



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) BR 112013017419-6 B1**



**(22) Data do Depósito: 29/12/2011**

**(45) Data de Concessão: 16/03/2021**

---

**(54) Título:** SISTEMA E MÉTODO PARA ANALISAR UMA AMOSTRA E MÉTODO PARA IONIZAR UMA AMOSTRA

**(51) Int.Cl.:** H01J 49/26.

**(30) Prioridade Unionista:** 05/01/2011 US 61/430,021.

**(73) Titular(es):** PURDUE RESEARCH FOUNDATION.

**(72) Inventor(es):** ROBERT GRAHAM COOKS; GUANGTAO LI; XIN LI; ZHENG OUYANG.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2011067771 de 29/12/2011

**(87) Publicação PCT:** WO 2012/094227 de 12/07/2012

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 05/07/2013

**(57) Resumo:** SISTEMAS E MÉTODOS PARA ANÁLISE DE AMOSTRAS A presente invenção refere-se, em geral, a sistemas e a métodos para análise de amostras. Em determinadas modalidades, a invenção proporciona um sistema para analisar uma amostra que inclui uma sonda incluindo um material conectado a uma fonte de alta tensão, um dispositivo para geração de um gás aquecido, e um analisador de massa.

“SISTEMA E MÉTODO PARA ANALISAR UMA AMOSTRA E MÉTODO PARA IONIZAR  
UMA AMOSTRA”

PEDIDO RELACIONADO

O presente pedido reivindica o benefício e a prioridade ao pedido de patente provi-  
5 sório U.S. com número de série 61/430.021, depositado em 5 de janeiro de 2011, estando o  
conteúdo deste aqui incorporado em sua totalidade a título de referência.

SUPORTE GOVERNAMENTAL

O Governo Norte-Americano possui uma licença quitada nesta invenção e o direito  
em circunstâncias limitadas para exigir que o titular da patente licencie a terceiros em ter-  
10 mos razoáveis, tal como previsto nos termos do Número de Concessão CHE0848650 outor-  
gado pela Fundação Nacional de Ciências e do Número de Concessão DE-FG02-  
06ER15807 outorgado pelo Departamento de Energia.

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção refere-se, em geral, a sistemas e métodos para análise de amostras.

15 FUNDAMENTOS

A química de grupos funcionais se baseia em alcanos. Isto proporciona um impera-  
tivo pedagógico para sua caracterização que complementa o imperativo econômico de ca-  
racterização de alcano pesado (“pesados”). Dentre os métodos espectroscópicos, a espec-  
trometria de massa foi associada de modo particularmente veemente à indústria petrolífera,  
20 especificamente à análise de produtos de craqueamento à base de hidrocarbonetos (Fisher  
et al., Anal. Chem. 1975, 47, 59). Os primeiros espectrômetros de massa comerciais foram  
usados para este propósito e o método influente de ionização química e, muito antes, da  
química iônica/molecular fundamental, foi desenvolvido por cientistas do petróleo (Field et  
al., J. Am. Chem. Soc. 1956, 5697; e Field et al., J. Am. Chem. Soc. 1957, 79, 2419). Mais  
25 recentemente, a espectrometria de massa com ressonância ciclotron iônica de alta resolu-  
ção (MS) vem sendo aplicada para ajudar a elucidar a complexidade notável de materiais  
derivados de petróleo utilizando-se defeitos de massa de Kendrick para organizar de modo  
compacto os vários constituintes de grupo funcional de amostras derivadas de petróleo  
(Qian et al., Energ. Fuel. 2001, 15, 492). Dois grupos de compostos derivados de petróleo,

os asfaltenos e as ceras, no entanto, ainda proporcionam dificuldades particulares em caracterização detalhada por MS e outros métodos (Pinkston et al., Energy Fuels 2009, 23, 5564; e Pomerantz et al., J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 7216).

### SUMÁRIO

5 A invenção se refere, em geral, a sistemas e a métodos para análise de amostras. Os sistemas e métodos da invenção permitem uma análise espectral de massa de alcanos pesados, e, logo, permitem uma análise de determinados compostos derivados de petróleo que previamente não poderiam ser facilmente analisados por espectrometria de massa, tais como ceras.

10 Em determinados aspectos, a invenção proporciona sistemas para analisar uma amostra que incluem uma sonda incluindo um material conectado a uma fonte de alta tensão, um dispositivo para geração de um gás aquecido, e um analisador de massa. O material pode ser um material poroso (por exemplo, papel, filtro, papel ou membrana de PVDF) ou um material não-poroso (por exemplo, um metal como alumínio). Uma descrição adicional  
15 de sistemas que utilizam materiais porosos para ionização é fornecida em PCT/US 10/32881 por Purdue Research Foundation e Wang et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 877, estando os conteúdos de cada um desses aqui incorporados em sua totalidade a título de referência. Em determinadas modalidades, o sistema opera sob condições ambientes.

Em determinadas modalidades, o gás aquecido é direcionado na sonda, por exemplo, o gás aquecido é direcionado em uma ponta da sonda. Em outras modalidades, o sistema inclui, ainda, uma câmara configurada para circundar a sonda e o dispositivo para geração do gás aquecido. Nesta modalidade, o gás dentro da câmara é aquecido e, conseqüentemente, aquece a sonda. Logo, o gás aquecido não precisa ser direcionado na sonda. Um gás exemplificador é o nitrogênio. Devido à configuração do sistema, o gás aquecido  
25 auxilia na ionização da amostra e participa em uma reação química com a amostra, isto é, o gás aquecido participa em uma reação iônica para ionizar a amostra e também modifica o analito. Em geral, a ionização e a reação química ocorrem simultaneamente.

Materiais porosos exemplificadores incluem papel ou membrana de PVDF. Um papel exemplificador é o papel filtro. Em modalidades particulares, a sonda é conformada para

que tenha uma ponta pontiaguda. Por exemplo, em determinadas modalidades, a sonda é composta por papel filtro que é conformado como uma peça triangular. Materiais não-porosos exemplificadores incluem metais, tal como alumínio. Em modalidades particulares, a sonda é conformada para que tenha uma ponta pontiaguda. Por exemplo, em determinadas modalidades, a sonda é composta por alumínio que é conformado como uma peça triangular.

O analisador de massa pode ser aquele de um espectrômetro de massa de bancada ou de um espectrômetro de massa portátil. Os analisadores de massa exemplificadores incluem uma armadilha iônica quadrupolar, uma armadilha iônica retilínea, uma armadilha iônica cilíndrica, uma armadilha de ressonância ciclotron iônica, ou um orbitrap.

Em outros aspectos, a invenção proporciona um método para analisar uma amostra que envolve colocar uma amostra em contato com um material, aplicar alta tensão e calor ao material para gerar íons de um analito na amostra que são expelidos a partir do material, e analisar os íons expelidos. Em determinadas modalidades, o método é realizado sob condições ambientes. Em determinadas modalidades, a análise envolve proporcionar um analisador de massa para gerar um espectro de massa de analitos na amostra.

A amostra pode ser qualquer amostra química ou biológica. A amostra pode ser um líquido ou um sólido. Em modalidades particulares, a amostra é um sólido. Em determinadas modalidades, o sólido é um alcano pesado, tal como um composto derivado de petróleo. Em particular modalidades, o composto derivado de petróleo é uma cera.

Pode-se produzir calor através de qualquer método conhecido na técnica. Em modalidades particulares, o calor é produzido a partir de um gás aquecido. Em determinadas modalidades, o gás aquecido é direcionado na sonda, por exemplo, o gás aquecido é direcionado em uma ponta da sonda. Em outras modalidades, a etapa de aplicação do método é conduzida em uma câmara confinada, e, logo, o gás dentro da câmara é aquecido e, consequentemente, aquece a sonda. Logo, o gás aquecido não precisa ser direcionado na sonda. Um gás exemplificador é o nitrogênio. Em determinadas modalidades, o gás aquecido auxilia na ionização de amostras e participa em uma reação química com a amostra, isto é, o gás aquecido participa em uma reação iônica para ionizar a amostra e também modificar o

analito. Em geral, a etapa de ionização e a reação química ocorrem simultaneamente.

Outro aspecto da invenção proporciona métodos para ionizar uma amostra que envolve aplicar alta tensão e calor a um material para gerar íons de um analito na amostra.

Outro aspecto da invenção proporciona métodos para analisar um alcano pesado  
5 que envolve obter um alcano pesado, e usar uma técnica de ionização ambiente direta para analisar o alcano pesado. Em modalidades particulares, o alcano pesado é um sólido. Em determinadas modalidades, o alcano pesado é um componente de um composto derivado de petróleo. Em modalidades particulares, o alcano pesado é uma cera.

Técnicas de espectrometria de massa exemplificadoras que utilizam métodos de  
10 ionização/amostragem ambiente direta incluem ionização de dessorção por eletroaspersão (DESI; Takats et al., Science, 306:471-473, 2004 e patente U.S. número 7.335.897); análise direta em tempo real (DART; Cody et al., Anal. Chem., 77:2297-2302, 2005); Ionização por Descarga de Barreira Dielétrica em Alta Pressão Atmosférica (DBDI; Kogelschatz, Plasma Chemistry and Plasma Processing, 23: 1-46, 2003, e publicação internacional PCT número  
15 WO 2009/102766), e dessorção/ionização a laser assistida por eletroaspersão (ELDI; Shiea et al., J. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 19:3701-3704, 2005). Os conteúdos de cada um desses se encontram aqui incorporados em suas totalidades a título de referência.

Em modalidades particulares, a técnica de ionização ambiente direta envolve colo-  
20 car o alcano pesado em contato com um material, aplicar alta tensão e calor ao material poroso para gerar íons de um analito no alcano pesado que são expelidos a partir do material, e analisar os íons expelidos. O material pode ser um material poroso (por exemplo, papel, filtro, papel ou membrana de PVDF) ou um material não-poroso (por exemplo, um metal, tal como alumínio). Uma descrição adicional dos sistemas que utilizam materiais porosos é  
25 fornecida em PCT/US 10/32881 por Purdue Research Foundation e Wang et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 877, estando os conteúdos de cada um desses aqui incorporados em sua totalidade a título de referência. Em determinadas modalidades, sendo que a análise envolve proporcionar um analisador de massa para gerar um espectro de massa de analitos na amostra.

O calor pode ser produzido através de qualquer método conhecido na técnica. Em modalidades particulares, o calor é produzido a partir de um gás aquecido. Em determinadas modalidades, o gás aquecido é direcionado na sonda, por exemplo, o gás aquecido é direcionado em uma ponta da sonda. Em outras modalidades, a etapa de aplicação do método é conduzida em uma câmara confinada, e, logo, o gás dentro da câmara é aquecido e, consequentemente, aquece a sonda. Logo, o gás aquecido não precisa ser direcionado na sonda. Um gás exemplificador é o nitrogênio.

Outros aspectos da invenção proporcionam métodos para rastrear carbono no curso do processamento de petróleo. Os métodos da invenção envolvem usar uma técnica de ionização ambiente direta para gerar íons de um analito em uma amostra derivada a partir do processamento de petróleo, direcionar os íons em um analisador de massa, separar por massa os íons de acordo com sua massa, detectar os íons separados por massa a partir da amostra, e utilizar os íons detectados para determinar as quantidades relativas das várias formas químicas de carbono na amostra.

Em determinadas modalidades, a amostra é um sólido. Em modalidades particulares, a amostra inclui alcanos pesados. Em modalidades particulares, a amostra é uma cera.

Em determinadas modalidades, a técnica de ionização ambiente direta envolve colocar o alcano pesado em contato com um material, e aplicar alta tensão e calor ao material para gerar íons de um analito na amostra que são expelidos a partir do material poroso. O material pode ser um material poroso (por exemplo, papel, filtro, papel ou membrana de PVDF) ou um material não-poroso (por exemplo, um metal, tal como alumínio). Uma descrição adicional dos sistemas que utilizam materiais porosos é fornecida em PCT/US 10/32881 por Purdue Research Foundation e Wang et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 877, estando os conteúdos de cada um desses aqui incorporados em sua totalidade a título de referência.

Outro aspecto da invenção proporciona métodos para funcionalizar um analito em uma amostra que envolve colocar uma amostra em contato com um material, e aplicar alta tensão e um gás aquecido ao material sob condições de modo que as moléculas do gás aquecido modifiquem um analito na amostra, funcionalizando, assim, um analito na amostra.

O analito funcionalizado pode ser convertido em íons pela alta tensão e pelo gás aquecido. Os íons podem ser expelidos a partir do material e analisados. Os íons podem ser coletados e, então, analisados ou podem ser coletados após a análise, por exemplo, através de espectrometria infravermelha ou espectrometria de massa.

5 O material pode ser um material poroso (por exemplo, papel, filtro, papel ou membrana de PVDF) ou um material não-poroso (por exemplo, um metal, tal como alumínio). Uma descrição adicional dos sistemas que utilizam materiais porosos para ionização é fornecida em PCT/US 10/32881 por Purdue Research Foundation e Wang et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 877, estando os conteúdos de cada um desses aqui incorporados  
10 em sua totalidade a título de referência. Em determinadas modalidades, o sistema opera sob condições ambientes. Em determinadas modalidades, o gás é nitrogênio.

A amostra mostra ser um líquido ou um sólido. Em modalidades particulares, a amostra é um sólido. Em determinadas modalidades, o sólido é um alcano pesado, tal como um composto derivado de petróleo. Em modalidades particulares, o composto derivado de  
15 petróleo é uma cera.

#### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 fornece uma modalidade dos sistemas da invenção.

A Figura 2 é um espectro de massa da cera n-C<sub>60</sub>H<sub>122</sub>, atmosfera N<sub>2</sub>, 325°C, 6 kV, utilizando-se um Orbitrap LTQ e mostrando regiões expandidas de [M+N]<sup>+</sup> e [2M+N-2H]<sup>+</sup>, M  
20 = <sup>12</sup>C<sub>60</sub><sup>1</sup>H<sub>122</sub>

As Figuras 3A e 3B são espectros de massa registrados a partir de papel filtro em atmosfera N<sub>2</sub> (a) amostra de Polywax 1000 padrão; e (b) distribuição isotópica para os picos C<sub>110</sub> comparada à distribuição isotópica calculada de C<sub>110</sub>H<sub>222</sub>N.

As Figuras 4A e 4B mostram espectros de íons de produto (a) MS/MS e (b) MS  
25 mostrando todos os fragmentos (acima do corte de baixa massa) gerados através da sequência [M+N]<sup>+</sup> (*m/z* 856,8) → C<sub>19</sub>H<sub>40</sub>N<sup>+</sup> (*m/z* 282,2). Nota-se em (a) o conjunto completo de eliminações de alceno e em (b) a perda de nitrogênio para fornecer cátions de alquênil monoinsaturados.

A Figura 5 mostra um esquema de reação de um mecanismo de fragmentação CID

proposto que leva à eliminação de amina de alquila com a formação de cátions de alquenil nos espectros MS.

A Figura 6 mostra um esquema de reação de um mecanismo de tentativa para inserção de íons de nitrogênio atômico em alcanos em um substrato de papel eletricamente flutuado. Os alcanos são ativados pelo potencial aplicado.

A Figura 7 mostra um esquema de reação para as primeiras etapas na formação de íons diméricos, incluindo  $[2M+N-2H]^+$ .

A Figura 8 mostra uma cromatografia de gás de Polywax 1000 (disponível junto a Restek Corporation).

A Figura 9 mostra um espectro de massa de alcano  $C_{40}H_{82}$  analisado pelos métodos da invenção. O gás aquecido estava em  $250^{\circ}C$ .

A Figura 10 mostra um espectro de massa de óleo analisado pelos métodos da invenção. O gás aquecido estava em  $350^{\circ}C$ .

A Figura 11 é um MS/MS de íon  $[2M+N-2H]^+$  de alcano  $C_{40}H_{82}$ . O fragmento é monoisotópico porque o íon precursor é isolado em resolução unitária.

A Figura 12 é um MS/MS de íon  $[2M+N-2H]^+$  de alcano  $C_{50}H_{102}$ . O fragmento é monoisotópico porque o íon precursor é isolado em resolução unitária.

A Figura 13 é um MS/MS de íon  $[2M+N-2H]^+$  de alcano  $C_{60}H_{122}$ . O fragmento é monoisotópico porque o íon precursor é isolado em resolução unitária.

A Figura 14 é uma representação esquemática de um sistema para ionização ambiente de alcanos a partir de papel seco.

As Figuras 15A-B são representações esquemáticas de um sistema para ionização por descarga assistida por malha (pode ser acompanhada por oxidação) de alcanos.

A Figura 16 mostra um espectro de massa de óleo analisado pelos métodos da invenção. O gás aquecido estava em  $300^{\circ}C$ .

A Figura 17 mostra um espectro de massa de um óleo.

A Figura 18 é um espectro MS de baixa massa para Polywax 1000 em atmosfera  $N_2$  a  $450^{\circ}C$ .

A Figura 19 é uma representação esquemática de um sistema para análise de al-

canos que usa um substrato não-poroso.

A Figura 20 é um espectro MS de  $n\text{-C}_{15}\text{H}_{32}$  obtido utilizando-se a configuração de sistema da Figura 19.

A Figura 21 é um espectro MS/MS de íon  $[\text{M}+\text{N}]^+$  de alcano  $\text{C}_{40}\text{H}_{82}$ .

5 A Figura 22 é um espectro  $\text{MS}^3$  de íon  $[\text{M}+\text{N}]^+$  de alcano  $\text{C}_{40}\text{H}_{82}$ .

A Figura 23 é um espectro  $\text{MS}^3$  de íon  $[\text{M}+\text{N}]^+$  de alcano  $\text{C}_{40}\text{H}_{82}$ .

A Figura 24 é um espectro  $\text{MS}^3$  de íon  $[\text{M}+\text{N}]^+$  de alcano  $\text{C}_{40}\text{H}_{82}$ .

A Figura 25 é um espectro  $\text{MS}^3$  de íon  $[\text{M}+\text{N}]^+$  de alcano  $\text{C}_{40}\text{H}_{82}$ .

10 A Figura 26 é uma representação esquemática que mostra um mecanismo de fragmentação que leva aos cátions de alquenil observados nos espectros MS.

A Figura 27 é uma representação esquemática que mostra um mecanismo possível de inserção de nitrogênio em alcanos em substrato de papel. Os alcanos são ativados pelo potencial aplicado.

15 A Figura 28 é uma representação esquemática que mostra um mecanismo possível de formação de íons diméricos a partir de alcanos adjacentes em substrato de papel. Os alcanos são ativados pelo potencial aplicado.

A Figura 29 é um espectro MS de  $n\text{-C}_{14}\text{H}_{30}$  registrado a partir de papel filtro em atmosfera  $\text{N}_2$  a  $50^\circ\text{C}$ , 6 kV, utilizando-se LTQ e mostrando  $[\text{M}+\text{N}]^+$  e  $[2\text{M}+\text{N}]^+$ ,  $\text{M} = \text{C}_{14}\text{H}_{30}$ .

20 A Figura 30 é um espectro MS de óleo de motor à base de petróleo 10W30 ionizado por descarga em arco a  $150^\circ\text{C}$  em atmosfera  $\text{N}_2$ : todos os picos são incorporados em mononitrogênio.

25 A Figura 31 mostra espectros MS/MS de (a) íon  $[\text{M}+\text{N}]^+$  alcano  $n\text{-C}_{18}\text{H}_{38}$  registrado em linha (b) pico de  $m/z$  268,3 a partir da análise nanoESI de amostra enxaguada após a deposição de  $[\text{M}+\text{N}]^+$  e outros íons em pressão atmosférica durante a ionização reativa de  $n\text{-C}_{18}\text{H}_{38}$ .

A Figura 32 é um espectro FT-IR de triacontano ( $n\text{-C}_{30}\text{H}_{62}$ ) e de outro material depositado ao coletar  $[\text{M}+\text{N}]^+$  e outros íons de triacontano ionizado por aspersão em papel em uma atmosfera de nitrogênio. Nota-se que o novo pico em  $1714\text{ cm}^{-1}$  corresponde a uma alquilamina insaturada.

### DESCRIÇÃO DETALHADA

No presente documento, mostra-se uma química de ativação de alcano que forma a base para um método extremamente simples, ainda robusto para gerar íons exclusivos e registrar os espectros de massa de alcanos pesados, tais como ceras, cicloalcanos, e compostos à base de alcanos funcionalizados de cadeia longa. Uma configuração de sistema exemplificador é mostrada na Figura 1. Esta figura mostra um sistema exemplificador da invenção que inclui uma câmara que circunda uma sonda, um dispositivo de geração de calor, e uma entrada MS. Outras configurações de sistema são possíveis e descritas no presente documento. Utilizando-se tal sistema, as ceras de alta massa podem ser ionizadas flutuando-se o papel impregnado com cera seca em alto potencial em atmosfera de nitrogênio quente e sugando-se os íons gerados em um espectrômetro de massa. A inserção de íons de nitrogênio no alcano ativado fornece íons  $[M+N]^+$ . Logo, o gás aquecido auxilia na ionização da amostra e participa em uma reação química com a amostra, isto é, o gás aquecido participa em uma reação iônica para ionizar a amostra e também modificar o analito. Em geral, a ionização e a reação química ocorrem simultaneamente.

