

**PERFIL ESPECTRAL DE FÁRMACOS E DROGAS DE ABUSO
OBTIDOS POR DIFERENTES ANALISADORES DE MASSAS (FT-ICR
E LTQ): UMA ABORDAGEM DA FONTE DE IONIZAÇÃO
ELECTROSPRAY**

*SPECTRAL PROFILE OF DRUGS AND DRUGS OF ABUSE OBTAINED BY
DIFFERENT MASS ANALYZERS (FT-ICR AND LTQ): AN APPROACH TO
THE ELECTROSPRAY IONIZATION SOURCE*

^{1*}Nayara Araujo dos Santos

²Marcos Valério Vieira Lyrio

³Campili Mendes

⁴Glaucia Queiroz dos Santos

⁵Marcela Miranda Barcelos

⁶Márcia Helena C. Nascimento

⁷Rita Carolina B. Oliveira Filpo

⁸Robson Roella Garcia

⁹William Cezar de Lima Silva

¹⁰Marcos André Paula Pinheiro

¹¹Wanderson Romão

^{1*}Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: nayara.ads@gmail.com. ORCID: 0000-0003-2754-2013.

²Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: mrvaleriovieira@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2053-2173.

³Universidade Federal do Espírito Santo. Email: campili.mendes@edu.ufes.br.

⁴Universidade Federal do Espírito Santo E-mail: glaucia.santos@ufes.br.

⁵Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: marcela.barcelos@edu.ufes.br.

⁶Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: marcia.cassago@gmail.com.

⁷Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: rita.c.oliveira@edu.ufes.br.

⁸Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: robson.garcia@edu.ufes.br.

⁹Universidade Federal do Espírito Santo. Email: william_lima.xp@outlook.com.

¹⁰Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: marcos.a.pinheiro@edu.ufes.br.

¹¹Instituto Federal do Espírito Santo, campus Vila Velha. E-mail: wanderson.romao@ifes.edu.br. ORCID: 0000-0002-2254-6683.

Artigo submetido em 10/07/2023, aceito em 22/10/2023 e publicado em 28/10/2023.

Resumo: A espectrometria de massas é uma técnica que tem a capacidade de detectar, contar, caracterizar moléculas de diversas composições. Entre os componentes principais da técnica estão as fontes de ionização e analisadores de massas, que possuem especificidades de seus respectivos fabricantes. Nesse sentido, esse trabalho buscou analisar o perfil espectral, a partir de análises de fármacos de uso humano e veterinário e drogas de abuso, por um mesmo tipo de fonte de ionização; a *electrospray ionization* (ESI) no modo positivo de ionização, acoplada aos analisadores de massas *Fourier transform ion cyclotron resonance* (FT-ICR) e *linear ion trap* (LTQ). Foram analisados oito padrões: Abamectina (C₄₈H₇₂O₁₄); Ceftiofur (C₁₉H₁₇N₅O₇S₃); Diclofenaco de potássio (C₁₄H₁₀Cl₂NO₂K); Ivermectina (C₄₈H₇₄O₁₄); Lincomicina (C₁₈H₃₄N₂O₆S); Moxidectina (C₃₇H₅₃NO₈);

Progesterona ($C_{21}H_{30}O_2$); Valerato de estradiol ($C_{23}H_{32}O_3$); e duas amostras de drogas de abuso: cocaína ($C_{17}H_{21}NO_4$) e um selo contendo 25I-NBOMe ($C_{18}H_{22}INO_3$) e 25C-NBOMe ($C_{18}H_{22}ClNO_3$). A partir dos dados adquiridos, foi observado, que na maioria dos casos, são formados espectros com sinais indicativos de formação de adutos, $[M + Na]^+$, $[M + K]^+$, moléculas protonadas $[M + H]^+$, ou até mesmo como dímeros, $[2M+H]^+$, $[2M + Na]^+$, e $[2M + K]^+$. Assim, embora a análise com o equipamento ESI(+)FT-ICR MS apresente altíssima resolução e precisão de massas, as análises pelo equipamento ESI(+)LTQ MS forneceram uma resposta rápida e eficiente na realização de experimentos de MS/MS, que contribuíram para confirmação da estrutura da molécula detectada.

Palavras-chave: espectrometria de massas; ESI(+); fármacos; drogas de abuso; perfil espectral.

Abstract: Mass spectrometry is a technique that can detect, count, and characterize molecules of different compositions. Among the main components of the spectrometers are the ionization sources and mass analyzers, which have specificities of their respective manufacturers. In this sense, this work sought to analyze the spectral profile, based on analyses of pharmaceuticals for human and veterinary use, and drugs of abuse, using the same type of ionization source; electrospray ionization (ESI), positive ionization mode, coupled with Fourier transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) and linear ion trap (LTQ) mass analyzers. Eight standards were analyzed: abamectin ($C_{48}H_{72}O_{14}$); ceftiofur ($C_{19}H_{17}N_5O_7S_3$); diclofenac potassium ($C_{14}H_{10}Cl_2NO_2K$); ivermectin ($C_{48}H_{74}O_{14}$); lincomycin ($C_{18}H_{34}N_2O_6S$); moxidectin ($C_{37}H_{53}NO_8$); progesterone ($C_{21}H_{30}O_2$); estradiol valerate ($C_{23}H_{32}O_3$); and two drug of abuse samples: cocaine ($C_{17}H_{21}NO_4$) and blotter paper (containing 25I-NBOMe ($C_{18}H_{22}INO_3$) and 25C-NBOMe ($C_{18}H_{22}ClNO_3$)). By the data acquired, in most cases, mass spectra were observed with signals indicating the formation of adducts, $[M + Na]^+$, $[M + K]^+$, protonated molecules $[M + H]^+$ or even dimers, $[2M+H]^+$, $[2M + Na]^+$, and $[2M + K]^+$. Thus, although the analysis with the ESI(+)FT-ICR MS equipment presents very high resolution and mass precision, the analysis by the ESI(+)LTQ MS equipment provides a fast and efficient analysis of MS/MS experiments, which contributes to confirming the structure of the detected molecule.

Keywords: mass spectrometry; ESI(+), drugs; drugs of abuse; spectral profile.

1 INTRODUÇÃO

A espectrometria de massas, do inglês *mass spectrometry* (MS), consolidou-se como uma técnica analítica com grande influência em praticamente todas as áreas da Ciência (VAZ *et al.*, 2017). A popularidade desta técnica resulta de sua capacidade em detectar, contar, caracterizar moléculas de diversas composições, tipos e tamanhos, além da sua alta sensibilidade, limites de detecção baixos, velocidade de análise, diversidade das suas aplicações, que podem variar desde amostras voláteis ou não-voláteis; polares ou não polares; e materiais sólidos, líquidos ou gasosos, entre outros (HOFFMANN & STROOBANT, 2007; DASS, 2007).

Em geral, alguns fatores devem ser levados em consideração ao utilizar esta técnica para que seja alcançado êxito na identificação e quantificação dos analitos, como, por exemplo, compreender as

propriedades físico-química da amostra a ser analisada, e possuir um objetivo de estudo para estruturar o método ideal de análise (SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

As etapas básicas de operação de um espectrômetro de massas consistem em: introdução da amostra; formação de íons em fase gasosa; separação dos íons por sua razão massa/carga (m/z); conversão do sinal em corrente elétrica; e processamento dos dados, produzindo um espectro de massas, isto é, uma relação de m/z versus a intensidade do sinal (SKOOG, WEST, HOLLER, 2009).

A ionização dos analitos da amostra é uma importante etapa no processo de análise por MS, e considera-se que a introdução da ionização à pressão atmosférica por *electrospray* (ESI) foi um grande avanço para o campo da MS, pois vários analitos de interesse podem não ser suficientemente voláteis ou estáveis termicamente para permitir a volatilização para as análises

(GASKELL, 1997; EL-ANEED, COHEN, BANOUB, 2009).

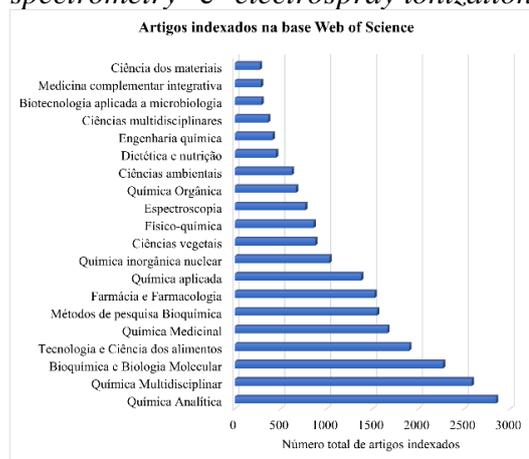
Além disso, a fonte de ESI pode ser combinada com diversos tipos de equipamentos com diferentes analisadores de massas, os quais, também são capazes de interferir em determinados parâmetros analíticos como: erro de massas, velocidade de análise, e poder de resolução e exatidão de massas. Nesse contexto, os analisadores podem ser classificados de acordo com seu poder de resolução, como baixa resolução ou resolução unitária, como por exemplo *linear ion trap* (LTQ), até altíssima resolução, como o *Fourier transform ion cyclotron resonance* (FT-ICR) (TSYBIN, NAGORNOV, KOZHINOV, 2019; LYRIO *et al.*, 2022).

Atualmente, hoje houve um exponencial crescimento de artigos utilizando a técnica de MS combinada com a fonte de ionização ESI (CROTTI *et al.*, 2006). Particularmente, nos últimos cinco anos, ao realizar uma busca com os termos "*mass spectrometry*" e "*electrospray ionization*" na base *Web of Science*¹, é possível encontrar mais de 16 mil artigos publicados em diferentes áreas das Ciências, predominando as áreas da Química ou afins, como a Química Analítica. Na **Figura 1**, estão representadas as 20 áreas de maior número de artigos indexados na base *Web of Science* que desenvolveram estudos com a técnica de MS combinada com a fonte de ionização ESI. Nesta pesquisa, entre os artigos mais citados está o trabalho de Höring e colaboradores (2019) que utilizaram a fonte ESI acoplada a um espectrômetro quadrupolo-Orbitrap, para análise quantitativa de colesterol livre e éster de colesterol.

Os autores ressaltaram as diferenças na susceptibilidade de fragmentação das substâncias analisadas como fatores determinantes para esse tipo de análise e fonte de ionização, principalmente devido ao número de ligações duplas das

moléculas. Ainda, realizaram uma comparação entre as fontes de nano-ESI e ESI, concluindo que o mesmo efeito observado ocorre em ambas as fontes de ionização (HÖRING *et al.*, 2019).

Figura 1: Número de artigos publicados e indexados na base de dados *Web of Science* de 20 áreas de indexação. Pesquisa realizada com os termos "*mass spectrometry*" e "*electrospray ionization*".



