

A ESPECTROMETRIA DE MASSAS ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM-EM

S.M.B. De Grande e F. R. Aquino Neto

Instituto de Química – UFRJ; Ilha do Fundão – C. Universitária – CT – Bloco A – Sala 607; 21910 – Rio de Janeiro (RJ)

Recebido em 20/01/90

INTRODUÇÃO

A espectrometria de massas (EM) vem sendo amplamente utilizada na solução de problemas analíticos e estruturais de compostos orgânicos. É uma técnica que pode fornecer informações valiosas sobre compostos desconhecidos, seja em relação à composição elementar, ao peso molecular ou às massas de seus fragmentos. Além disso, a EM tornou-se um ins-

trumento analítico de fundamental importância na detecção, identificação, elucidação estrutural e quantificação de compostos orgânicos presentes em misturas complexas, mesmo a nível de traços.

Na EM os compostos presentes em uma determinada amostra são ionizados para fornecer íons característicos das moléculas e de seus fragmentos, como produtos. A informação analítica resulta da medição da massa e abundância desses íons (Fig. 1)^{1,2}.

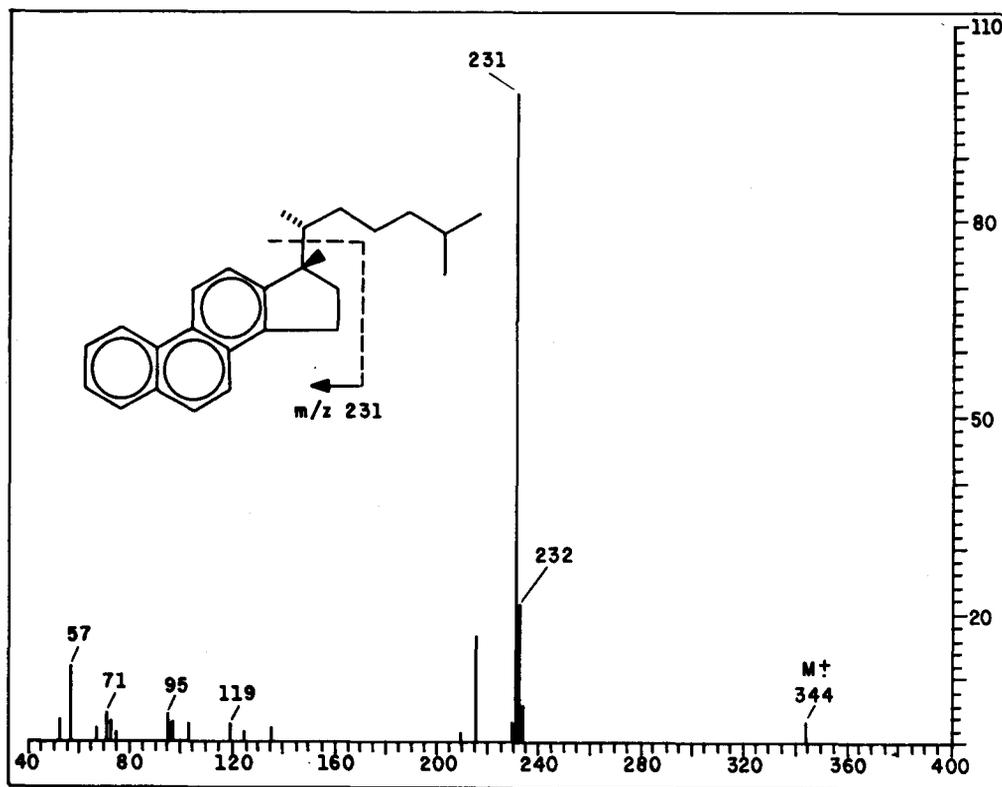


Figura 1. Espectro de massas do C_{27} -esterano triarômático. Sendo os principais íons: íon molecular (M^+) m/z 344, pico base m/z 231 característico da perda da cadeia lateral ($M^+ - C_8H_{17}$).

A excepcional sensibilidade do sistema EM resulta da eficiência do multiplicador de elétrons em detectar a chegada de um simples íon. Podem ser obtidos espectros de massas a partir de 10^{-14} g⁴.

A especificidade da EM provém do fato de que um espectro de massas possui, em média, 70 picos bem resolvidos, sendo que para cada pico a massa e a abundância podem ter infinitos valores característicos.

A rapidez da EM está em função da possibilidade de se introduzir continuamente amostras líquidas ou gasosas na fonte iônica do espectrômetro de massas, com a subsequente ionização, separação dos íons e detecção, operações que requerem apenas de 10^{-2} a 10^{-5} segundos.

O acoplamento da cromatografia gasosa à espectrometria de massas (CG-EM) possibilitou um excepcional aumento da especificidade, de forma que o sistema CG-EM tornou-se um

poderoso instrumento de rotina para a análise de misturas complexas.

Apesar das muitas informações que podem ser obtidas através dos dados de EM, sua especificidade pode ser insuficiente na elucidação estrutural de moléculas orgânicas com alto peso molecular, uma vez que o número de isômeros aumenta exponencialmente com o aumento do tamanho da molécula. O número de informações necessárias à análise de misturas complexas cresce à medida que aumenta a complexidade da mistura, o que aumenta a probabilidade de mais de um componente da mistura contribuir para um pico de massa individual.

Um método foi desenvolvido para se obter um aumento exponencial na quantidade de informações que podem ser geradas pela EM, envolvendo também maior sensibilidade, rapidez e precisão. Neste método, dois ou mais analisadores de massas estão acoplados em série, com a capacidade de se realizar a fragmentação de um íon selecionado, íon pai, separado no primeiro analisador de massas. O processo de fragmentação se dá na região de interface entre os analisadores de massas, sendo que desta fragmentação resultam íons característicos, íons filhos, os quais são por sua vez separados no segundo analisador de massas.

Este método é conhecido como espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas ("tandem mass spectrometry")⁵⁻¹⁰, EM-EM, e possui uma certa analogia ao sistema CG-EM, sendo que na EM-EM o cromatógrafo é substituído por um analisador de massas.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (EM-EM)

O desenvolvimento da espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas deriva de novos conceitos: o uso de espectrômetros de massas acoplados em seqüência como instrumentos de separação de componentes individuais presentes em misturas, e a execução de uma série de operações sobre um fluxo de íons¹¹.

De uma maneira simplista, a EM-EM é uma técnica pela qual um composto presente em uma mistura complexa é separado dessa mistura através do primeiro analisador de massas, sendo fragmentado pela colisão com um gás em uma câmara de colisão, de maneira que os fragmentos resultantes possam ser separados pelo segundo analisador de massas. Esta operação é descrita como sendo a aquisição do espectro de massas de um íon especificamente selecionado (Fig. 2).

