

Overview on Mass Spectrometry: Description and Applications

Roberta Seraglia

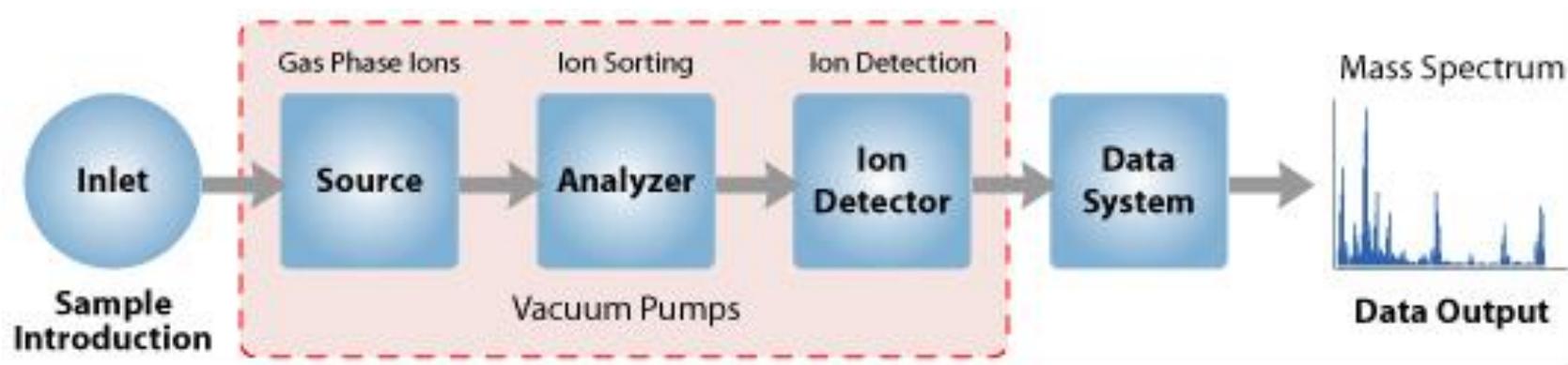
ICMATE , Corso Stati Uniti 4, 35127-Padova

roberta.seraglia@cnr.it



La spettrometria di massa

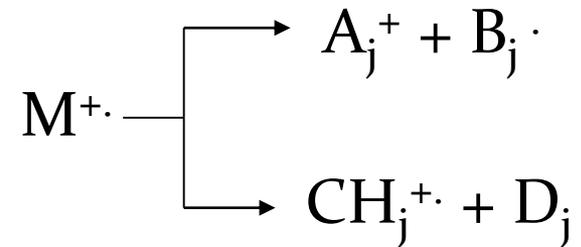
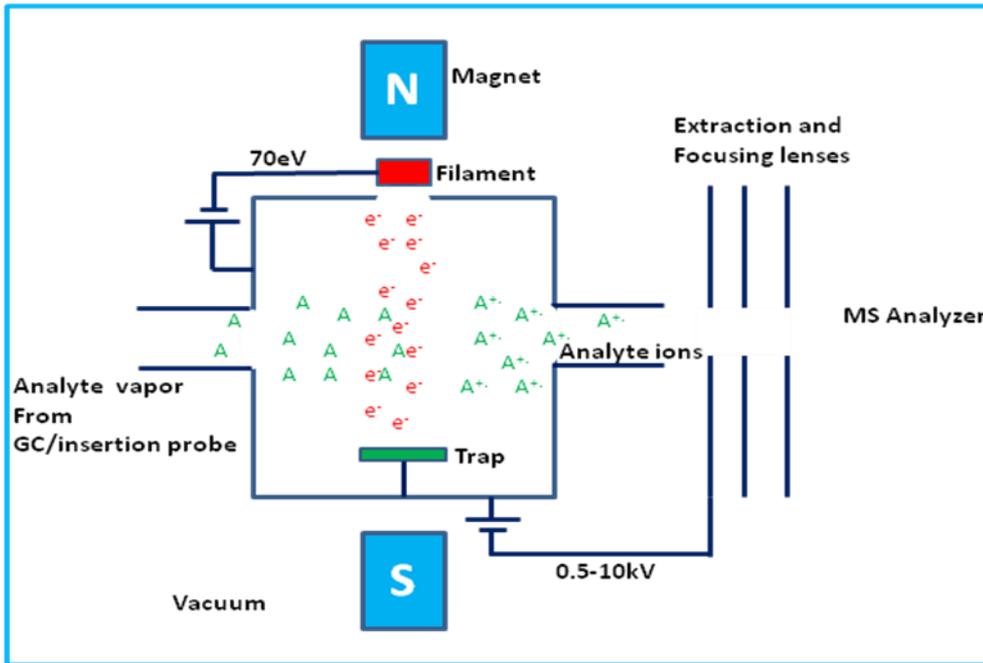
Si basa sull'analisi di ioni in fase gas, che vengono prodotti con diverse tecniche di ionizzazione e separati in funzione del loro rapporto massa/carica (m/z).



Strumentazione in dotazione

- Spettrometro di massa quadrupolare accoppiato con GC: **ionizzazione EI/CI** (adatto per composti apolari, volatili e termostabili);
- Spettrometro di massa a trappola ionica LCQ Fleet: **ionizzazione ESI**, accoppiamento LC (adatto per molecole polari, polimeri naturali e sintetici, composti organometallici);
- Spettrometro di massa **MALDI/TOF/TOF** (adatto per polimeri naturali e sintetici, composti organometallici, macromolecole).