Fonte: Adaptada pelos autores a partir de pesquisa na base de dados *Web of Science*.¹

A combinação da técnica de MS e fonte ESI também foi foco no estudo desenvolvido por Lyrio e colaboradores (2022) que avaliaram dois tipos de analisadores de massas (LTQ e FT-ICR) em análises de amostras de diferentes complexidades, por meio da ionização com a fonte ESI. Os analisadores supracitados possuem aplicações distintas, visto que instrumentos de resolução unitária apresentam, geralmente, aplicação destinada à determinação de compostos conhecidos, quantificação ou identificação, por meio de análises sequenciais, MSⁿ. Por outro lado, equipamentos de alta resolução possuem grande aplicação na identificação molecular (C_cH_hN_nO_oS_s) inequívoca de compostos (KIM *et al.*, 2006; MEURER, 2020).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A MS é uma técnica analítica robusta que contribui para obtenção de informações

¹Clarivate. *Web of Science*. 29 Dez.2022.

qualitativas e quantitativas de inúmeros analitos na forma de íons. Assim, as moléculas de interesse, antes de serem introduzidas no espectrômetro de massas, passam por uma fonte de ionização, onde são ionizadas para obterem cargas positivas ou negativas. Após, os íons são separados no analisador de massas de acordo com a razão m/z , para então chegarem ao detector (HO *et al.*, 2003).

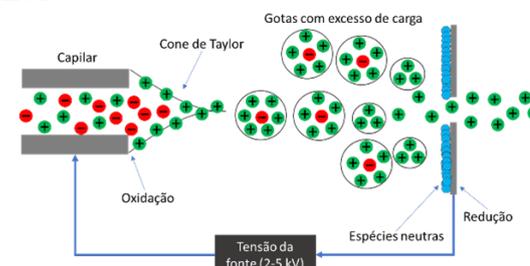
Para formação dos íons, existem inúmeras fontes de ionização comercialmente disponíveis, cuja escolha depende da amostra e da informação que se deseja obter.

Particularmente, a fonte ESI permite ionizar diferentes tipos de analitos, preferencialmente polares, e opera nos modos positivo (ESI(+)) e/ou negativo (ESI(-)) de ionização, cuja aplicação se estende a vários grupos moleculares como proteínas, peptídeos, fármacos, etc. (BRUINS, 1998). Vale ressaltar que a demonstração da aplicabilidade desta técnica na análise de macromoléculas, como proteínas, resultou em prêmio Nobel para o trabalho de John Fenn, em 2002 (FENN, 2003).

O processo de ionização simplificado da fonte ESI é ilustrado na **Figura 2**, que demonstra o seu funcionamento à pressão atmosférica, e sob alta voltagem. Em linhas gerais, após a formação da gota na ponta do capilar, enriquecida em íons, há o aumento da densidade de carga e o aumento do campo elétrico formado entre o capilar e o contra eletrodo, provocando a deformação da gota que ganhará a forma de um cone, denominado cone de Taylor. Além disso, a medida em que ocorre a dessolvatação, o tamanho das gotas é reduzido até o ponto em que a força de repulsão entre as cargas fica maior que as forças de coesão da fase líquida (tensão superficial), resultando na "explosão coulômbica", que gera gotas com tamanhos menores até que são produzidos íons do analito a partir destas gotas, os quais são transferidos para o interior do espectrômetro de massas (MORAES &

LAGO, 2003; CROTTI, *et al.*, 2006; CHIARADIA, COLLINS, JARDIM, 2008; EL-ANEED *et al.*, 2009).

Figura 2: Ilustração simplificada da fonte ESI.



Fonte: Os autores

Os íons das moléculas (M) formados na fonte ESI podem apresentar-se de três formas distintas: íons moleculares, (M^+) ou (M^-); protonados ($[M + H]^+$) ou desprotonados ($[M - H]^-$); cationizados, ($[M + Na]^+$ e $[M + K]^+$) e/ou anionizados ($[M + Cl]^-$). A formação desses íons ocorre por reações redox, ácido-base e coordenação com cátions ou ânions, respectivamente (CROTTI, *et al.*, 2006; TAN *et al.*, 2022).

Geralmente, os adutos detectados no modo positivo são Na^+ , K^+ e NH_4^+ , e no modo negativo são Cl^- e CH_3CO^- . Além disso, conhecer o padrão isotópico de uma molécula é imprescindível para atribuir corretamente a sua fórmula molecular (VIJLDER *et al.*, 2018).

A fonte de ionização ESI também pode ser combinada com diversos analisadores de massas, como por exemplo, FT-ICR MS, contribuindo na separação e identificação de inúmeros íons gerados por compostos em diferentes matrizes (MAIA *et al.*, 2021; HERTEL PEREIRA *et al.*, 2022; CHAVEZ *et al.*, 2022).

FT-ICR MS é uma técnica que permite obter um dos mais elevados poder de resolução (*resolving power* - RP) e exatidão de massas (diferença entre a massa experimental e a teórica) dentre os diversos analisadores de massas existentes ($RP > 10\ 000\ 000$ e erro < 1 ppm). Nesse sentido, o RP indica a capacidade do analisador em medir valores de m/z com

diferenças mínimas da massa teórica, o que torna possível indicar a fórmula molecular com base no defeito de massa. Analisadores com alto valor de RP, como o FT-ICR MS, são capazes de inferir a fórmula molecular das espécies químicas analisadas (CcHhNnOoSs), o que torna esta técnica uma ferramenta poderosa para o campo de estudos das Ciências Ômicas como Proteômica, Metabolômica, Petroleômica e na investigação de misturas complexas (GUAN & MARSHALL, 1995; NIKOLAEV, KOSTYUKEVICH, VLADIMIROV, 2016).

A técnica de FT-ICR MS se baseia na medida da frequência de rotação do íon no campo magnético – frequência de ciclotron, sendo este método desenvolvido por Comisarow & Marshall (COMISAROW & MARSHALL, 1974; GROSS & REMPEL, 2022).

Os princípios básicos do analisador FT-ICR são baseados em um campo magnético que aprisiona os íons e transporta os mesmos para uma armadilha gerada pelo campo. Este sistema permite a excitação dos íons e a detecção dos sinais formados pela rotação de íons presentes no campo magnético em eletrodos de detecção e aprisionamento de íons. Para o aprisionamento dos íons, são utilizados campos elétricos e campos magnéticos de grande capacidade de atração (NIKOLAEV, KOSTYUKEVICH, VLADIMIROV, 2016, GUAN & MARSHALL, 1995).

Em algumas abordagens de MS de alta resolução, como o analisador FT-ICR, é possível determinar o erro de massas (erro = $(M_{\text{medido}} - M_{\text{teórico}}) / M_{\text{teórico}} \times 10^6$), e o valor de *double bond equivalent* (DBE) que pode ser calculado com a equação a seguir:

$$\text{DBE} = [\text{IV}] - [\text{I}/2] + [\text{III}/2] + 1$$

Em que, *I* representa átomos monovalentes, como o hidrogênio, cloro, bromo e iodo; *III* átomos trivalentes, por exemplo nitrogênio e fósforo; e *IV*

representa os átomos tetravalentes, como o carbono, na fórmula molecular (DOS SANTOS *et al.*, 2021).

Por outro lado, o analisador LTQ, é um dispositivo que usa um campo elétrico e radiofrequência oscilante para analisar íons. Além disso, este possui eficiência de injeção de íons e boa capacidade de armazená-los (LYRIO *et al.*, 2022).

Em geral, o LTQ possui a vantagem de ser um analisador robusto, compacto e de menor custo comparado a outros analisadores de massas como *time-of-flight* (TOF) e FT-ICR MS. Além disso, o LTQ possui alta capacidade de realizar experimentos multi-estágios de fragmentação, MS^n , isto é, ele permite o monitoramento de reações consecutivas, onde um íon selecionado pode ser fragmentado em um íon produto, e este íon produto resultante também pode ser fragmentado em etapas consecutivas adicionais, sem necessidade de aumentar o número de dispositivos combinados, como no caso de um analisador do tipo triplo quadropolo (HOFFMANN & STROOBANT, 2007; RAFFAELLI & SABA, 2023).

Além dos analisadores citados, diversos outros estão comercialmente disponíveis, e possuem específicas vantagens e potencialidades, que se relacionam a diferentes objetivos de estudo e tipos de analitos/amostras.

Nesse contexto, este trabalho visa avaliar diferentes amostras de fármacos e drogas de abuso, utilizando os analisadores de massas LTQ e FT-ICR MS, ambos com a fonte ESI, e comparar suas principais diferenças e destacar suas potencialidades, como poder de resolução e exatidão de massas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras e reagentes

As dez amostras analisadas neste estudo foram fármacos, utilizados em terapia clínica e veterinária, como hormônios, antibióticos e anti-inflamatórios, inseticida,

e drogas de abuso. Todas as amostras foram obtidas do banco de amostras do Laboratório Multiusuário de Petroleômica e Forense/LABPETRO, da Universidade Federal do Espírito Santo.

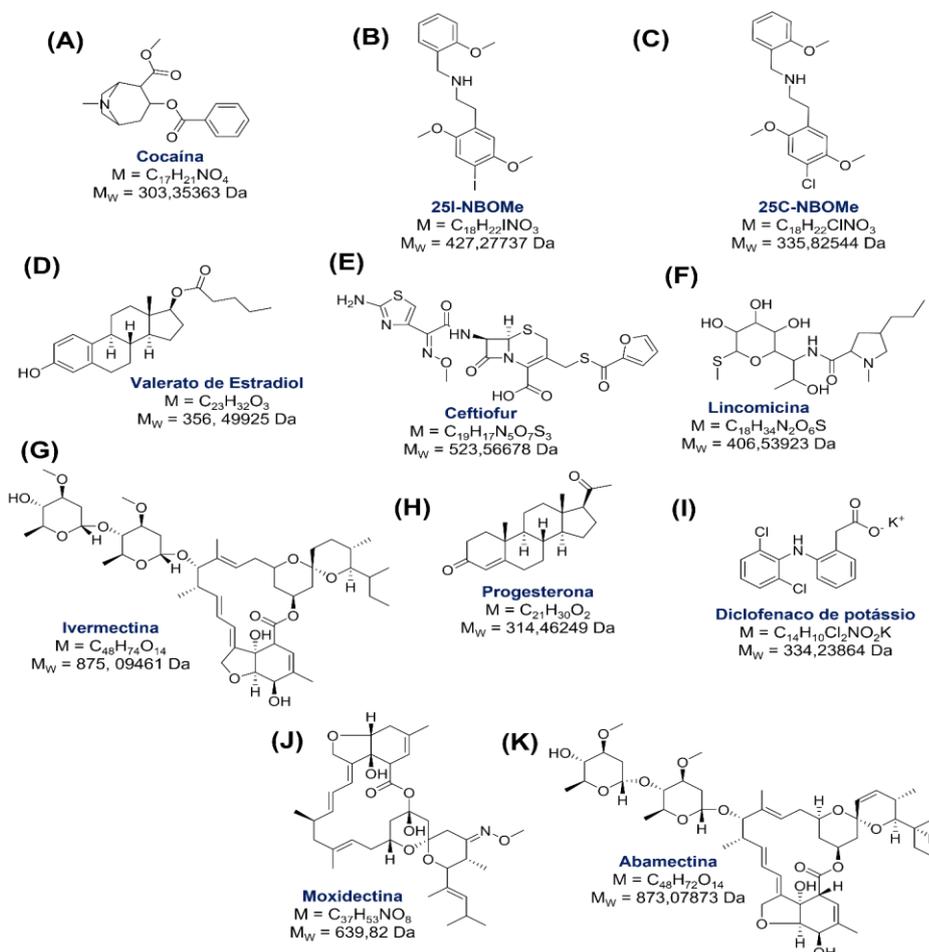
As sete amostras de fármacos de uso humano e veterinário foram: Abamectina ($C_{48}H_{72}O_{14}$); Ceftiofur ($C_{19}H_{17}N_5O_7S_3$), Diclofenaco de potássio ($C_{14}H_{10}Cl_2NO_2K$), Ivermectina ($C_{48}H_{74}O_{14}$), Moxidectina ($C_{37}H_{53}NO_8$), Progesterona ($C_{21}H_{30}O_2$), e Valerato de estradiol ($C_{23}H_{32}O_3$). O inseticida analisado foi o Lindomicina ($C_{18}H_{34}N_2O_6S$).