Introdução	→ ionização	→ separação	→ fragmentação	→ separação
ABC	ABC ⁺	ABC ⁺	A ⁺	A ⁺
DEF	DEF ⁺		B ⁺	
GHI	GHI ⁺		C ⁺	
			AB ⁺	
			BC ⁺	
Relação:	íon pai → íon filho			
	ABC ⁺		A ⁺	

Figura 2. Processos realizados durante a análise de uma amostra (mistura dos componentes ABC, DEF, GHI, etc) através da EM-EM, sendo que estes processos podem ser efetuados para todas as moléculas ionizadas, bem como para os fragmentos produzidos.

Neste sentido, a EM-EM é análoga à CG-EM ou CL-EM (cromatografias gasosa ou líquida acopladas à espectrometria de massas) quando o íon selecionado é o molecular. O íon selecionado no primeiro analisador de massas, íon pai, é análogo ao componente que elui da coluna cromatográfica. Os íons que resultam da fragmentação do íon pai na EM-EM, correspondem aos íons formados a partir da ionização na fonte, do composto eluído da coluna cromatográfica na CG-EM.

O sistema EM-EM caracteriza-se por uma ampla aplicabilidade, uma vez que um maior número de compostos pode ser analisado pela EM do que pela CG, tais como compostos com baixa volatilidade, termolábeis, ou com alto peso molecular. Além da disponibilidade de novos tipos de espectros de massas, tais como perfis de peso molecular para todos os compostos com um tipo de fragmentação característica presentes em uma amostra, o acesso a diferentes constituintes das misturas é simultâneo, ao invés de ser seqüencial, e o experimento total extremamente rápido. Em muitos casos não é necessária uma pré-separação ou mesmo a preparação da amostra, sendo possível a análise direta do material em questão, seja um fragmento de um tecido vegetal, fluídos biológicos, amostras geológicas, etc⁴. E, caso se deseje, pode-se empregar o acoplamento da CG ou outra técnica de separação ao EM-EM aumentando ainda mais a quantidade de informação derivada de uma análise.

ASPECTOS HISTÓRICOS

Mesmo nos primeiros espectrômetros de massas de Thomson e Aston, sinais espúrios (bandas de Aston) eram causados pelos íons que se dissociavam no analisador de massas, sendo separados por esse analisador e subseqüentemente detectados. As fragmentações resultavam de colisões de alta energia entre os íons e o gás residual no analisador de massas. Essa fragmentação conhecida como dissociação ativada por colisão ("collisionally activated dissociation". CAD) é de fundamental importância na EM-EM para fragmentação dos íons separados através do primeiro analisador de massas. Outro processo de fragmentação que ocorre nos espectrômetros de massas com analisadores de setores (magnético e eletrostático) é a dissociação unimolecular. Neste caso os íons metaestáveis, ou seja, os íons que sofrem uma dissociação unimolecular, se decompõem durante o trajeto através do instrumento⁴.

Talvez as primeiras indicações do potencial da EM-EM na caracterização estrutural de íons isoméricos e análise de misturas complexas, tenham sido os estudos que se utilizaram das dissociações dos íons metaestáveis^{4,12,13}.

As possibilidades mais promissoras de aplicação da dissociação ativada por colisão ao sistema EM-EM, foram relacionadas por Haddon e McLafferty¹⁴ dentre outros⁴.

COMPONENTES DO SISTEMA EM-EM

Os componentes básicos do sistema EM-EM (Fig. 3) consistem de uma entrada para a introdução de amostra, um espectrômetro de múltiplos estágios e um sistema de dados versátil^{4,15,16}.

As amostras podem ser introduzidas na fonte iônica através da cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou sonda ("probe"). Os instrumentos também podem ser equipados com entradas especiais, tais

como reator de pirólise ou entradas reguláveis para escape de gás.

ELEMENTOS DO SISTEMA EM-EM

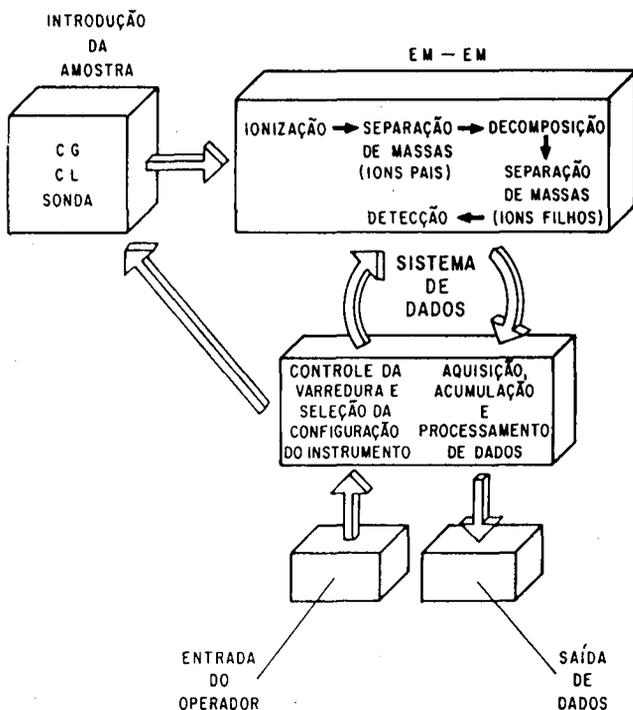


Figura 3. Representação esquemática dos componentes do sistema EM-EM (Reimpresso com permissão da *Ind. Res. & Develop.* 1981)¹⁵.

A etapa de pré-separação por CG ou CLAE não é imprescindível, porém o acoplamento destas técnicas de separação ao sistema EM-EM pode aumentar ainda mais a especificidade, sensibilidade e precisão da análise. Além do mais, estas técnicas podem substituir as etapas de extração e outros processos cromatográficos, tais como cromatografia em coluna e/ou cromatografia em camada fina, que consomem muito tempo.

A amostra introduzida na fonte é ionizada, e os íons resultantes são submetidos à separação no primeiro analisador de massas. Os íons correspondentes a massas especificamente selecionadas, íons pais, são então fragmentados através da colisão destes com um gás inerte, N₂, Ar, He, dentre outros, dando origem aos íons produtos, íons filhos. Este processo é conhecido como dissociação ativada por colisão e ocorre a pressões maiores (10⁻³ Torr) do que as que são normalmente encontradas em analisadores de massas. Após colisão, os íons são separados através do analisador de massas e detectados. Os dois estágios de separação de massas resultam em uma maior especificidade química do que se pode obter com um simples estágio, uma vez que dois conjuntos discretos de massas relacionados, íons pais e íons filhos, podem ser selecionados e determinados.

O terceiro componente do sistema EM-EM envolve a automação. Os sistemas de dados tornaram-se uma parte integrante do espectrômetro de massas. Na operação total do sistema, o sistema de dados executa três funções: aquisição de dados, o processamento/apresentação/acumulação de dados, e o controle dos parâmetros de operação do espectrômetro de massas.

