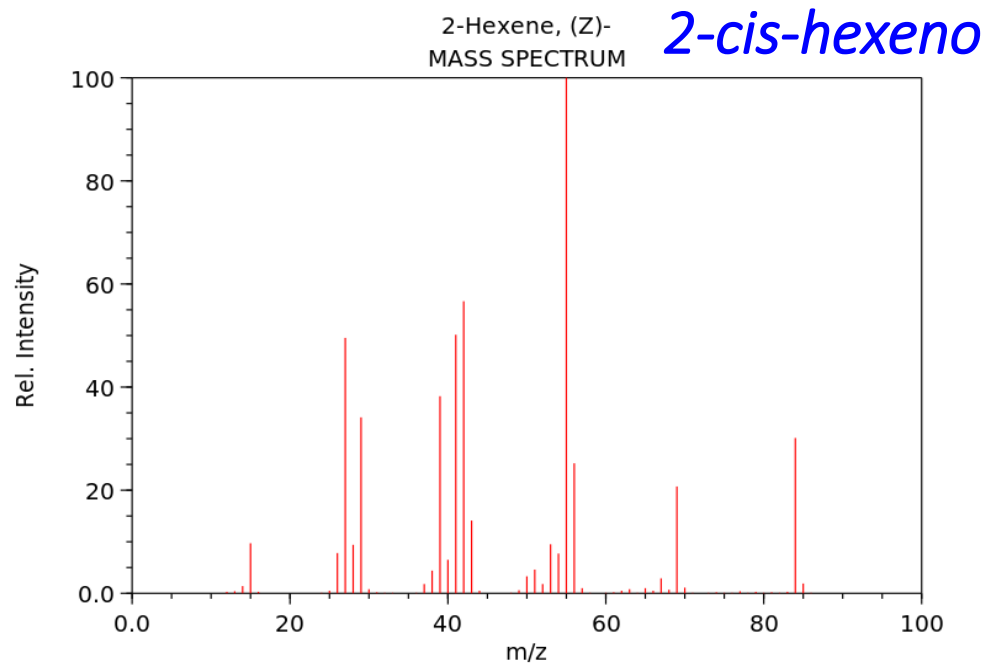
# Espectro de massas de alcenos

A formação de cations alílicos são favorecidas.





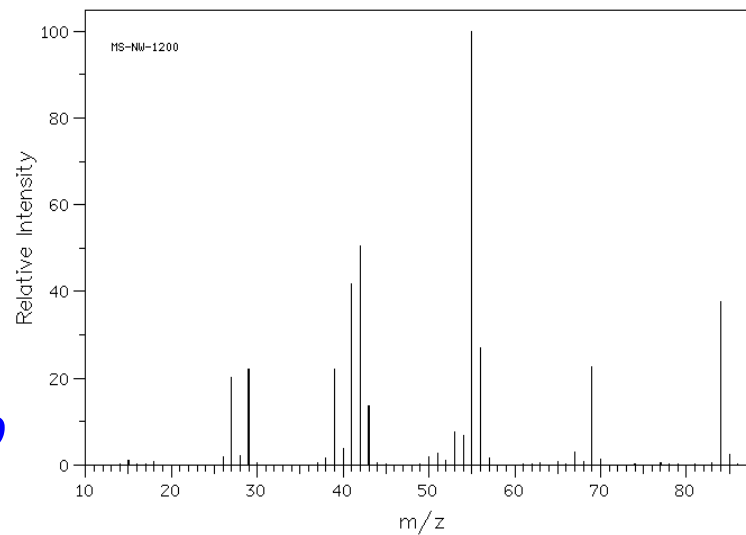
Seria possível  
diferenciar  
isômeros  
geométricos?



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

**Não!!!**

*2-trans-hexeno*





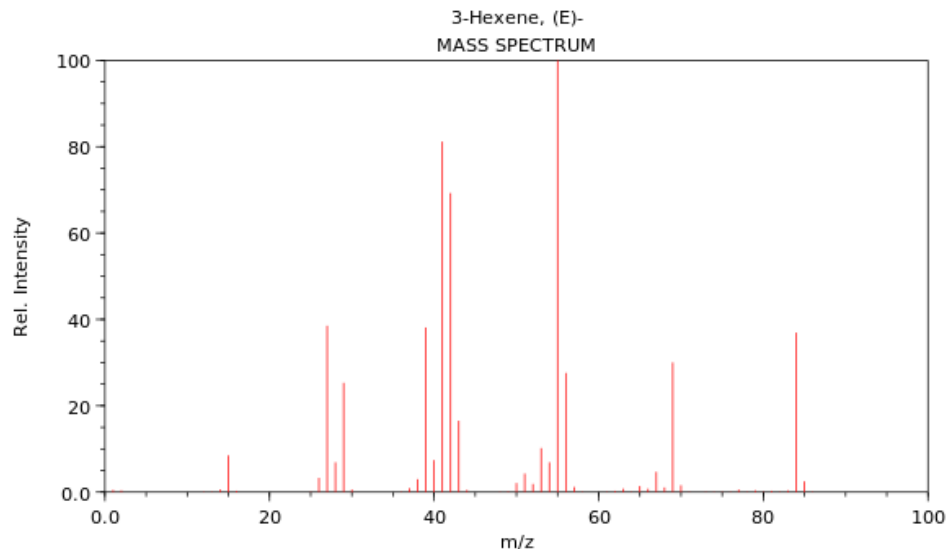
3-hexeno

E isômeros de  
posição?

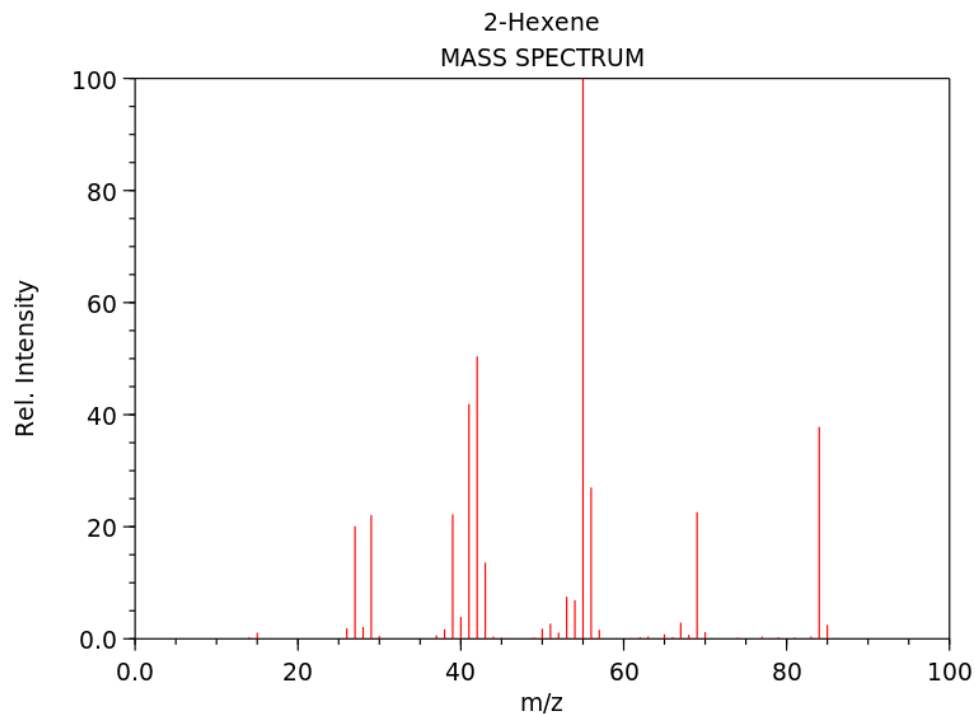
Eventualmente!!!  
(seria melhor por  
RMN)



2-hexeno

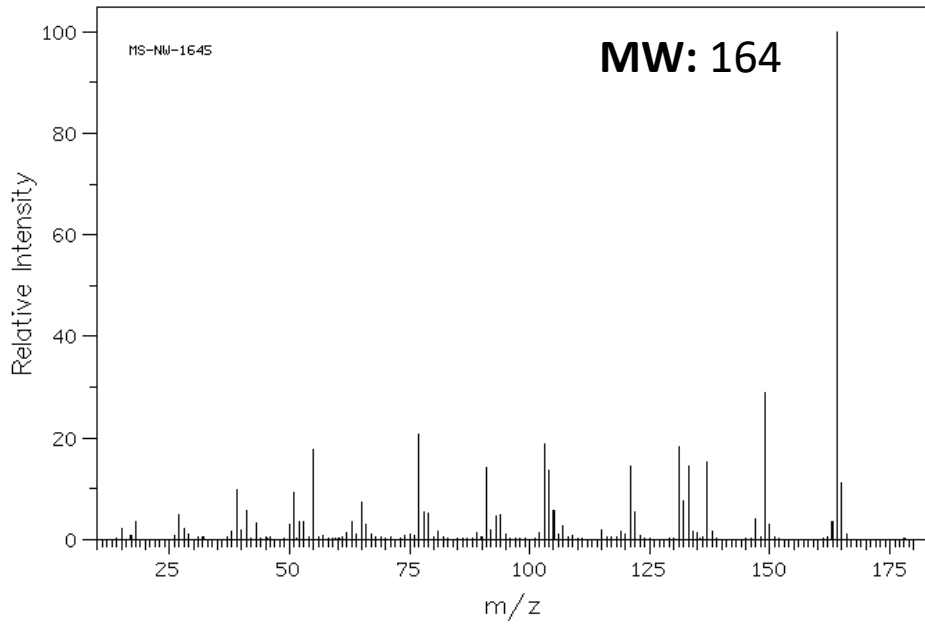


NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

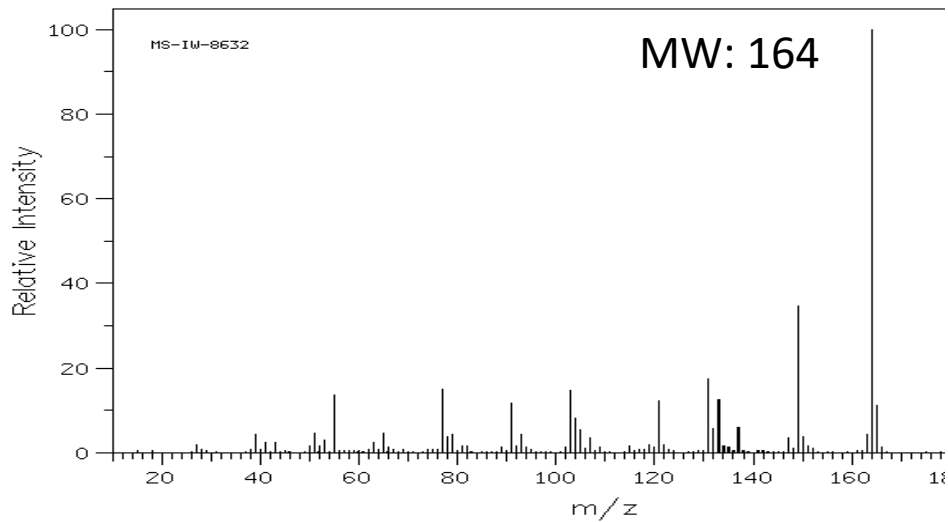
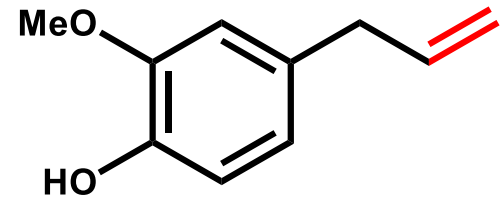


NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

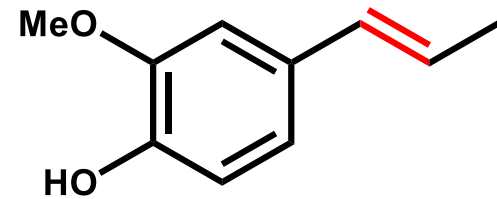
# A EM-EI não permite diferenciar isômeros como no eugenol e isoeugenol