As drogas ilícitas analisadas foram: cocaína ($C_{17}H_{21}NO_4$) e selo, contendo 25I-

NBOMe ($C_{18}H_{22}INO_3$) e 25C-NBOMe ($C_{18}H_{22}ClNO_3$). Vale destacar que as amostras de drogas ilícitas são provenientes de um acordo de cooperação técnica, entre o Laboratório Multiusuário de Petroleômica e Química Forense da UFES e Polícia Civil do ES, Processo nº. 23068.022157/2020-69. As fórmulas estruturais das moléculas analisadas estão contidas na **Figura 3**.

As amostras foram pesadas, cerca de 0,05 - 2 mg, e solubilizadas em 1 mL de acetonitrila (ACN, grau HPLC, adquirido da Neon®) e água (50:50 v/v%). As concentrações das amostras variaram entre 50 ng/ml a 2000 ng/ml. Essa variação foi utilizada de acordo com a facilidade de ionização de cada composto.

Figura 3: Fórmulas estruturais dos fármacos e drogas de abuso analisados: (A) cocaína; (B) 25I-NBOMe (selo); (C) 25C-NBOMe; (D) valerato de estradiol; (E) ceftiofur; (F) lincomicina; (G) ivermectina; (H) progesterona; (I) diclofenaco de potássio; (J) moxidectina; e (K) abamectina.



Fonte: Os autores.

3.3 ANÁLISE DE ESI(+) MS

Todas as amostras foram analisadas utilizando Solarix FT-ICR MS, 9,4 T, (Bruker Daltonics) e o LTQ; LTQ XL™ (Thermo Fisher Scientific), e fonte de ionização ESI (Bruker e Thermo). Para análise de FT-ICR MS, utilizou-se a faixa de aquisição de íons no analisador entre m/z 154 e 2000. Os demais parâmetros instrumentais da fonte foram: pressão do gás nebulizador de 1,0 bar; temperatura do gás de secagem de 180 °C; voltagem do capilar de 4400 kV; tempo de acúmulo de íons de 0,1 s e taxa de fluxo de 1-10 $\mu\text{L}/\text{min}$. Os espectros de massas foram adquiridos e processados no *software Compass Data Analysis* (Bruker Daltonics). A molécula padrão utilizada na calibração do equipamento foi a Arginina (m/z 150 a 1500).

De modo comparativo, todas as amostras foram também analisadas utilizando o analisador de massas LTQ, modelo LTQ XL™ (Thermo Fisher Scientific) combinado com a fonte de ESI. Esse equipamento promove múltiplas formas de dissociação, o que permite uma caracterização MS^n , onde n pode variar de 2 a 10. Este equipamento utilizou a faixa de aquisição de íons no analisador entre m/z 50 e 1500. O modo de operação ESI foi: positivo (ESI(+)); gás auxiliar de 0,01; temperatura do capilar de 275°C; voltagem do capilar de 48 V; voltagem do tubo lens de 185/-157 V; tempo de acúmulo de íons de 0,1 s e taxa de fluxo de 0,04-0,08 $\mu\text{L}/\text{min}$. Para os experimentos de MS/MS foram utilizadas energias entre 15-35%, que foram ajustadas para cada analito monitorado.

Todos os espectros foram adquiridos e processados pelo *software* Xcalibur, versão 2.2 (Thermo Fisher Scientific).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PERFIS ESPECTRAIS DOS ANALITOS E RESOLUÇÃO DE MASSAS

Nas análises das amostras, por meio dos espectrômetros com analisadores FT-ICR e LTQ MS, foram obtidos os espectros de massas cujo perfil espectral pode ser visto nas **Figuras 4 e 5**, respectivamente.

Em linhas gerais, é possível observar como principal diferença a quantidade de sinais adquiridos durante o processo de ionização dos analitos, que incluem a formação de moléculas protonadas, com adutos, e na forma de dímeros protonados e com adutos. Essa diferença pode ser relacionada às características intrínsecas do equipamento e da fonte, e a capacidade dos seus respectivos analisadores de MS em detectar e discriminar os sinais.

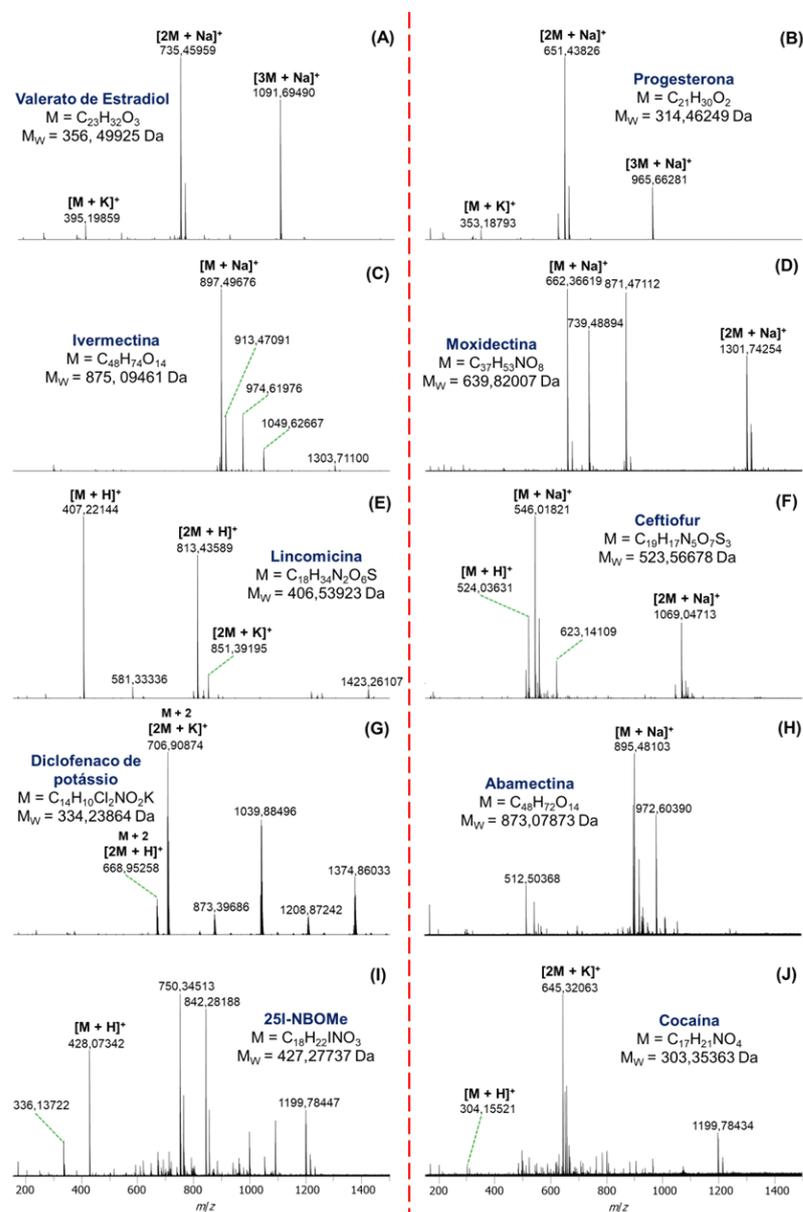
Na **Figura 4A-J**, é possível observar o perfil espectral dos espectros obtidos dos dez analitos por ESI(+)FT-ICR MS, todos com erros de massas <5 ppm, e resoluções variando entre 125.127 e 439.361, **Tabela 1**. Essas informações asseveram a alta resolução de massas do equipamento.

Entre as amostras analisadas, podem ser destacados os seguintes espectros; **Figura 4F**, referente ao composto que apresentou menores erros de massas nas análises por FT-ICR MS; o ceftiofur, detectado na forma protonada, $[\text{M} + \text{H}]^+$, m/z 524,03631 (-0,04 ppm), com aduto de sódio, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, m/z 546,01821 (0,04 ppm), e na forma de dímero com aduto de sódio, $[2\text{M} + \text{Na}]^+$, m/z 1069,04713 (0,11 ppm); a

ivermectina, **Figura 4C**, que também apresentou pequenos erros de massas para os íons detectados com aduto de potássio, $[M + K]^+$, m/z 897,49676 (0,35 ppm) e com aduto de sódio, $[M + Na]^+$, m/z 913,47091 (0,11 ppm); e a abamectina, **Figura 4H**, que foi detectada exclusivamente com aduto de sódio $[M + Na]^+$, m/z 895,48103 (0,44 ppm). Essa prevalência de detecção de íons com aduto pode ser justificada por diversos fatores,

tais como os próprios parâmetros da ionização, isto é, as configurações da fonte ESI que podem favorecer a formação desses íons, bem como devido a características intrínsecas das amostras e da etapa de preparo, como a disponibilidade do sódio e potássio, bem como devido a impurezas em solventes, frascos e até nas matrizes estudadas (ERNGREN, *et al.* 2019).

Figura 4: Perfis dos espectros de ESI(+)-FT-ICR MS para as moléculas: (A) valerato de estradiol; (B) progesterona; (C) ivermectina; (D) moxidectina; (E) lincomicina; (F) ceftiofur; (G) diclofenaco de potássio; (H) abamectina; (I) 25I-NBOMe/25C-NBOMe (selo); e (J) cocaína.

