



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CENTRAL ANALÍTICA



**INFORMAÇÕES IMPORTANTES NO PREPARO DE AMOSTRA PARA ANÁLISE
POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

- ✓ Qualquer informação não contemplada nestas informações ou dúvida a respeito do preenchimento do formulário de requisição de análise, favor consultar os técnicos da central analítica por email (cafarmacia@ufpr.br) ou telefone 33604136.
- ✓ As informações requisitadas no “formulário de requisição de análise” devem ser fornecidas com o maior rigor. Amostras que oferecerem risco a saúde devem ser indicadas como “TÓXICAS”.
- ✓ A Central Analítica fornece apenas os dados (espectros e cromatogramas) e a interpretação dos resultados é de responsabilidade do usuário. Não fazemos desenvolvimento e validação de métodos de MS e UPLC-MS. Não serão aceitas análises se não tiver os consumíveis compatíveis ao sistema de UPLC-MS (coluna, solventes, etc.), necessários para a análise e preparo da amostra.
- ✓ Informar na requisição de análise corretamente todas as condições do sistema de UPLC-MS: Eluentes, concentração da amostra, solvente utilizado para solubilizar amostra, volume de injeção, gradiente cromatográfico, coluna, temperatura do forno, fluxo, faixa de aquisição de m/z , além dos parâmetros de MS. Caso deseje reproduzir uma análise forneça todas as informações acima (requisição), além de outras informações relevantes para a reprodução da análise.
- ✓ Se estiver trabalhando com compostos de baixo peso molecular, então uma pequena quantidade (1 a 10 mg) da amostra (estado sólido ou líquido) deve ser fornecida em um frasco apropriado. Amostras líquidas deverão estar isentas de quaisquer solventes e fornecer seu grau de complexidade.
- ✓ A informação correta da solubilidade da amostra deve ser fornecida, após realizar o teste da mesma (não utilizar soluções salinas ou tampões). Ainda, informar possíveis condições de hidrólise ou degradação da amostra na presença de água ou meio ácido e básico, entre outros. Utilizar solvente grau HPLC ou grau HPLC-MS para o preparo das amostras (não utilizar solventes P.A. devido à presença de impurezas detectáveis no espectrômetro de massas) e análises no sistema LC-MS, geralmente são utilizados metanol, acetonitrila e água.

- ✓ As amostras devem estar isentas de tampões não-voláteis (ex.: fosfato) e contaminação elevada de sal (ex.: sais de sódio e potássio) e detergentes, a fim de evitar contaminação e entupimento de capilares e outros.
- ✓ Grandes quantidades de qualquer impureza é facilmente ionizada (por exemplo, sais de alquilamônio, trietilamina). Estas são invisíveis aos detectores de UV, mas no processo de ionização por ESI irão reduzir ou suprimir a formação de íons, ou seja, a observação do analito de interesse. Remova o tampão antes da análise por ESI.
- ✓ Evite utilizar TFA na fase móvel (pois a presença de TFA, em geral, suprime a ionização).
- ✓ Utilizar tampões orgânicos voláteis na fase móvel numa concentração não superior a 10 mM (Tabela 1).
- ✓ Se for necessário um ácido, utilizar ácidos voláteis, cerca de 0,1% de ácido fórmico ou acético (Tabela 1).
- ✓ No caso da utilização de tampões/ácidos/bases voláteis, utilizar reagentes com **alto grau de pureza**, de preferência compatíveis com MS.
- ✓ Verificar compatibilidade da estrutura molecular com o tipo de ionização. Por exemplo, hidrocarbonetos ou óleos essenciais não são ionizáveis por ESI ou APCI; neste caso solicitar análise por GC-MS (ionização por impacto de elétrons).
- ✓ Se uma molécula termicamente sensível e / ou não volátil puder ser ionizada em solução, então a Ionização por *Electrospray* (ESI) pode ser empregada. A ESI produz íons a partir de moléculas neutras via transferência de prótons (ou abstração) na fase líquida, remoção do solvente e transmissão dos íons para o analisador de massas. Os solventes utilizados são normalmente metanol/água ou acetonitrila/água; o primeiro geralmente proporciona uma melhor ionização. A técnica é muito branda e produz uma fragmentação reduzida, o que significa um sucesso na observação do íon protonado/deprotonado, mas uma informação estrutural reduzida dependendo do analisador de massas utilizado. Uma consideração adicional é que a molécula deve ser solúvel no solvente e capaz de reações de transferência de prótons. Podem ser medidos compostos que já são íons e solúveis. A ESI pode também produzir íons com carga múltipla, isto é vantajoso para proteínas e peptídeos, mas normalmente é prejudicial para a análise de espécies poliméricas.

Tabela 1. Tampões comumente utilizados em LC-MS.

Tampão Volátil	pKa	Faixa de tamponamento	Faixa de concentração*
Ácido Trifluoracético	0.5	3.8–5.8	0,1-1% v/v
Ácido Fórmico	3.8	-	0,1-1% v/v
Formiato de amônio	3.8	2.8–4.8	2-10 mM
Formiato de amônio	9.2	8.2–10.2	2-10 mM
Ácido Acético	4.8	-	0,1-1% v/v
Acetato de amônio	4.8	3.8–5.8	2-10 mM
Acetato de amônio	9.2	8.2–10.2	2-10 mM