Eugenol  
 $C_{10}H_{12}O_2$

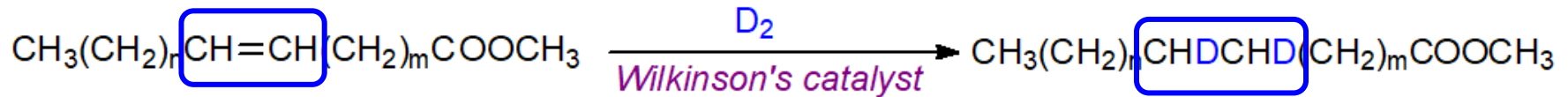


Isoeugenol  
 $C_{10}H_{12}O_2$



# Localização de ligações duplas em ácidos graxos por deuteração-EM

Deuteration reaction



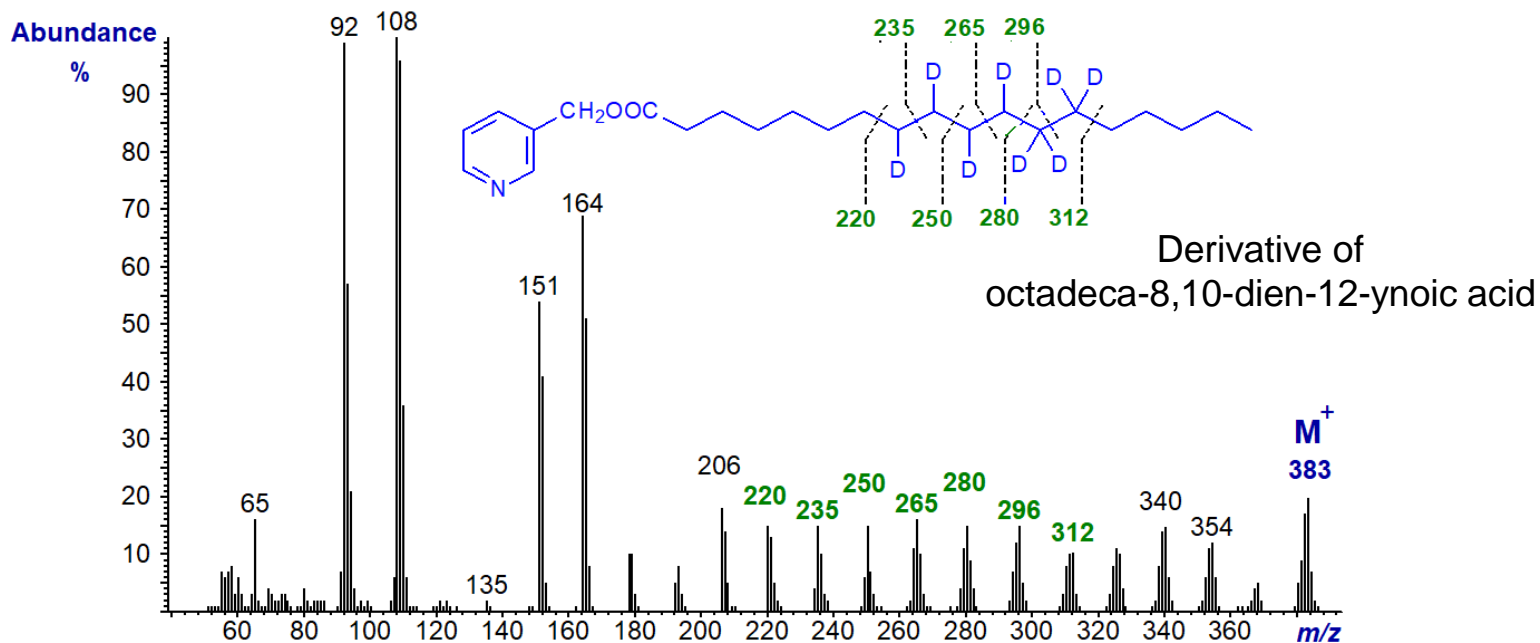
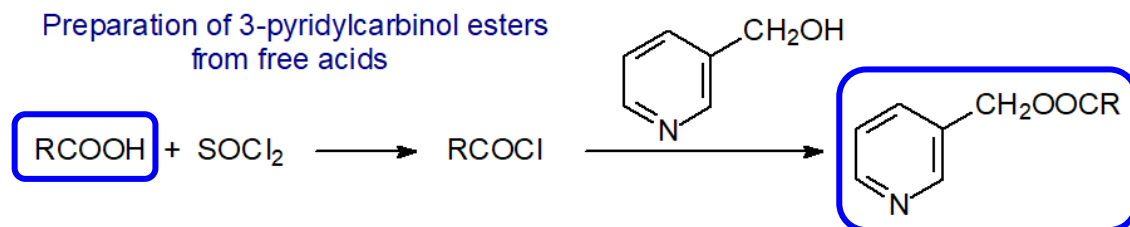
**[M]+**

$\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$   
clorotris(trifenilfosfino)ródio(I)  
(Solúvel em solventes orgânicos)

**[M+2]+**

[https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb\\_html/ms/methesters/me-dbderivs/index.htm](https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb_html/ms/methesters/me-dbderivs/index.htm)

# Localization of two double bonds and a triple bond in an unusual fatty acid in the seed oil of *Tanacetum corymbosum* by deuteration of the methyl ester derivative of a 3-pyridylcarbinol ester and by GC-MS

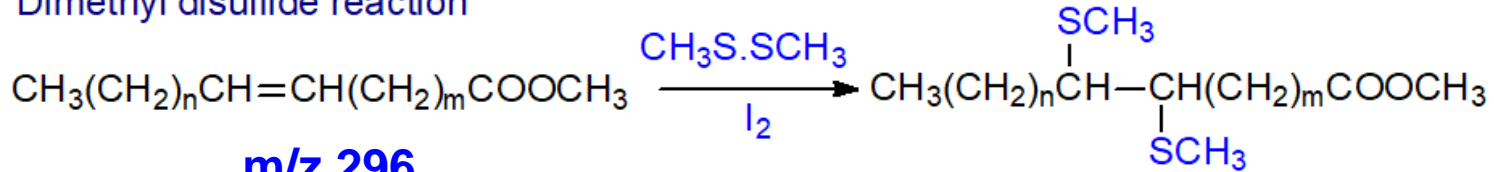


[https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb\\_html/ms/methesters/me-dbderivs/index.htm](https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb_html/ms/methesters/me-dbderivs/index.htm)

Tsevegsuren et al., (1998). *Tanacetum (Chrysanthemum) corymbosum* seed oil: a rich source of a novel conjugated acetylenic acid. *Lipids*, **33**, 723-727.

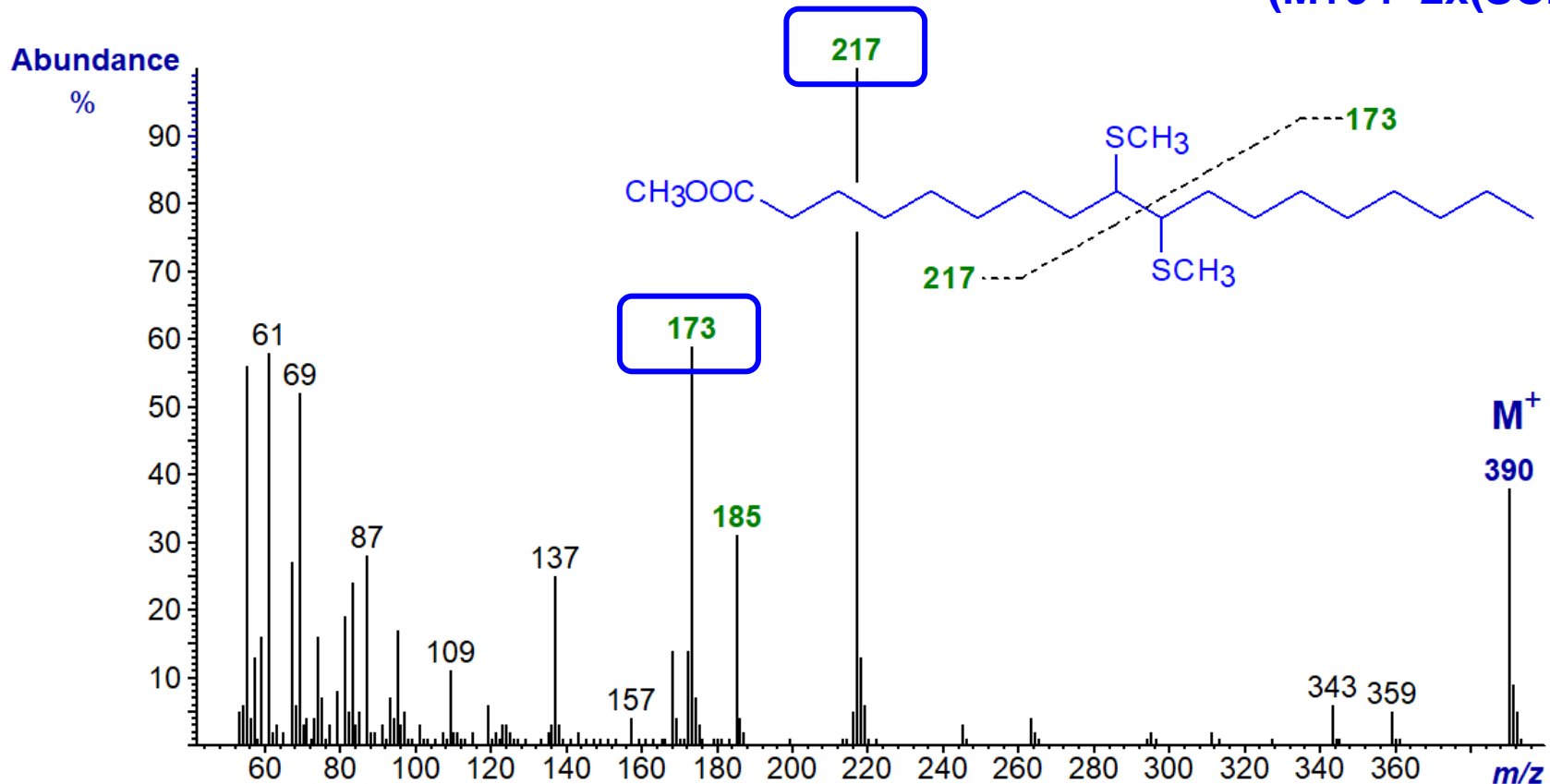
# Localização de ligações duplas em ácidos graxos por derivatização com dimetildissulfeto

