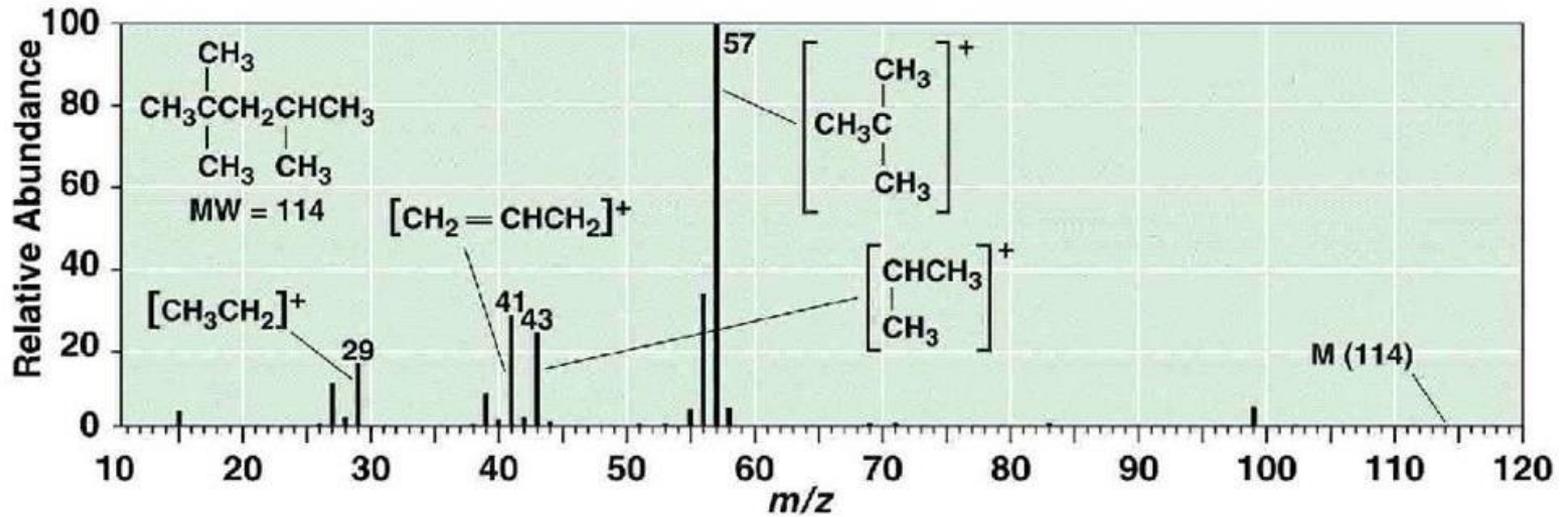


QFL1345 – Fundamentos de Espectroscopia e Métodos Espectroscópicos

22 de maio de 2023 – Integral

Reações de fragmentação em EM: Princípios gerais

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

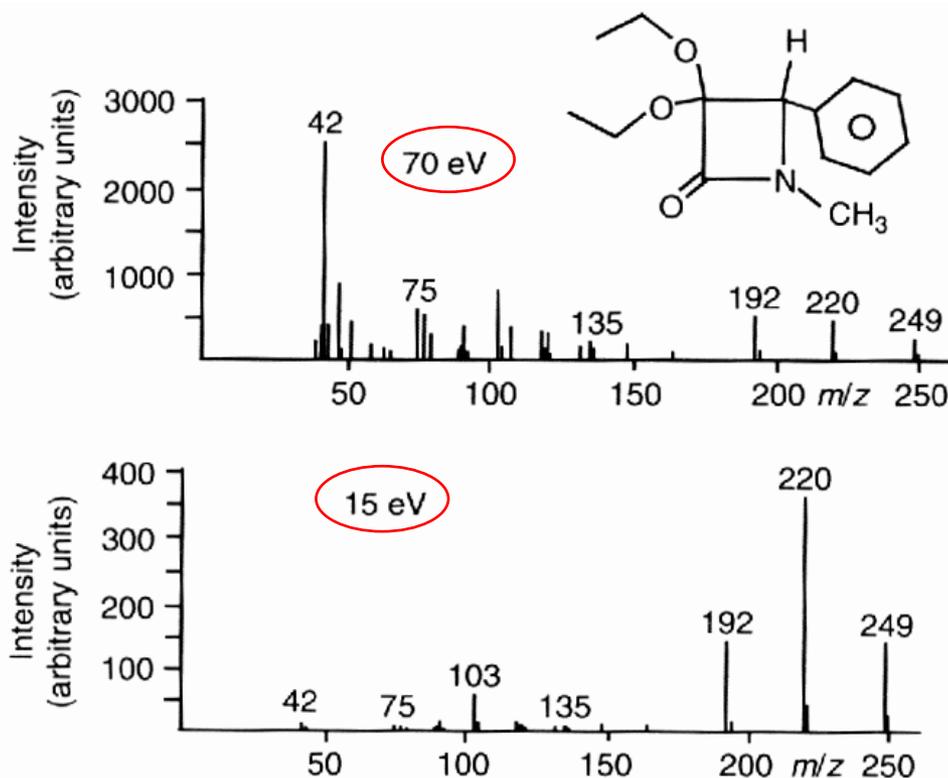


Alcanos ramificados possuem M^+ de intensidade reduzida ou não são observados

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 β -lactama a duas energias eletrônicas diferentes: maior fragmentação a 70 eV

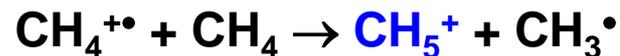


Íon molecular
 m/z 249 Da

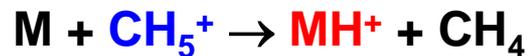
Ionização química

Método mais suave com menor fragmentação

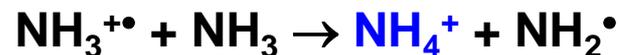
- Ionização produzida por uma reação química provocada por um gás ionizado.
- Gás reagente, p.ex. CH₄



- CH₅⁺ é um ácido de Brønsted muito forte em fase gasosa: leva a ionização suave com formação de MH⁺ e fragmentos eventuais

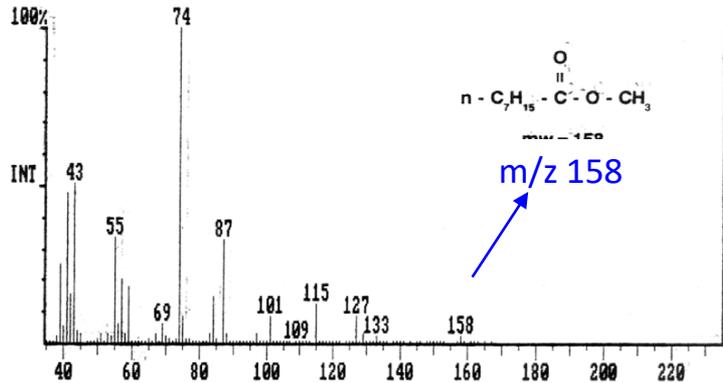


- Outros gases: isobutano, C₄H₁₀, NH₃



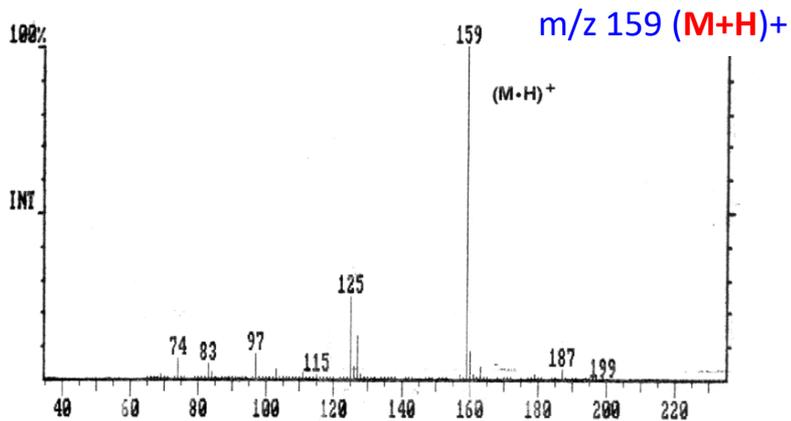
Comparação entre Ionização eletrônica e ionização química

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

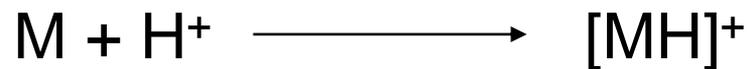
Remoção de elétrons



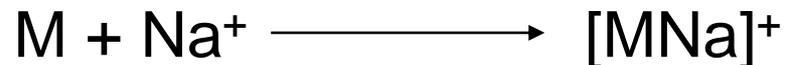
Captura de elétrons



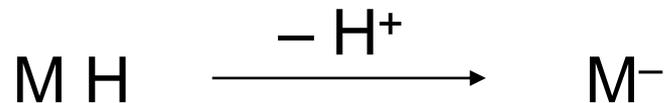
Protonação



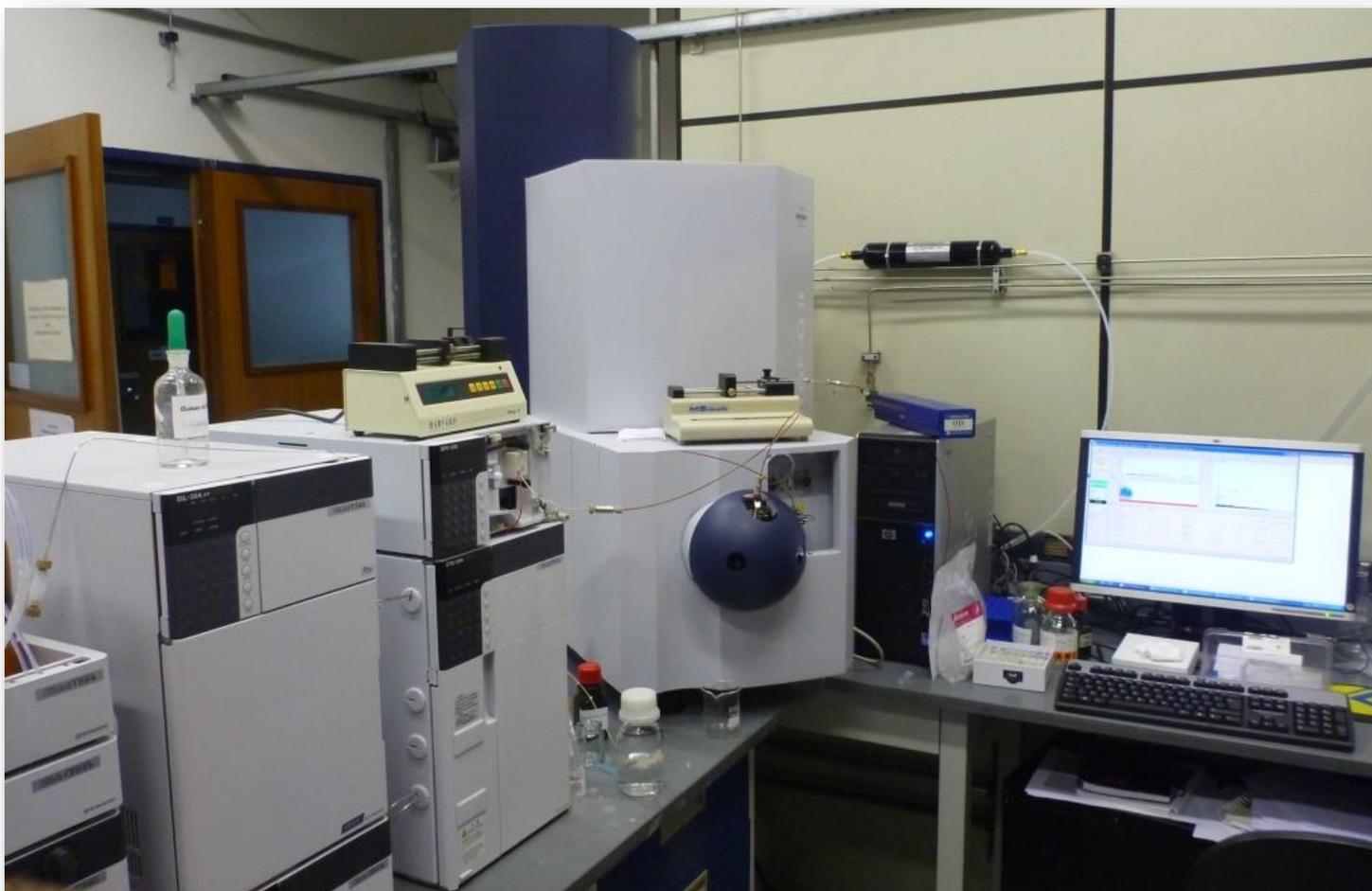
Cationização



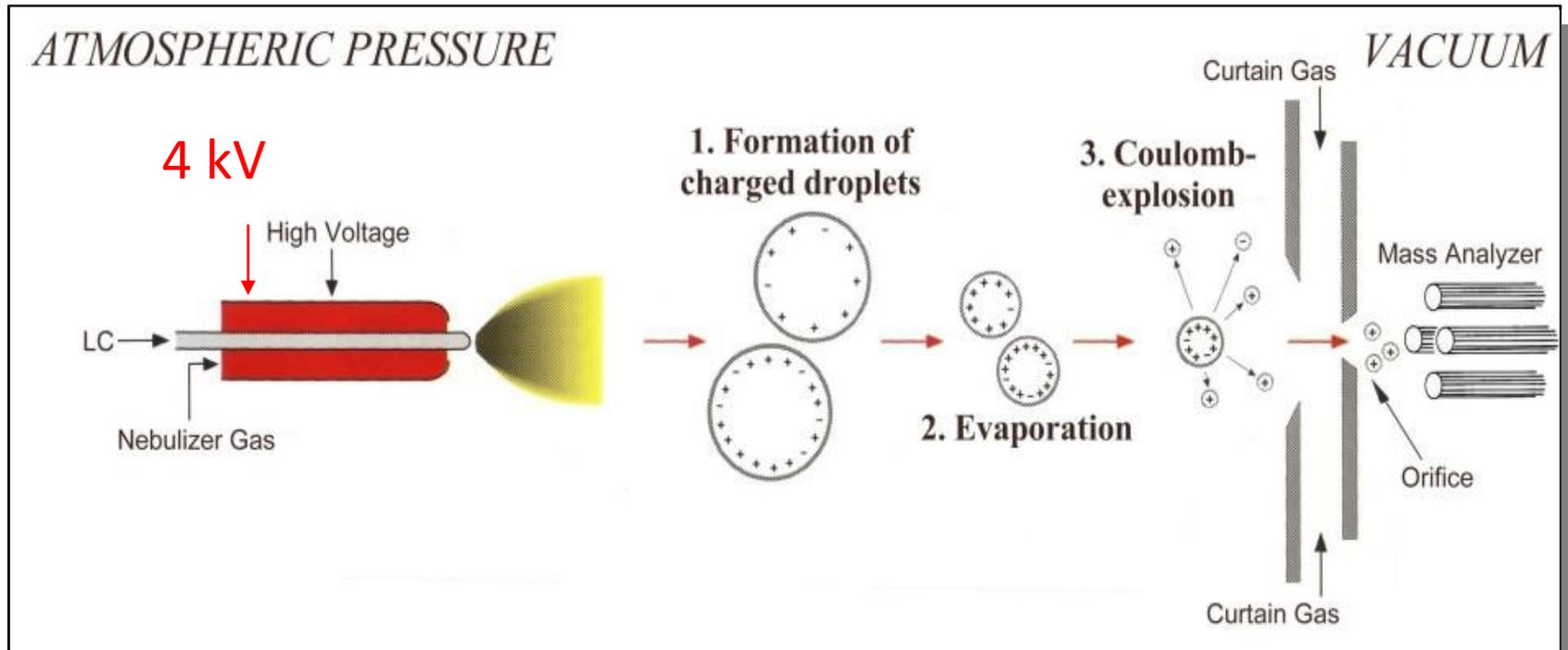
Desprotonação



HPLC - Bruker Q-ToF



Ionização por Nebulização Eletrônica (ESI)

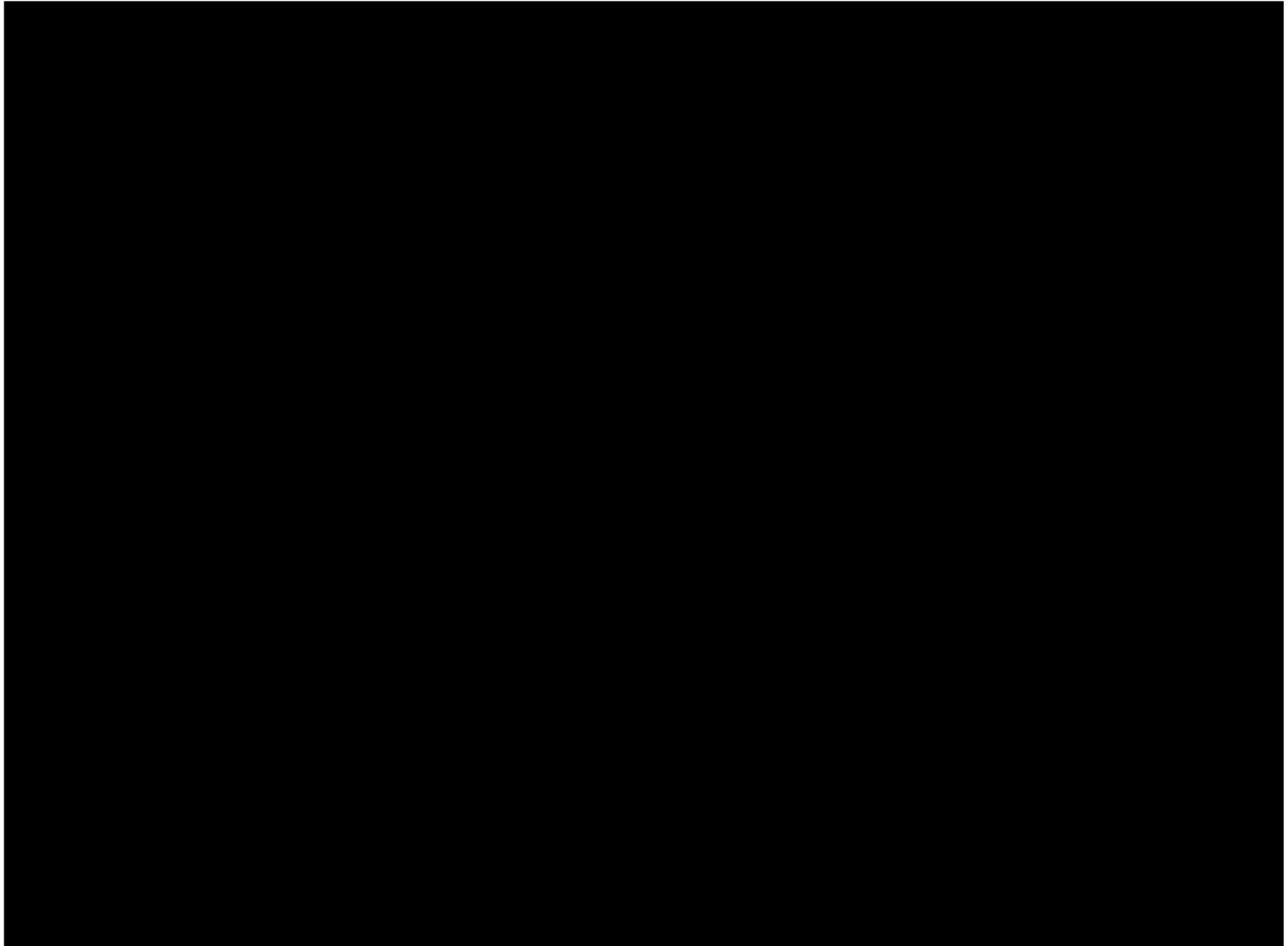


- Técnica “branda” de ionization
- Aplicável à compostos polares e iônicos.