A cera  $C_{60}H_{122}$  é depositada como o sólido (ou a partir da solução ou como um sublimado) sobre a ponta de uma peça de papel filtro cortado em um triângulo. Um potencial de poucos kV é aplicado ao papel em uma atmosfera de nitrogênio aquecido, e registra-se um espectro, tal como aquele mostrado na Figura 2. O espectro da cera  $C_{60}$  é dominado (excluindo isótopos de carbono) por apenas dois íons:  $[M+14]^+$  e  $[2M+12]^+$ , onde M é o peso molecular monoisotópico do composto, isto é, 842.9546 Da no caso de  $C_{60}H_{122}$ . As medições de massa exatas feitas utilizando-se um instrumento Orbitrap LTQ mostraram que os íons principais têm a fórmula  $[M+N]^+$  à qual o valor esperado é  $m/z$  856.9577; o valor medido de  $m/z$  856.957(2) está de acordo com o este valor, mas exclui  $[M+CH_2]^+$  que requer  $m/z$  856.9703. De modo similar, o íon dimérico principal,  $[2M+12]^+$ , tem a fórmula  $[2M+N-2H]^+$  com uma massa medida de 1697.896(8) e uma massa esperada de 1697.8967. Observou-se a mesma incorporação de nitrogênio para as ceras  $C_{40}$  e  $C_{50}$  conforme mostrado na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1

Alcano	M (todos, $^{12}\text{C}$ , $^1\text{H}$ )	M+N	M+CH <sub>2</sub>	M+O-2H	Observado	2M+N-2H	Observado
Tetracontano, C <sub>40</sub> H <sub>82</sub>	562,64162	576,64469	576,65727	576,62088	576,64459	1137,27066	1137,27185
Pentacontano, C <sub>50</sub> H <sub>102</sub>	702,79811	716,80118	716,81376	716,77738	716,8000	1417,58364	1417,5807
Hexacontano, C <sub>60</sub> H <sub>122</sub>	842,94560	856,95768	856,97025	856,93387	856,9571	1697,89663	1697,8986

Para explorar a aplicabilidade desta química em análise de distribuições de peso molecular de alcanos pesados, examinou-se um Polywax 1000 padrão de cera pesada comercial (Restek Corporation, Bellefonte, PA). O envelope de pico principal corresponde aos alcanos saturados. Por exemplo, o íon em  $m/z$  1558 nominal corresponde ao alcano com número de carbono C<sub>110</sub> (massa química média do aduto N 1558,95; massa exata do isótopo  $^{12}\text{C}$  1557,74, massa medida 1557,7). A distribuição isotópica (Figura 3B) está de acordo com o cálculo para C<sub>110</sub>H<sub>222</sub>. A distribuição de peso molecular na Figura 3 se estende até pelo menos  $m/z$  1895, que corresponde ao hidrocarboneto saturado C<sub>134</sub>H<sub>270</sub>. O pico  $m/z$  1165,33, correspondente a C<sub>82</sub>H<sub>166</sub>, é o mais abundante. Estas observações são consistentes aos dados do fabricante (vide a Figura 8 e a Tabela 2 abaixo).

Tabela 2

Padrão qualitativo de óleo bruto ASTM D5307		Peso molecular	M-1	M+14
Decano	6,25%	142	141	156
Undecano	6,25%	156	155	170
Dodecano	6,25%	170	169	184
Tridecano	6,25%	184	183	198
Tetradecano	6,25%	198	197	212
Pentadecano	6,25%	212	211	226
Hexadecano	6,25%	226	225	240
Heptadecano	6,25%	240	239	254

Octadecano	6,25%	254	253	268
Elcosano	6,25%	282	281	296
Tetracosano	6,25%	338	337	352
Octacosano	6,25%	394	393	408
Dotriacontano	6,25%	450	449	464
Hexatriacontano	6,25%	506	505	520
Tetracontano	6,25%	562	561	576
Tetratetracontano	6,25%	618	617	632

Além da série  $[M+N]^+$ , um íon correspondente a  $[(M'+23)]^+$  está evidente a partir do envelope isotópico ( $M'$  é o alcano com dois átomos de carbono a menos, Figura 3B), bem como no perfil de peso molecular (Figura 3A).

- 5 As condições otimizadas para análise de alcano (Exemplos no presente documento) foram usadas para produzir os dados mostrados nas Figuras 2 e 3. O experimento foi feito em uma atmosfera  $N_2$  em uma câmara isolada normalmente usada para ionização química em pressão atmosférica, eletricamente aquecida a 80- 500°C, com um potencial de 6 kV aplicado ao papel que segura a amostra. Dois outros conjuntos de condições experimentais também foram explorados (Exemplo 2 no presente documento). Em um deles, a amostra foi novamente ionizada a partir do papel, mas foi aquecida ao ar livre com uma pistola de calor enquanto fornece a alta tensão. Na outra alternativa, que sucedeu o trabalho anterior sobre ionização de dessorção por eletroaspersão de modo de transmissão (DESI; Chipuka et al., J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2008, 19, 1612), a amostra foi colocada em uma malha de aço inoxidável, um potencial de 1,5-2 kV foi aplicado a uma agulha na frente da malha, e uma descarga em arco estável estabelecida. Resumindo os dados provenientes dos três tipos de experimentos: (i) Aspersão em papel em uma câmara de  $N_2$  aquecida até 400°C (de preferência, 100°C a 150°C, é bem sucedida para n-alcanos maiores ( $> C_{28}$ ); fornece  $[M+N]^+$  e  $[M+N-2H]^+$  bem como íons diméricos  $[2M+N-Hy]^+$  onde  $y$  é 1 e 4. (ii) Aspersão em papel ao ar livre a 300°C é eficaz para alcanos de tamanho médio e fornece principalmente  $[M-H]^+$ , acompanhada por várias espécies oxigenadas, (iii) Descarga em malha ao ar livre, com aquecimento, foi bem sucedida para hidrocarbonetos de tamanho médio e leves, bem como outros hidrocarbonetos. Informações mais detalhadas são fornecidas nos
- 10
- 15
- 20

Exemplos no presente documento.

Devido ao fato de ter se provado ser mais fácil controlar as condições para produzir  $[M+N]^+$  ao invés de íons  $[M-H]^+$ , prestou-se maior atenção a estas espécies. No entanto, ambos os íons são formados por processos químicos altamente incomuns. Os íons  $[M-H]^+$  parecem não ser formados por reações iônicas/moleculares, porém, parecem envolver um processo de ionização em campo (Exemplos no presente documento). Segundo Rollgen (Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 1971, 75, 988), a origem de  $[M-H]^+$  foi experimentalmente atribuída à dessorção em campo com transferência de prótons à superfície emissora (papel ou metal). Vide Pirkl (Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010, 397(8), 3311). A observação de traços de cátions de radical molecular ( $M^{\bullet+}$ ) sugere que um componente secundário de ionização ocorre por simples ionização em campo. Os produtos mais notáveis são  $[M+N]^+$  e  $[2M+N-2H]^+$ . A reação principal, que leva ao último, formalmente envolve  $N^+$  líquido além de um alcano, conforme mostrado nas Figuras 2, 3A e 3B, 9, e 10. Isto representa uma substituição sem precedentes na ligação C-C (ou C-H) de um alcano.

Os experimentos de múltiplos estágios (MS/MS e MS) forneceram informações sobre a natureza dos íons  $[M+N]^+$ . Os dados MS/MS exibiram principalmente eliminações de alceno (Figura 4A), uma fragmentação altamente característica para compostos de alquil de cadeia longa, sejam funcionalizados ou não. Os dados MS forneceram acesso a íons de massa inferior e mostraram resultados surpreendentes adicionais tipificados pelos dados na Figura 4B. Outra fragmentação de qualquer um dos íons gerados por perda de alceno a partir do precursor  $[M+N]^+$  (isto é, de seus homólogos inferiores  $[M+N]^+$ ) ocorre por perda de aminas de alquil com tamanho específico para fornecer cátions de alquenil com uma faixa estreita de pequenos números de carbono. Os dados MS indicam a posição da inserção de nitrogênio, mostrando uma forte preferência pela inserção C-6 a C-9. Um possível mecanismo para a fragmentação é mostrado conforme a Figura 5 para um espectro representativo MS (que envolve o íon intermediário de  $m/z$  226).

Sem se ater a nenhuma teoria ou mecanismo de ação, esses dados sugerem a inserção de nitrogênio em ligações C-C que se situam próximas, mas não nas extremidades da cadeia de n-alcano. A especificidade de sítio da inserção de nitrogênio sugere um N-

doador iônico ao invés de radical livre (tal com o radical azida; Continetti et al., J. Chem. Phys. 1993, 99, 2616). Os íons principais gerados em uma descarga de nitrogênio em pressão atmosférica são  $N_3^+$  e  $N_4^{+*}$  (Dzidic et al., Anal. Chem. 1976, 48, 1763). Isto leva ao propósito de que a reação primária com alcanos envolve a inserção  $N^+$  a partir de um íon de azida com eliminação de dinitrogênio.

O papel da alta tensão não é simplesmente gerar uma descarga corona na atmosfera de nitrogênio. Essas descargas são frequentemente geradas e não há uma reatividade associada. O nitrogênio também pode participar de uma reação química com o analito. O nitrogênio age como um agente de ionização química, e o alcano é ativado pelo campo elétrico, permitindo que este seja submetido à reação com o nitrogênio ionizado. Aparentemente, é provável que a presença de um campo elétrico alto no ponto do material onde a amostra é colocada seja responsável pela inserção do íon atômico de nitrogênio; em outras palavras, o processo não é puramente uma reação em fase gasosa. Em modalidades preferenciais, a cera é colocada na ponta do material uma vez que este não seja móvel nem seja um solvente para mobilizá-lo.

Sem se ater a nenhuma teoria ou mecanismo de ação, propõe-se experimentalmente que as ceras não-voláteis sejam ativadas em campo enquanto são fisissorvidas ao substrato onde elas são fortemente polarizadas pelos campos elétricos terminais fortes. Sugere-se, ainda, que os alcanos ativados em campo reajam com o doador  $N$ ,  $N_3^+$ . A evidência para o papel do campo elétrico resulta a partir desses fatos (i) a reação não ocorre com outros compostos testados - por exemplo, peptídeos, colesterol, cocaína etc. (ii) a reação é favorecida em alcanos pesados em relação a alcanos leves (isto pode contribuir para a diminuição do envelope em massa inferior na Figura 3A) (iii) a ocorrência de íons diméricos suporta um mecanismo mediado por superfície. Propõe-se que a molécula de alcano fisissorvida seja polarizada pela carga no papel, levando a cargas induzidas na molécula conforme representado na Figura 6. Em determinados casos, os íons diméricos podem ser formados. Vide a Figura 7.

O sítio favorecido de ataque de cátion de azida estará na extremidade da molécula mais próximo ao papel devido à magnitude da carga induzida na molécula de alcano (Lor-

quet, *Mol. Phys.* 1965, 9, 101; e Lorquet, *J. Phys. Chem.* 1969, 73, 463). Os fatores estéricos provavelmente contribuem para que o sítio de reação favorecido fique a certa distância da terminação de cadeia. Aparentemente, não há dados termoquímicos no cátion de azida e nenhum caso de sua reatividade iônica/molecular. Os análogos mais próximos à inserção N<sup>+</sup> em uma ligação C-H ou C-C de alcano envolvem química iônica atômica em fase gasosa de metal leve (Schwarz et al., *Pure Appl. Chem.* 2000, 72, 2319; e Gord et al., *J. Chem. Phys.* 1989, 91, 7535). Nota-se que o intermediário gerado na reação de inserção C-C proposta é um íon de nitrênio, uma classe altamente reativa de intermediários de interesse atual considerável (Novak et al., *J. Phys. Org. Chem.* 1998, 11, 71).

10 Os dados MS/MS sobre os íons diméricos (Figuras 11-13) fornecem suporte ao mecanismo de ativação em campo proposto acima. A inserção de N<sup>+</sup> em intercadeia com a eliminação de H<sub>2</sub> para fornecer um íon de nitrênio reticulado é proposta como sendo responsável pela formação dos íons diméricos. Esta reação é proposta como sendo seguida pela redistribuição a um aduto de amônio estável que se fragmenta mediante a ativação com eliminação de alceno para formar um produto [M+N]<sup>+</sup> de massa inferior.

15 Discutiu-se que a utilização efetiva de recursos de petróleo requer rastrear carbono através das várias formas químicas que ocorrem no curso do processamento de petróleo. Esta tarefa complexa, referida como agrupamento orientado por estrutura (Jaffe et al., *Ind. Eng. Chem. Res.* 2005, 44, 9840) envolve monitorar o 'orçamento de carbono' e requer recursos significativos em termos de metodologia analítica que são justificadas pelo valor econômico do conhecimento adquirido. A dificuldade de analisar os alcanos com alto peso molecular por espectrometria de massa é um impedimento para a implementação completa desta tarefa. Estes compostos podem ser ionizados através de dois métodos: sendo comumente usado o método de dessorção em campo venerável (FD). Este método manualmente intensivo requer que uma solução da amostra seja pingada sobre um emissor dendrítico fino ao qual se aplica um potencial à medida que o mesmo é aquecido em vácuo para criar íons. O método alternativo é o método de ionização de elétrons de feixe molecular elegante de Amirav (Granota et al., *Int. J. Mass Spectrom.* 2005, 244, 15). Ambos os métodos fornecem dados reproduzíveis, porém, ambos envolvem a ionização em vácuo e, logo, carece da sim-

plicidade do procedimento descrito no presente documento. Aparentemente, a metodologia de inserção de  $N^+$  descrita neste documento terá propriedades complementares e uma utilidade prática.

#### Coleção de íons

5 Os sistemas e métodos para coleta de íons que foram analisados por um espectrômetro de massa são mostrados em Cooks, (patente U.S. número 7.361.311), estando o conteúdo desta aqui incorporado em sua totalidade a título de referência. Em geral, a preparação de arranjos de microchips de moléculas primeiramente envolve a ionização de moléculas de analito na amostra (sólida ou líquida). As moléculas podem ser ionizadas por qual-  
10 quer um dos métodos discutidos anteriormente. Então, os íons são separados com base em sua razão entre massa/carga ou  $e$ , sua mobilidade, ou tanto na razão entre massa/carga como na mobilidade. Por exemplo, os íons podem ser acumulados em um dispositivo de armazenamento de íon, tal como uma armadilha iônica quadrupolar (armadilha de Paul, incluindo as variantes conhecidas como a armadilha iônica cilíndrica e a armadilha iônica line-  
15 ar) ou uma armadilha de ressonância ciclotron (ICR). Seja dentro deste dispositivo ou usando um analisador de massa separado (tal como um filtro de massa quadrupolar, setor magnético ou tempo de voo), os íons armazenados são separados com base em razões entre massa/carga. Uma separação adicional pode se basear na mobilidade utilizando-se dispositivos de deslocamento de íons ou os dois processos podem ser integrados. Os íons separa-  
20 dos são, então, depositados em um microchip ou substrato em pontos ou locais individuais de acordo com sua razão entre massa/carga ou em sua mobilidade para formar um microarranjo.

Para obter isto, o microchip ou substrato é movido ou varrido nas direções x-y e pa-  
rado em cada local durante um período de tempo predeterminado para permitir que o depó-  
25 sito de um número suficiente de moléculas forme um local tendo uma densidade predeter-  
minada. Alternativamente, os íons de fase gasosa podem ser direcionados eletrônica ou magneticamente a diferentes locais sobre a superfície de um chip ou substrato estacionário. As moléculas são preferencialmente depositadas sobre a superfície com a preservação de sua estrutura, ou seja, elas são aterrissadas suavemente. Dois fatos tornam provável que a

dissociação ou desnaturação em aterrissagem possam ser evitadas. As superfícies adequadas para uma aterrissagem suave são superfícies quimicamente inertes que podem remover de modo eficiente a energia vibratória durante a aterrissagem, mas que permitirão a identificação espectroscópica. As superfícies que promovem a neutralização, a reidratação ou tendo outras características especiais também podem ser usadas para uma aterrissagem suave de proteína.

Em geral, a superfície para a aterrissagem de íons fica localizada atrás da montagem de detector do espectrômetro de massa. No modo de detecção de íons, as altas tensões sobre o dínodo de conversão e o multiplicador são ligadas e os íons são detectados para permitir que qualidades espectrais gerais, a relação entre sinal e ruído e a resolução de massa ao longo da faixa de massa completa sejam examinados, as tensões sobre o dínodo de conversão e o multiplicador são desligadas e os íons são permitidos passar através do orifício na montagem de detecção para alcançar a superfície de aterrissagem da placa (tal como uma placa de ouro). A superfície é aterrada e a diferença de potencial entre a origem e a superfície é de 0 volts.

Um substrato exemplificador para uma aterrissagem suave é um substrato de ouro (20 mm x 50 mm, International Wafer Service). Este substrato pode consistir em uma pastilha de Si com uma camada de adesão de cromo de 5 nm e 200 nm de ouro depositado em vapor policristalino. Antes de ser usado para a aterrissagem de íons, o substrato é limpo com uma mistura de  $H_2SO_4$  e  $H_2O_2$  em uma razão de 2:1, lavado vigorosamente com água deionizada e etanol absoluto, e, então, seca a 150°C. Uma máscara de Teflon, 24 mm x 71 mm com um furo de 8 mm de diâmetro no centro, é usada para revestir a superfície de ouro de modo que somente uma área circular com um diâmetro de 8 mm sobre a superfície de ouro fique exposta ao feixe de íons para uma aterrissagem suave de íons de cada feixe de íons selecionado por massa. A máscara de Teflon também é limpa com 1:1 de MeOH:H<sub>2</sub>O (v/v) e seco em uma temperatura elevada antes do uso. A superfície e a máscara são fixadas em um retentor e a área superficial exposta é alinhada ao centro do eixo geométrico óptico de íon.

Pode-se usar qualquer período de tempo para a aterrissagem dos íons. Entre cada

aterrissagem de íon, o instrumento é ventilado, a máscara de Teflon é movida para expor uma área superfície nova, e o retentor de superfície é realocado para alinhar a área alvo com o eixo geométrico óptico de íon. Após a aterrissagem suave, a máscara de Teflon é removida da superfície.

5            Em outra modalidade, pode-se usar uma armadilha iônica linear como um componente de um instrumento de aterrissagem suave. Os íons viajam através de um capilar aquecido em uma segunda câmara através de guias de íon em câmaras de aumento de vácuo. Os íons são capturados na armadilha iônica linear aplicando-se tensões adequadas aos eletrodos e tensões RF e DC aos segmentos das hastes da armadilha iônica. Os íons  
10 armazenados podem ser radialmente ejetados para detecção. Alternativamente, a armadilha iônica pode ser operada para ejetar os íons de massa selecionada através do guia de íon, através de uma placa sobre a placa de microarranjo. A placa pode ser inserida através de um sistema de válvula com porta mecânica sem ventilar todo o instrumento.

            As vantagens da armadilha iônica quadrupolar linear em relação à armadilha iônica  
15 de Paul padrão incluem uma capacidade de armazenamento de íons aumentada e a capacidade de ejetar íons tanto axial como radialmente. As armadilhas iônicas lineares fornecem uma resolução unitária a pelo menos 2000 Thomson (Th) e têm capacidades de isolar íons de uma única razão entre massa/carga e, então, realizar uma excitação e uma dissociação subsequentes a fim de registrar um produto de MS de íon/MS de espectro. A análise de  
20 massa será realizada utilizando-se métodos de forma de onda ressonante. A faixa de massa da armadilha linear (2000 Th ou 4000 Th, mas ajustável para 20.000 Th) permitirá a análise de massa e uma aterrissagem suave da maioria das moléculas de interesse. No instrumento de aterrissagem suave descrito anteriormente, os íons são introduzidos axialmente nas hastes do filtro de massa ou nas hastes da armadilha iônica. Os íons também podem ser radi-  
25 almente introduzidos na armadilha iônica linear.

            Os métodos de operação dos instrumentos de aterrissagem suave descritos anteriormente e outros tipos de analisadores de massa para aterrissar suavemente íons de diferentes massas em diferentes locais em um microarranjo serão descritos agora. Os íons do analito funcionalizado a partir da amostra são introduzidos no filtro de massa. Os íons de

razão entre massa e carga selecionada serão filtrados por massa e aterrissados suavemente sobre o substrato durante um período de tempo. Então, os ajustes de filtro por massa serão varridos ou escalonados e os movimentos correspondentes na posição do substrato permitirão a deposição dos íons em posições definidas sobre o substrato.

5 Os íons podem ser separados em tempo de modo que os íons cheguem e aterrissem sobre a superfície em momentos diferentes. Enquanto isto é realizado, o substrato está sendo movido para permitir que os íons separados sejam depositados em diferentes posições. Um disco giratório é aplicável, especialmente quando o período de rotação corresponder ao ciclo de funcionamento do dispositivo. Os dispositivos aplicáveis incluem o tempo de voo e o tubo de deslocamento de mobilidade iônica linear. Os íons também podem ser direcionados a diferentes locais em uma superfície fixa por campos elétricos ou magnéticos de varredura.

Em outra modalidade, os íons podem ser acumulados e separados utilizando-se um único dispositivo que atua tanto como um dispositivo de armazenamento de íons como um analisador de massa. Os dispositivos aplicáveis são armadilhas iônicas (Paul, armadilha iônica cilíndrica, armadilha linear, ou ICR). Os íons são acumulados seguidos por uma ejeção seletiva dos íons para aterrissagem suave. Os íons podem ser acumulados, isolados como íons de razão entre massa e carga selecionada, e, então, aterrissados suavemente sobre o substrato. Os íons podem ser acumulados e aterrissados simultaneamente. Em outro exemplo, os íons de várias razões entre massa e carga são continuamente acumulados na armadilha iônica, enquanto ao mesmo tempo, os íons de uma razão entre massa e carga selecionada podem ser ejetados utilizando-se SWIFT e aterrissados suavemente sobre o substrato.

Em uma modalidade adicional do instrumento de aterrissagem suave, a mobilidade iônica é usada como um parâmetro adicional (ou alternativo). Como antes, os íons são gerados por uma fonte de ionização adequada, tal como aquela descrita no presente documento. Os íons são, então, submetidos à separação pneumática utilizando-se um fluxo de ar transversal e um campo elétrico. Os íons se movem através de um gás em uma direção estabelecida pelas forças combinadas do fluxo de gás e pela força aplicada pelo campo elétri-

co. Os íons são separados em tempo e espaço. Os íons com uma mobilidade maior chegam na superfície mais cedo e aqueles com uma mobilidade menor chegam na superfície mais tarde em espaços ou locais sobre a superfície.

O instrumento pode incluir uma combinação dos dispositivos descritos para a separação e a aterrissagem suave de íons de diferentes massas em diferentes locais. Duas dessas combinações incluem um armazenamento de íons (armadilhas iônicas) mais uma separação em tempo (TOF ou tubo de deslocamento de mobilidade iônica) e um armazenamento de íons (armadilhas iônicas) mais uma separação em espaço (setores ou separador de mobilidade iônica).