A utilização da capacidade total da EM-EM envolve a informatização do sistema. Diferentemente do sistema CG-EM, os dois estágios de separação de massas permitem várias configurações de operação instrumental^{4,14}.

CONFIGURAÇÕES DO SISTEMA EM-EM

O tipo de resultado que pode ser esperado de uma técnica analítica, que envolve a utilização de instrumentos, depende fundamentalmente da montagem do experimento e do equipamento utilizado. Isto é particularmente verdadeiro na aplicação das técnicas de EM-EM, isto é, nas aplicações que se baseiam em reações de íons pré-selecionados ou pré-separados em um espectrômetro de massas.

As propriedades das várias configurações possíveis dos espectrômetros de massas diferem significativamente quando são comparadas suas capacidades EM-EM^{17,18}.

As características mais importantes dos instrumentos EM-EM e dos dados obtidos através dos estudos que se utilizam do sistema EM-EM são: (1) a resolução, ou seja, o valor preciso das massas dos íons pais e íons filhos; (2) a sensibilidade, isto é, a eficiência de fragmentação dos íons pais e coleta dos íons filhos, sendo que nas fragmentações induzidas por colisão, a sensibilidade depende do tipo de câmara de colisão e da energia de colisão; (3) capacidade de determinar a liberação de energia cinética associada a transições de íons metaestáveis; (4) capacidade de realizar estudos com alta e/ou baixa energia de reações induzidas por colisão, para se conseguir a excitação eletrônica e decomposição de cargas/inversão de cargas (a energias acima de 1 keV), excitação vibracional (abaixo de 1 keV) e colisão de um gás com um íon (abaixo de 20 eV); (5) capacidade de distinguir os dados pertinentes dos artefatos, os quais resultam dos íons metaestáveis. Esses artefatos se originam em algum lugar no instrumento, diverso da região onde se está realizando um estudo, normalmente em uma região sem campo que não esteja sendo monitorada; (6) facilidade de operação, que depende do grau de automação oferecido pelo instrumento.

Dentre as várias configurações do sistema EM-EM (Fig. 4) as duas configurações de dupla focalização, setor magnético (B) acoplado a um setor eletrostático (E), ou seja as configurações EB e BE, são equivalentes na capacidade de detecção dos processos de dissociação unimolecular dos íons metaestáveis, sendo que estes processos ocorrem na primeira região sem campo do espectrômetro de massas (Fig. 4)^{4,11,17}.

É importante ressaltar que com a configuração BE a segunda região sem campo pode ser utilizada, sendo de fundamental importância para os experimentos relacionados à liberação de energia cinética associada aos processos de fragmentos e extremamente útil para a comparação com os dados obtidos da primeira região sem campo.

As configurações com três setores em seqüência, BEB e EBE, possuem diferentes aplicações dependendo do modo de operação do sistema. Com o modo de operação EB-E pode-se medir a liberação de energia cinética nas fragmentações dos íons precursores, íons pais. A configuração BEB pode ser operada de duas maneiras. B-EB e BE-B. No modo B-EB pode-se obter uma excelente resolução, média a alta, dos íons filhos através da utilização de varredura em cadeia ("linked scan") para os setores EB. No modo BE-B os íons precursores podem ser selecionados com alta resolução, sendo que neste caso a resolução dos íons filhos é extremamente dependente das energias de colisão.

CONFIGURAÇÕES EM-EM

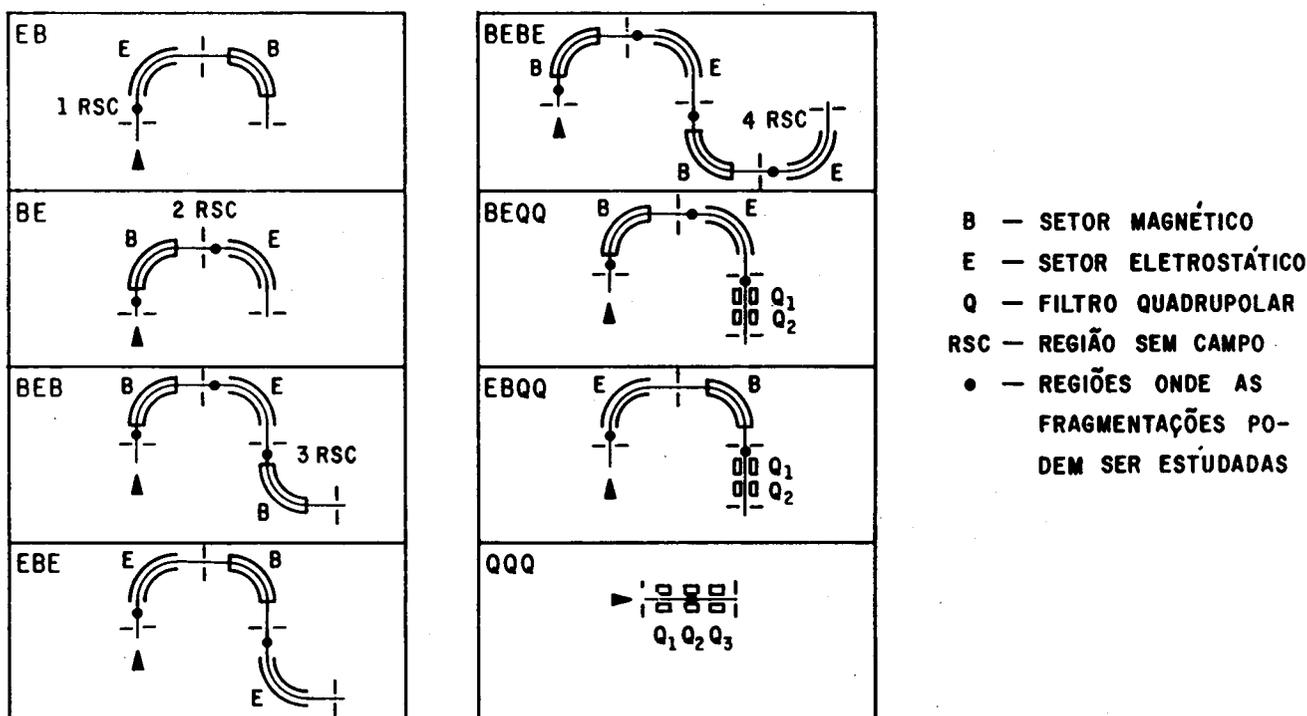


Figura 4. Representação esquemática das possíveis configurações do sistema EM-EM (baseado em Pesch, 1983)¹⁵.

Nas configurações com quatro setores, tais como BEBE, BEEB ou EBEB, podem ser obtidas simultaneamente uma alta resolução para os íons pais e íons filhos, sendo possível vários tipos de operação.

