

# **CHIMICA ANALITICA II**

**CON LABORATORIO**

**(AA 2018-19)**

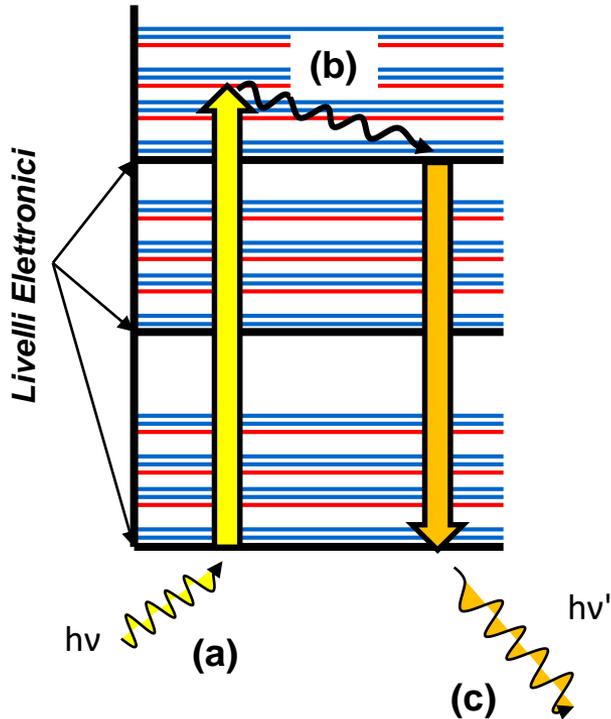
8 C.F.U. - Laurea triennale in Chimica

# Le Spettroscopie di Fluorescenza molecolare

Il fenomeno della fluorescenza molecolare avviene quando una molecola dopo aver assorbito un fotone ad energia  $h\nu$  emette un fotone ad energia  $h\nu'$  con  $\nu' < \nu$  (cioè  $\lambda' > \lambda$ )

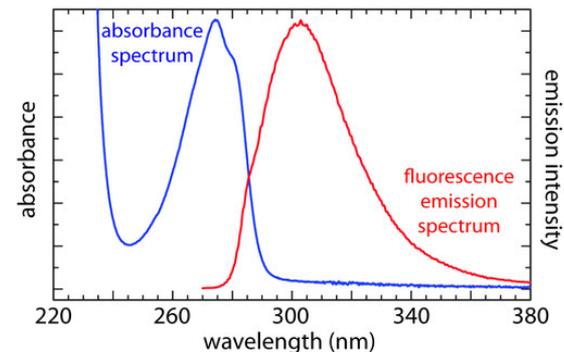


!!! E' una  
spettroscopia di  
emissione !!!



Con l'assorbimento del fotone la molecola:

- raggiunge un livello energetico vibrazionale appartenente ad un certo livello elettronico superiore a quello fondamentale (a),
- poi decade per rilassamento vibrazionale fino al livello elettronico eccitato (b)
- ed infine emette un fotone per rilassamento radiativo ritornando allo stato fondamentale (c), quindi  $\Delta E' < \Delta E$



# L'analisi quantitativa in spettroscopia di fluorescenza molecolare

Le misure di emissione non sono misure assolute: le intensità di emissione ottenute su diversi strumenti non sono in genere confrontabili fra di loro

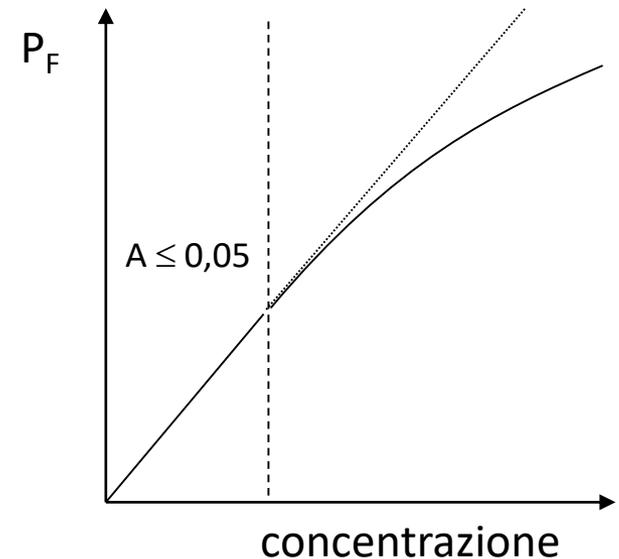
Per effettuare misure quantitative è quindi indispensabile utilizzare una curva di taratura.

E' possibile dimostrare che, quando l'assorbanza della soluzione è sufficientemente bassa ( $A \leq 0,05$ ) esiste una proporzionalità diretta fra l'intensità dell'emissione  $P_F$  e la concentrazione:

$$P_F = kP_0c$$

dove  $P_0$  è la potenza della radiazione incidente e  $k$  è una costante che contiene, fra l'altro, il valore della resa quantica di emissione dell'analita (la resa quantica  $\Phi$  è il rapporto tra il numero di fotoni emessi e il numero fotoni assorbiti):

Inoltre è possibile aumentare l'intensità del segnale di emissione aumentando la potenza della radiazione di eccitazione.

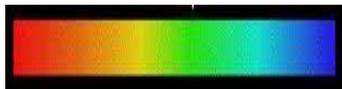
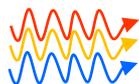


# Spettroscopia di fluorescenza molecolare: la strumentazione

Generatore di segnale  
elettromagnetico



Lampada ad arco  
(Xe)



Monocromatore1

$h\nu$



Campione

$h\nu'$

Monocromatore2

Detector

Dispositivo  
di lettura



E' necessario che il secondo monocromatore sia posto a  $90^\circ$  rispetto alla radiazione incidente in modo che al detector arrivi solo la radiazione emessa ( $h\nu'$ ) senza che essa si sommi alla radiazione incidente  $h\nu$ .

Lo strumento completo è denominato **Spettrofluorimetro**.

- La sorgente di segnale elettromagnetico è una lampada che emette luce continua nell'intervallo di lunghezze d'onda (spettro UV-Vis) necessario per utilizzare la tecnica.
- Quali selettori di  $\lambda$  vengono utilizzati due monocromatori a reticolo;
- Le celle che contengono il campione devono avere tutte le quattro facce trasparenti (nella spettroscopia UV-Vis è sufficiente che due facce opposte siano trasparenti)
- La lampada ad arco contenente Xe (ad alta pressione) è una lampada ad alto potere radiante ( $P_0$ ) che produce radiazione elettromagnetica in un intervallo  $\Delta\lambda = 200 - 900 \text{ nm}$

# Confronto tra Spettroscopia di assorbimento e di fluorescenza molecolare

## Spettrofotometria

## Spettrofluorimetria

**Applicabilità**

**Ampia**

**Ristretta**

(relativamente poche sostanze emettono)

**Intervallo di linearità**

**Ampio**

**Ristretto**

**Sensibilità (oppure  
limite di rivelazione)**

**Media**

**Elevata**

(è possibile utilizzare rivelatori più  
sensibili o aumentare  $P_0$ )

# Le Spettroscopie di Fluorescenza atomica ai raggi X (XRF)

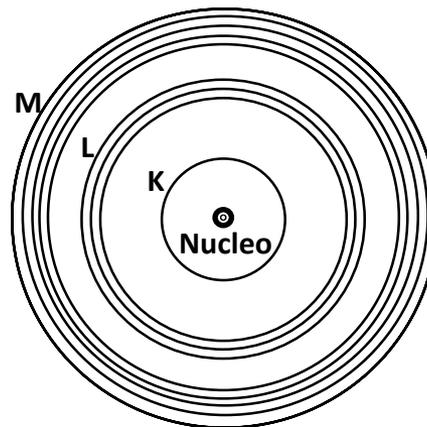
XRF è una tecnica che viene utilizzata per l'analisi elementare di solidi o liquidi con un minimo trattamento del campione. Il campione viene irradiato con raggi X, gli atomi del campione vengono eccitati ed emettono raggi X in fase di rilassamento. Le lunghezze d'onda dei raggi X emessi sono caratteristiche della specie atomica.

Nel campo dei raggi X la lunghezza d'onda è usualmente espressa in Ångstrom con  $1\text{Å} = 0.1\text{ nm}$  e l'energia coinvolta nelle transizioni elettroniche in chilo-elettronVolt (keV). 1 eV è l'energia acquisita da un elettrone quando viene accelerato dalla potenza di 1 Volt.

L'XRF di solito utilizza lunghezze d'onda nell'intervallo 0.5-100 Å e quindi energie da 25 a 0.1 keV

I raggi X possono interagire con gli elettroni interni del guscio atomico K, poiché possiedono energia comparabile con l'energia di transizione elettronica da K ai gusci più esterni.

