

CHIMICA ANALITICA II

CON LABORATORIO

(AA 2019-20)

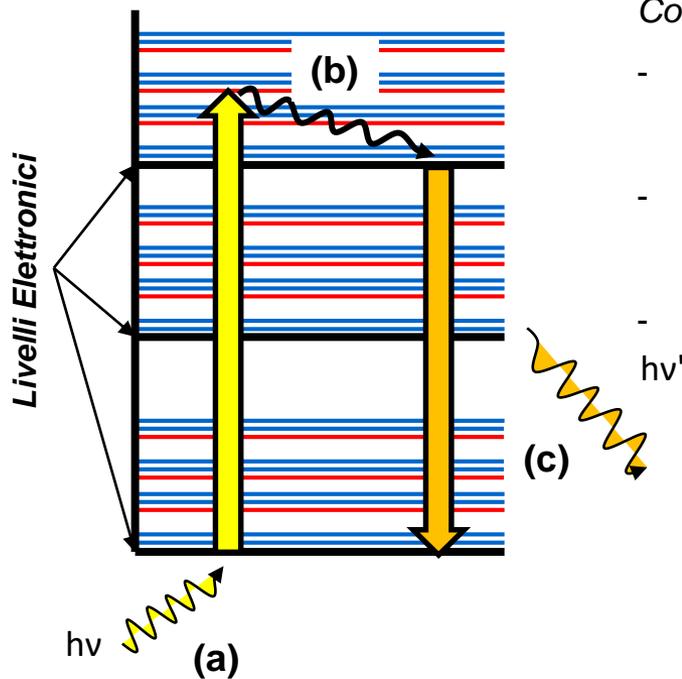
8 C.F.U. - Laurea triennale in Chimica

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 $\lambda' > \lambda$)

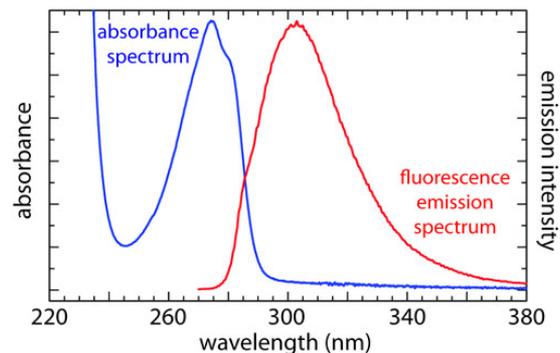


!!! E' una
spettroscopia di
emissione !!!



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

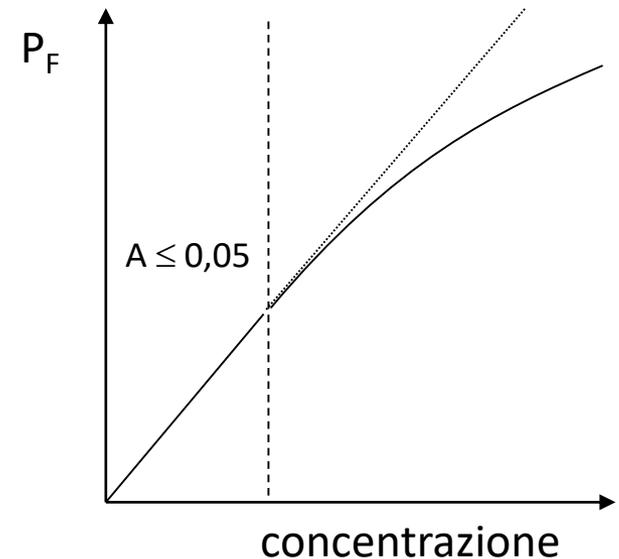
Per effettuare misure quantitative è quindi indispensabile utilizzare una curva di taratura.

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 Φ 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.

