

Espectrometría de masas

Repaso

La **Espectrometría de Masas (MS)** es una técnica analítica que permite **determinar el Peso Molecular y la Estructura Molecular** de una molécula a partir de medir la **relación masa/carga (m/z)** de iones.

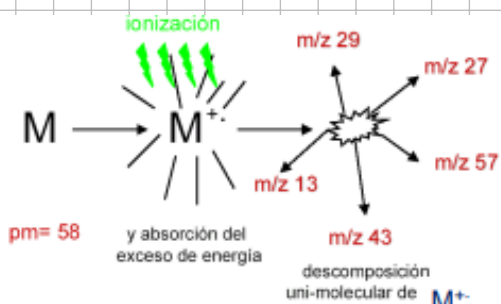
ESPECTROMETRÍA



- Vamos a tener una **fuente de ionización** y con el **analizador de masas** **separa iones** que luego van a ser detectados
- Como la ionización atraviesa la materia y se obtienen iones, es una **técnica destructiva**, no puedo recuperar la muestra pero se usa muy poca cantidad de ella, ya que es una técnica muy sensible

Características

- Casi todos los **elementos de la tabla periódica** se pueden determinar mediante la espectrometría de masas
- **Ventajas:**
 - 1) los **límites de detección** que, para muchos elementos, son tres órdenes de magnitud mejores que en los métodos ópticos;
 - 2) **espectros notablemente sencillos** que casi siempre son únicos y a menudo se interpretan con facilidad y
 - 3) capacidad para **medir relaciones isotópicas atómicas**.
- **Desventajas:**
 - 1) el **costo del instrumento** es de dos a tres veces mayor comparado con los instrumentos ópticos atómicos,
 - 2) la **deriva del instrumento** puede ser de 5 a 10% por hora y
 - 3) ciertos tipos de **interferencia**.



- Solo se **detectan fragmentos con carga**
- Podemos ver la molécula "completa" \rightarrow **ion molecular**
 \hookrightarrow se conoce el **peso molecular**
- El **ion molecular** puede fragmentarse
 \hookrightarrow vemos los fragmentos de una molécula
 \hookrightarrow existe un **patrón de ruptura** característico de una molécula
 \hookrightarrow **información estructural**

- **Información que provee:**
 - **Peso molecular**
 - **Fórmula molecular** (alta resolución)
 - **Estructura** (patrón de fragmentación)

- **Características generales:**
 - \hookrightarrow "Capaz de **vaporizar sustancias** de volatilidades muy diferentes.
 - \hookrightarrow "Capaz de generar los **iones** a partir de las **moléculas neutras** en fase gaseosa.
 - \hookrightarrow "Capaz de **separar los iones** acorde a su **relación m/z** .
 - \hookrightarrow "Capaz de **detectar los iones** formados y **registrar esta información** apropiadamente.

Espectrometría de masas

- instrumento que **produce iones** y los **separa** de acuerdo con sus relaciones **masa/carga, m/z** . La mayor parte de los iones que se estudian tienen una sola carga, de modo que la relación es simplemente el número de masa del ion

Introducción de la muestra \rightarrow Ionización / fragmentación \rightarrow analizador \rightarrow detección y registro

1 En la entrada se introduce una cantidad muy pequeña de muestra en la fuente de iones, donde los componentes de dicha muestra se transforman en iones gaseosos gracias al bombardeo con electrones, fotones, iones o moléculas. Otra manera de lograr la ionización es aplicar energía térmica o eléctrica.

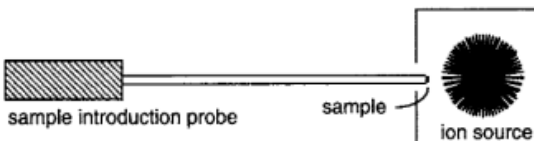
2 La salida de la fuente de iones es un flujo de iones positivos, que es lo más común, o iones negativos gaseosos que son acelerados en el analizador de masas. En el analizador de masas la dispersión depende de la relación masa-carga de los iones del analito y no de la longitud de onda de los fotones

3 Contiene un transductor que convierte el haz de iones en una señal eléctrica que pueda ser procesada, almacenada en la memoria de una computadora y mostrada en una pantalla o almacenada en otros medios.

Requieren un complejo sistema de vacío para mantener una presión baja en todos los componentes, excepto en los sistemas para procesar la señal y de lectura. La presión baja asegura colisiones no frecuentes en el espectrómetro de masas para producir y conservar iones y electrones libres.

Introducción de la muestra:

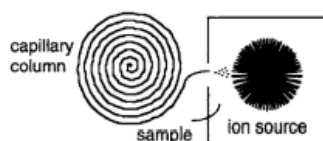
Inserción directa (sólidos o líquidos)



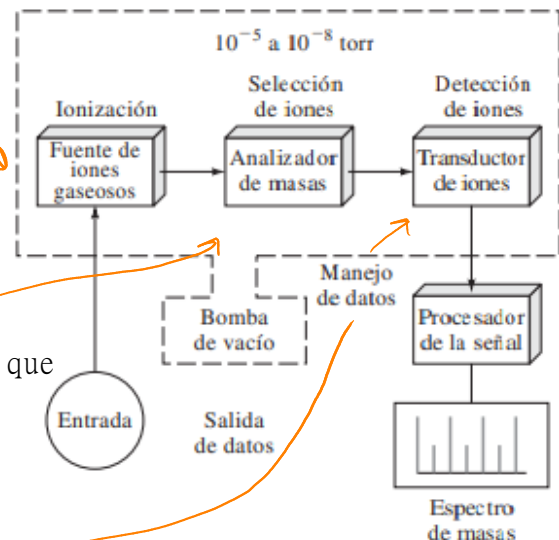
Los líquidos y sólidos no volátiles se pueden introducir en una sonda que se inserta a través de un cierre de vacío.