As configurações conhecidas como híbridas envolvem o acoplamento de analisadores de massas de setores (B e E) e filtros quadrupolares (Q), sendo a principal característica destas configurações, EBQQ e BEQQ, a alta resolução dos íons precursores. Uma vez que os espectrômetros de massas com filtro quadrupolar apresentam uma resolução de massa unitária, estas configurações híbridas fornecem uma resolução unitária para os íons filhos independentemente da variação de massas.

Outra característica da configuração híbrida é a variação sem limites da energia de colisão nos experimentos de fragmentação induzida por colisão. Com a geometria BEQQ é possível medir a liberação de energia cinética associada à fragmentação sem a interferência de artefatos, devido à capacidade de separação dos íons pelos filtros quadrupolares QQ^{17,18}.

Quando o filtro quadrupolar é utilizado como uma câmara de colisão, no qual não há alteração da voltagem e todos os íons podem passar por este filtro, obtém-se uma melhor eficiência da fragmentação dos íons pais e transmissão dos íons formados no processo de fragmentação, comparativamente às câmaras sem focalização, como as regiões sem campo dos instrumentos que se utilizam dos analisadores de setores, magnético e eletrostático^{17,19}.

A configuração triplo quadrupolar, QQQ, oferece uma resolução unitária para os íons pais e íons filhos em todos os modos de operação, sendo o instrumento mais simples de se operar, com mudança automática do modo de operação, detecção de íons positivos/negativos e troca automática do gás de colisão. É, portanto, o instrumento mais conveniente para

os laboratórios que necessitam de uma alta produtividade operacional. Neste tipo de configuração o segundo filtro quadrupolar funciona como câmara de colisão, o que fornece uma melhor eficiência de fragmentação e transmissão dos íons filhos^{4,19}.

É importante frisar que as características de desempenho do instrumento são extremamente dependentes do tipo de configuração utilizada. A escolha da configuração dependerá das aplicações, sendo que os instrumentos multiquadrupolares são particularmente adequados para trabalhos que requerem alta produtividade. Já os instrumentos com setores apresentam também algumas características vantajosas, como ampla variação de massas e a capacidade de fornecerem espectros de massas de alta resolução^{4,11,17}.

EM-EM TRIPLO QUADRUPOLAR

O instrumento EM-EM triplo quadrupolar consiste do acoplamento em série de uma fonte de ionização da amostra (por impacto de elétrons ou ionização química), um filtro de massas quadrupolar, um quadrupolar fixo em radiofrequência, que pode ser pressurizado com um gás de colisão, um segundo filtro de massas quadrupolar, e um multiplicador de elétrons (Fig. 5)^{4,15,16}.

Após ionização das moléculas na fonte iônica, pelos processos de impacto de elétrons ou ionização química, e obtenção dos íons precursores, íons pais, o primeiro analisador de massas quadrupolar (Q₁) realiza a seleção de um íon pai e o terceiro filtro de massas quadrupolar (Q₃) faz a seleção dos íons filhos formados na câmara de colisão. Q₂ não é um filtro de massas, mas uma região delimitada, de íons não selecionados pelas massas, onde o processo de colisão ocorre. Uma vez

que a seleção dos íons pais em Q_1 e a detecção dos íons filhos após separação em Q_3 não são afetadas pelo tipo de acoplamento em série, pode-se simplesmente selecionar determinados íons em Q_1 ou Q_3 segundo a técnica de monitoramento

seletivo de íons realizada no sistema convencional CG-EM²⁰. Desta forma, o sistema EM-EM triplo quadrupolar é uma expansão telescópica de um instrumento quadrupolar simples ao qual se acoplam dois filtros quadrupolares adicionais^{4,21,22}.

SISTEMA EM-EM TRIPLO QUADRUPOLAR

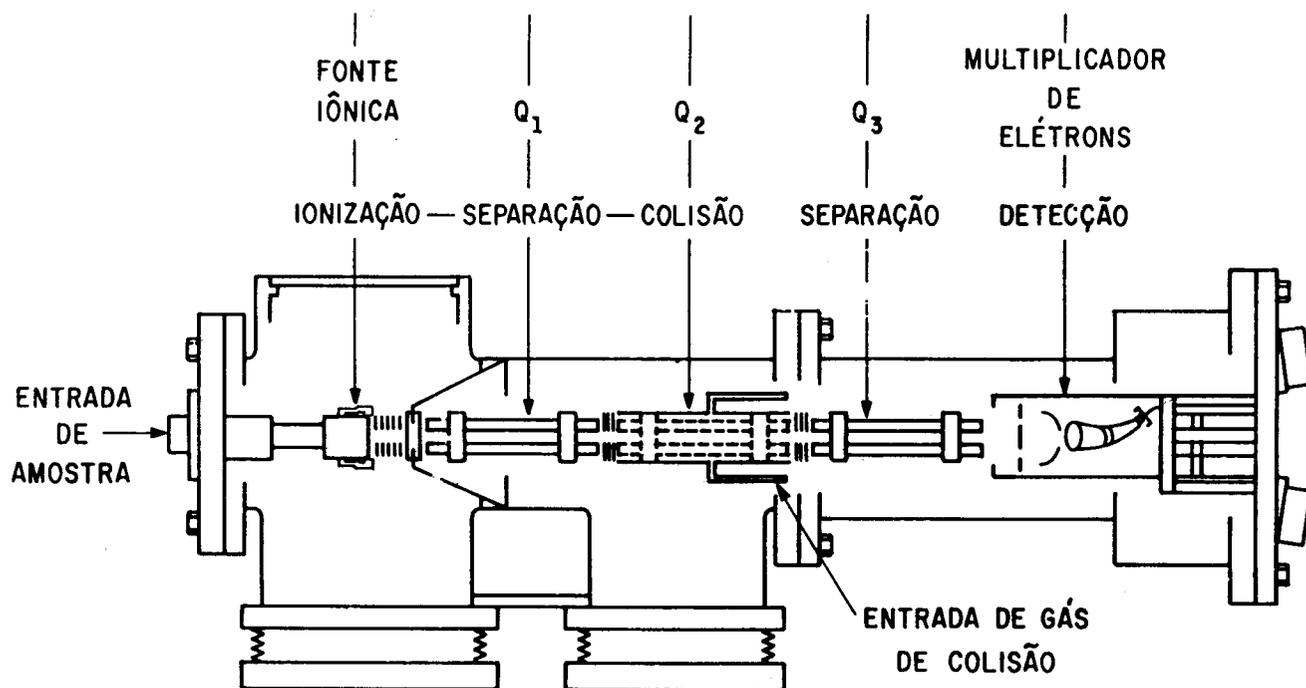


Figura 5. Vista em corte do espectrômetro de massas EM-EM triplo quadrupolar (Reimpresso com permissão da Ind. Res. & Develop. 1981)¹⁵.

Os primeiros estudos de técnicas de fragmentação de íons selecionados, através da utilização de um sistema de três analisadores de massas quadrupolares acoplados em série foram realizados por Yost e Enke²³. Esses pesquisadores se utilizaram de um sistema de triplo quadrupolo originalmente projetado para estudos de fotodissociação induzida por laser²⁴.

