



SPETTROMETRIA DI MASSA

La spettrometria di massa è una tecnica analitica applicata sia all'identificazione di sostanze sconosciute, sia all'analisi in tracce di sostanze.

Alcune applicazioni:

Rivelare e identificare l'uso di steroidi da parte di atleti

Determinare la composizione di specie molecolari rilevate nello spazio

Determinare se il miele è stato adulterato con l'uso di sciroppi zuccherini

Determinare la presenza di diossine in pesce contaminato

Effettuare analisi in medicina legale come la conferma e la misura quantitativa di droghe e del loro abuso

Effettuare analisi di sostanze inquinanti per l'ambiente

Stabilire l'età e l'origine di campioni geochimici e archeologici

Identificare e determinare quantitativamente i componenti di miscele organiche complesse



Uno **spettrometro di massa** è uno strumento che misura la massa di una molecola dopo che è stata ionizzata.

Unità di misura della massa : 1 **Da** è 1/12 della massa di un atomo di ^{12}C

Unità di misura della carica: **carica elementare** = carica posseduta da un e^- (o da un protone)

$$m/z$$

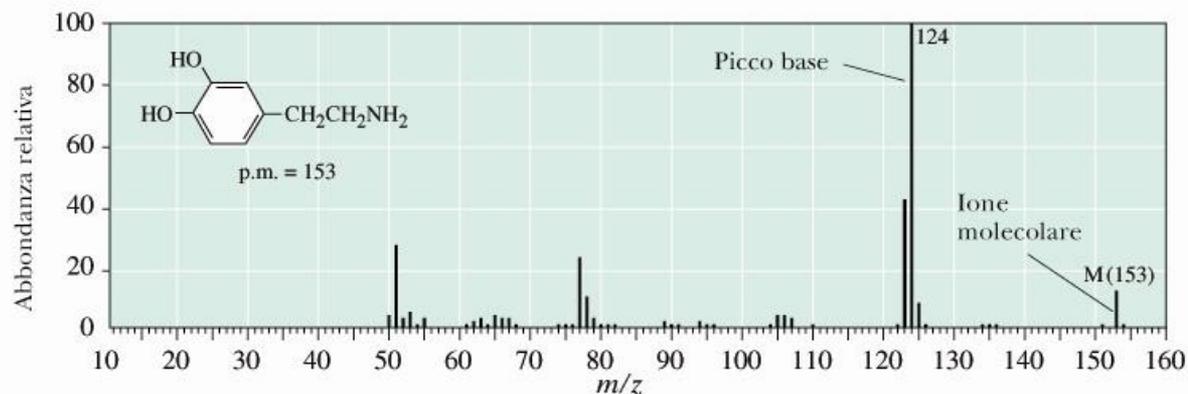
z = carica di uno ione, numero di cariche elementari posseduto dallo ione, se $z = 1$ allora m/z è la massa in Dalton

Figura 14.2

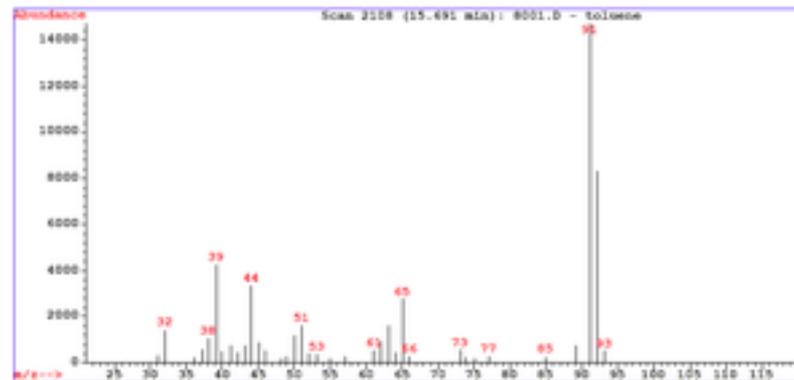
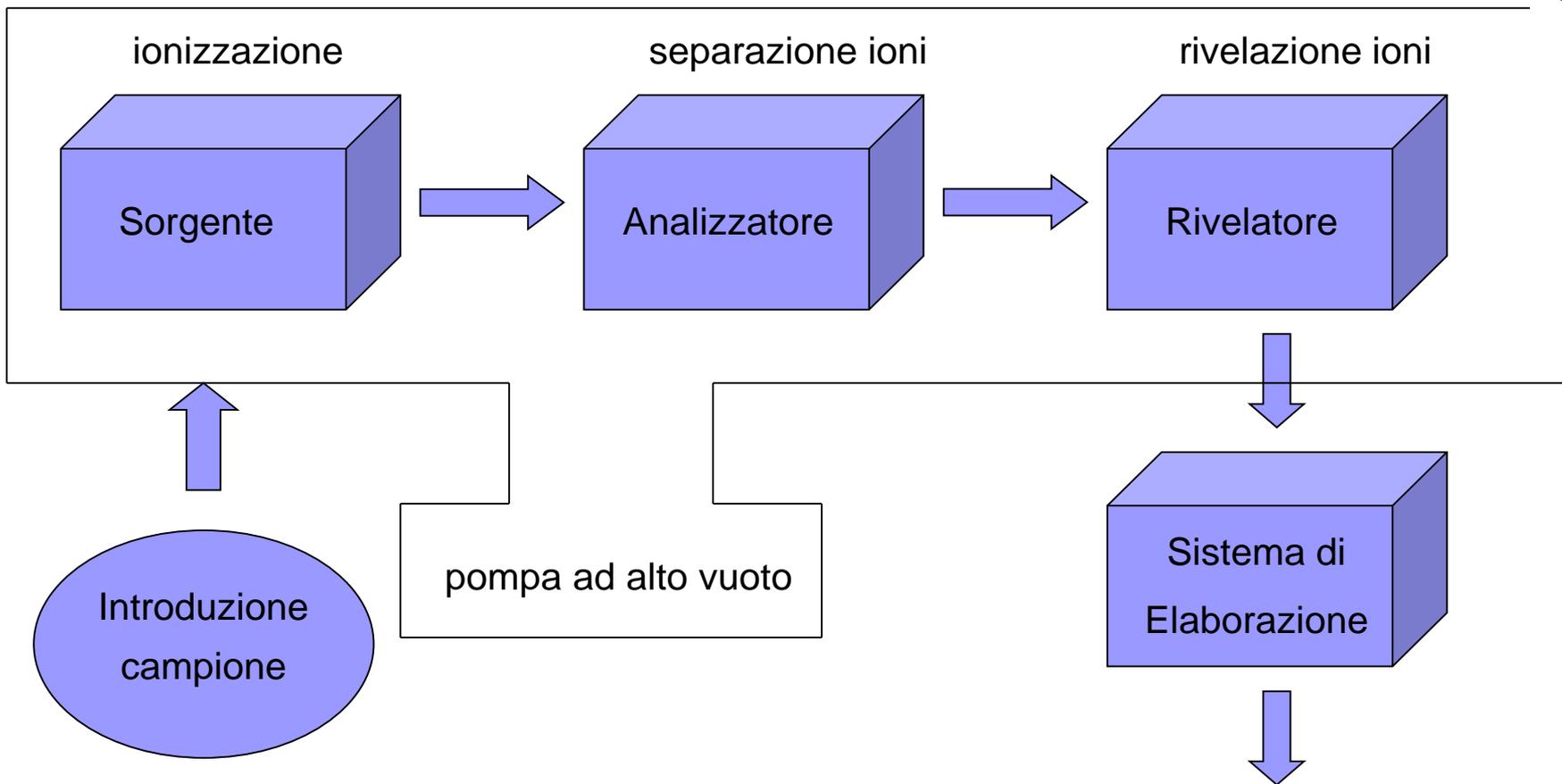
Spettro di massa parziale della dopamina che mostra tutti i picchi con intensità uguale o maggiore allo 0.5% del picco base.



Brown, Foote, Iverson
Chimica Organica, III Ed.
Edises



Uno spettro di massa è la rappresentazione grafica dell'abbondanza relativa di ciascun ione in funzione del rapporto m/z.



Ionizzazione EI: ionizzazione elettronica (impatto elettronico)

Il campione viene introdotto nella camera di ionizzazione allo stato gassoso dove c'è un vuoto spinto (10^{-6} - 10^{-5} torr) e bombardato con un fascio di elettroni ad alta energia (70eV) emessi da un filamento caldo e poi accelerati da un campo elettrico

Si ha un trasferimento di energia con espulsione di un elettrone e formazione di uno ione radicale positivo.



Radical catione
specie a n° di elettroni dispari
IONE MOLECOLARE

1 eV = energia che acquista un e^{-} quando viene sottoposto a una ddp di 1 Volt

1 eV = $1,60 \times 10^{-19}$ J

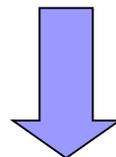
In uno SdM non ci sono collisioni tra specie in fase vapore



Catione
a n° pari di e⁻



Spettrometria di massa con ionizzazione per impatto elettronico



limitata a composti di basso peso molecolare e facilmente vaporizzabili nella camera di ionizzazione



Altre tecniche di ionizzazione

Ionizzazione chimica: produce ioni attraverso un processo di trasferimento di un protone da parte di un gas ionizzato (ad es. metano). Si ha la produzione dello ione positivo $[MH]^+$

Tecniche di desorbimento: processo per cui una molecola viene evaporata da una superficie ionizzata (il meccanismo non è stato ancora del tutto chiarito)

FAB: fast atom bombardment (impatto di atomi a velocità (Ar, Xe) elevata su un campione disciolto in una matrice liquida)

SIMS: Secondary Ion Mass Spectrometry (impatto di ioni a velocità elevata, O^- Cs^+ , su un film sottile di campione depositato su un substrato metallico)

PD: Plasma Desorption (impatto di frammenti da fissione nucleare)