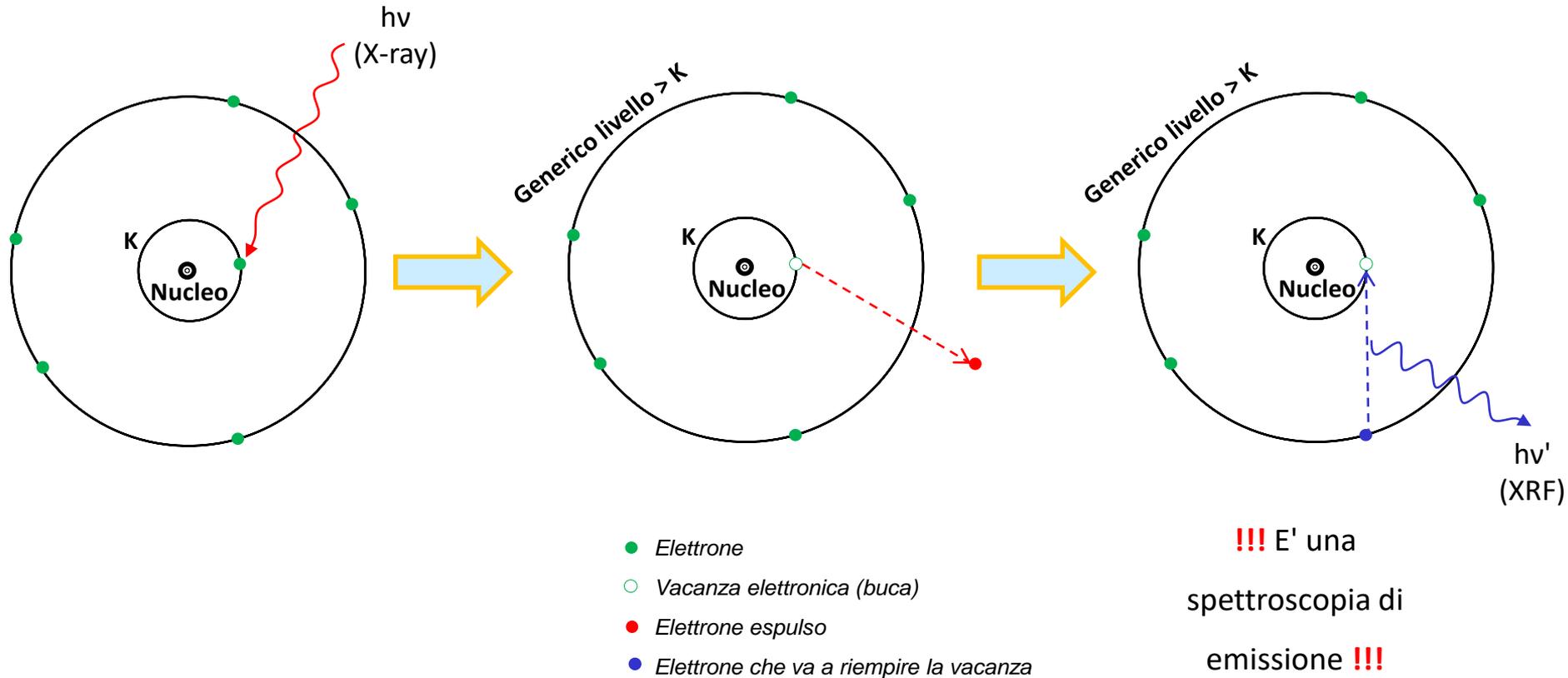
**Modello atomico di Bohr**



segue →

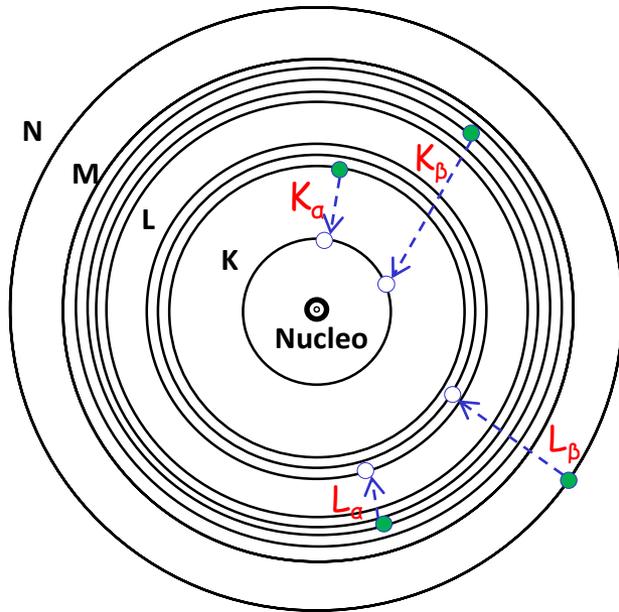
In questa tecnica un fotone con energia nella regione dello spettro dei raggi X è assorbito da un atomo ed un elettrone di un orbitale interno viene espulso lasciando una vacanza.

A questo punto l'atomo è in uno stato ionizzato  $A^+$  e tende a tornare il più presto possibile in uno stato energetico più basso (configurazione elettronica più stabile) con lo spostamento di un elettrone da un guscio più esterno alla vacanza e quindi emettendo un fotone a  $\lambda' > \lambda$  (fluorescenza).



segue →

## Transizioni elettroniche possibili in XRF



● Elettrone che va a riempire la vacanza

○ Vacanza elettronica (buca)

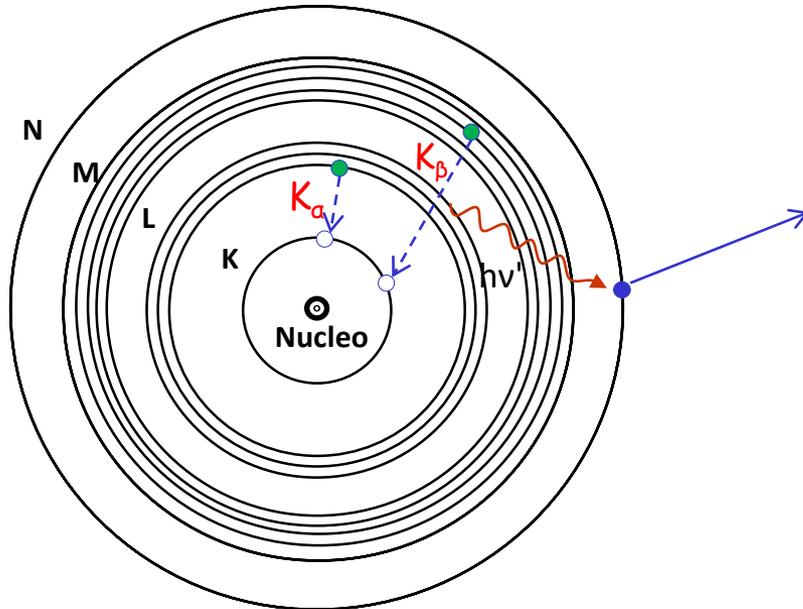
- ❖ **righe  $K_\alpha$** : transizione di un elettrone del guscio L per riempire una vacanza nel guscio K. Sono le transizioni più frequenti e quindi i picchi  $K_\alpha$  sono i più intensi
- ❖ **righe  $K_\beta$** : transizione di un elettrone del guscio M per riempire una vacanza nel guscio K
- ❖ **righe  $L_\alpha$** : transizione di un elettrone del guscio M per riempire una vacanza nel guscio L
- ❖ **righe  $L_\beta$** : transizione di un elettrone del guscio N per riempire una vacanza nel guscio L

segue →

## Rilassamenti non radiativi in XRF (emissione di elettroni di Auger)

L'emissione di elettroni di Auger è un processo competitivo rispetto all'emissione di fluorescenza (cioè l'emissione di fotoni).

L'energia rilasciata durante una transizione  $K_\alpha$  o  $K_\beta$  (cioè un elettrone che passa da L o M al guscio K, rispettivamente) può essere assorbita da un altro elettrone dell'atomo invece di essere emessa come fotone. Questa energia porta all'emissione di un elettrone dall'atomo, il così detto elettrone di Auger.



- Elettrone che va a riempire la vacanza
- Vacanza elettronica (buca)
- Elettrone di Auger

La probabilità che il riempimento di una vacanza elettronica porti ad emissione è detta **resa della fluorescenza** e si esprime (es. per il guscio K):

$$\omega_K = \frac{n^\circ \text{ di raggi X emessi dal guscio K}}{n^\circ \text{ di vacanze create nel guscio K}}$$

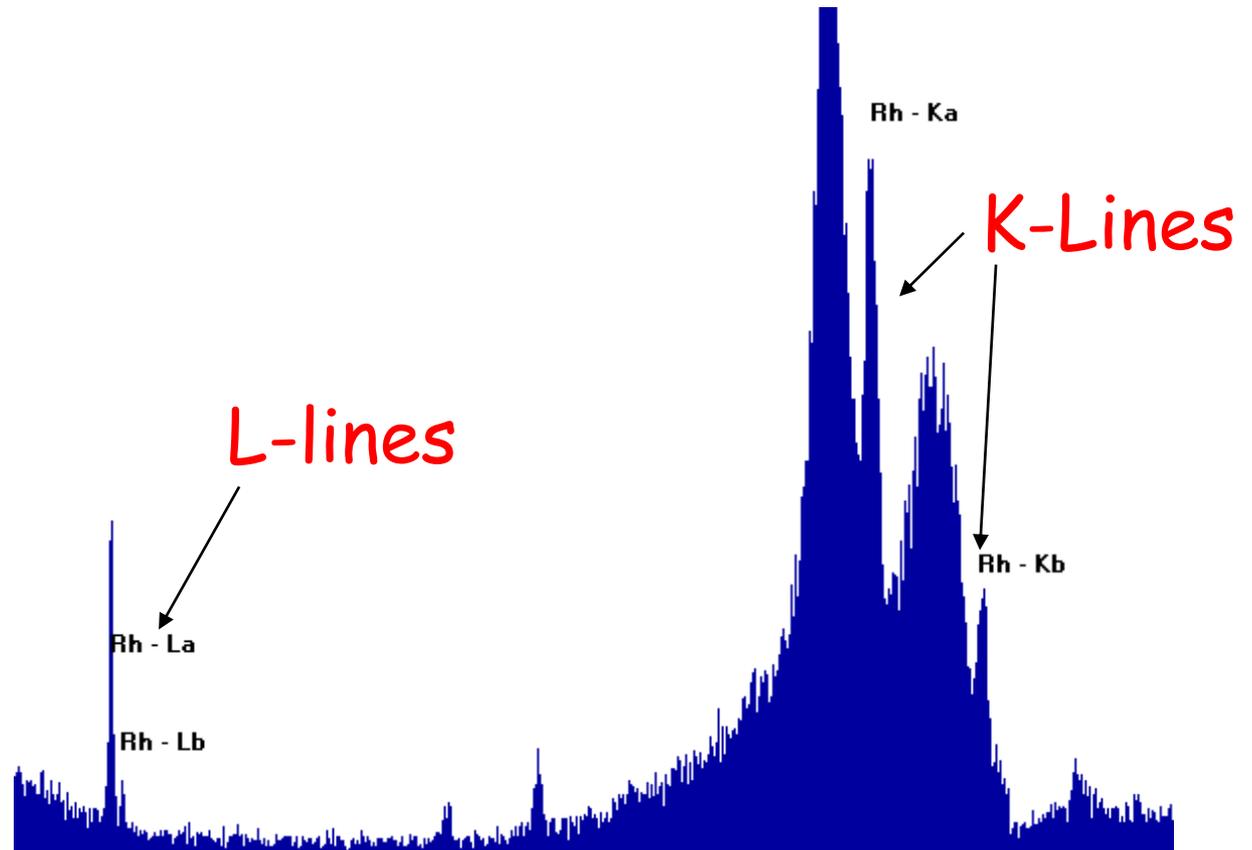
$\omega_K$  è molto bassa per elementi con  $Z < 11$  (cioè più leggeri di Na), mentre per elementi con  $Z$  molto grande è prossima a 1.