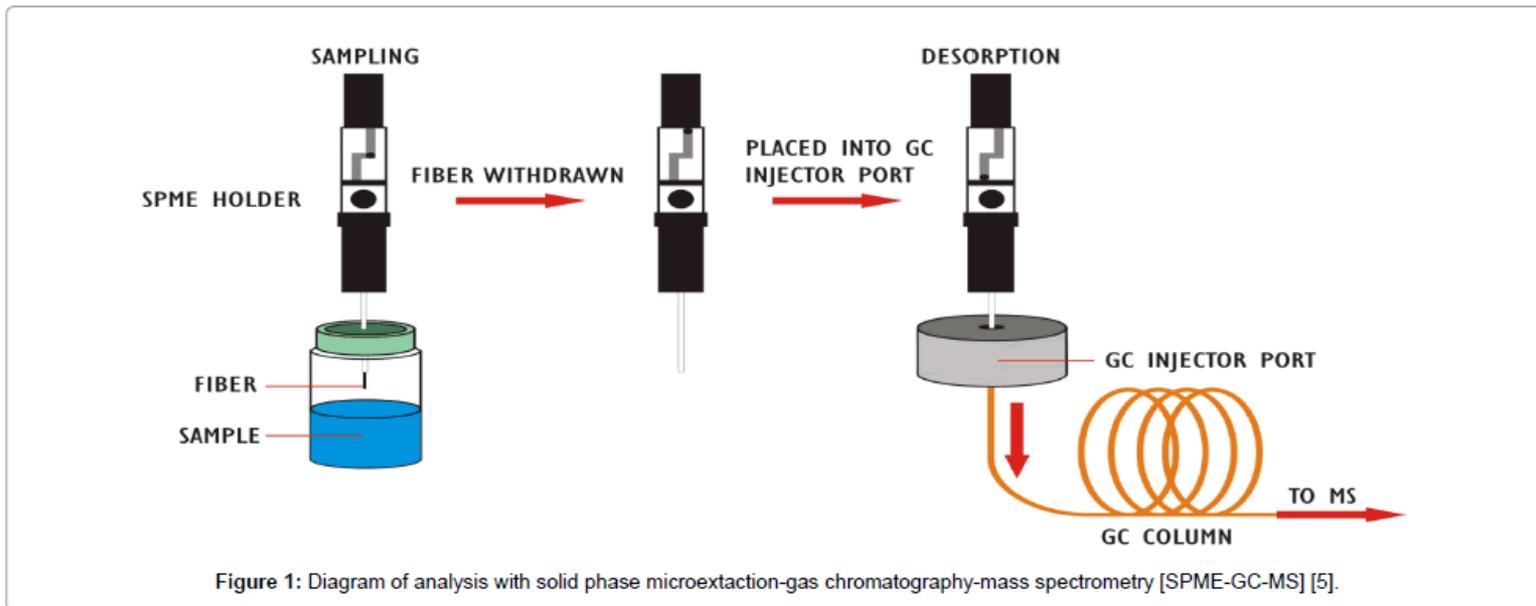
Ionizzazione elettronica (EI)



Caratteristiche (EI)

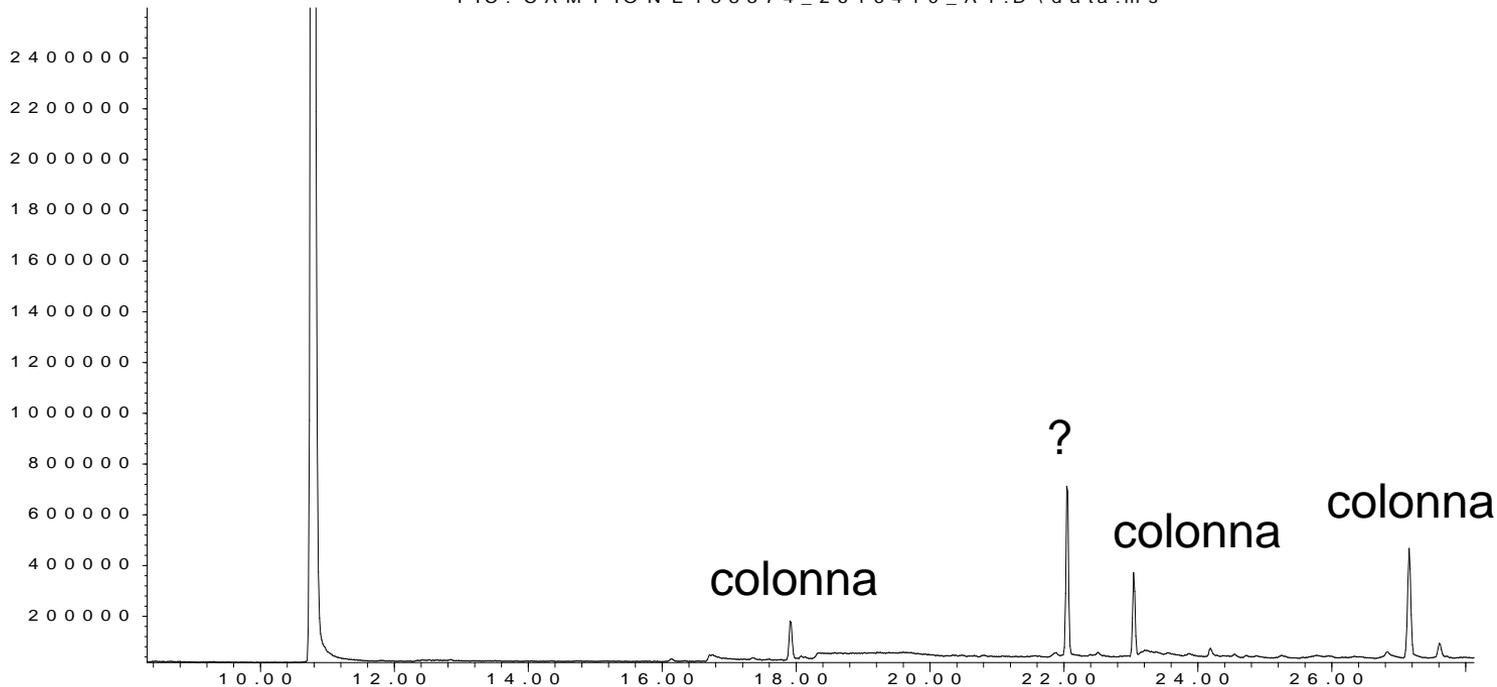
- E' la modalità più classica, tuttora molto utilizzata, soprattutto interfacciata con GC;
- E' una ionizzazione 'hard': si possono avere frammentazioni estese che lasciano poco o nulla dello ione molecolare.
- Il campione deve essere in stato di vapore. Adatto per composti a basso peso molecolare (< 800 Da), non polari, volatili, termicamente stabili.