É desejável que a estrutura do analito seja mantida durante o processo de aterrissagem suave. A estratégia para manter a estrutura do analito mediante a deposição envolve manter a energia de deposição baixa para evitar a dissociação ou a transformação dos íons quando eles aterrissarem. Isto precisa ser feito, enquanto ao mesmo tempo, minimiza o tamanho do local. Outra estratégia consiste em selecionar por massa e aterrissar suavemente uma forma incompletamente dessolvatada da molécula ionizada. A hidratação extensiva não é necessária para que as moléculas mantenham suas propriedades de fase de solução em fase gasosa. Os íons moleculares hidratados podem ser formados por eletroaspersão e separados enquanto ainda estiverem “úmidos” para uma aterrissagem suave. A superfície do substrato pode ser uma superfície “úmida” para uma aterrissagem suave, isto incluiria uma superfície com apenas uma monocamada de água. Outra estratégia consiste em hidratar a molécula imediatamente após a separação por massa e antes da aterrissagem suave. Vários tipos de espectrômetros de massa, incluindo a armadilha iônica linear, permitem reações iônicas/moleculares incluindo reações de hidratação. Pode ser possível controlar o número de moléculas de água de hidratação. Outras estratégias adicionais consistem em desprotonar os íons selecionados por massa utilizando-se reações iônicas/moleculares ou iônicas/iônicas após a separação, mas antes da aterrissagem suave, para evitar reações iônicas/superficiais indesejadas ou se protonar em um grupo de derivatização de sacrifício que é subsequentemente perdido.

Diferentes superfícies são propensas a serem mais ou menos adequadas para uma

aterrissagem suave bem-sucedida. Por exemplo, as superfícies quimicamente inertes que podem remover de modo eficiente a energia vibratória durante a aterrissagem podem ser adequadas. As propriedades das superfícies também determinarão quais tipos de identificação espectroscópica in situ são possíveis. Os íons podem ser aterrissados suavemente diretamente sobre os substratos adequados para MALDI. De modo similar, uma aterrissagem suave sobre superfícies SERS ativa deve ser possível. Um MALDI in situ e uma espectrometria de massa iônica secundária podem ser realizadas utilizando-se um analisador de massa bidirecional, tal como uma armadilha linear como o analisador de massa na etapa de deposição de íons e, também, na etapa de análise de material depositado.

10 Em outra modalidade, os íons podem ser coletados no ambiente (pressão ambiente, mas ainda sob vácuo) sem uma análise de massa (Vide os exemplos no presente documento). Os íons coletados podem, então, ser subsequentemente analisados através de qualquer técnica adequada, tal como espectrometria infravermelha ou espectrometria de massa.

#### 15 Incorporação a título de referência

Toda e qualquer referência e citação a outros documentos, tais como patentes, pedidos de patente, publicações de patente, jornais, livros, documentos, conteúdos da web, que foram feitas ao longo desta revelação se encontram aqui incorporadas em suas totalidades a título de referência para todos os propósitos.

#### 20 Equivalentes

A invenção pode ser incorporada em outras formas específicas sem divergir do espírito ou das características essenciais da mesma. Portanto, as modalidades anteriores devem ser consideradas em todos os aspectos ilustrativas e não limitantes à invenção descrita no presente documento.

#### 25 Exemplos

##### Exemplo 1: Análise de alcanos utilizando-se espectrometria de massa

Um espectrômetro de massa LTQ Finnigan (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA) foi usado para os experimentos de baixa resolução e um Orbitrap LTQ disponível junto à mesma companhia foi usado para medições de alta resolução. As condições instrumen-

tais, exceto onde especificado em contrário, foram as seguintes. Temperatura de capilar de entrada: 200°C; tensão de capilar aquecido: 15 V; tensão de lente do tubo: 65V. A configuração experimental para ionização a partir do papel era similar àquela descrita em uma publicação anterior (Wang et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 877) exceto pelo fato de que o solvente não foi usado e o papel foi colocado dentro da câmara aquecida fechada do LTQ normalmente usado para experimentos de ionização química em pressão atmosférica. A câmara foi preenchida com gás nitrogênio aquecido até cerca de 350°C. Os solventes e outros produtos químicos, incluindo alcanos puros, foram adquiridos junto a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), e foram usados sem uma purificação adicional. O substrato de papel era um papel cromatográfico de Grau 1 adquirido junto a Whatman (Maidstone, Inglaterra). Polywax 1000 foi adquirido junto a Restek Corporation (110 Benner Circle, Bellefonte, PA). A caracterização de cromatografia gasosa/detecção de ionização de chama (FID) de Polywax 1000 (dados junto a Restek) é mostrada na Figura 8. Observa-se uma distribuição assimétrica; o sinal mais intenso na distribuição ponderada para intensidade ocorre aproximadamente em C<sub>94</sub> enquanto a maior intensidade absoluta ocorre em C<sub>86</sub>. O padrão qualitativo de óleo bruto ASTM® D5307 foi adquirido junto a Sigma-Aldrich. Este tem 16 alcanos com quantidades iguais de cada componente, conforme mostrado na Tabela 3.

Tabela 3

Padrão qualitativo de óleo bruto ASTM D5307		Peso molecular	M-1	M+14
Decano	6,25%	142	141	156
Undecano	6,25%	156	155	170
Dodecano	6,25%	170	169	184
Tridecano	6,25%	184	183	198
Tetradecano	6,25%	198	197	212
Pentadecano	6,25%	212	211	226
Hexadecano	6,25%	226	225	240
Heptadecano	6,25%	240	239	254
Octadecano	6,25%	254	253	268
Elcosano	6,25%	282	281	296

Tetracosano	6,25%		338		337	352
Octacosano	6,25%		394		393	408
Dotriacontano	6,25%		450		449	464
Hexatriacontano	6,25%		506		505	520
Tetracontano	6,25%		562		561	576
Tetratetracontano	6,25%		618		617	632

### Exemplo 2: Configurações de sistema alternativas

As Figuras 14-15 mostram configurações de sistema alternativas àquelas descritas anteriormente no Exemplo 1 para análise de alcanos. A Figura 14 mostra uma configuração de sistema para uso ao ar livre quente. O método usa um aquecimento em cerca de 300°C e opera em ar. O resultado são espectros dominados por íons  $[M-H]^+$  e também incluem vários produtos de oxidação.

A Figura 15 mostra uma configuração de sistema que envolve descarga em arco assistida por malha. Este método usa aquecimento e opera em ar, mas a amostra se encontra em uma malha de aço inoxidável, não em papel. Esta foi bem sucedida para alcanos leves e de comprimento médio. Uma configuração de sistema para conduzir uma técnica de descarga em arco é descrita em Li (Analyst, 135, 2010, 688-695).

Os principais recursos dos dados para cada um dos três métodos experimentais são: i) Aspersão em papel em uma câmara aquecida, atmosfera  $N_2$ , eletricamente aquecida a aproximadamente 400°C para n-alcanos maiores ( $> C_{28}$ ), fornece  $[M+14]^+$  em outras palavras,  $[M+N]^+$  e  $[M+12]^+$ , em outras palavras,  $[M+N-2H]^+$ , bem como alguns íons diméricos  $[2M+N-yH]^+$  onde  $y = 1$  e  $4$  (configuração de sistema descrita no Exemplo 1). A reação principal envolve formalmente uma transferência líquida de  $N^+$  para gerar os íons  $[M+N]^+$  conforme mostrado nas Figuras 2, 9, e 10. Isto representa uma substituição C-H ou C-C sem precedentes, conforme discutido mais adiante, ii) Aspersão em papel ao ar livre utilizando-se uma pistola de calor em uma temperatura de 300°C, para alcanos de tamanho médio fornece principalmente  $[M-H]^+$ ; acompanhado por várias espécies oxigenadas, conforme mostrado na Figura 16. iii) Descarga em malha ao ar livre, utilizando-se uma malha de aço inoxidável, uma pistola de calor, para hidrocarbonetos leves e médios.

A Figura 9 mostra a formação da característica de íons  $[M+14]^+$  e  $[2M+N-2H]^+$  a partir de um único n-alcano,  $C_{40}H_{82}$ . Além dos íons principais, também existem íons secundários. Eles incluem  $[M+N+23]^+$ , provavelmente como resultado da incorporação de sódio. A amostra de óleo (Tabela 3) fornece a distribuição esperada de alcanos inferiores (Figura 10) bem como alguns pequenos picos devido à dimerização em massa superior quando examinados por métodos conduzidos com gás nitrogênio aquecido. Uma vista expandida da amostra de óleo bruto (Figura 17) indica a presença de uma variedade e íons secundários, dentre os quais o cátion de radical,  $M^{+\cdot}$  é de maior interesse.

Outro recurso de interesse em espectros de alceno é a presença em massa muito baixa de cátions de alquil e alquenil, conforme observado para a amostra de Polywax na Figura 18. Os cátions de alquil  $C_4$  a  $C_8$  abundantes e íons de alquenil poderiam servir como os íons reagentes na ionização química em pressão atmosférica dos alcanos de cadeia longa vaporizados.

O método de aquecimento ao ar livre foi bem sucedido para o alceno  $C_{32}$ , fornecendo íons  $[M-H]^+$  proeminentes em  $m/z$  449, 393, 337 e 281 (Figura 10). Existem dados na literatura indicando que os íons  $[M-H]^+$  podem ser formados por transferência iônica de hidreto para gerar carbocátions; isto pode ocorrer na superfície de emissores de campo ou por adsorção iônica induzida em campo de compostos insaturados. A origem dos íons  $[M-H]^+$  também foi atribuída à ionização em campo combinada com a transferência de hidrogênio a partir das moléculas aos sítios de radical da superfície emissora.

A espécie dominante observada depende das condições experimentais, que podem ser ajustadas para favorecer  $[M-H]^+$  ou  $[M+N]^+$  conforme indicado. Se a formação dessas espécies for controlada pelo tamanho dos alcanos ao invés de por condições experimentais, então, em algum tamanho de alceno, devem-se observar ambos os tipos de íons no mesmo espectro. No entanto, esta situação não foi encontrada. As espécies secundárias incluem  $M^{+\cdot}$  (vista, por exemplo, em  $C_{20}$ - $C_{44}$ , bem como os íons diméricos já mencionados). O processo de formação de  $[M-H]^+$ , incluindo os experimentos com alcanos rotulados, sugerem que este íon não seja gerado a partir de cátions de alquil de baixa massa observados nos espectros de massa por reações iônicas/moleculares. A alternativa lógica a um processo

iônico/molecular para formação de  $[M-H]^+$  é um processo de ionização/dessorção em campo. Seguindo Rollgen, a origem do  $[M-H]^+$  foi atribuída à dessorção em campo que envolve a transferência de prótons à superfície emissora. A observação de trações de cátions de radical molecular ( $M^+$ ) sugere que um componente secundário de ionização ocorre por ionização em campo simples. Sob estas condições, também não existem moléculas protonadas.

No método de descarga em arco, ao invés de aplicar um potencial ao substrato no qual a amostra de hidrocarboneto é colocada, a amostra pode ser colocada em uma malha de aço e uma agulha corona pode ser usada para induzir uma descarga. Utilizando-se este método de descarga em arco aqui descrito, obtêm-se dados bastante similares com incorporação de átomo de nitrogênio nos alcanos. Vide a Figura 30.

Outra configuração de sistema é mostrada na Figura 19. Esta figura mostra uma configuração de sistema que usa um substrato não-poroso. Um material não-poroso exemplificador é um metal, tal como alumínio. O substrato é conectado a uma fonte de alta tensão e o alcano (por exemplo, cera) é aplicado ao substrato. A amostra é, então, aquecida sobre o substrato para produzir íons do alcano. A Figura 20 mostra o espectro de massa de  $n\text{-C}_{15}\text{H}_{32}$  registrado a partir da folha de alumínio em atmosfera  $\text{N}_2$  a  $200^\circ\text{C}$ , 3 kV, corrente de descarga 4,65  $\mu\text{A}$ , utilizando-se LTQ e mostrando  $[M+N]^+$  e  $[2M+N]^+$ ,  $M = \text{C}_{15}\text{H}_{32}$ .

### Exemplo 3: Composição e estrutura iônica

Utilizaram-se medições de massa exatas para confirmar as estruturas dos íons principais gerados pelos métodos da invenção utilizando-se gás nitrogênio aquecido. Experimentos de espectrometria de massa em tandem e MS foram usados para obter informações adicionais sobre esses íons. Os dados são mostrados nas Figuras 21 a 25. Os dados MS/MS são discutidos na descrição detalhada. A faixa de massa inferior não pode ser observada na armadilha iônica, mas a região superior mostra produtos de eliminação de alceno com picos em intervalos de 14 Da (Figura 21). Os íons de massa inferior são acessíveis em experimentos MS e aqueles para alcano  $\text{C}_{40}\text{H}_{82}$  representativo mostram que os produtos intermediários de eliminação de alceno,  $m/z$  198, 226, 254, e 296, todos apresentam um comportamento similar em (i) não submetê-los à eliminação de alceno e (ii) em fornecer um pequeno conjunto de íons de alquênil de massa inferior (Figuras 22-25). O primeiro fato indi-

ca que as perdas de alceno observadas nos espectros MS/MS são provavelmente consideráveis devido a fragmentos neutros púnicos ao invés de uma série de perdas sucessivas. O segundo fato indica que os fragmentos de íons intermediários selecionados com perda de nitrogênio e seu comportamento são mais bem acomodados assumindo que a inserção N<sup>+</sup> original ocorreu próxima à extremidade da cadeia de alquil para criar uma amina N, N-alquil alquenil. A fragmentação desses íons por perda de uma amina de alquil fornece o cátion de alquenil, sendo que o comprimento deste indica a posição de inserção de nitrogênio. Os dados indicam uma forte preferência por C<sub>6</sub> a C<sub>9</sub> de inserção N. Um mecanismo possível para a fragmentação em um caso MS representativo (aquele de m/z 226) é mostrado na

5

10 Figura 26.

Logo, os dados sugerem com veemência a inserção de nitrogênio às ligações C-C e que estas ligações se situam próximas às extremidades da cadeia de n-alceno. Isto sustenta a hipótese de que as ligações são ativadas pelo campo elétrico. Evidencia-se também que as espécies reativas responsáveis pela inserção N sejam um íon, presumidamente, o

15 íon de azida, não o radical de azida. Isto leva alguém a propor o mecanismo de ativação de alceno assistida em campo e a inserção de íon de azida mostrados na Figura 27. A molécula de alceno é polarizada pela carga sobre o papel levando a cargas induzidas conforme mostrado. O sítio favorecido de ataque de cátion de azida ocorrerá na extremidade da molécula mais próxima ao papel. Os fatores estéricos provavelmente contribuem para que o sítio de

20 reação favorecido fique a certa distância da terminação de cadeia

#### Exemplo 4: Íons diméricos

O íon [2M+12] é [2M+N-2H]<sup>+</sup> com base em medições HRMS. Este envolveria a transferência de alquil com eliminação de H<sub>2</sub> se ocorresse a partir do monômero em uma reação iônica/molecular. Portanto, um mecanismo que envolve uma reação superficial assistida em campo é mais praticável, conforme mostrado na Figura 28. O íon de azida pode gerar uma nova ligação C-C entre as cadeias ativadas e bem compactadas ou o íon de nitrênio intermediário em uma reação de inserção intercadeia inicial pode reagir com uma cadeia adjacente para gerar o produto. Em qualquer caso, energia adicional será necessária para a dessorção de ambas as unidades que estão de acordo com um aumento em dímero em

25

relação ao produto monomérico à medida que a temperatura é aumentada.

De fato, existem vários íons diméricos,  $[2M+13]^+$  (ca. 10%),  $[2M+12]^+$  (ca. 77%), e  $[2M+10]^+$  (ca. 13%). As abundâncias relativas são dadas após a correção  $^{13}\text{C}$  e servem para o sistema  $\text{C}_{60}\text{H}_{122}$ . Nota-se a formação do cátion de radical  $[2M+N-H]^+$ . Os dados MS/MS (Figuras 11-13) dos íons diméricos seguem o mesmo padrão que os monômeros, mostrando perda de alcenos neutros, que estão de acordo com os tipos de estruturas propostas. Notável é o fato de que as fragmentações são dominadas por fragmentação ao monômero,  $[M+N]^+$  com a perda do alceno neutro.

Exemplos representativos adicionais de incorporação de átomo N bem-sucedida em alcanos menores foram registrados. Algumas vezes nesses casos, o íon dimérico  $[2M+N]^+$  é o pico de base. Um exemplo é mostrado na Figura 29.

#### Exemplo 5: Fontes de átomo de nitrogênio

O íon de produto é formalmente o resultado da inserção de  $\text{N}^+$  em uma ligação C-H ou C-C de um alceno. A reação poderia envolver uma inserção de  $\text{N}^+$  direta a partir de um íon precursor adequado ou uma inserção de átomo N seguida por ionização. O íon de reagente mais abundante em  $\text{N}_2$  em descargas de pressão atmosférica é  $\text{N}_4^{+*}$  com o trímero  $\text{N}_3^+$  também proeminente. Portanto, as causas prováveis para a reação direta são a transferência de  $\text{N}^+$  e a eliminação de  $\text{N}_2$  ou  $\text{N}_3^*$ . A rota de inserção de átomo N provavelmente envolveria o radical de azida como o precursor.

O radical  $\text{N}_3$  tem quase o mesmo calor de formação que  $\text{N}_2$  ( $I\Sigma_g^+$ ) +  $\text{N}$  ( $^4\text{S}$ ) – apenas 0,05 +/- 0,10 eV maior – embora seja cineticamente estável. O cátion  $\text{N}_3^+$  é conhecido a partir de sua ocorrência em descargas de  $\text{N}_2$ , porém, não há química iônica/molecular experimental nem termoquímica na literatura. Não existem dados termoquímicos sobre o cátion de radical  $\text{N}_4^{+*}$ , o outro íon reagente possível, mas pouco provável.

#### Exemplo 6: Modificação química e coleção de ceras

A ativação e funcionalização de ligações C-H alifáticas foram estudadas intensivamente no decorrer das últimas décadas, principalmente através de reações envolvidas com espécies de transição de metal (Lech et al., J. Am. Chem. Soc. 111, 8588 (1989); Schwarz, Pure Appl. Chem. 72, 2319 (2000); e Labinger, Nature 417, 507 (2002). No presente docu-

mento, reporta-se uma estratégia diferente para alcançar uma ativação de ligação C-H seletiva de alcanos saturados para gerar espécies iônicas inseridas por nitrogênio, com a fonte de nitrogênio sendo dinitrogênio quimicamente inerte. As espécies funcionalizadas foram coletadas diretamente em pressão atmosférica à medida que emergiam a partir da fonte de íons sem envolver análise de massa.

As condições otimizadas para ionização de alcano a partir de papel seco em uma atmosfera de nitrogênio foram usadas para produzir os dados mostrados. O experimento foi realizado em uma atmosfera N<sub>2</sub> em uma câmara isolada normalmente usada para ionização química em pressão atmosférica, eletricamente aquecida a 200°C, com um potencial de 5-6 kV aplicado ao papel que segura a amostra. O gás nitrogênio tem uma pureza mínima de 99,9% e foi passado em uma taxa de 5-15 L/min durante a operação. A coleção de íons em pressão atmosférica foi realizada direcionando-se o substrato de papel contendo o hidrocarboneto e flutuado em +5 kV foi direcionado a um substrato de pastilha de Au/Si aterrado (10 mm de distância), em um fluxo de nitrogênio aquecido foi introduzido com uma taxa de fluxo de gás de 10 L/min para manter a atmosfera de nitrogênio. A pastilha de Au/Si foi resfriada utilizando-se nitrogênio líquido para reter as espécies depositadas. Após uma hora de coleção de íons, a pastilha foi deixada aquecer até a temperatura ambiente para medição de FT-IR. A pastilha também foi enxaguada utilizando-se hexano e o efluente enxaguado foi analisado por nanoESI.

Primeiramente, o n-C<sub>18</sub>H<sub>38</sub> foi depositado em quantidades de microgramas como uma película delgada sobre a ponta de um triângulo de papel filtro, e um potencial de 5-6 kV foi aplicado em uma atmosfera de nitrogênio aquecido (ca. 200°C). O espectro de massa resultante foi dominado por apenas dois íons: [M+N]<sup>+</sup> e [2M+N- 2H]<sup>+</sup>, onde M representa o alcano examinado, que é verificado por medições de massa exatas. O sinal [M+N]<sup>+</sup> durou um longo período de tempo (tipicamente > 1 hora) sem uma diminuição notável durante a ionização da cera. Os íons resultantes foram depositados em uma superfície inerte e coletados. Eles foram depositados sobre um substrato de Au em pressão atmosférica sem os íons entrando no espectrômetro de massa. Os espectros nanoESI MS/MS da amostra coletada eram idênticos em todos os aspectos àqueles do íon [M+N]<sup>+</sup> gerado em linha e registrados

durante o evento de ionização (Figura 31). Isto confirma a deposição bem-sucedida das espécies de alcano inseridas por nitrogênio.

O espectro FT-IR da amostra coletada apresentou um novo pico de absorção próximo a  $1714\text{ cm}^{-1}$  (Figura 32), designado como o esticamento C=N de uma cetamina ou aldimina com base na frequência predita a partir de cálculos de RHF desde o início. A falta de eliminação de amônia nos espectros MS/MS de  $[M+N]^+$  de alcanos lineares sugere fortemente que o nitrogênio foi inserido em uma ligação C-C ao invés de uma ligação C-H. A interpretação está de acordo com os dados para inserção N em cicloalcanos, onde a perda de amônia é abundante quando o nitrogênio for inserido em ligações C-H não-terminais.

MS/MS de  $[M+N]^+$  mostrou que o menor fragmento de íon detectado por Orbitrap tinha  $m/z$  de  $58.0656(7)$ , tendo a fórmula de  $C_3H_8N^+$ , também sugerindo que o nitrogênio fica localizado próximo à extremidade da cadeia alifática. Com base na análise anterior, provavelmente, o nitrogênio não é inserido muito seletivamente em ligações C-C quase terminais de alcanos lineares.

## REIVINDICAÇÕES

1. Sistema para analisar uma amostra, o sistema **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

uma sonda que compreende um substrato que afunila em uma ponta, em que o substrato é configurado para segurar a amostra e o substrato é conectado a uma fonte de alta tensão para gerar uma tensão;

um dispositivo de aquecimento para gerar um gás aquecido; e

um espectrômetro de massa que compreende um analisador de massa, em que o sistema é configurado de tal forma que a tensão gerada a partir da fonte de alta tensão e o gás aquecido gerado a partir do dispositivo de aquecimento são simultaneamente aplicados ao substrato a fim de dessorver e ionizar a amostra do substrato e uma entrada do espectrômetro de massa é operacionalmente associada com o substrato para receber íons da amostra.

2. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o gás aquecido é direcionado na sonda.

3. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o gás aquecido é direcionado em uma ponta da sonda.

4. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda uma câmara configurada para abranger a sonda e o dispositivo para gerar o gás aquecido.

5. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o gás é nitrogênio.

6. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o substrato é um material poroso.

7. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o substrato é um material não-poroso.