Per questo motivo la tecnica XRF è poco sensibile per elementi leggeri.

# Spettri XRF

Gli spettri XRF non contengono solo righe ben distinte dovute alle transizioni elettroniche, ma anche numerose righe (a seconda della specie atomica e dello strumento impiegato) dovute a diversi effetti:

- **Rayleigh Scatter**
- **Compton Scatter**
- **Picchi di Escape**
- **Picchi somma**
- **Bremstrahlung**

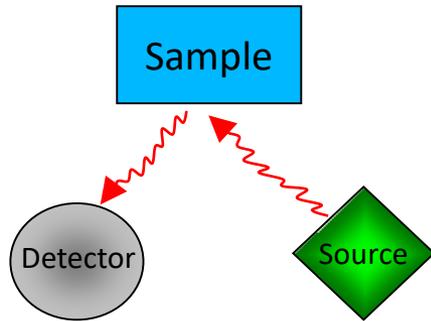


Rh XRF spectrum

segue →

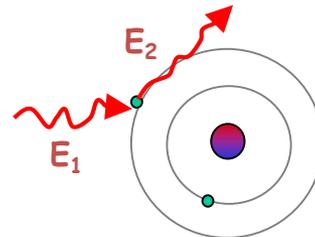
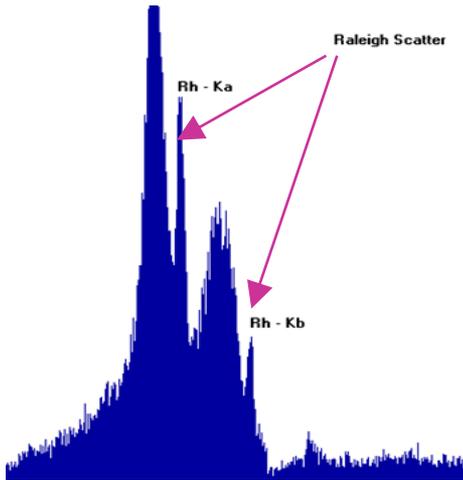
# Effetto di scattering:

N.B.: in questa spiegazione la "sorgente" è un tubo al Rh (vedasi slides successive)



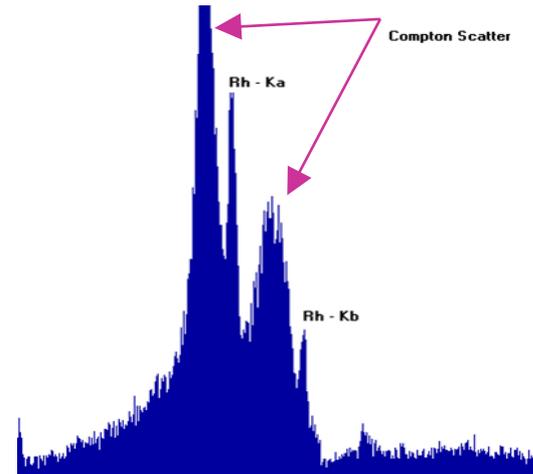
Una frazione dei raggi X della sorgente colpiscono il campione e sono retrodiffusi ("backscattered") al detector

## ➤ Rayleigh Scatter



- i raggi X colpiscono un atomo senza promuovere fluorescenza
- l'energia non è persa nella collisione ( $E_2 = E_1$ )
- i picchi appaiono come picchi della sorgente
- noti anche come scatter elastico (perché l'energia non cambia)

## ➤ Compton Scatter



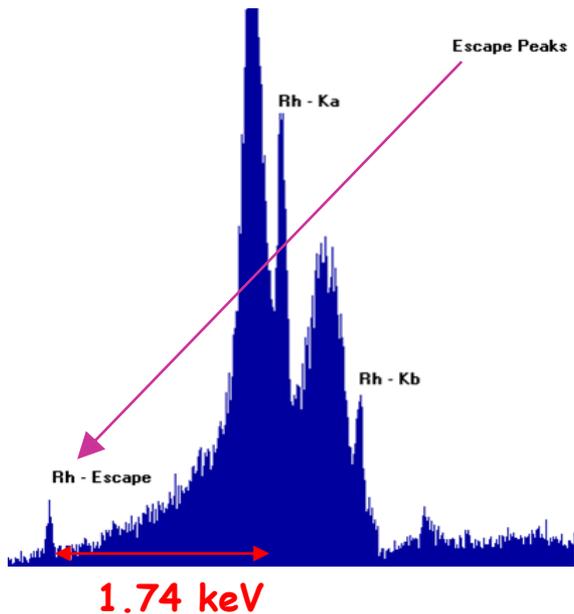
- i raggi X colpiscono un atomo senza promuovere fluorescenza
- energia è persa nella collisione ( $E_2 < E_1$ )
- i picchi Compton appaiono come picchi della sorgente, ad energia leggermente inferiore ai picchi Rayleigh
- noti anche come scatter anelastico

segue →

## ➤ Picchi somma:

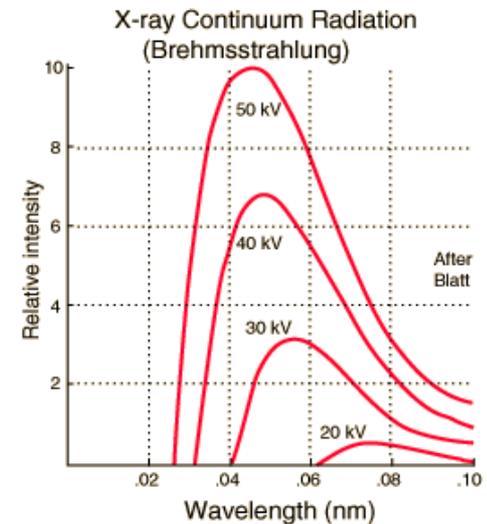
- 2 fotoni colpiscono il detector simultaneamente
- la fluorescenza è riconosciuta come dovuta ad 1 fotone avente energia doppia
- un picco appare nello spettro a 2x (volte) keV dell'elemento

## ➤ Picchi di escape



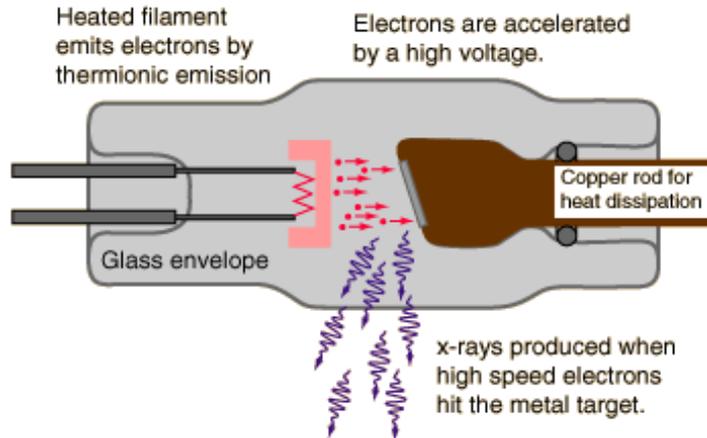
- i raggi X colpiscono il campione e promuovono fluorescenza
- si genera un artefatto dall'elemento che costituisce il detector (es. Si)
- il risultato è un picco che appare a keV dell'Elemento– (meno) keV del Si (1.74 keV)

## ➤ Bremsstrahlung (radiazione di frenamento)



*Rumore che appare negli spettri dovuto alla decelerazione degli elettroni quando colpiscono l'anodo del tubo a raggi X (nella sorgente)*