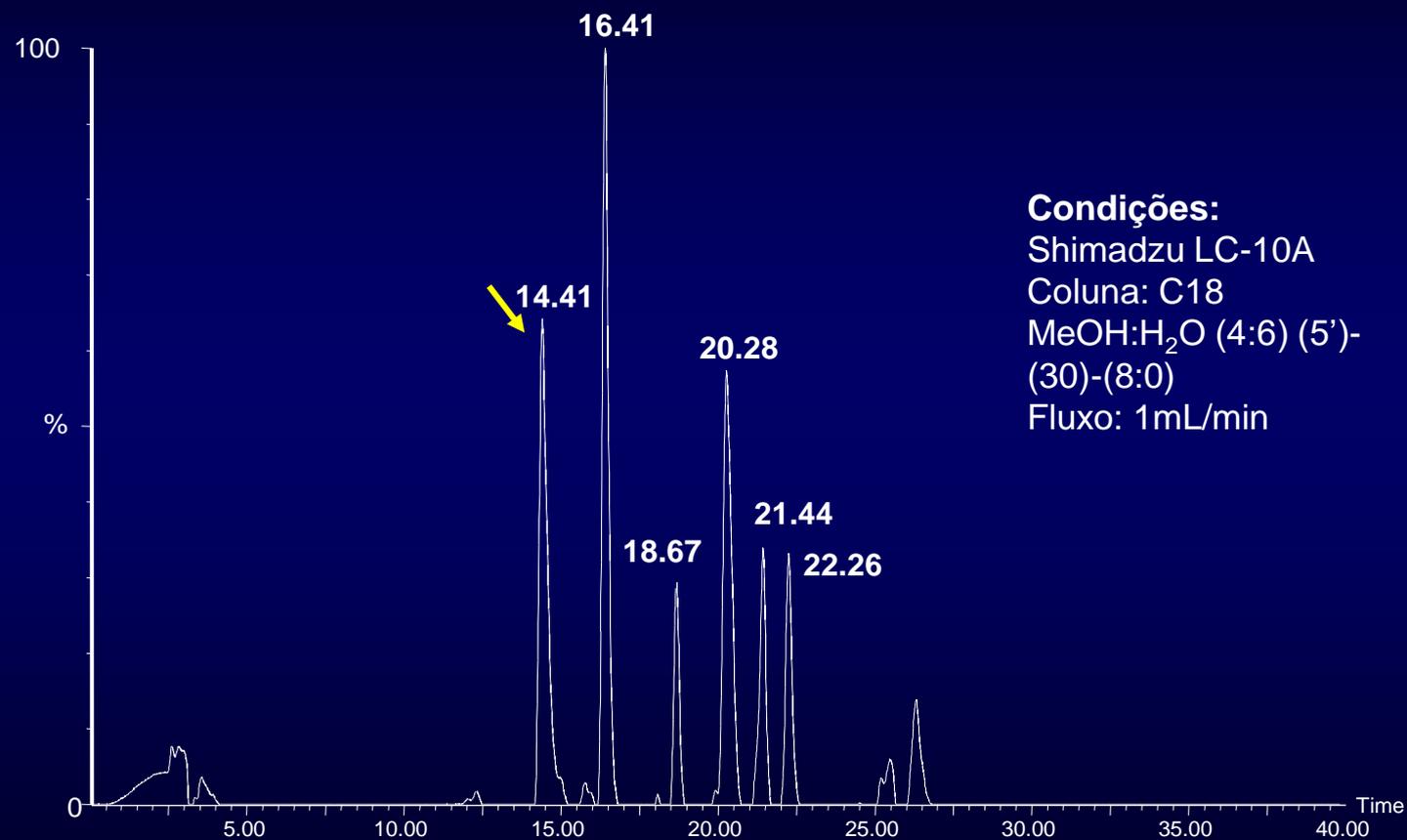
Vídeo sobre Electrospray:

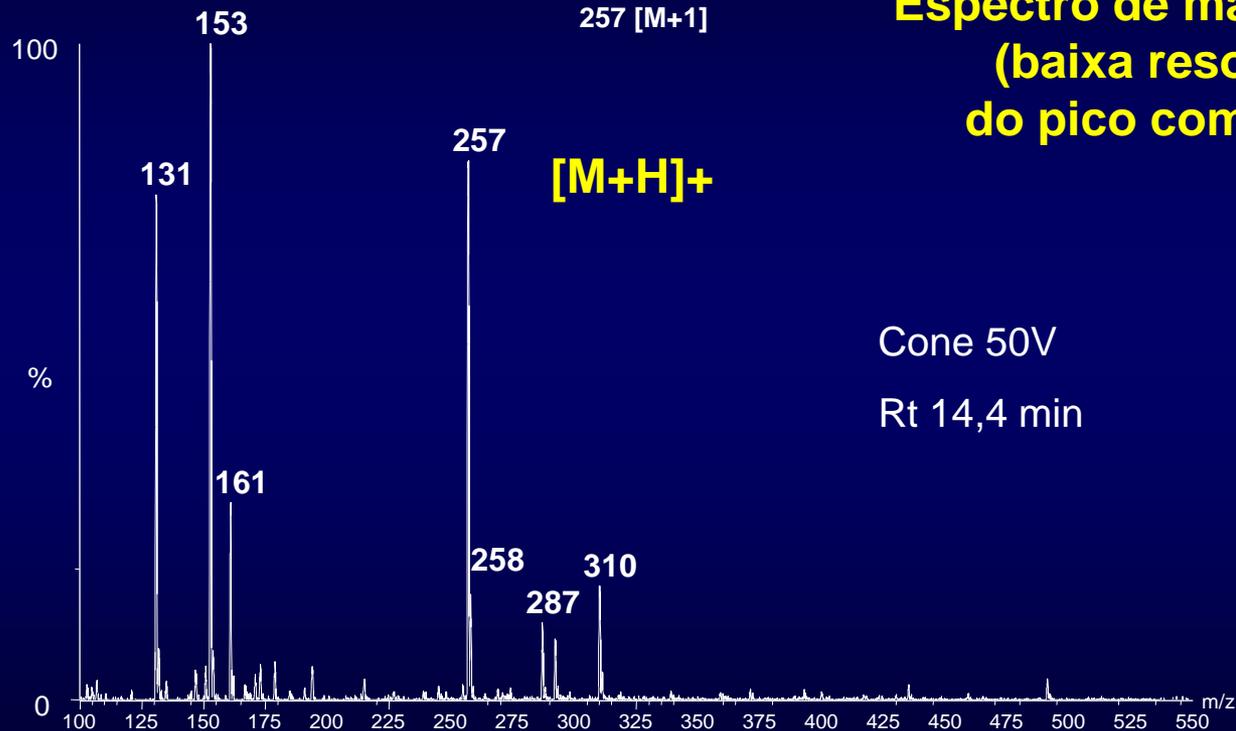
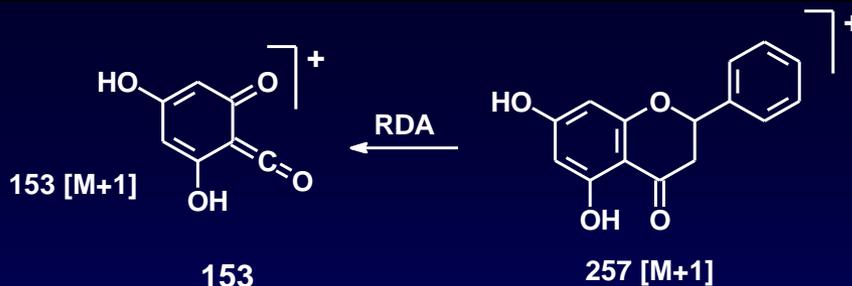
<https://www.youtube.com/watch?v=daSSRj41Mlo>

Electrospray ionization (ESI) veja o video no Moodle



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





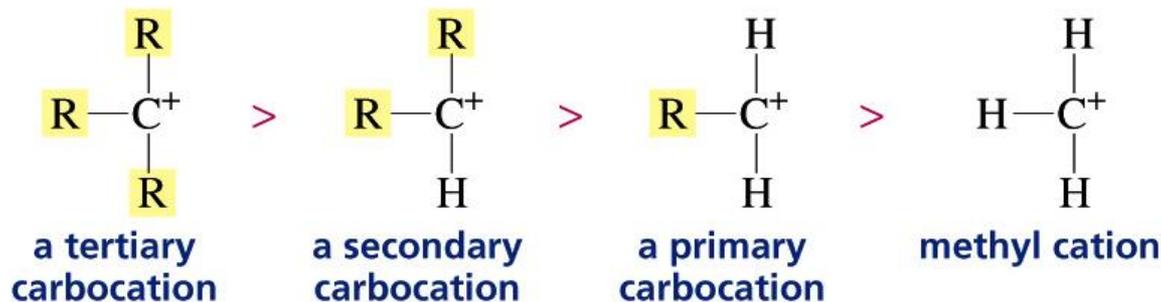
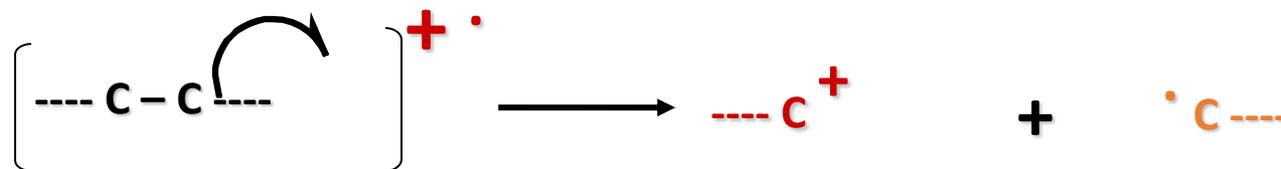
**Espectro de massas ESI +
(baixa resolução)
do pico com tR 14.4**

Cone 50V
Rt 14,4 min

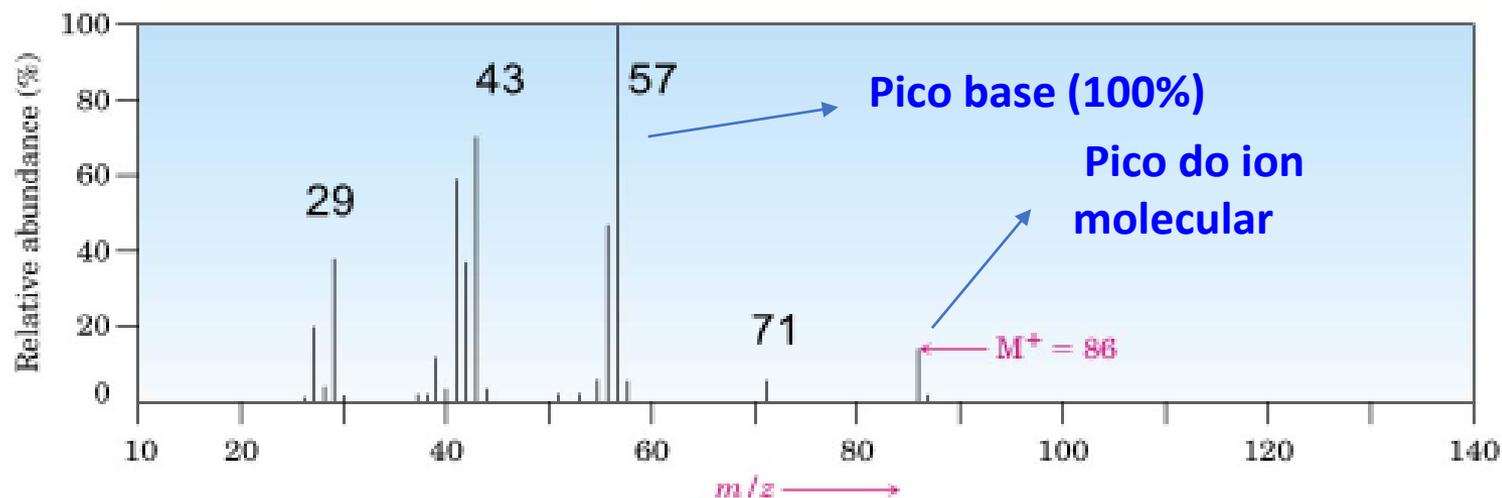
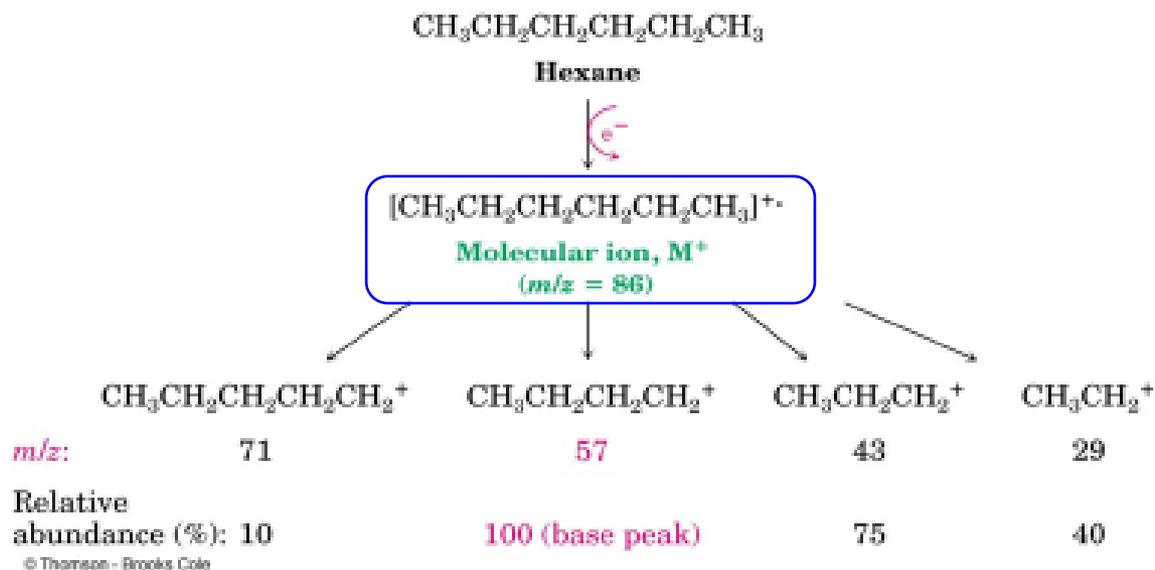
[M+H]⁺

Regras comuns de fragmentação em espectrometria de massas (EI)

1) Quebra de ligações σ resultando em cations mais estáveis



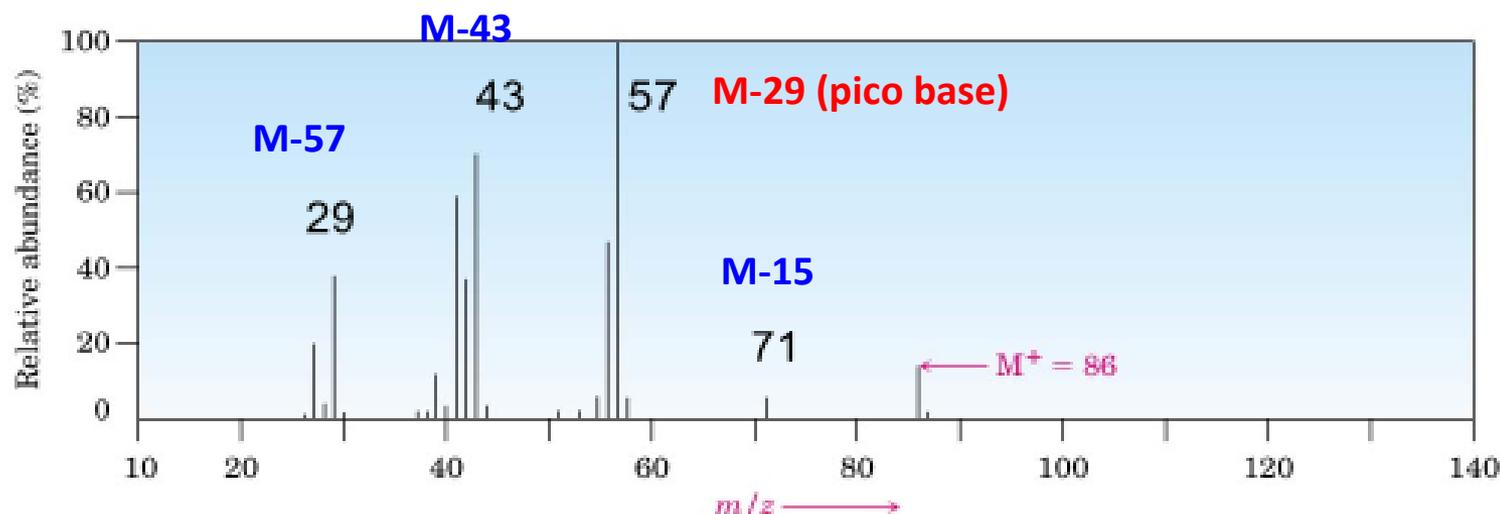
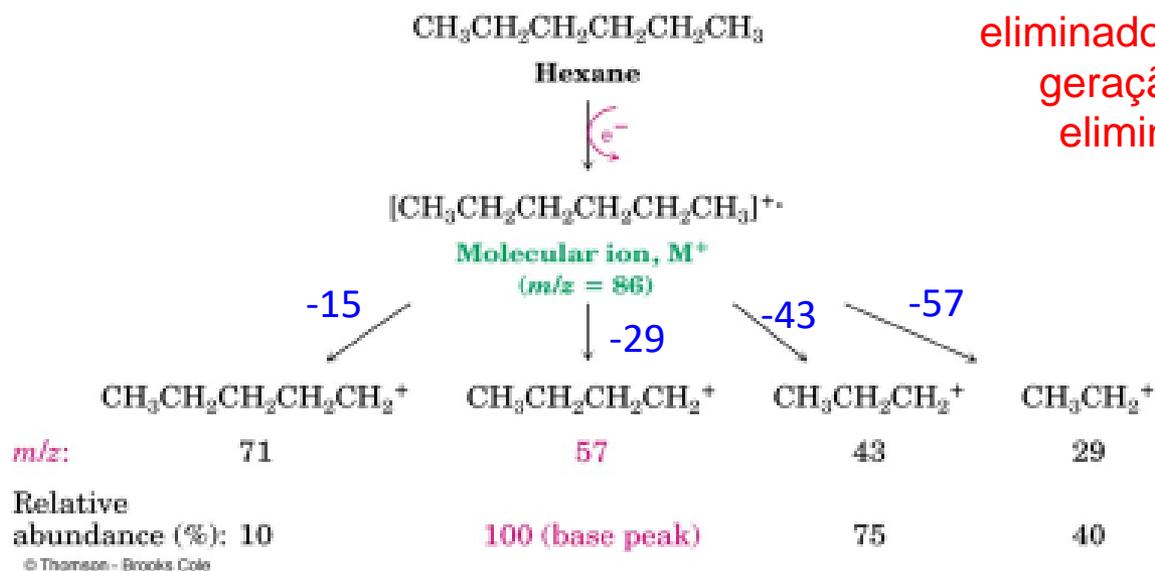
Espectro de massas (IE) do hexano



Espectro de massas do hexano

Há uma complementariedade entre as fragmentações:

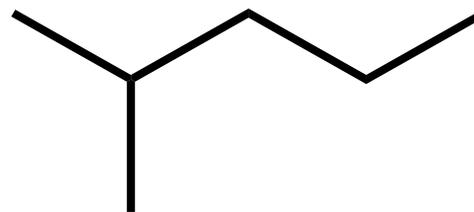
Para gerar o cátion em m/z 57 é eliminado o radical etila (M-29) e para a geração do cátion etila (m/z 29) é eliminado o radical butil (M-57).