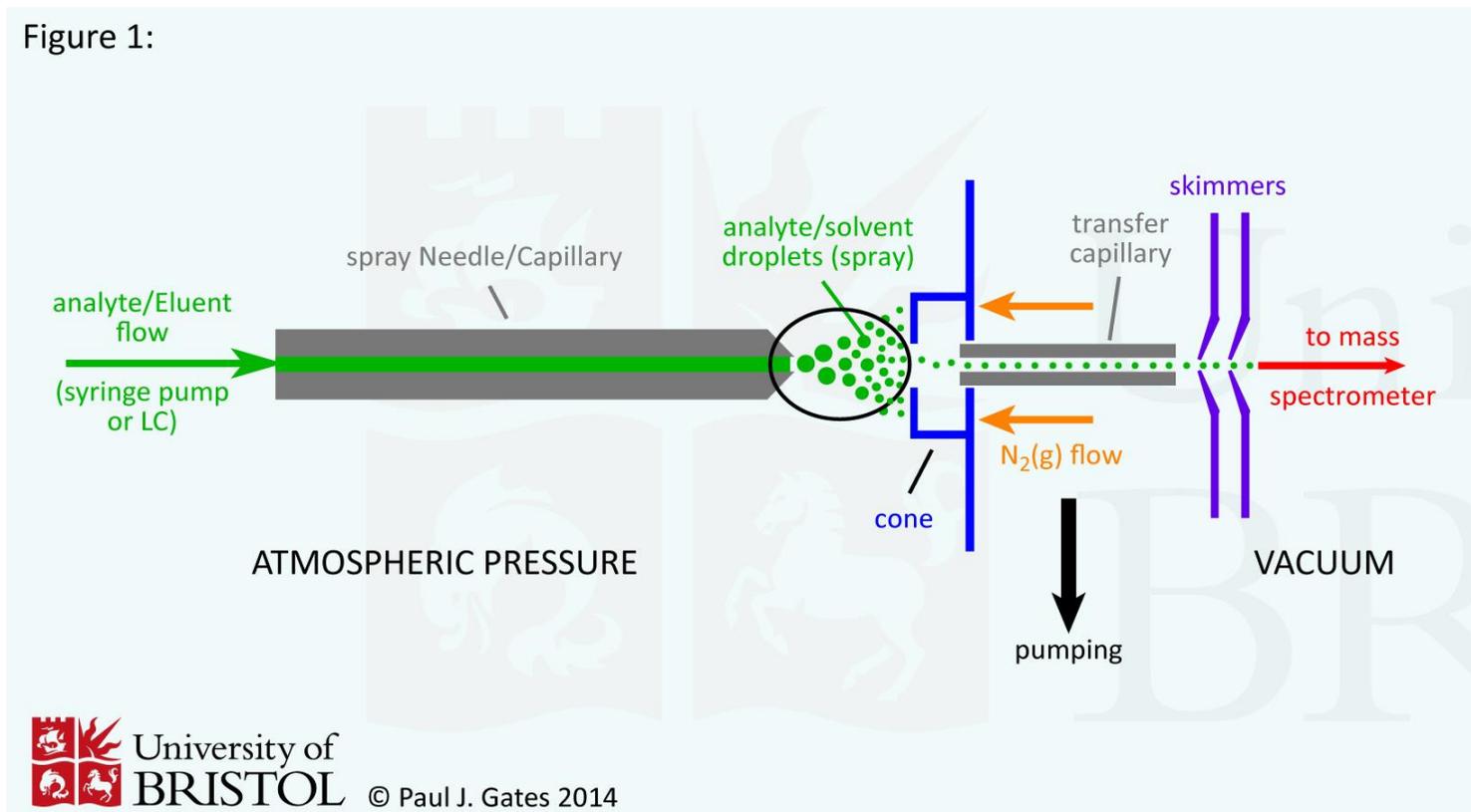
MALDI: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization (impatto di fotoni ad alta energia su un campione inglobato in una matrice organica solida)

FD: Field Desorption (imposizione di un forte campo elettrico su un campione depositato su una speciale sonda metallica)

ESI: Electrospray Ionization (formazione di particelle liquide cariche dalle quali gli ioni vengono emessi per desorbimento e/o desolvatazione)

Sorgente ionica elettrospray (ESI)

Figure 1:



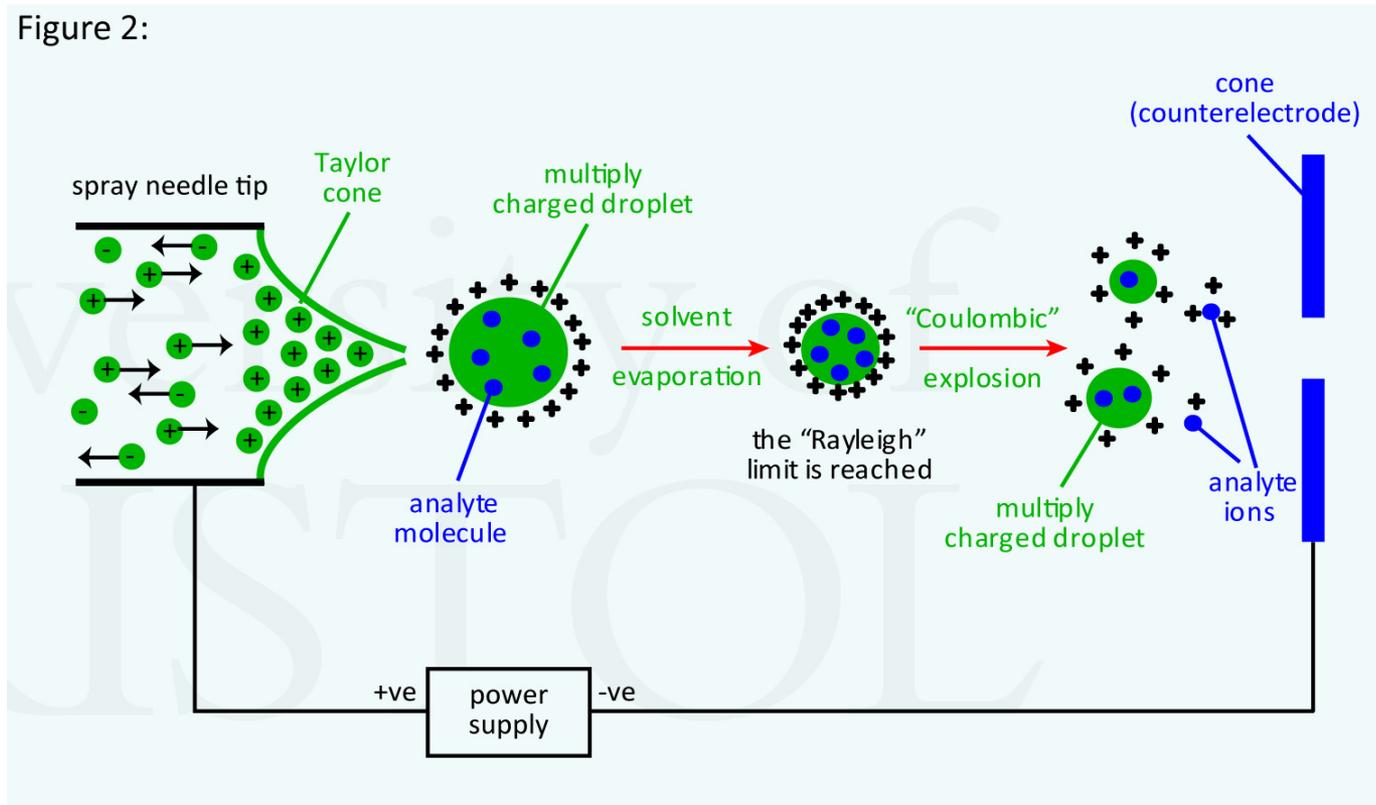
Opera a pressione atmosferica

Il campione in soluzione entra nella sorgente ionica attraverso un capillare in acciaio inossidabile ed è circondato da un flusso coassiale di N₂

L'estremità del capillare è mantenuta a un alto potenziale elettrico rispetto a un controlettrodo

Schema del meccanismo di formazione di ioni

Figure 2:



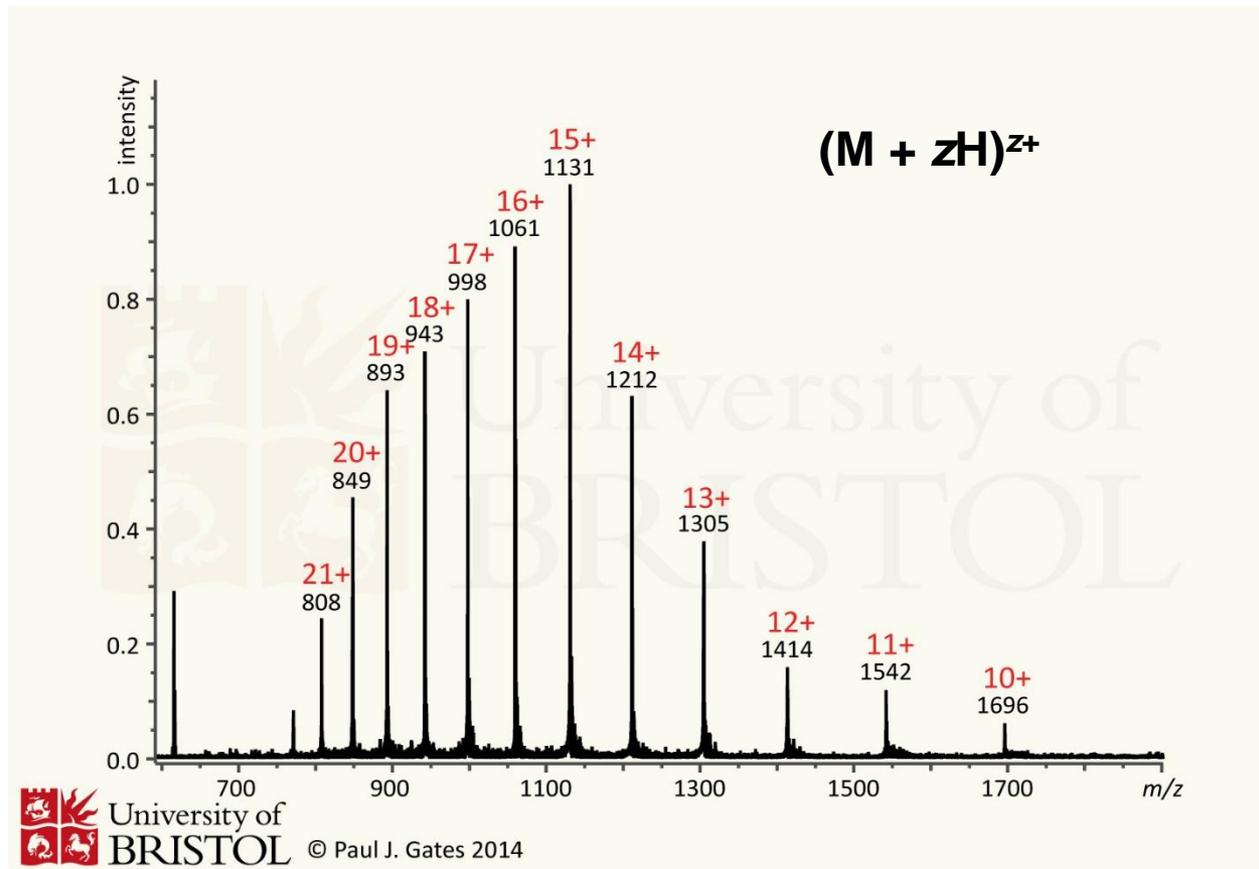
Quando la soluzione fuoriesce dal capillare, forma un aerosol di goccioline cariche elettricamente.