Dimethyl disulfide reaction

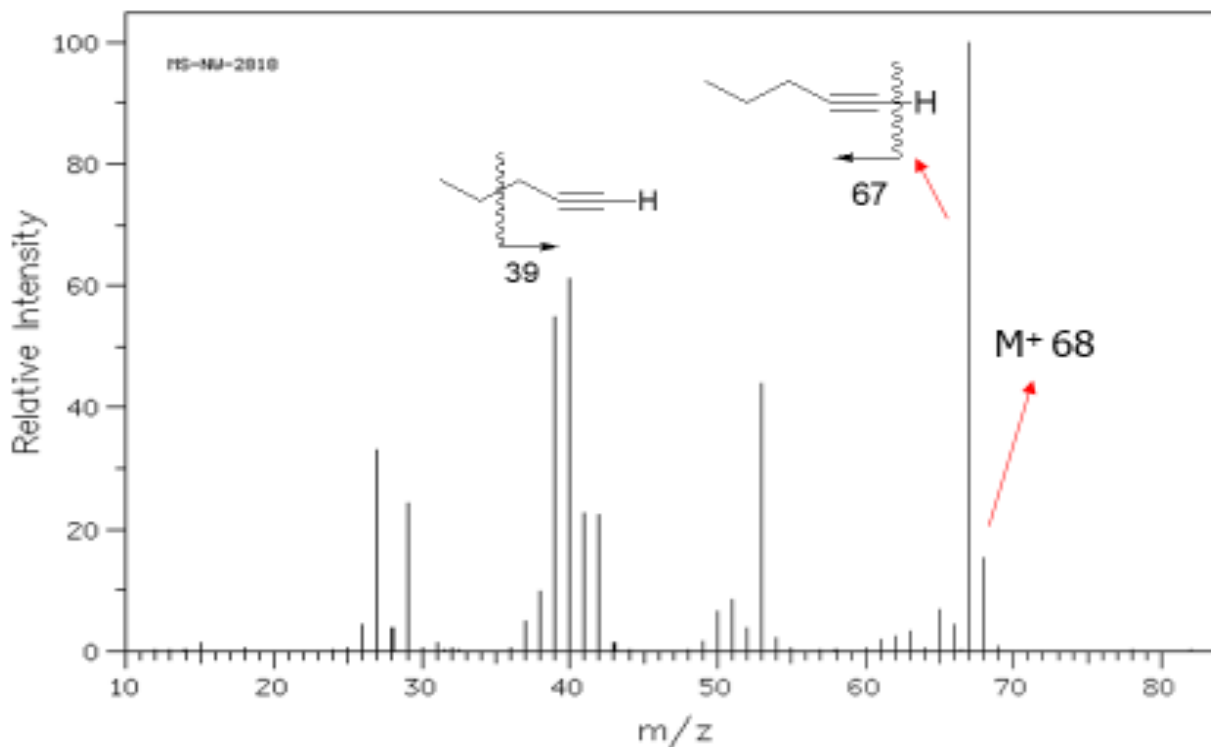


**m/z 296**

**m/z 390**  
**(M+94=2x(SCH<sub>3</sub>))**



# Espectro de massas de alquinos (1-pentino)



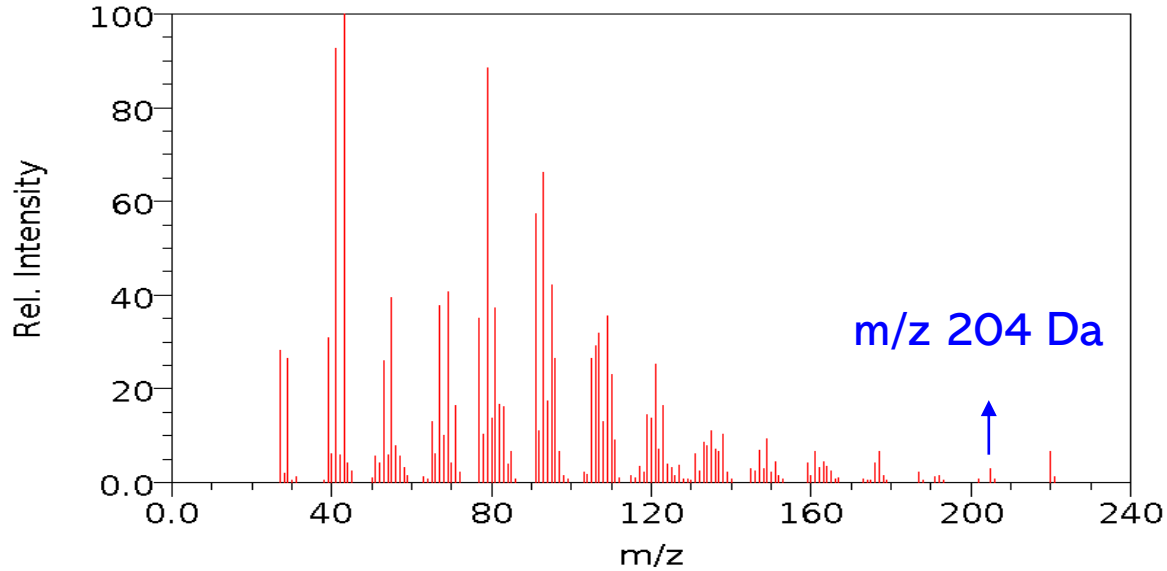
Acetilenos possuem acidez de seu hidrogênio terminal suficientemente ácidos (pka 25) por causa da maior eletronegatividade do Csp (50% de caráter s – quanto maior o caráter s, mais próximo os elétrons estarão do núcleo).

A fragmentação perdendo o hidrogênio radicalar é característica de acetilenos terminais gerando o cátion m/z 67 bastante intenso (pico base).

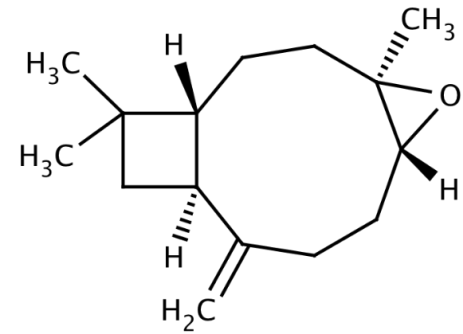
Observa-se ainda a fragmentação alfa alílica gerando o cátion m/z 39.

# Caracterização de compostos aromáticos por EM

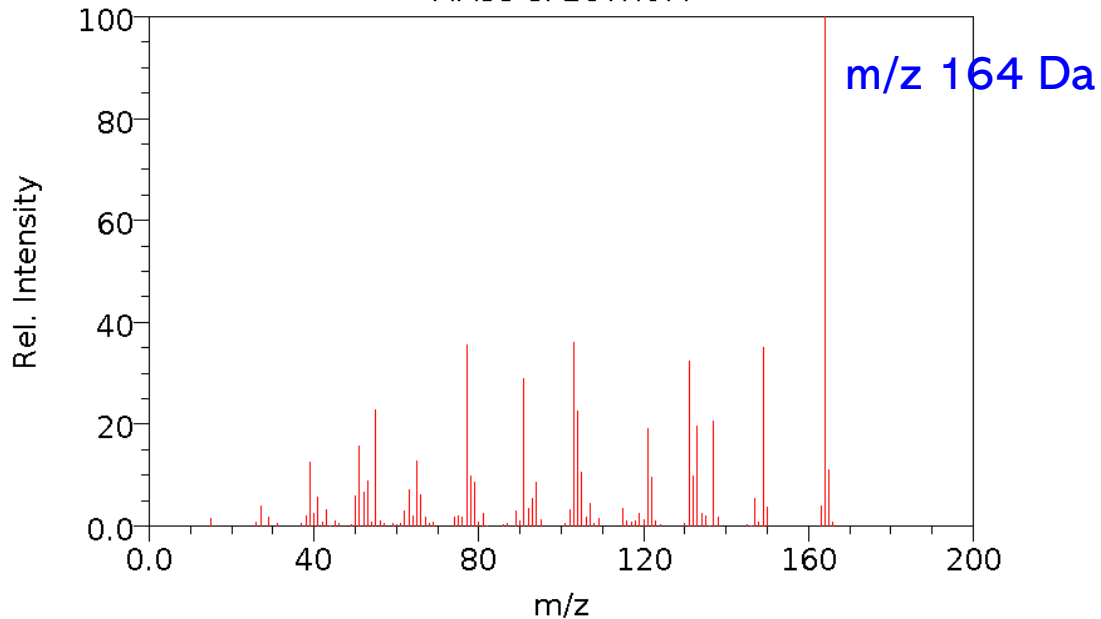
Caryophyllene oxide  
MASS SPECTRUM



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

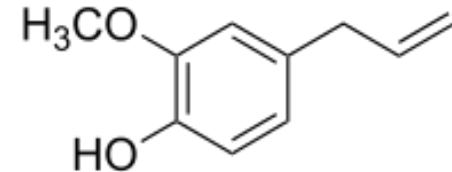


Eugenol  
MASS SPECTRUM



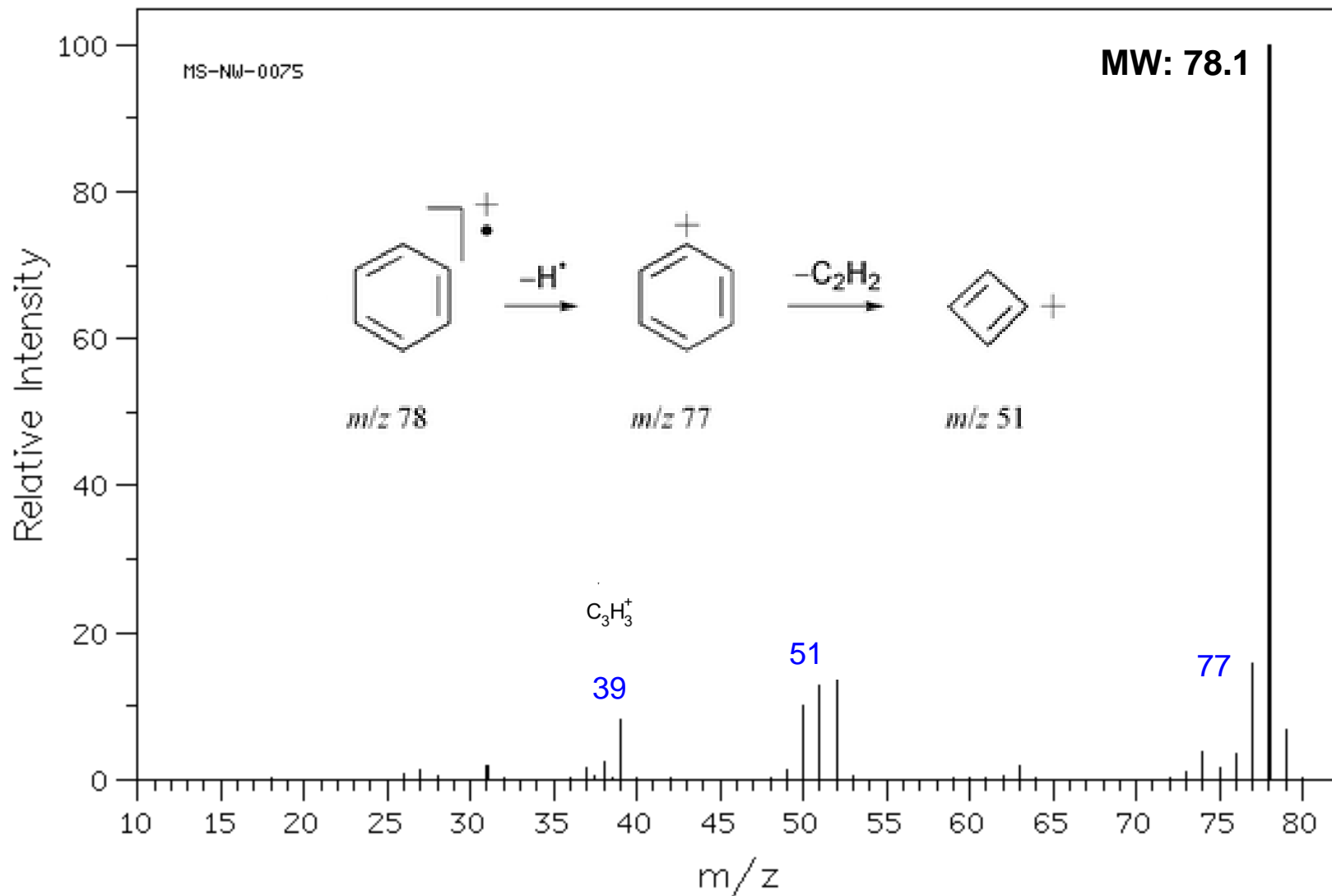
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Constituintes do óleo essencial do cravo