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



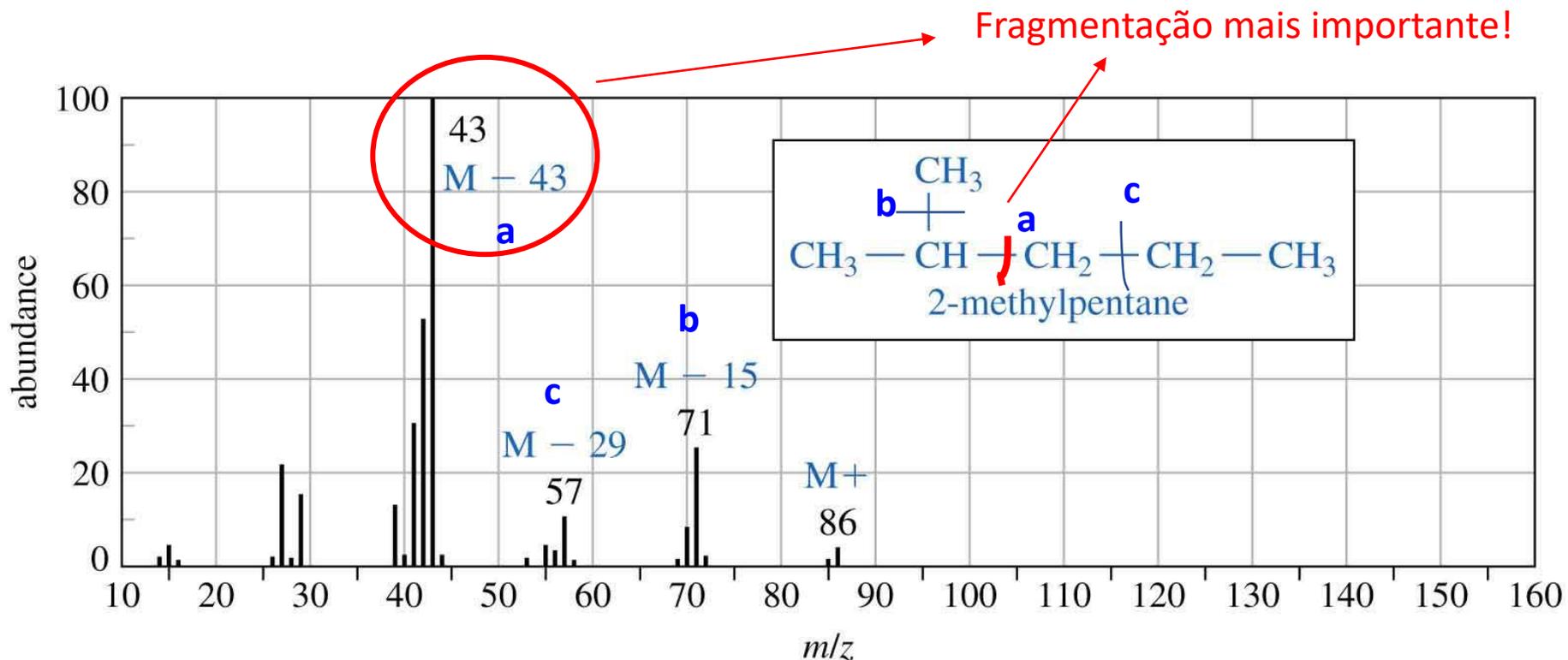
hexano



2-metilpentano

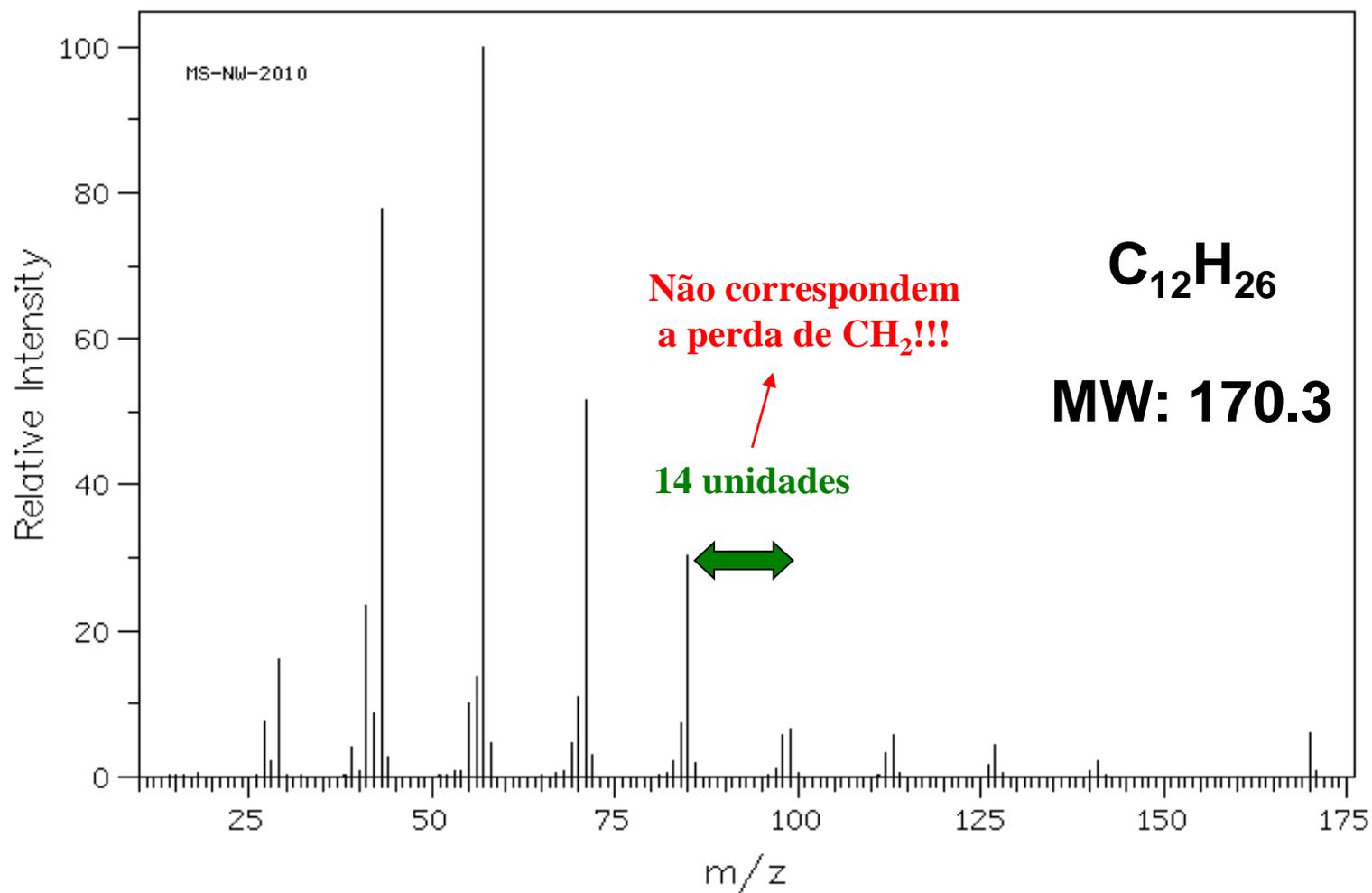
M^+ 86 Da (C_6H_{14})
(Não são distinguíveis por EM
de alta resolução - HRMS)

Espectro de massas do 2-metilpentano

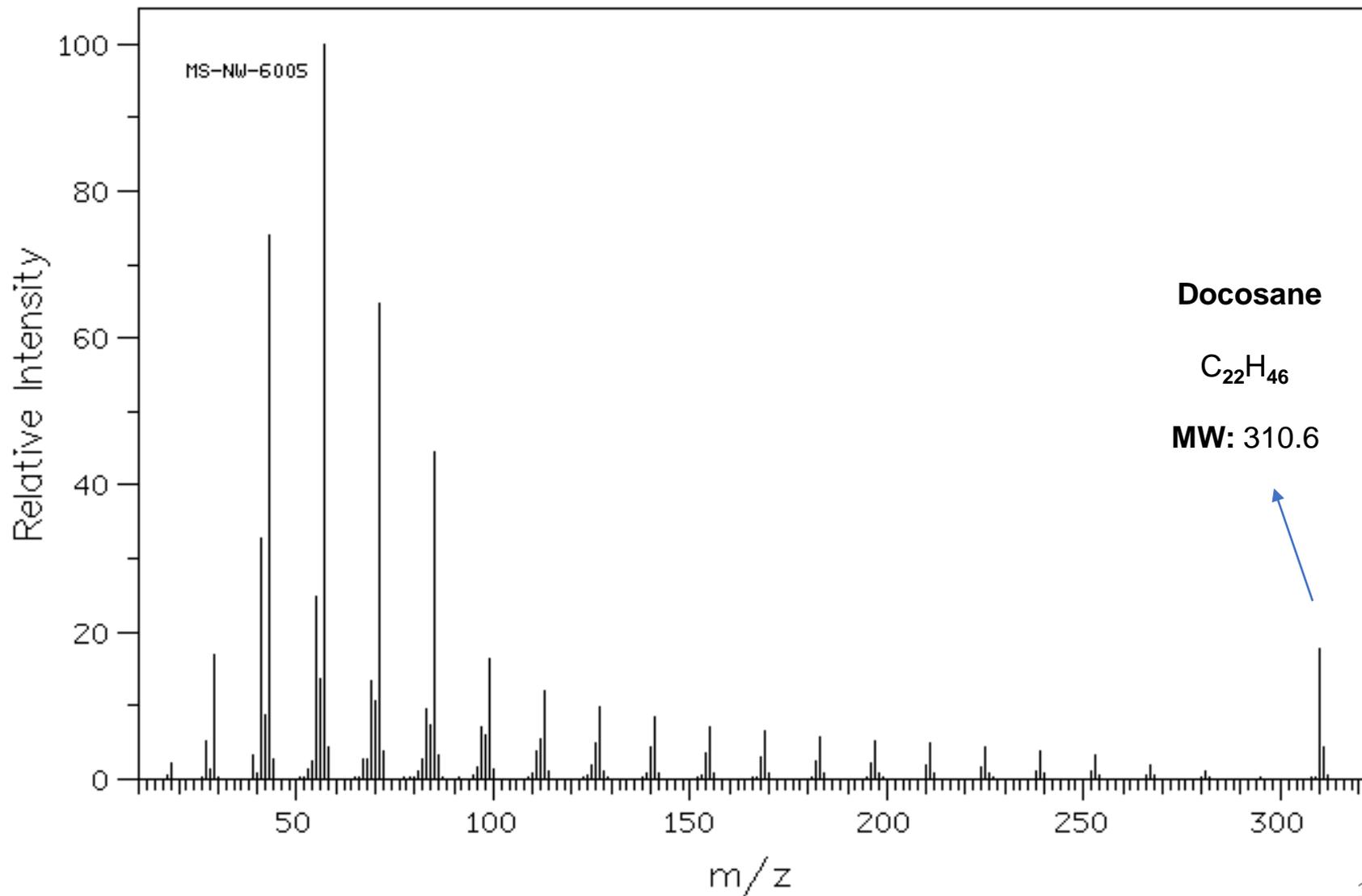


Uma ramificação altera de forma significativa a intensidade dos íons formados por causa da maior estabilidade dos mesmos
(Regra de Stevenson: forma-se o cátion com a menor energia de ionização)

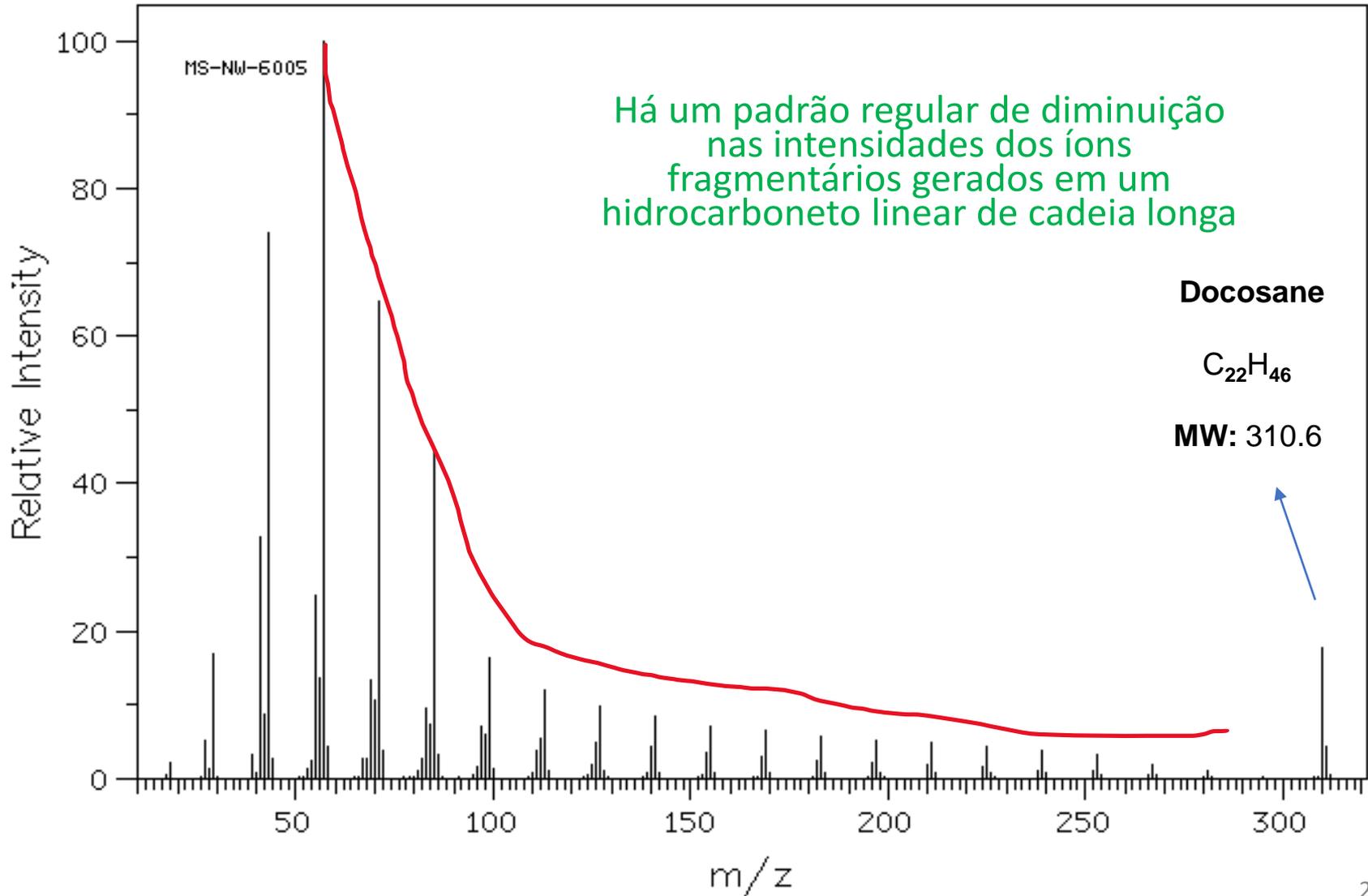
Espectro de massas do dodecano



Espectro de massas do docosano

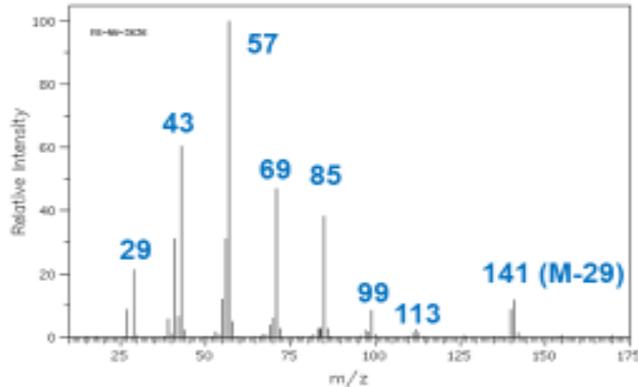


Espectro de massas do docosano

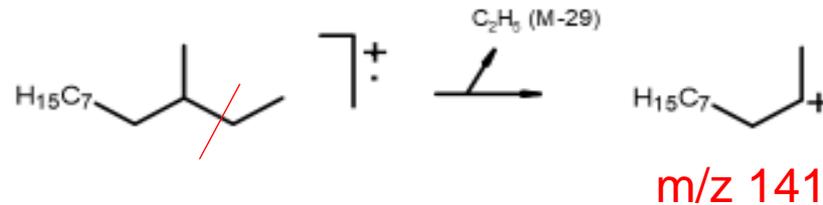


Localização da ramificação em hidrocarbonetos isoméricos ramificados

3-metilundecano

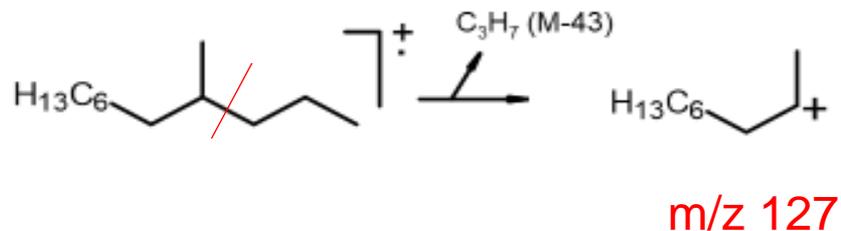
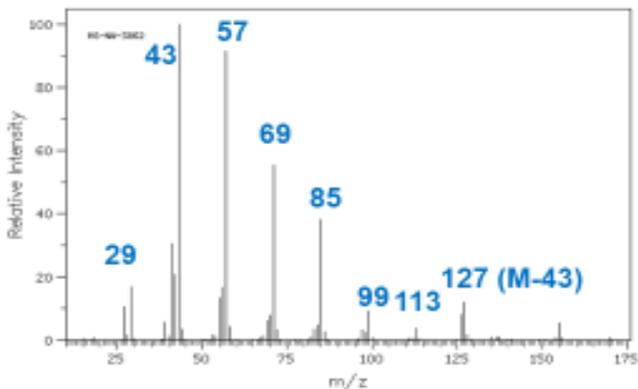


Isômeros ramificados do dodecano
MM 170.33 (não detectado)



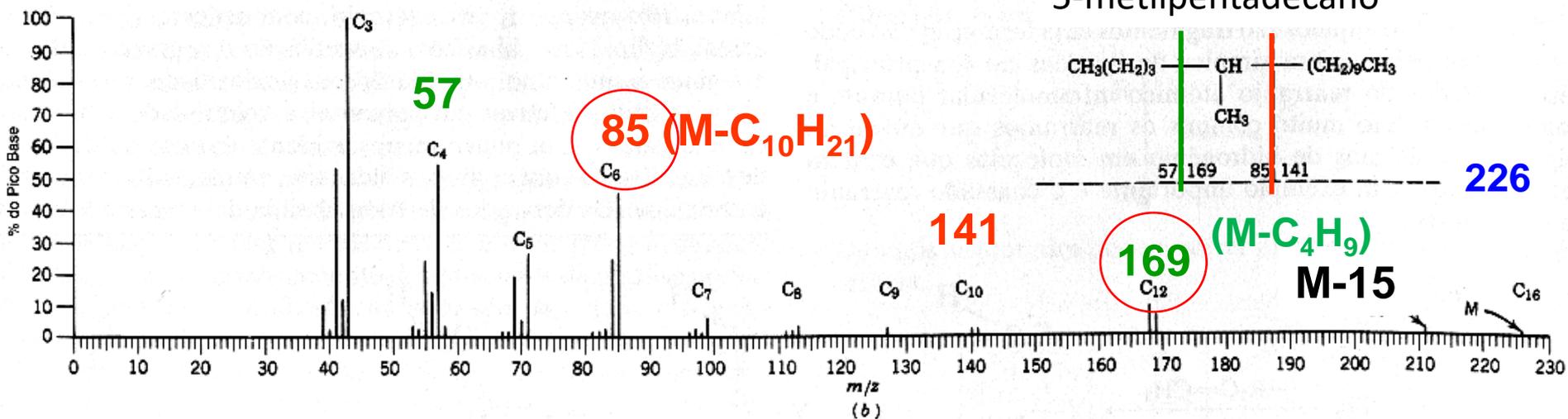
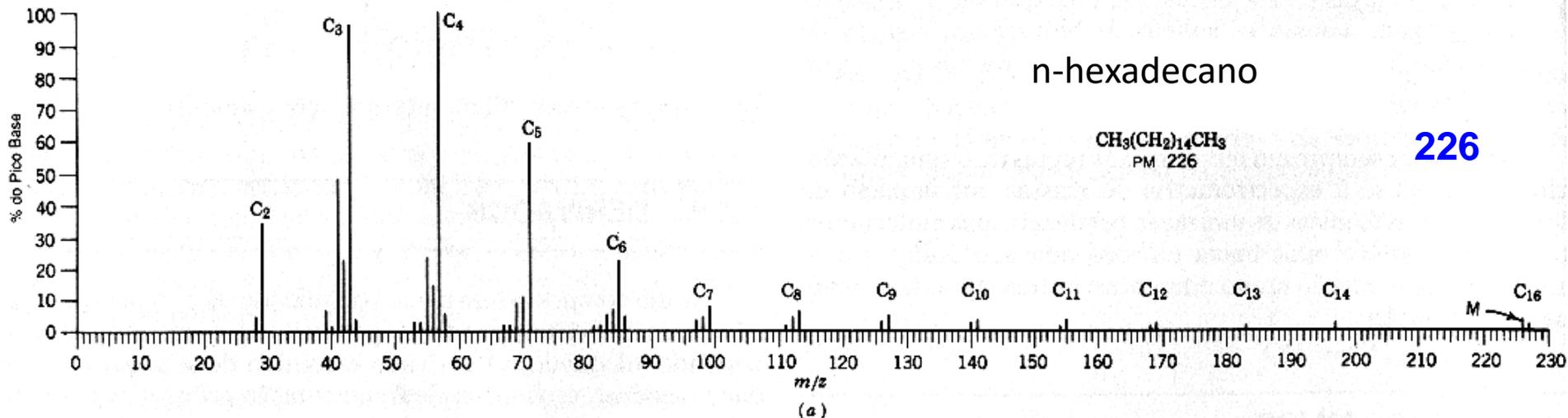
Fragmentação alfa:
gerando cátion secundários

4-metilundecano



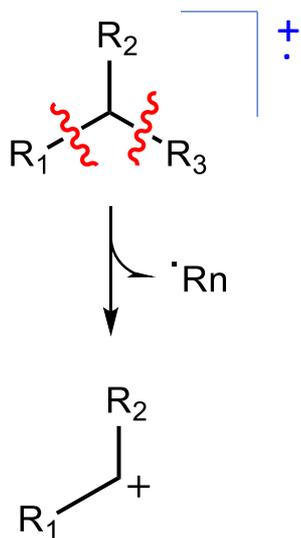
Fator importante: estabilização de cations por efeitos +I e hiperconjugação.