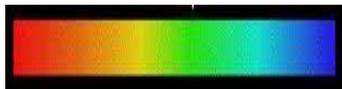
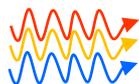


Spettroscopia di fluorescenza molecolare: la strumentazione

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° 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 λ 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)

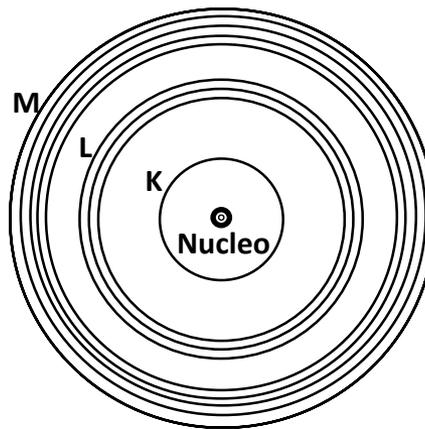
XRF è una tecnica che viene utilizzata per l'analisi elementare di solidi o liquidi con un minimo trattamento del campione. Il campione viene irradiato con raggi X, gli atomi del campione vengono eccitati ed emettono raggi X in fase di rilassamento. Le lunghezze d'onda dei raggi X emessi sono caratteristiche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

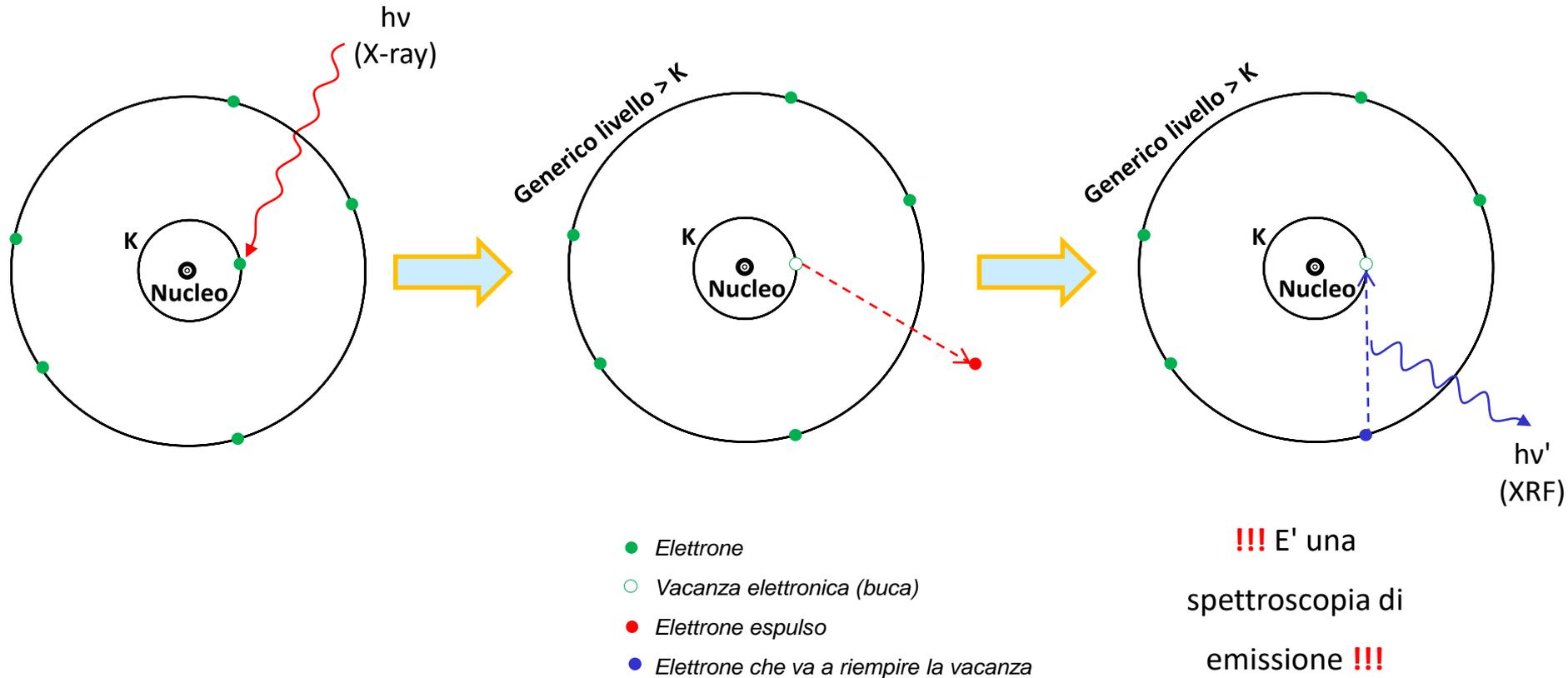
Modello atomico di Bohr



segue →

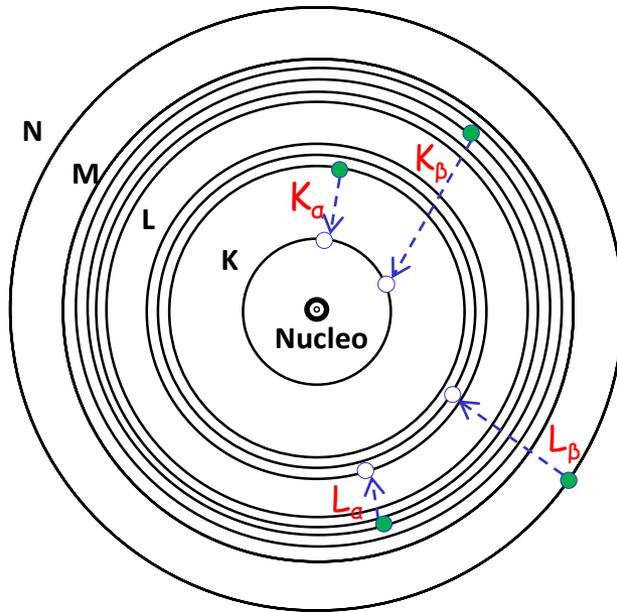