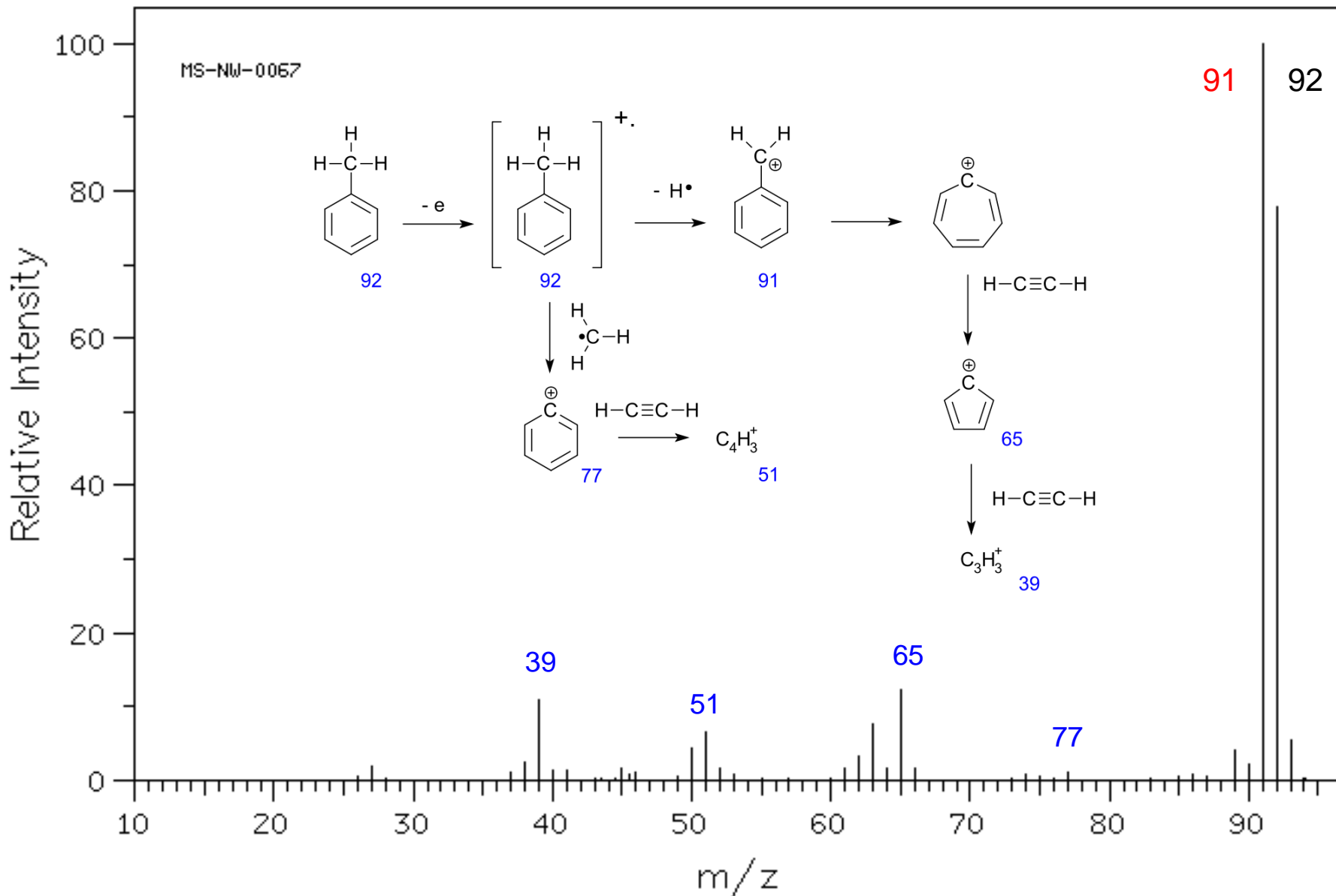


# Espectro de massas do Benzeno

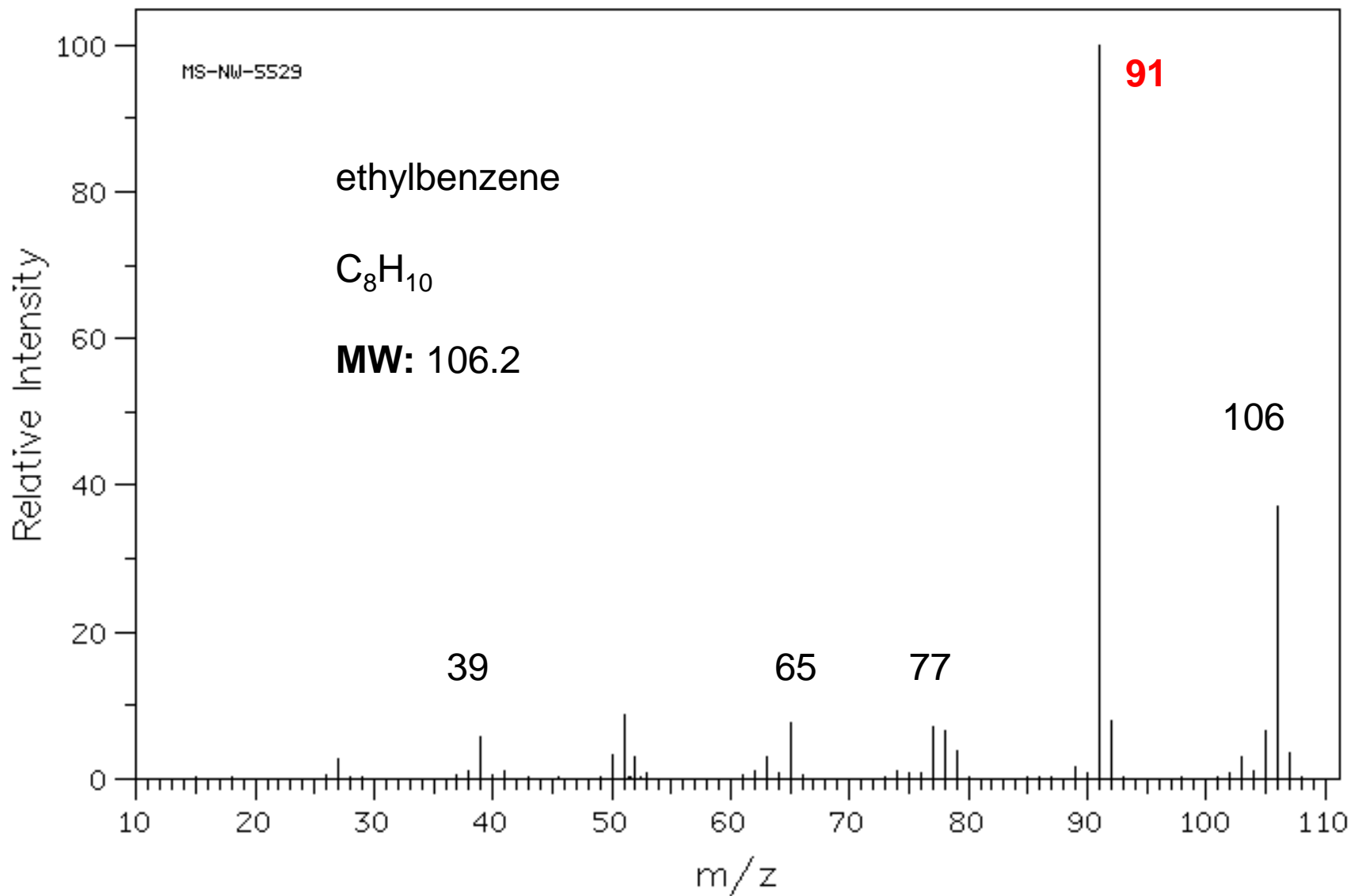


# Espectro de massas do tolueno

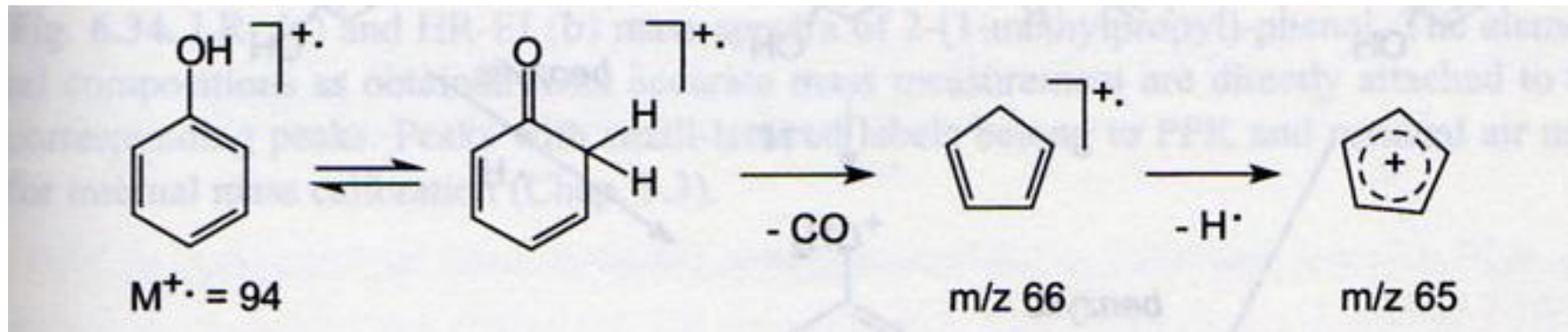
Toluene  $C_7H_8$   
MW 92.1



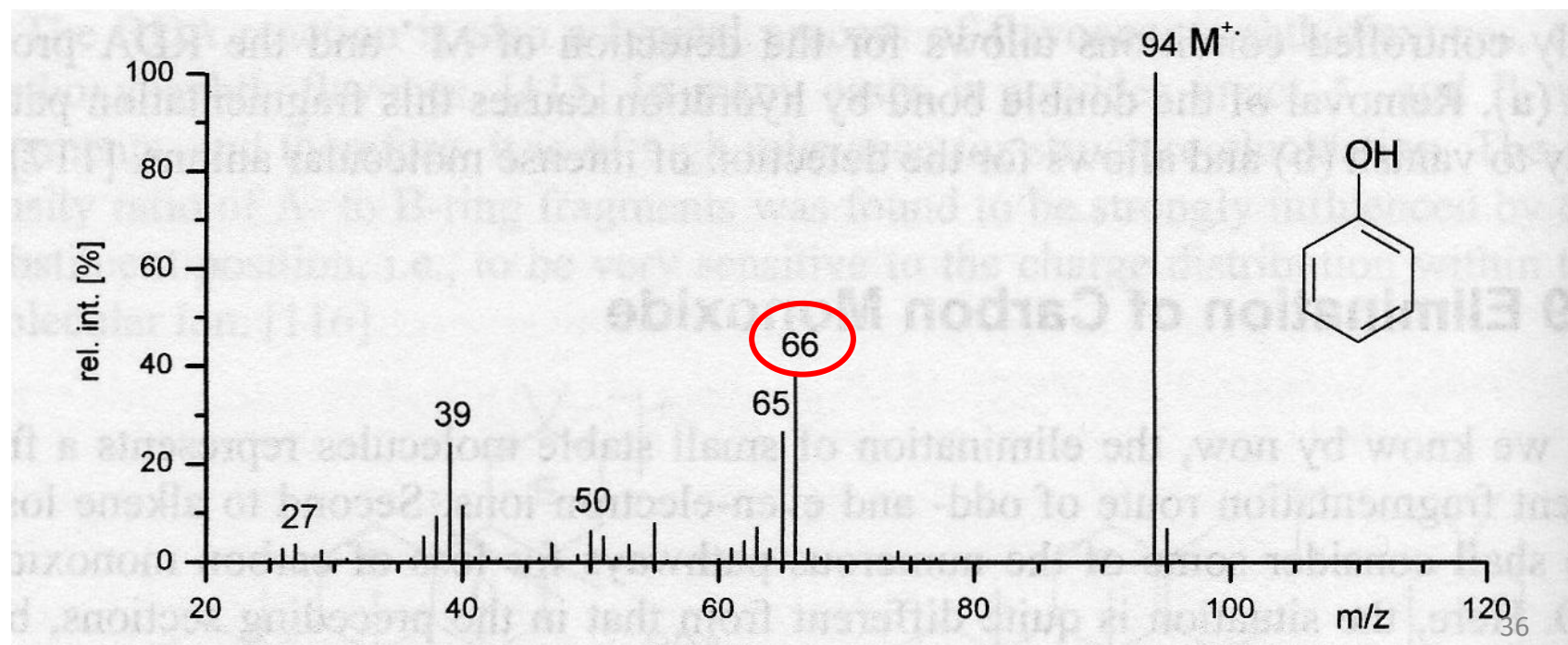
# Espectro de massas do etilbenzeno



# Perda de CO neutro em Fenol e Derivados

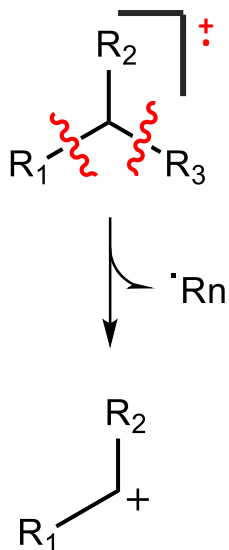


**Cátion radicalar**



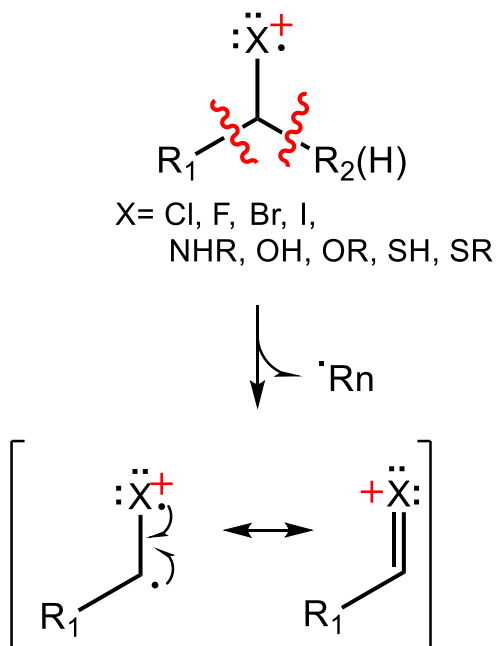
# As fragmentações alfa são relevantes para a caracterização de hidrocarbonetos acíclicos, ramificados e funcionalizados:

Hidrocarbonetos



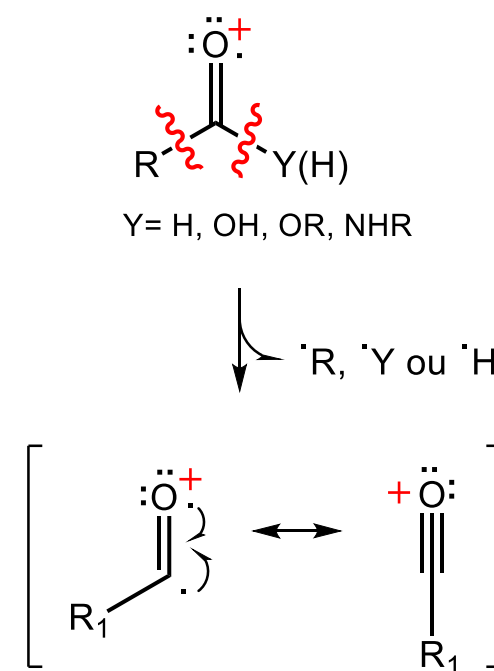
Cátions mais substituídos estabilizados por efeitos indutivos e hiperconjugativos.

Haleto de alquila, álcoois, éteres, tióis e tioéteres



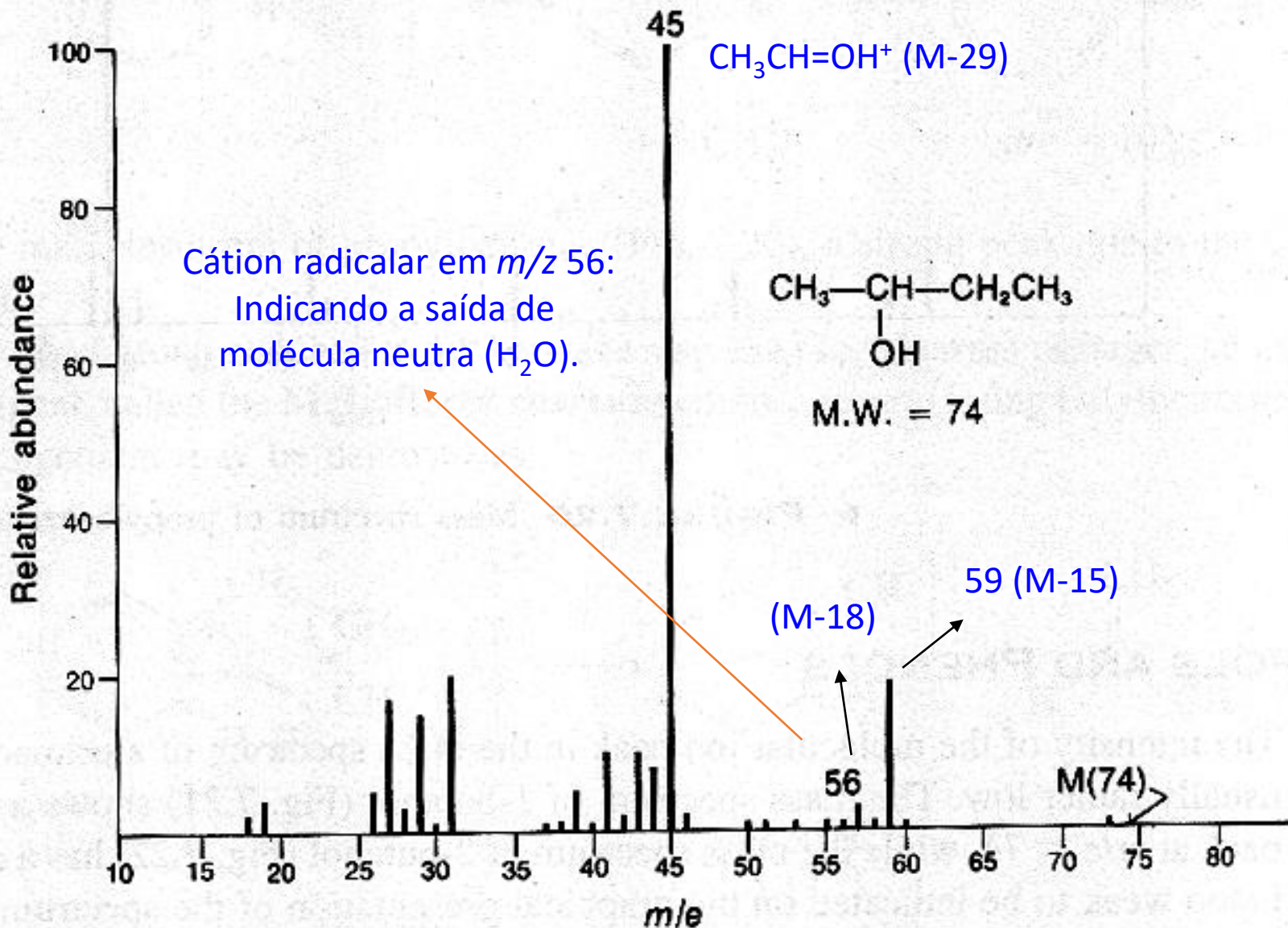
Cátions estabilizados por efeitos mesoméricos (via elétrons não ligantes)

Compostos carbonílicos

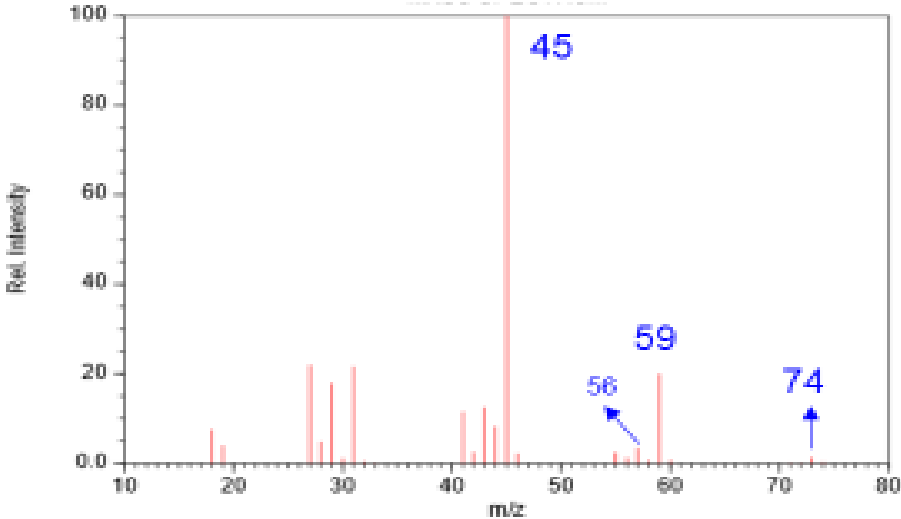


As fragmentações de radicais alquílicos maiores são preferenciais.

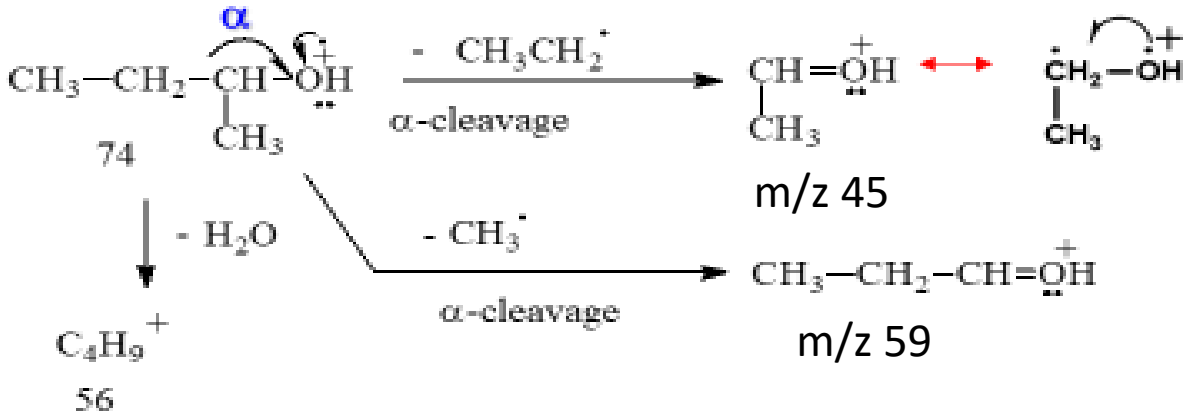
# Espectro de massas de álcoois (2-butanol)



# Espectro de massas do 2-butanol.

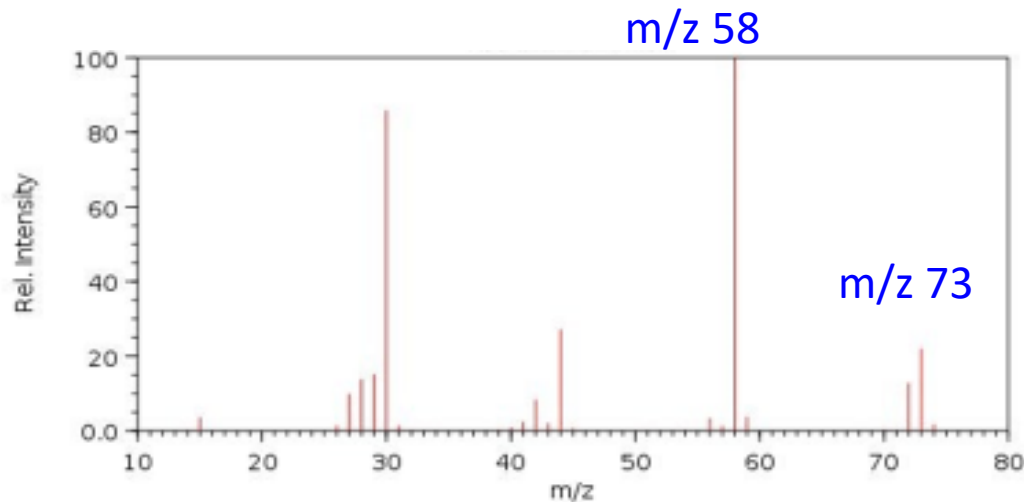


NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

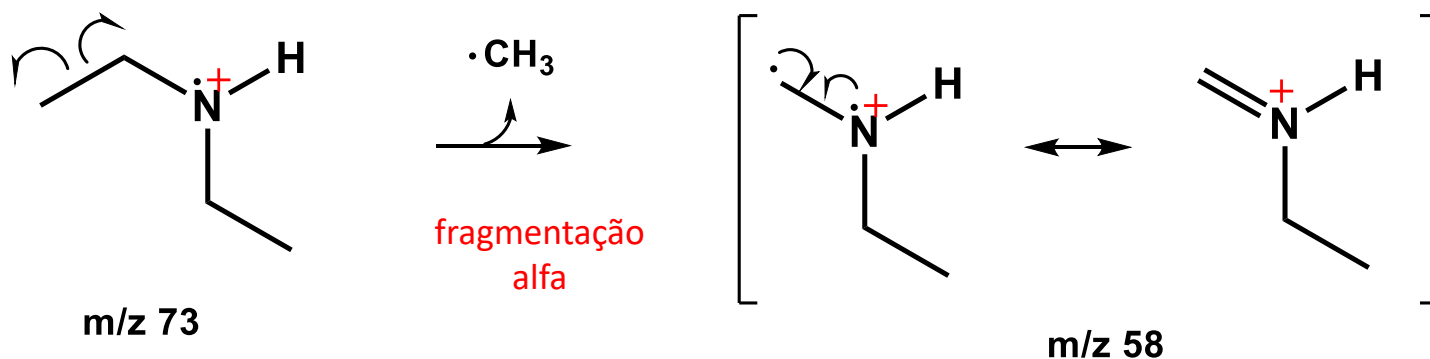


Em ambos os casos, um dos elétrons do oxigênio, por efeito **mesomérico**, estabiliza os cátions.