Hidrocarbonetos isoméricos de 16 átomos de carbonos (MM 226)



Fragmentações α são favorecidas por fatores que estabilizam os cátions resultantes

hidrocarbonetos

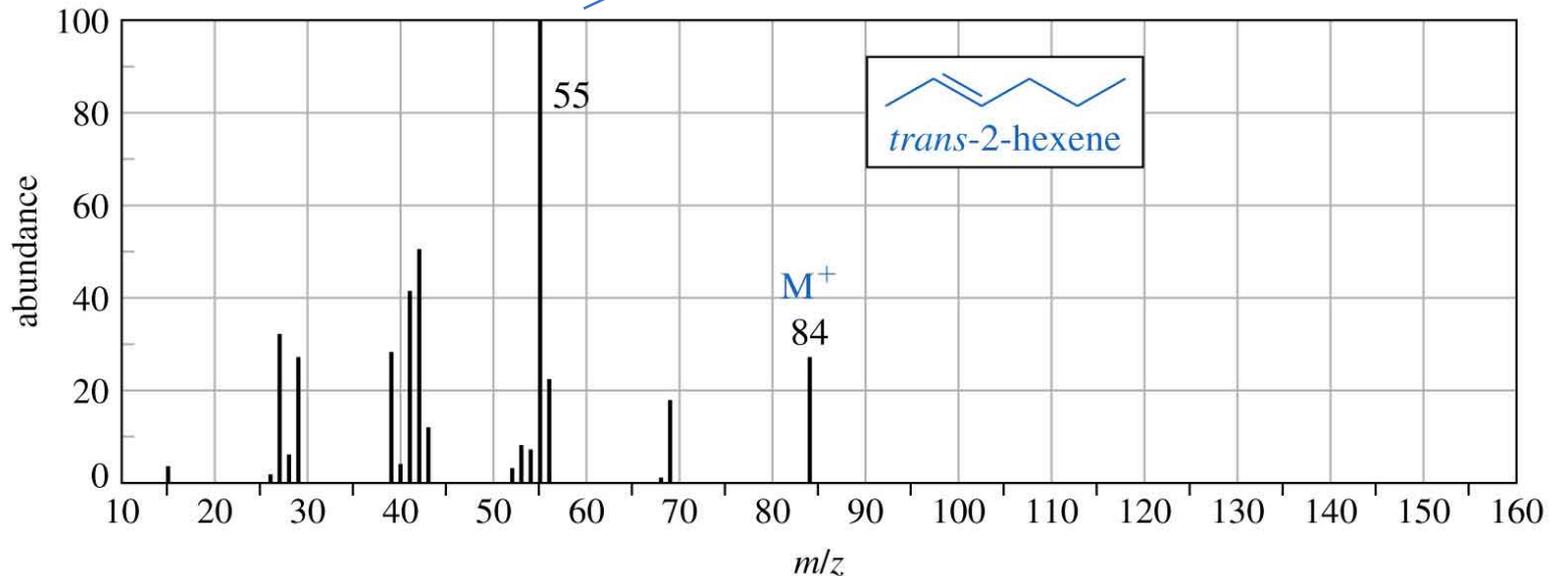
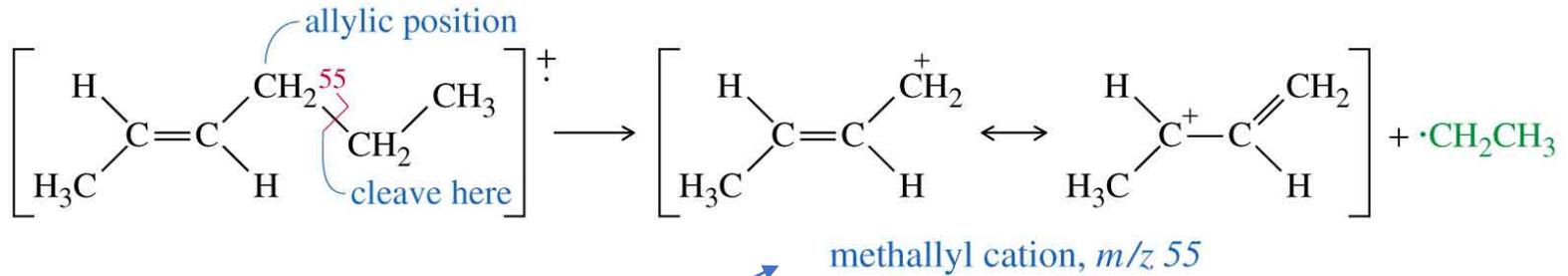


Cátions mais substituídos são estabilizados por efeitos indutivos, hiperconjugativos; conjugações à insaturações;

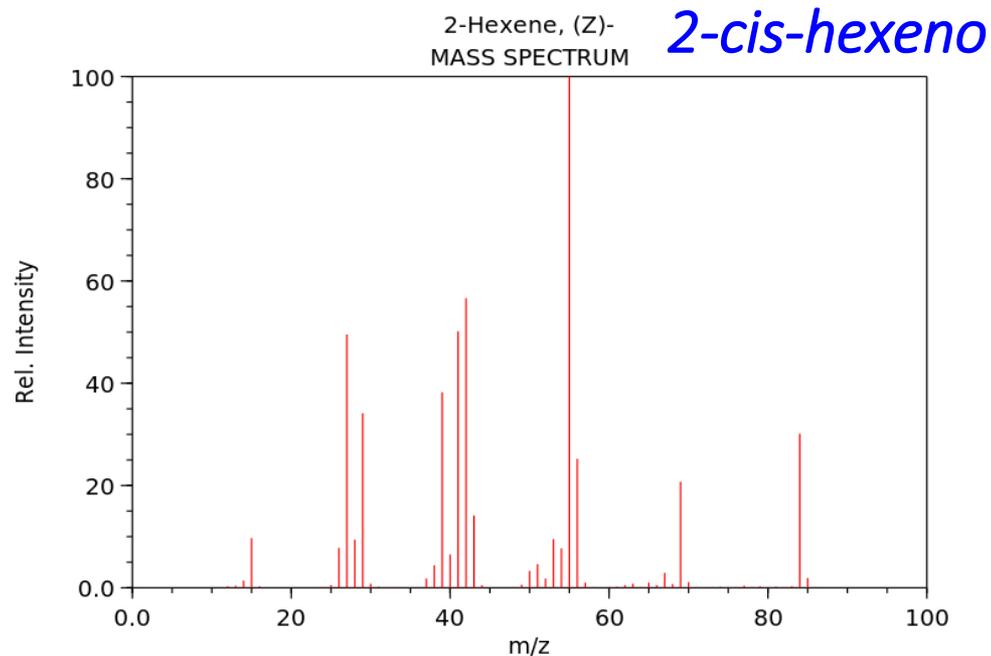
As fragmentação de radicais alquílicos maiores são favorecidas.

Espectro de massas de alcenos

A formação de cations alílicos são favorecidas.



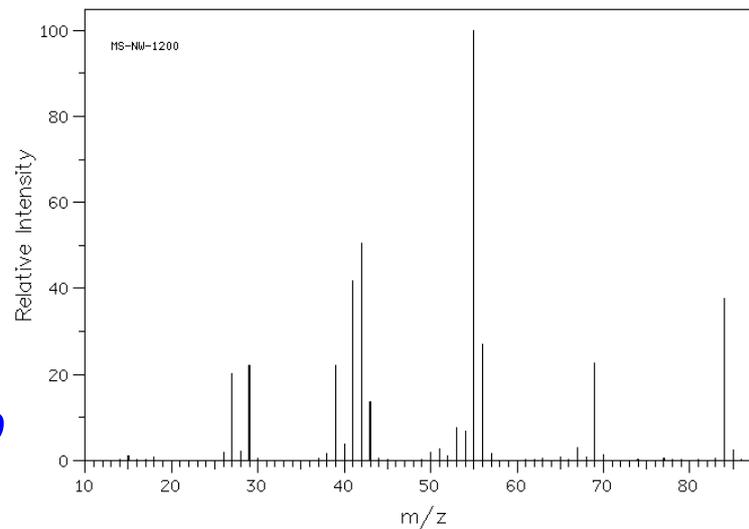
Seria possível
diferenciar
isômeros
geométricos?



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

Não!!!

2-trans-hexeno





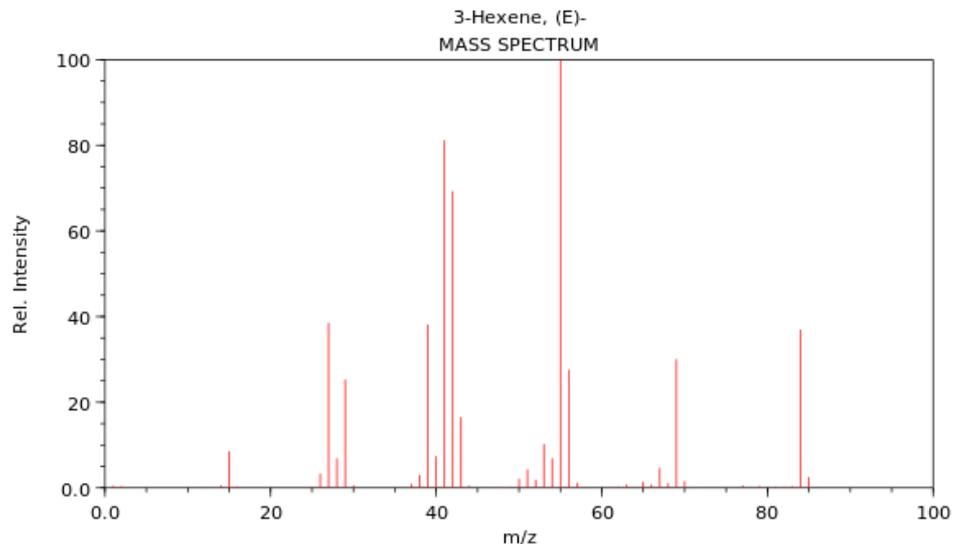
3-hexeno

E isômeros de
posição?

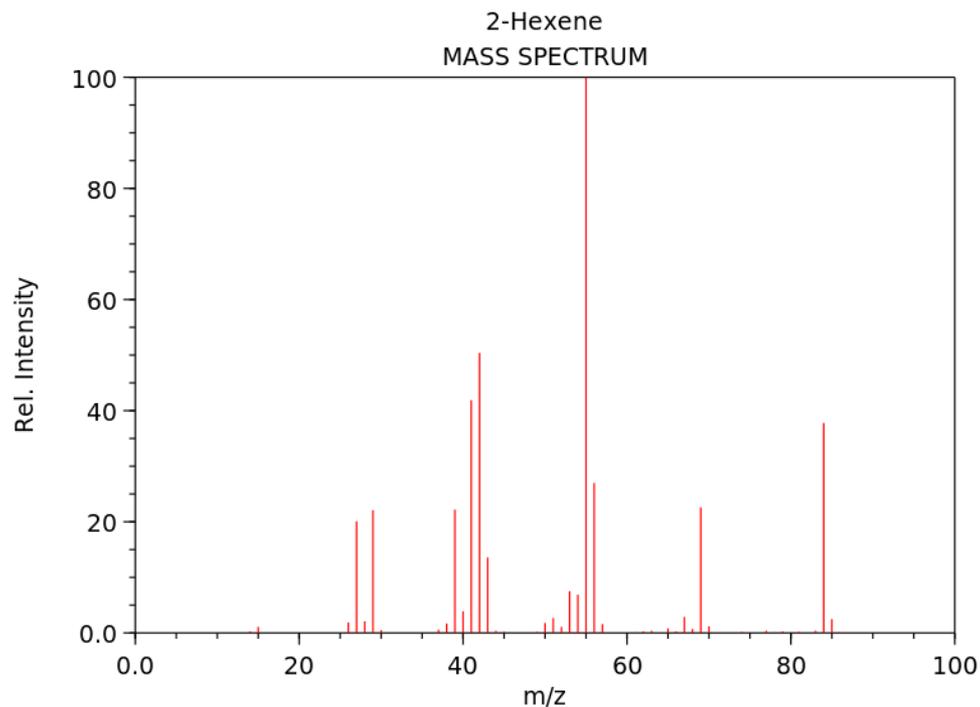
Eventualmente!!!
(seria melhor por
RMN)



2-hexeno

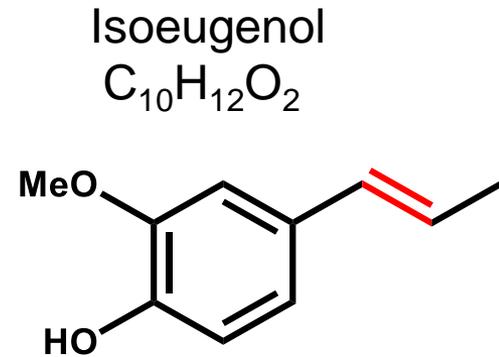
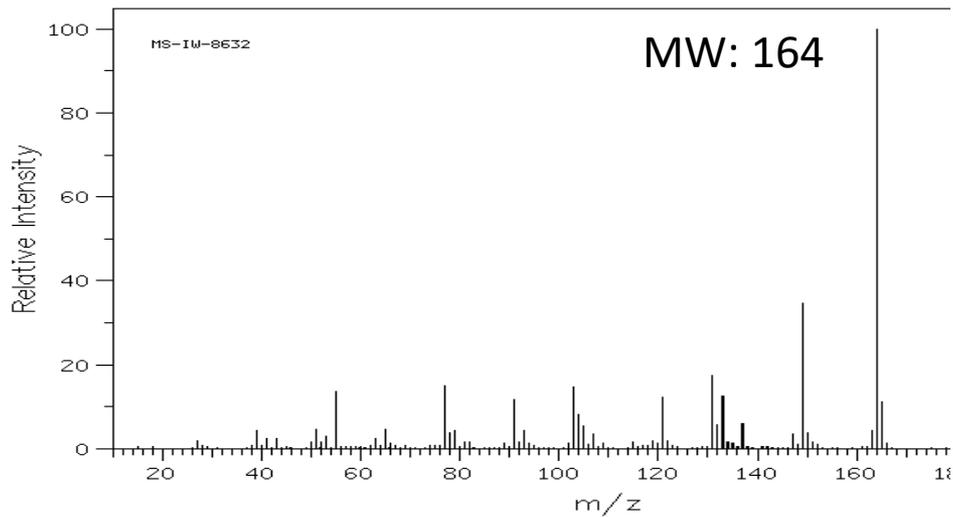
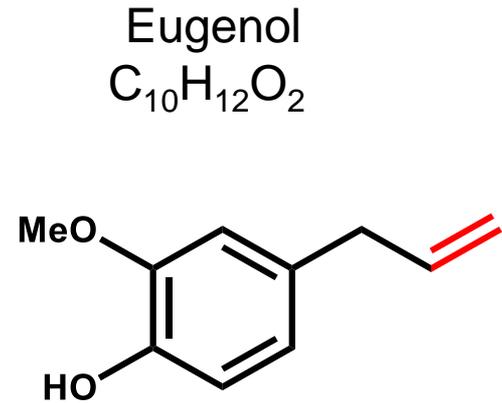
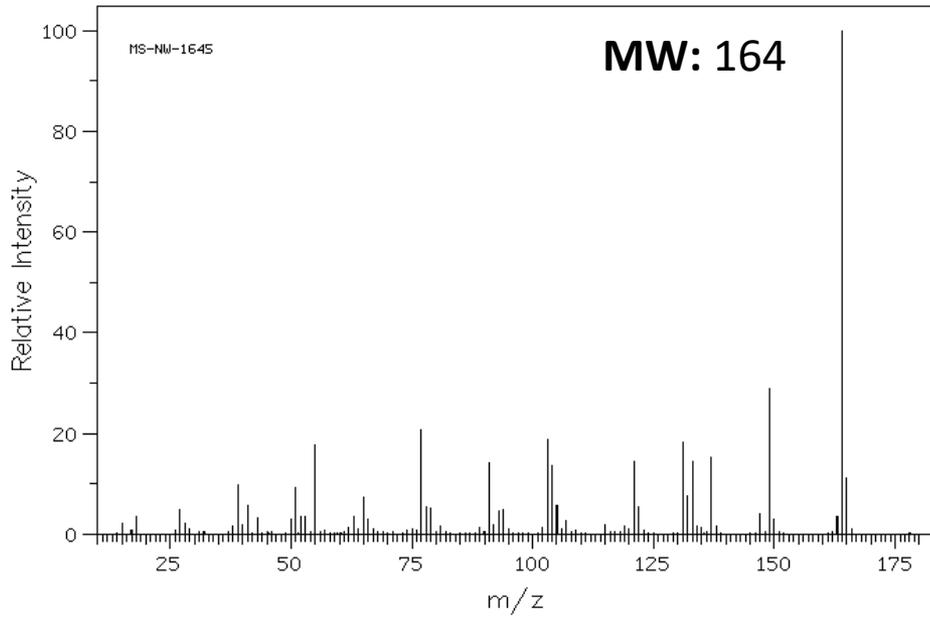


NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



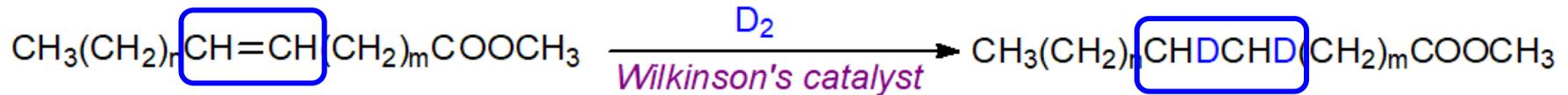
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

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



Localização de ligações duplas em ácidos graxos por deuteração-EM

Deuteration reaction



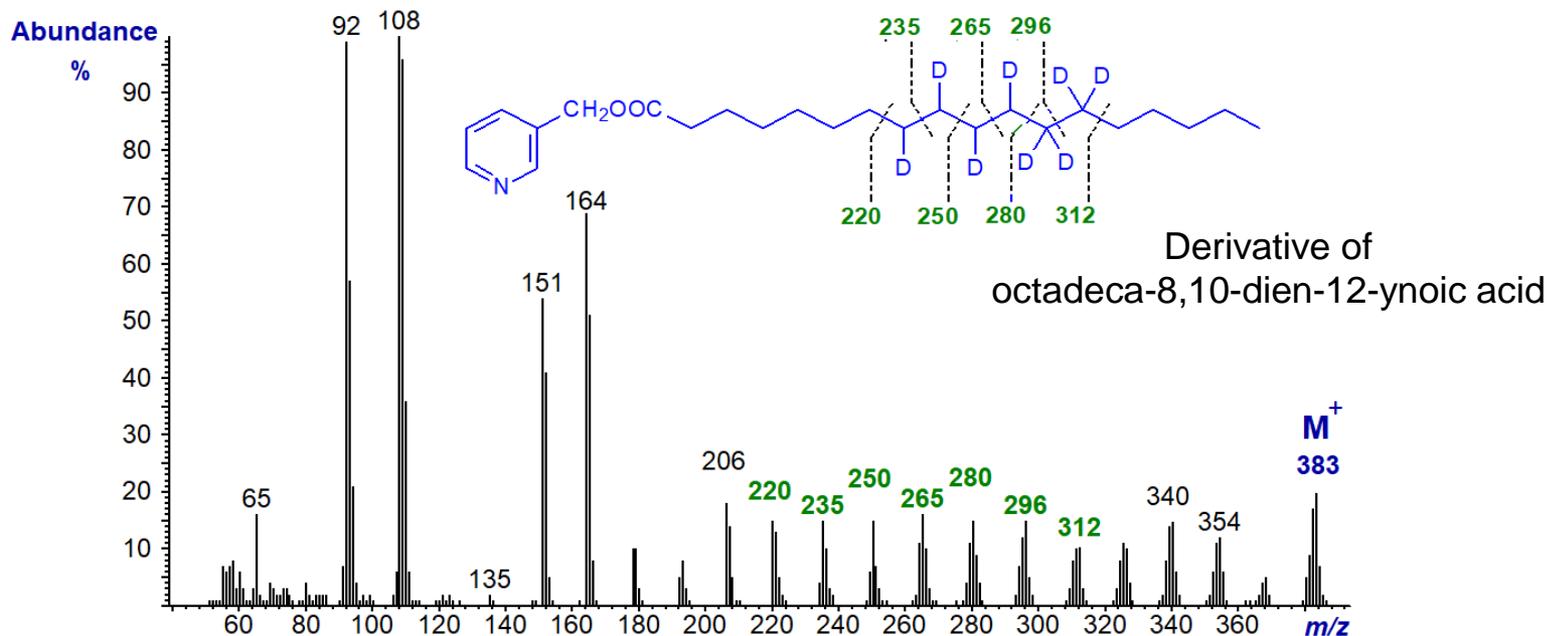
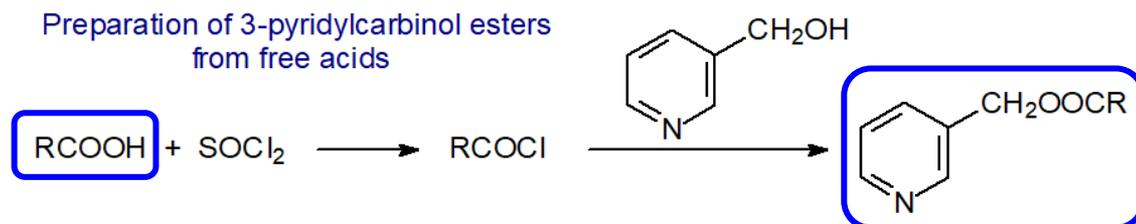
[M]+

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

[M+2]+

https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb_html/ms/methesters/me-dbderivs/index.htm

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

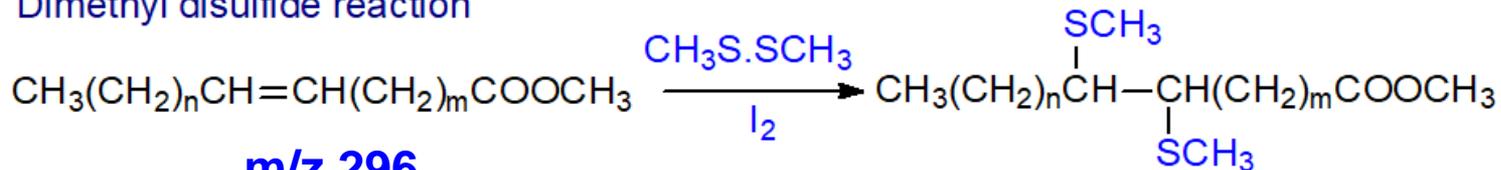


https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb_html/ms/methesters/me-dbderivs/index.htm

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

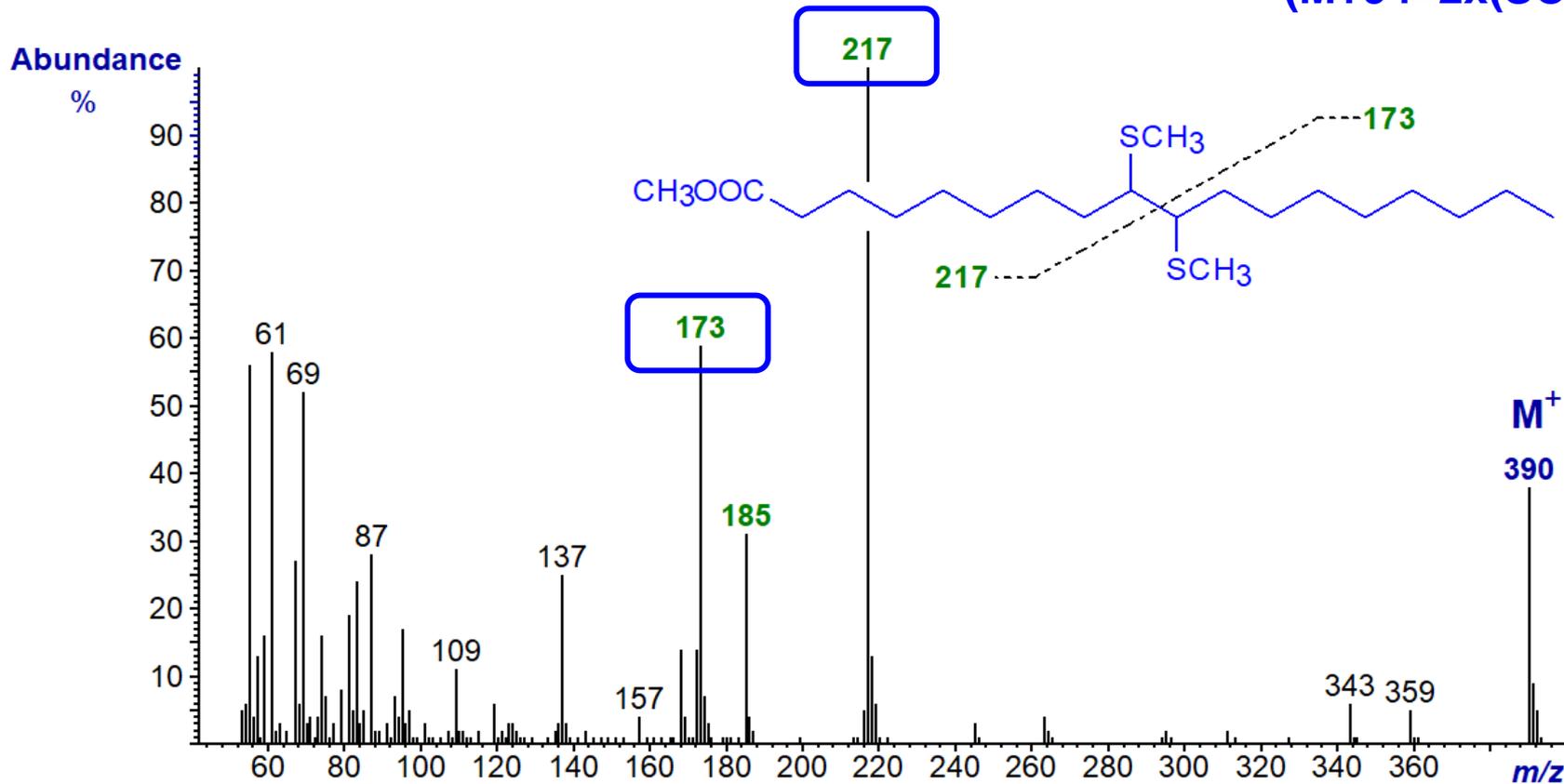
Localização de ligações duplas em ácidos graxos por derivatização com dimetildissulfeto

Dimethyl disulfide reaction

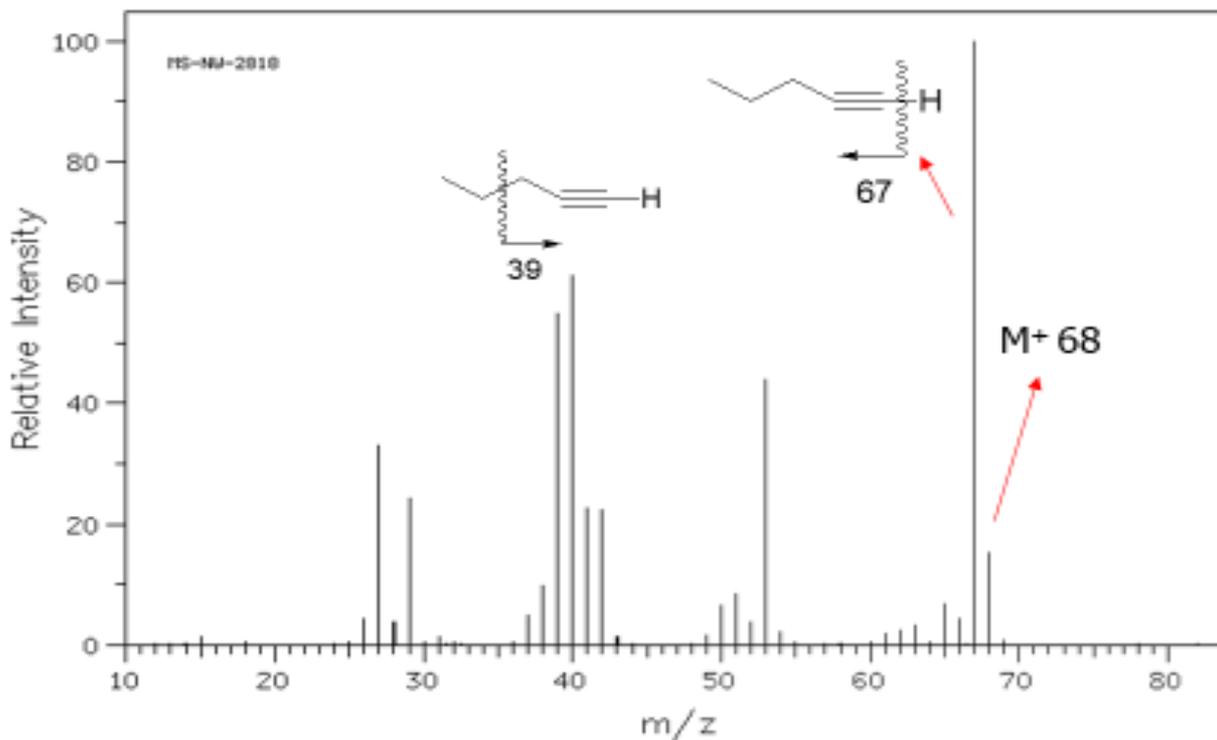


m/z 296

m/z 390
(M+94=2x(SCH3))



Espectro de massas de alquinos (1-pentino)



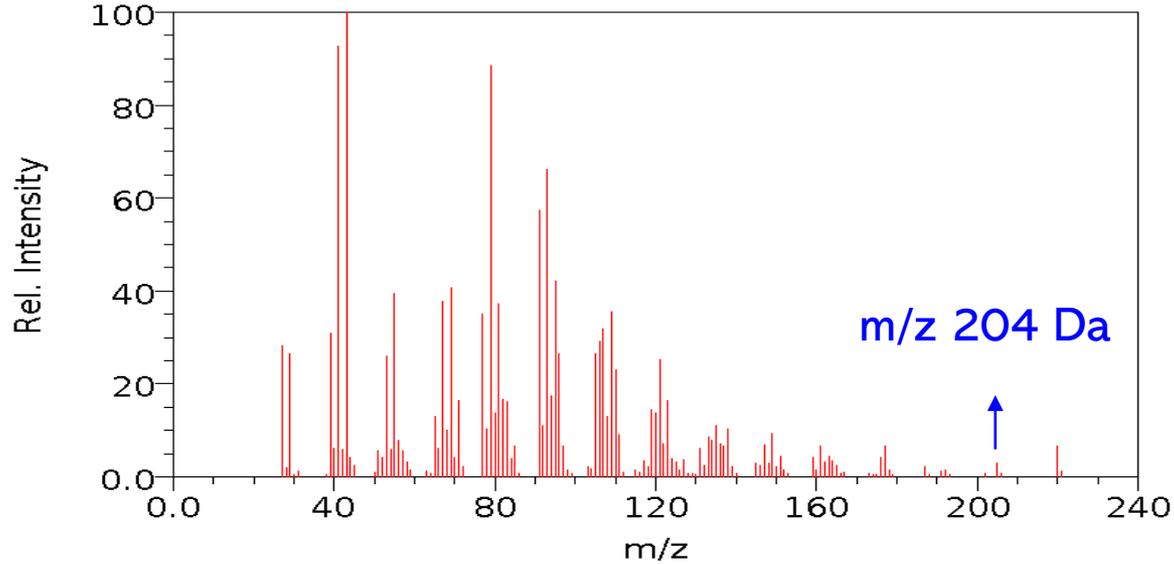
Acetilenos possuem acidez de seu hidrogênio terminal suficientemente ácidos (pka 25) por causa da maior eletronegatividade do Csp (50% de caráter s – quanto maior o caráter s, mais próximo os elétrons estarão do núcleo).

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

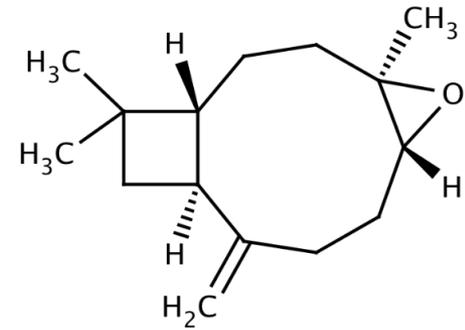
Observa-se ainda a fragmentação alfa alílica gerando o cátion m/z 39.

Caracterização de compostos aromáticos por EM

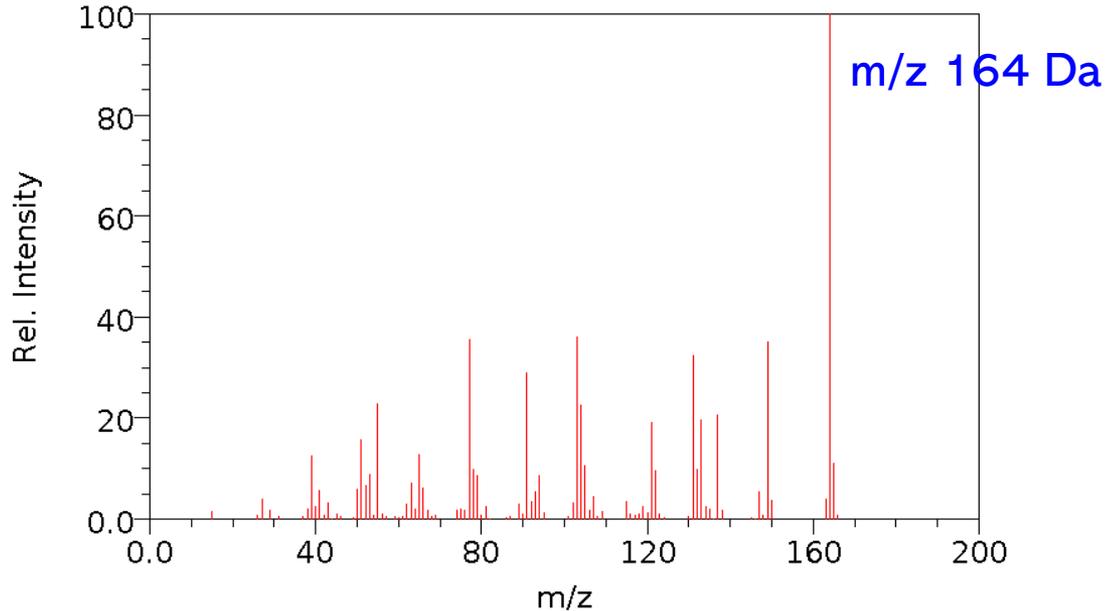
Caryophyllene oxide
MASS SPECTRUM



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

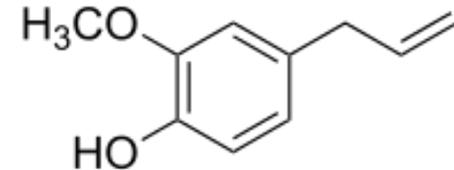


Eugenol
MASS SPECTRUM

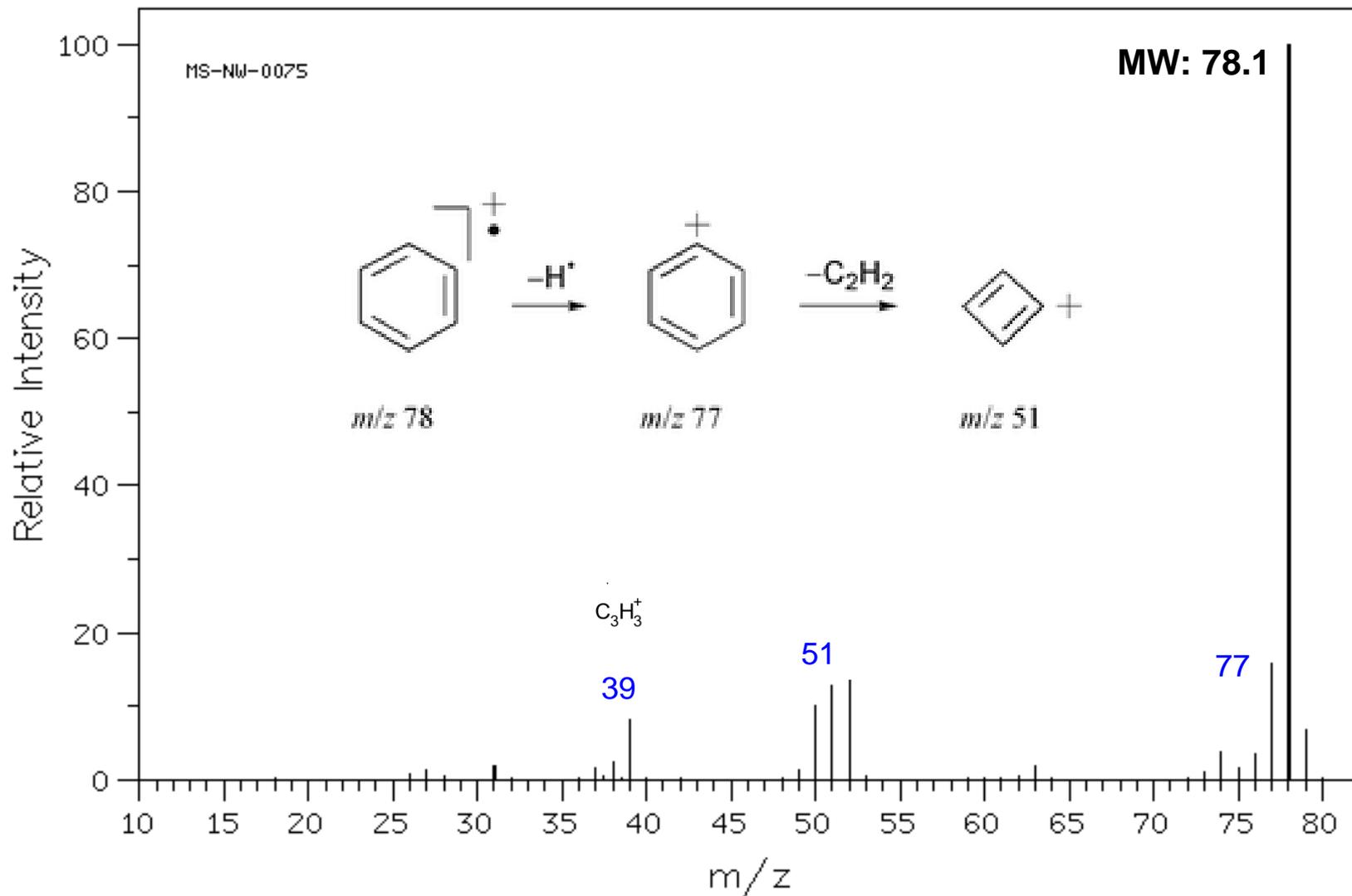


NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Constituintes do óleo essencial do cravo