Las sondas se utilizan también cuando la cantidad de muestra es limitada, debido a que se pierde mucho menos muestra que con el sistema de entrada indirecto. En una sonda, la muestra se pone casi siempre en la superficie de un tubo capilar de vidrio o de aluminio, un alambre fino o un recipiente pequeño. Generalmente, el suministro de la muestra se hace calentándola y enfriándola en la sonda.

Infusión directa: capilar o columna capilar (líquidos y gases)



El sistema de entrada ordinario, y el más simple, es el indirecto, en el cual la muestra se volatiliza en el exterior y luego se permite que se fugue a la región de ionización que está a baja presión



El sistema requiere alto vacío

10^{-5} - 10^{-8} torr para proporcionar a los iones un camino libre de colisiones

Bombas: turbomoleculares o difusoras

Ionización

Métodos de ionización: mecanismo por el cual tiene lugar la ionización de una molécula como

- eyección de e^- ;
- captura electrónica,
- protonación,
- cationización,
- desprotonación y
- transferencia de molécula cargada desde la fase condensada a la fase gaseosa.

Fuentes de ionización: dispositivo mecánico que permite que la ionización ocurra. Ejemplos:

- Impacto electrónico,
- Ionización química,
- Bombardeo de átomos rápidos (FAB),
- Desorción Láser asistida por una matriz (MALDI),
- Electronebulización (ESI).

Métodos de ionización

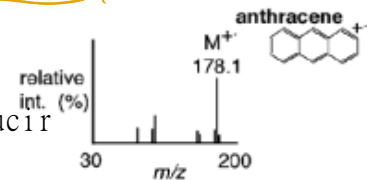
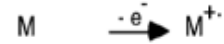
• **Eyección de un e^-** → similar al impacto electrónico

→ La molécula es impactada con e^- y pierde uno generando una carga positiva neta, radical cation

→ Logra la ionización mediante la expulsión de un electrón para producir un $1+$ carga positiva neta, a menudo formando cationes radicales.

→ La alta fragmentación que se da tiene que ver con la energía de estos e^- que impactan

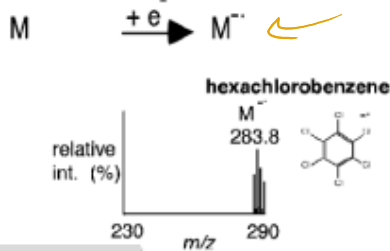
Eyección de un e^-



Formación de radicales cationes. Compuestos no polares de bajo PM. Alta fragmentación.

Captura de un e^-

Carga neta (-). Compuestos con alta afinidad electrónica. Ej. Halogenados.



→ Compuestos con alta afinidad electrónica, gralmente comp halogenados y de bajo PM

→ No pierden e^- sino que ganan, se generan radicales aniones.

→ Una carga negativa neta de $1-$ es logrado con la absorción o captura de un electrón.

→ Se debe trabajar con equipos que detecten aniones

Protonación

→ Participan compuestos que se puedan protonar, necesitan de algún sitio básico que pueda tener afinidad por capturar H^+ .

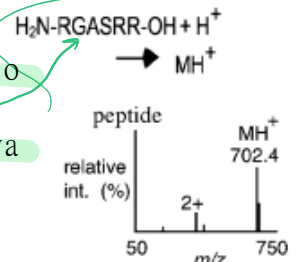
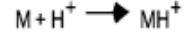
→ Se añade un protón a una molécula, produciendo una carga neta positiva de $1+$ para cada protón añadido. Cargas positivas tienden a residir en los residuos más básicos de la molécula, como las aminas, para formar cationes estables.

→ Se generan cationes

→ Hay muy poca fragmentación, casi nula. Se detecta el ion molecular principalmente

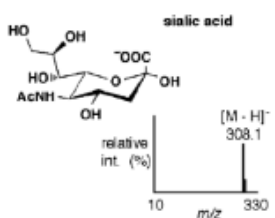
→ Los péptidos suelen estar ionizados. mediante protonación

Protonación



Sobre sitios básicos: aminas en péptidos. Carga neta (+)

Desprotonación



Sobre sitios ácidos: fenoles, ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos. Carga neta (-)

→ La carga negativa neta de $1-$ se consigue mediante la eliminación de un protón de una molécula.

→ Necesitamos trabajar con un equipo de aniones, no se detecta nada sino

→ Son muy útiles para ácidos. especies que incluyen fenoles, carboxílicos ácidos y ácidos sulfónicos

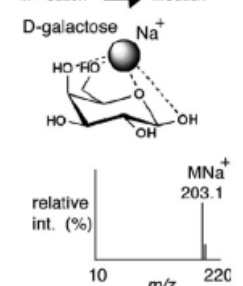
Desprotonación

Cationización

→ Similar a la protonación, pero en lugar de protones la molécula adquiere cationes.

→ Produce un complejo cargado mediante la adición no covalente de un ion cargado positivamente a una molécula neutra.

Cationización



Adición de iones. Formación de complejo no covalente. Ej. Na^+ , K^+ , NH_4^+ . Carbohidratos. Carga neta (+)

→ La unión de cationes, en lugar de protones a una molécula es naturalmente menos covalente, por lo tanto, la carga permanece localizado en el catión. Esto minimiza deslocalización de la carga y fragmentación de la molécula.

→ Útil con moléculas inestables a protonación.