SPME-GC/MS



Abundance

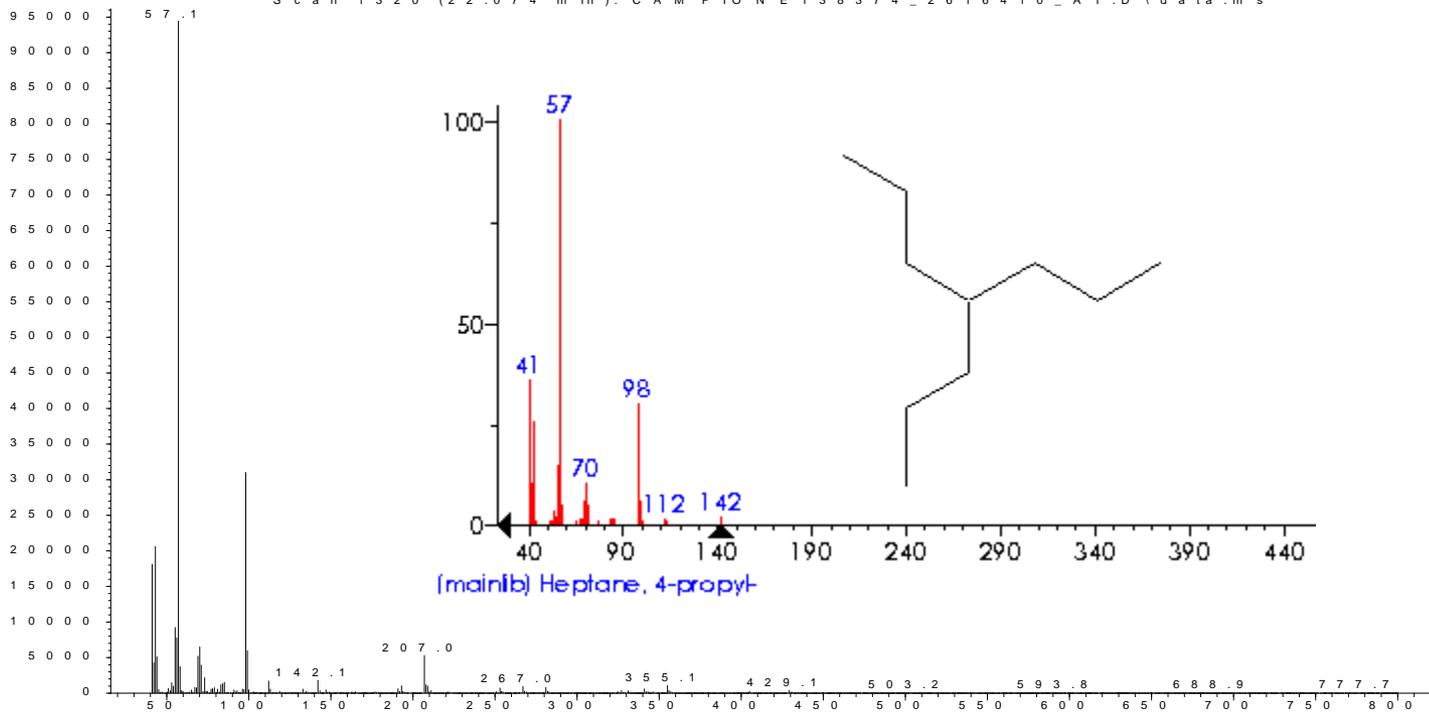
TIC: CAMPIONE 138374_2616410_A1.D\data.ms



Time -->

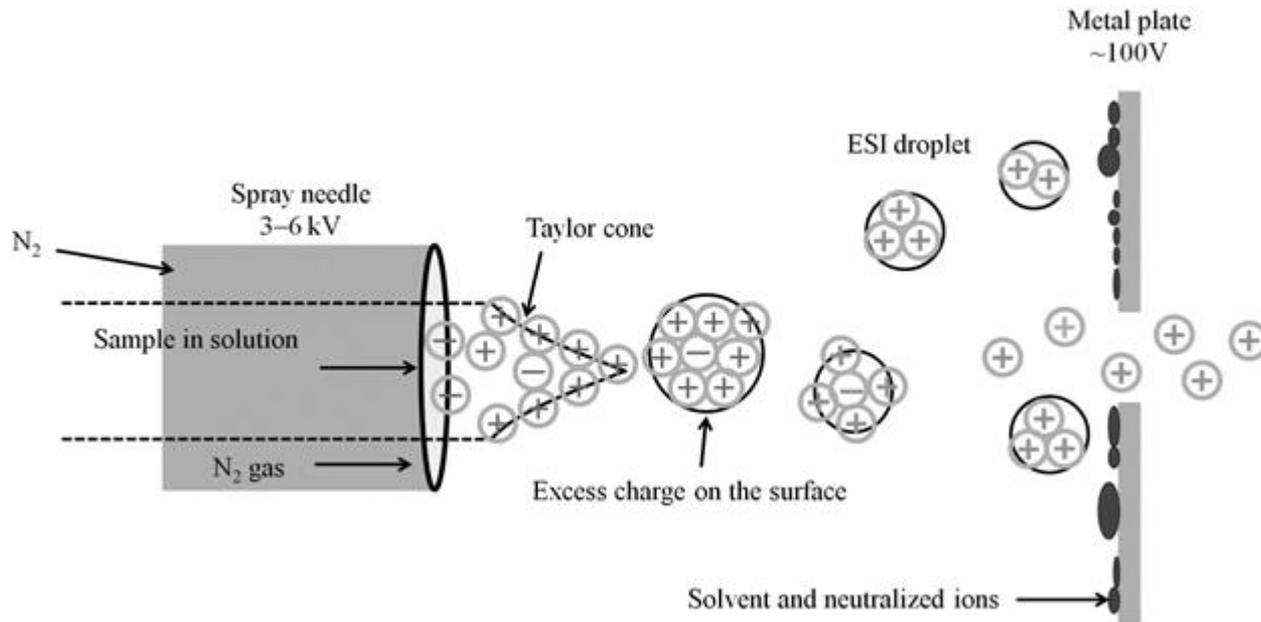
Abundance

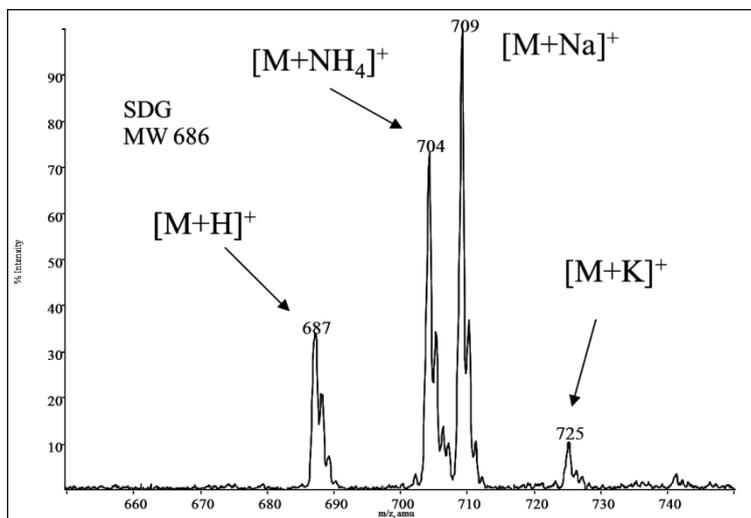
Scan 1320 (22.074 min): CAMPIONE138374_2616410_A1.D\data.ms



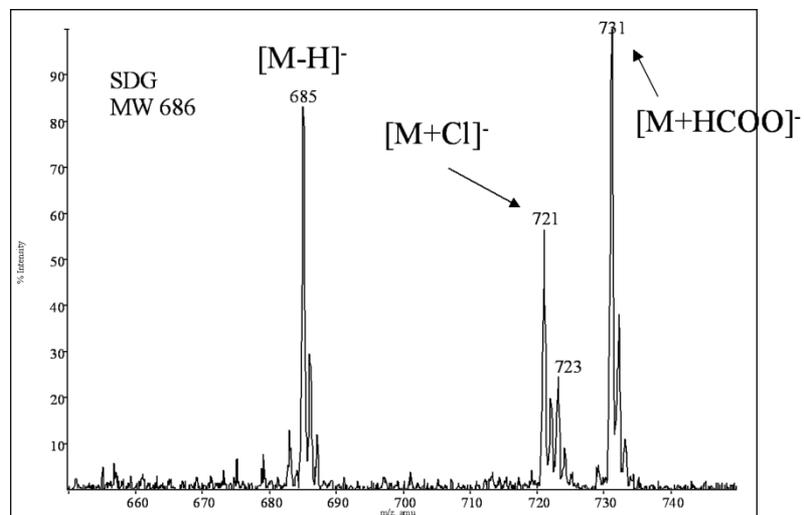
m / z -->

Ionizzazione electrospray (ESI)