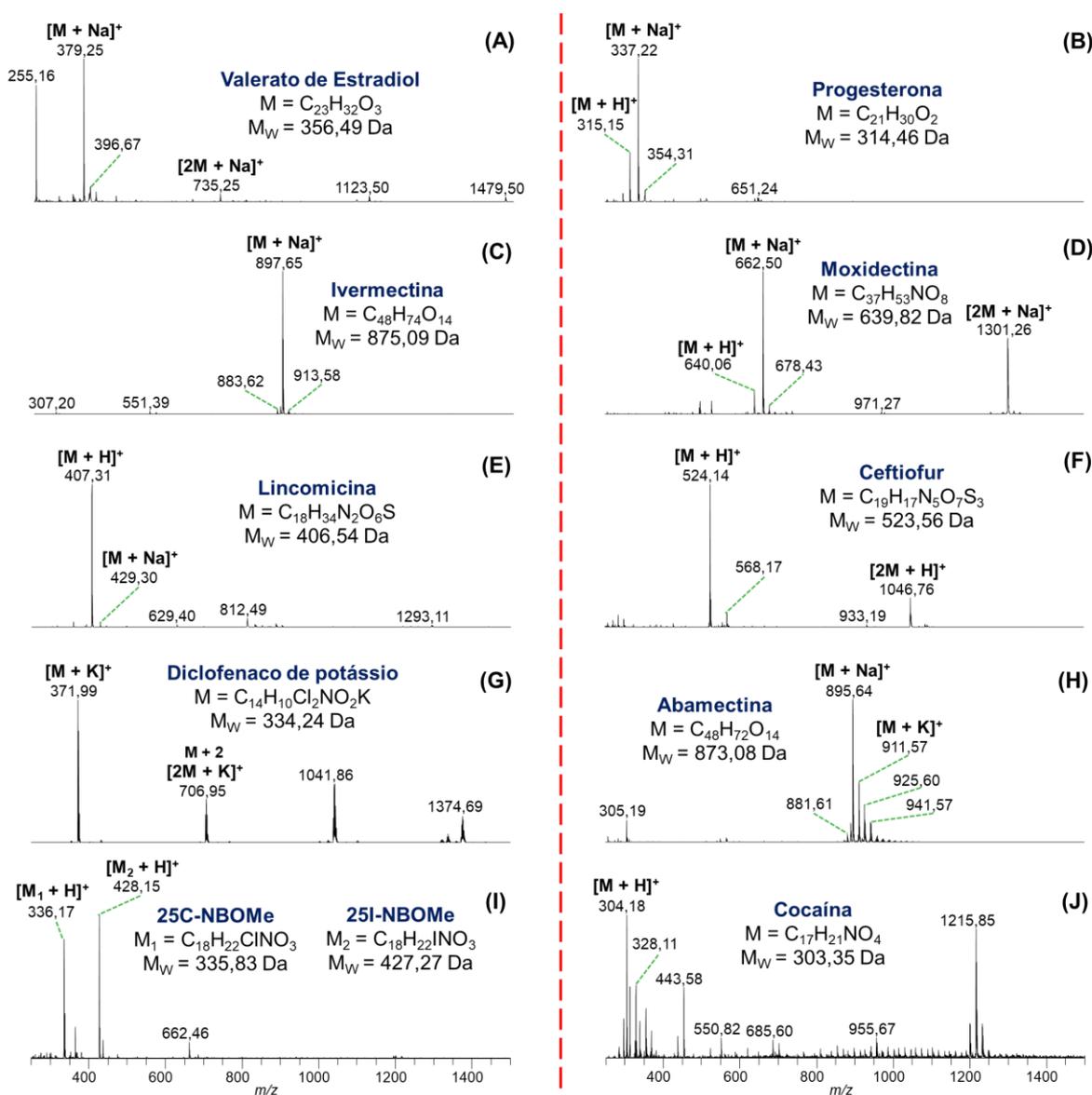


Fonte: Os autores.

Nos espectros adquiridos pelo equipamento ESI(+)-LTQ MS, **Figura 5A-J**, foi possível detectar vários sinais representativos de íons na forma de adutos e dímeros, no entanto, houve prevalência de detecção dos analitos como moléculas protonadas ($[M+H]^+$), **Tabela 2**, como por

exemplo, na **Figura 5B**, referente a progesterona, m/z 315,15; **Figura 5D**, moxidectina, m/z 640,06; **Figura 5E**, lincomicina, m/z 407,31; **Figura 5F**, ceftiofur, m/z 524,14; **Figura 5I**, 25I-NBOMe, m/z 428,15 e 25C-NBOMe, m/z 336,17; e **Figura 5J** cocaína, m/z 304,18.

Figura 5: Perfis dos espectros de ESI(+)-LTQ MS para as moléculas de: (A) valerato de estradiol; (B) progesterona; (C) ivermectina; (D) moxidectina; (E) lincomicina; (F) ceftiofur; (G) diclofenaco de potássio; (H) abamectina; (I) selo (25I-NBOMe/25C-NBOMe); (J) cocaína.



Fonte: Os autores.

O FT-ICR MS é um equipamento que possui um alto poder de resolução, capaz de alcançar resolução de 450000 à m/z 400, e isso lhe confere vantagem em relação a outros analisadores de massas. Em geral, para íons mono-carregados, com $m/z < 700$ Da, equipamentos de alta resolução podem realizar a diferenciação de compostos com um erro de massas de aproximadamente 1 ppm (MARSHALL *et al.*, 1998). Isso equivale a uma exatidão de massas até a

quarta casa decimal ($M_w = 700,0000$ e $700,0001$), como observado neste estudo, **Tabela 1**, onde grande parte dos erros de massas usando o equipamento FT-ICR MS, para os íons adquiridos variaram de 0,04-5 ppm. Diferente do que é observado nas análises com o analisador LTQ, que possui um poder de resolução de massa inferior (poder de resolução de aproximadamente 1000), **Tabela 2**.

Tabela 1. Atribuição de íons para os sinais de m/z dos compostos analisados pela técnica de ESI(+)-FT-ICR MS

Composto	Íon	m/z (exp)	m/z (teo)	Erro (ppm)	DBE	Resolução
abamectina C ₄₈ H ₇₂ O ₁₄	[M + Na] ⁺	895,48103	895,48143	0,44	13	183.991
	[M + H] ⁺	524,03631	524,03629	-0,04	14	297.556
ceftiofur C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O ₇ S ₃	[M + Na] ⁺	546,01821	546,01823	0,04	14	297.556
	[2M + Na] ⁺	1069,04713	1069,04724	0,11	27	297.556
diclofenaco de potássio C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NO ₂ K	[2M + H] ⁺	666,95552	666,95241	4,67	17	245.484
	[2M + K] ⁺	704,91180	704,90829	4,98	17	214.143
	[2M + H] ⁺ (M+2)	668,95258	668,96806	4,01	17	247.785
	[2M + K] ⁺ (M+2)	706,90874	706,92394	4,15	17	228.279
ivermectina C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	[M + Na] ⁺	897,49676	897,49708	0,35	12	181.166
	[M + K] ⁺	913,47091	913,47102	0,11	12	171.596
lincomicina C ₁₈ H ₃₄ N ₂ O ₆ S	[M + H] ⁺	407,22144	407,22103	-1,01	5	396.614
	[2M + H] ⁺	813,43589	813,43479	-1,35	9	197.204
moxidectina C ₃₇ H ₅₃ NO ₈	[M + Na] ⁺	662,36619	662,36634	0,23	12	248.458
	[2M + Na] ⁺	1301,74350	1301,74346	0,71	23	125.127
progesterona C ₂₁ H ₃₀ O ₂	[M + K] ⁺	353,18793	353,18774	-0,55	7	439.361
	[2M + Na] ⁺	651,43826	651,43838	-0,13	13	249.748
valerato de estradiol C ₂₃ H ₃₂ O ₃	[M + K] ⁺	395,19859	395,19830	-0,68	8	403.192
	[2M + Na] ⁺	735,45959	735,45951	-0,46	15	219.961
cocaína C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	[M + H] ⁺	304,15521	304,154335	-2,89	8	571.500
25I-NBOMe C ₁₈ H ₂₂ INO ₃	[M + H] ⁺	428,07342	428,071713	-3,99	8	367.910
25C-NBOMe C ₁₈ H ₂₂ CINO ₃	[M + H] ⁺	336,13722	336,13609	-3,36	8	467.100

Desse modo, comparativamente, o analisador FT-ICR possui uma resolução massas muito superior ao do LTQ, alcançando valores de m/z de alta exatidão, chegando próximo ao valor de massas teórico. Essa notável vantagem é

imprescindível para análises de amostras complexas e heterogêneas. Entretanto, o LTQ possui capacidade de fazer análise em *tandem* o que permite n fragmentações a partir do m/z de interesse. A formação de outros fragmentos favorece a identificação

do analito pela elucidação da sua estrutura proposta por mecanismos que justifiquem

as fragmentações.

Tabela 2. Atribuições para os sinais m/z dos compostos analisados pela técnica de ESI(+)-LTQ MS

Composto	Íon	m/z (exp)	m/z (teo)	DBE	Resolução
Abamectina $C_{48}H_{72}O_{14}$	$[M + Na]^+$	895,64	895,48143	13	1.848
Ceftiofur $C_{19}H_{17}N_5O_7S_3$	$[M + H]^+$	524,14	524,03629	14	1.207
	$[2M + H]^+$	1046,76	1047,06530	27	1.774
Diclofenaco de potássio $C_{14}H_{10}Cl_2NO_2K$	$[M + K]^+$	371,99	372,94355	9	888
	$[2M + K]^+$	704,96	706,92394	17	1.453
Ivermectina $C_{48}H_{74}O_{14}$	$[M + Na]^+$	897,65	897,49708	12	1.903
Lincomicina $C_{18}H_{34}N_2O_6S$	$[M + H]^+$	407,31	407,22103	3	952
	$[M + H]^+$	640,06	640,38439	12	1.011
	$[2M + Na]^+$	1301,26	1301,74346	23	1.690
Progesterona $C_{21}H_{30}O_2$	$[M + H]^+$	315,25	315,31857	7	722
	$[M + Na]^+$	337,22	337,21380	7	790
Valerato de Estradiol $C_{23}H_{32}O_3$	$[M + Na]^+$	379,26	379,22437	8	878
Cocaína $C_{17}H_{21}NO_4$	$[M + H]^+$	304,25	304,154335	8	891
25I-NBOMe $C_{18}H_{22}INO_3$	$[M + H]^+$	428,25	428,071713	8	1.260
25C-NBOMe $C_{18}H_{22}ClNO_3$	$[M + H]^+$	336,17	336,13609	8	792

4.2 ANÁLISE POR ESI(+)-FT-ICR MS (PERFIL ISOTÓPICO) E ESI(+)-LTQ MS/MS DOS ANALITOS POR GRUPOS

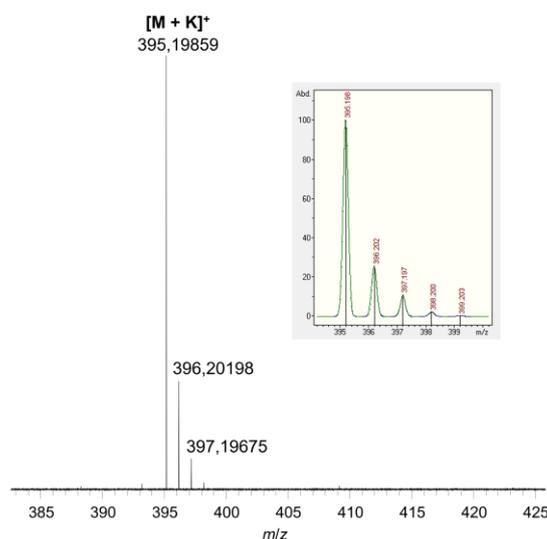
4.2.1 Grupo: Hormônios

- *Valerato de estradiol*

Ao realizar as análises por ESI(+)-FT-ICR MS, houve a detecção de vários íons adutos e dímeros do analito valerato de estradiol. A ionização não promoveu uma fragmentação extensiva e, inclusive, não houve a observação da presença da molécula protonada (m/z 356) como sinal abundante no espectro. Os sinais mais intensos observados foram m/z 395,19859, íon aduto de potássio $[M+K]^+$; e m/z 735,45959, dímero com íon aduto de sódio $[2M+Na]^+$.