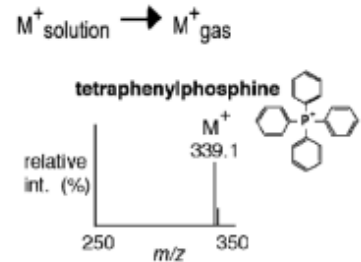
→ El ion molecular ahora es la molécula de interés + Na/K/NH₄

Transferencia de fase

→ Ya poseo una especie cargada pero en solución y necesito que pase a fase gaseosa, que se volatilice para poder detectarla en masas

→ Esto ocurre desorbiendo o eyectando a esa especie con carga desde la fase condensada a la fase gaseosa

Transferencia de fase



Por desorción o eyección de la especie con carga a la fase gaseosa

Fuentes de ionización

Tipo básico	Nombre y acrónimo	Agente ionizante
Fase gaseosa	Impacto de electrones (IE)	Electrones energéticos
	Ionización química (IQ)	Iones gaseosos reactivos
	Ionización por campo (IC)	Electrodo de potencial elevado
Desorción	Desorción por campo (DC)	Electrodo de potencial elevado
	Ionización por electronebulización (IEN)	Campo eléctrico elevado
	Desorción-ionización asistida por una matriz (MALDI)	Haz de láser
	Desorción por plasma (DP)	Fragments de fisión de ²⁵² Cf
	Bombardeo con átomos rápidos (BAR)	Haz de átomos energéticos
	Espectrometría de masas de iones secundarios (EMIS)	Haz de iones energéticos
	Ionización por termonebulización (IT)	Alta temperatura

• Fuentes de fase gaseosa: → primero se hace vapor la muestra y luego se ioniza
 → están restringidas a la ionización de compuestos térmicamente estables que tengan temperaturas de ebullición por debajo de 500°C
 → compuestos con masas moleculares menores de alrededor de 10³ Da.

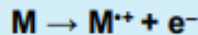
• Fuentes de desorción: → la muestra, en estado sólido o líquido, se transforma directamente en iones gaseosos.
 → Una ventaja es que son aplicables a muestras no volátiles y térmicamente inestables
 → aplicables a compuestos que tienen masas moleculares mayores de 10⁵ Da

Impacto electrónico

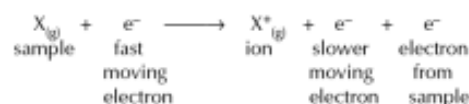
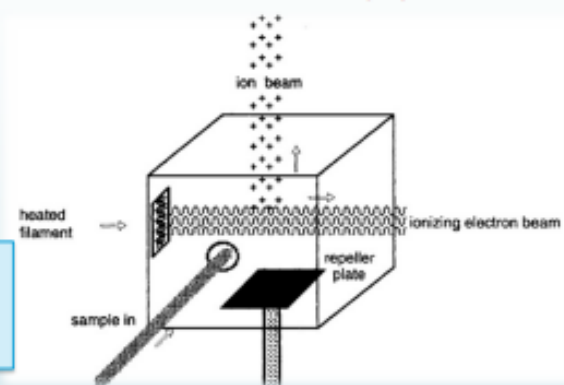
→ La muestra se sometía a una temperatura suficientemente elevada como para producir un vapor molecular, el cual se ionizaba después bombardeándolo con un haz de electrones de elevada energía.

→ Se dispara un haz de electrones acelerados a una muestra; esto produce que las moléculas adquieran estados vibracionales y rotacionales altamente excitados.

Alta fragmentación.
Mecanismo involucra principalmente eyección de un e⁻.



Para moléculas de polaridad baja o media de PM hasta 500.



→ La relajación posterior tiene lugar mediante una elevada fragmentación que origina un gran número de iones positivos de diferentes masas menores que la del ion molecular

En cierto tipo de moléculas la fragmentación es tan efectiva que no queda ningún ion molecular. Sin ningún ion de la molécula, se pierde información importante para determinar la masa molecular del analito.

Este método funciona para moléculas de polaridad baja o media hasta de PM 500.

Una limitación de este tipo de fuentes es la necesidad de volatilizar la muestra, lo cual podría ocasionar la degradación térmica de algunos analitos antes de que se produzca la ionización.

IMPACTO ELECTRONICO	
Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sensibilidad sub-pM a pM ➤ Disponibilidad de biblioteca de espectros (NIST) > 200000 compuestos ➤ Uso de patrones de fragmentación para identificar compuestos por comparación ➤ Información estructural 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Limitados PM (500) debido a desorción térmica (volatilidad) ➤ Posible descomposición por calentamiento antes de vaporizar ➤ Demasiada fragmentación, resultando a veces en ausencia de ion molecular.

• Ionización química

Los átomos gaseosos de la muestra se ionizan al chocar con los iones que se producen al bombardear con electrones un exceso de gas reactivo.

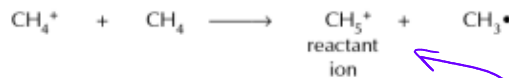
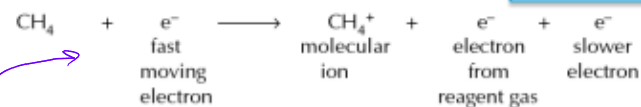
Generalmente se utilizan iones positivos, aunque la ionización química de iones negativos se utiliza a veces en aquellos analitos que contienen átomos muy electronegativos.

Uno de los reactivos más comunes es el metano, que reacciona con electrones de energía elevada para producir varios iones como CH_4^+ , CH_3^+ y CH_2^+ . Los dos primeros predominan y representan alrededor de 90% de los productos.

Estos iones reaccionan rápidamente con moléculas de metano adicionales.