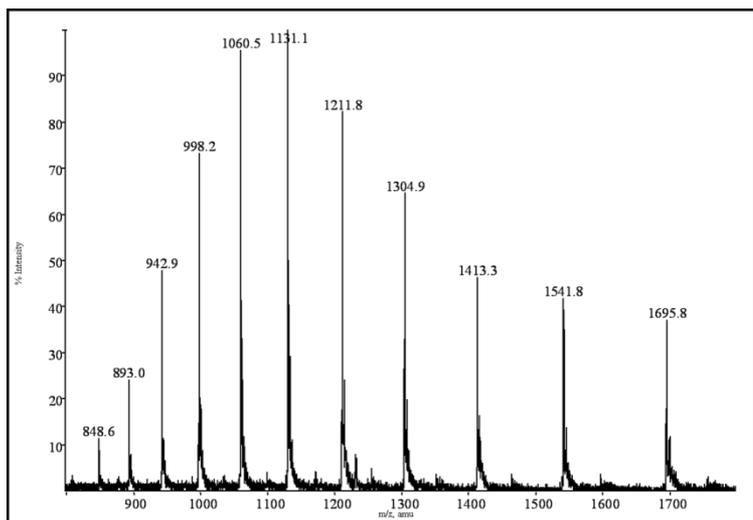


ESI (+)

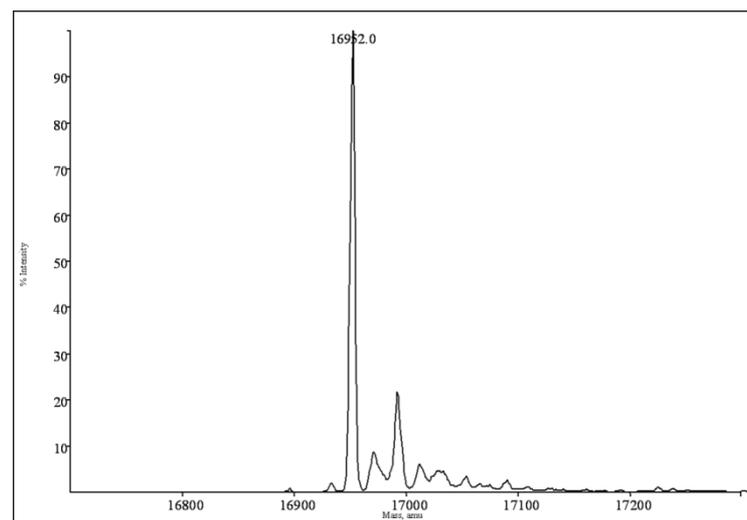


ESI (-)

Ioni multicarica



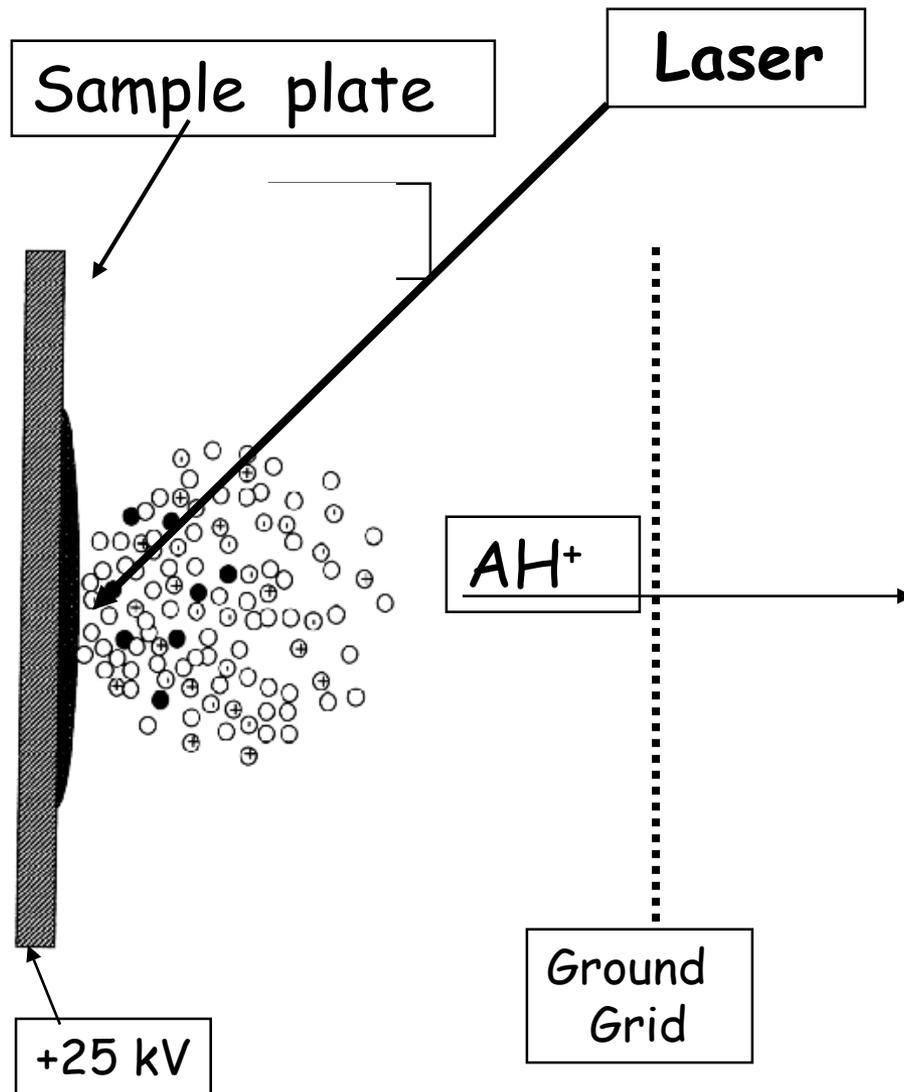
Spettro deconvoluto: P.M. della proteina



Caratteristiche della ionizzazione ES

- Spettri di massa che danno informazioni sul peso molecolare
- Adatta per analiti volatili e non volatili, ionici e/o polari
- Elevata sensibilità
- Permette l'analisi di molecole ad alto peso molecolare
- Segnale stabile anche con solventi contenenti alta percentuale di acqua
- Accetta flussi relativamente elevati
- *Limitate frammentazioni*
- *Ionizzazione inibita ad alte concentrazioni saline*
- *Limitazioni con l'uso di tamponi non volatili*