8. Sistema, de acordo com a reivindicação 7, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o material não-poroso é um metal.

9. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o

espectrômetro de massa é um espectrômetro de massa portátil.

10. Sistema, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o analisador de massa é selecionado a partir do grupo que consiste em: uma armadilha iônica quadrupolar, uma armadilha iônica retilínea, uma armadilha iônica cilíndrica, uma armadilha de ressonância ciclotron iônica, e um orbitrap.

11. Método para analisar uma amostra, o método **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

contatar uma amostra com um substrato que afunila em uma ponta;

10 aplicar simultaneamente alta tensão e calor ao substrato para gerar íons de um analito na amostra que sejam expelidos a partir do substrato; e  
analisar os íons expelidos.

12. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o calor é produzido a partir de um gás aquecido.

15 13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o gás aquecido é direcionado no substrato.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o gás aquecido é direcionado em uma ponta do substrato.

15. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o gás é nitrogênio.

20 16. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o substrato é um material poroso.

17. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o substrato é um material não-poroso.

25 18. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a etapa de aplicar é conduzida dentro de uma câmara confinada.

19. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que analisar compreende proporcionar um analisador de massa para gerar um espectro de massa de analitos na amostra.

20. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que

o método é realizado sob condições ambientes.

21. Método para ionizar uma amostra, o método **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

5 aplicar simultaneamente alta tensão e calor a uma amostra disposta em um substrato que afunila em uma ponta para gerar íons de um analito na amostra.

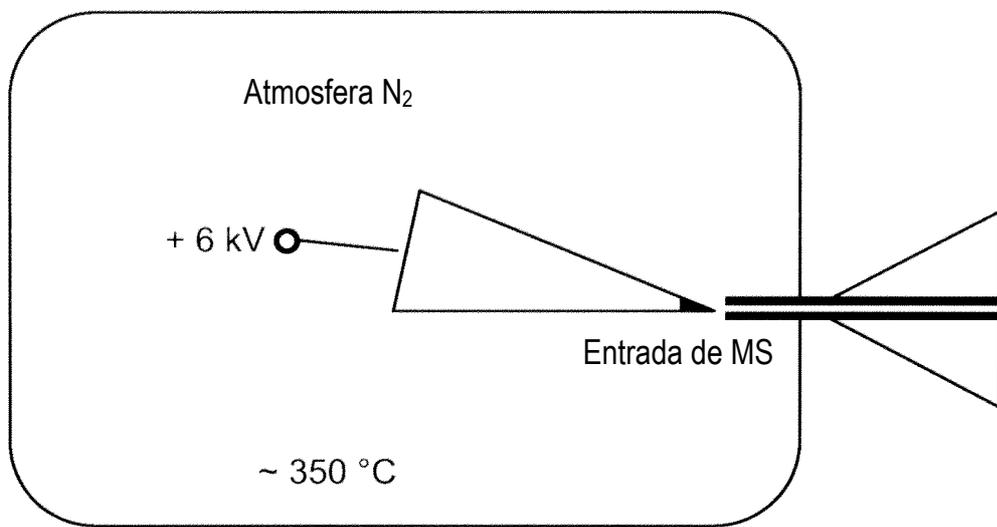
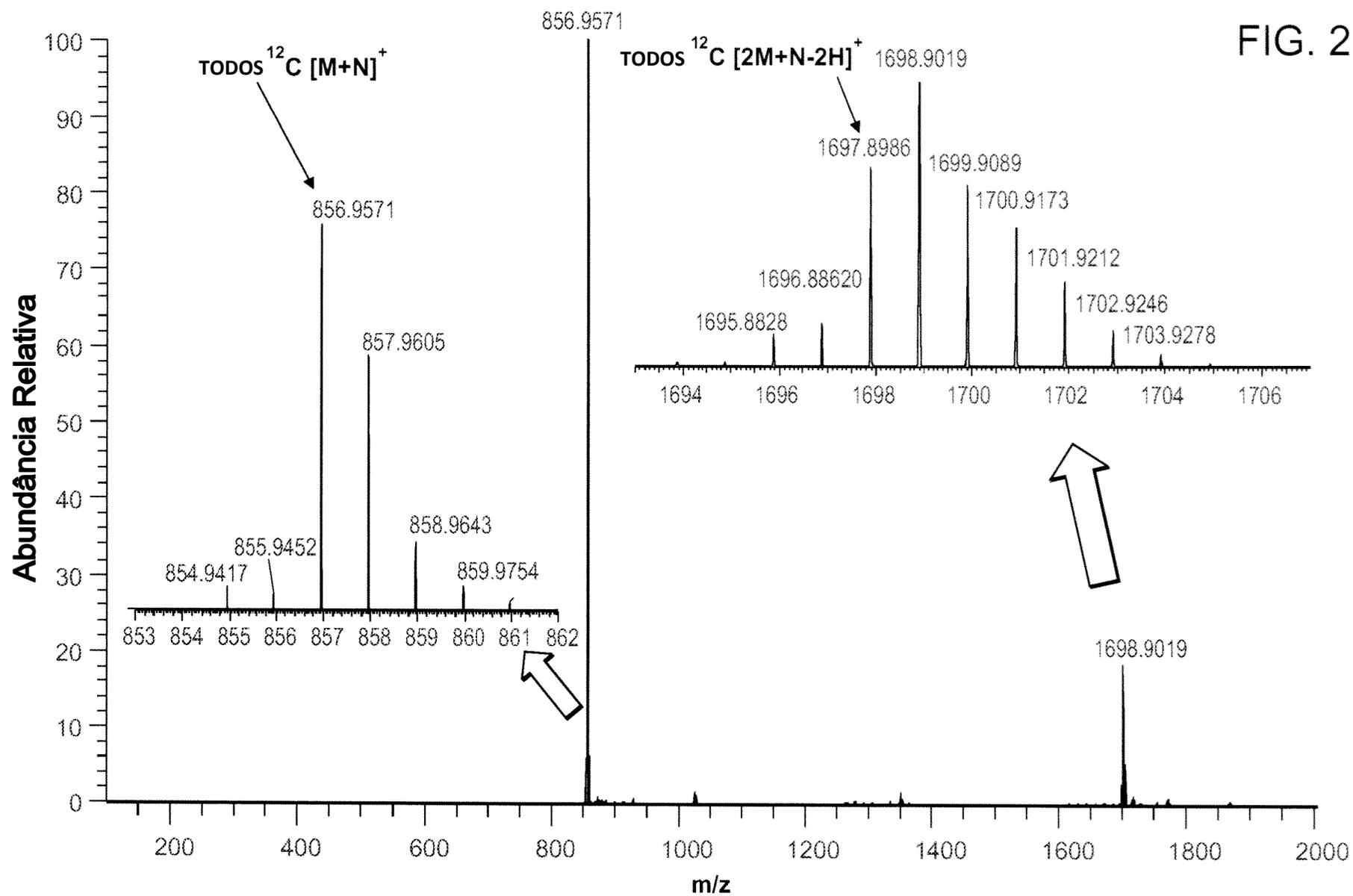