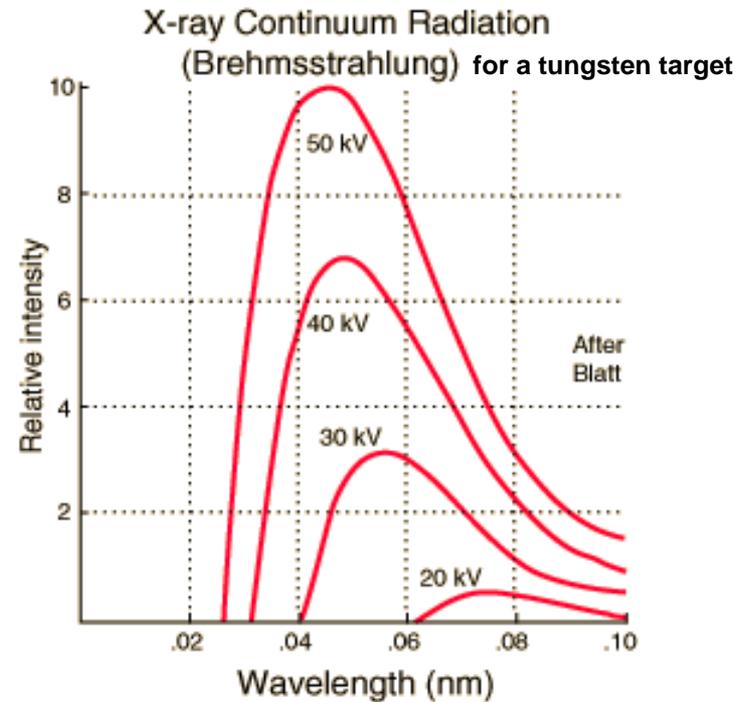
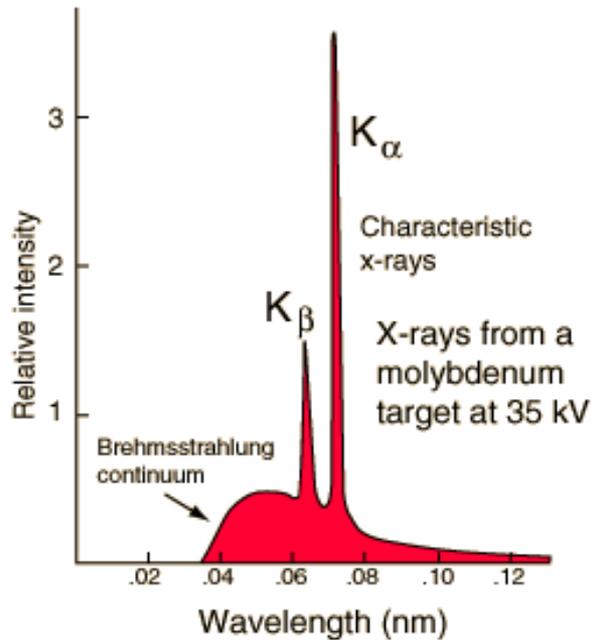
# Spettroscopia XRF: la sorgente di raggi X



***Tube a raggi X per la produzione del fascio primario (tubo di Coolidge)***

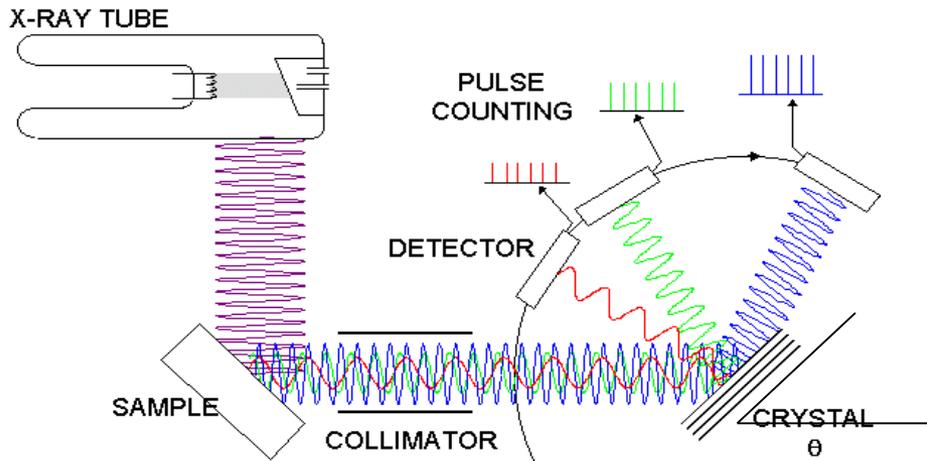
*anodo: W, Cr, Cu, Mo, Rh, Au, Fe, Co*

*diametro del fascio primario: 1-2 mm*



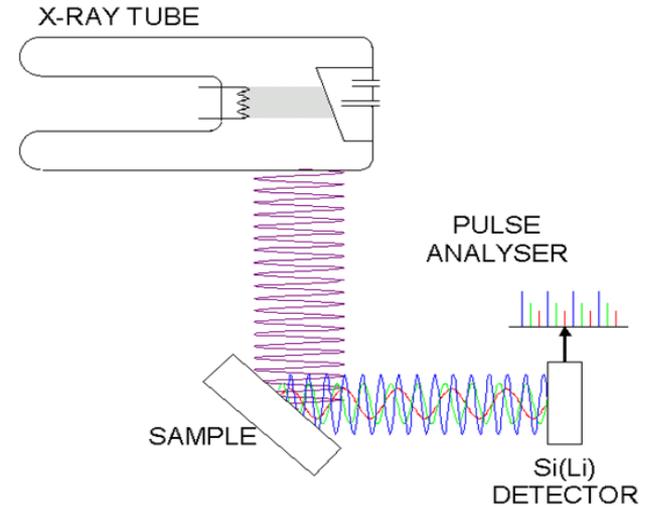
# Spettroscopia XRF: la strumentazione

## Spettrometria di fluorescenza X a dispersione di lunghezza d'onda (WDXRF)



- più sofisticati, quindi più costosi;
- minore efficienza della sorgente di raggi X  $\Rightarrow$  costo maggiore;
- risoluzione migliore (5-20 eV);
- radiazioni di fondo minori, quindi minori LOD (Limit of Detection)

## Spettrometria di fluorescenza X a dispersione di energia (EDXRF)



- più semplici, quindi meno costosi;
- niente parti in movimento;
- maggiore efficienza della sorgente di raggi X;
- risoluzione peggiore (150-600 eV), necessità di deconvoluzioni spettrali in caso di sovrapposizione di picchi;
- radiazioni di fondo maggiori, quindi maggiori LOD

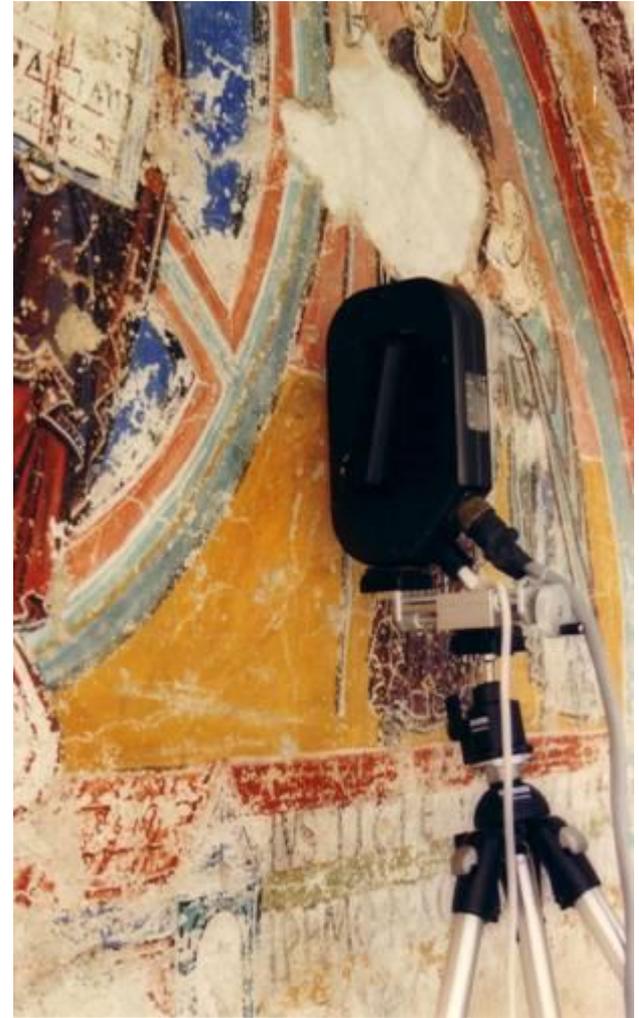
## Strumenti XRF da banco

- strumenti compatti
- prezzo contenuto
- manipolazione richiesta minima
- possibilità di analisi su scala micro (strumenti più costosi)



## Strumenti XRF portatili

- gli strumenti portatili consentono di effettuare analisi senza vincoli geometrici
- prestazioni inferiori rispetto agli strumenti da banco



## Strumenti XRF portatili



Apparecchiature portatili  
per l'analisi non  
distruttiva "in situ"

limitata ad elementi con  
numero atomico superiore  
a 19 (potassio)

molto adatto per  
individuare i pigmenti  
edilizi

## X-Ray Fluorescence

### Welcome to XRF @ Elettra

X-Ray Fluorescence is a highly versatile beamline developed by Elettra Sincrotrone Trieste. The beamline presently hosts an ultra-high vacuum chamber, operated in partnership with the IAEA.



Thanks to the combination of the tuneable monochromatic beam of the Elettra X-Ray Fluorescence beamline and of the flexible 7-axis manipulator of the UHVC end-station, synergistic application of various X-Ray Spectrometry and Spectroscopic Techniques are enable.