O perfil isotópico ($M+1$, $M+2$, $M+3$, $M+4$, ...) do íon com aduto de potássio, formado durante a ionização, foi comparado com o perfil isotópico gerado pelo programa *Compass Isotope Pattern*, **Figura 6**.

Figura 6: Espectro de ESI(+)-FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico da molécula valerato de estradiol com aduto de potássio, $[M + K]^+$.



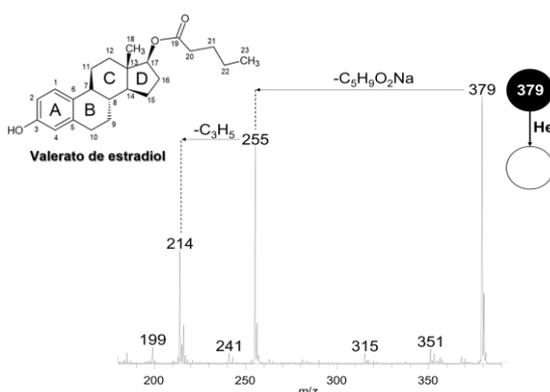
Fonte: Os autores

Essa consideração permite inferir que o analito utilizado corresponde efetivamente à molécula sugerida. No entanto, para consolidar tal indicação, o experimento de ESI(+)-LTQ MS/MS foi realizado. Essa mesma sequência de verificação dos íons sugeridos foi realizada para cada um dos analitos desse estudo, considerando um dos

íons mais intensos nos espectros adquiridos.

Sequencialmente, no experimento de ESI(+)LTQ MS/MS, o valerato de estradiol, íon detectado na forma de aduto de sódio $[M+Na]^+$, **Figura 7**, apresentou a transição principal m/z 379 \rightarrow 255, com a saída da molécula $C_5H_9O_2Na$, 124 Da, e sequencialmente transição m/z 255 \rightarrow 214, com perda de 41 Da, referente a molécula C_3H_5 . Essas fragmentações podem ser justificadas a partir de uma clivagem entre o C_{17} e o oxigênio do grupo éster, enquanto a detecção do íon m/z 214, na transição sequencial, pode ocorrer após a clivagem no anel D, formando uma insaturação no anel C, o que promove perda do radical $\bullet C_3H_5$ (m/z 41). De acordo com a literatura, clivagens no anel C e D são vias de fragmentações comuns, e, além disso, o resultado obtido, embora em diferente modo de ionização, foi semelhante ao discutido por outros autores (SUN *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2014).

Figura 7: Espectro de ESI(+)LTQ MS/MS para o valerato de estradiol, m/z 379.



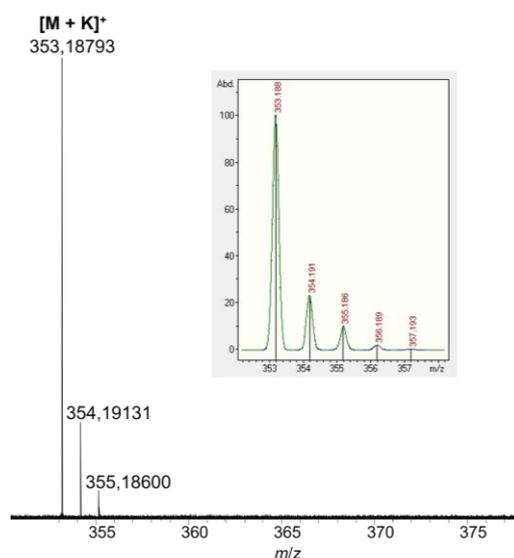
Fonte: Os autores.

• Progesterona

Na análise da progesterona, por FT-ICR MS, foram detectados íons adutos e dímeros, e entre os sinais prevalentes do espectro destacam-se: m/z 353,18793, com aduto de potássio $[M+K]^+$; 651,43826, e dímero com aduto de sódio $[2M+Na]^+$.

O perfil isotópico do íon mais prevalente, $[M+K]^+$, foi comparado com o perfil esperado para tal sinal, **Figura 8**. Essa consideração permite inferir que o analito corresponde efetivamente à molécula sugerida.

Figura 8: Espectro de ESI(+)FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico do íon com aduto de potássio da progesterona, $[M+K]^+$.

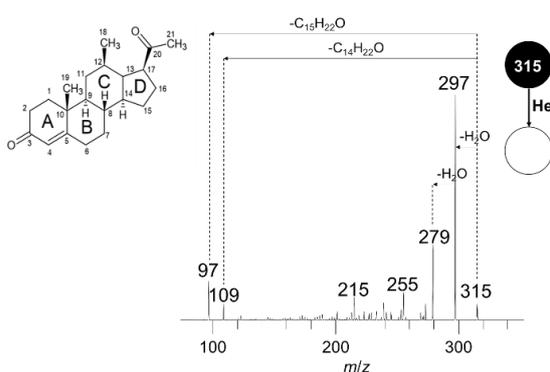


Fonte: Os autores

Por conseguinte, ao utilizar a técnica de ESI(+)LTQ MS/MS, foi observada a fragmentação da molécula protonada, m/z 315 que gerou três transições principais, **Figura 9**, e resultaram na detecção do m/z 297 (-18 Da, com a saída de uma molécula de água); m/z 109 (-206 Da, saída da molécula $C_{14}H_{22}O$); e m/z 97 (-218 Da, perda da molécula $C_{15}H_{22}O$). Além da transição sequencial m/z 297 \rightarrow 279 (-18 Da, com saída da molécula de água). Para justificar a detecção do íon m/z 109 e 97, sugere-se a ocorrência de clivagem a partir do anel B, com consequente dissolução do anel (JEILANI *et al.*, 2011; ILES & TRIVEDI, 2015; GRAVITTE *et al.*, 2021). Particularmente a transição m/z 315 \rightarrow 97, pode ser justificada pela clivagem do anel B e perda da metila ligada ao C_{10} para formação do fragmento m/z 97 (JEILANI *et al.*, 2011; GRAVITTE *et al.*, 2021).

Nas transições sequenciais m/z 315 \rightarrow 297 e m/z 297 \rightarrow 279, há perda neutra da molécula de H_2O a partir da carbonila do C_3 , para a formação do fragmento m/z 297, e a partir da carbonila do C_{20} , gerando o fragmento m/z 279 (ZHANG *et al.*, 2008; GRAVITTE *et al.*, 2021).

Figura 9: Espectros de ESI(+)LTQ MS/MS para o íon $[M+H]^+$: m/z 315 da progesterona.



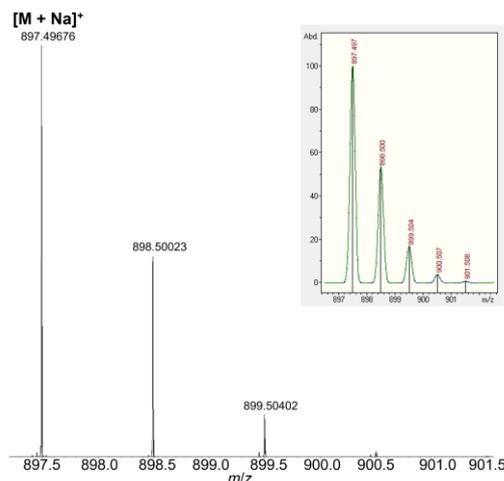
Fonte: Os autores

4.2.2 Grupo: Vermífugos

- *Ivermectina*

Ao utilizar a técnica FT-ICR-MS para o analito ivermectina, observou-se a detecção do composto com aduto de sódio $[M + Na]^+$, m/z 897,49676. O perfil isotópico deste íon mais prevalente, $[M+Na]^+$, foi comparado com o perfil esperado para tal sinal, **Figura 10**. Devido ao alto poder de resolução deste analisador de massas, o perfil isotópico corrobora com a identificação da molécula indicada, diferente do que é observado com o analisador com resolução unitária, onde há sinais “sobrepostos” e menos resolvidos, com áreas mais alargadas.

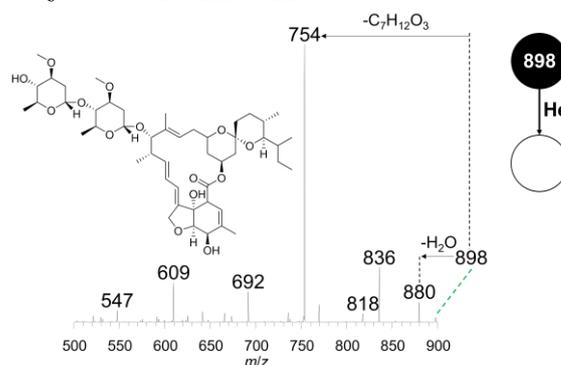
Figura 10: Espectro de ESI(+)FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico do íon com aduto de sódio da ivermectina, $[M + Na]^+$.



Fonte: Os autores

Sequencialmente, o experimento de ESI(+)LTQ MS/MS para o m/z 898, apresentou como transição principal 898 \rightarrow 754, com a perda neutra de 144 Da, que representa a saída da molécula $C_7H_{12}O_3$, após clivagem da ligação carbono-oxigênio entre os anéis contendo grupos éteres e hidroxila, **Figura 11**. Na transição 898 \rightarrow 880, há perda neutra de 18 Da, que representa a saída da molécula H_2O , a partir de um dos grupos hidroxila (LEHNER *et al.* 2009).

Figura 11: Espectro de ESI(+)LTQ MS/MS referente ao sinal $[M + Na]^+$ de m/z 898 da Ivermectina.



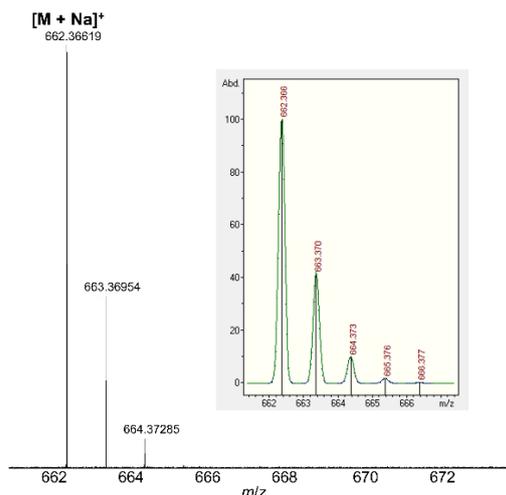
Fonte: Os autores

- *Moxidectina*

Para o vermífugo moxidectina, com a técnica ESI(+)-FT-ICR MS, observou-se a detecção da molécula com aduto de sódio, m/z 662,36619, $[M+Na]^+$, além do dímero do analito com sódio $[2M+Na]^+$, m/z 1301,74350.