FIG. 1

FIG. 2



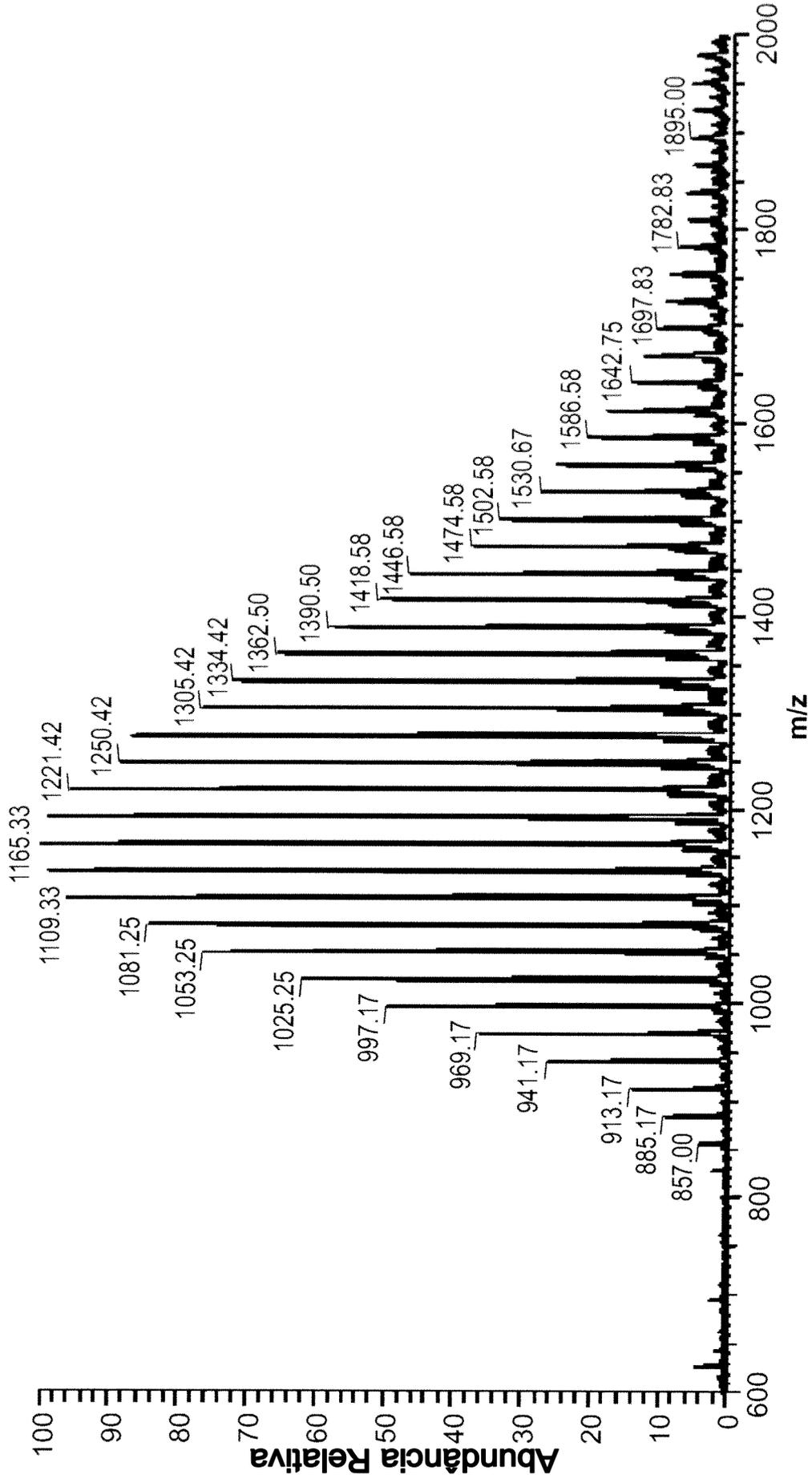


FIG. 3A

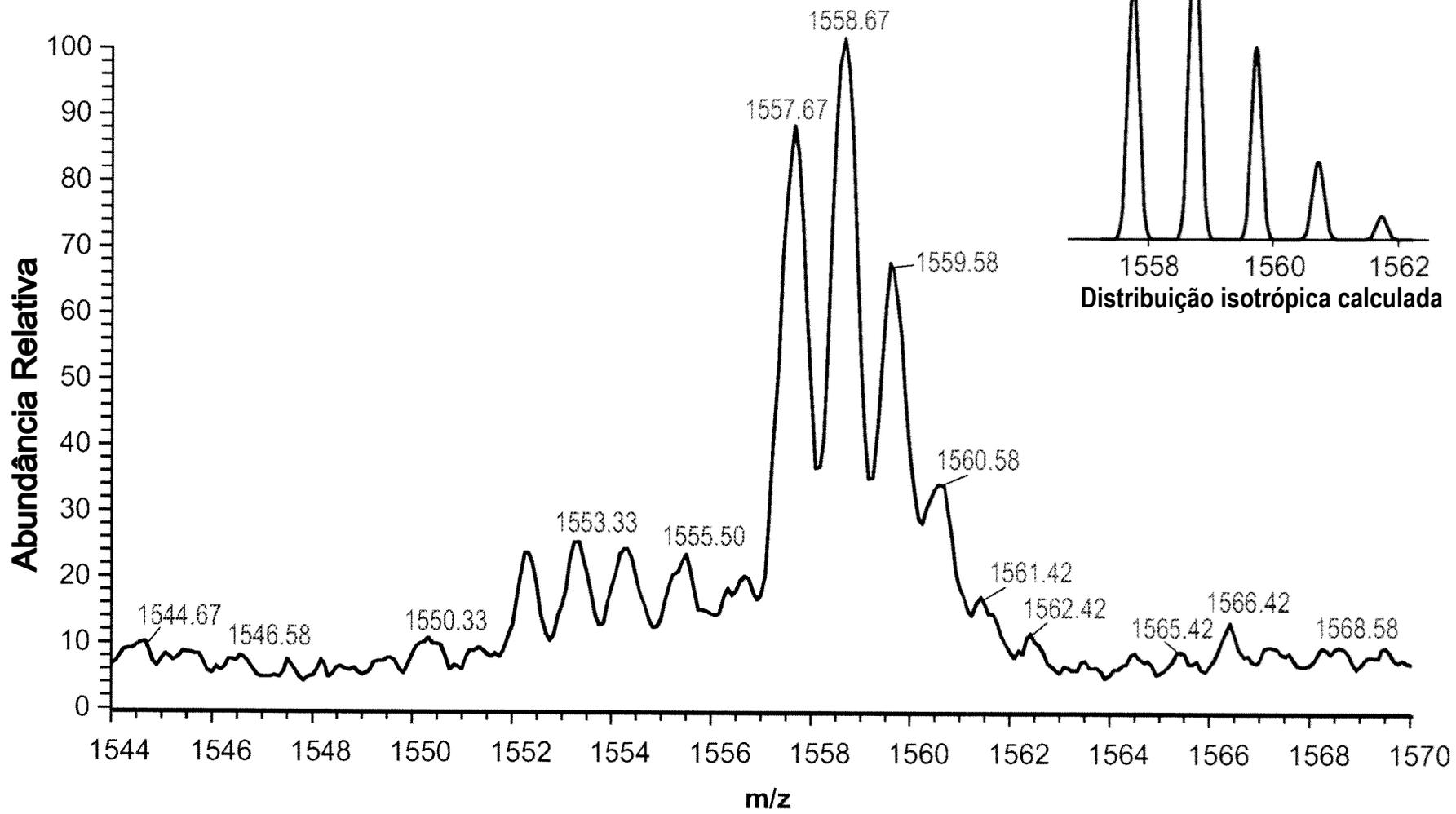


FIG. 3B

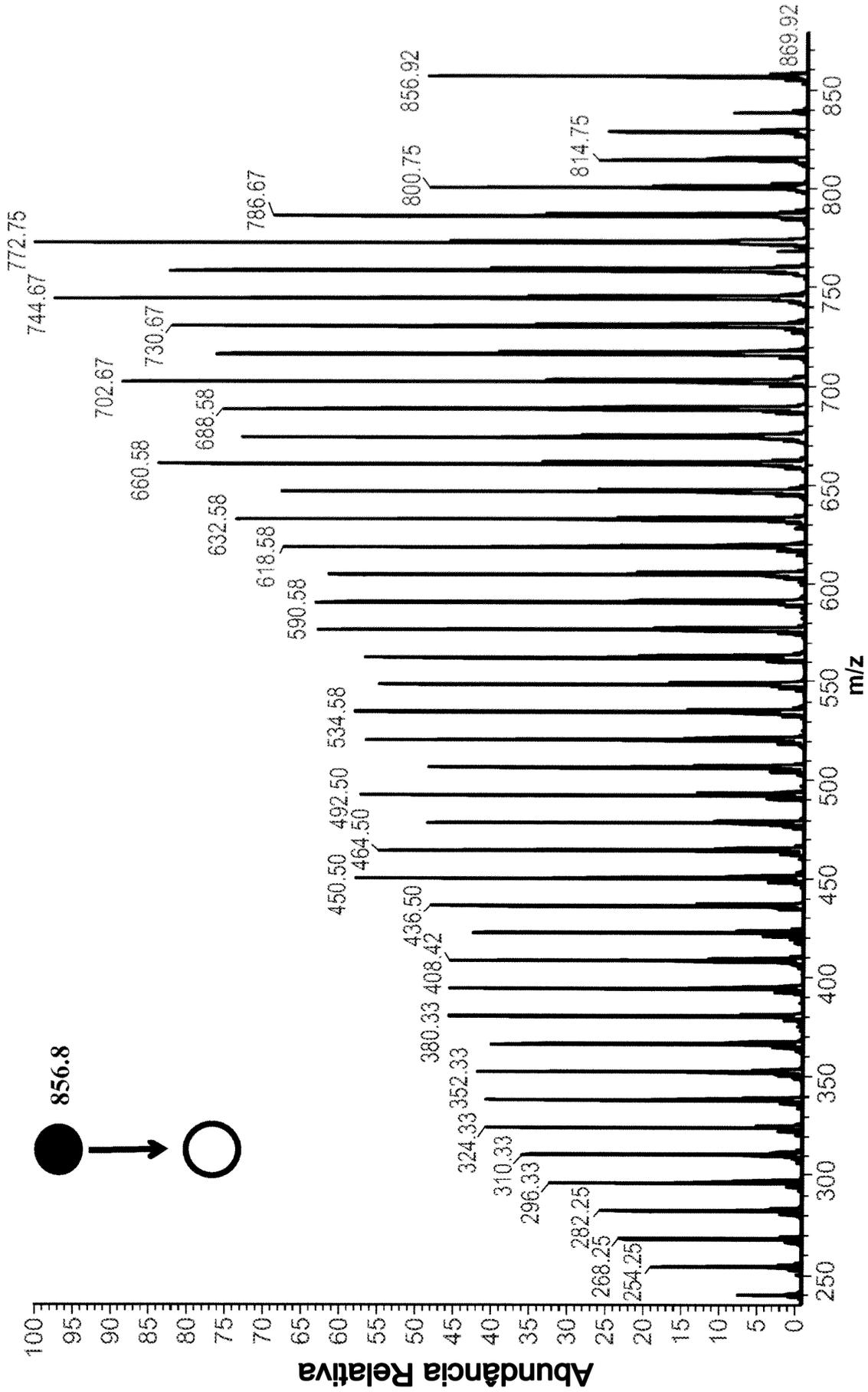


FIG. 4A

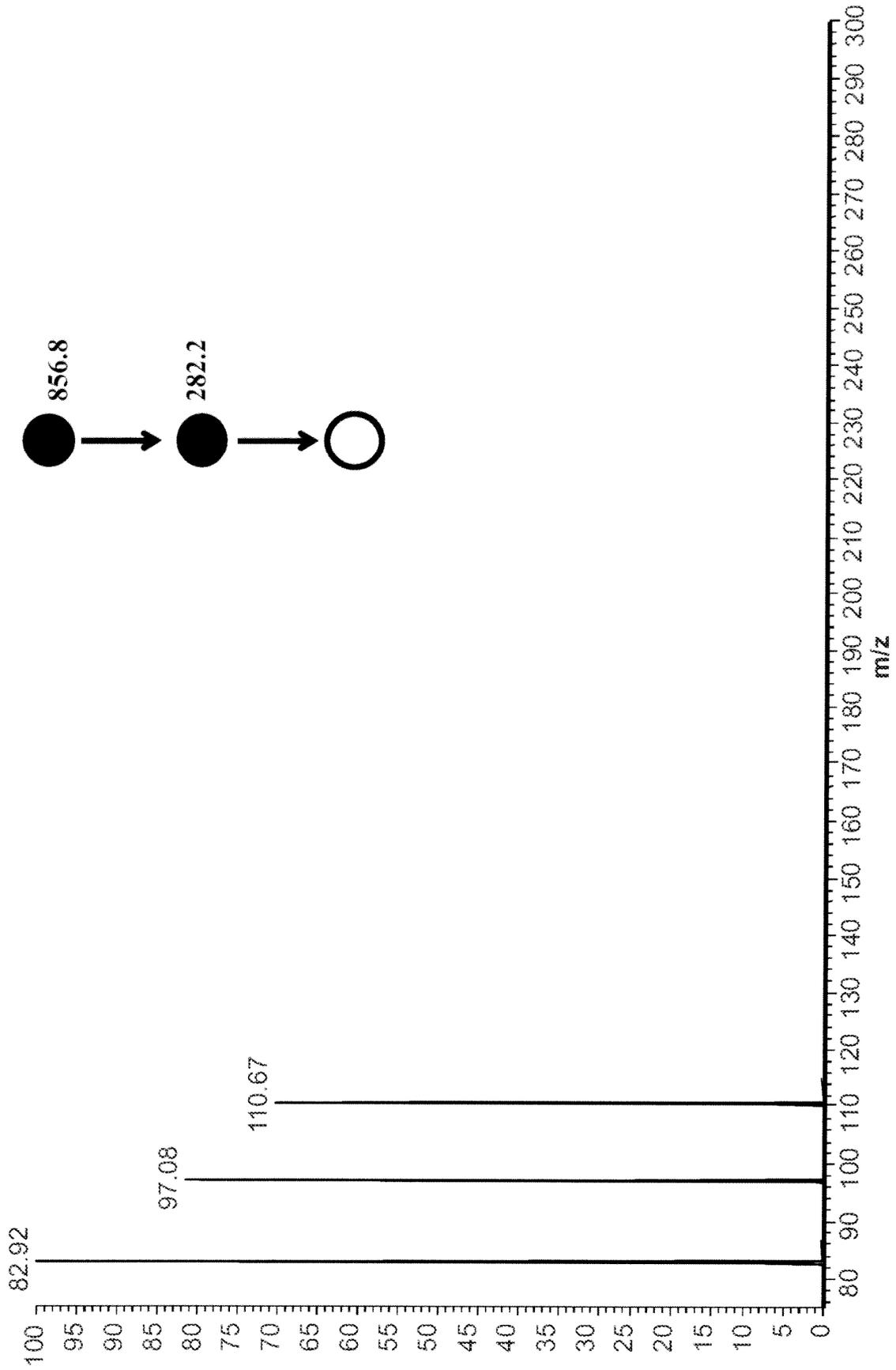


FIG. 4B

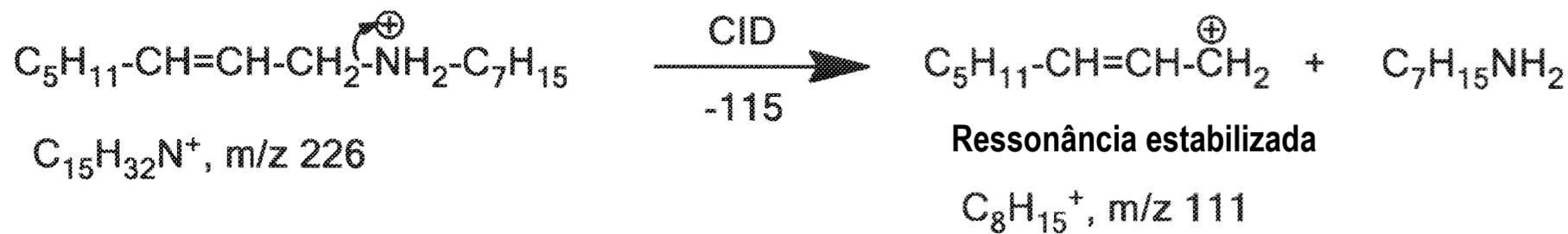


FIG. 5

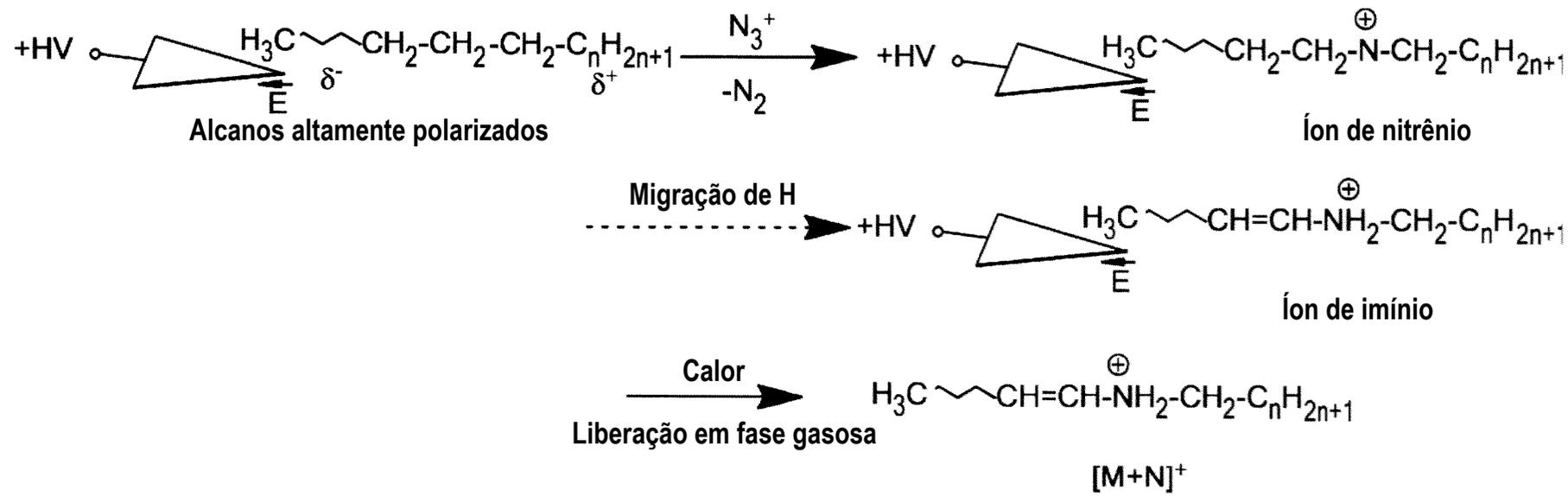


FIG. 6

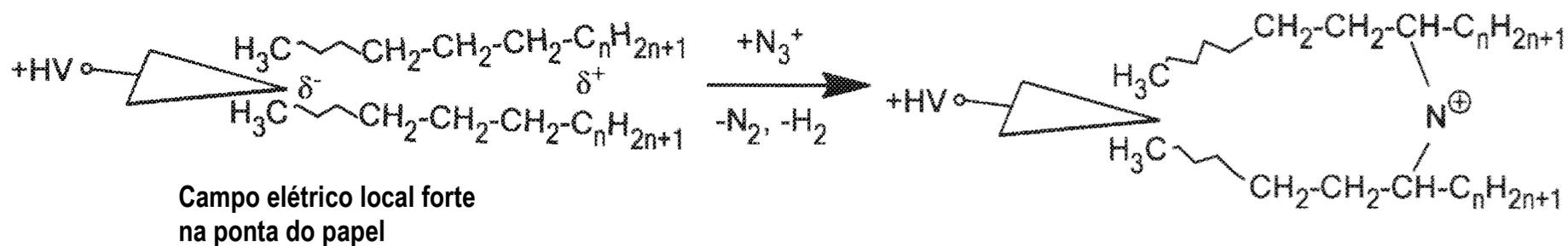


FIG. 7

**Hidrocarbonetos C44-C100**  
**MXT<sup>®</sup>-1HT Sim Dist**

MXT<sup>®</sup>-1HT Sim Dist 5m, 0.53mm ID, 0.10 $\mu$ m (cat #70100)  
Amostra **Poliwax<sup>®</sup> 1000** (cat.# 36227)  
Solvente **dissulfeto de carbono**  
Tamanho da amostra **0.2 $\mu$ L**  
Instrumento: **Agilent 5890 GC w/GC Racer**  
Injetor **em coluna (forno de rastreamento)**  
Gás carreador : **hidrogênio, pressão constante (1.0psi)**  
Detector : **FID/430°C**  
Temperatura do forno **40°C to 430°C @ 60°C/min. (constante 30 min.)**

**FIG. 8**

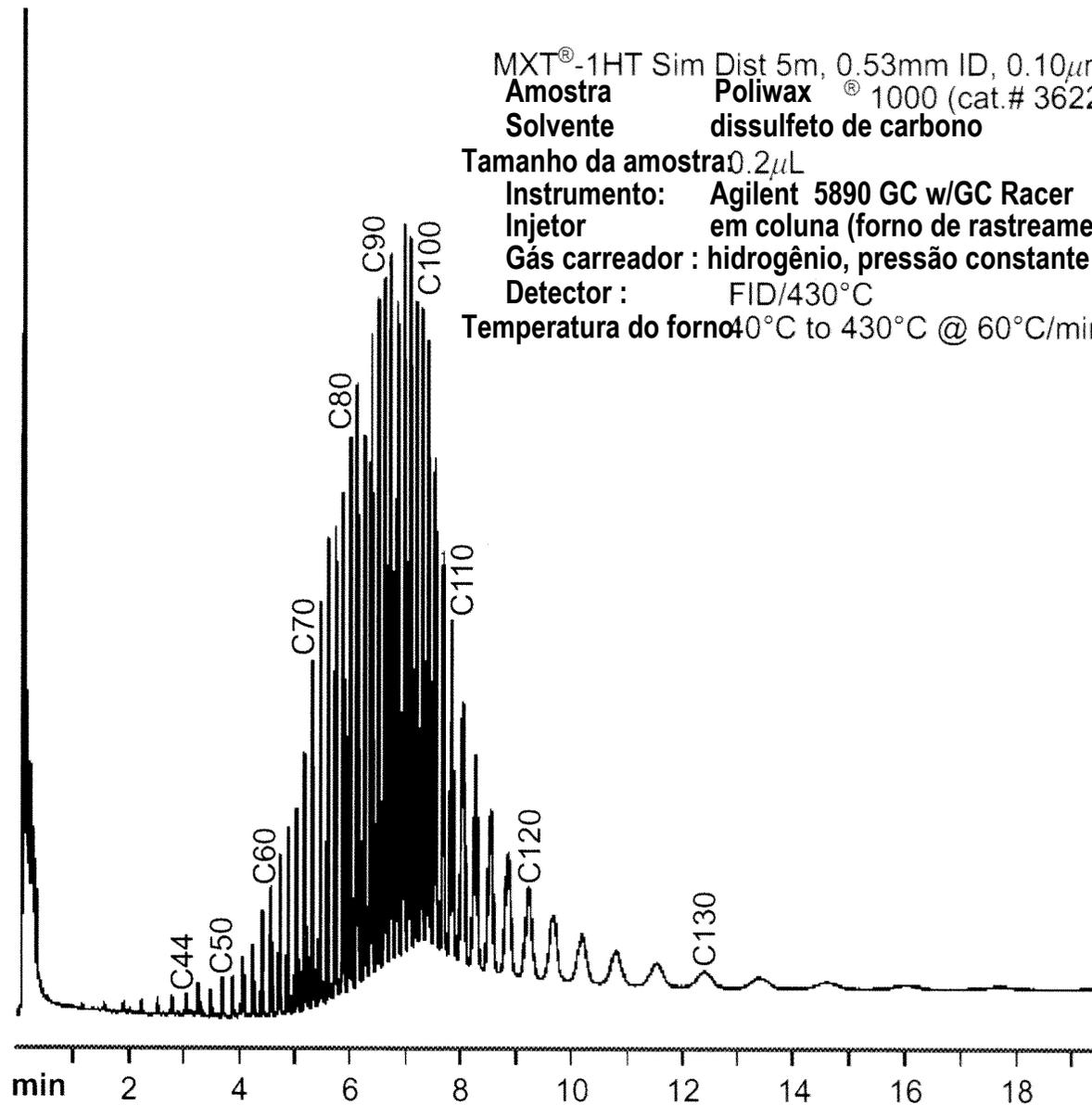
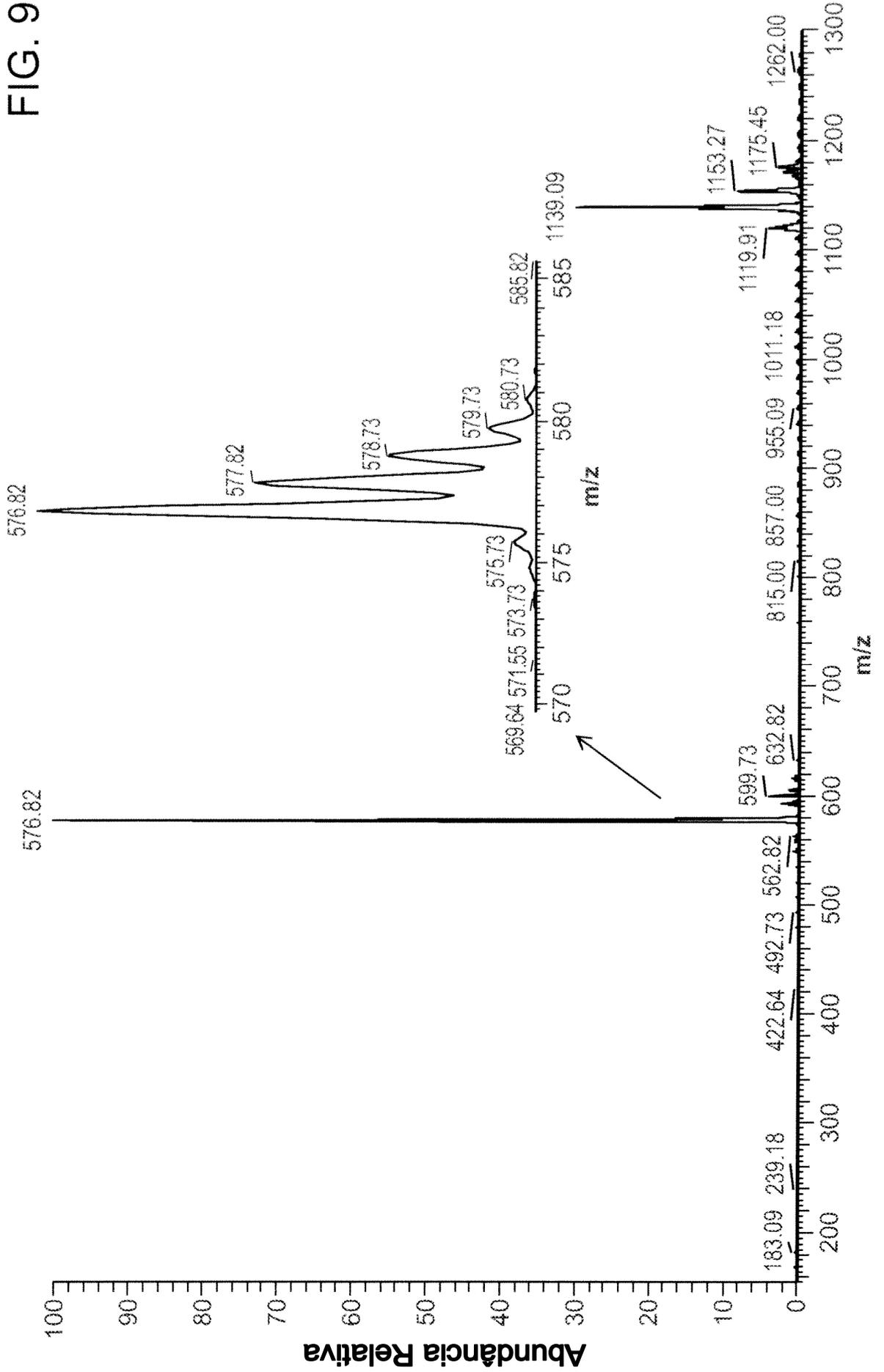


FIG. 9



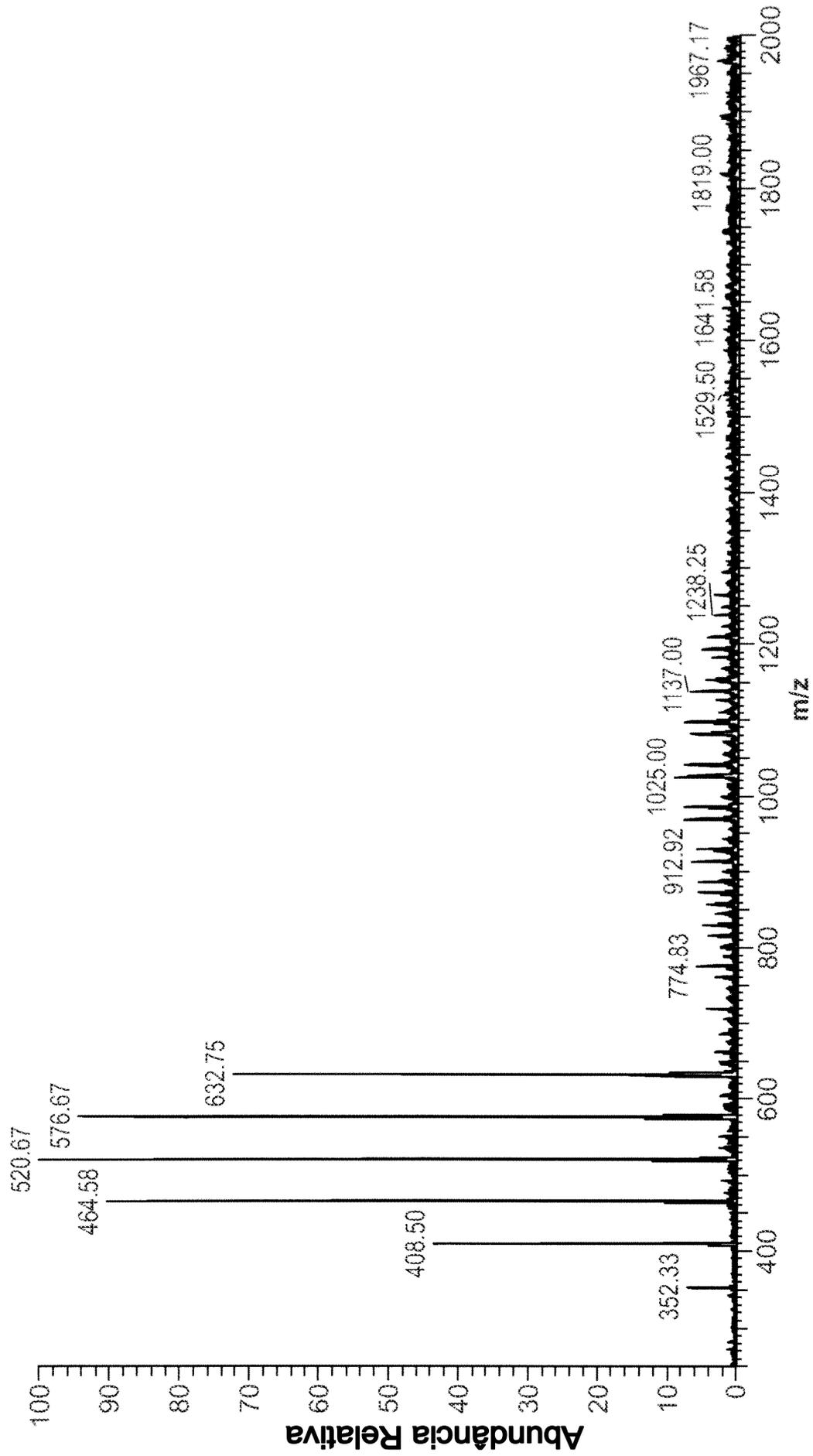


FIG. 10

FIG. 11

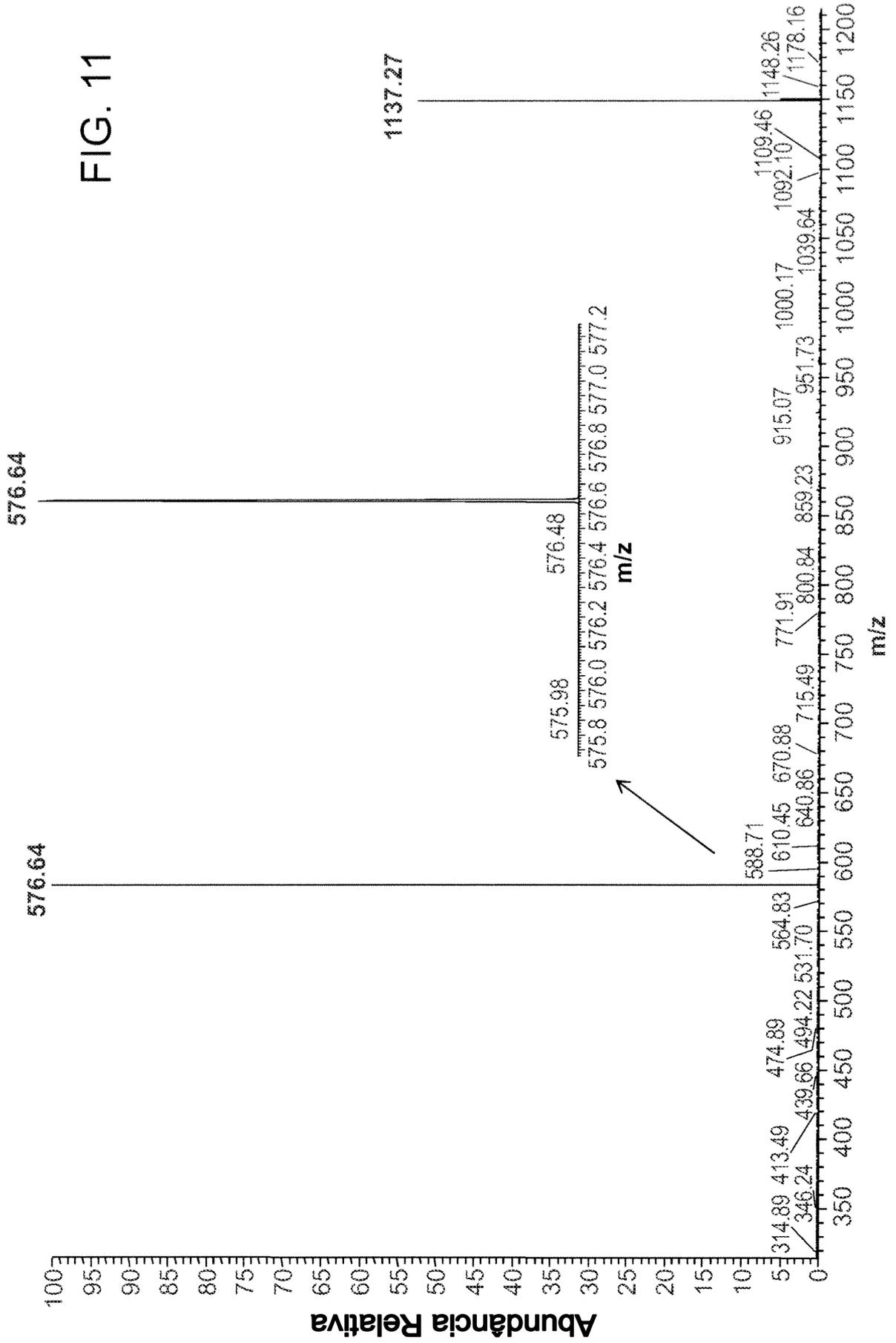
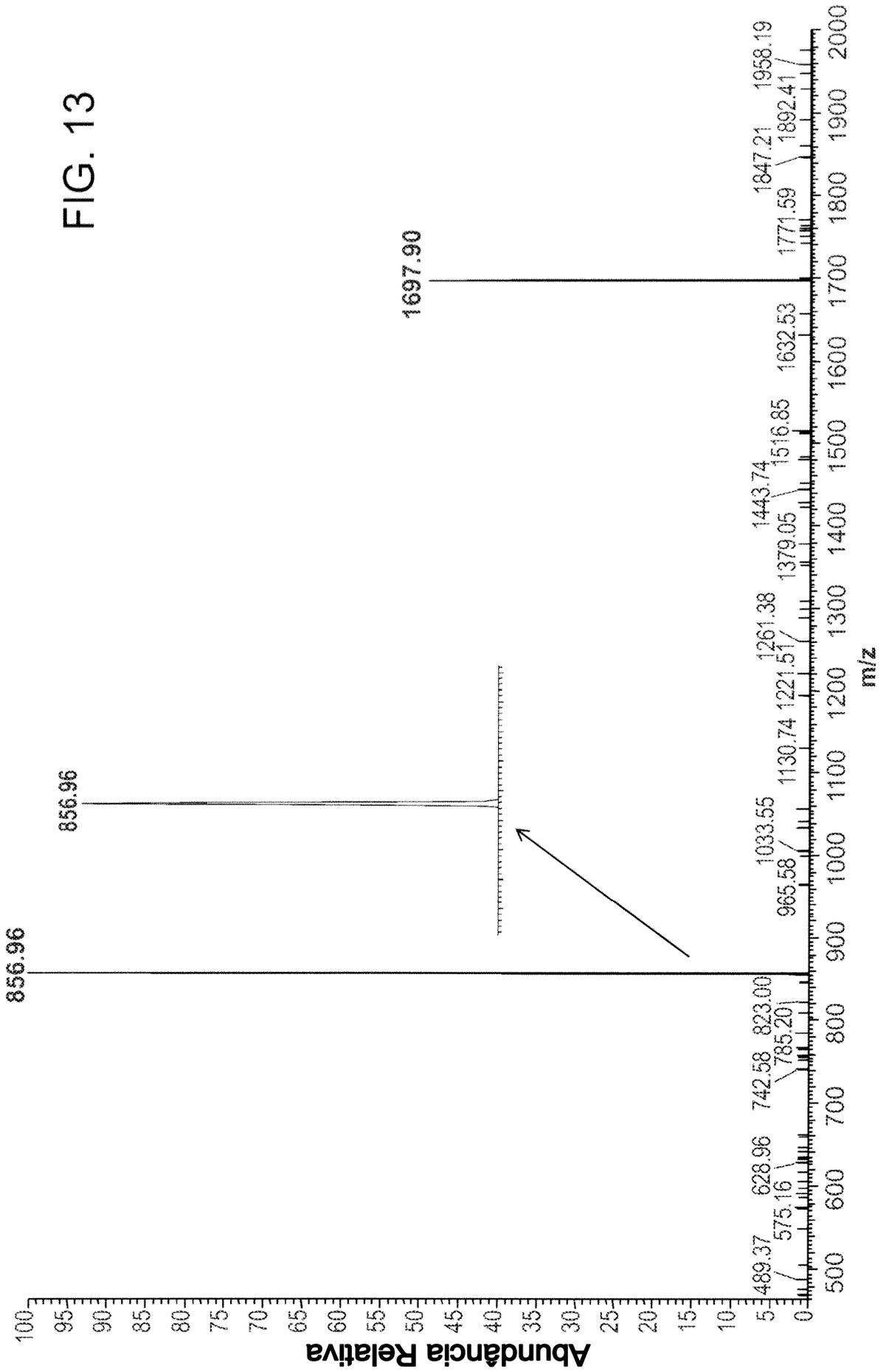