La corrente di gas dirige il flusso verso lo spettrometro di massa

Le goccioline di aerosol si riducono di volume man mano che il solvente evapora

Quando la repulsione elettrostatica tra le specie cariche raggiunge un punto critico, la gocciolina subisce la cosiddetta "esplosione di Coulomb" che rilascia il campione ionico in fase gassosa

ESI mass spectrum of horse heart myoglobin (mass 16955 Da)





Analizzatori

Separare gli ioni in base al rapporto m/z

A settori elettrostatico e magnetico

Quadrupolo

Ion traps

Risonanza ionica ciclotronica in Trasformata di

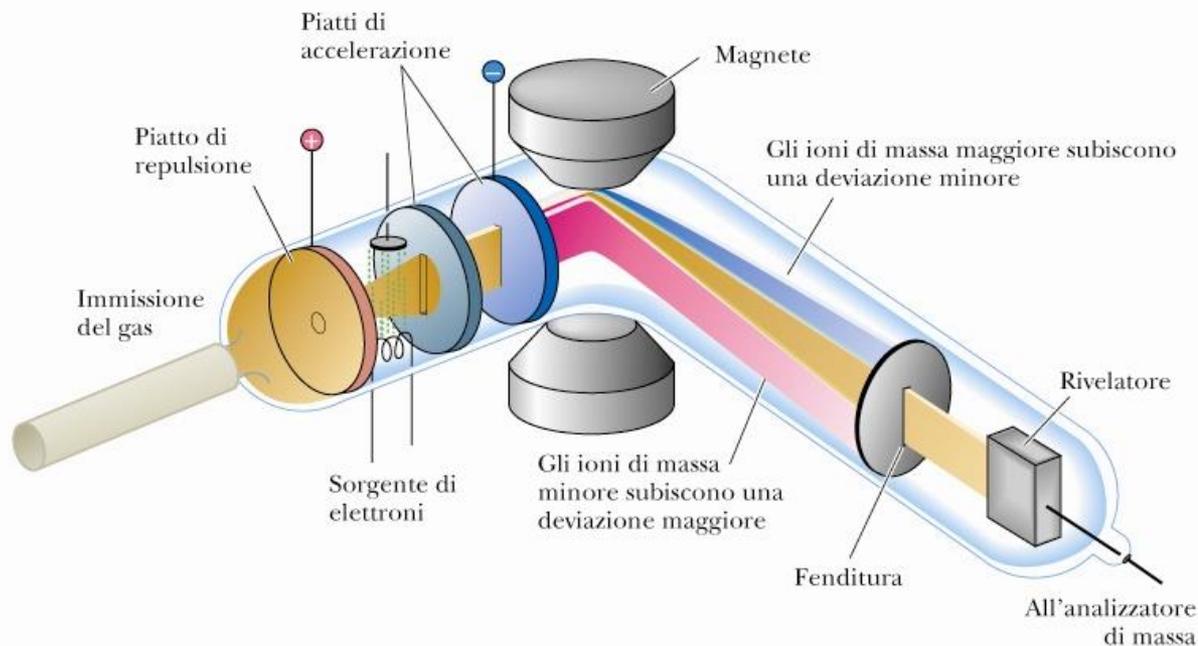
Fourier (FT-ICR)

A tempo di volo (TOF – Time of Flight)

A settore magnetico

Figura 14.1

Uno schema semplificato di uno spettrometro di massa a ionizzazione elettronica (EI-MS).



Brown, Foote, Iverson
Chimica Organica, III Ed.
EdISES

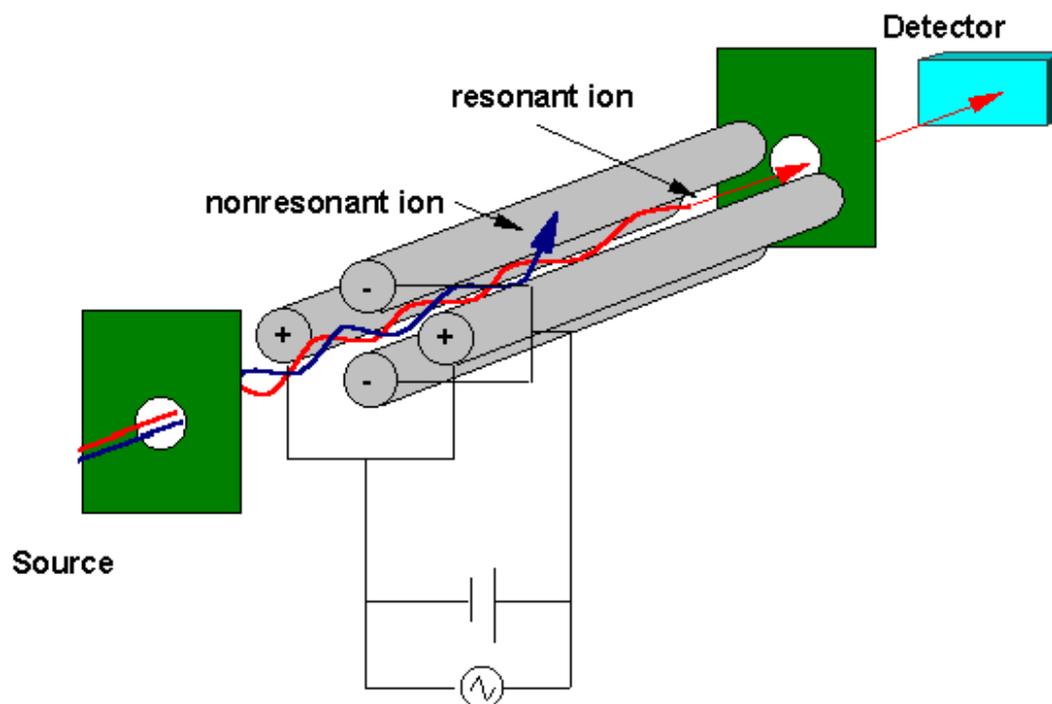
$$m/z = \frac{H^2 R^2}{2V}$$

V = potenziale di accelerazione (500-1500 V)

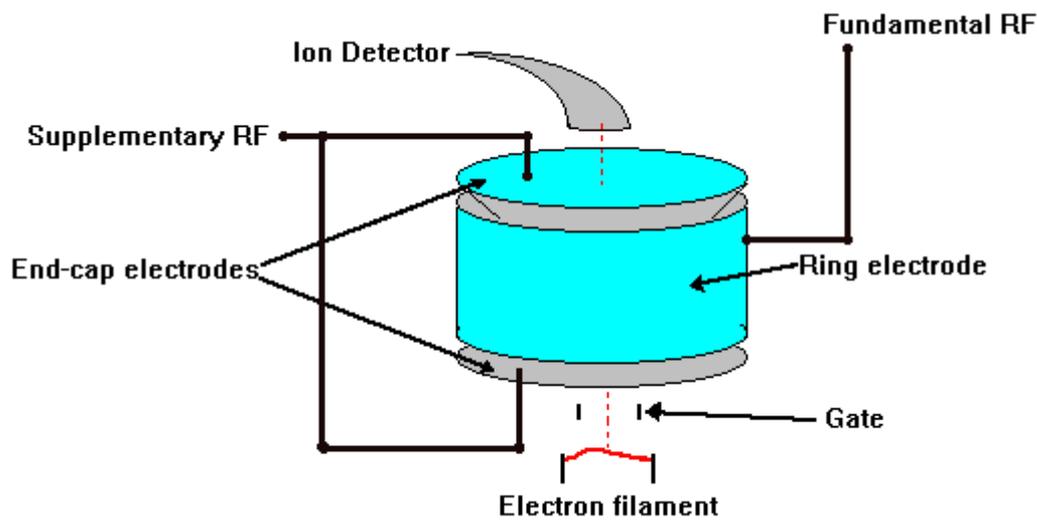
H = valore del campo magnetico

R = raggio della traiettoria circolare dello ione all'interno di H

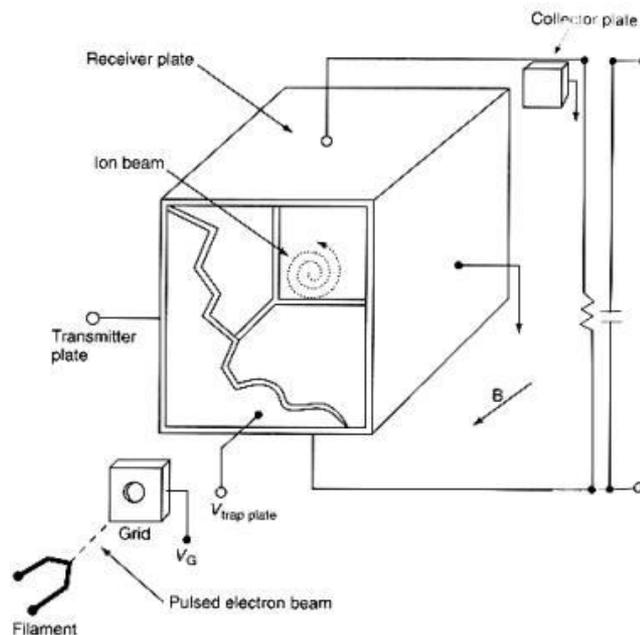
Analizzatore a quadrupolo: è costituito da quattro poli o barre disposte parallelamente. Viene applicata una differenza di potenziale e gli ioni viaggiano parallelamente alle barre ma con delle oscillazioni causate dalla contemporanea applicazione ai poli di una tensione a corrente continua e di una tensione a radiofrequenza. Questa oscillazione dipende dal rapporto m/z . Solo gli ioni aventi un determinato rapporto m/z attraverseranno i poli mentre gli altri collideranno.



Analizzatore ion trap: è simile al quadrupolo ma ha una disposizione sferica del filtro di massa. Dal punto di vista operativo gli ioni non passano direttamente al rivelatore come nel quadrupolo ma vengono trattenuti per essere poi rilasciati sequenzialmente verso il rivelatore variando il campo elettrico. Questi analizzatori sono relativamente economici, compatti e facili da usare. Non raggiungono però alte risoluzioni.



Analizzatore a risonanza ionica ciclotronica: gli ioni vengono intrappolati elettrostaticamente in una cella cubica posta all'interno di un campo magnetico costante. Applicando un impulso a radiofrequenza, gli ioni acquistano un'orbita cicloidale con una frequenza propria caratteristica che dipende da m/z . Gli ioni in moto orbitale generano un debole segnale "immagine" che viene raccolto dalle piastre della cella. La frequenza del segnale generato da uno ione è uguale alla sua frequenza orbitale che è inversamente correlata al suo rapporto m/z . Gli strumenti più recenti operano con impulso di radiofrequenze in modo da portare contemporaneamente in risonanza tutte le frequenze cicloidali. Il segnale che si ottiene deve essere convertito mediante trasformata di Fourier. Questi strumenti sono ad elevatissima risoluzione ma molto costosi.