O processo de fragmentação de um íon, selecionado através do primeiro filtro de massas, ocorre por meio de uma dissociação ativada por colisão, no qual o íon adquire energia interna através da colisão com uma molécula neutra. A câmara de colisão quadrupolar fixa na radiofrequência promove a focalização dos íons dispersos e é, portanto, altamente eficiente²⁵. Neste sistema o processo de fragmentação do íon selecionado pode proporcionar uma maior seletividade e discriminação comparativamente à espectrometria de massas convencional, sem perda de seletividade⁷.

A eficiência do processo de dissociação ativada por colisão é determinada pela eficiência da fragmentação e eficiência de coleta dos íons produzidos, íons filhos. Se P_0 e P representam a corrente dos feixes de íon pai à entrada e saída da câmara de colisão, respectivamente; e $\sum F_i$ a corrente total de todos os fragmentos iônicos à saída da câmara de colisão, então a eficiência de fragmentação é obtida pela equação I.

$$E_F = \sum F_i / (P + \sum F_i) \quad \text{eq. I}$$

Já a eficiência de coleta é dada por:

$$E_C = (P + \sum F_i) / P_0, \quad \text{eq. II}$$

sendo que a eficiência total da dissociação ativada por colisão (DAC) é o produto das equações I e II, ou seja:

$$E_{DAC} = E_F \cdot E_C = \sum F_i / P_0 \quad \text{eq. III}$$

A eficiência da coleta na câmara de colisão quadrupolar é efetivamente da ordem de 100%. Isso porque o poder excepcional de focalização do quadrupolo fixo em radiofrequência, estabiliza o íon após a colisão e fragmentação²⁵.

Experimentos com o sistema EM-EM triplo quadrupolar demonstraram que o gás de colisão como o argônio fornece eficiências de fragmentação três a quatro vezes maiores comparativamente ao gás hidrogênio^{4,25}.

Pode-se aumentar a eficiência total da dissociação ativada por colisão através de: (1) aumento do peso molecular do gás de colisão; (2) aumento da pressão na câmara de colisão; (3) aumento ou diminuição da voltagem axial do íon a partir de 10 eV.

EXPERIMENTOS REALIZADOS NO SISTEMA EM-EM TRIPLO QUADRUPOLAR

Os tipos mais comuns de operação do sistema EM-EM são varredura do íon pai, varredura do íon filho, varredura da perda de fragmento neutro e monitoramento seletivo de reação^{4,11,15,19,22}. O modo de operação escolhido para uma análise dependerá da informação que se deseja obter (Fig. 6, Tabela 1)²².

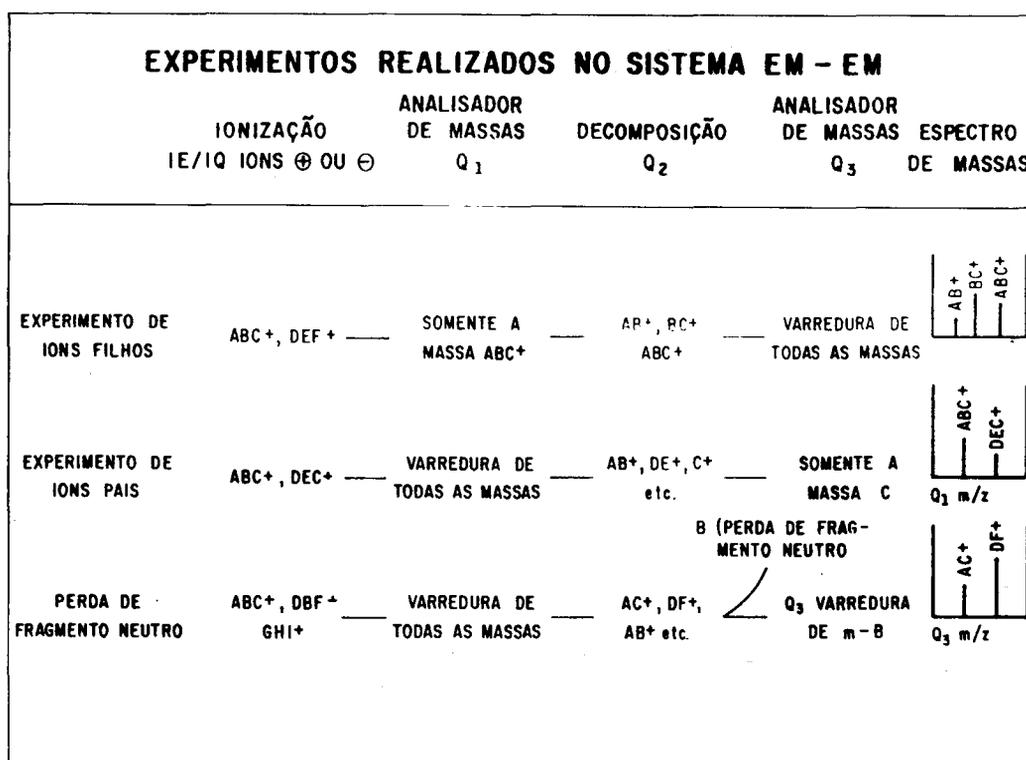


Figura 6. Representação esquemática dos experimentos realizados no sistema EM-EM (Reimpresso com permissão da Ind. Res. & Develop. 1981)¹⁵

TABELA 1 - Parâmetros dos experimentos realizados na EM-EM¹⁹

varredura	m_p^+	m_f^+	m_n
íon filho	fixa	variável	variável
íon pai	variável	fixa	variável
perda de neutro	variável	variável	fixa
monitoramento de reação	fixa	fixa	fixa

m_p^+ = massa do íon pai

m_f^+ = massa do íon filho

m_n = massa de fragmento neutro

$$m_p^+ \rightarrow m_f^+ + m_n$$

A varredura do íon filho consiste em se selecionar um íon pai característico de um composto a ser estudado através de Q₁, fragmentá-lo por dissociação ativada por colisão (DAC) na câmara de fragmentação, e realizar uma varredura total em Q₃. Deste modo obtém-se então um espectro de massas dos íons filhos.

Analogamente ao espectro de massas normal, o espectro de massas dos íons filhos pode ser utilizado na identificação de um composto desconhecido, através da interpretação do espectro de massas padrão ou pela comparação com o espectro de massas de um padrão autêntico.

Na varredura do íon pai, um íon filho específico é selecionado através de Q₃, e realiza-se uma varredura em Q₁ em uma faixa de massas específica selecionando íons pais que darão origem ao íon filho pré-selecionado. Este modo de ope-

ração pode ser utilizado na investigação de uma determinada classe de compostos que ao se fragmentarem dão origem a um íon filho comum.