FIG. 13



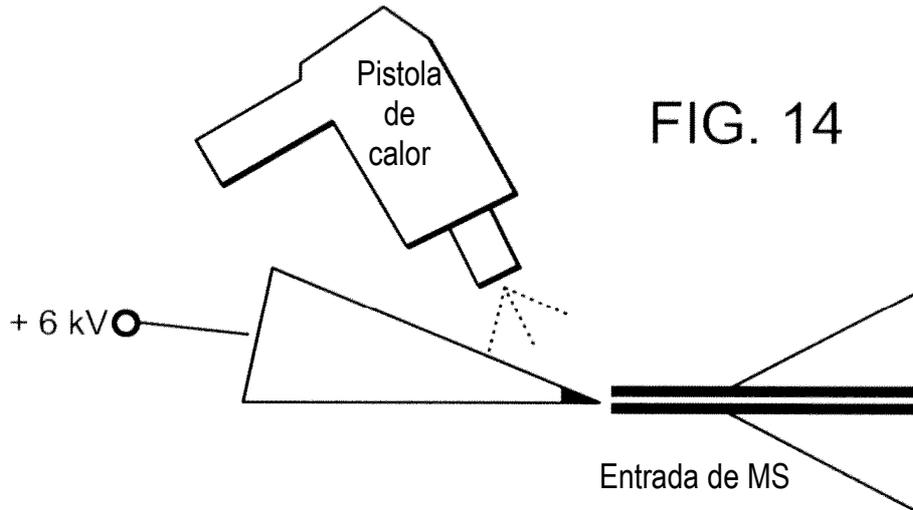


FIG. 14

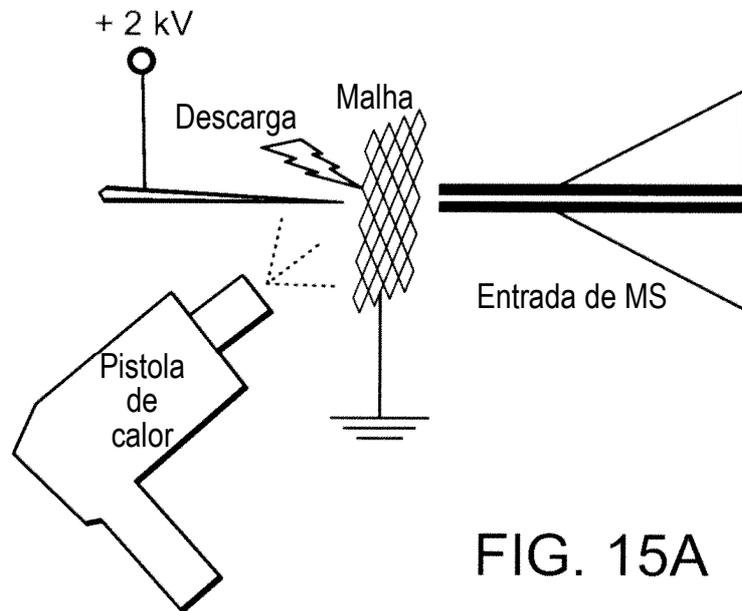
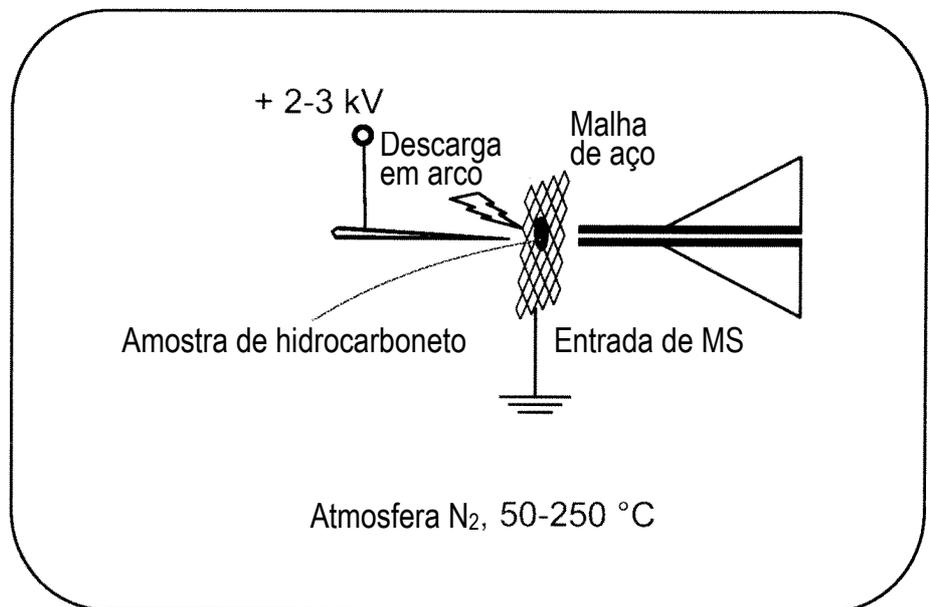