Analizzatore a tempo di volo (TOF): separano gli ioni in base al tempo da essi impiegato per percorrere una certa distanza nota. Gli ioni formati vengono accelerati a una energia cinetica costante e focalizzati verso un “tubo di volo”. Essendo l’energia cinetica $mv^2/2$, minore sarà la massa dello ione maggiore sarà la sua velocità. Si misura il tempo impiegato dallo ione per percorrere il tubo di volo (microsecondi) e lo si converte in massa.

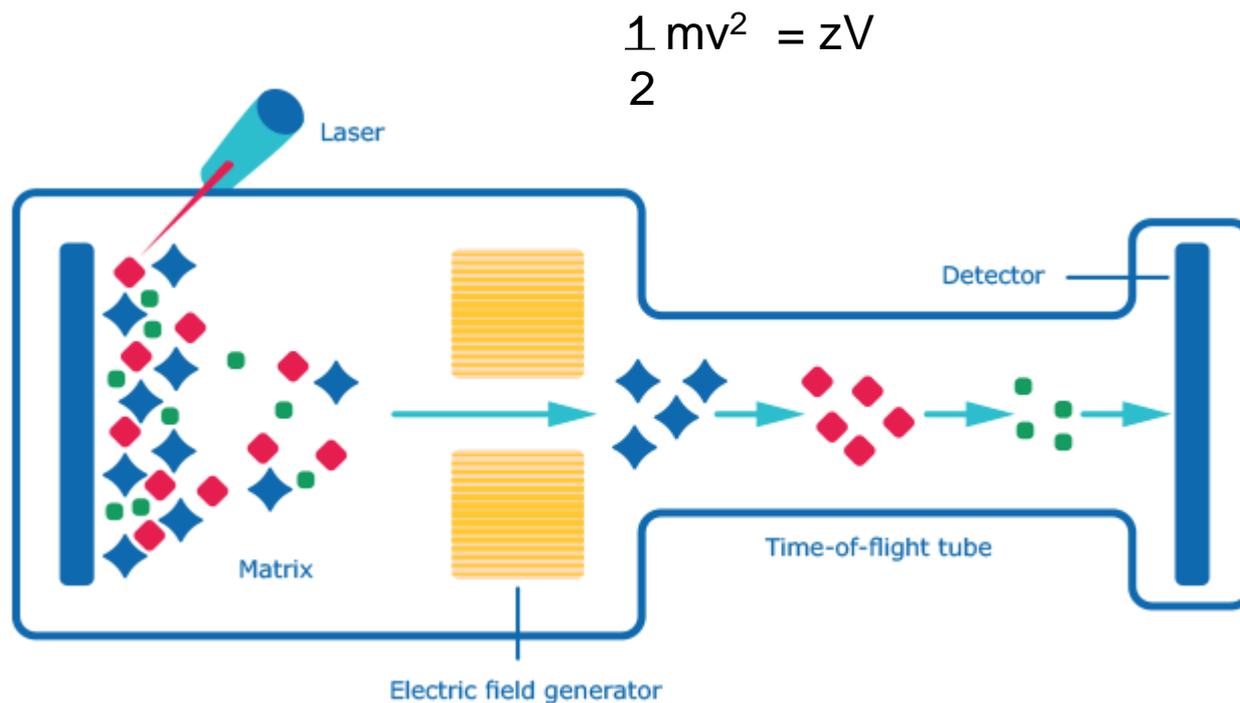
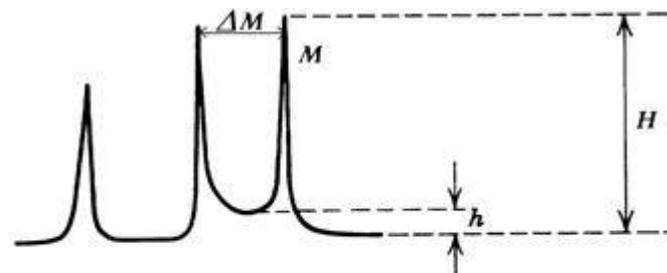


Tabella 14.1 Masse esatte e abbondanze naturali degli isotopi relativi a 100 atomi degli isotopi più abbondanti

Elemento	Peso atomico	Isotopo	Massa esatta (uma)	Abbondanza relativa
Idrogeno	1.0079	^1H	1.00783	100
		^2H	2.01410	0.016
Carbonio	12.011	^{12}C	12.0000	100
		^{13}C	13.0034	1.11
Azoto	14.007	^{14}N	14.0031	100
		^{15}N	15.0001	0.38
Ossigeno	15.999	^{16}O	15.9949	100
		^{17}O	16.9991	0.04
		^{18}O	17.9992	0.20
Zolfo	32.066	^{32}S	31.9721	100
		^{33}S	32.9715	0.78
		^{34}S	33.9679	4.40
Cloro	35.453	^{35}Cl	34.9689	100
		^{37}Cl	36.9659	31.98
Bromo	79.904	^{79}Br	78.9183	100
		^{81}Br	80.9163	98.0

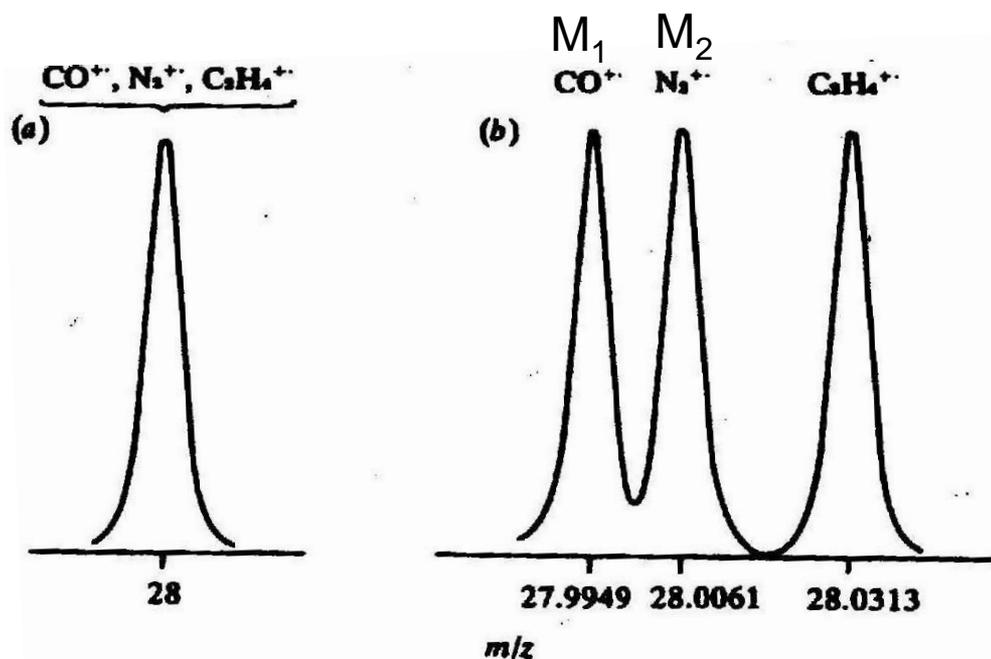
R = risoluzione di uno strumento è la capacità di distinguere tra due picchi a massa vicina. M il valore di m/z di un picco e ΔM la minima distanza tra due picchi a cui l'altezza della valle tra i picchi h è meno del 10% dell'altezza dei picchi H , la risoluzione è data da $M/\Delta M$.



$$\text{Risoluzione} = \frac{M}{\Delta M}$$

Ad es. C_2H_4 , N_2 e CO a m/z 28.

La massa esatta di queste molecole è: 28,0313, 28,0061 e 27,9949.



$$R = \frac{M_2}{M_2 - M_1} = \frac{28}{28.0061 - 27.9949} = 2500$$

Uno ione a m/z 58 potrebbe essere:

$\text{CH}_2\text{N}_2\text{O}$	58.0167 m ⁺
CH_4N_3	58.0406 m ⁺
$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2$	58.0054 m ⁺
$\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}$	58.0293 m ⁺
$\text{C}_2\text{H}_6\text{N}_2$	58.0532 m ⁺
$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	58.0419 m ⁺
$\text{C}_3\text{H}_8\text{N}$	58.0657 m ⁺
C_4H_{10}	58.0783 m ⁺



Uno spettro di massa a bassa risoluzione riporta uno ione molecolare con massa che è la somma delle masse intere degli isotopi più abbondanti.

Ad es. per un composto di formula C_7H_7NO lo ione molecolare ha m/z 121



Table 13.2 The Natural Abundance of Isotopes Commonly Found in Organic Compounds

Element	Natural abundance			
Carbon	^{12}C	^{13}C		
	98.89%	1.11%		
Hydrogen	1H	2H		
	99.99%	0.01%		
Nitrogen	^{14}N	^{15}N		
	99.64%	0.36%		
Oxygen	^{16}O	^{17}O	^{18}O	
	99.76%	0.04%	0.20%	
Sulfur	^{32}S	^{33}S	^{34}S	^{36}S
	95.0%	0.76%	4.22%	0.02%
Fluorine	^{19}F			
	100%			
Chlorine	^{35}Cl		^{37}Cl	
	75.77%		24.23%	
Bromine	^{79}Br		^{81}Br	
	50.69%		49.31%	
Iodine	^{127}I			
	100%			

Picchi isotopici

Tutti i composti organici hanno un picco a massa $M+1$ derivante dell'isotopo ^{13}C

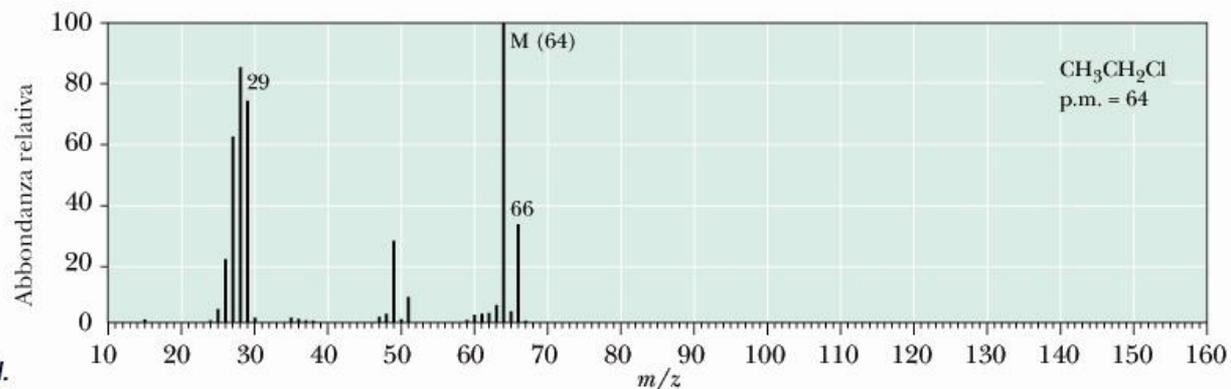
naftalene: C_{10}H_8 con 10 ^{12}C massa 128
con 1 ^{13}C e 9 ^{12}C massa 129

Abbondanza relativa sarà 100:11 ($M+1$ sarà l'11% dell'intensità di M)

La probabilità di trovare 2 ^{13}C nella stessa molecola (massa 130) è bassa

Figura 14.3

Lo spettro di massa del cloroetano.