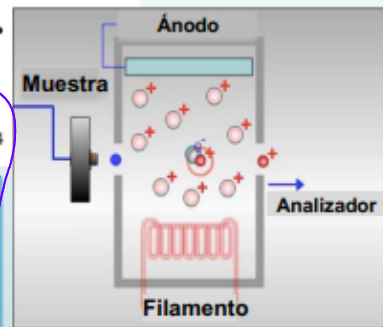
Los choques entre la molécula del analito MH y CH_5^+ o C_2H_5^+ son muy reactivos y ocasionan la transferencia de protones o de hidruros.

Ionización química (CI)



Poca fragmentación. Mecanismo involucra principalmente protonación.

Moléculas de PM hasta 500.



• Desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI)

Técnica analítica de ionización muy utilizada para biomoléculas.

El analito se co-cristaliza con un exceso del compuesto de la matriz, el cual absorbe energía en el UV. La muestra se irradia con un láser. La matriz se vaporiza llevando al analito cuando absorbe la energía. La matriz para MALDI debe absorber de manera intensa la radiación láser. Después, la matriz y el analito son desorbidos y ionizados, lo que produce un penacho de iones.

Permite obtener información exacta sobre las masas moleculares de biopolímeros polares que varían desde algunos miles a varios cientos de miles de daltons. Compuestos de alto PM (500kDa).

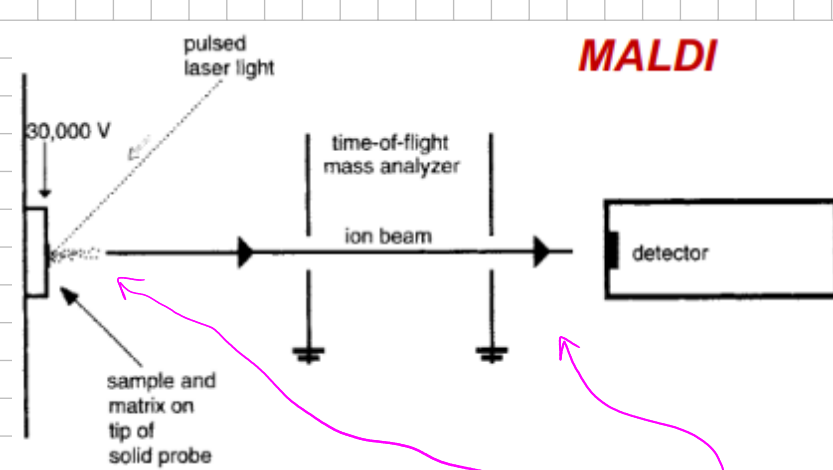
MATRICES TÍPICAS		
<p>ácido α-ciano-4-hidroxicinámico (α-ciano o HCCA) péptidos y glicoproteínas</p>	<p>ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxicinámico (ácido sinapínico) péptidos y proteínas</p>	<p>ácido 2,5-dihidroxi benzoico (DHB) péptidos y pequeñas proteínas</p>

Al ser la mayoría de las matrices ácidos y trabajar con péptidos y proteínas, estos últimos se protonan. Se supone que el analito desorbe como moléculas neutras, luego se ionizará por

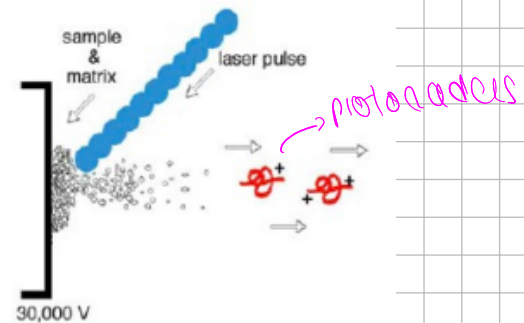
medio de reacciones de transferencia de protones. Ionización ocurre por protonación o cationización (si la matriz tiene iones como Na en el medio).

Estas reacciones se efectúan con iones protonados en la matriz y en una fase densa sobre la superficie en la que está la matriz. Es posible que una serie de reacciones fotoquímicas produzca los iones de matriz protonados.

El mecanismo de la formación del penacho de iones en MALDI no se entiende aún por completo, pero las opiniones dicen que tiene que ver con la absorción del rayo láser por parte de la matriz seguida de la transferencia de energía desde la matriz al analito. Después se produce la desorción del analito y la matriz



Concentración de muestra
20-50 μM (5 μL)



Una baja concentración del analito se dispersa de manera uniforme en una matriz sólida o líquida que está depositada en el extremo de una sonda de acero inoxidable, o colocada en una placa de metal.

Esta última se coloca luego en una cámara de vacío y un rayo láser se enfoca sobre la muestra.

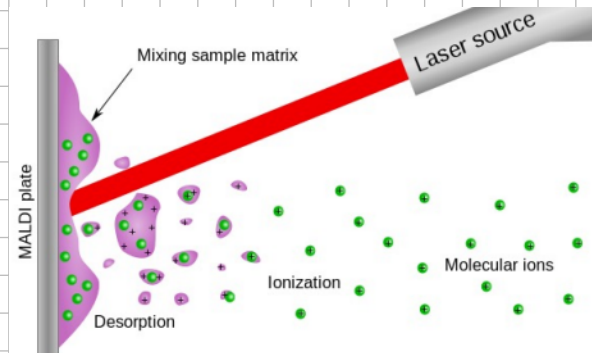
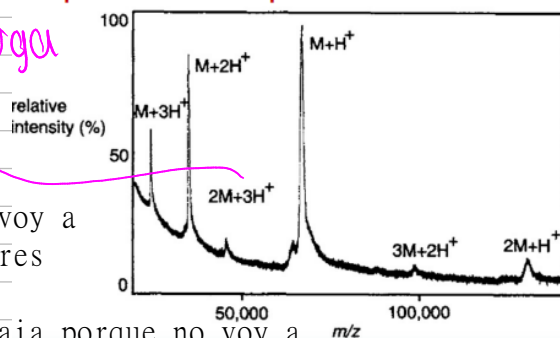
Esto se va desorbiendo arrastrando a la molécula de interés y entrará en un analizador de masas hasta llegar al detector