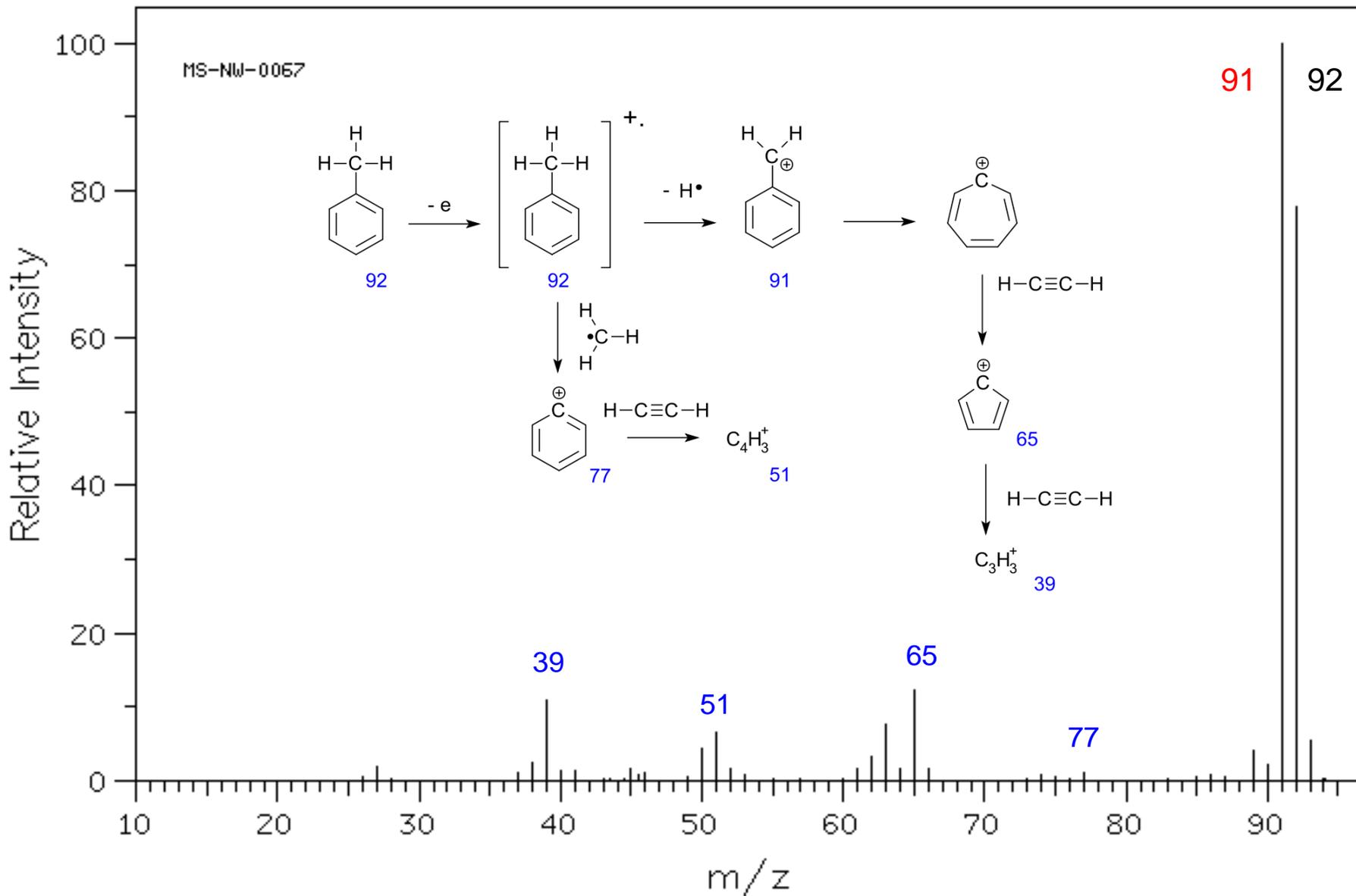


Espectro de massas do Benzeno

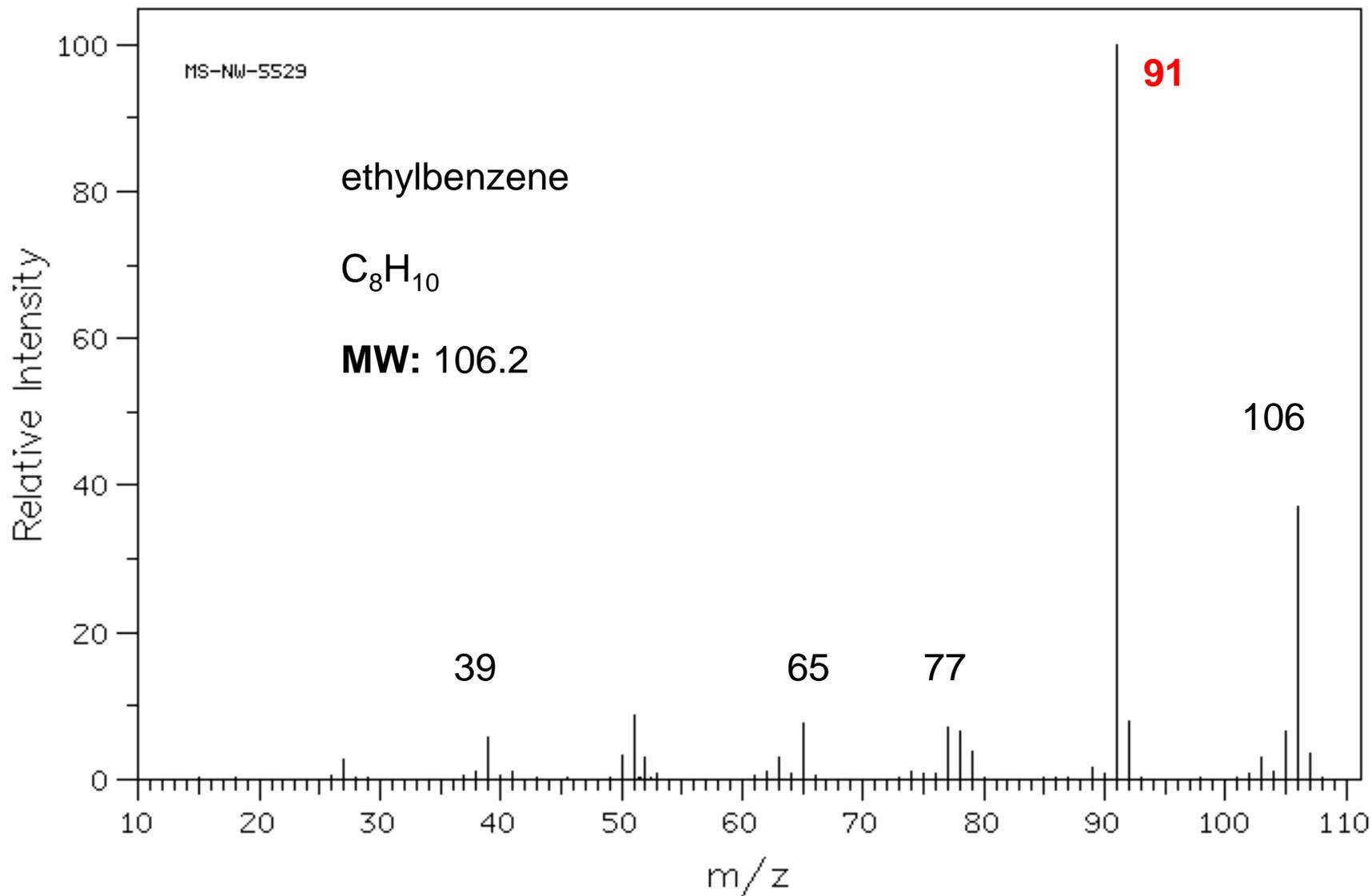


Espectro de massas do tolueno

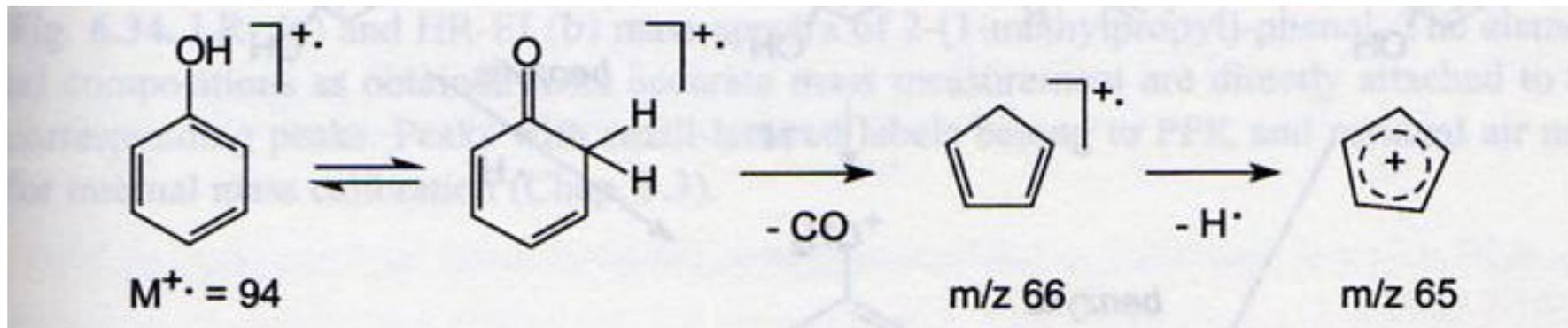
Toluene C_7H_8
MW 92.1



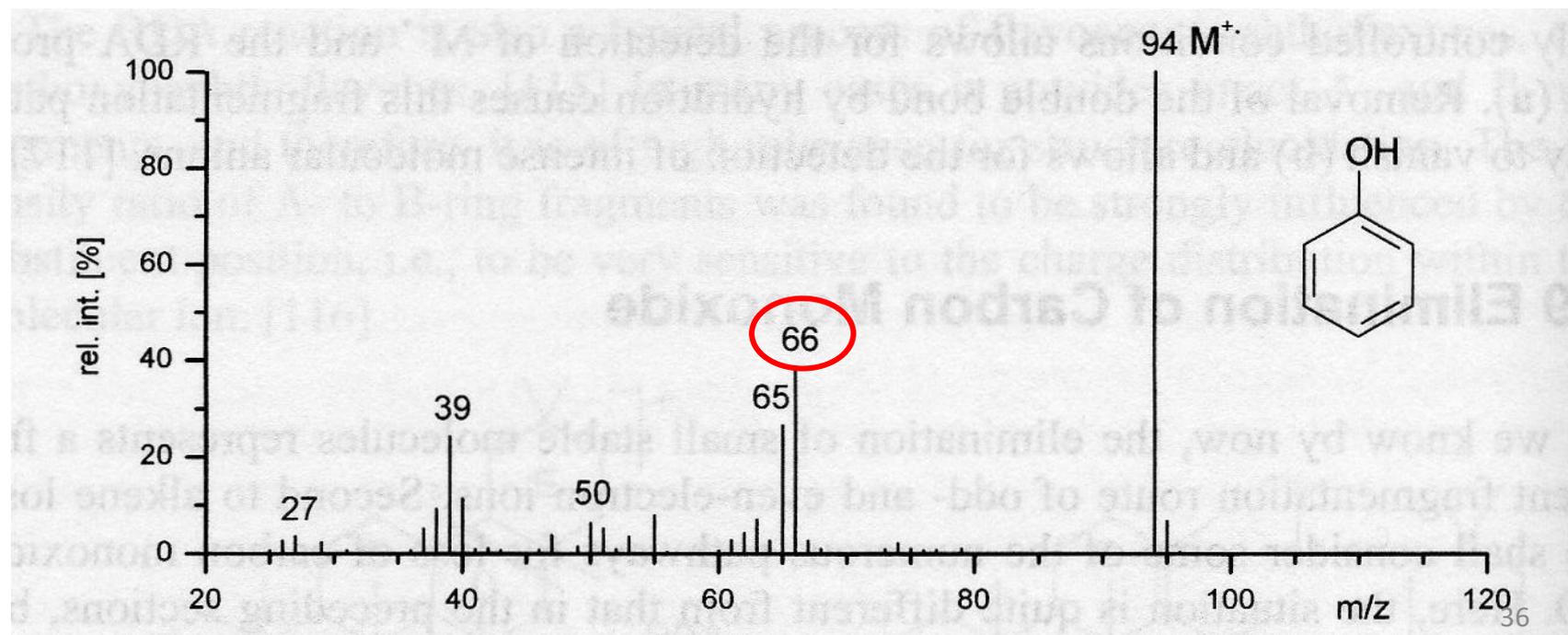
Espectro de massas do etilbenzeno



Perda de CO neutro em Fenol e Derivados

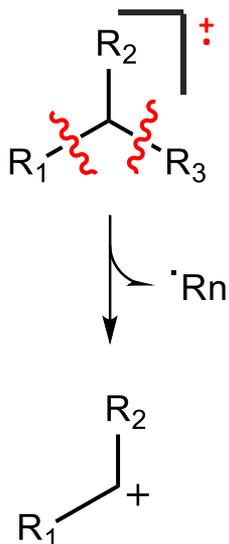


Cátion radicalar



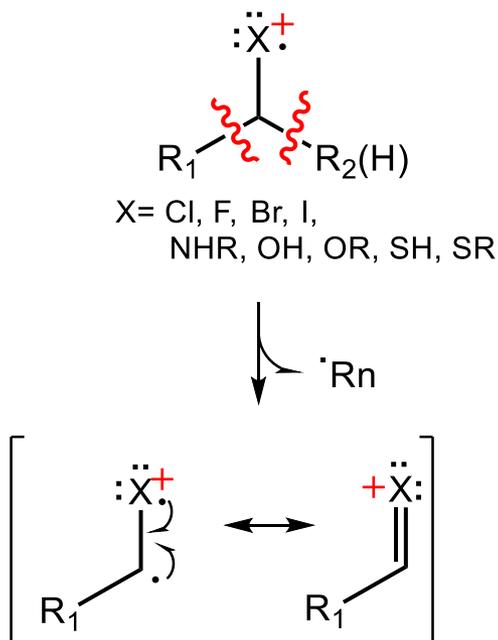
As fragmentações alfa são relevantes para a caracterização de hidrocarbonetos acíclicos, ramificados e funcionalizados:

Hidrocarbonetos



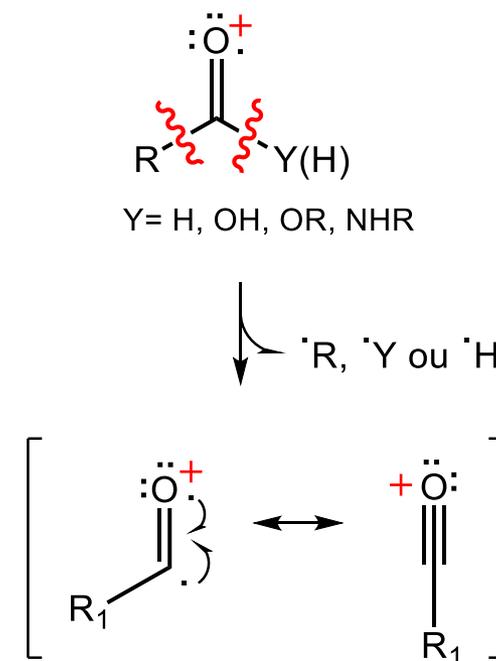
Cátions mais substituídos estabilizados por efeitos indutivos e hiperconjugativos.