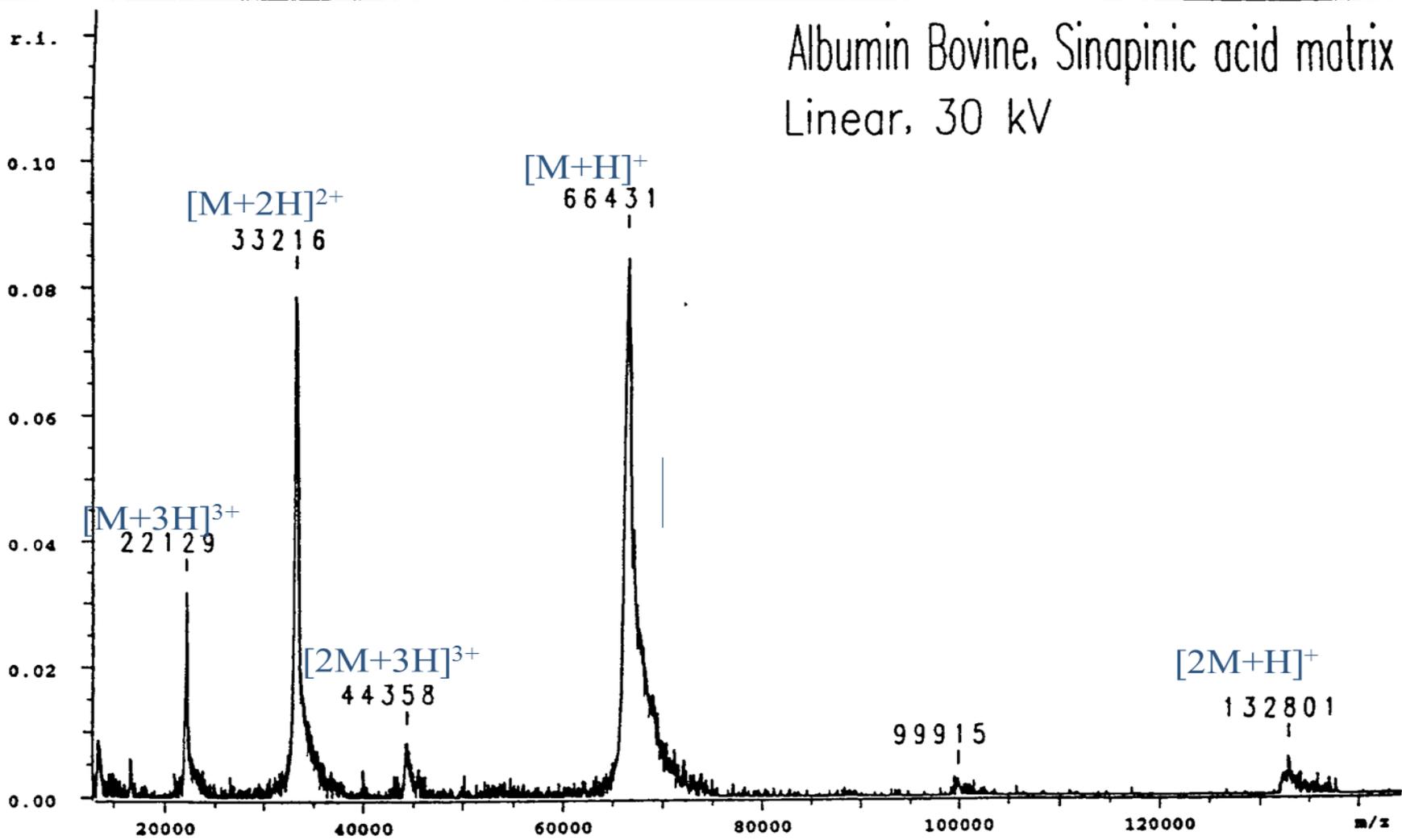
Ionizzazione MALDI: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization



1. Sample (A) is mixed with excess matrix (M) and dried on a MALDI plate.
2. Laser flash ionizes matrix molecules.
3. Sample molecules are ionized by proton transfer from matrix:

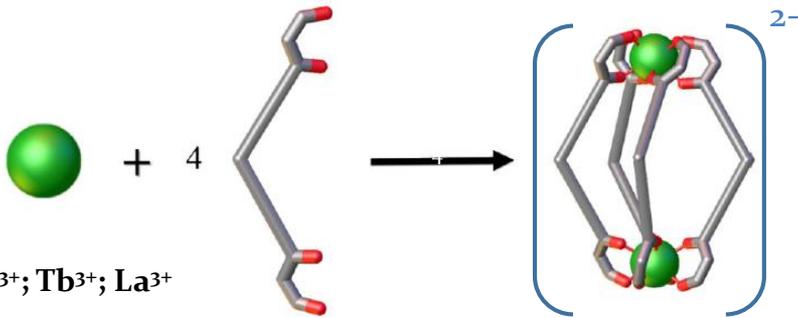


Albumin Bovine, Sinapinic acid matrix
Linear, 30 kV

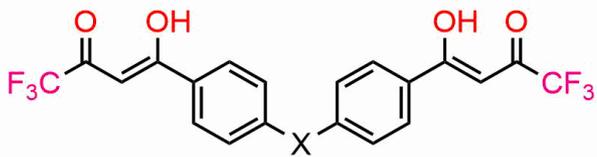


Caratteristiche della ionizzazione MALDI

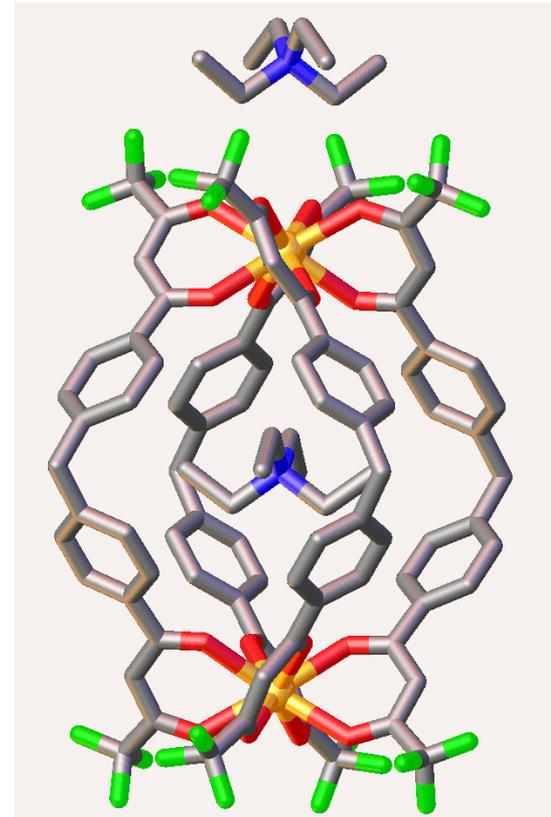
- MALDI è utilizzato per determinare il peso molecolare di peptidi, proteine, oligonucleotidi, ed altri composti di origine biologica o sintetica (polimeri sintetici).
- La quantità di campione richiesta è molto piccola (1 to 10 pmol/ul).
- MALDI tollera l'impiego di sali e tamponi. Anche se è meglio rimuoverli per ottenere migliori performance