Brown, Foote, Iverson
Chimica Organica, III Ed.
EdiSES

^{35}Cl e ^{37}Cl hanno abbondanza relativa 3:1

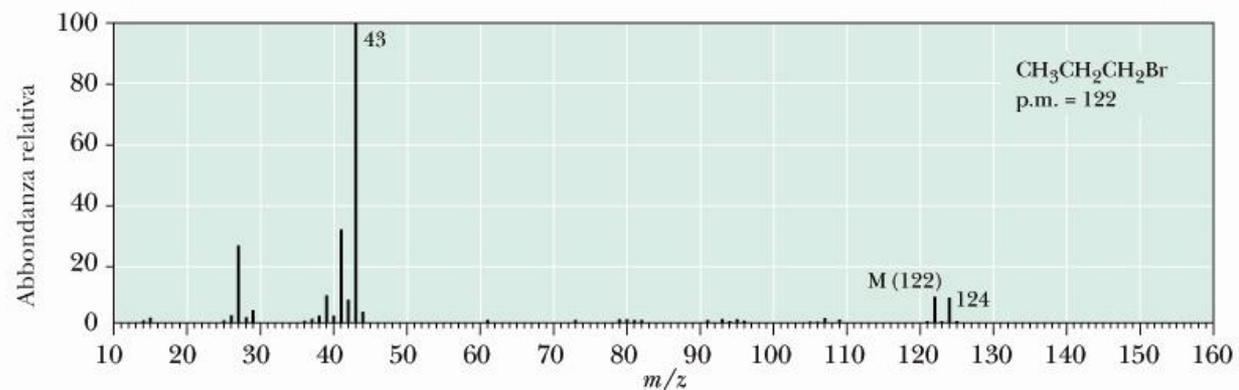
m/z 49 e 51: perdita di metile radicale

m/z 29: perdita di cloro radicale

^{79}Br e ^{81}Br
51 e 49%

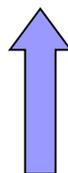
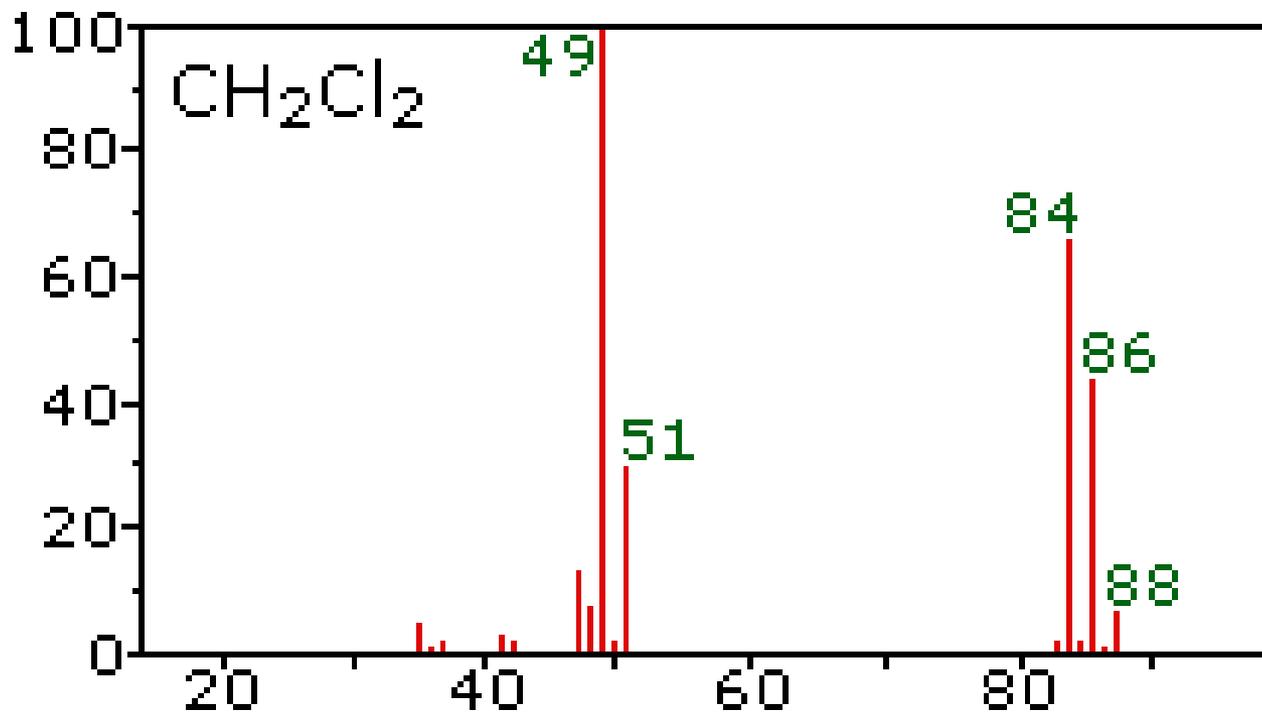
Figura 14.4

Lo spettro di massa
dell'1-bromopropano.



Brown, Foote, Iverson
Chimica Organica, III Ed.
EdiSES

^{35}Cl e ^{37}Cl hanno abbondanza relativa 3:1



perde un atomo di cloro



Se in una molecola abbiamo due atomi di cloro avremo tre picchi: uno a massa M (tutti e due ^{35}Cl), a massa $M+2$ (un ^{35}Cl e un ^{37}Cl) e a massa $M+4$ (due ^{37}Cl).

Come si calcola l'abbondanza relativa dei picchi?

L'intensità relativa dei tre ioni può essere prevista direttamente dai coefficienti dello sviluppo binomiale.

$$(a + b)^n$$

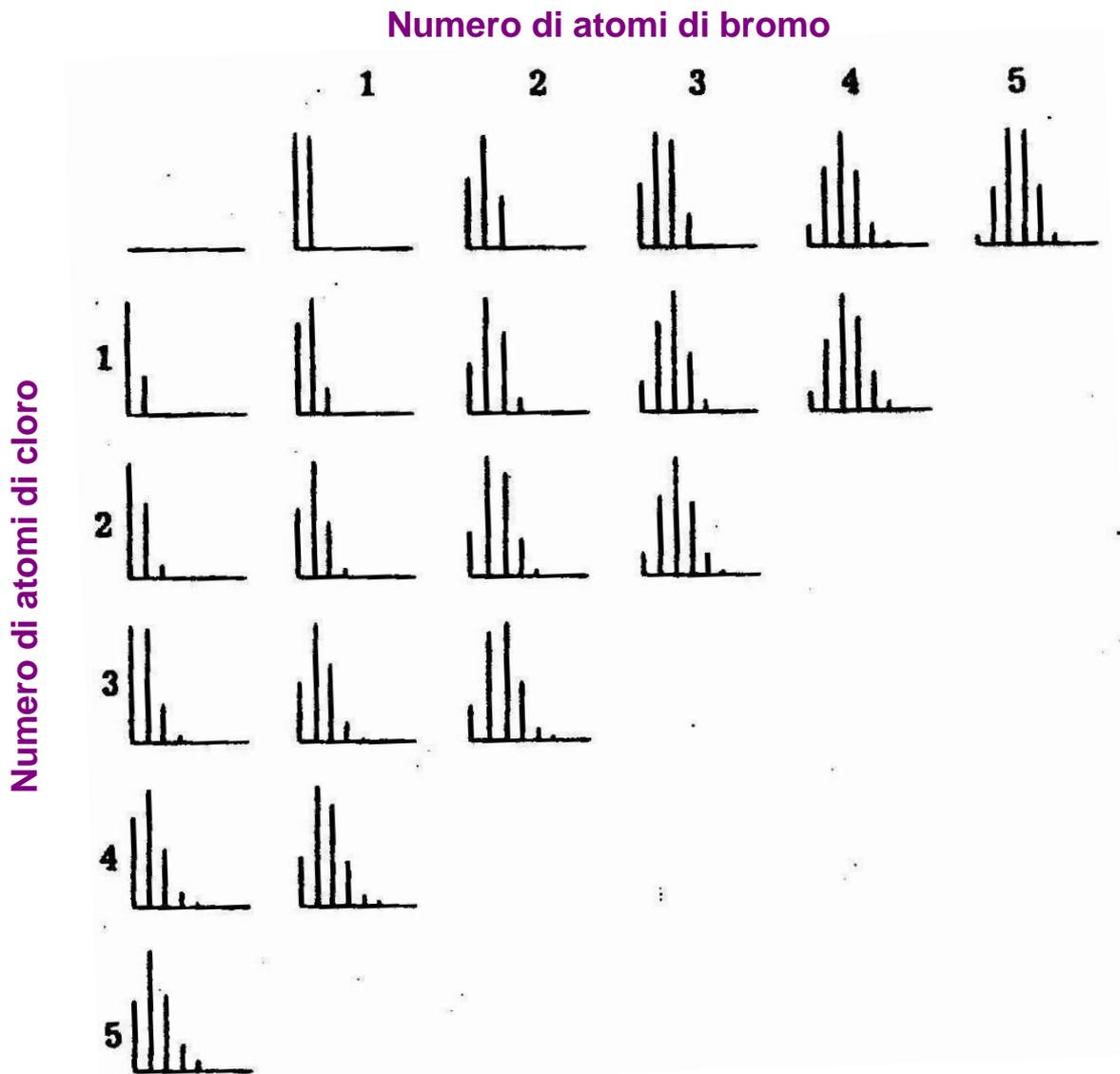
n = numero di atomi

a = abbondanza naturale relativa dell'isotopo a massa minore (per il ^{35}Cl 3)

b = abbondanza naturale relativa dell'isotopo a massa maggiore (per il ^{37}Cl 1)

$$(3 + 1)^2 = 9 + 6 + 1$$

Cluster isotopici per combinazioni da 1 a 5 di atomi di bromo e cloro





L'impiego di un fascio elettronico con energia di 70eV opera la rimozione di un elettrone dalla molecola in fase gassosa ottenendo uno **ione molecolare** radicale catione ($M^{\bullet+}$).