O perfil isotópico do íon mais prevalente, $[M+Na]^+$, foi comparado com o perfil esperado para a molécula, **Figura 12**. A semelhança no perfil experimental com o teórico possibilita inferir que o analito corresponde efetivamente a molécula sugerida.

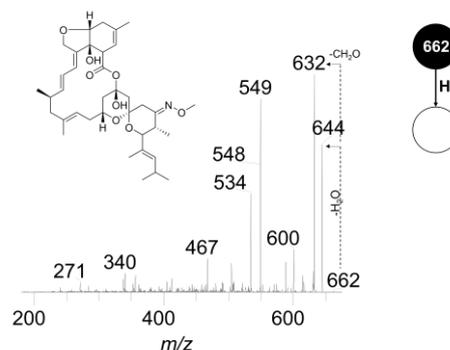
Figura 12: Espectro de ESI(+)-FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico do íon com aduto de sódio da moxidectina, $[M + Na]^+$.



Fonte: Os autores

O experimento de ESI(+)-LTQ MS/MS, para o m/z 662, **Figura 13**, referente a molécula com aduto de sódio, apresentou alguns sinais no espectro de fragmentação já reportados na literatura para confirmação da estrutura do composto moxidectina, como por exemplo a perda inicial de 18 Da, transição com m/z 662 \rightarrow 644, com a saída de uma molécula de água, e a transição principal 662 \rightarrow 632, com a perda de 30 Da, que representa a saída da molécula CH_2O , como já mostrado por Stout *et al.*, 1994 e 2000.

Figura 13: Espectro de ESI(+)-LTQ MS/MS referente ao sinal $[M + Na]^+$ de m/z 662 da moxidectina.



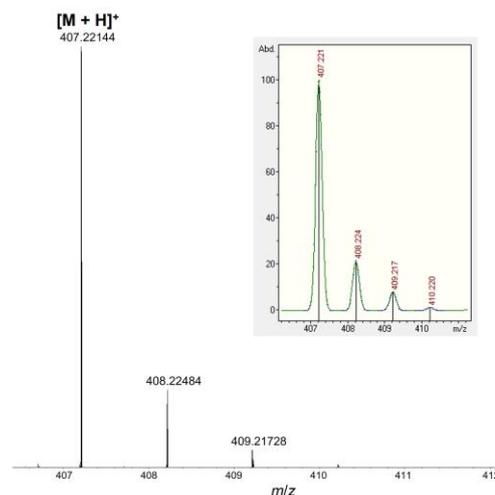
Fonte: Os autores

4.2.3 Grupo: Antibióticos

- *Lincomicina*

A análise por ESI(+)-FT-ICR MS da amostra de lincomicina apresentou como íon mais intenso a molécula protonada $[M+H]^+$, m/z 407,22144, além do sinal do dímero protonado, $[2M+H]^+$ de m/z 813,43589 (HO *et al.*, 2003). A comparação do perfil isotópico obtido experimentalmente relaciona-se com o esperado para a molécula sugerida, corroborando assim para sua confirmação, **Figura 14**.

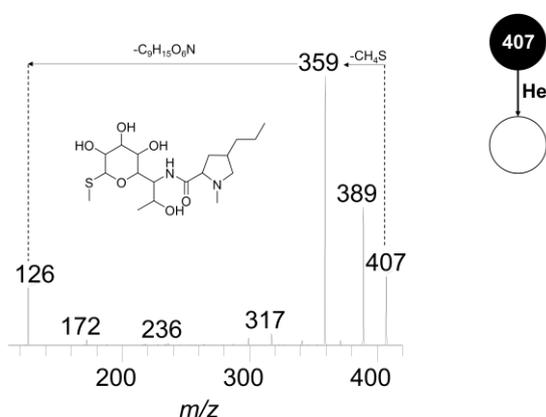
Figura 14: Espectro de ESI(+)-FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico da lincomicina protonada, $[M + H]^+$.



Fonte: Os autores

A análise de ESI(+)-LTQ MS/MS, **Figura 15**, apresentou como transição principal m/z 407 \rightarrow 359, com perda de 48 Da, que representa a saída do grupo CH_4S , metanotiol da molécula, e fragmentação sequencial, m/z 359 \rightarrow 126, com a saída da molécula $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_6\text{N}$ (233 Da), e detecção do íon 3-propil-*N*-metilpirrolidina, semelhante ao representado anteriormente por DOUŠA *et al.*, 2006.

Figura 15: Espectro de ESI(+)-LTQ MS/MS do íon $[\text{M}+\text{H}]^+$ de m/z 407 da Lincomicina.

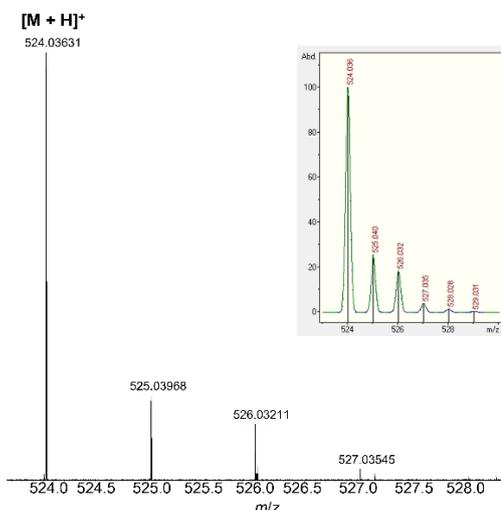


Fonte: Os autores

• Cefitiofur

Ao analisar o antibiótico cefitiofur, houve a detecção do sinal do analito com aduto de sódio $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 546,01821, e dímero $[2\text{M} + \text{Na}]^+$, m/z 1069,04713. No entanto, foi observada a prevalência de detecção do analito na forma protonada, $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 524,03631. A expansão do espectro de possibilita a confirmação do perfil isotópico da molécula sugerida semelhante ao esperado, **Figura 16**.

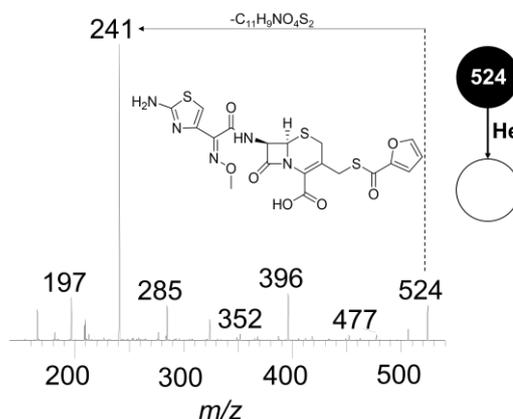
Figura 16: Espectro de ESI(+)-FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico do cefitiofur protonado, $[\text{M} + \text{H}]^+$.



Fonte: Os autores

O experimento de ESI(+)-LTQ MS/MS, para o m/z 524, **Figura 17**, referente a molécula protonada, apresentou como transição principal m/z 524 \rightarrow 241, com a saída da molécula $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_4\text{S}_2$, com a perda de 283 Da, como anteriormente apresentado no trabalho de LIM *et al.*, 2011.

Figura 17: Espectro de ESI(+)-LTQ MS/MS do íon $[\text{M}+\text{H}]^+$ de m/z 524, molécula Cefitiofur.



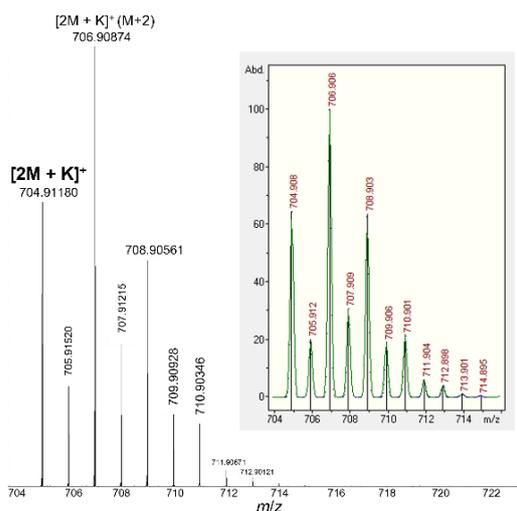
Fonte: Os autores

4.2.4 Grupo: Anti-inflamatório

- *Diclofenaco de potássio*

Ao realizar a ionização por ESI(+) do composto diclofenaco de potássio pelo analisador FT-ICR MS, foi possível observar a detecção dos dímeros; protonado $[2M+H]^+$, m/z 666,95552, e com aduto de potássio $[2M+K]^+$, m/z 704,91180. O perfil isotópico obtido, **Figura 18**, corrobora com a confirmação da indicação da molécula diclofenaco de potássio.

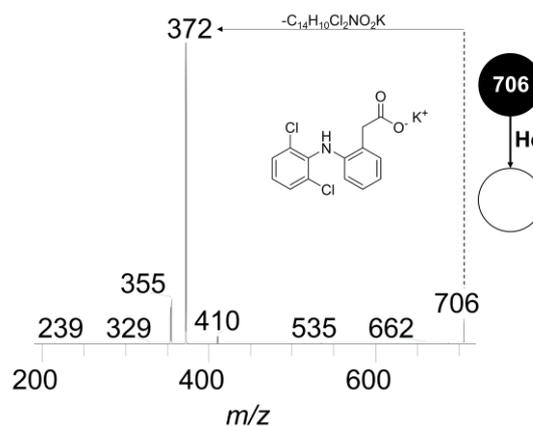
Figura 18: Espectro de ESI(+)FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico do dímero com aduto de potássio do diclofenaco de potássio, $[2M + K]^+$.



Fonte: Os autores

O experimento de ESI(+)LTQ MS/MS foi realizado para a molécula $M+2$, m/z 706, **Figura 19**, que apresentou como transição principal m/z 706 \rightarrow 372, indicando a saída da molécula $C_{14}H_{10}Cl_2NO_2K$, com a perda de 334 Da, que representa a perda de uma molécula do diclofenaco de potássio detectado.

Figura 19: Espectro de ESI(+)LTQ MS/MS para o diclofenaco de potássio, m/z 706.