$\text{Ln}^{3+} = \text{Eu}^{3+}; \text{Tb}^{3+}; \text{La}^{3+}$



X = -CH₂-, -Ph-, -NCOOR



$\text{Eu}_2\text{L}_4(\text{NEt}_4)_2$

Luminescent Molecular Thermometers with Tunable Colors

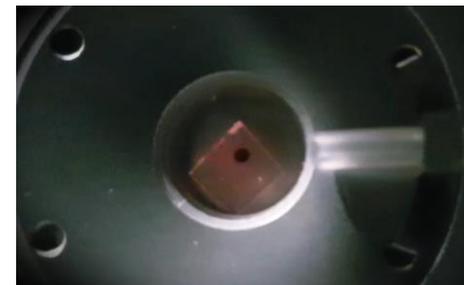
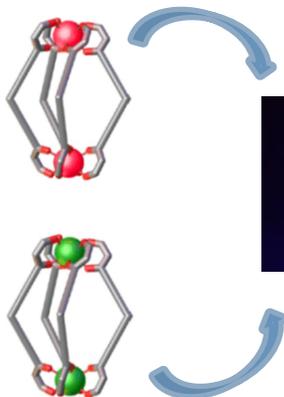


Eu

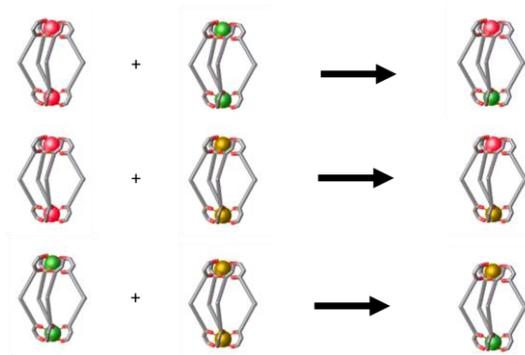


Tb

La



What's happen when we mix two different compounds?

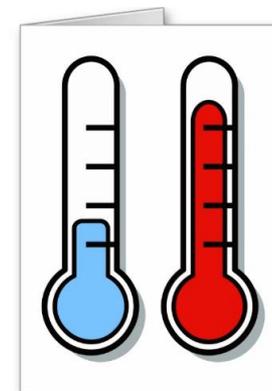


Ln mixed systems

Eu

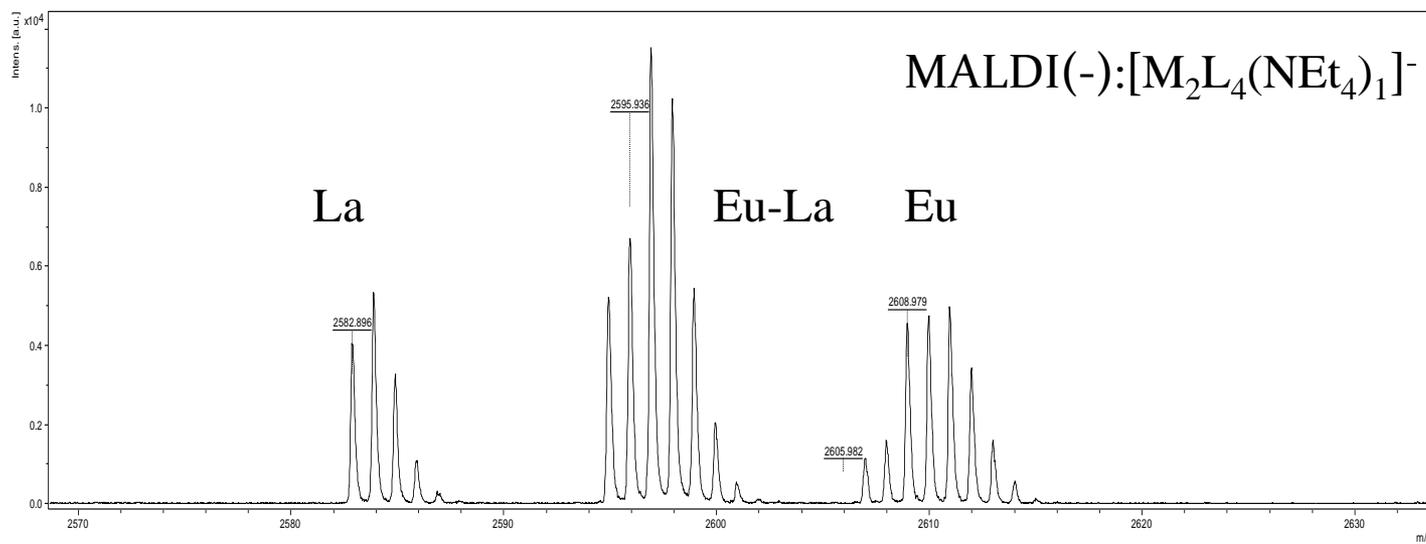
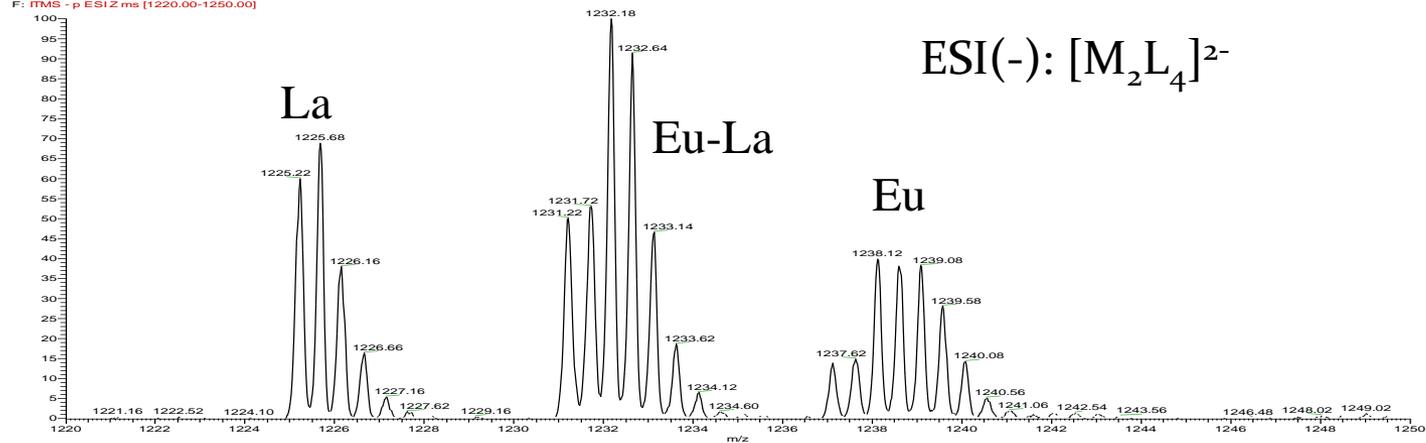
Tb