Na varredura da perda de fragmento neutro os dois analisadores de massas (Q₁ e Q₃) são varridos ("scanned") com uma diferença constante de massa. O espectro de massas resultante apresenta os íons filhos que se formaram a partir da perda de um fragmento neutro de massa específica dos íons precursores, íons pais. Este método é útil na investigação de compostos caracterizados por uma etapa comum de fragmentação.

As varreduras dos íons pais e da perda de fragmento neutro são utilizadas na investigação rápida de uma determinada classe de compostos presentes em uma mistura complexa, sendo que a confirmação estrutural pode ser realizada através da comparação dos espectros de íons filhos de cada íon pai selecionado na mistura, com os espectros de um padrão autêntico.

Embora os três modos de operação descritos sejam muito seletivos, eles podem não ter a sensibilidade necessária para a determinação de compostos traços. Assim, utiliza-se normalmente para a análise de compostos traços o monitoramento seletivo de reação (íon pai → íon filho), onde um número limitado de pares de íon pai/íon filho são monitorados para cada composto de interesse, ou misturas de compostos, em uma amostra complexa. Obtém-se assim um aumento na sensibilidade, embora com perda de seletividade. O monitoramento seletivo de reação é análogo ao monitoramento seletivo de íons utilizado na maximização da sensibilidade do sistema convencional CG-EM quando se pretende gerar fragmentogramas de massas^{4,19,22}.

A Tabela 1 mostra a relação entre os vários parâmetros (massa do íon pai, massa do íon filho e massa do fragmento neutro) para os diferentes tipos de experimentos EM-EM¹⁹.

APLICAÇÕES DO SISTEMA EM-EM

Devido a enorme flexibilidade, sensibilidade e especificidade do sistema EM-EM, sua utilização está amplamente disseminada por praticamente todas as áreas onde o processo analítico é de fundamental importância⁴.

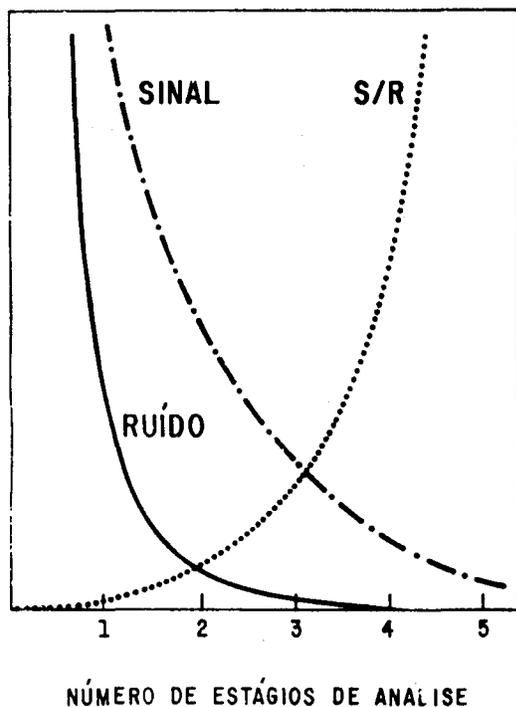


Figura 7. Gráfico da variação de sinal, ruído e razão sinal/ruído com o aumento do número de analisadores de massas acoplados em série.

Em vista do sistema EM-EM ser extremamente mais sensível do que o sistema EM convencional, esse sistema de acoplamento de analisadores de massas tornou-se especialmente útil na análise de compostos traços (Fig. 7)²².

A EM-EM aplica-se à elucidação estrutural de poli e oligopeptídeos^{26,27}, análise de produtos naturais^{11,28-30}, análise de poluentes ambientais^{20,31-34}, análise de drogas^{35,36}, análise de compostos carcinogênicos³⁷, identificação de corantes³⁸, análise de fluidos biológicos^{39,40,41}. Aplica-se, ainda, à análise de biomoléculas^{11,42,43}, bem como a amostras de origem geológica⁴⁴⁻⁴⁹.

A Figura 8 ilustra a utilização da EM-EM na análise de amostras geológicas, especificamente na determinação da distribuição dos marcadores biológicos presentes em dois óleos de diferentes origens⁴⁸. Em consequência das correlações óleo-óleo e óleo-rocha geradora serem de fundamental importância para a Geoquímica Orgânica, é desejável, na maioria

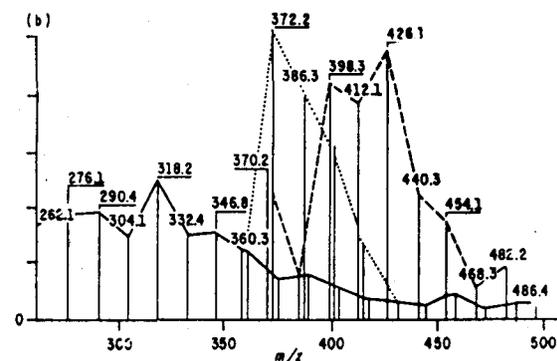
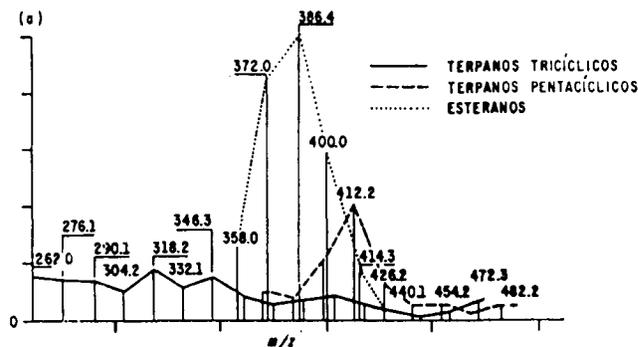


Figura 8. Distribuição dos marcadores biológicos em óleos. Esteranos (.....), terpanos tricíclicos (—), terpanos pentacíclicos (----). Análise por EM-EM através da introdução direta da amostra na fonte iônica do espectrômetro de massas (sonda) (Reimpresso com permissão de Analytical Chemistry 60. Copyright (1988) American Chemical Society)⁴⁸.

dos casos, uma investigação rápida das amostras, ao invés de uma análise detalhada envolvendo vários processos de fracionamento e a subsequente análise por CG-EM-C. Sendo assim, a introdução direta da amostra na fonte do espectrômetro de massas através de uma sonda num sistema EM-EM triplo quadrupolar (Fig. 8) com o modo de operação de íons pais, permite que óleos totais ou frações de hidrocarbonetos sejam analisados diretamente sem a separação por cromatografia gasosa. Isto é possível graças ao monitoramento de um número de relações íon pai/íon filho específicas. Devido à impossibilidade de resolução dos vários isômeros presentes nestas amostras, a quantidade de informação obtida não é tão detalhada como a obtida pela CG-EM-EM. É possível obter, entretanto, as impressões digitais de várias classes de biomarcadores para cada análise realizada⁴⁸. Na Figura 8 tem-se a distribuição dos íons moleculares, íons pais, dos marcadores biológicos: terpanos tricíclicos ($M^+ \rightarrow m/z 191$) e terpanos pentacíclicos ($M^+ \rightarrow m/z 191$), esteranos ($M^+ \rightarrow m/z 217$) para dois óleos. Através da distribuição destes marcadores biológicos foi possível inferir a origem dos óleos analisados como sendo (a) origem marinha e (b) origem marinha e terrestre (Fig. 8)⁴⁸.