In questa tecnica un fotone con energia nella regione dello spettro dei raggi X è assorbito da un atomo ed un elettrone di un orbitale interno viene espulso lasciando una vacanza.

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_α** : transizione di un elettrone del guscio L per riempire una vacanza nel guscio K. Sono le transizioni più frequenti e quindi i picchi K_α sono i più intensi
- ❖ **righe K_β** : transizione di un elettrone del guscio M per riempire una vacanza nel guscio K
- ❖ **righe L_α** : transizione di un elettrone del guscio M per riempire una vacanza nel guscio L
- ❖ **righe L_β** : transizione di un elettrone del guscio N per riempire una vacanza nel guscio L

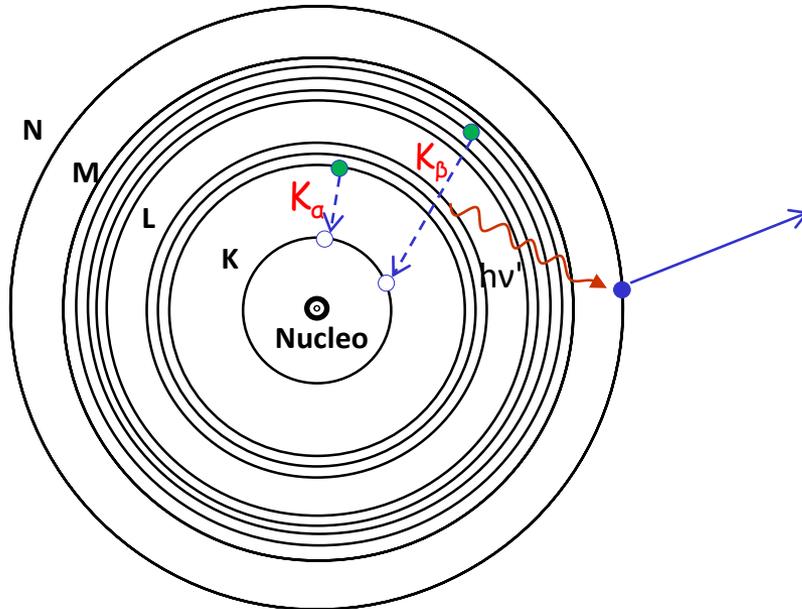
segue →

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_α o K_β (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):