FIG. 15A

FIG. 15B



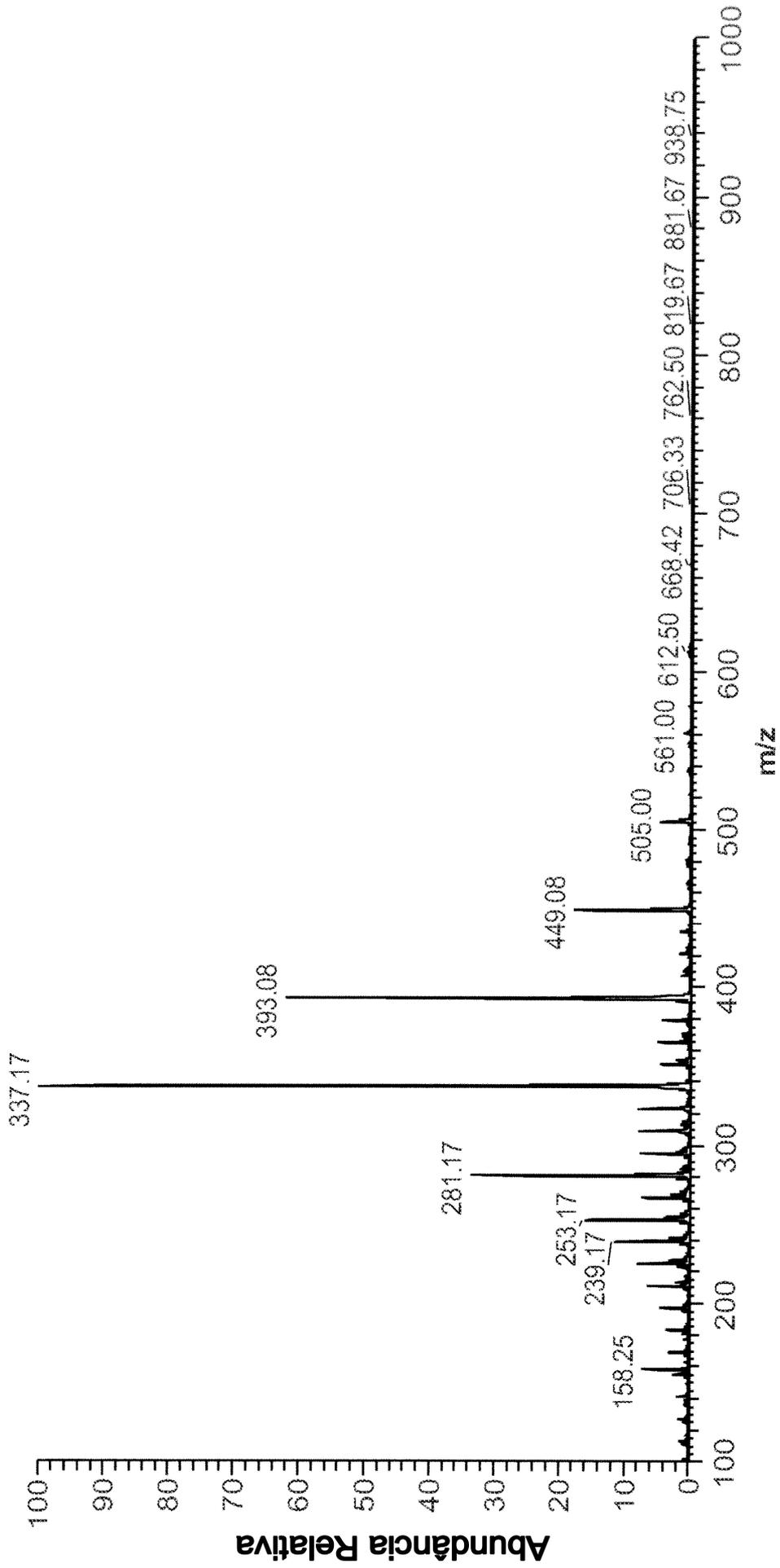


FIG. 16

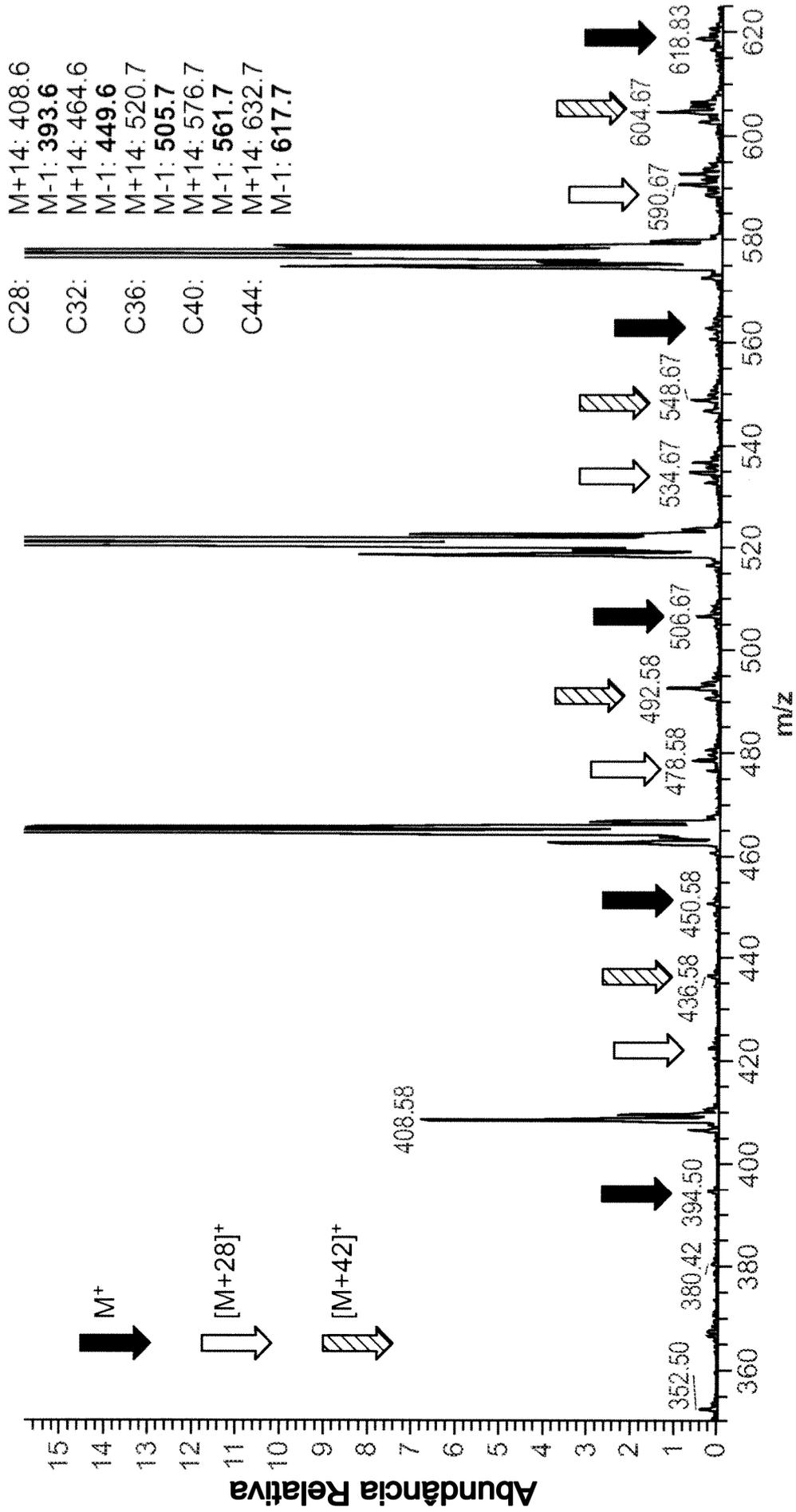


FIG. 17

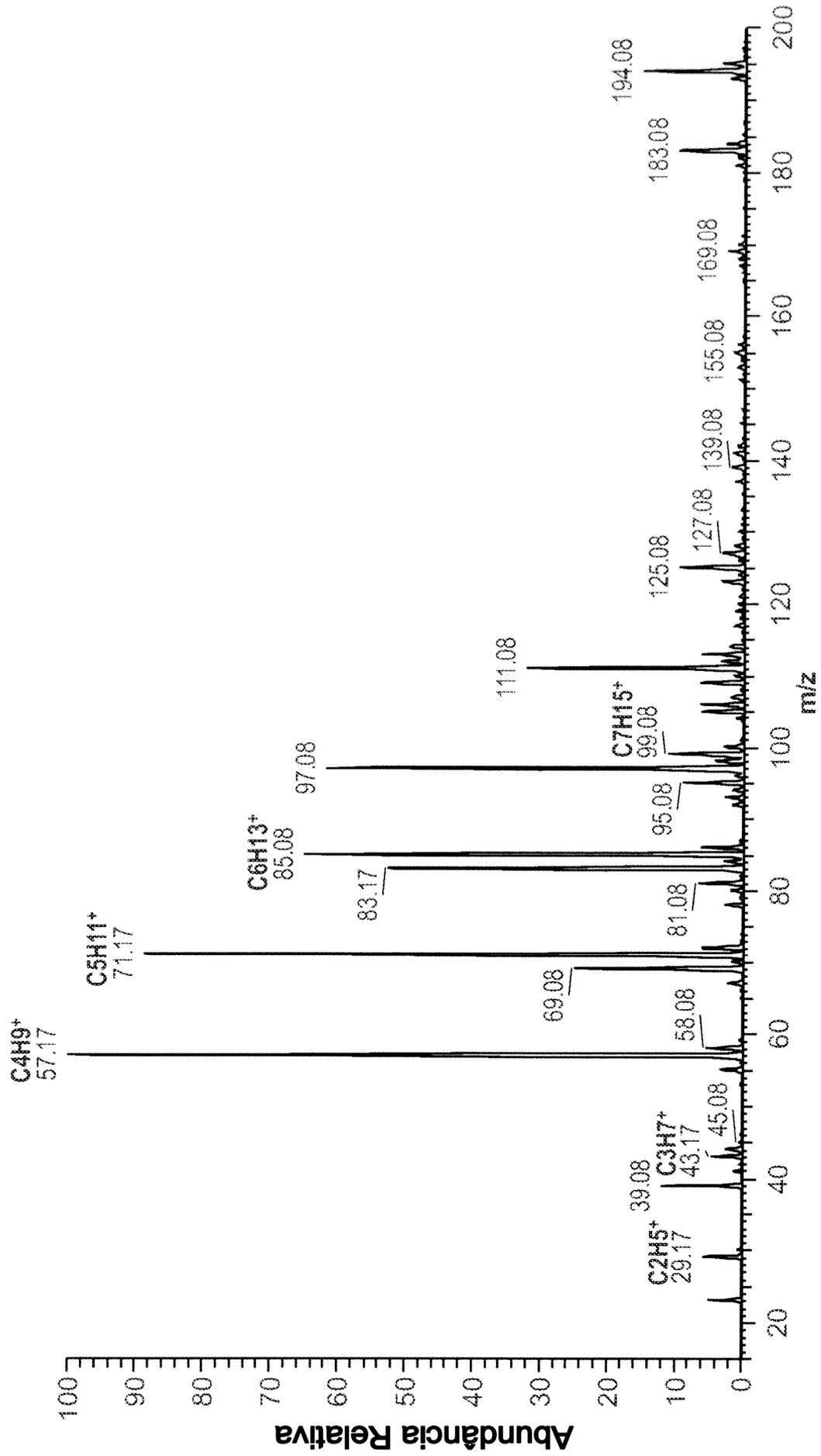


FIG. 18

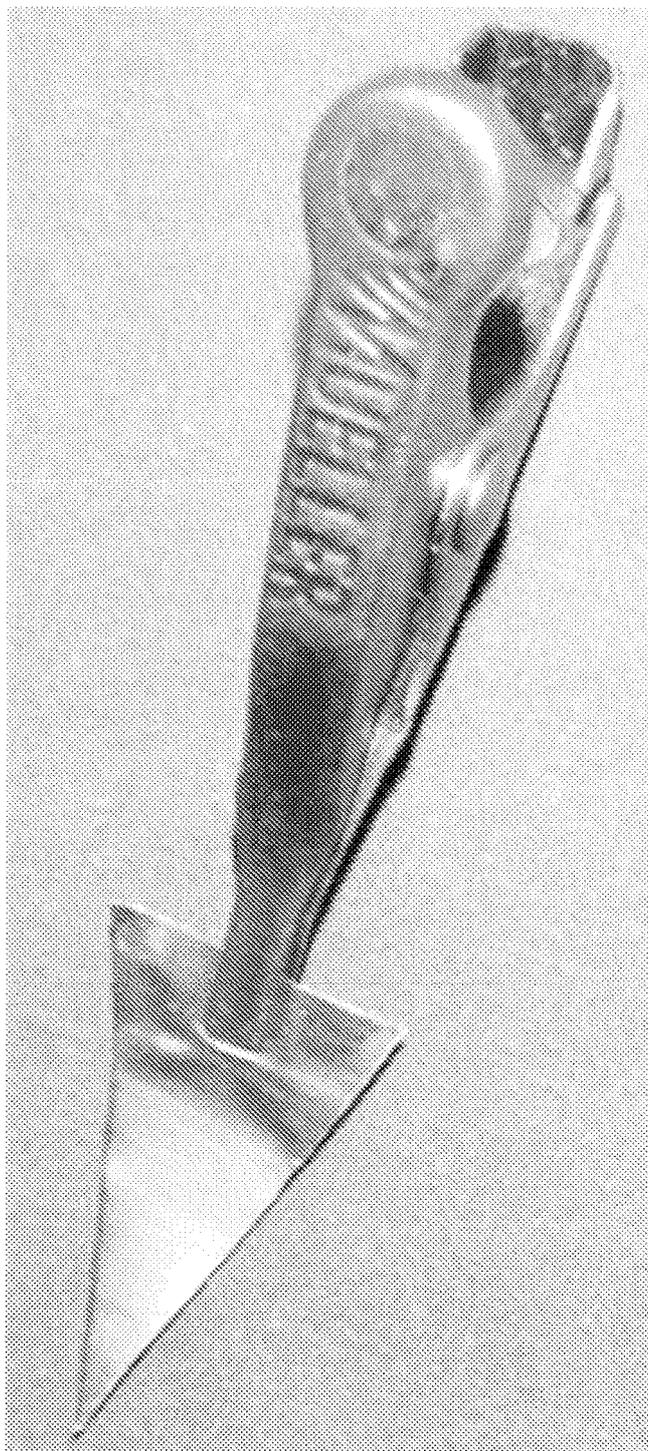


FIG. 19

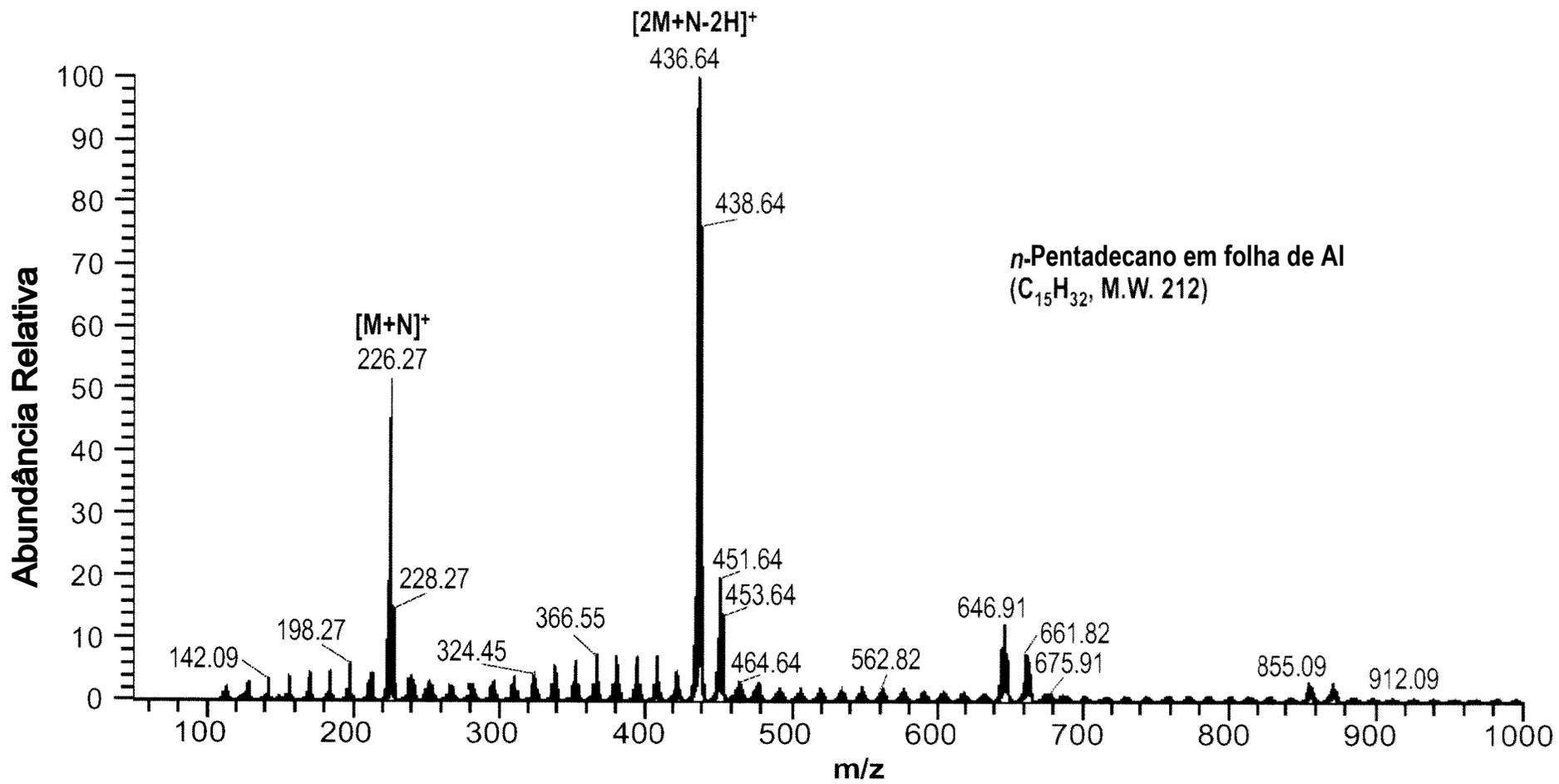


FIG. 20

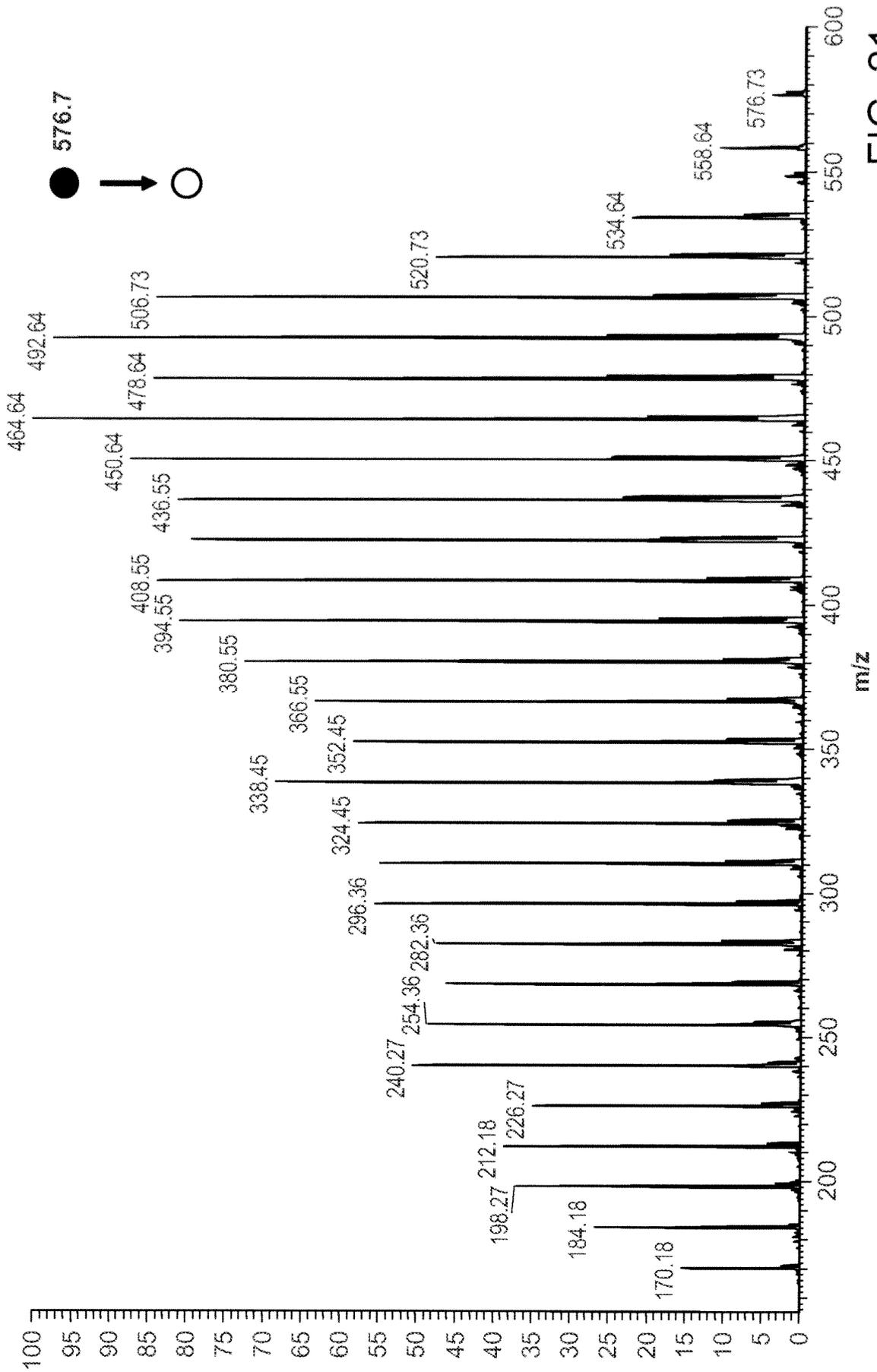


FIG. 21

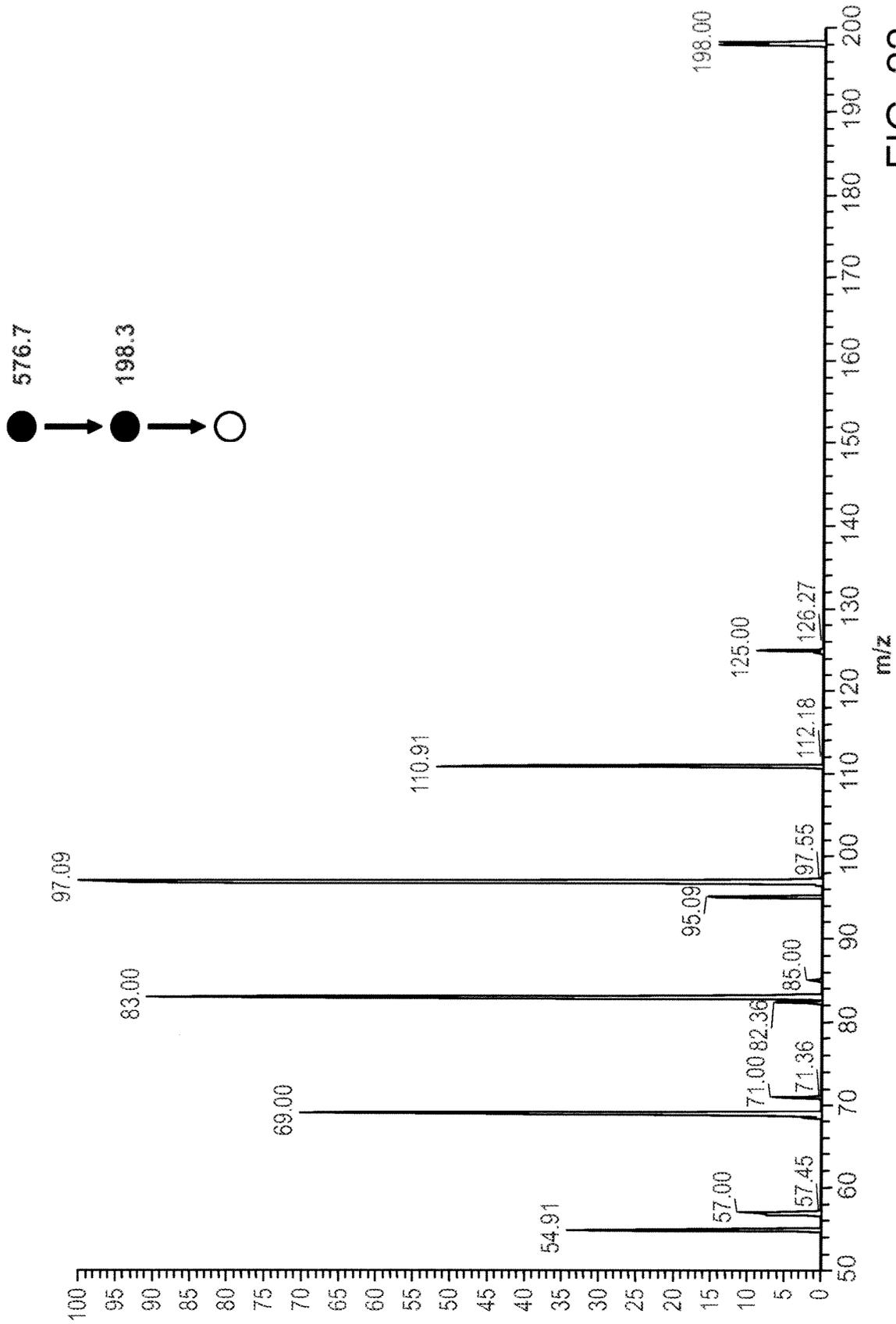


FIG. 22

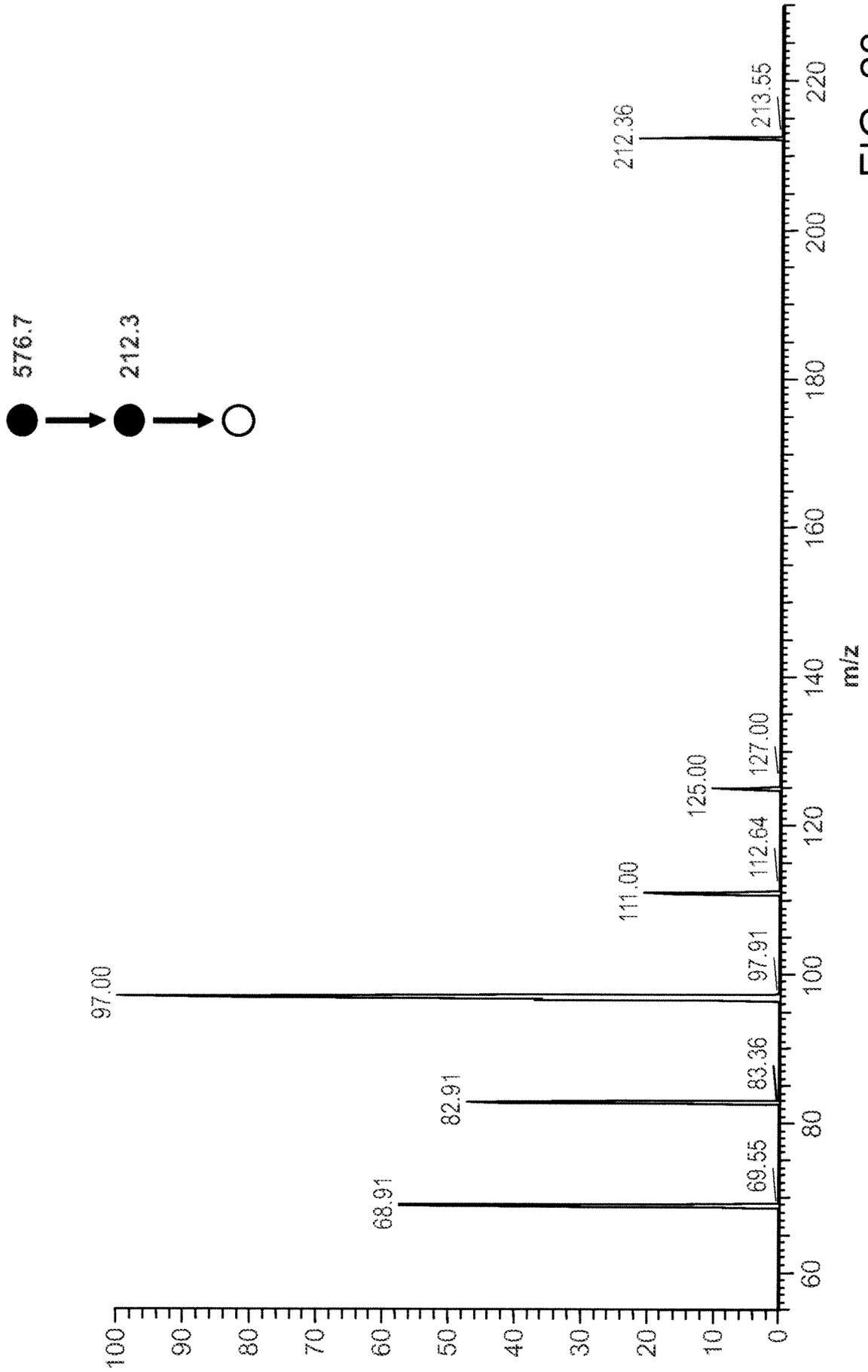


FIG. 23

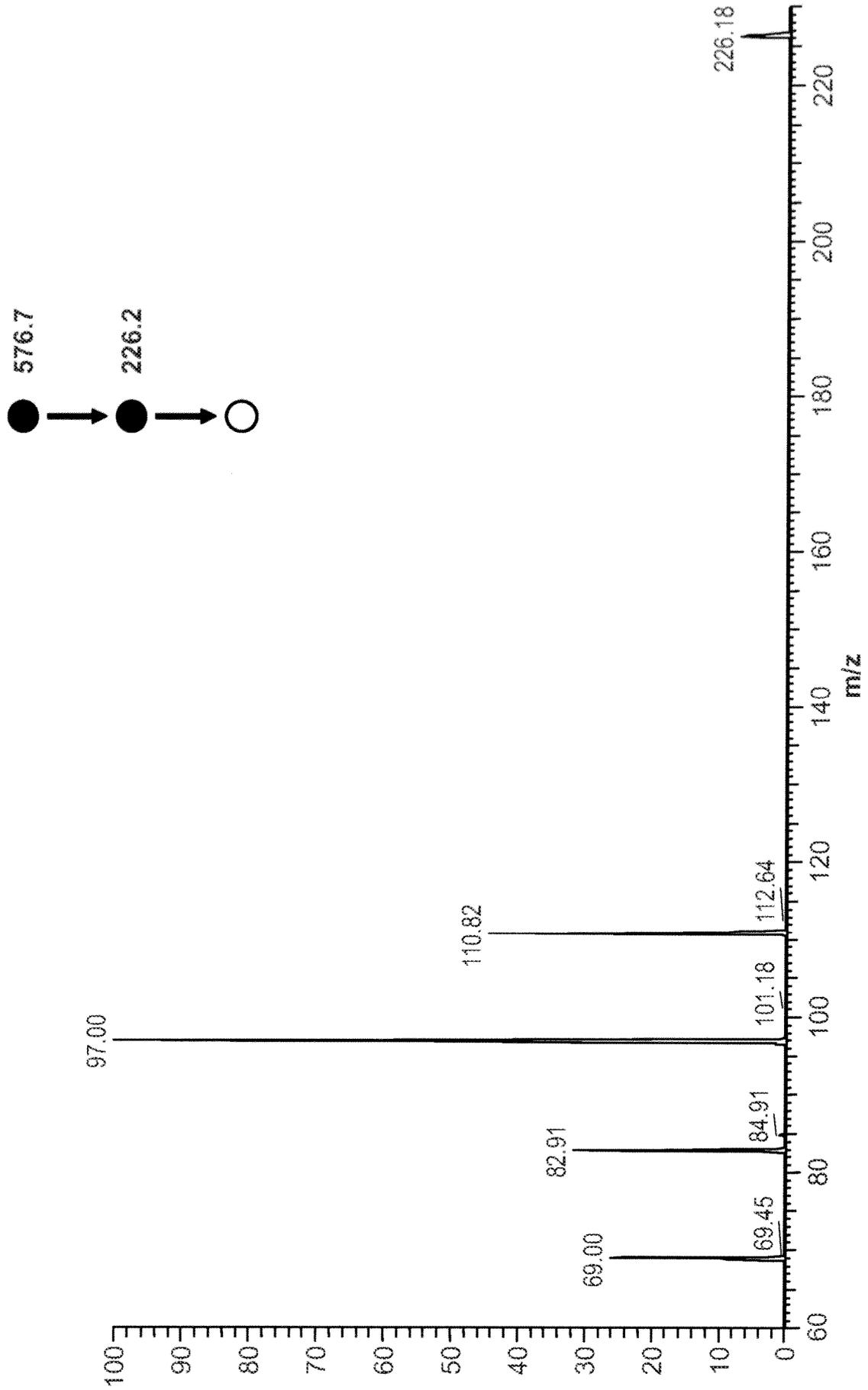


FIG. 24

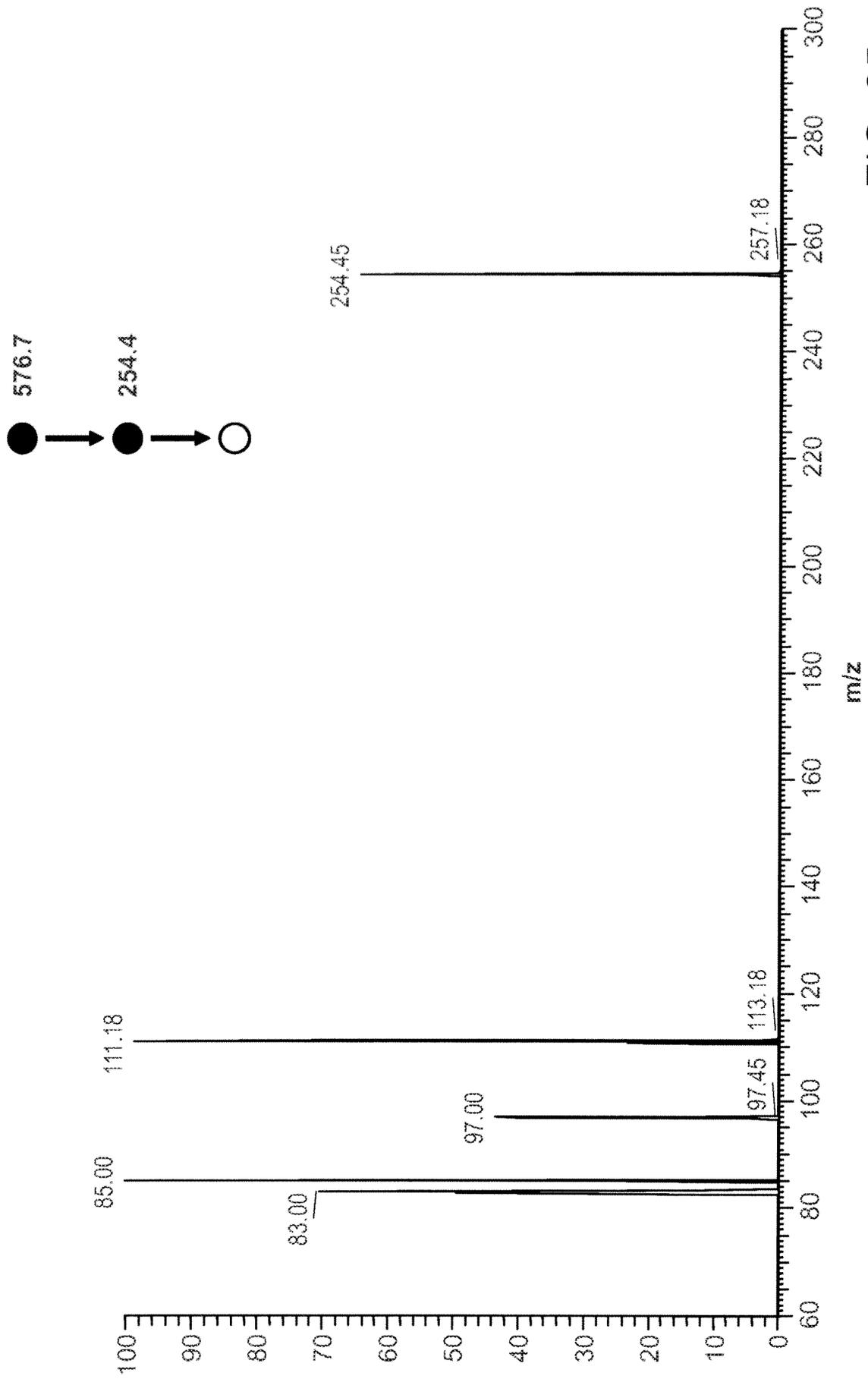


FIG. 25

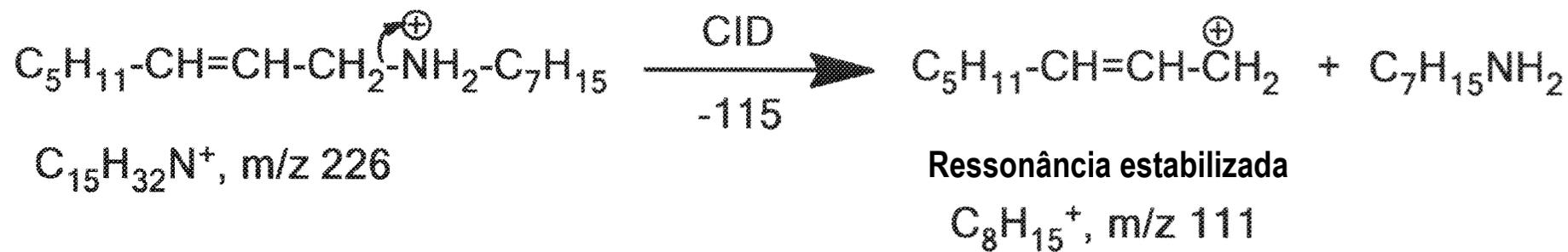


FIG. 26

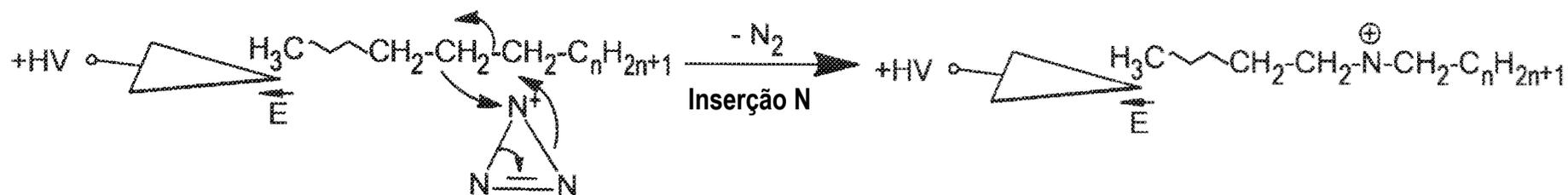
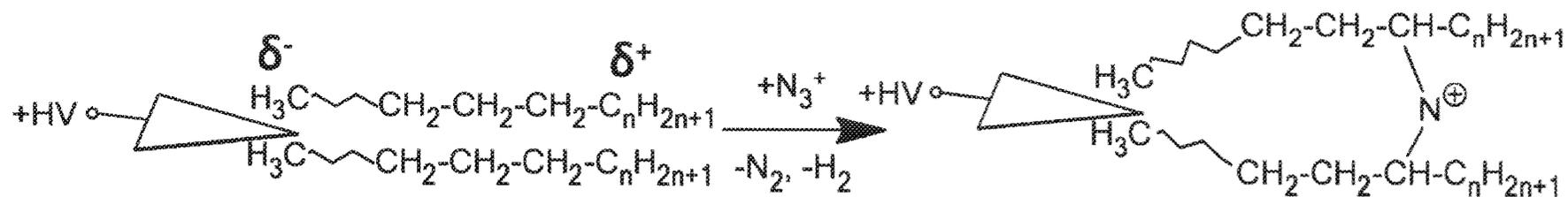