A Figura 9 ilustra mais uma aplicação da EM-EM na análise de biomarcadores, no caso a classe dos $C_{26} - C_{30}$ esteranos⁴⁹.

Devido ao fato dos C_{30} -esteranos estarem presentes em pequenas concentrações em amostras geológicas comparativamente aos demais componentes desta classe, $C_{27} - C_{29}$ esteranos, e sofrerem interferências dos 4-metil-esteranos em

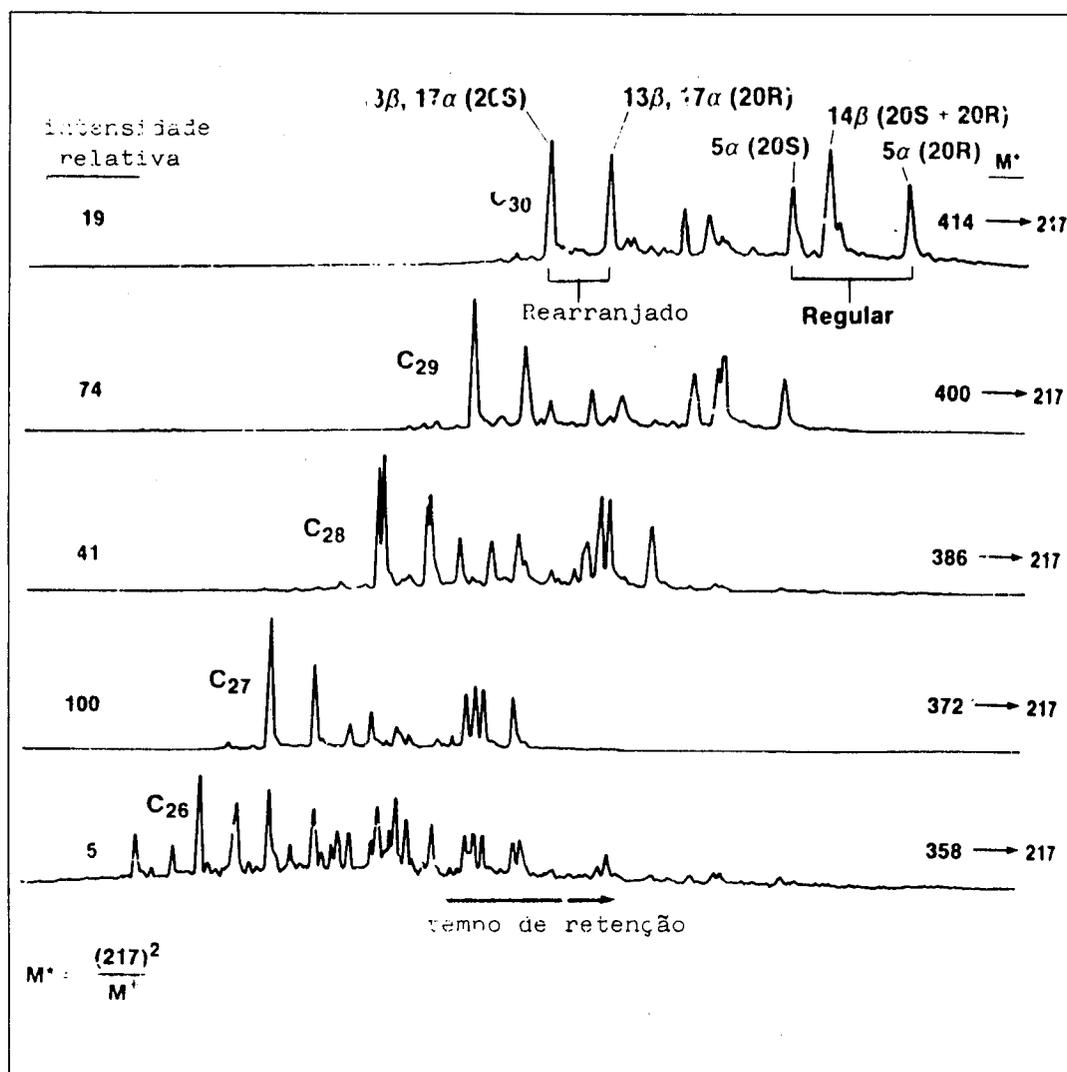


Figura 9. Cromatograma de íons pais dos esteranos presentes em um óleo do Alasca. (M^+ → m/z 217). Análise realizada em um sistema EM-EM com analisadores de massas de setores (BE). (Moldowan, Seiferty e Gallegos, 1985, reimpresso com permissão)⁴⁹.

análises pelos métodos convencionais de CG-EM, é necessário para sua detecção a utilização da CG-EM-EM⁴⁹.

A presença dos C₃₀-esteranos em óleos de origem marinha foi determinada através da varredura do íon metaestável em um espectrômetro de massas de configuração BE. Este sistema permite a determinação e quantificação dos esteranos pelo monitoramento direto dos íons pais, M^+ , e o íon filho m/z 217.

Os íons pais se decompõem através de um processo unimolecular originando fragmentos m/z 217 na região sem campo do espectrômetro de massas. Assim os C₃₀-esteranos podem ser detectados inequivocamente através do sistema CG-EM-EM (Fig. 9), devido à extrema sensibilidade e especificidade deste sistema⁴⁹.

Em consequência da enorme capacidade analítica do sistema EM-EM, como já descrito anteriormente, ele tem sido utilizado em várias áreas, tais como a indústria química, farmacêutica e petroquímica, além das áreas de produtos naturais e meio ambiente^{4,19}.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Concetta Kascheres (Instituto de Química-UNICAMP) pela cessão de uma cópia do livro "Tançem Mass Spectrometry" de F. W. McLafferty. Aos Drs. Márcio Rocha Mello e Francisco José Martinez Concha (CENPES-PETROBRÁS S.A.) pelo acesso ao sistema EM-EM triplo quadrupolar, o que possibilitou um melhor entendimento desta nova técnica. Ao CNPq e à FINEP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. McLafferty, F. W., ed.; "Mass spectrometry of organic ions"; Academic Press; New York (1963), 720p.
2. Schlunegger, U.P.; "Advanced mass spectrometry; application in organic and analytical chemistry"; in Chrompton, T. R.; Pergamon Press; Oxford (1980), 143p.