La

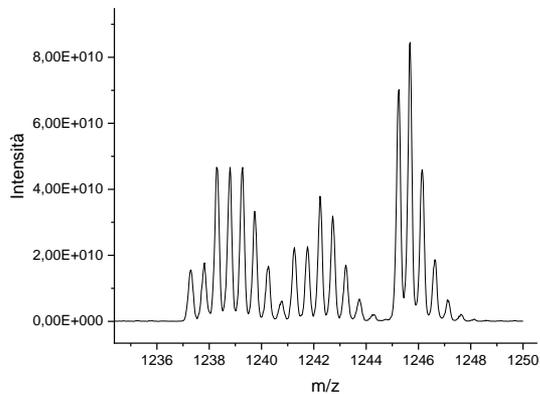


M = Eu; La

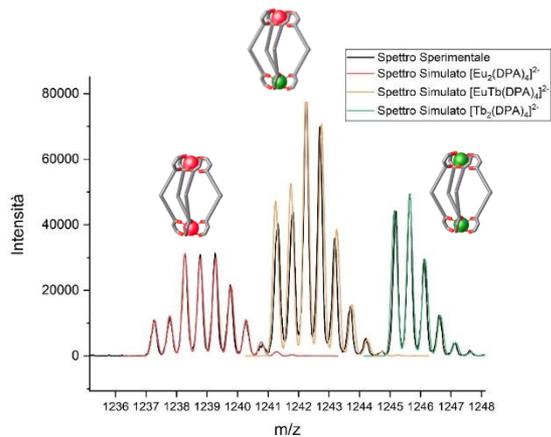
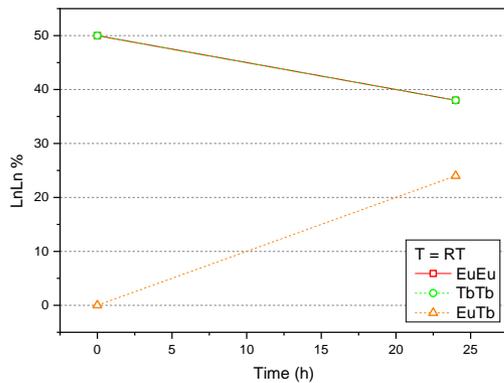
EuA_LaA_riscaldato_01 #31-215 RT: 0.50-1.86 AV: 185 NL: 7.25E4
F: ITMS - p ESI Z ms [1220.00-1250.00]



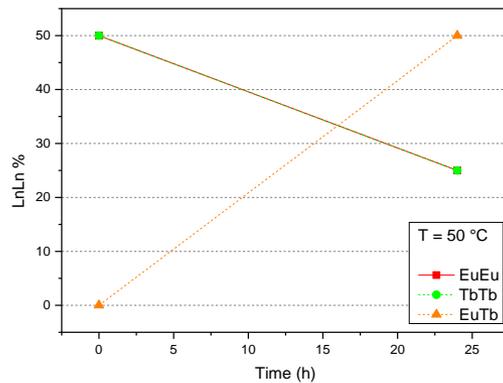
ESI-MS



Analisi ESI su miscela agitata per 24h

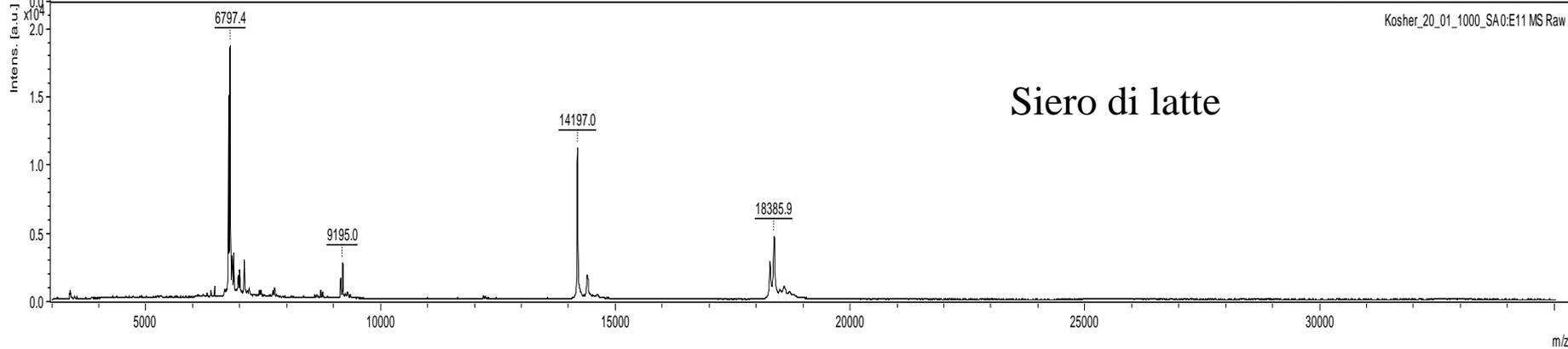
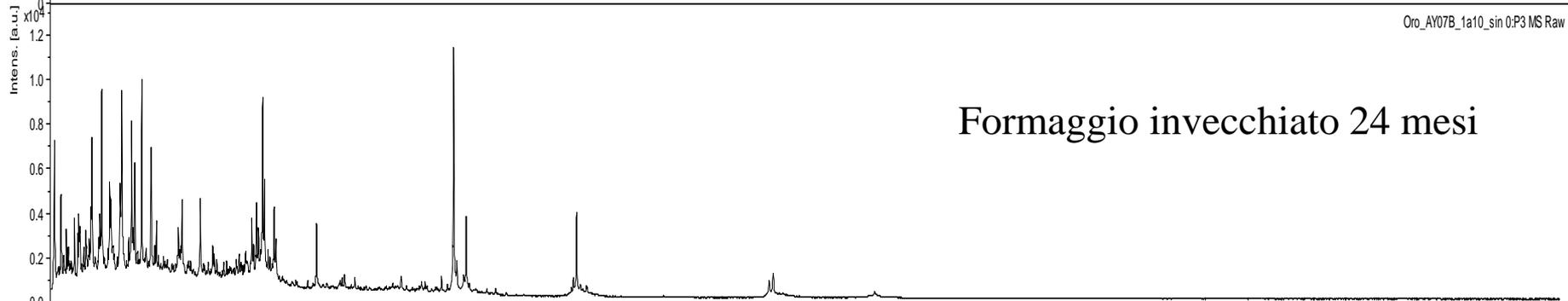
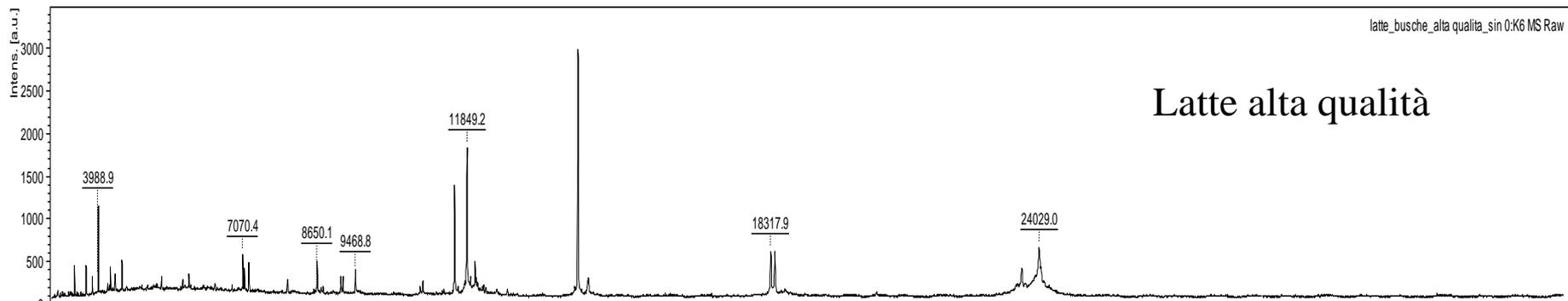