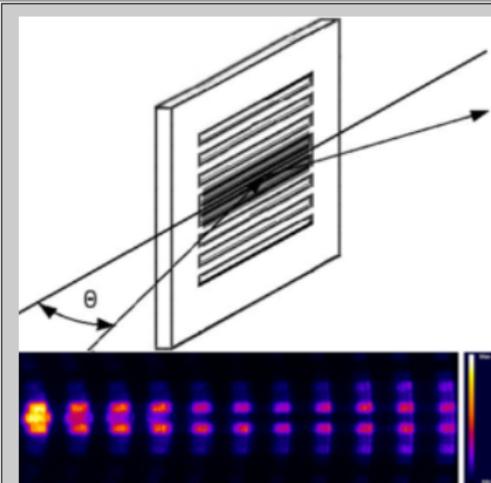
### Analytical capabilities

X-Ray Fluorescence (XRF) is a well-established and versatile analytical technique for studying the elemental composition of different kind of materials with detection limits down to the sub- $\mu\text{g/g}$  concentration level for the best excitation/detection conditions. The analytical capabilities of XRF are considerably improved in terms of elemental sensitivity and spatial resolution by using synchrotron radiation (SR) for excitation. Advanced sample manipulator stages make possible to perform near surface, angular dependent and 2D scanning or transmission measurements. In addition, the high resolving power of the crystal monochromators installed at the XRF beam line allows performing X-ray Absorption Near-Edge Structure (XANES) measurements and to gather valuable information on the speciation of the detected elements.

### Research highlights / [Publications](#)

#### Amplitude beam splitting of tender X-rays (2 - 8 keV) by use of a laminar diffraction grating

A diffraction grating with laminar groove profile was shown to split the amplitude of an incident wave equally into two or three diffraction peaks, when operated in extreme off-plane mounting in combination with keV tender X-rays. Such beam splitters can find application in delay lines and for interferometry experiments at free electron laser sources.



W. Jark and D. Eichert, Optics Express **23**(17), 22753-22764 (2015) DOI:10.1364/OE.23.022753

## Limiti di rilevabilità

*Differiscono in funzione della matrice, della preparazione del campione, del tipo di strumento.*

*Indicativamente, per materiale siliceo con WDXRF:*

*500-100 ppm per elementi maggiori (Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ba)*

*20 -10 ppm per elementi in traccia (V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, W, Pb, Th, U)*

*In genere:*

- la strumentazione ED ha limiti di rilevabilità più elevati per gli elementi in traccia rispetto allo strumento WD*
- i limiti di rilevabilità sono di un ordine di grandezza maggiore con strumentazioni portatili*

## Caratteristiche della tecnica XRF

- *multielementare*
- *non distruttiva*
- *analisi limitata ad elementi con n.a. > 10*
- *“necessità” di utilizzare il vuoto (10 Pa)*
- *possibili alterazione del colore*
- *possibili modificazioni delle proprietà meccaniche*
- *“ampia” area d’analisi*
- *marcato effetto matrice nell’analisi quantitativa*
- *in campioni stratificati, possibilità di eccitazione di più strati*

# Applicazioni

## Monete ed altri oggetti di metallo

*individuazione di alterazioni o trattamenti superficiali quali impoverimento o arricchimento analisi di bulk per indagini sulla tecnologia, informazioni storiche, autenticazioni*

## Ceramica e ossidiana

*studi di provenienza*

## Avorio

*riconoscimento di avorio di mammut*

## Vetri

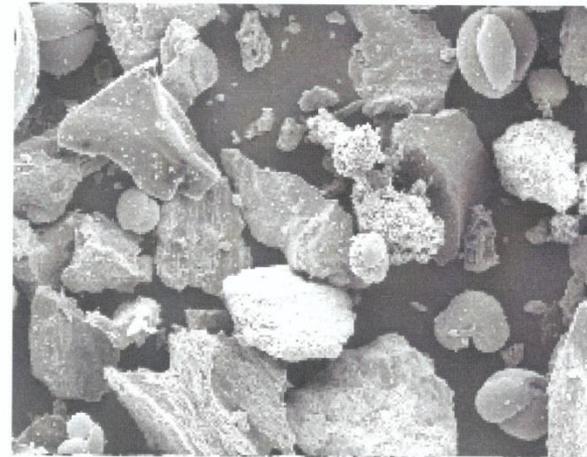
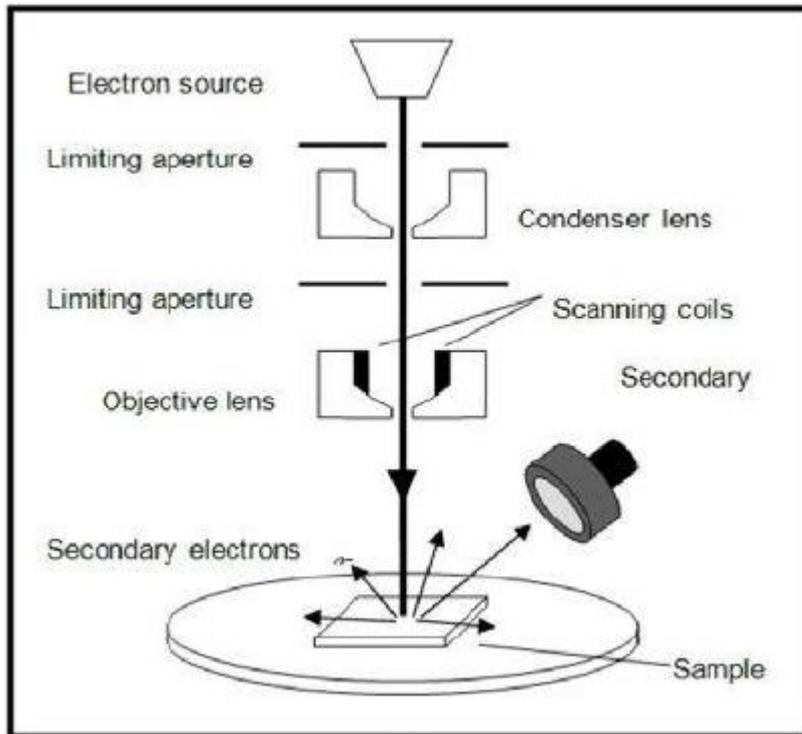
*individuazione degli elementi coloranti, composizione della matrice*

## Riconoscimento di pigmenti pittorici ed inchiostri

## Additivi nelle vernici

# Applicazioni in accoppiamento con altra strumentazione: la microscopia elettronica a scansione

## Scanning Electron Microscopy with EDX probe



**Figura 1** Immagine acquisita con il detector SE (Secondary Electrons)  
Impostazioni: Magn = 200, HT = 15 kV, Spot = 5



**Figura 2** Immagine acquisita con il detector BSE (Back Scattered Electrons)  
Impostazioni: Magn = 200, HT = 15 kV, Spot = 5

# Analisi di Attivazione Neutronica (NAA)

*Esponendo i campioni ad una sorgente di neutroni termici, e suscitando così una radioattività indotta, si ottenevano informazioni qualitative e quantitative sugli elementi presenti, tramite la misurazione della radioattività stessa.*

*E' necessario poter disporre di una sorgente di neutroni:*

- *Reattori tipo TRIGA (Training Research Isotopes General Atomics) MARK II*
- <http://www.camplus.it/visita-guidata-al-reattore-nucleare-sperimentale-triga-centro-lena-di-pavia>
- <http://www.rcp.ijs.si/ric/index-a.htm>
- [http://www.rcp.ijs.si/ric/pdf/reactor\\_utilization.pdf](http://www.rcp.ijs.si/ric/pdf/reactor_utilization.pdf)

<https://www.researchgate.net/publication/237274676>

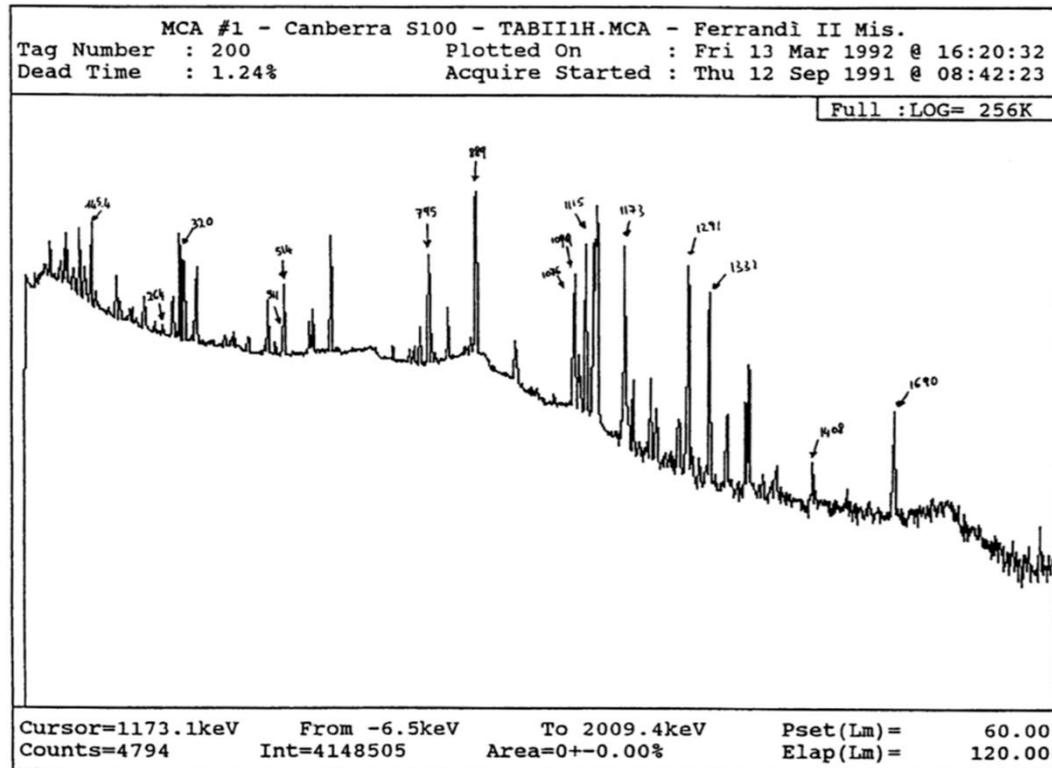
*L'ANALISI STRUMENTALE PER ATTIVAZIONE NEUTRONICA UN POTENTE STRUMENTO NELLA DETERMINAZIONE DELLA CONTAMINAZIONE AMBIENTALE TEORIA ED APPLICAZIONI*

L'Analisi per Attivazione Neutronica presenta, per un gran numero di elementi, una sensibilità ineguagliabile (fino a  $10^{-12}$  g ovvero picogrammi).