3. De Grande, S. M. B.; "Otimização da separação cromatográfica de esteranos e sua implicação na prospecção geoquímica de petróleo"; Tese de Mestrado; Universidade Federal do Rio de Janeiro: Rio de Janeiro (1988), 243p.
4. McLafferty, F. W., ed.; "Tandem mass spectrometry"; John Wiley; New York (1983), 506p.
5. Kruger, T. L.; Litton, J. F.; Kondrat, R. W.; Cooks, R. G.; *Anal. Chem.* (1976) **48**, 2113.
6. Kondrat, R. W.; Cooks, R. G.; *Anal. Chem.* (1978) **50**, 81A.
7. Yost, R. A.; Enke, C. G.; *Anal. Chem.* (1979) **51**, 1251A.
8. McLafferty, F. W.; *Acc. Chem. Res.* (1980) **13**, 33.
9. McLafferty, F. W.; *Science* (1981) **214**, 280.
10. McLafferty, F. W.; Bockhoff, F. M.; *Anal. Chem.* (1978) **50**, 69.
11. Cooks, R. G.; Glish, G. L.; *Chem. Eng. News* (1981) **50**, 40.
12. Hipple, J. A.; Condon, E. U.; *Phys. Rev.* (1945) **68**, 54.
13. Cooks, R. G.; Beynon, J. H.; Caprioli, R. M.; Lester, G. R. "Metastable ions"; Elsevier; Amsterdam (1973).
14. Haddon, W. F.; McLafferty, F. W.; *J. Am. Chem. Soc.* (1968) **90**, 4745.
15. Slayback, J. R. B.; Story, M. S.; *Ind. Res. & Develop.* (1981) 129.
16. Bonner, R.; "Chemical analysis problems yield to quadrupole MS/MS. Part I & II. Reprinted from *Canadian Research* (1982) sep & nov.
17. Pesch, R.; *Spectra* (1983) **9**, 13.
18. Glish, G. L.; McLuckey, S. A.; *Org. Mass Spectrom.* (1989) **24**, 470.
19. Busch, K. L.; Glish, G. L.; McLuckey, S. A.; "Mass spectrometry/mass spectrometry: techniques and applications of tandem mass spectrometry"; VCH Publishers; New York (1988), 333p.
20. Hunt, D. F.; Shabanowitz, J.; Giordani, A. B.; *Anal. Chem.* (1980) **52**, 386.
21. Yost, R. A.; Enke, C. G.; "Tandem quadrupole mass spectrometry"; in: McLafferty, F. W. *Tandem Mass Spectrometry*; John Wiley; New York (1983), 175.
22. Johnson, J. V.; Yost, R. A.; *Anal. Chem.* (1986) **57**, 758A.
23. Yost, R. A.; Enke, C. G.; *Anal. Chem.* (1978) **100**, 2274.
24. McGilvery, D. C.; Morrison, J. D.; *Int. J. Mass. Spectrom. Ion Phys.* (1978) **28**, 81.
25. Yost, R. A.; Enke, C. G.; McGilvery, D. C.; Smith, D.; Morrison, J. D.; *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* (1979) **30**, 127.
26. Johnson, R. S.; Martin, S. A.; Biemann, K.; Stults, J. T.; Watson, J. T.; *Anal. Chem.* (1987) **59**, 2621.
27. Biemann, K.; *Anal. Chem.* (1986) **58**, 1288A.
28. Davis, D. V.; Cooks, R. G.; Meyer, B. N.; McLaughlin, J. L.; *Anal. Chem.* (1983) **55**, 1302.
29. Johnson, J. V.; Yost, R. A.; Faull, K. F.; *Anal. Chem.* (1984) **56**, 1655.
30. Pachutta, R. R.; Kenttämää, H. I.; Cooks, R. G.; Zennie, T. M.; Ping, C.; Chang, C. J.; Cassady, J. M.; *Org. Mass Spectrom.* (1988) **23**, 10.
31. Hunt, D. F.; Shabanowitz, J.; Harvey, T. M.; Coates, M. L.; *J. Chromatogr.* (1983) **271**, 93.
32. Hunt, D. F.; Shabanowitz, J.; Harvey, T. M.; Coates, M. L.; *Anal. Chem.* (1985) **57**, 525.
33. Gurka, D. F.; Betowski, L. D.; Hinners, T. A.; Heithmar, E. M.; Titus, R.; Henshaw, J. M.; *Anal. Chem.* (1988) **60**, 454A.
34. Chess, E. K.; Gross, M. L.; *Anal. Chem.* (1980) **52**, 2057.
35. Cheng, M. T.; Kruppa, G. H.; McLafferty, F. W.; *Anal. Chem.* (1982) **54**, 2204.
36. Ramsey, E. D.; Games, D. E.; Startin, Jr.; Crews, C.; Gilbert, J.; *Biomed. Environ. Mass Spectrom.* (1989) **18**, 5.
37. Brumley, W. C.; Canas, B. J.; Perfetti, G. A.; Mossoba, M. M.; Sphon, J. A.; Corneliussen, P. E.; *Anal. Chem.* (1988) **60**, 975.
38. Bruins, A. P.; Weidolf, L. O. G.; Henion, J. D.; Budde, W. L.; *Anal. Chem.* (1987) **59**, 2647.
39. Glish, G. L.; Shaddock, V. M.; Cooks, R. G.; *Anal. Chem.* (1980) **52**, 165.
40. Yost, R. A.; Fetterolf, D. D.; Hass, J. R.; Harvan, D. J.; Weston, A. F.; Skotnicki, P. A.; *Anal. Chem.* (1984) **56**, 2223.
41. De Jong, E. G.; Maes, R. A. A.; Van Rossum, J. M.; *Biomed. Environ. Mass Spectrom.* (1988) **16**, 75.
42. Alexander, A. J.; Kebarle, P.; Fuciarelli, A. F.; Raleigh, J. A.; *Anal. Chem.* (1987) **59**, 2484.
43. Strife, R. J.; Simms, J. R.; *Anal. Chem.* (1988) **60**, 1800.
44. Gallegos, E. J.; "Organic mixture analysis by metastable ion methods using a double-focusing mass spectrometer"; in: Gross, M. L. *High performance mass spectrometry, chemical applications*; American Chemical Society; Washington, D. C. (1978) 274.
45. Johnson, J. V.; Britton, E. D.; Yost, R. A.; Quirke, J. M. E.; Cuesta, L. L.; *Anal. Chem.* (1986) **58**, 1325.
46. Ciupek, J. D.; Cooks, R. G.; Wood, K. V.; Ferguson, C. R.; *Fuel* (1983) **62**, 829.
47. Christensen, R. G.; Whitev, E.; *J. Chromatogr.* (1985) **323**, 33.
48. Philip, R. P.; Oung, J. N.; *Anal. Chem.* (1988) **60**, 887A.
49. Moldowan, J. M.; Seifert, W. K.; Gallegos, E. J.; *An. Assoc. Petrol. Geol. Bull.* (1985) **69**, 1255.