As **fragmentações alfas**, levando aos dois cátions no carbono que sustenta o grupamento hidroxílico: **m/z 59**, resultante da fragmentação do radical etílico e **m/z 45**, resultante da fragmentação da metila radicalar.



## Espectro de massas da *N*-etiletanamina



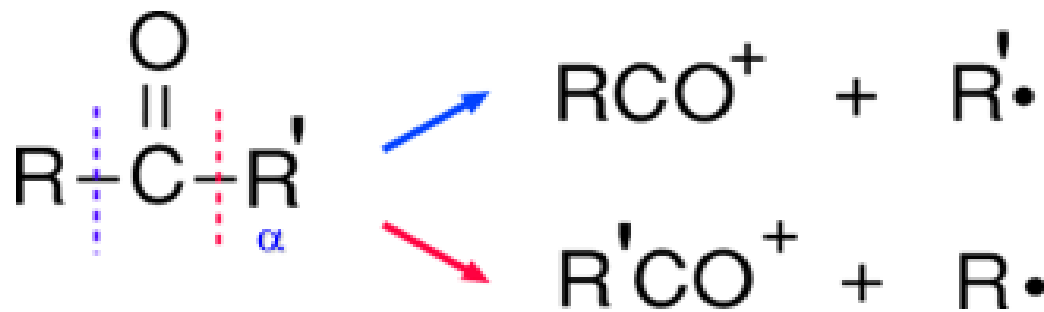
A *N*-etiletanamina possui o íon molecular (cátion radicalar) ímpar ( $m/z$  73) e, por eliminação de um radical metílico, forma o cátion  $m/z$  58.

O processo de estabilização é determinado novamente pela presença do heteroátomo que **estabiliza o radical formado no carbono alfa**, que por ressonância de um elétron conduz à formação do cátion em  $m/z$  58.

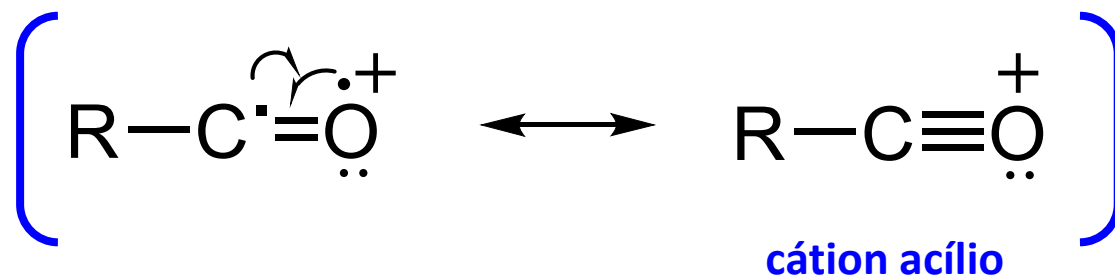
Outros íons:  $m/z$  72 ( $\text{M}-\text{H}^+$ );  $m/z$  30 ( $\text{CH}_2=\text{NH}_2^+$  via rearranjo)



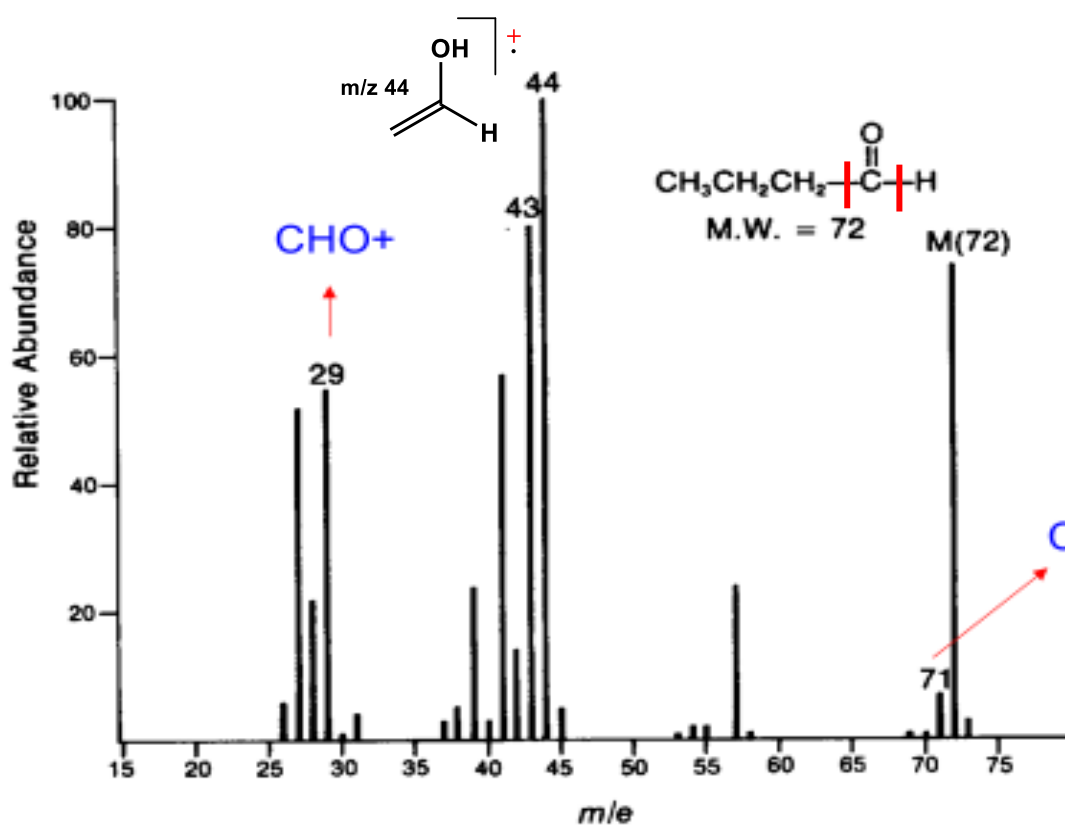
## Fragmentações alfa em compostos carbonílicos



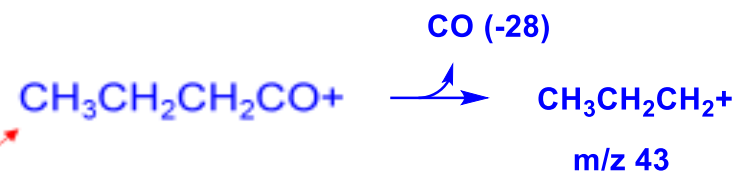
Para compostos carbonílicos, por definição o carbono alfa é o primeiro ligado ao carbono carbonílico, mas para fins de espectrometria de massas, a quebra ocorre Entre o carbono carbonílico e o carbono alfa (e não depois).



Fragmentação de compostos carbonílicos nas **posições alfa** levam a formação do cátion no carbono carbonílico, que é estabilizado pelo elétron do átomo de oxigênio formando o **cátion acílio**.



## Espectro de massas do butiraldeído

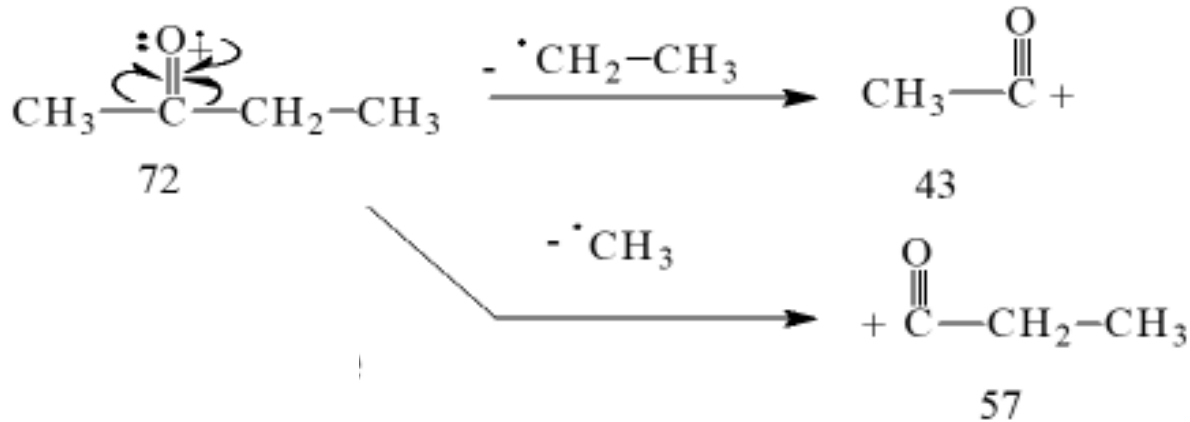
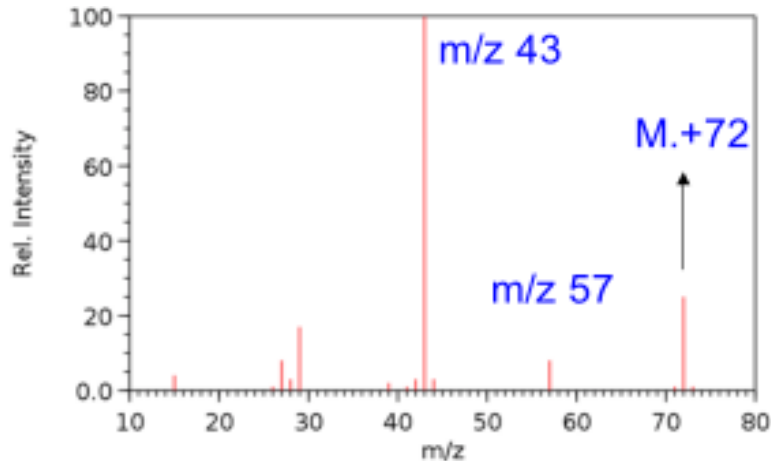


A **fragmentação alfa do hidrogênio** pode ser utilizada como diagnóstico para caracterizar um aldeído (assim como para um acetileno). Nesse caso o íon molecular em m/72, por eliminação de um hidrogênio radicalar gera o cátion acílio m/z 71.

A outra **fragmentação alfa** leva ao íon  $\text{CHO}^+$  (m/z 29).

Forma-se ainda o cátion m/z 43 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2^+$ ) e, por rearranjo de McLafferty (vide mais a frente), o cátion radicalar, um enol, em m/z 44 (projeção 30).