Haleto de alquila, álcoois, éteres, tióis e tioéteres



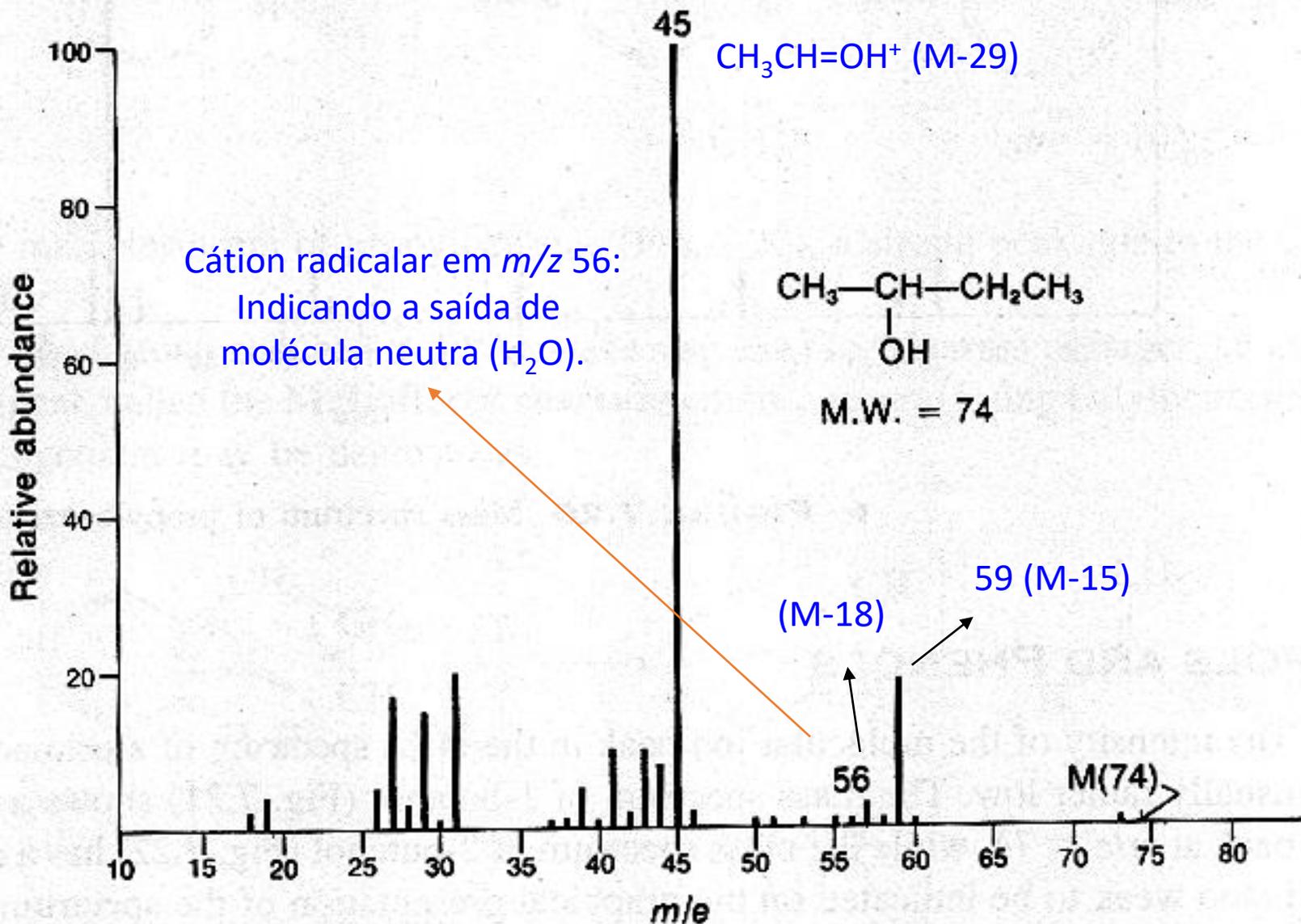
Cátions estabilizados por efeitos mesoméricos (via elétrons não ligantes)

Compostos carbonílicos

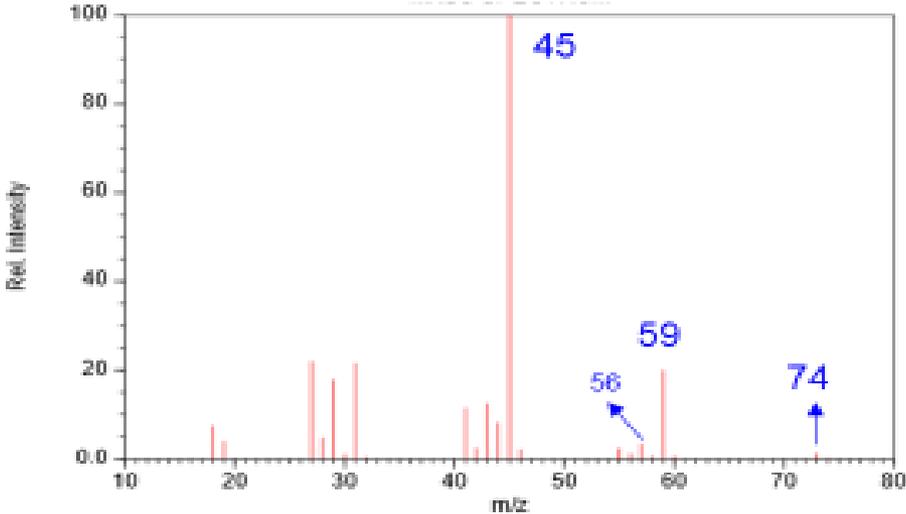


As fragmentações de radicais alquílicos maiores são preferenciais.

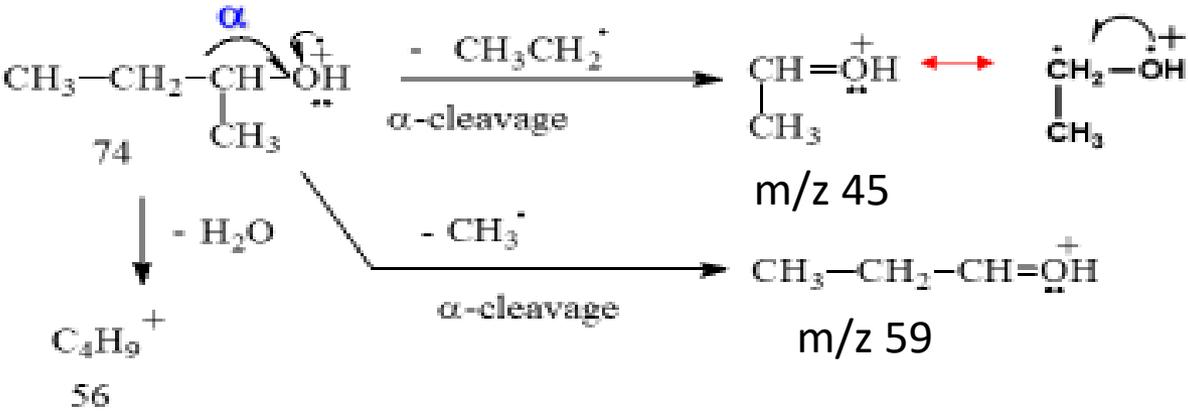
Espectro de massas de álcoois (2-butanol)



Espectro de massas do 2-butanol.

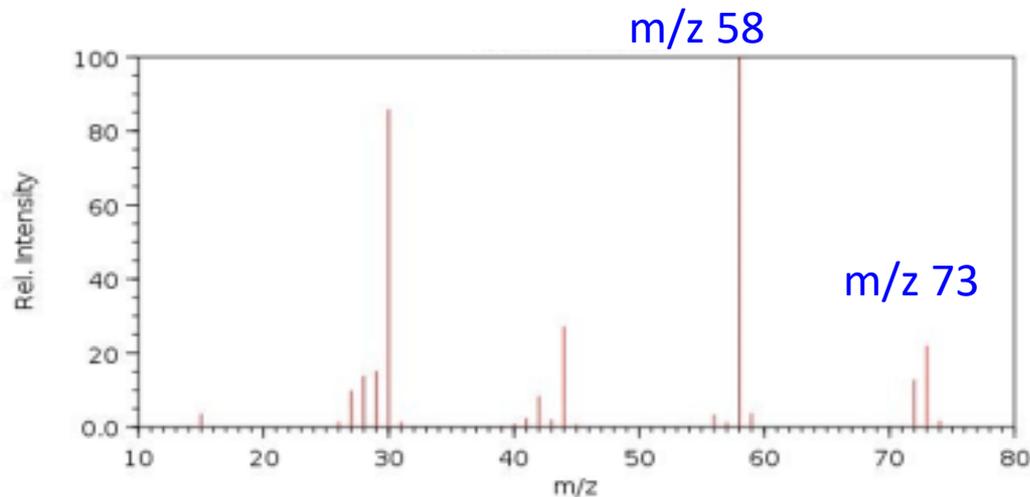


NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

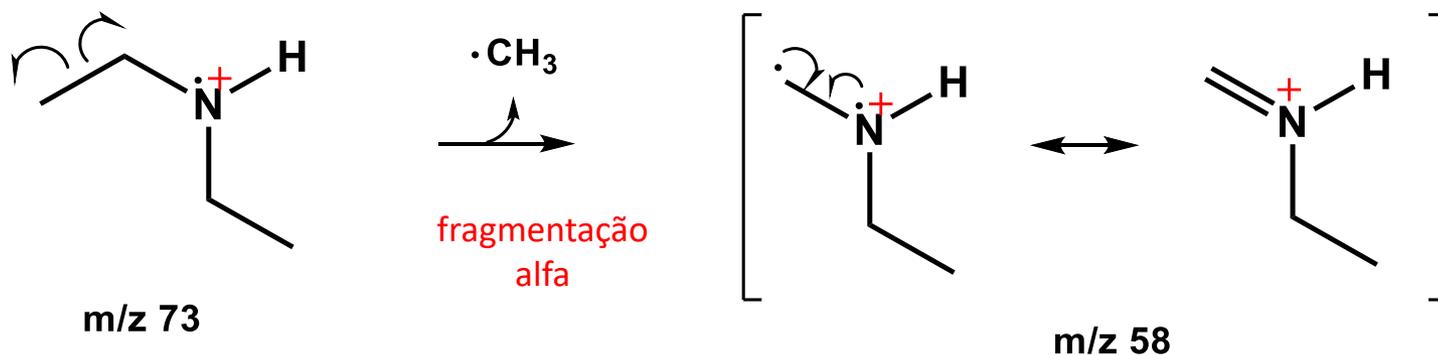


Em ambos os casos, um dos elétrons do oxigênio, por efeito **mesomérico**, estabiliza os cátions.

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

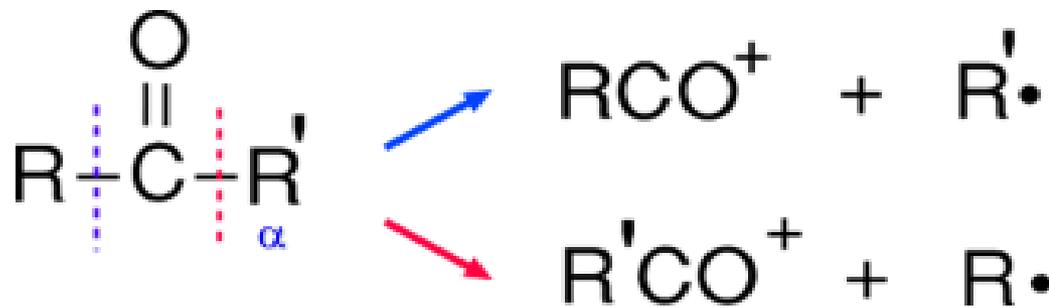


A *N*-etiletanamina possui o íon molecular (cátion radicalar) ímpar (m/z 73) e, por eliminação de um radical metílico, forma o cátion m/z 58.

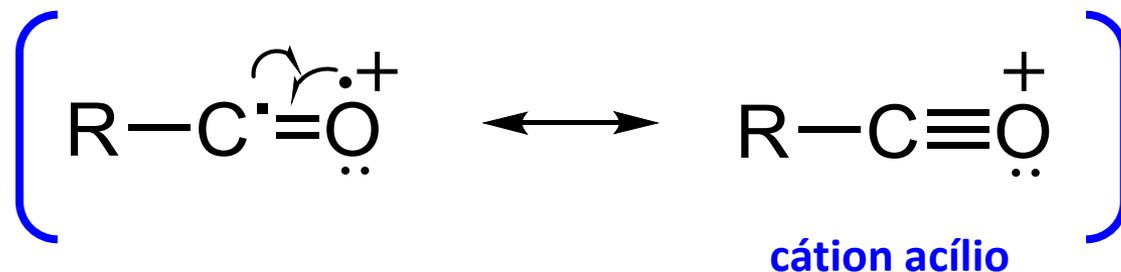
O processo de estabilização é determinado novamente pela presença do heteroátomo que **estabiliza o radical formado no carbono alfa**, que por ressonância de um elétron conduz à formação do cátion em m/z 58.

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

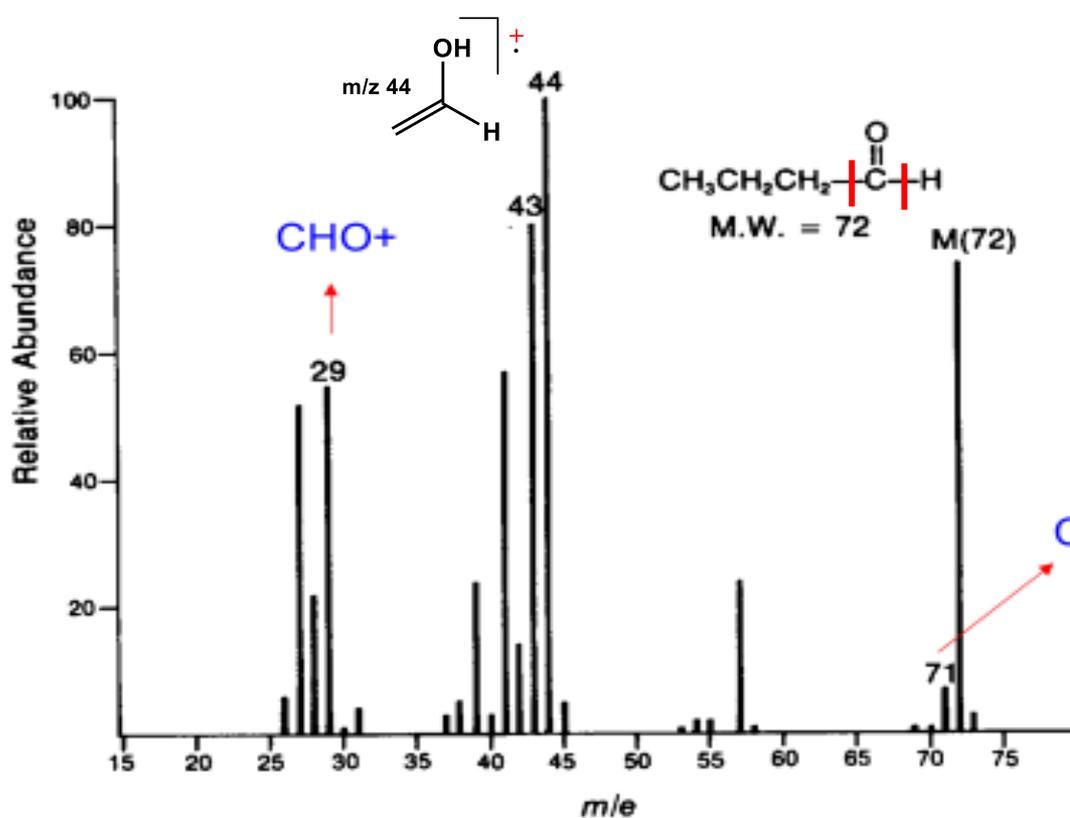
Fragmentações alfa em compostos carbonílicos



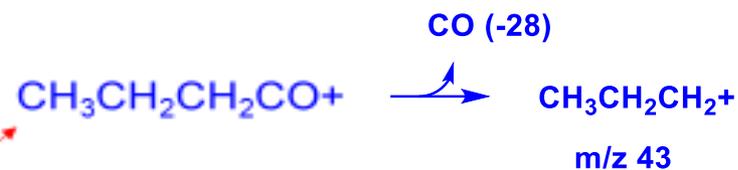
Para compostos carbonílicos, por definição o carbono alfa é o primeiro ligado ao carbono carbonílico, mas para fins de espectrometria de massas, a quebra ocorre Entre o carbono carbonílico e o carbono alfa (e não depois).



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

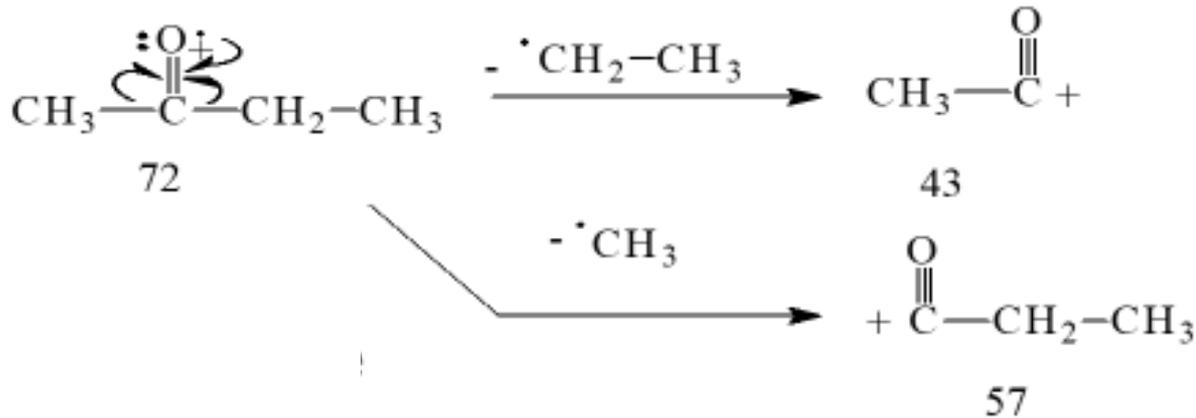
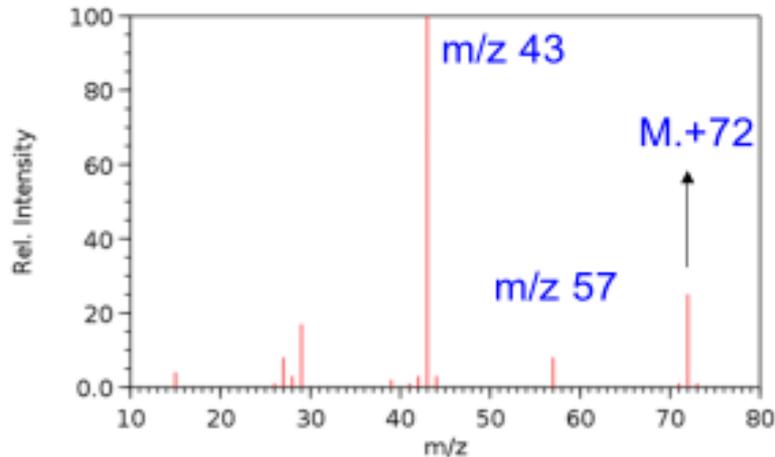


A **fragmentação alfa do hidrogênio** pode ser utilizada como diagnóstico para caracterizar um aldeído (assim como para um acetileno). Nesse caso o íon molecular em m/72, por eliminação de um hidrogênio radicalar gera o cátion acílio m/z 71.

A outra **fragmentação alfa** leva ao íon 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.

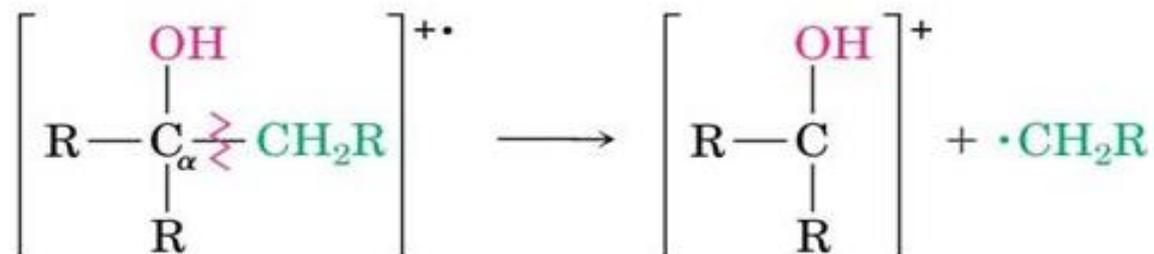


A fragmentação do radical maior é favorecida e o m/z 43 torna-se o pico base.

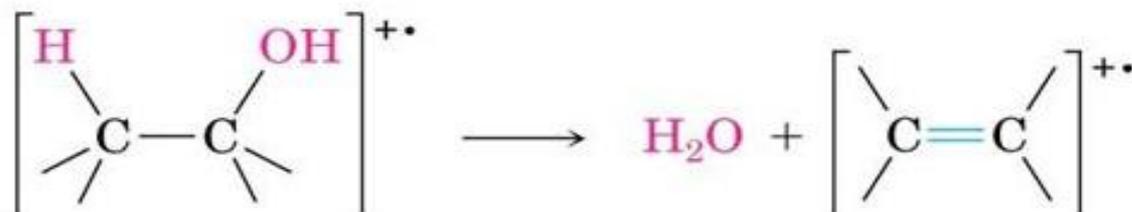
A **fragmentação** pode ocorrer nas duas ligações **alfa** perdendo os radicais etílico e metílico, gerando os cátions m/z 43 e m/z 57, respectivamente.