Iones con multicarga

Como se ve una relación m/z , si la carga es mayor, lo voy a estar viendo a menores relaciones m/z

es una ventaja porque no voy a necesitar un espectrómetro que analice masas muy grandes, voy a tener mas acotado y en un menor intervalo se detectan moléculas grandes

Espectro MALDI de la proteína albúmina sérica bovina



MALDI

Ventajas	Desventajas
➤ PM al menos hasta 300 kDa.	➤ Background de la matriz. Interferencia por debajo de 700 Da. Depende de la matriz
➤ Sensibilidad en el orden de fmol a pmol. Atomol es posible.	➤ Posible fotodegradación por desorción láser/ionización.
➤ Ionización blanda con poca fragmentación.	➤ La matriz ácida puede causar degradación de algunos compuestos.
➤ Tolerancia a sales hasta mM.	➤ Problemas de reproducibilidad para análisis cuantitativo.
➤ Permite análisis de mezclas complejas.	

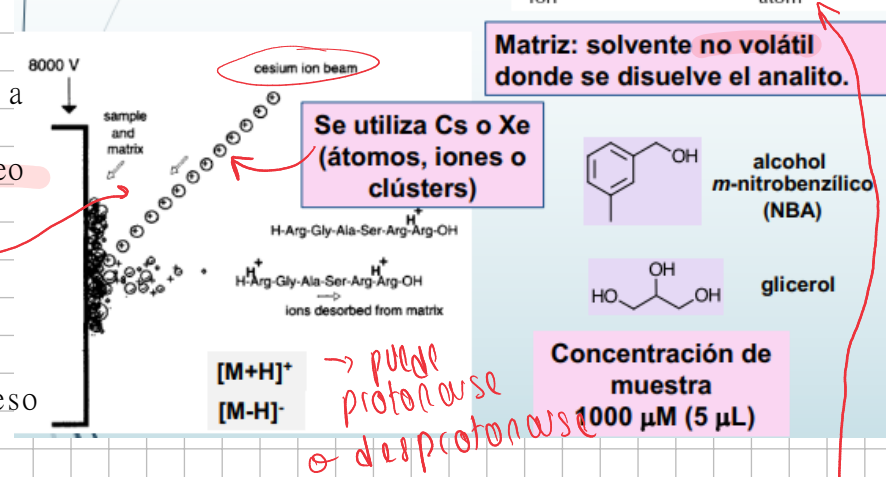
Ionización por bombardeo de iones de átomos ligeros (FAB)

Estudio de especies polares de elevada masas molecular

Las muestras en un estado condensado, a menudo en una matriz de una solución viscosa, se ionizan mediante un bombardeo con átomos de xenón o argón de elevada energía (varios kV).

Tanto los iones positivos como los negativos del analito son expulsados de la superficie de la muestra por un proceso de desorción.

Ionización por bombardeo de iones de átomos ligeros (FAB)



Este tratamiento ocasiona un calentamiento muy rápido de la muestra, lo que reduce su fragmentación.

La matriz líquida ayuda a reducir la energía de la red, la cual debe ser superada para desorber un ion de la fase condensada y provee un medio para "reparar" el daño inducido por el bombardeo

Tenemos un ion rapido de Xe que reacciona con otro atomo de Xe y le transfiere la energia cinetica volviendose un atomo rapido. Estos son los que impactan en la muestra. El haz de átomos rápidos se obtiene haciendo pasar iones acelerados de argón o xenón de una fuente o cañón de iones a través de una cámara que contiene átomos de argón o de xenón a una presión de alrededor de 10^{-5} torr. Los iones a elevada velocidad experimentan una reacción de intercambio de electrones en resonancia con los átomos, sin que se produzca una pérdida sustancial de energía traslacional. Por consiguiente, se forma un haz de átomos de alta energía. Los iones de baja energía que resultan del intercambio se eliminan con rapidez mediante un sistema de desviación electrostática.

Cuando el bombardeo con átomos rápidos se aplica a compuestos orgánicos o bioquímicos por lo regular se producen cantidades importantes de iones moleculares, así como fragmentos de iones, incluso para muestras de elevada masas molecular y térmicamente inestables

Entre las desventajas del bombardeo con átomos rápidos están

- los valores restringidos de las masas moleculares,
- la necesidad de cantidades de muestra mayores para la ionización por choque de electrones,
- la necesidad de hallar una matriz apropiada en la que el analito sea soluble y el ruido de referencia que resulta de la formación de acumulaciones de iones procedentes de la matriz.

Ventajas

➤ PM hasta 7 kDa.

➤ Análisis rápido.

Desventajas

➤ Caída de sensibilidad a valores de masa altos

➤ Comparada con MALDI o ESI es poco sensible. Requiere altos pmoles a nanomol de material.

➤ La matriz ácida puede causar degradación de algunos compuestos.

Tolerancia a sales mM

➤ Fácil adaptación para alta resolución (masas exactas). La matriz puede ser referencia para el análisis de masas exactas.

Poca fragmentación, limitada información estructural.

➤ Alto background de picos de la matriz.

➤ Solubilidad del compuesto en la matriz

➤ Poca utilidad para especies no polares.