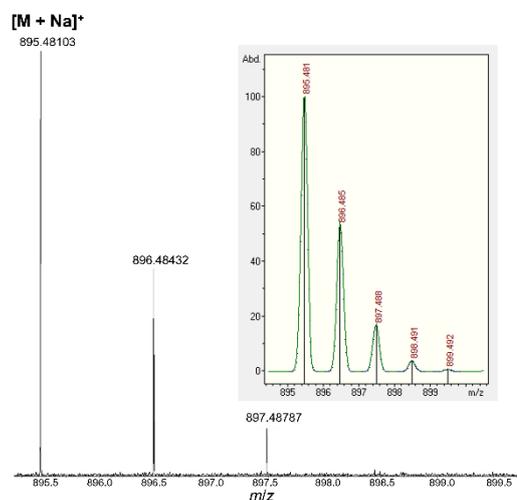
Fonte: Os autores

4.2.5 Grupo: Inseticidas

- *Abamectina*

Para a análise da abamectina por ESI(+)FT-ICR MS, o sinal do analito foi detectado com aduto de sódio $[M+Na]^+$, m/z 895,48103, semelhante ao observado por ESI(+)LTQ MS. Novamente há confirmação do perfil isotópico, conforme mostrado na **Figura 20**.

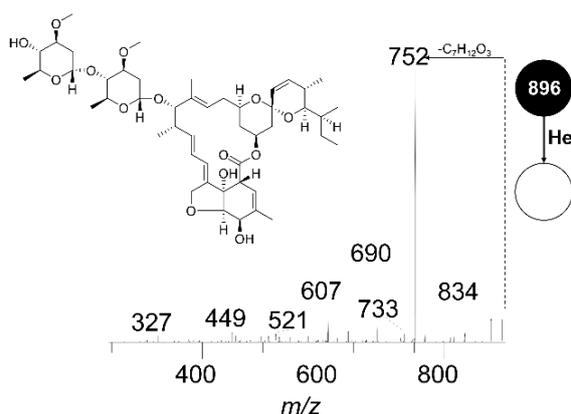
Figura 20: Espectro de ESI(+)FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico do íon com aduto de sódio da abamectina, $[M + Na]^+$.



Fonte: Os autores.

Sequencialmente, a análise de ESI(+)-LTQ MS/MS, da molécula sodiada de abamectina, **Figura 21**, apresentou como transição principal m/z 896 \rightarrow 752, com perda de 144 Da, que representa a saída de uma molécula de $C_7H_{12}O_3$ (POZO *et al.* 2003).

Figura 21: Espectro de ESI(+)-LTQ MS/MS da abamectina, m/z 896.



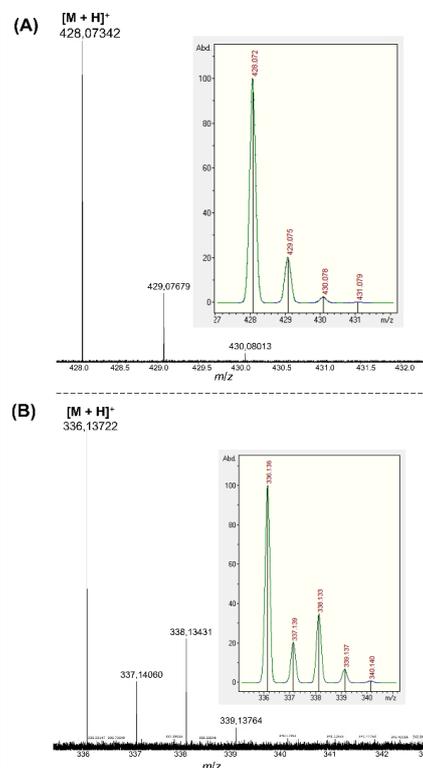
Fonte: Os autores

4.2.6 Grupo: Drogas de abuso

- *NBOMes*

Na análise do selo por ESI(+)-FT-ICR MS, as moléculas de 25I-NBOMe e 25C-NBOMe foram detectados, de forma prevalente, como moléculas protonadas, $[M+H]^+$, m/z 428,07342 e m/z 336,13722, respectivamente. Os perfis isotópicos asseveram a indicação das moléculas sugeridas para esses sinais, **Figura 22A-B**.

Figura 22: Espectros de ESI(+)-FT-ICR MS comparados com os padrões isotópicos das moléculas protonadas, $[M+H]^+$ (A) 25I-NBOMe, e (B) 25C-NBOMe, amostra de selo.

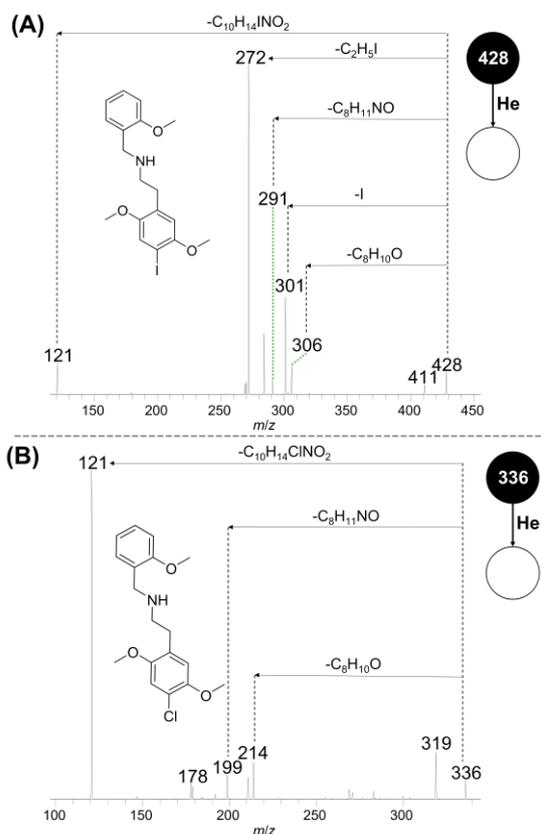


Fonte: Os autores

Nos experimentos de ESI(+)-LTQ MS/MS para o sinal de m/z 428, **Figura 23A**, entre as rotas possíveis de fragmentação do íon, nota-se como transição principal 428 \rightarrow 272, que indica o rearranjo da estrutura do 25I-NBOMe após perda de uma molécula neutra de CH_3IN (-156 Da). Por outro lado, a detecção do m/z 301, indica a saída do átomo de I (-127 Da) da estrutura principal, como sugerido por Santos, *et al.*, 2016.

Para o m/z 336 (**23B**), a fragmentação principal resulta na detecção do m/z 121, que ocorre devido a clivagem indutiva do íon $[M+H]^+$ (TYLER & JACKSON, 2019).

Figura 23: Espectros de ESI(+)-LTQ MS/MS do sinal (A) m/z 428 e (B) m/z 336, do selo apreendido.

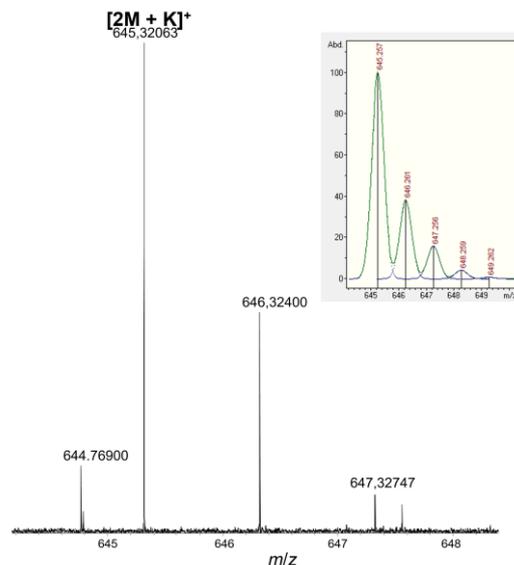


Fonte: Os autores

- *Cocaína*

Por fim, na análise da droga ilícita apreendida cocaína, os sinais prevalentes observados foram; a cocaína protonada, $[M+H]^+$, m/z 304,15521, e o dímero da molécula com aduto de potássio, $[2M+K]^+$, m/z 645,32063. O perfil isotópico do dímero da molécula de cocaína com aduto de potássio foi verificada em comparação ao perfil esperado utilizando o *Compass Isotope Pattern*, conforme **Figura 24**, que confirmou a indicação sugerida

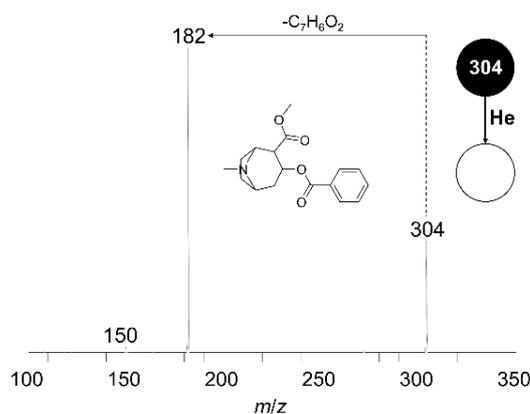
Figura 24: Espectro de ESI(+)-FT-ICR MS comparado com o padrão isotópico do dímero da cocaína com aduto de potássio, $[2M + K]^+$.



Fonte: Os autores

No experimento de ESI(+)-LTQ MS/MS para o sinal m/z 304, **Figura 25**, há a detecção como fragmento principal do m/z 182, que representa a eliminação da molécula $C_7H_6O_2$, -122 Da, justificada pela transferência de próton do átomo de nitrogênio para o oxigênio do éster e, em seguida, ocorrência de eliminação de ácido benzoico (DIAS, *et al*, 2018).

Figura 25: Espectro de ESI(+)-LTQ MS/MS do sinal de m/z 304, cocaína.



Fonte: Os autores

5 CONCLUSÕES

Este trabalho apresenta a aplicação e comparação da técnica de espectrometria de massas utilizando dois equipamentos e analisadores distintos, isto é, de alta (FT-ICR MS) e baixa (LTQ XL MS) resolução aplicados a diferentes analitos e classes de compostos. De acordo com os dados obtidos infere-se que a técnica de espectrometria de massas é uma importante ferramenta aplicável em diversas áreas, corroborando com a determinação estrutural de compostos que apresentem diferentes níveis de complexidade. A fonte de ionização ESI, utilizada nesse estudo, apresentou-se como uma alternativa eficiente na ionização dos diferentes analitos. Ao associar ESI com o FT-ICR MS, observou-se que este analisador possui maior poder de resolução e exatidão de massa, com faixa de erro de 0,04 - 5 ppm. De um modo geral, a técnica empregada mostrou-se bastante adequada para determinação da composição elementar da maioria dos padrões com acurácia. Em contrapartida, com o uso da técnica ESI(+)-LIT MS, configura-se como um analisador extremamente importante devido, principalmente, a sua alta capacidade de realizar experimentos multi-estágios de fragmentação que corroboram na elucidação estrutural do composto identificado sugerido.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES ((Código Financeiro 1), (23038.007083/2014-40), FAPES (CNPq/FAPES N° 23/2018 - PRONEM (596/2018 e 597/2018); FAPES/CNPq/Decit-SCTIE-MS/SESA N° 09/2020 – PPSUS (165/2021); FAPES N° 03/2021 - UNIVERSAL (492/2021); FAPES n° 15/2022 - PROFIX 2022 (714/2022 P: 2022-SS849); FAPES N° 019/2022 - Núcleos capixabas de excelência em pesquisa (991/2022 P: 2022-5KMF0); e EDITAL FAPES N° 21/2022 - Apoio à Infraestrutura de pesquisa (1069/2022 P: 2022-98VRN)), e CNPq

(310057/2020-5, INCT Forensic 465450/2014-8 e 422555/2018-5) pelo suporte financeiro. Os autores também gostariam de agradecer a Polícia Civil do Espírito Santo, e ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo, ao Laboratório Multiusuário de Petroleômica e Forense/LabPetro pelo uso de suas instalações, e ao Centro Multiusuário para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação de Vila Velha - Ifes.