Fragmentações com quebras simultâneas de duas ligações sigma

Reação de desidratação



Fragmentação
alfa



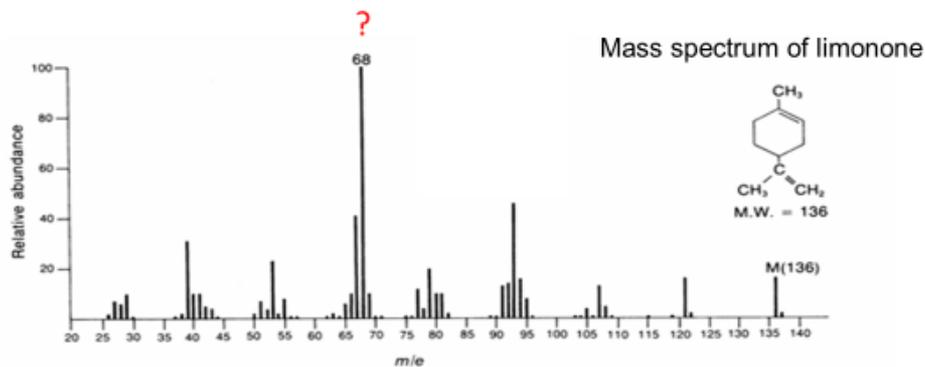
Fragmentação
De 2 ligações sigma

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.

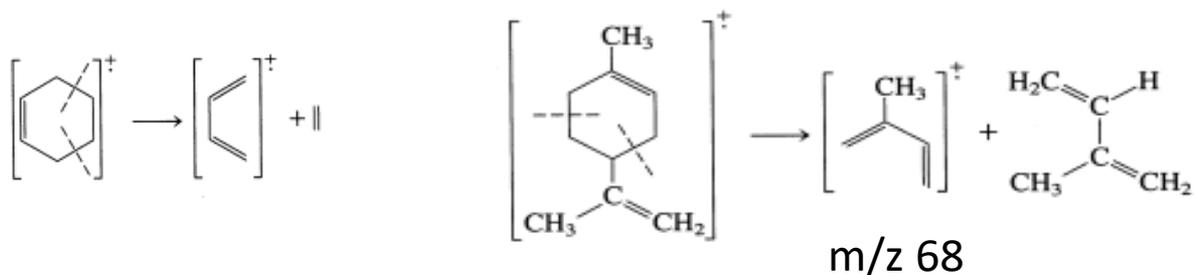
Fragmentações com quebras simultâneas de duas ligações sigma

Fragmentação retro Diels-Alder



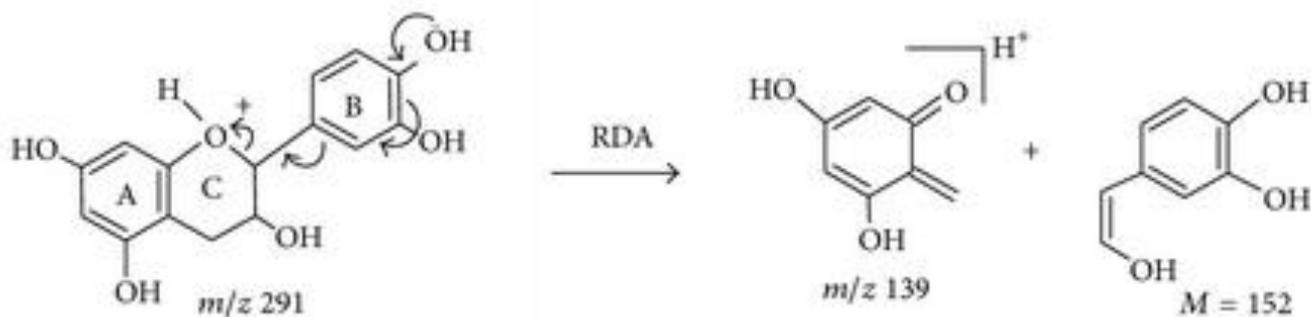
Espectro de massas de um cicloexeno (limoneno)

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

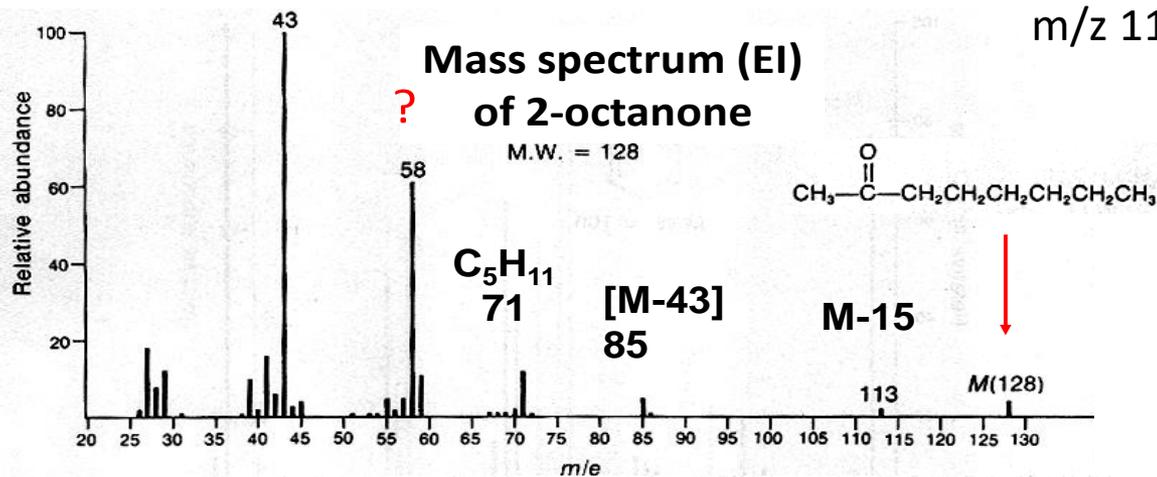
Review Article | Open Access

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

Fragmentações com quebras simultâneas de duas ligações sigma

Rearranjo de McLafferty

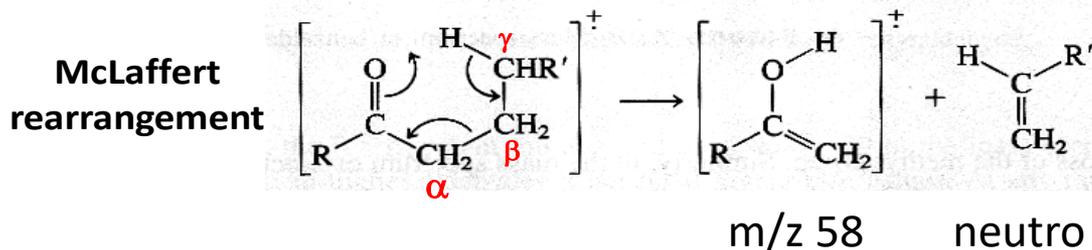
Requisito: carbonila ou grupo aceptor (carbonila ou anel aromático e hidrogênio na posição gama.



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

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

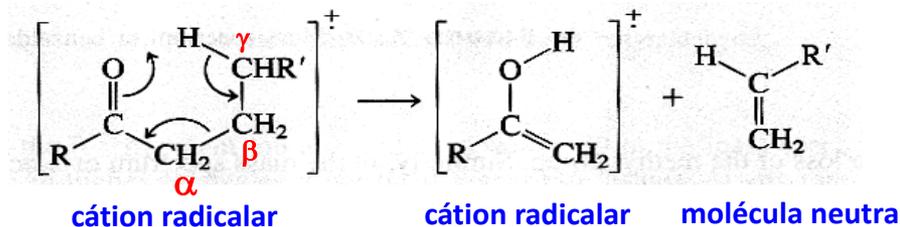
m/z 43: cátion acílio CH_3CO^+



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**.

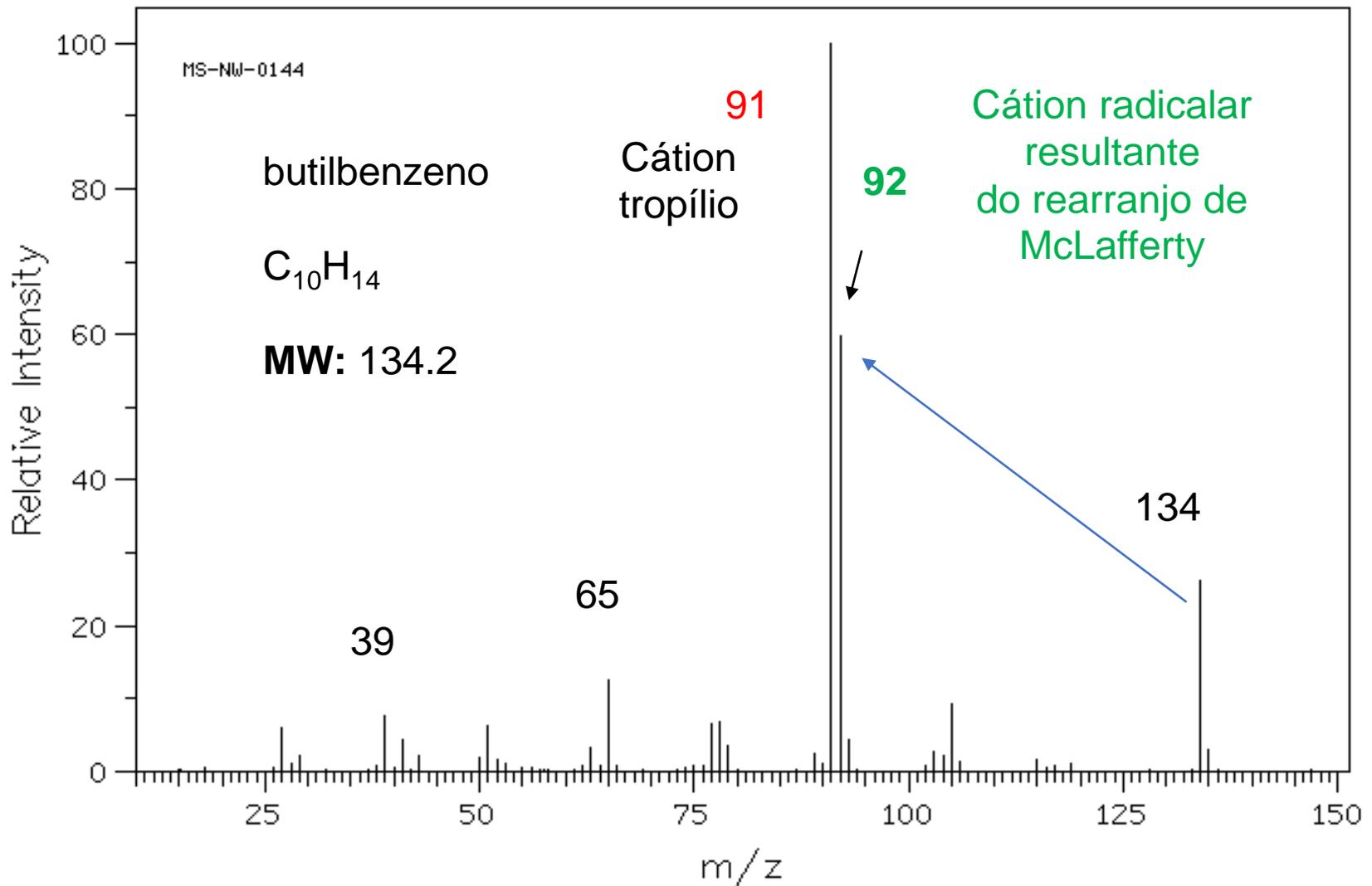
Produtos de rearranjos de McLafferty em compostos carbonílicos



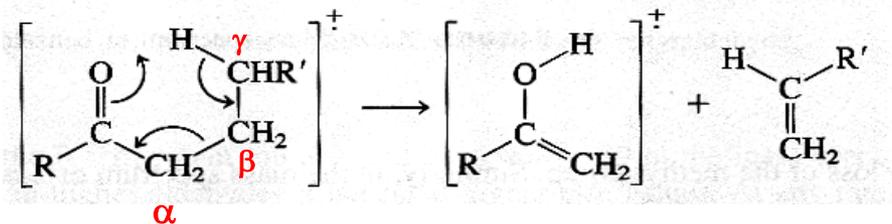
Precursor	Product Structure	Formula	Accurate Mass [u] ^a
aldehyde		C ₂ H ₄ O ⁺⁺	44.0257
alkyl methyl ketone		C ₃ H ₆ O ⁺⁺	58.0413
carboxylic acid		C ₂ H ₄ O ₂ ⁺⁺	60.0206
carboxylic acid amide		C ₂ H ₅ NO ⁺⁺	59.0366
methyl carboxylates		C ₃ H ₆ O ₂ ⁺⁺	74.0362
ethyl carboxylates		C ₄ H ₈ O ₂ ⁺⁺	88.0519

^a Values rounded to four decimal places.

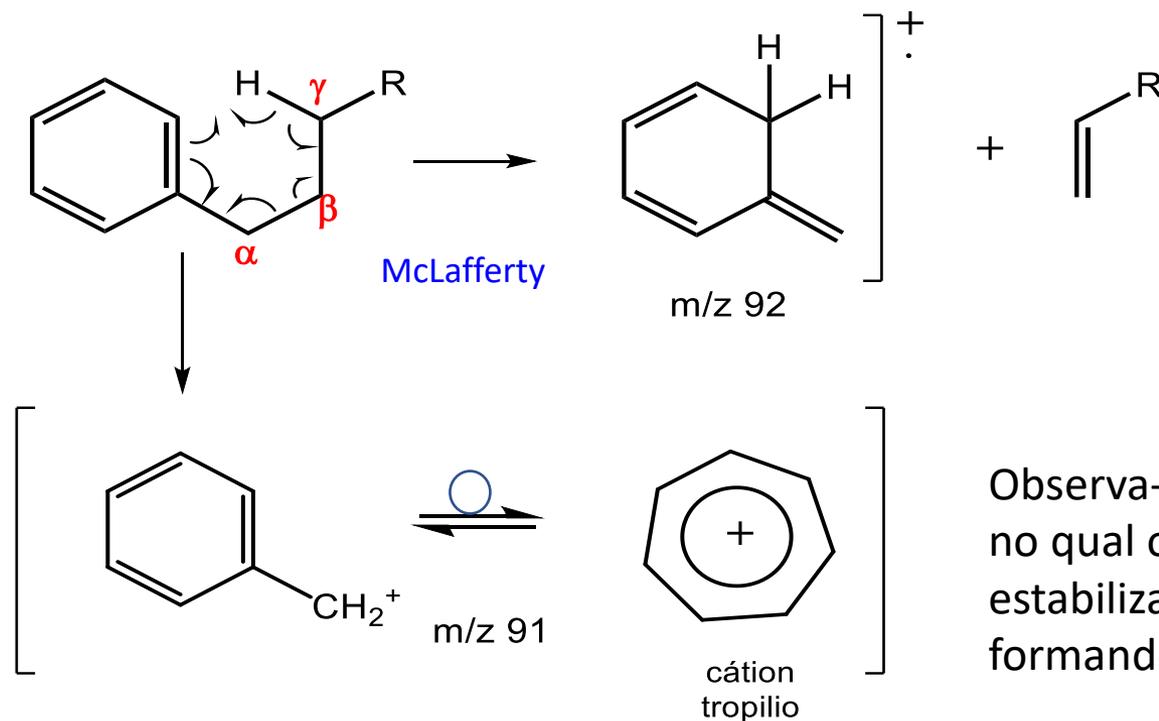
Rearranjo de McLafferty em alquilbenzenos



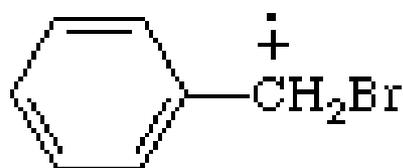
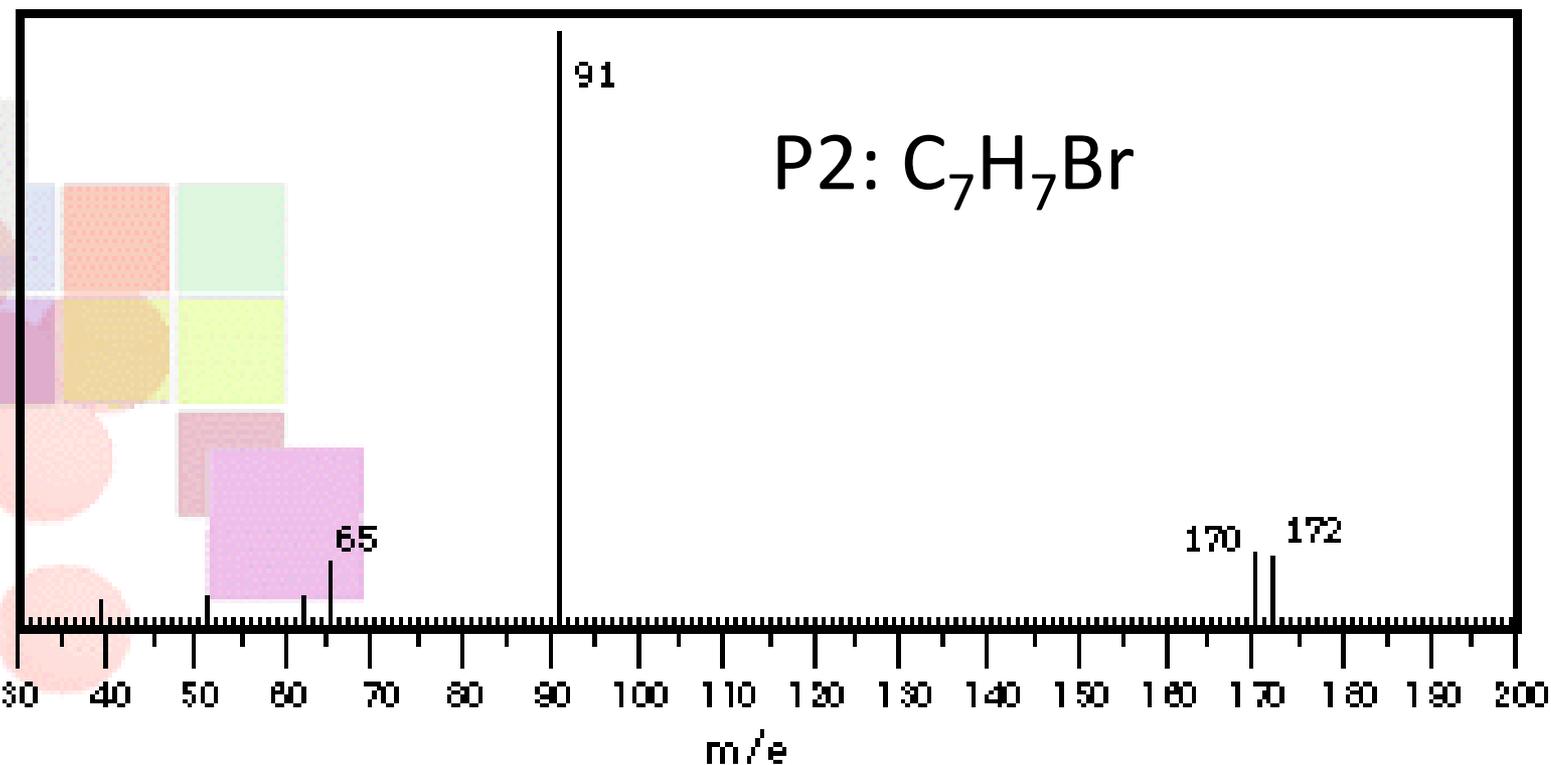
Rearranjo de McLafferty em Compostos carbonílicos



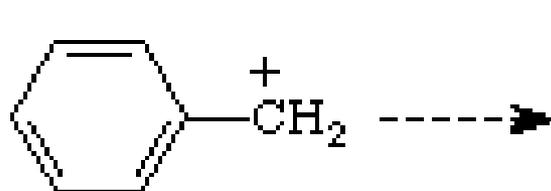
Rearranjo de McLafferty em alquilbenzenos



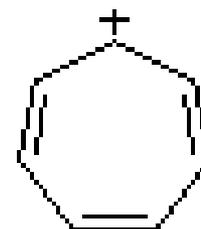
Observa-se ainda a **fragmentação alfa** no qual o cátion benzílico (m/z 91) é estabilizado pelo anel aromático formando o cátion tropílio.



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.