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

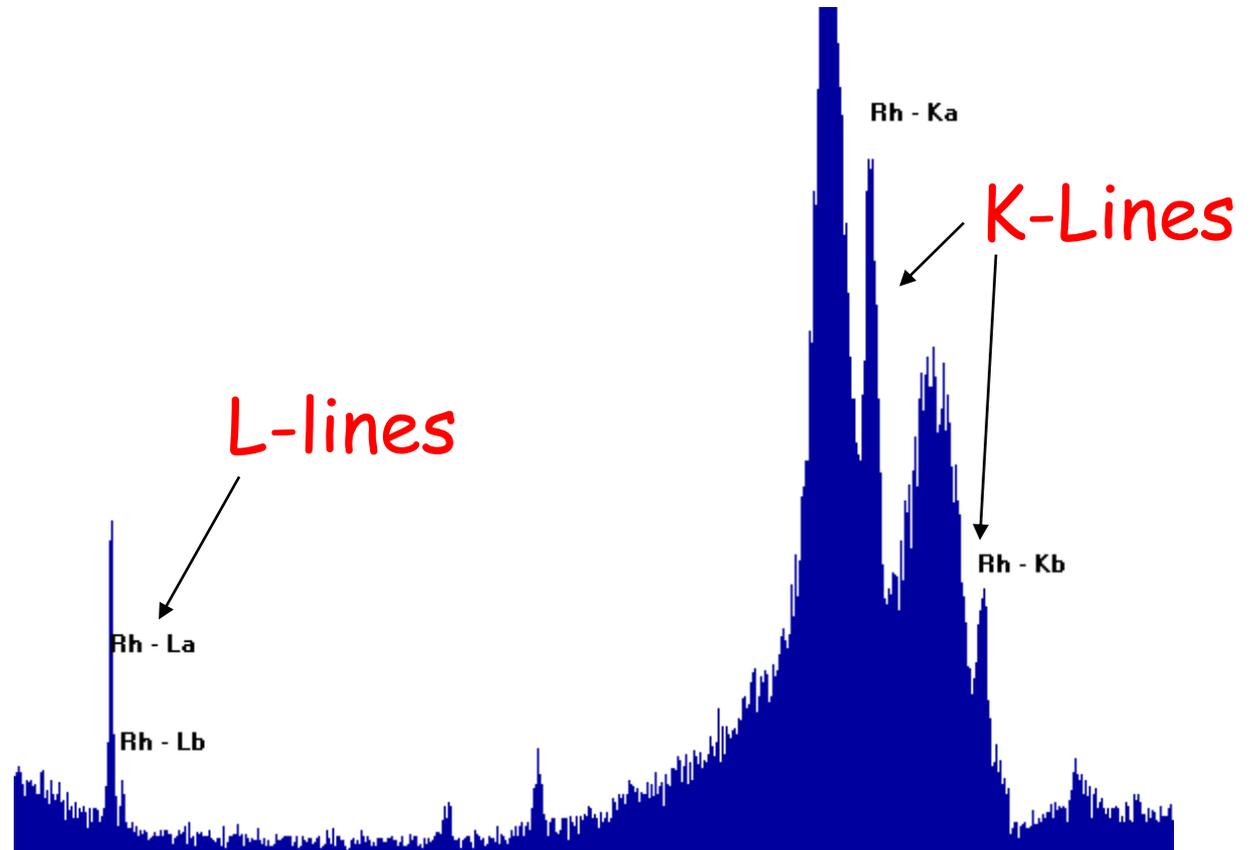
ω_K è molto bassa per elementi con $Z < 11$ (cioè più leggeri di Na), mentre per elementi con Z molto grande è prossima a 1.

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**

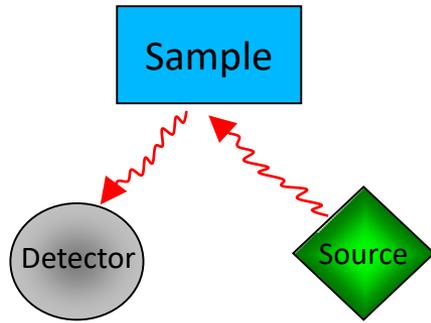


Rh XRF spectrum

segue →

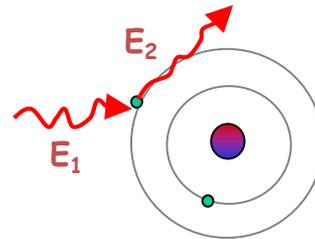
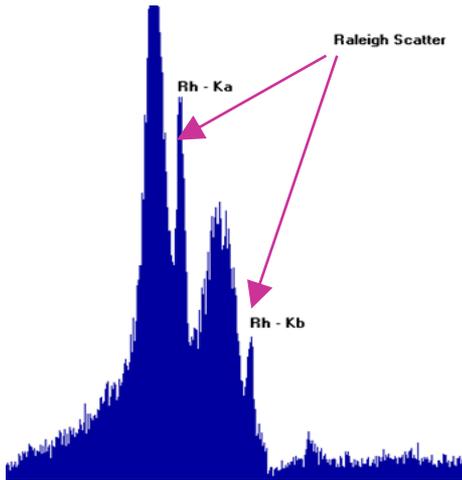
Effetto di scattering:

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



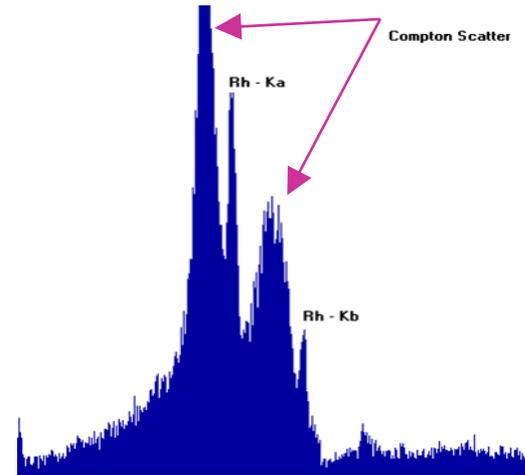
Una frazione dei raggi X della sorgente colpiscono il campione e sono retrodiffusi ("backscattered") al detector

➤ 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



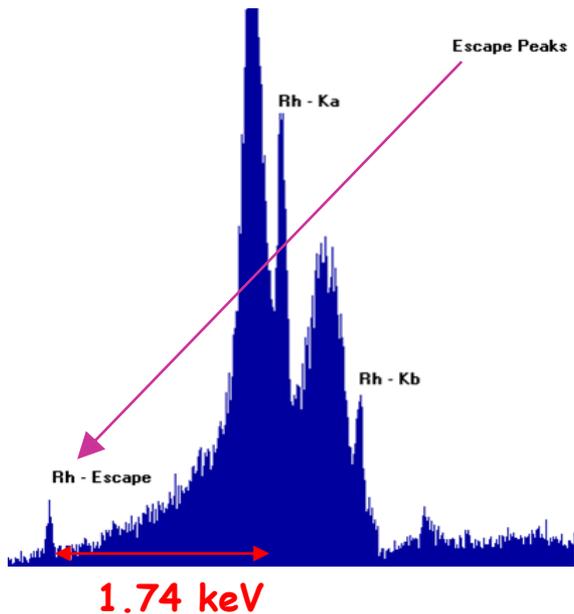
- i raggi X colpiscono un atomo senza promuovere fluorescenza
- energia è persa nella collisione ($E_2 < E_1$)
- i picchi Compton appaiono come picchi della sorgente, ad energia leggermente inferiore ai picchi Rayleigh
- noti anche come scatter anelastico

segue →

➤ **Picchi somma:**

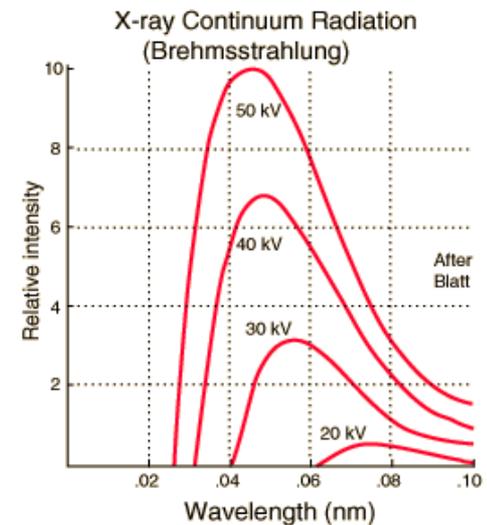
- 2 fotoni colpiscono il detector simultaneamente
- la fluorescenza è riconosciuta come dovuta ad 1 fotone avente energia doppia
- un picco appare nello spettro a 2x (volte) keV dell'elemento