## Espectro de massas da 2-butanona.

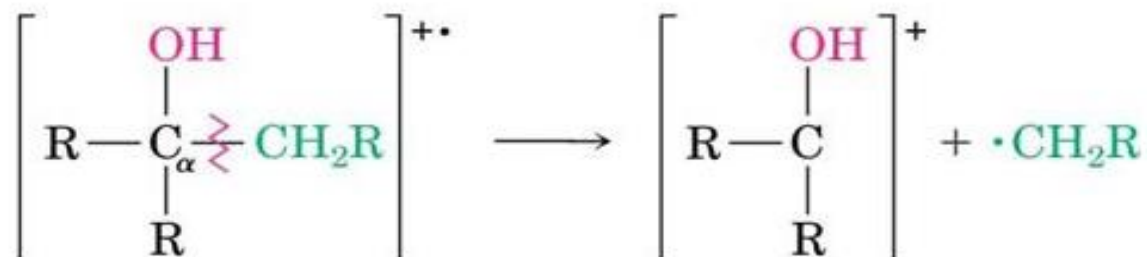


A fragmentação do radical maior é favorecida e o m/z 43 torna-se o pico base.

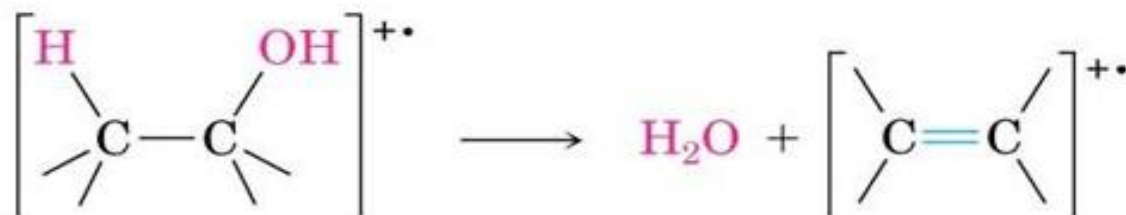
A **fragmentação** pode ocorrer nas duas ligações **alfa** perdendo os radicais etílico e metílico, gerando os cátions m/z 43 e m/z 57, respectivamente.

# Fragmentações com quebras simultâneas de duas ligações sigma

## Reação de desidratação



Fragmentação  
alfa



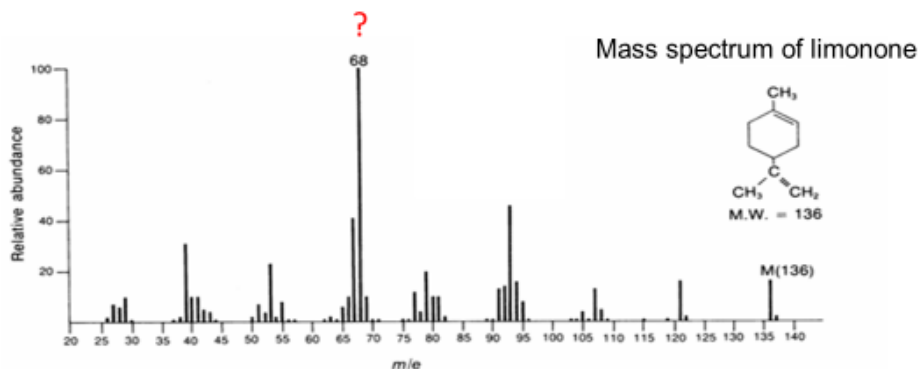
Fragmentação  
De 2 ligações sigma

A reação de eliminação de água é característica de álcoois e pode ser utilizada como diagnose.

A eliminação de uma molécula neutra de água [M-18] e não necessariamente do H vizinho.

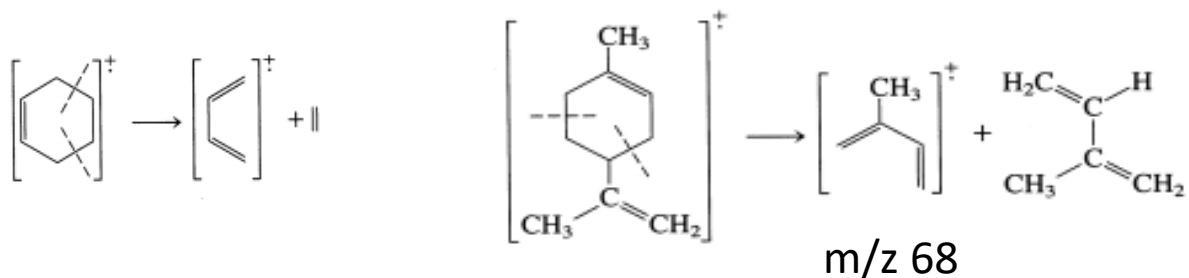
# Fragmentações com quebras simultâneas de duas ligações sigma

## Fragmentação retro Diels-Alder



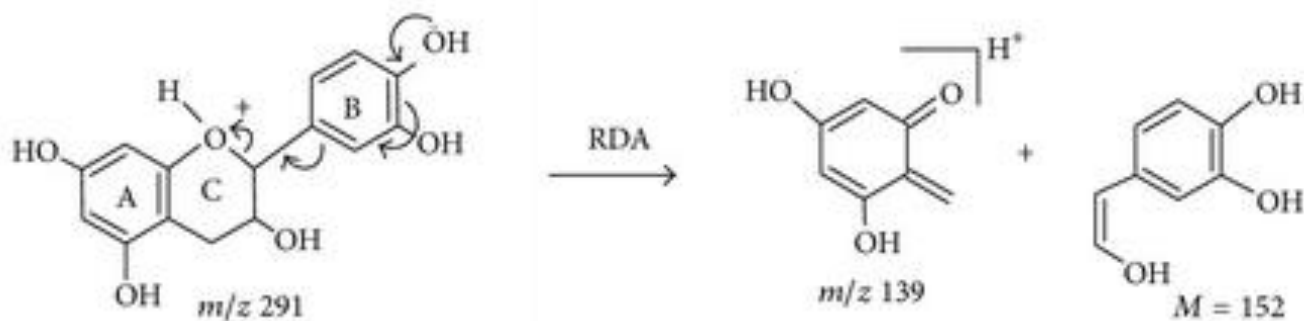
Espectro de massas de um cicloexeno (limoneno)

## Fragmentação retro Diels-Alder



O modo de fragmentação conhecido por **retro Diels-Alder** é característico de um cicloexeno (dois casos acima). No caso do limoneno, forma-se um cátion radicalar de massa par em m/z 68 pela eliminação de uma molécula neutra com massa também de 68 (mas por ser neutra não é detectada).

## Uso da Fragmentação retro Diels-Alder na análise de flavonoides



### Recent Applications of Mass Spectrometry in the Study of Grape and Wine Polyphenols

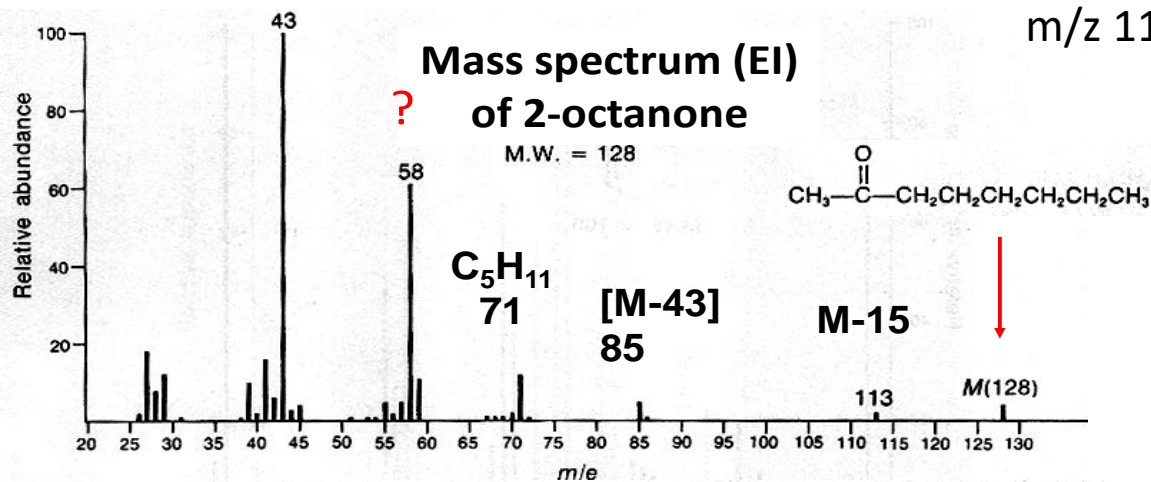
**Review Article | Open Access**

Volume 2013 | Article ID 813563 | <https://doi.org/10.1155/2013/813563>

# Fragmentações com quebras simultâneas de duas ligações sigma

## Rearranjo de McLafferty

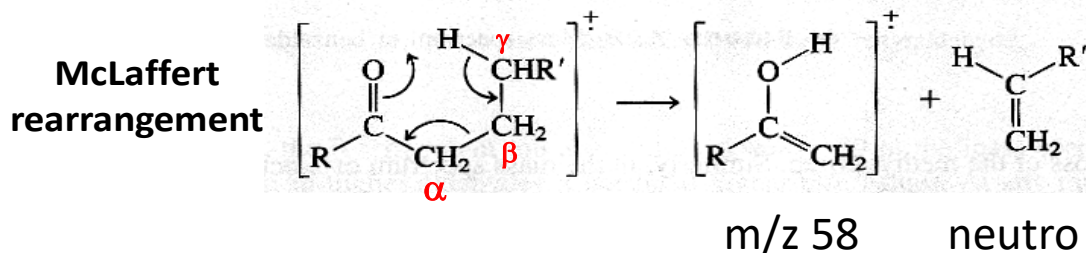
**Requisito:** carbonila ou grupo aceptor (carbonila ou anel aromático e hidrogênio na posição gama.



$m/z$  113 (M-15); cátion acílio  $+OC-C_6H_{13}$

$m/z$  85: cátion resultante da fragmentação de radical  $CH_3CO\cdot$

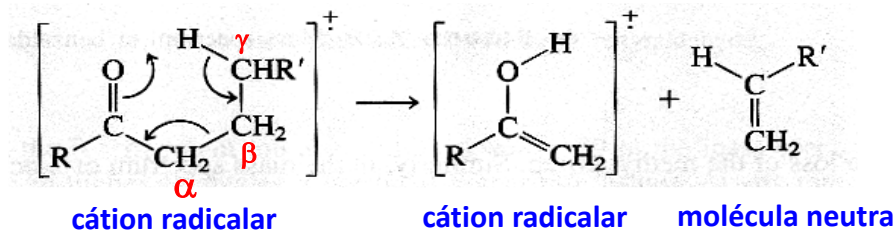
$m/z$  43: cátion acílio  $CH_3CO^+$



**Cátion-radicalar (par)**

Todos os compostos carbonílicos, desde aldeídos, cetonas, ésteres, ou ainda um composto benzenoídico que apresentar um hidrogênio gama, tenderá apresentar esse modo de fragmentação conhecido como **rearranjo de McLafferty**.