La sua importanza deriva dalla necessità di analizzare elementi di rilevanza ambientale presenti però in tracce o, addirittura, in ultra-tracce nei campioni.

Una tipica analisi con questa tecnica si svolge in 3 fasi distinte: attivazione, isolamento e determinazione quantitativa.

Si rilevano fotoni gamma, con energie caratteristiche per gli elementi.

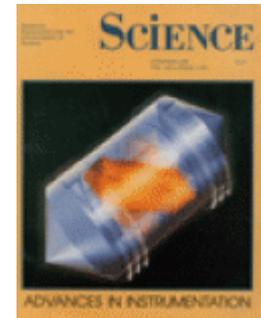


# **LA SPETTROMETRIA DI MASSA**

# INTRODUZIONE

*La Spettrometria di Massa consiste nel “pesare” singole molecole tramite la loro trasformazione in ioni nel vuoto, e la misura della risposta delle loro traiettorie a campi elettrici, magnetici o entrambi*

*Fenn et al (1989): Science 246(4926):64-71*



*Uno spettrometro di massa è uno strumento che viene utilizzato per:*

- 1) Generare ioni da elementi/composti con un metodo adatto;*
- 2) Separare questi ioni (nello spazio o nel tempo) in base al loro rapporto massa su carica (**m/z**)*
- 3) Rivelare gli ioni qualitativamente e quantitativamente in funzione del loro m/z*

*La spettrometria di massa NON è una spettroscopia, perché NON coinvolge assorbimento o emissione di fotoni*

# GLI ISOTOPI

Gli isotopi sono elementi che contengono lo stesso numero di protoni, quindi hanno stesso numero atomico  $Z$  che determina la loro posizione nella Tavola Periodica, ma differiscono per il numero di neutroni presenti nel nucleo.

Tra gli 83 elementi stabili presenti in natura:

- a) 20 di essi esistono in una unica forma isotopica, cioè sono **mono-isotopici**;
- b) Molti elementi esistono sotto forma di due isotopi, cioè sono **di-isotopici**, in particolare possono essere classificati come  $X+1$  o  $X+2$  o, in rari casi,  $X-1$ ;
- c) La maggior parte degli elementi è definita **poli-isotopica** poiché possiede un numero di isotopi uguale a tre o più.

$X$  = numero di massa (protoni+neutroni) dell'isotopo più abbondante.

segue →

# Esempi:

**a) mono-isotopici:** fluoro ( $^{19}\text{F}$ ), sodio ( $^{23}\text{Na}$ ), fosforo ( $^{31}\text{P}$ ), iodio ( $^{127}\text{I}$ ), berillio ( $^9\text{Be}$ ), alluminio ( $^{27}\text{Al}$ ), manganese ( $^{55}\text{Mn}$ ), cobalto ( $^{59}\text{Co}$ ), arsenico ( $^{75}\text{As}$ ), cesio ( $^{133}\text{Cs}$ ), and oro ( $^{197}\text{Au}$ );(\*)

(\*) N.B.: dall'elenco sono esclusi gli isotopi radioattivi (cioè non stabili), ad es.  $^{131}\text{I}$  e  $^{137}\text{Cs}$

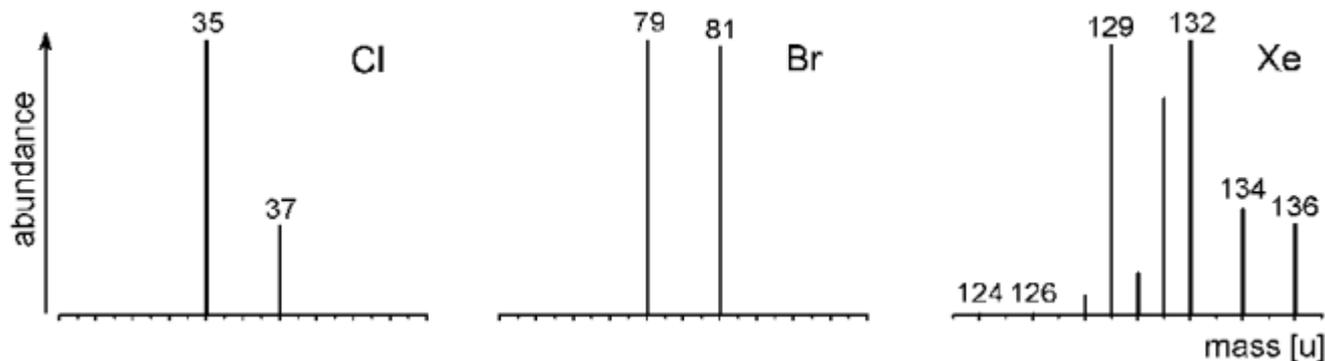
**b) di-isotopici, con numero di neutroni uguale a:**

❖  $X+1$ : idrogeno ( $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H} \equiv \text{D}$ ), carbonio ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ), and azoto ( $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ );

❖  $X+2$ : cloro ( $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{37}\text{Cl}$ ), bromo ( $^{79}\text{Br}$ ,  $^{81}\text{Br}$ ), rame ( $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{65}\text{Cu}$ ), argento ( $^{107}\text{Ag}$ ,  $^{109}\text{Ag}$ );

❖  $X-1$ : litio ( $^6\text{Li}$ ,  $^7\text{Li}$ ), boro ( $^{10}\text{B}$ ,  $^{11}\text{B}$ ), and vanadio ( $^{50}\text{V}$ ,  $^{51}\text{V}$ );

**c) poli-isotopici:** ossigeno ( $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ), zolfo ( $^{32}\text{S}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{34}\text{S}$ ), xenon ( 9 isotopi).



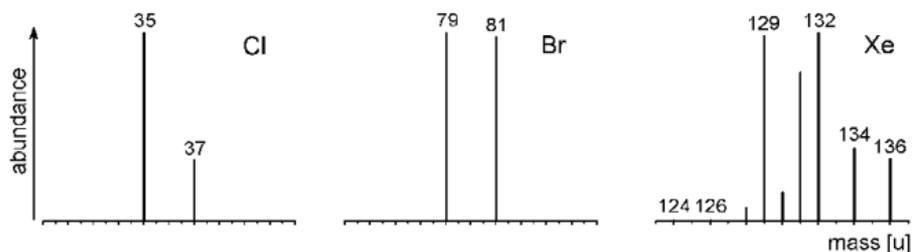
segue →

# L'ABBONDANZA ISOTOPICA

*Le abbondanze isotopiche per un singolo elemento sono riportate*

- o considerando che la somma delle abbondanze di tutti gli isotopi sia = 100%;
- oppure normalizzando rispetto all'isotopo più abbondante che viene posto = 100% quindi gli altri vengono calcolati di conseguenza (vedi tabella)

*Le abbondanze isotopiche vengono usualmente rappresentate utilizzando dei grafici a barre che riportano in ascissa le unità di massa atomica (u) e in ordinata l'Abbondanza %.*



**Table 3.1.** Isotopic classifications and isotopic compositions of some common elements. A complete table is provided in the Appendix. © IUPAC 2001 [7,8]

Classification	Atomic symbol	Atomic number Z	Mass number A	Isotopic composition	Isotopic mass [u]	Relative atomic mass [u]
(X) <sup>a</sup>	H	1	1	100	1.007825	1.00795
			2	0.0115	2.014101	
X	F	9	19	100	18.998403	18.998403
X	Na	11	23	100	22.989769	22.989769
X	P	15	31	100	30.973762	30.973762
X	I	53	127	100	126.904468	126.904468
X+1	C	6	12	100	12.000000 <sup>b</sup>	12.0108
			13	1.08	13.003355	
X+1	N	7	14	100	14.003074	14.00675
			15	0.369	15.000109	
(X+2) <sup>a</sup>	O	8	16	100	15.994915	15.9994
			17	0.038	16.999132	
			18	0.205	17.999116	
(X+2) <sup>a</sup>	Si	14	28	100	27.976927	28.0855
			29	5.0778	28.976495	
			30	3.3473	29.973770	
(X+2) <sup>a</sup>	S	16	32	100	31.972071	32.067
			33	0.80	32.971459	
			34	4.52	33.967867	
			36	0.02	35.967081	
X+2	Cl	17	35	100	34.968853	35.4528
			37	31.96	36.965903	
X+2	Br	35	79	100	78.918338	79.904
			81	97.28	80.916291	
X-1	Li	3	6	8.21	6.015122	6.941
			7	100	7.016004	
X-1	B	5	10	24.8	10.012937	10.812
			11	100	11.009306	
poly	Xe	54	124	0.33	123.905896	131.29
			126	0.33	125.904270	
			128	7.14	127.903530	
			129	98.33	128.904779	
			130	15.17	129.903508	
			131	78.77	130.905082	
			132	100	131.904154	
			134	38.82	133.905395	
			136	32.99	135.907221	

<sup>a</sup> Classification in parentheses = "not in the strict sense". <sup>b</sup> Standard of atomic mass scale.

# LE DIVERSE DEFINIZIONI DI MASSA di UN ELEMENTO

➤ **Massa nominale di un elemento:**

è il numero intero ottenuto per arrotondamento della massa esatta del suo isotopo più abbondante in natura

➤ **Massa isotopica:**

è la massa esatta di un isotopo. E' molto prossima alla massa nominale di un isotopo, ma non uguale. Unica eccezione è il  $^{12}\text{C}$  che ha massa isotopica = 12,000000 u.