Analisi ESI su miscela agitata e riscaldata per 24h

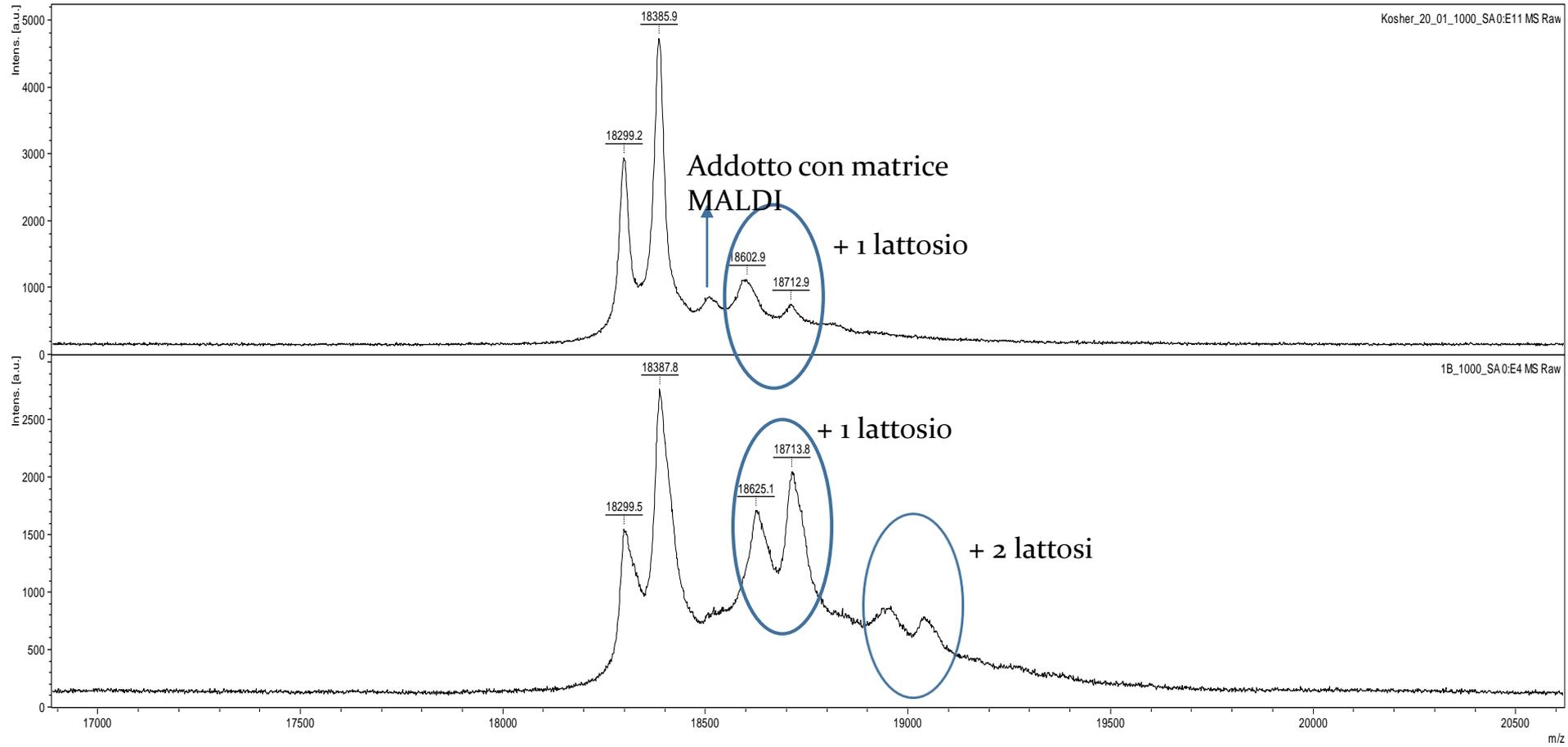


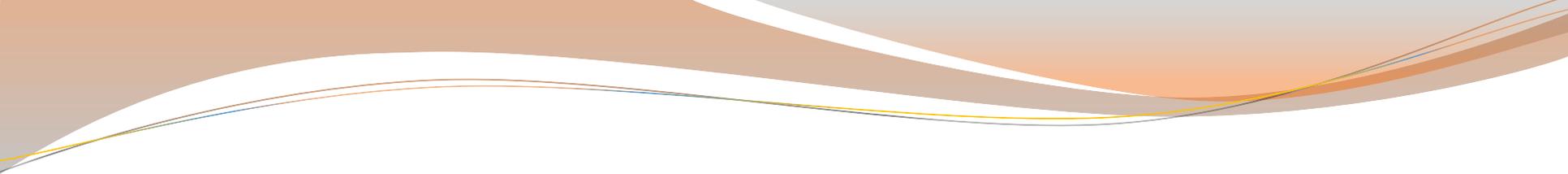
LnLn% calcolata dallo spettro come ESI:

$$(LnLn\%)_x = 100 \frac{Area LnLn_x}{\sum Area LnLn_i}$$



β -lattoglobulina





GRAZIE PER L'ATTENZIONE