➤ Ionización blanda con poca fragmentación. Obtención de ion molecular

Electron Volatilización (ESI)

- Se producen moléculas ionizadas gaseosas desde una solución líquida.
- Se producen especies con carga múltiple.

Concentración de muestra
20-50 μM (50 μL)

La disolución de la muestra se bombea a través de una aguja capilar de acero inoxidable a razón de algunos microlitros por minuto. La aguja se mantiene a un potencial de varios kilovoltios respecto al electrodo cilíndrico que la rodea.

La niebla de finas gotitas cargadas resultante pasa después por un capilar de desolvatación, donde se produce la evaporación del solvente y donde las moléculas del analito adquieren la carga.

Debido a que las gotitas se vuelven más pequeñas por efecto de la evaporación del solvente, su densidad de carga aumenta hasta que la tensión superficial ya no puede soportar la carga en un punto llamado límite de Rayleigh. Aquí sucede la llamada explosión de Coulomb y la gotita se divide en pequeñísimas gotitas.

El proceso se repite en éstas hasta que el solvente es eliminado del analito; entonces sólo quedará una molécula del analito con múltiples cargas

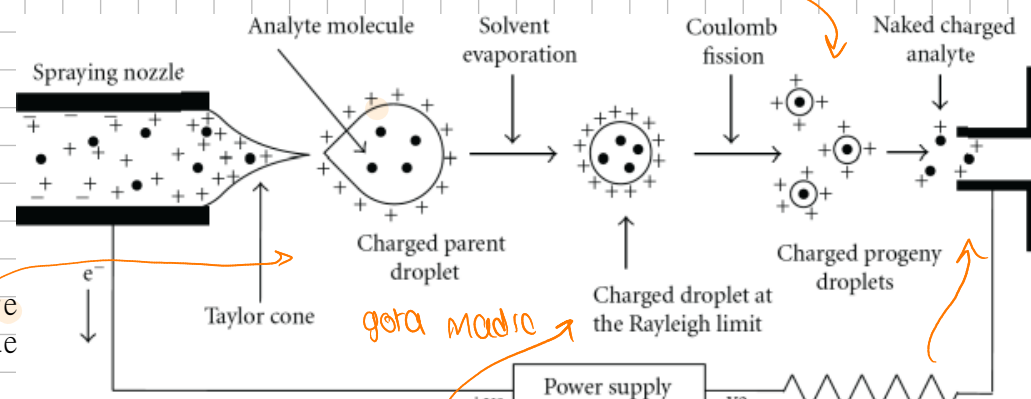
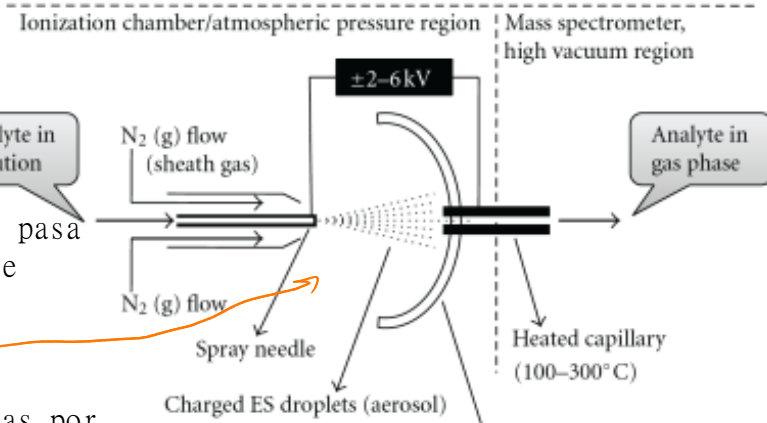
Primero se produce la gota madre cargada que tiene mi molécula de interés dentro, pero también contiene solvente. Se evapora el mismo y se obtiene una gota más pequeña con el analito cargado y estará en el límite de Rayleigh. Sucede una fisión culombica obteniéndose gotas cada vez más chicas hasta que se obtiene el analito desnudo cargado que llega al analizador

Puede cargarse como cuantos sitios básicos tenga la molécula

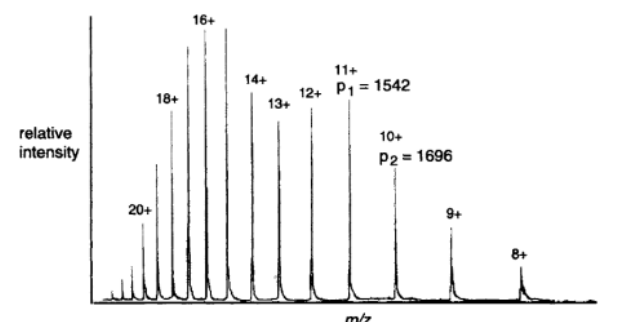
Análisis de biomoléculas, como polipéptidos, proteínas y oligonucleótidos cuyas masas moleculares son de 100 000 Da o superiores. Especies inorgánicas y polímeros de síntesis

Podemos tener gotas de alrededor de 1 micrometro de diametro, si tienen 0,2 micrometros de diametro hablamos de fuentes de nanoesi

Los iones que se forman son de carga múltiple y los valores de m/z son suficientemente bajos para poder ser detectables con un instrumento de cuadrupolo con un alcance de 1500 o menos. Permite que en un pequeño intervalo de relaciones m/z pueda determinar moléculas con altos pesos moleculares