FIG. 27



campo elétrico local forte  
na ponta do papel

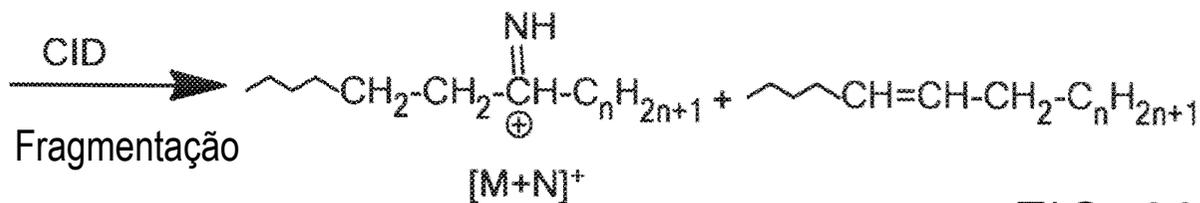
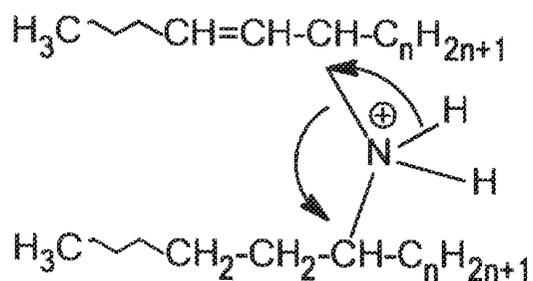
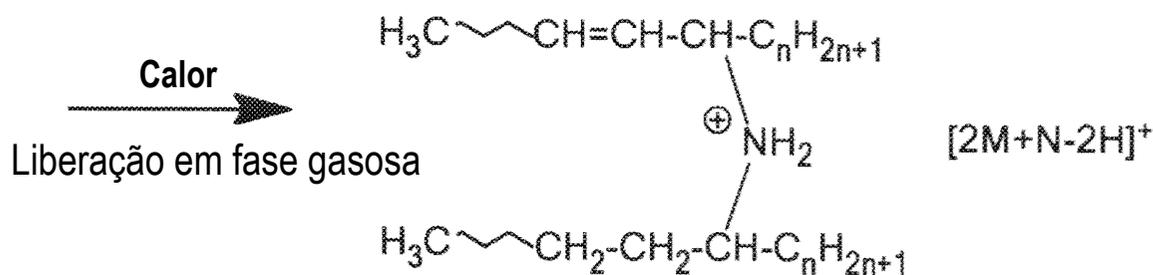
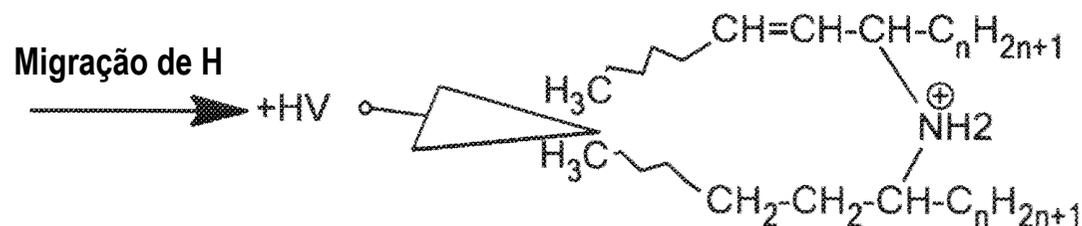


FIG. 28

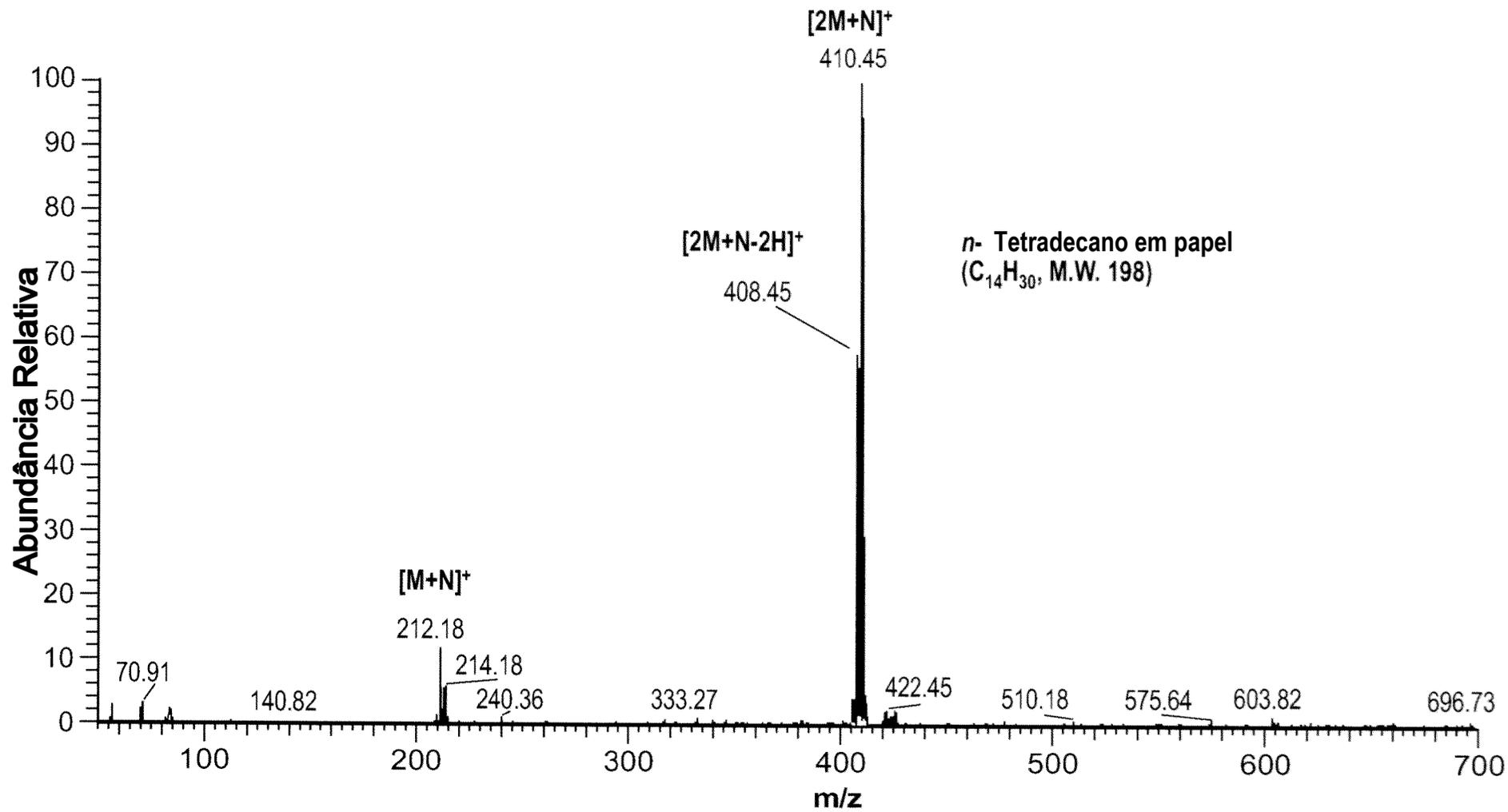


FIG. 29

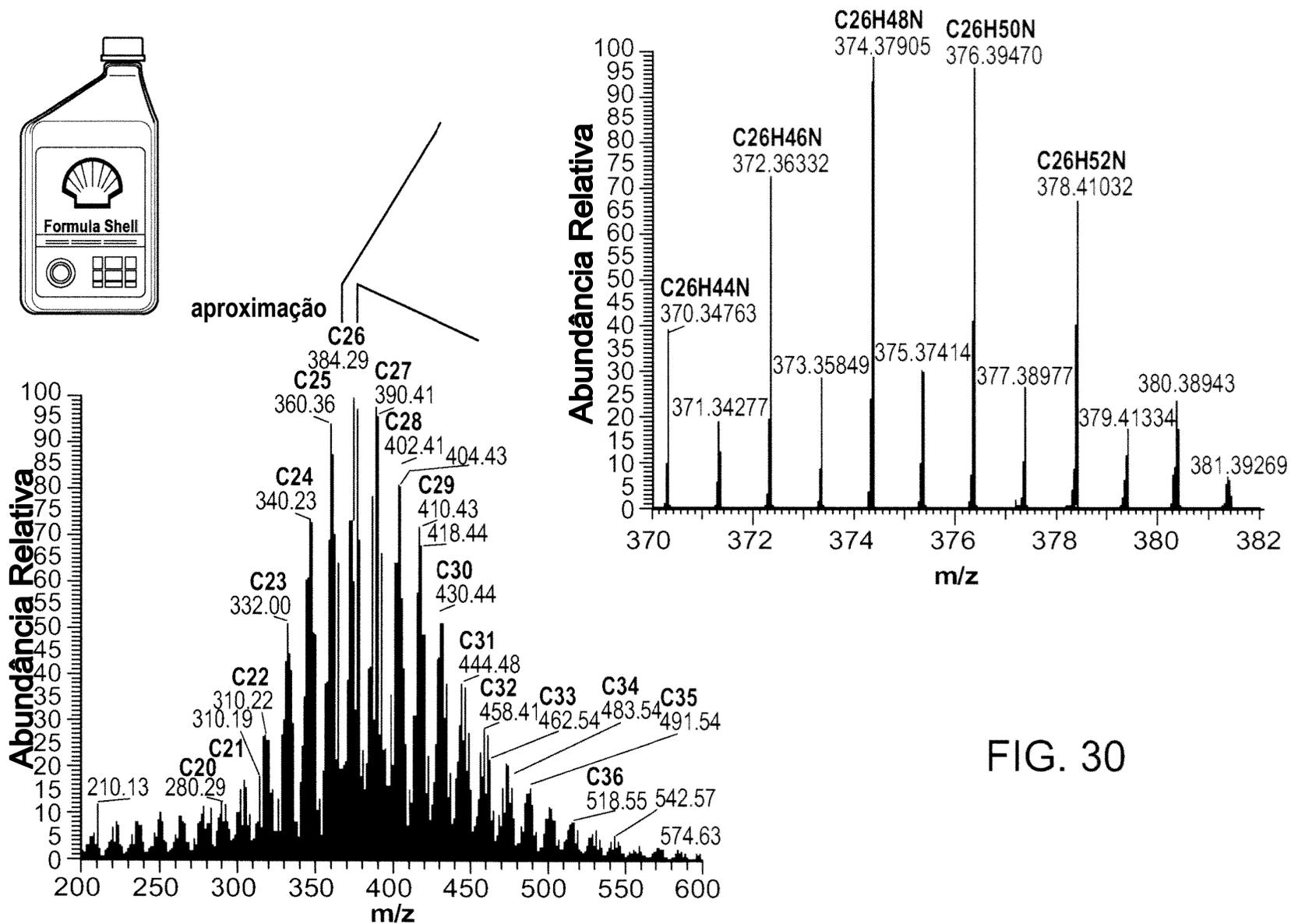


FIG. 30

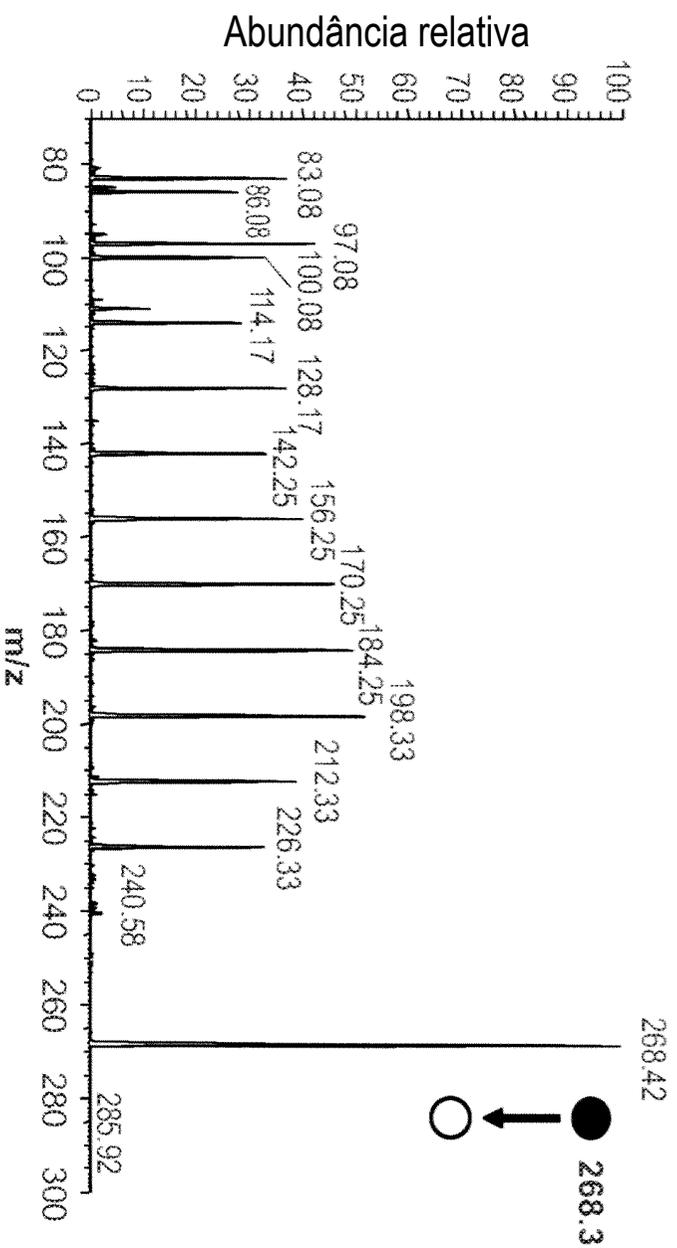


FIG. 31A

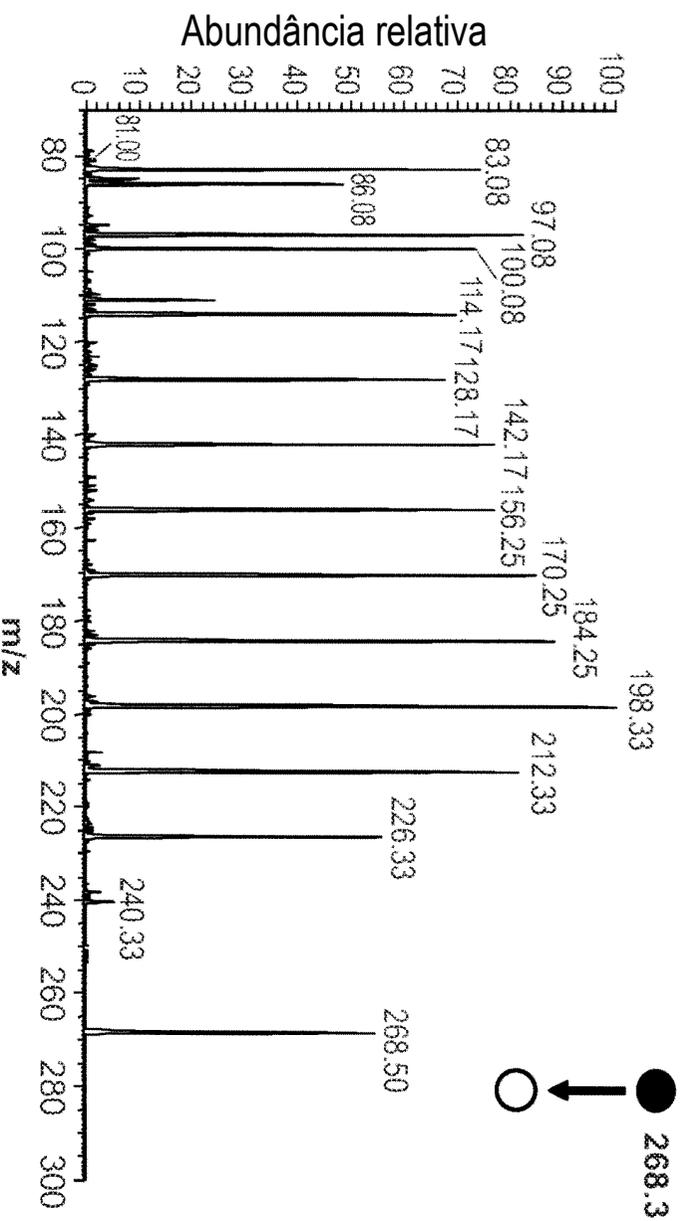
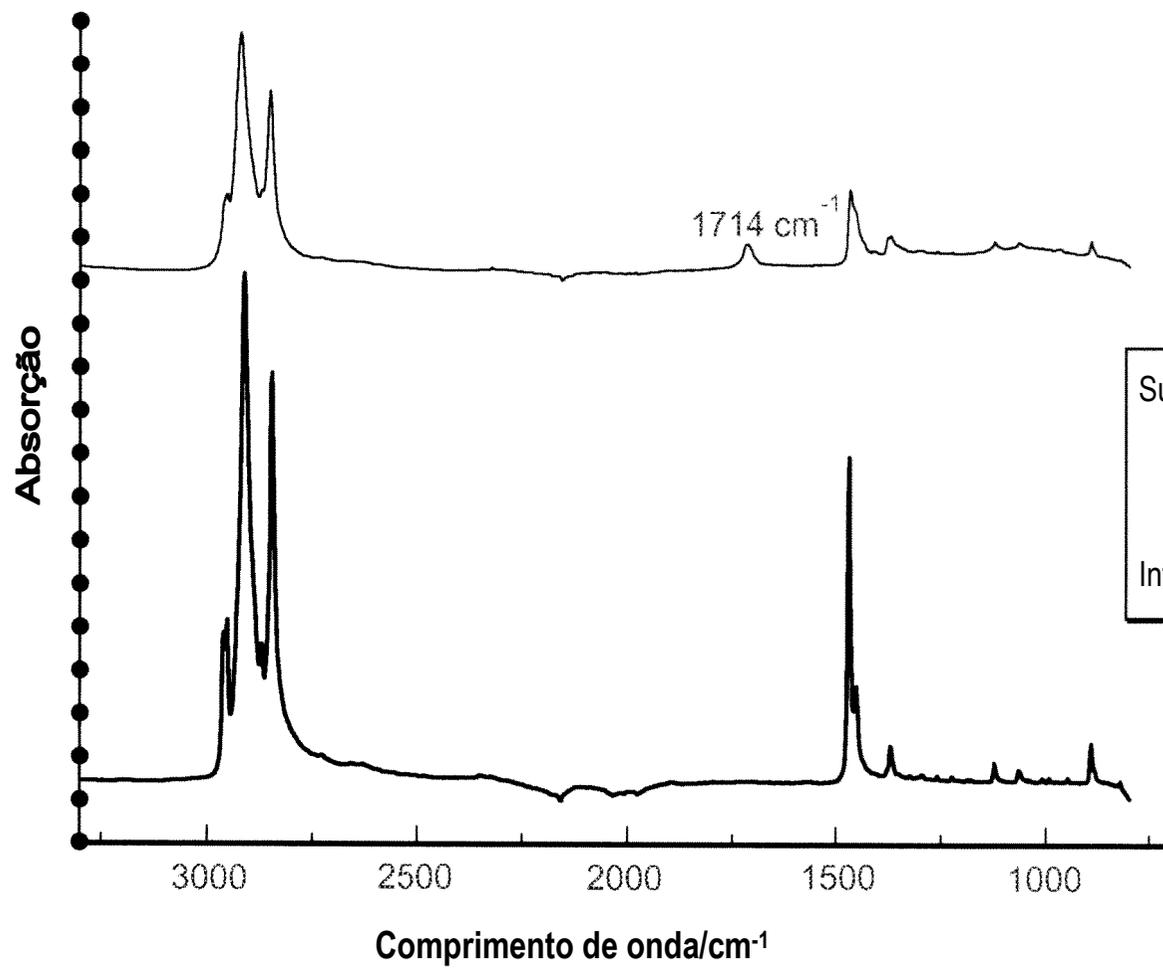


FIG. 31B



Superior: espectro FTIR de material coletado  
Inferior: espectro FTIR de n-C<sub>30</sub>H<sub>62</sub>

FIG. 32