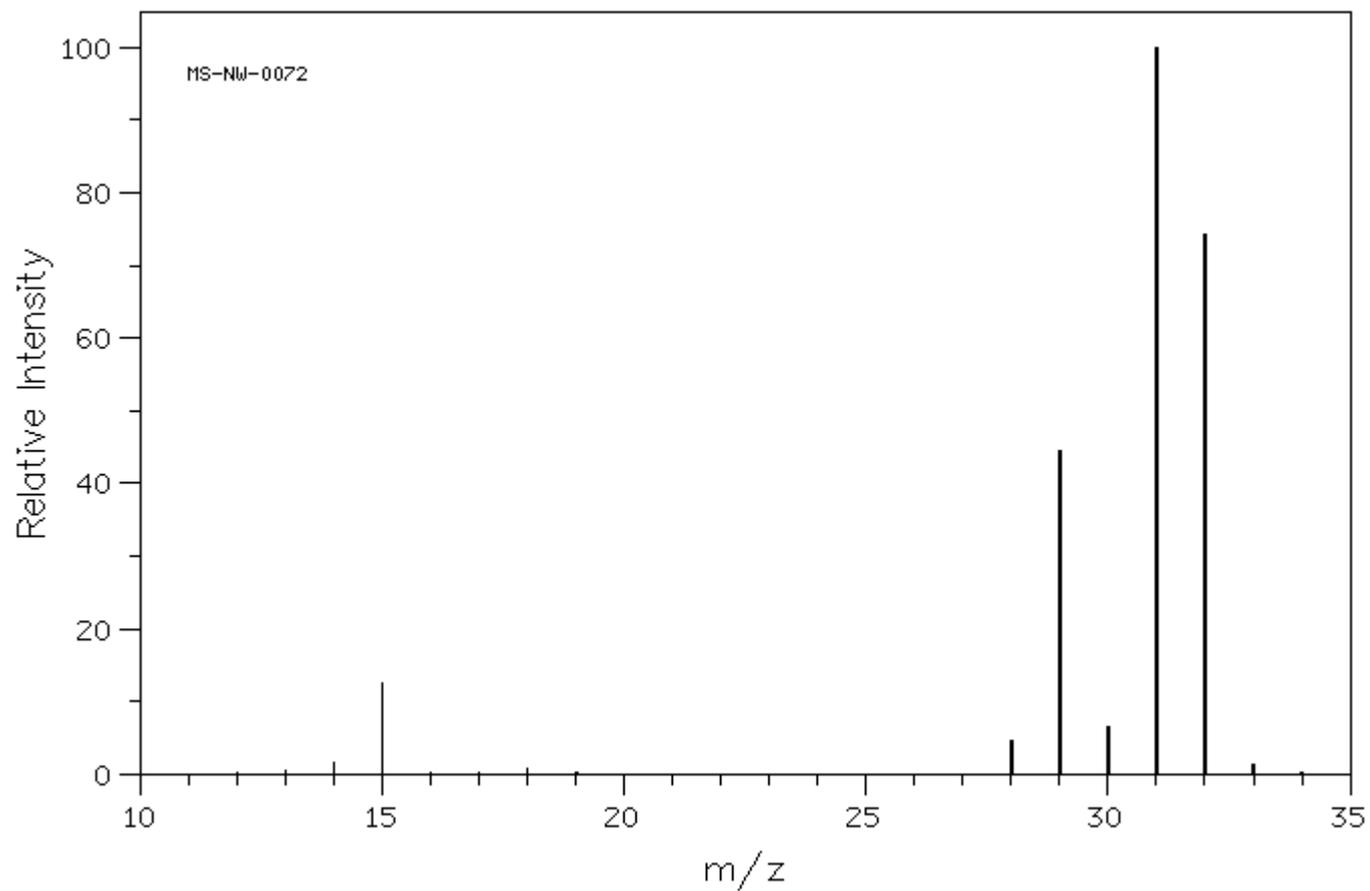
m/z 32

Lo ione molecolare può subire frammentazione prima di arrivare all'analizzatore.





Spettro di massa del metanolo



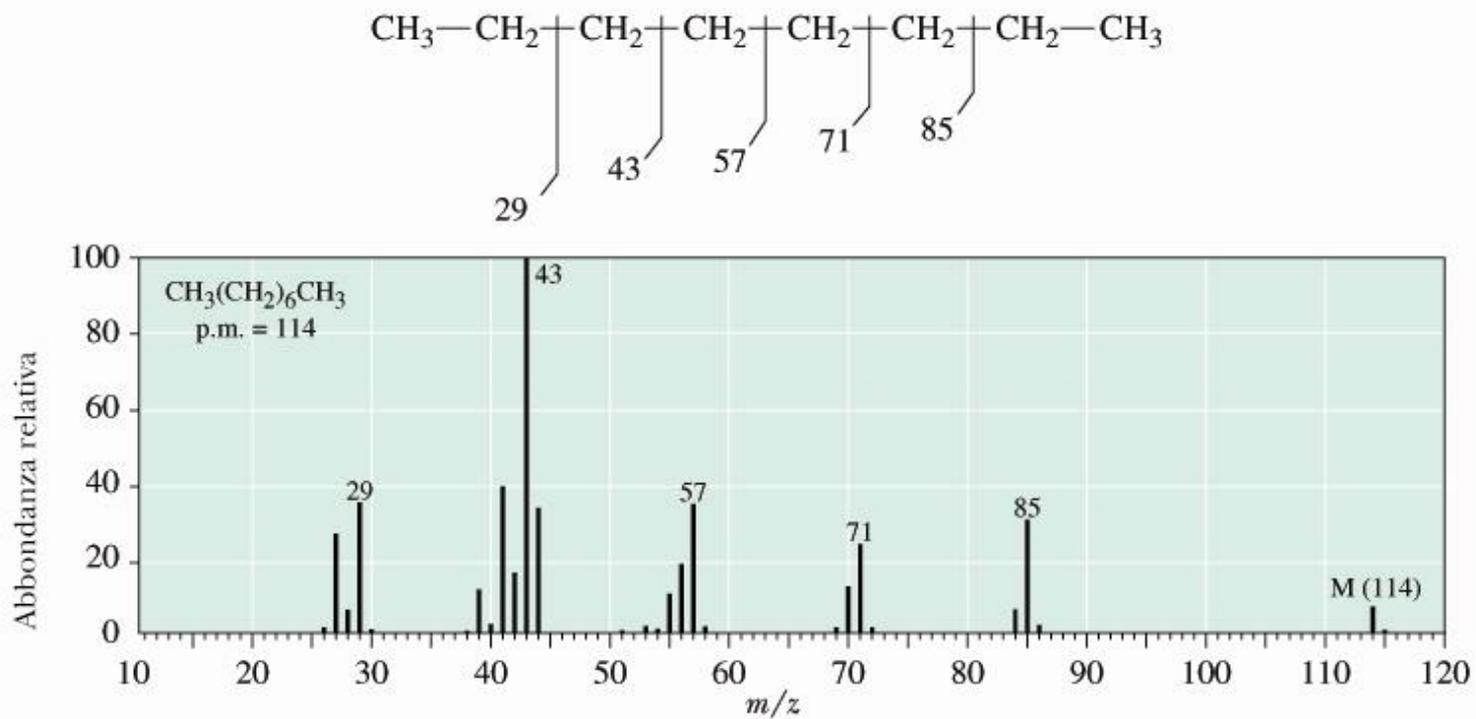


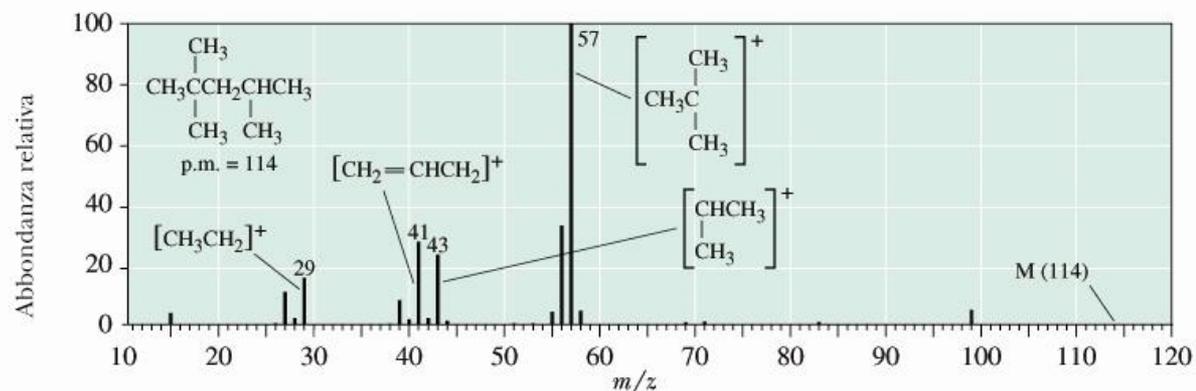
Figura 14.5

Lo spettro di massa dell'ottano.



Figura 14.6

Lo spettro di massa del 2,2,4-trimetilpentano. Il picco dello ione molecolare è di così bassa intensità che non appare per niente in questo spettro.



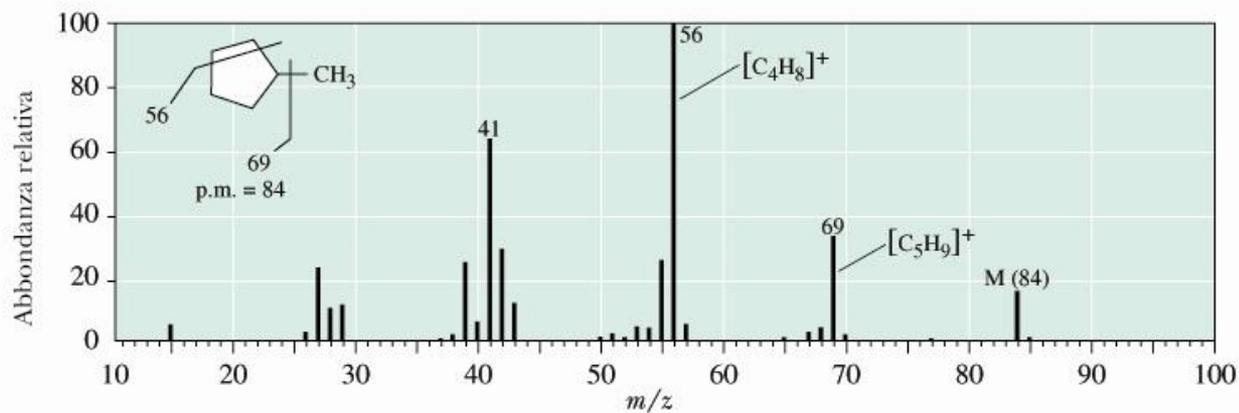
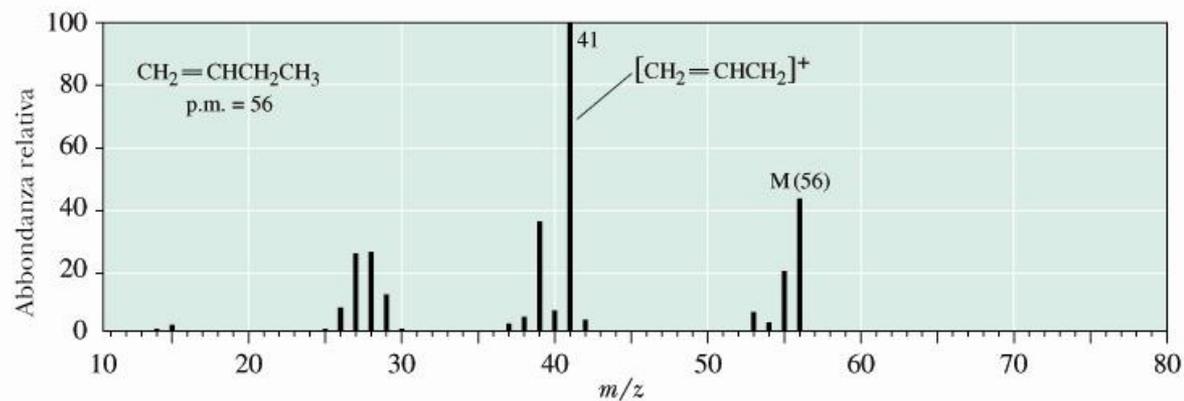


Figura 14.7
Lo spettro di massa del metilciclopentano.