Determinar el PM de mioglobina a partir de su espectro de masas.
Fuente Ionización: ESI



$$p = m/z$$

$$p_1 = (M + z_1)/z_1;$$

$$p_2 = (M + (z_1 - 1))/(z_1 - 1)$$

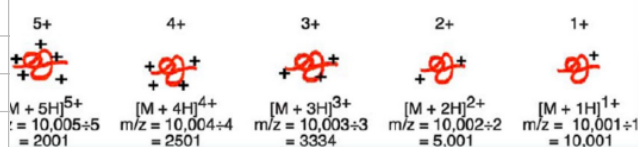
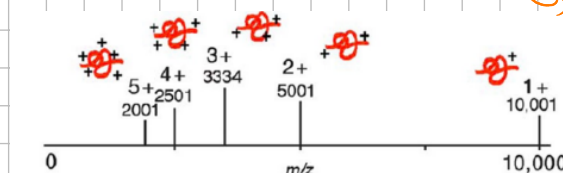
$$1542 z_1 = M + z_1$$

$$1696 (z_1 - 1) = M + z_1 - 1$$

$$z = 11 \text{ y } M = 16951$$

$$p_1 = (M + z_1)/z_1 \quad p_2 = (M + (z_1 - 1))/(z_1 - 1)$$

$$1542 \cdot z_1 = M + z_1 \quad 1696 \cdot (z_1 - 1) = M + z_1 - 1$$



$$1542 \cdot z_1 = M + z_1$$

$$1696 \cdot (z_1 - 1) = M + z_1 - 1$$

$$(1542 \cdot z_1) - z_1 = M$$

$$1696 \cdot (z_1 - 1) - z_1 + 1 = (1542 \cdot z_1) - z_1$$

$$1542 \cdot 11,019 - 11,019 = M$$

$$1696 \cdot (z_1 - 1) - z_1 + 1 + z_1 = 1542 \cdot z_1$$

$$16941,298 - 11,02 = M$$

$$1696 z_1 - 1697$$

$$= 1542,21$$

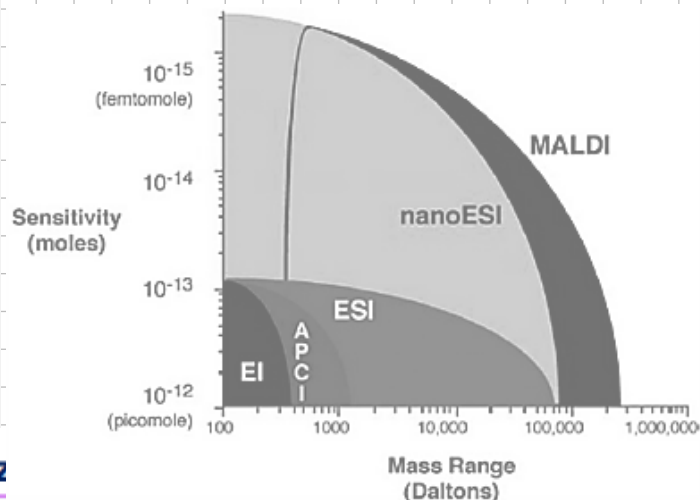
$$-1697 = 1542,21 - 1696 z_1$$

$$-1697 = -154,21$$

$$16980,279 = M$$

$$11,019 = z_1$$

Ventajas	Desventajas
PM hasta 70 kDa.	Presencia de sales reduce la sensibilidad.
Sensibilidad en el orden de fmol a pmol.	Mezclas complejas reducen sensibilidad.
Ionización blanda. Generación de complejos en fase gaseosa.	Análisis simultaneo en mezclas puede ser pobre.
Adaptable fácilmente a LC.	Cargas múltiples puede ser confuso en el análisis de mezclas.
Adaptable a analizadores de masa en tándem.	Pureza de la muestra es muy importante.
Múltiples cargas permite análisis de iones de alta masa con instrumentos de bajo intervalo de m/z.	
No hay interferencia por matriz.	



Comparación entre fuentes de ioniz

Fuente de ionización	Tipo de muestra	Sistema de introducción	Rango de masas	Características principales.
Ionización electrónica (EI)	Masas relativamente pequeñas/Volátiles	CG o sonda líquida/sólida	Hasta 1000 Da (500)	Método duro. Versátil. Información estructural
Ionización química (CI)	Masas relativamente pequeñas/Volátiles	CG o sonda líquida/sólida	Hasta 1000 Da	Método blando. Pico del ión molecular.
Electronebulización (ESI)	Péptidos/Proteínas.	Cromatografía líquida/Inyección	Hasta 200 kDa (70 kDa)	Método blando. Iones con carga múltiple.
Bombardeo con átomos rápidos (FAB).	Carbohidratos/Organometálicos/Péptidos	Muestra mezclada en matriz viscosa.	Hasta 24 kDa (7 kDa)	Método blando, pero más duro que ESI y MALDI.
Desorción por láser asistida por matriz (MALDI).	Péptidos/Proteínas/Nucleótidos.	Muestra mezclada en matriz sólida.	Hasta 500 kDa (150 kDa)	Método blando./Masas muy altas.

límite real o experimental

Analizador

Parte del equipo responsable de la separación de las partículas cargadas. En el analizador de masas los iones se dispersan con base en las relaciones masas-carga de los iones del analito

- Tipos de analizadores:
- ! Deflexión de campo magnético (sector magnético)
 - ! Tiempo de vuelo (TOF)
 - ! Cuadrupolo (Q): campo magnético modulado.
 - ! Trampa de iones (IT): cuadrupolo hiperbólico.
 - ! Resonancia ciclotrón-ion
 - ! Transformada de Fourier.