➤ **Massa monoisotopica:**

è la massa esatta dell'isotopo più abbondante in natura di un elemento.

➤ **Massa atomica relativa:**

è calcolata come media pesata di tutti gli isotopi presenti in natura di un elemento:

$$M_r = \frac{\sum_{i=1}^i A_i \times m_i}{\sum_{i=1}^i A_i}$$

dove  $A_i$  è l'abbondanza e  $m_i$  la massa isotopica dell' $i$ -esimo isotopo.

segue →

### Esempio: il cloro.

- Massa nominale del cloro = 35;
- Massa isotopica ad es. del  $^{37}\text{Cl}$  = 36.965903 u;
- Massa monoisotopica del cloro = 34.968853 u;
- Massa atomica relativa del cloro = 35.4528 u

Tuttavia non esiste un atomo con questa massa. Invece il cloro è composto da  $^{35}\text{Cl}$  (34.968853 u) e  $^{37}\text{Cl}$  (36.965903 u) al 75.78% e 24.22% dell'abbondanza totale o, in termini di abbondanza relativa (o normalizzata), 100% e 31.96% rispettivamente.

Quindi è possibile calcolare la massa atomica relativa del cloro come segue:

$$M_r = (75.78 \times 34.968853 \text{ u} + 24.22 \times 36.965903 \text{ u}) / (75.78 + 24.22) = 35.4528 \text{ u.}$$

oppure

$$M_r = (100 \times 34.968853 \text{ u} + 31.96 \times 36.965903 \text{ u}) / (100 + 31.96) = 35.4528 \text{ u.}$$

**Table 3.1.** Isotopic classifications and isotopic compositions of some common elements. A complete table is provided in the Appendix. © IUPAC 2001 [7,8]

Classification	Atomic symbol	Atomic number Z	Mass number A	Isotopic composition	Isotopic mass [u]	Relative atomic mass [u]
(X) <sup>a</sup>	H	1	1	100	1.007825	1.00795
			2	0.0115	2.014101	
X	F	9	19	100	18.998403	18.998403
X	Na	11	23	100	22.989769	22.989769
X	P	15	31	100	30.973762	30.973762
X	I	53	127	100	126.904468	126.904468
X+1	C	6	12	100	12.000000 <sup>b</sup>	12.0108
			13	1.08	13.003355	
X+1	N	7	14	100	14.003074	14.00675
			15	0.369	15.000109	
(X+2) <sup>a</sup>	O	8	16	100	15.994915	15.9994
			17	0.038	16.999132	
			18	0.205	17.999116	
(X+2) <sup>a</sup>	Si	14	28	100	27.976927	28.0855
			29	5.0778	28.976495	
			30	3.3473	29.973770	
(X+2) <sup>a</sup>	S	16	32	100	31.972071	32.067
			33	0.80	32.971459	
			34	4.52	33.967867	
			36	0.02	35.967081	
X+2	Cl	17	35	100	34.968853	35.4528
			37	31.96	36.965903	
X+2	Br	35	79	100	78.918338	79.904
			81	97.28	80.916291	
X-1	Li	3	6	8.21	6.015122	6.941
			7	100	7.016004	
X-1	B	5	10	24.8	10.012937	10.812
			11	100	11.009306	
poly	Xe	54	124	0.33	123.905896	131.29
			126	0.33	125.904270	
			128	7.14	127.903530	
			129	98.33	128.904779	
			130	15.17	129.903508	
			131	78.77	130.905082	
			132	100	131.904154	
			134	38.82	133.905395	
			136	32.99	135.907221	

<sup>a</sup> Classification in parentheses = "not in the strict sense". <sup>b</sup> Standard of atomic mass scale.

**N.B.:** l'unità di massa atomica [u] è definita come 1/12 della massa di un atomo dell'isotopo  $^{12}\text{C}$  a cui viene assegnata una massa di esattamente 12 u, con  $1 \text{ u} = 1.660538 \times 10^{-27} \text{ kg}$ .

# LE DIVERSE DEFINIZIONI DI MASSA di UNA MOLECOLA

## ➤ **Massa molecolare nominale:**

la massa nominale di una molecola è uguale alla somma delle masse nominali degli elementi che la costituiscono.

Esempio 1:

$$\text{Massa nominale CO}_2 = 12 \text{ u} + 16 \text{ u} \times 2 = 44 \text{ u}$$

Esempio 2:

$$\text{Massa nominale SnCl}_2 = 120 \text{ u} + 35 \text{ u} \times 2 = 190 \text{ u}$$

N.B.: In questo caso mentre l'isotopo  $^{35}\text{Cl}$  è sia l'isotopo più abbondante per il cloro che quello a massa minore, per lo stagno l'isotopo più abbondante è  $^{120}\text{Sn}$  (e l'isotopo a massa minore è  $^{112}\text{Sn}$ ).

## ➤ **Massa molecolare monoisotopica:**

è calcolata come somma di tutte le masse atomiche monoisotopiche degli elementi che sono presenti nella sua formula empirica.

Esempio:

$$\text{Massa molecolare monoisotopica CO}_2 = 12.000000 \text{ u} + 15.994915 \text{ u} \times 2 = 43.989830 \text{ u}$$

## ➤ **Massa molecolare relativa:**

è calcolata come somma di tutte le masse atomiche relative degli elementi che sono presenti nella sua formula empirica. E' la massa comunemente utilizzata nei calcoli stechiometrici.

Esempio:

$$\text{Massa molecolare relativa CO}_2 = 12.0108 \text{ u} + 15.9994 \text{ u} \times 2 = 44.0096 \text{ u}$$

# LE DIVERSE DEFINIZIONI DI MASSA di UNO IONE

- *Massa nominale, Massa isotopica, Massa monoisotopica, Massa relativa*  
*= alle definizioni per le molecole*

- **Massa esatta:**

- ❖ *per gli ioni POSITIVI che si formano per rimozione di uno o più elettroni da una molecola è uguale a:*

$$\text{Massa Molecolare Monoisotopica} - n_e \times m_e$$

dove  $n_e$  = numero degli elettroni sottratti e  $m_e$  = massa dell'elettrone (0.000548 u)

- ❖ *per gli ioni NEGATIVI che si formano per acquisizione di uno o più elettroni da parte di una molecola è uguale a:*

$$\text{Massa Molecolare Monoisotopica} + n_e \times m_e$$

dove  $n_e$  = numero degli elettroni sottratti e  $m_e$  = massa dell'elettrone (0.000548 u)

*Esempio:*

$$\text{Massa esatta } \text{CO}_2^{+\bullet} \text{ (catione radicale)} = 12.000000 \text{ u} + 15.994915 \text{ u} \times 2 - 0.000548 \text{ u} = 43.989282 \text{ u}$$

segue →

## ***E' necessario considerare la massa dell'elettrone?***

*Questa considerazione è stata dibattuta a livello teorico finché non sono stati realizzati strumenti in grado di misurare masse con accuratezza  $< 0.001$  u.*

*Questi strumenti sono principalmente il FT-ICR (Analizzatore a risonanza ionica ciclotronica a trasformata di Fourier), l'OrbiTrap (un sofisticato Analizzatore a Trappola Ionica) e l'oaTOF (Analizzatore a tempo di volo ad accelerazione ortogonale).*

*In questo caso non considerando le masse degli elettroni si commettono degli errori sistematici che portano ad ottenere delle misure errate.*

**Quindi, cosa misuriamo?**



➤ **Massa accurata:**

*è la massa di uno ione misurata sperimentalmente, quindi è l'approssimazione sperimentale della massa esatta (che è un concetto teorico). Al progredire della tecnica in campo strumentale si continuano ad aggiungere cifre decimali ai valori ottenuti con strumentazione già in uso.*

# LA RISOLUZIONE IN SPETTROMETRIA DI MASSA

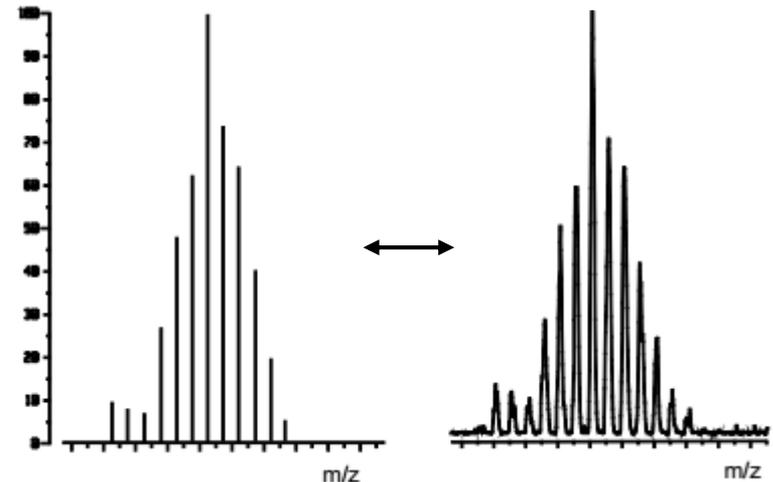
La **RISOLUZIONE** è la capacità dello strumento di distinguere ioni con rapporto  $m/z$  (massa/carica) quasi uguale (o molto prossimo).

In altre parole è la minima differenza  $\Delta m/z$  apprezzabile dallo strumento rispetto ad un valore  $m/z$ :

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

è un numero adimensionale, viene detta anche **potere risolvente**.

Uno **spettro di massa** è un grafico in cui in ascissa è riportato il rapporto  $m/z$  e in ordinata l'abbondanza relativa %. Viene visualizzato usualmente come grafico a barre, ma in realtà le barre rappresentano dei picchi molto stretti, tanto più stretti quanto più alta è la risoluzione dello strumento.