Figura 14.8
Spettro di massa
dell'1-butene.





I **picchi di frammentazione** sono dovuti a ioni frammento, originati da processi di decomposizione della molecola in esame. Essi possono essere correlati alla struttura e quindi sono importanti per individuare gruppi funzionali, sottostrutture e tipi di legami presenti nella molecola.

Frammentazione

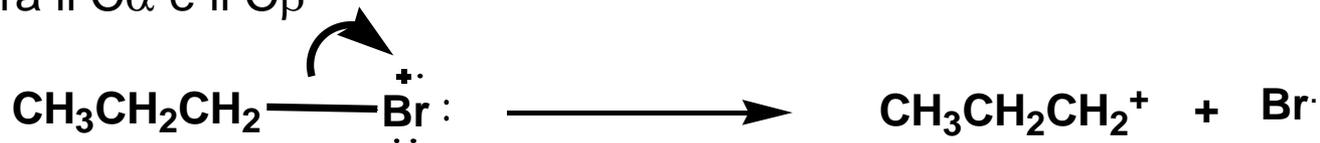
La frammentazione dello ione molecolare con numero dispari di elettroni può avvenire per rottura omolitica od eterolitica del legame singolo.

Nella rottura omolitica ciascun elettrone si muove indipendentemente.

Nella rottura eterolitica una coppia di elettroni si “muove” verso il sito carico.



Rottura tra il C α e il C β



Rottura α

La frammentazione dipende dal tipo di ionizzazione

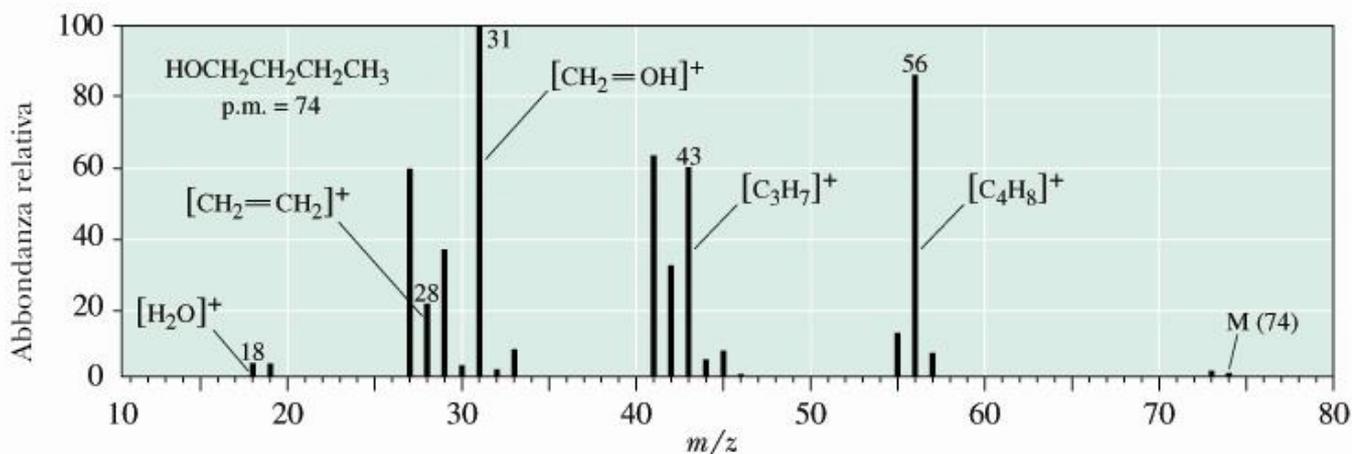
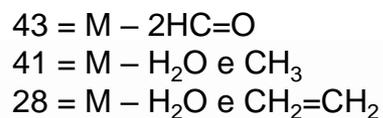
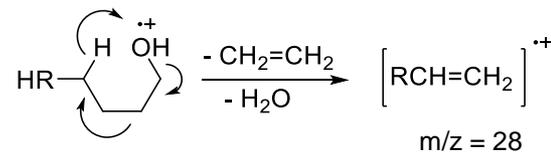
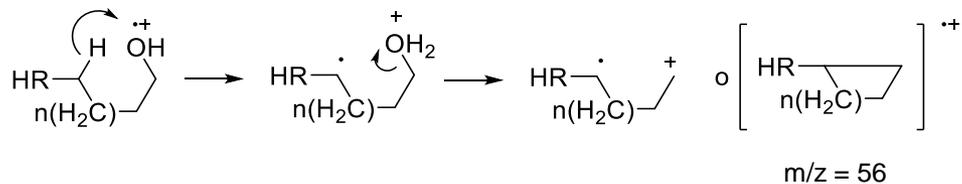
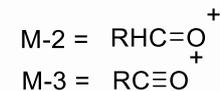
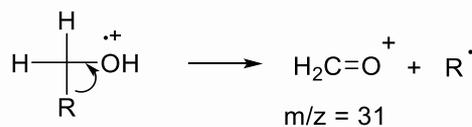


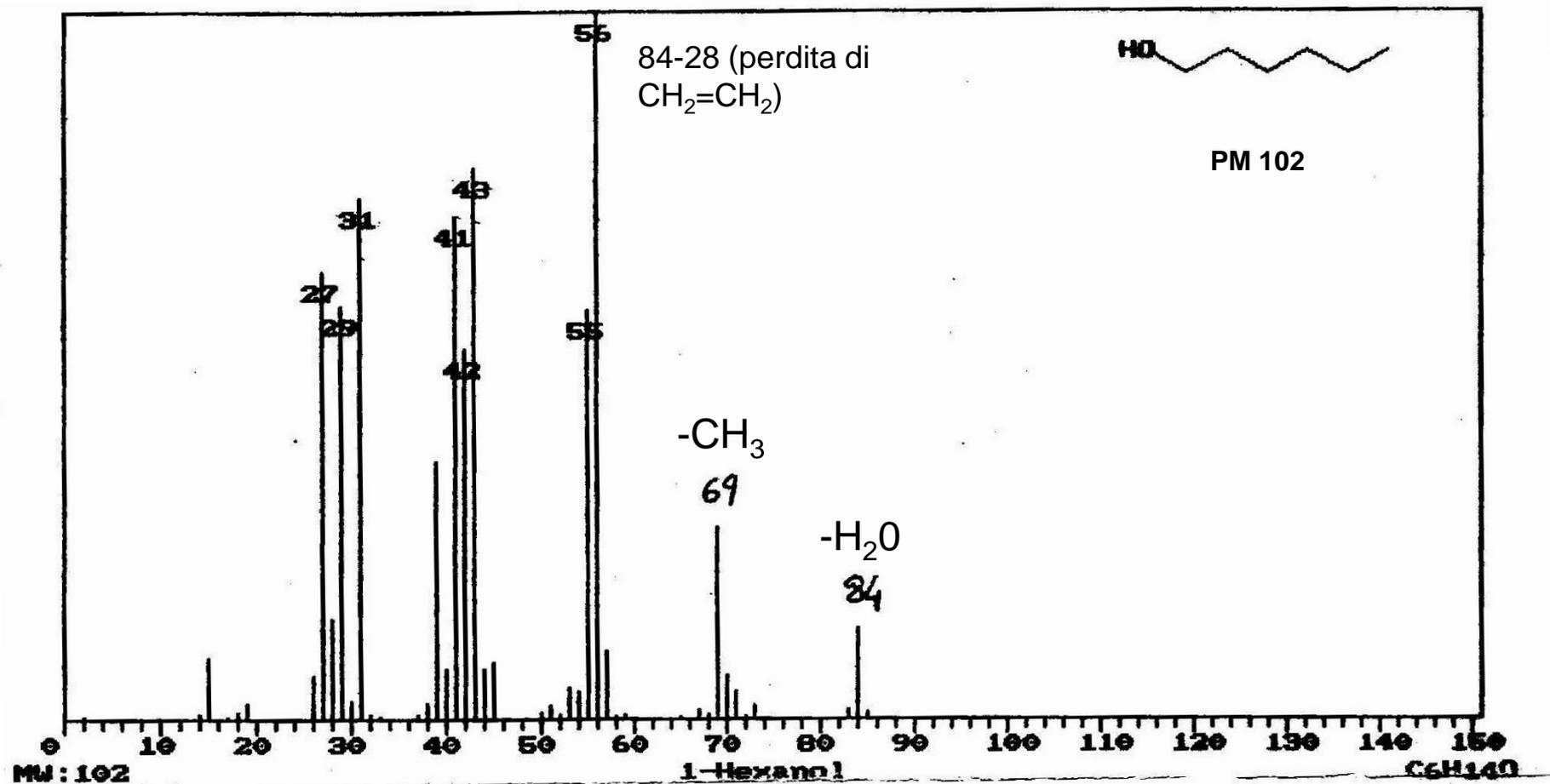
Figura 14.10
Spettro di massa
dell'1-butanol.