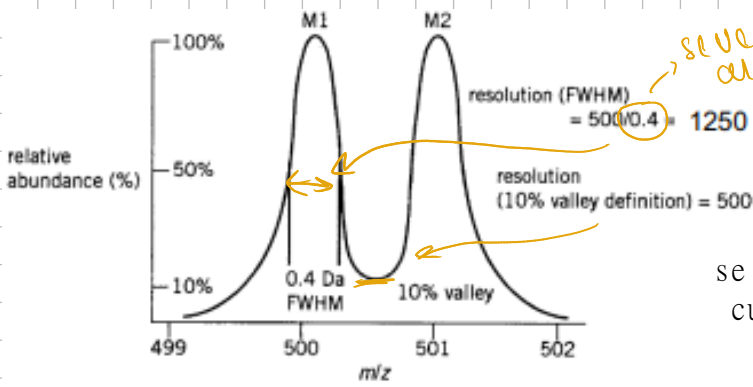
Resolución

La capacidad de un espectrómetro de masas para distinguir entre masas se expresa por lo regular en términos de su resolución R

$$R = \frac{m}{\Delta m}$$

→ la masas nominal del primer pico (a veces se utiliza en su lugar la masas media de los dos picos)

→ diferencia de masas entre dos picos adyacentes que se diferencian claramente



The application of two definitions of resolution.

General Comparison of Mass Analyzers

Mass analyzer	Typical mass range and resolution	Advantages	Disadvantages
Quadrupole	Range m/z 3000 Resolution 2000	Tolerant of high pressures Well-suited for electrospray Ease of switching between positive/negative ions Small size Relatively low cost	Mass range limited to about 3000 m/z Poor adaptability to MALDI
Ion trap	Range m/z 2000 Resolution 1500	Small size Medium resolution Simple design, low cost Well-suited for tandem mass spectrometry (MS^n , $n \leq 4$) Easy for positive/negative ions	Limited mass range of current commercial versions; however, progress is being made in their development
Magnetic sector	Range m/z 20,000 Resolution 10,000	Capable of high resolution Capable of exact mass Medium mass range Can be very reliable, manufacturer dependent	Not tolerant of high pressures Expensive Instrumentation is massive Relatively slow scanning
Time-of-flight (TOF)	Range $m/z \infty$ Resolution 350	Highest mass range Very fast scan speed Simple design, low cost Ease of adaptation to MALDI	Low resolution Difficulty of adaptation to electrospray
Time-of-flight reflectron	Range $m/z \infty$ Resolution 1500	Good resolution Very fast scan speed Simple design, low cost	Good resolving power has limited m/z range Lower sensitivity than TOF
Fourier transform-mass spectrometry (FT-MS)	Range m/z 10,000 Resolution 30,000	High resolution Well-suited for tandem mass spectrometry (MS^n , $n \leq 4$)	High vacuum ($<10^{-7}$ Torr) required Superconducting magnet required, expensive Instrumentation massive

Isótopos

Es interesante señalar que en algunos espectros aparecen picos que corresponden a relaciones masas-carga mayores que la del ion molecular. Estos picos se pueden atribuir a iones que tienen la misma fórmula química pero diferentes composiciones isotópicas.

El tamaño de los diferentes picos depende de la abundancia relativa natural de los isótopos.

Los picos de los isótopos proporcionan a menudo un medio útil para determinar la fórmula de un compuesto.

compuestos orgánicos

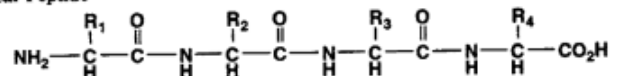
Formas de fragmentación en los compuestos orgánicos

1. Ruptura de un enlace simple
2. Eliminación de una molécula neutra
3. Formación de carbocationes estabilizados por resonancia

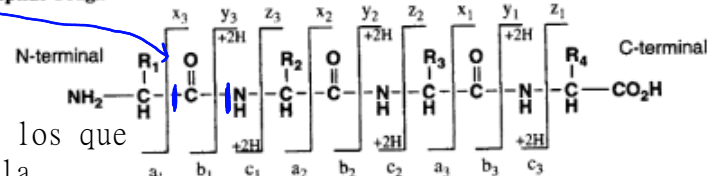
Fragmentación de péptidos

- Suele ocurrir en alfa al carbonilo, tanto C-C como C-N

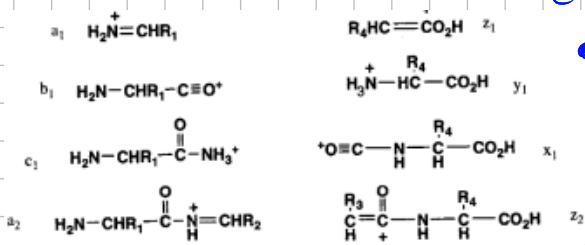
Typical Peptide



Peptide Fragmentation



• Voy a tener diferentes fragmentos con los que podre deducir la estructura de la molécula



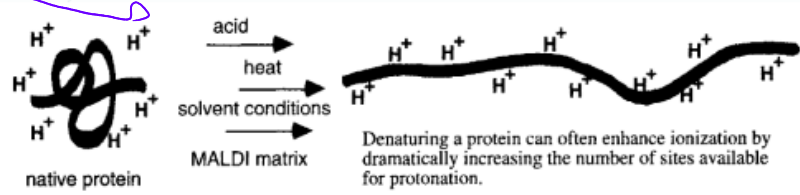
Aplicación en Biotecnología

- Identificación y análisis estructural de proteínas.
- Análisis de carbohidratos y oligonucleótidos.
- Monitorear procesos de fermentación en la industria biotecnológica.

Se aplican distintos procesos para desnaturalizar la proteína, porque al tenerla enrollada los sitios donde se protona pueden estar mas escondidos y no se da una buena protonación.

Cuando se analiza con Masas, se obtienen señales correspondientes a la proteína nativa y señales de la desnaturalizada

Conformación de proteínas



ESI