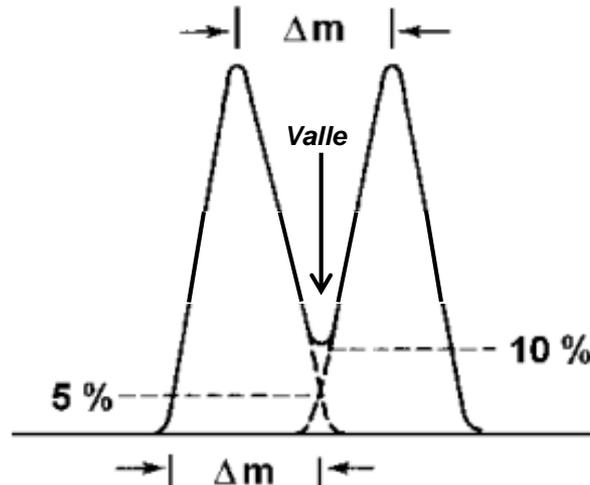


segue →

Esistono due definizioni per indicare la risoluzione di uno spettrometro di massa, una più datata ed una più recente dovuta al progresso nella realizzazione della strumentazione.

**a)  $R_{10\%}$  o risoluzione di valle al 10% (anche denotata dal solo simbolo  $R$ ):**

Due picchi sono da intendersi risolti se la valle che separa i due massimi di picco ha un valore massimo del 10% rispetto all'intensità dei picchi. Questa condizione è soddisfatta se la larghezza del picco, posto a  $m/z$  minore, all'altezza del 5% è uguale alla differenza di massa dei due ioni la cui  $m/z$  è rappresentata dai due picchi consecutivi. Il valore di 10% della definizione si ottiene poiché ogni picco contribuisce per il 5% al valore dell'ordinata che corrisponde all'ascissa  $m/z$  di intersezione tra i due picchi ( $5\%+5\% = 10\%$ ).

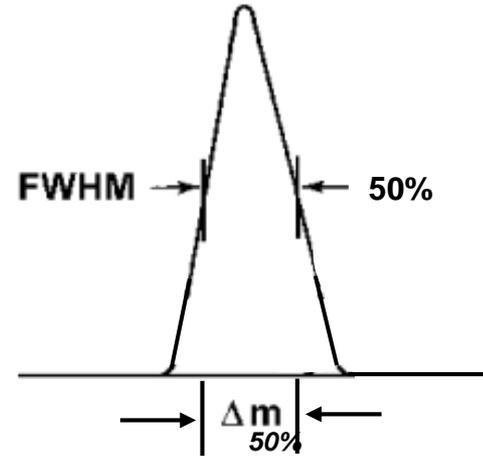


segue →

**b)  $R_{FWHM}$  o ampiezza di picco a mezza altezza (Full Width Half Maximum):**

Il potere risolvete può anche essere determinato su un picco isolato. Il potere risolvete a mezza altezza (cioè al 50%) è uguale a:

$$R_{FWHM} = \frac{m/z}{(\Delta m/z)_{50\%}}$$

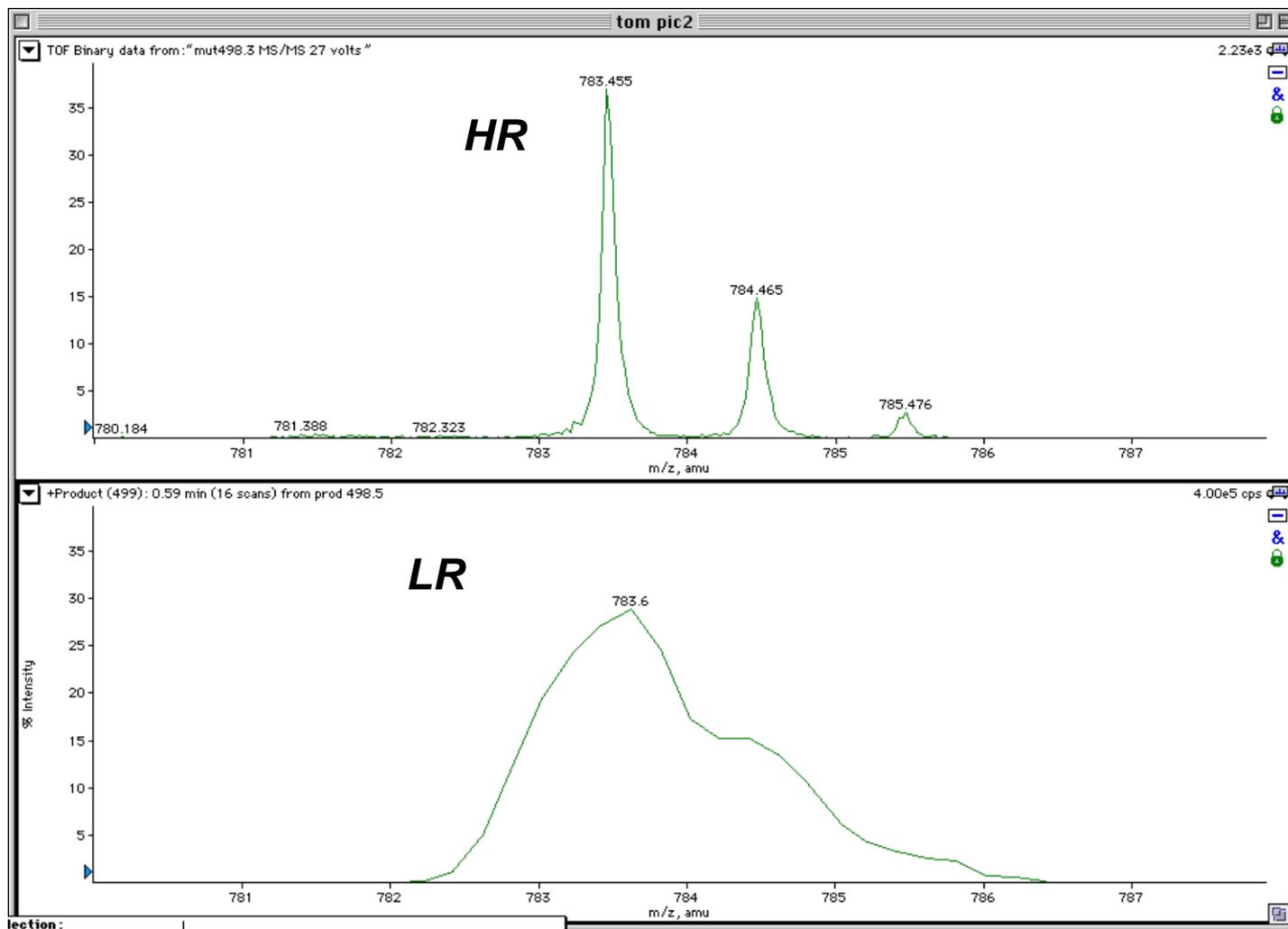


Per picchi di forma gaussiana la relazione tra le due definizioni di risoluzione è:

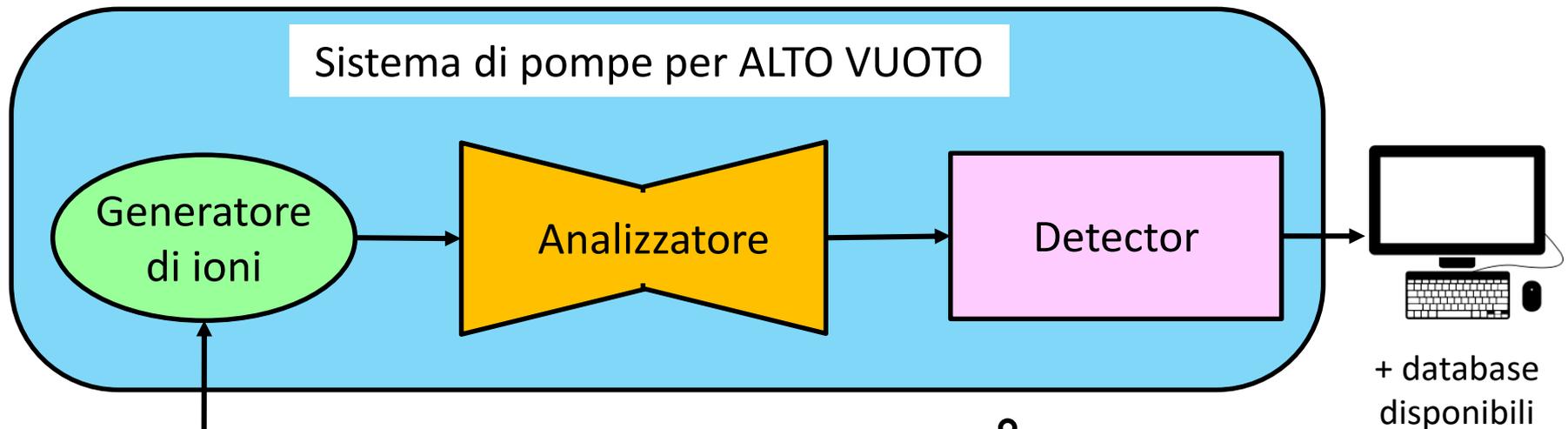
$$R_{FWHM} \sim 1.8 \cdot R_{10\%}$$

segue →

In genere si attribuisce la categoria di "**bassa risoluzione**" (**LR** – low resolution) a strumenti con  $R = 500-2000$  e "**alta risoluzione**" (**HR** – high resolution) a strumenti con  $R > 5000$



# Rappresentazione schematica di uno spettrometro di massa



Sistema di introduzione del campione: introduzione diretta o interfaccia con sistema di separazione cromatografica

*L'Analizzatore separa gli ioni in base al loro rapporto massa su carica ( $m/z$ )*

**Perché è necessario il vuoto?**

segue →