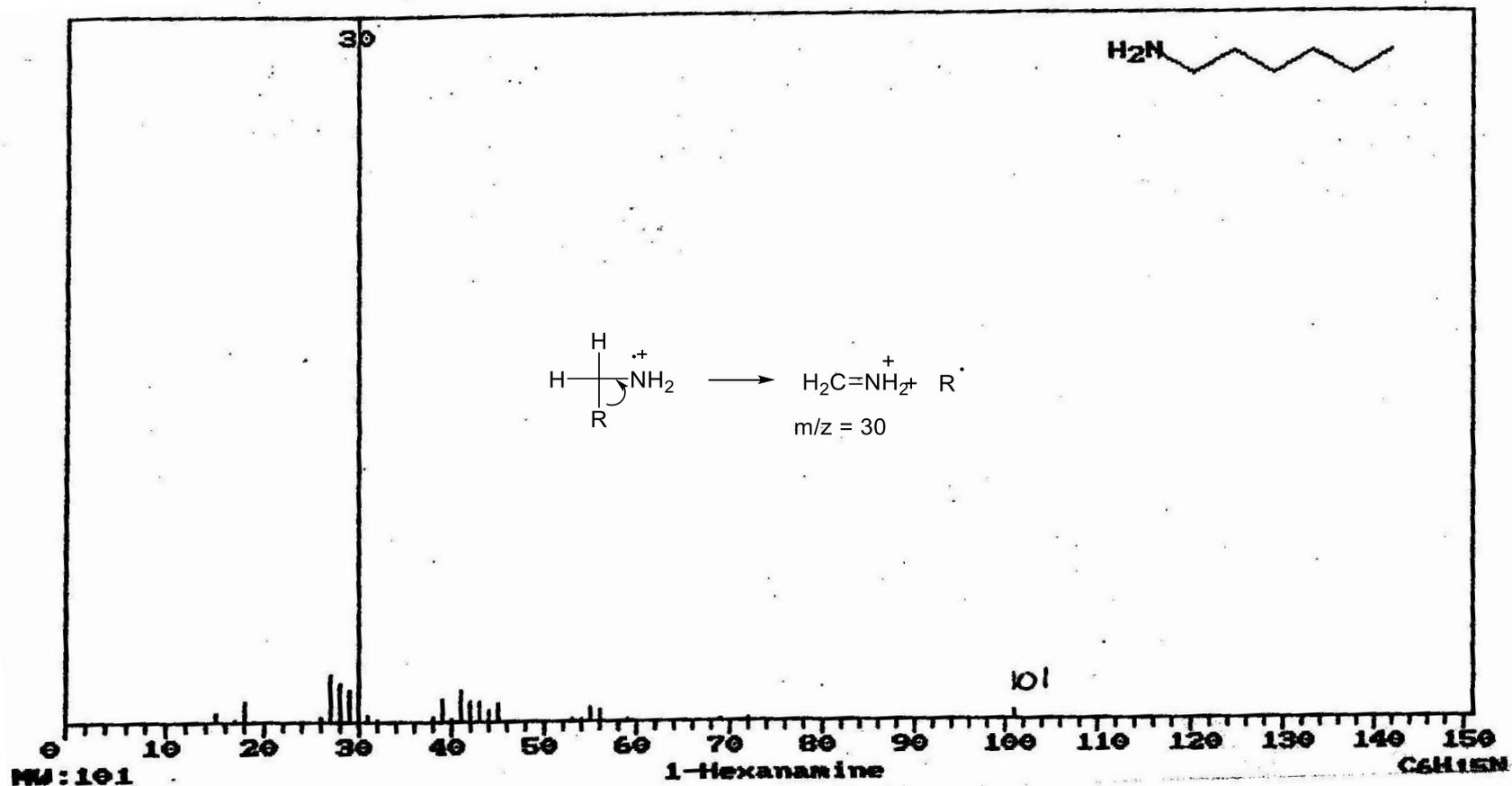


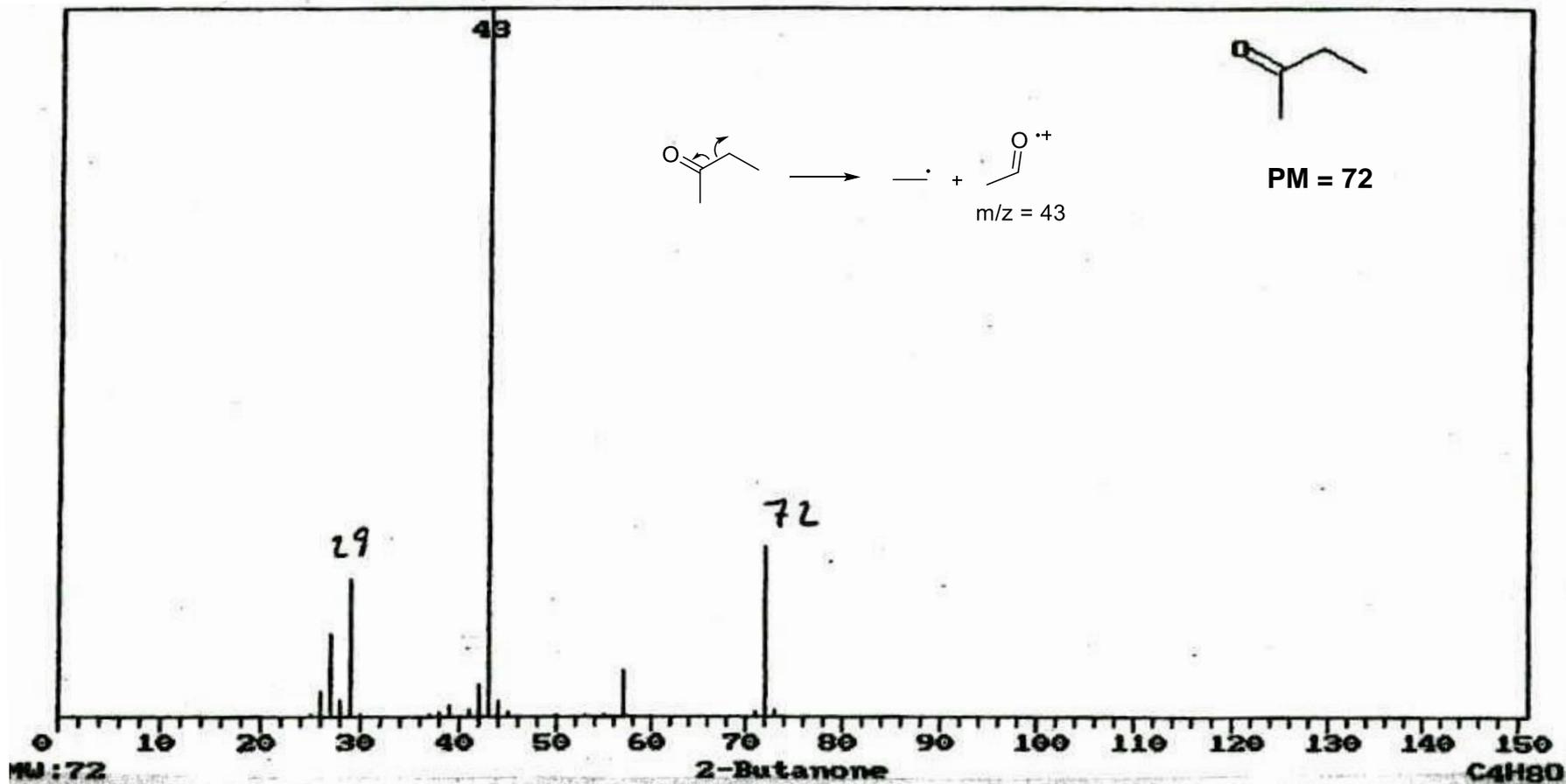
Brown, Foote, Iverson
Chimica Organica, III Ed.
EdiSES



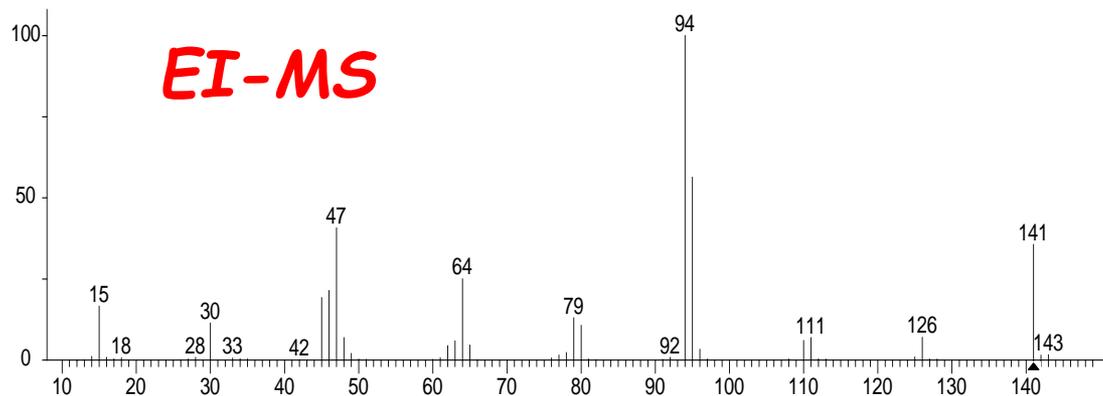
esano



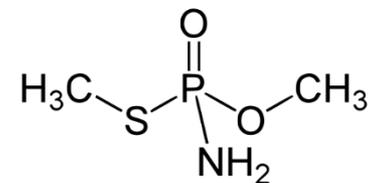




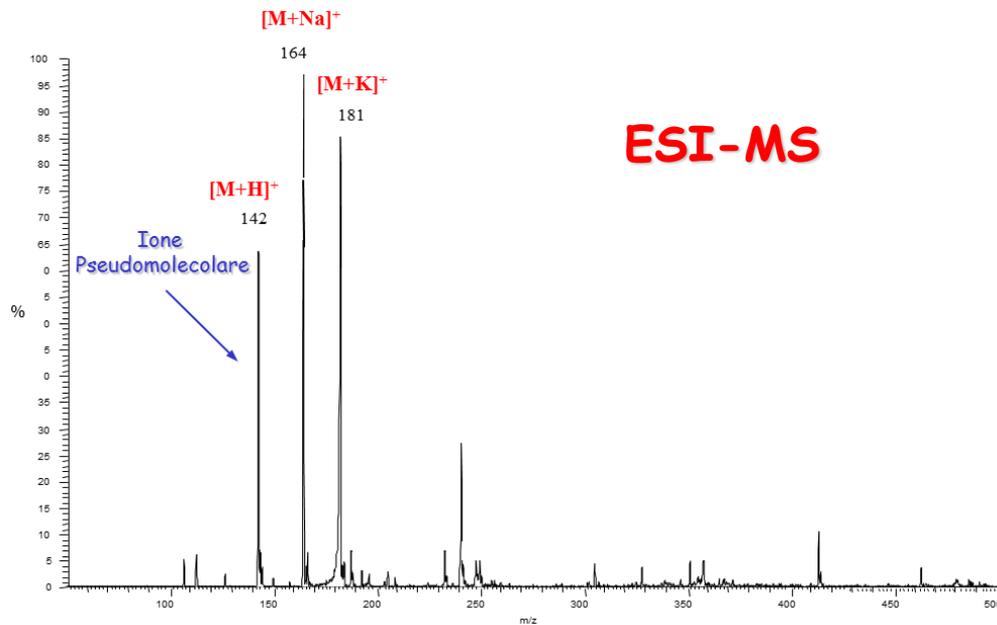
EI-MS



Phosphoramidithioic acid, O,S-dimethyl ester



Metamidophos
(pesticida)



ESI-MS