# Produtos de rearranjos de McLafferty em compostos carbonílicos

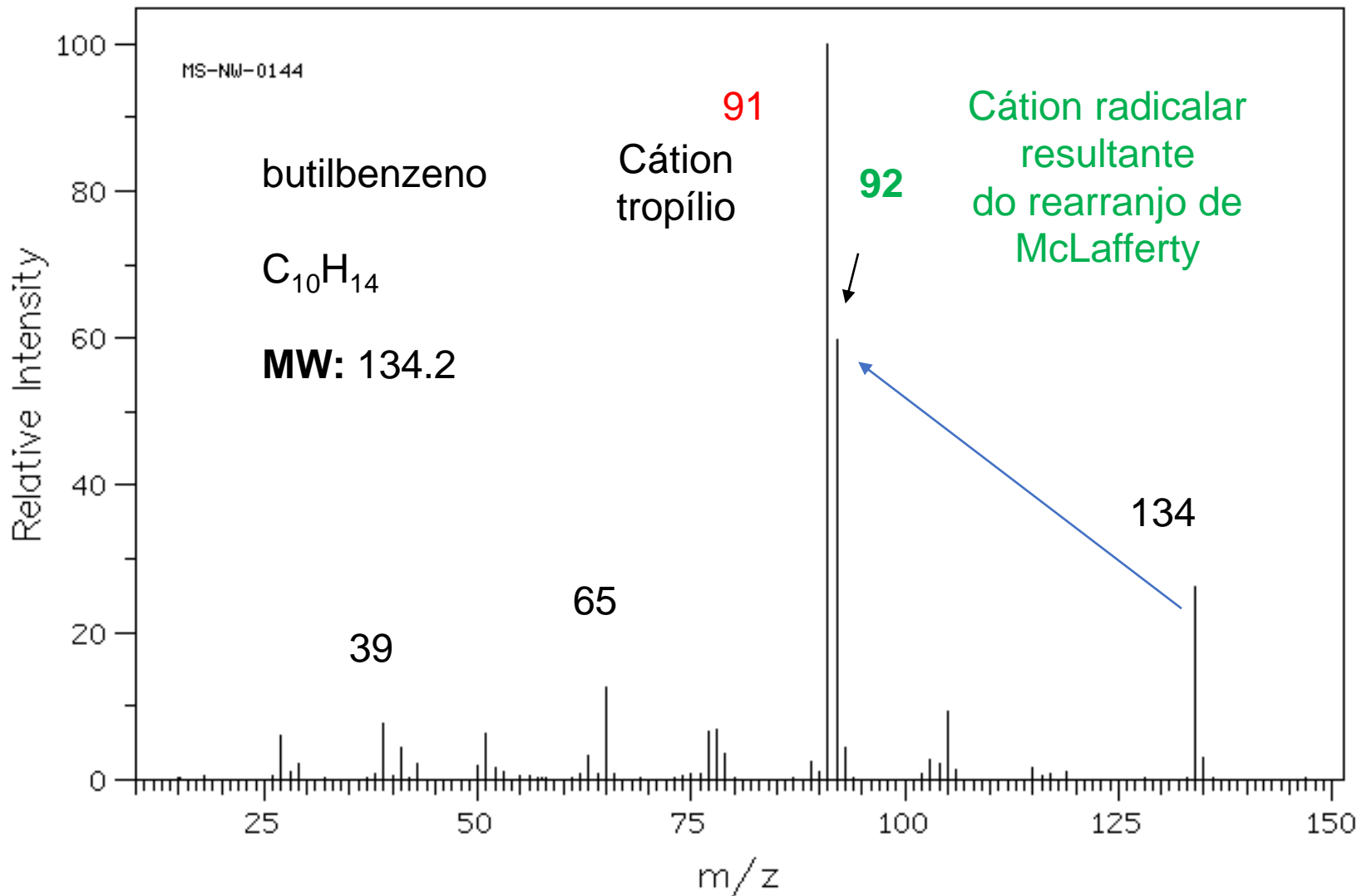


Precursor	Product Structure	Formula	Accurate Mass [u] <sup>a</sup>
aldehyde		C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sup>++</sup>	44.0257
alkyl methyl ketone		C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sup>++</sup>	58.0413
carboxylic acid		C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> <sup>++</sup>	60.0206
carboxylic acid amide		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sup>++</sup>	59.0366
methyl carboxylates		C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> <sup>++</sup>	74.0362
ethyl carboxylates		C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> <sup>++</sup>	88.0519

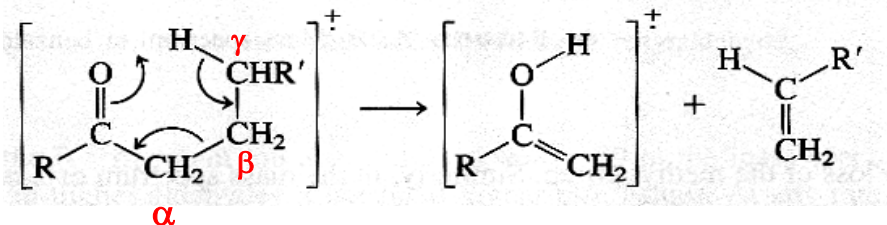
<sup>a</sup> Values rounded to four decimal places.



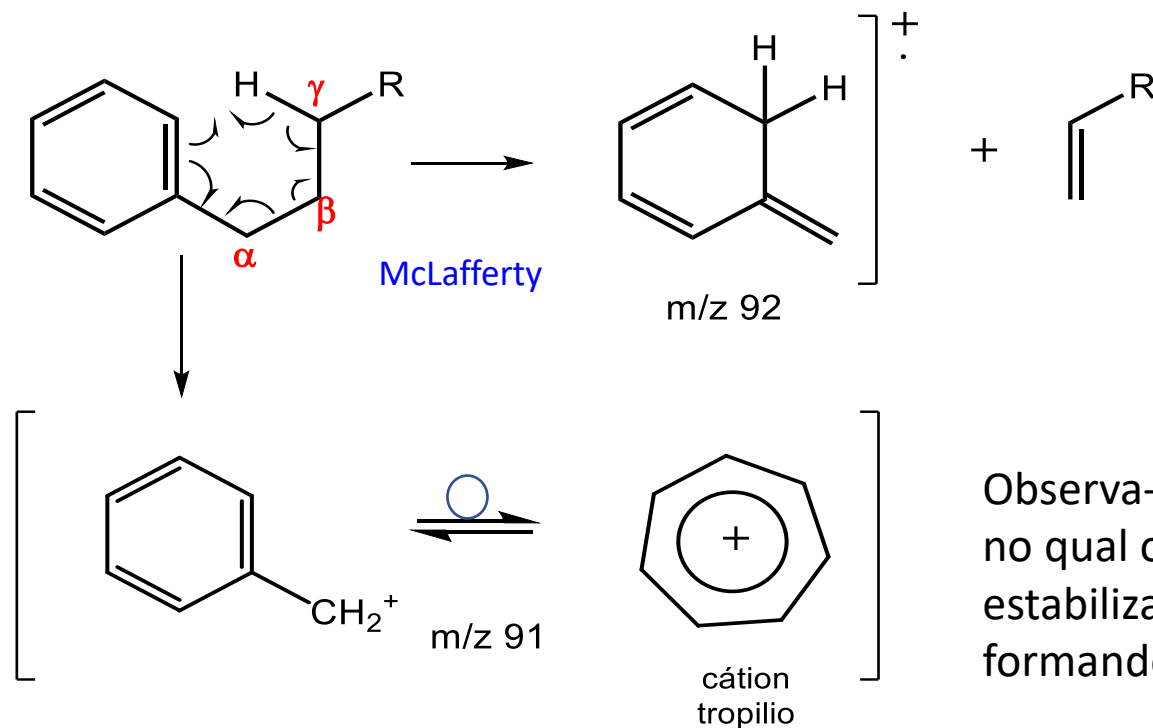
# Rearranjo de McLafferty em alquilbenzenos

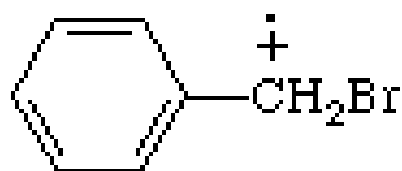
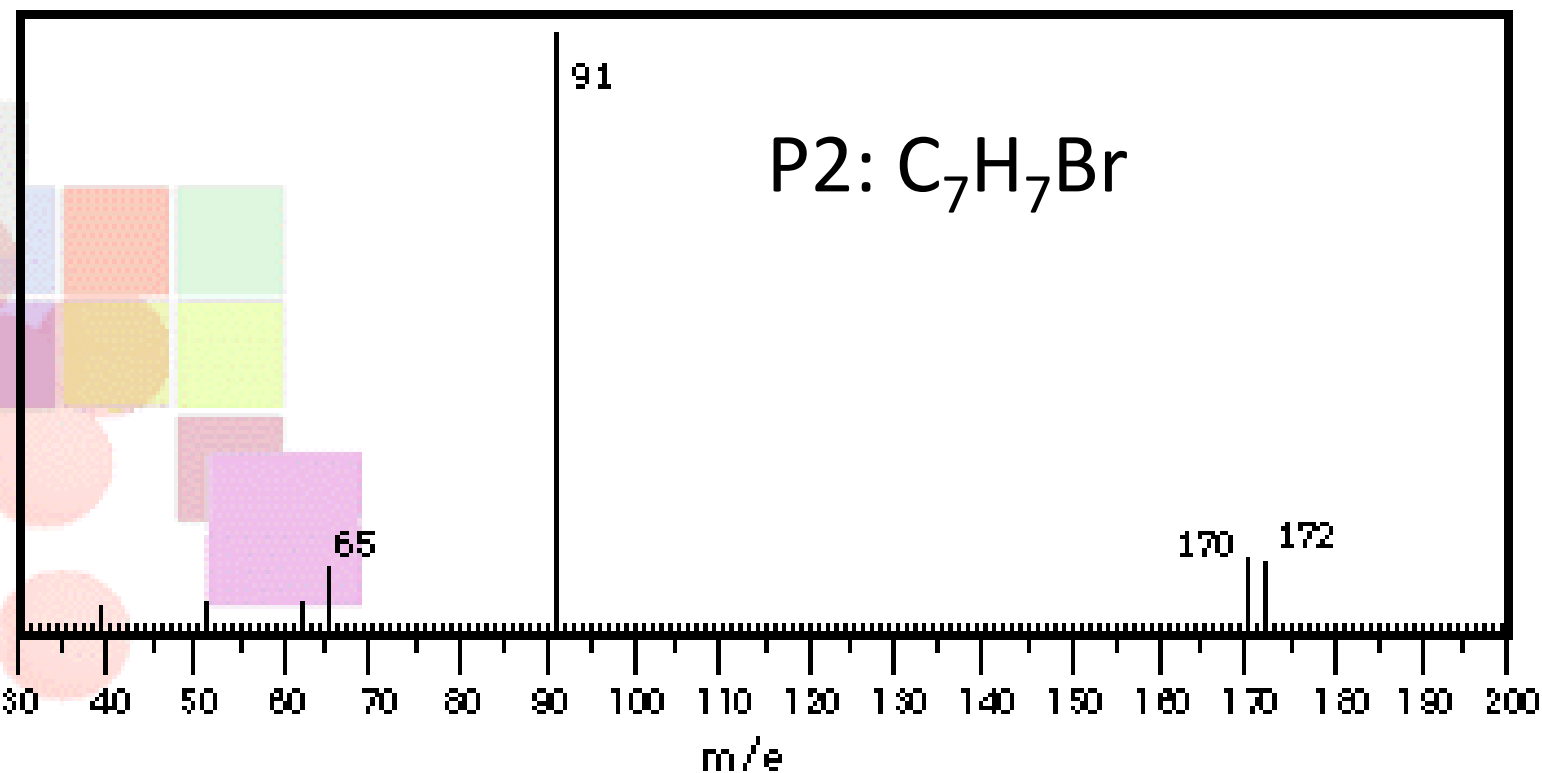


## Rearranjo de McLafferty em Compostos carbonílicos

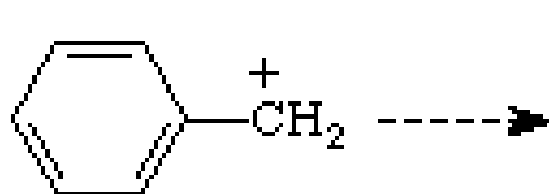


## Rearranjo de McLafferty em alquilbenzenos

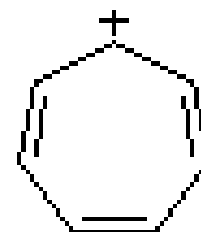




$m^+$  (170 and 172)



$m/e = 91$



tropylium ion

# Como interpretar um espectro de massas

- ✓ Procure identificar um pico candidato ao íon molecular  $[M^+]$ ;
- ✓ Analise o padrão da distribuição isotópica  $[M+1, M+2, \text{etc}]$ ;
- ✓ Procure íons fragmentários de baixa massa molecular que sejam conhecidos e também o pico base;
- ✓ Use as regras de estabilização de radicais e carbocátions para atribuir os íons formados;
- ✓ Compare o espectro com alguma referência.