REFERÊNCIAS

- BRUINS, Andries P. Mechanistic aspects of electrospray ionization. **Journal of Chromatography A**, v. 794 n.1-2, p. 345–357, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)01110-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01110-2)
- CHAVEZ, Juan D. *et al.*. Applications and advancements of FT-ICR-MS for interactome studies. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 41, n. 2, p. 248-261, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/mas.21675>
- CHIARADIA, Mariza C.; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel CSF. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, v. 31, p. 623-636, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000300030>
- COMISAROW, Melvin B.; MARSHALL, Alan G. Fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy. **Chemical physics letters**, v. 25, n. 2, p. 282-283, 1974. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(74\)89137-2](https://doi.org/10.1016/0009-2614(74)89137-2)
- CROTTI, Antonio E. M. *et al.* Espectrometria de massas com ionização

por “electrospray”: processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Quim. Nova**, Vol. 29, n. 2, p. 287-292, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200020>

DASS, C. **Fundamentals of contemporary mass spectrometry**. John Wiley & Sons, 2007.

DE ALMEIDA, Camila M. *et al.* Designer drugs analysis by LDI (+), MALDI (+) and MALDI (+) imaging coupled to FT-ICR MS. **Microchemical Journal**, v. 149, p. 104002, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104002>

DE VIJLDER, Thomas *et al.* A tutorial in small molecule identification via electrospray ionization-mass spectrometry: The practical art of structural elucidation. **Mass spectrometry reviews**, v. 37, n. 5, p. 607-629, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/mas.21551>

DIAS, Herbert J. *et al.* Gas-phase fragmentation reactions of protonated cocaine: new details to an old story. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 53, p. 203–213, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.4053>

DOUŠA, Michal *et al.* HPLC determination of lincomycin in premixes and feedstuffs with solid-phase extraction on HLB OASIS and LC-MS/MS confirmation. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 40, n. 4, p. 981-986, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.07.041>

DOS SANTOS, Maíra Kerpel *et al.* Paper spray ionization coupled to Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry as a tool to fight the counterfeiting of medicines. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 468, p. 116649, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2021.116649>

EL-ANEED, Anas; COHEN, Aljandro; BANOUB, Joseph. Mass spectrometry, review of the basics: electrospray, MALDI, and commonly used mass analyzers. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 44, n. 3, p. 210-230, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1080/05704920902717872>

ERNGREN, Ida *et al.* Adduct formation in electrospray ionisation-mass spectrometry with hydrophilic interaction liquid chromatography is strongly affected by the inorganic ion concentration of the samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1600, p. 174-182, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.04.049>

FENN, John B. Electrospray wings for molecular elephants (Nobel lecture). 42., 25 **Angewandte Chemie - International Edition**. v. 42, p. 3871–3894, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.200300605>

GASKELL, Simon J. Electrospray: principles and practice. **Journal of mass spectrometry**, v. 32, n. 7, p. 677-688, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9888\(199707\)32:7<677::AID-JMS536>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9888(199707)32:7<677::AID-JMS536>3.0.CO;2-G)

GRAVITTE, Amy. *et al.* Liquid chromatography–mass spectrometry applications for quantification of

endogenous sex hormones. **Biomedical Chromatography**, v. 3, p. e5036, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/bmc.5036>

GROSS, Michael L.; REMPEL, Don. A Perspective on Personal Contributions to FT-ICR Mass Spectrometry. **Mass spectrometry reviews**, v. 41, n. 2, p. 178, 2022. DOI: [10.1002/mas.21657](https://doi.org/10.1002/mas.21657)

GUAN, Shenheng; MARSHALL, Alan G. Ion traps for Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: principles and design of geometric and electric configurations. **International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes**, v. 146, p. 261-296, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0168-1176\(95\)04190-V](https://doi.org/10.1016/0168-1176(95)04190-V)

HERTEL PEREIRA, Ana C. *et al.* Analysis of *Gliricidia sepium* Leaves by MALDI Mass Spectrometry Imaging. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 33, n. 3, p. 573-583, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/jasms.1c00367>

HO, Chung S. *et al.* Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 24, n. 1, p. 3, 2003.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. **Mass spectrometry**, Wiley: London, 2007.

HÖRING, Marcus *et al.* Quantification of Cholesterol and Cholesteryl Ester by Direct Flow Injection High-Resolution Fourier Transform Mass Spectrometry Utilizing Species-Specific Response Factors. **Analytical Chemistry**, vol. 91, no. 5, p. 3459–3466, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05013>

ILES, Ray K.; TRIVEDI, Drupad. K. Matching Shotgun Metabolomic Ions from Urine Samples to Reference Standards and the HMDB Database for Metabolite Identification: It is Not as Straight-Forward as You Think. **Chromatography Separation Techniques**, v. 6, n. 2, p. e129, 2015. DOI: [10.4172/2157-7064.1000e129](https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000e129)

JEILANI, Yassin A.; CARDELINO, Beatriz H.; IBEANUSI, Victor M. Hydrogen rearrangement and ring cleavage reactions study of progesterone by triple quadrupole mass spectrometry and density functional theory. **Journal of mass spectrometry**, v. 46, n7, p. 625-34, 2011. DOI: [10.1002/jms.1931](https://doi.org/10.1002/jms.1931).

KIM, Sunghwan; RODGERS, Ryan P.; MARSHALL, Alan G. Truly “exact” mass: Elemental composition can be determined uniquely from molecular mass measurement at ~0.1 mDa accuracy for molecules up to ~500 Da. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 251, n. 2-3, p. 260-265, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2006.02.001>

LEHNER, Andreas F. *et al.* ESI+ MS/MS confirmation of canine ivermectin toxicity. **Journal of mass spectrometry**, v. 44, n. 1, p. 111-119, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.1477>

LIM, Young-Hee *et al.* Identification of ceftiofur oxidation products by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. **Mass Spectrometry Letters**, v. 2, n. 1, p.

16-19, 2011. DOI:
10.5478/MSL.2011.2.1.016

LYRIO, Marcos V. V. *et al.* Comparando o desempenho de dois analisadores de massas (FT-ICR MS & LTQ MS): uma aula experimental sobre análise de compostos orgânicos. **Quim. Nova**, v. 45, n. 4, p. 455-465, 2022. DOI:
<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170832>

MAIA, Marisa *et al.* FT-ICR-MS-based metabolomics: A deep dive into plant metabolism. **Mass Spectrometry Reviews**, 2021. DOI:
<https://doi.org/10.1002/mas.21731>

MARSHALL, Alan G.; HENDRICKSON, Christopher L.; JACKSON, George S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer. **Mass Spectrometry Reviews**, 17: p. 1-35, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2787\(1998\)17:1<1::AID-MAS1>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2787(1998)17:1<1::AID-MAS1>3.0.CO;2-K)

MEURER, Eduardo C. **Espectrometria de massas para iniciantes**. 1 ed. Curitiba: Editora Appris, 2020.

MORAES, Maria Carolina B.; LAGO, Claudimir Lucio do. Espectrometria de massas com ionização por "electrospray" aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. **Química nova**, v. 26, p. 556-563, 2003. DOI:
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000400019>

NIKOLAEV, Eugene N.; KOSTYUKEVICH, Yury I.; VLADIMIROV, Gleb N. Fourier transform ion cyclotron resonance (FT ICR) mass spectrometry: Theory and

simulations. **Mass spectrometry reviews**, v. 35, n. 2, p. 219-258, 2016. DOI:
<https://doi.org/10.1002/mas.21422>

POZO, O. J. *et al.* Determination of abamectin and azadirachtin residues in orange samples by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 992, n. 1-2, p. 133-140, 2003. DOI:
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00325-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00325-X)

RAFFAELLI, Andrea; SABA, Alessandro. Ion scanning or ion trapping: Why not both?. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 42, n. 4, p. 1152-1173, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.1002/mas.21746>

SANTOS, Pamela F. *et al.* 2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)-n-[(2-metoxifenil)metil]etamina ou 25I-NBOMe: caracterização química de uma designer drug. **Química nova**, v. 39, n. 2, p. 229-237, 2016. DOI:
<https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150178>

SILVERSTEIN, Robert M. *et al.* **Spectrometric Identification of Organic Compounds**, 7th ed, 2005.

SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, James. **Fundamentos de química analítica**. 8 ed. Sao Paulo: Cengage Learning, 2009.

STOUT, Steven J. *et al.* Moxidectin: characterization of cattle, sheep, and rat in vitro and in vivo metabolites by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 2, p. 388-392, 1994.

STOUT, Steven J. *et al.* Confirmation of moxidectin residues in cattle fat by liquid chromatography/mass spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 83, n. 6, p. 1446-1450, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/83.6.1446>

SUN, Yongkai *et al.* Ultrafiltration tandem mass spectrometry of estrogens for characterization of structure and affinity for human estrogen receptors. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, n. 2, p. 271-279, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2004.11.002>

TAN, Siyuan *et al.* Investigation on the binary ionization choices for large conjugated amines during electrospray ionization. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 36, n. 15, p. e9330, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.9330>

TSYBIN, Yury O.; NAGORNOV, Konstantin O.; KOZHINOV, Anton. **Fundamentals and Applications of Fourier Transform Mass Spectrometry**, Elsevier, p. 113-132. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814013-0.00005-3>.

TYLER, Davidson J.; JACKSON, Glen P. The differentiation of 2,5-dimethoxy-N-(N-methoxybenzyl)phenethylamine (NBOMe) isomers using GC retention indices and multivariate analysis of ion abundances in electron ionization mass spectra. **Forensic Chemistry**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forc.2019.100160>

VAZ, Boniek G.; MORAES, L. A. B.; ROMÃO, W. **Fundamentos da Espectrometria de Massas e Aplicações**.

In: BEATRIZ, A.; LACERDA Jr., V.(Org.). **Fundamentos de Espectrometria e Aplicações**. 1ed. São Paulo: Atheneu, v. 7, p. 1-65, 2017.

ZHANG, Ting-Lan *et al.* Fragmentation pathways of five estrogens using electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Yao xue xue bao= Acta Pharmaceutica Sinica**. v. 49, n. 4, p. 507-12, 2014.

ZHANG, Yufeng *et al.* Characterization of Progesterone Derivatives by LC-DAD-ESI/MSn and Its Application to the Identification of Impurities in Flurogestone Acetate. **Chromatographia**, v. 68, p. 903-909, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1365/s10337-008-0838-5>