➤ **Picchi di escape**



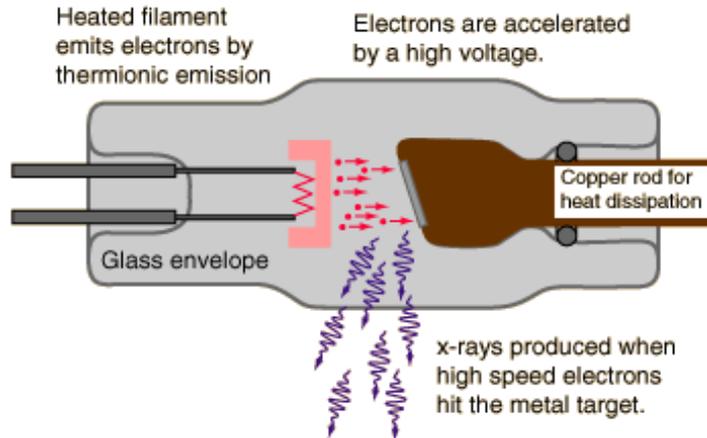
- i raggi X colpiscono il campione e promuovono fluorescenza
- si genera un artefatto dall'elemento che costituisce il detector (es. Si)
- il risultato è un picco che appare a keV dell'Elemento– (meno) keV del Si (1.74 keV)

➤ **Brehmstrahlung (radiazione di frenamento)**



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

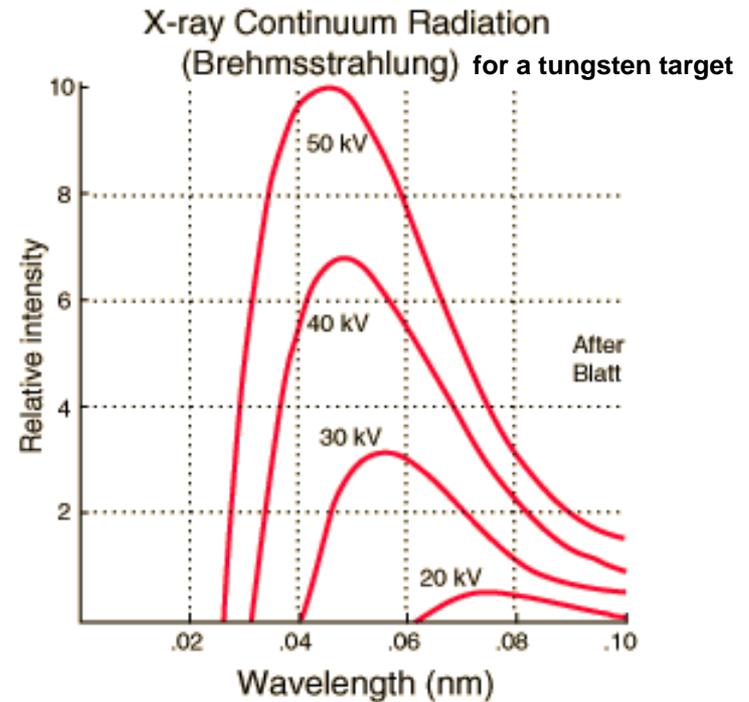
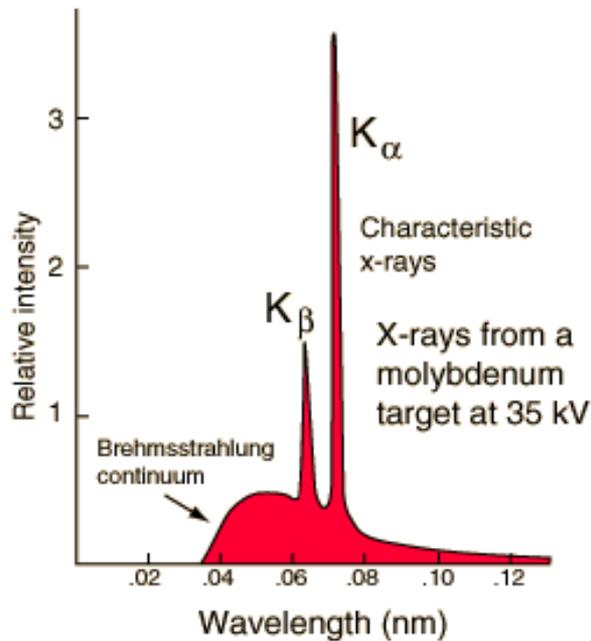
Spettroscopia XRF: la sorgente di raggi X



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

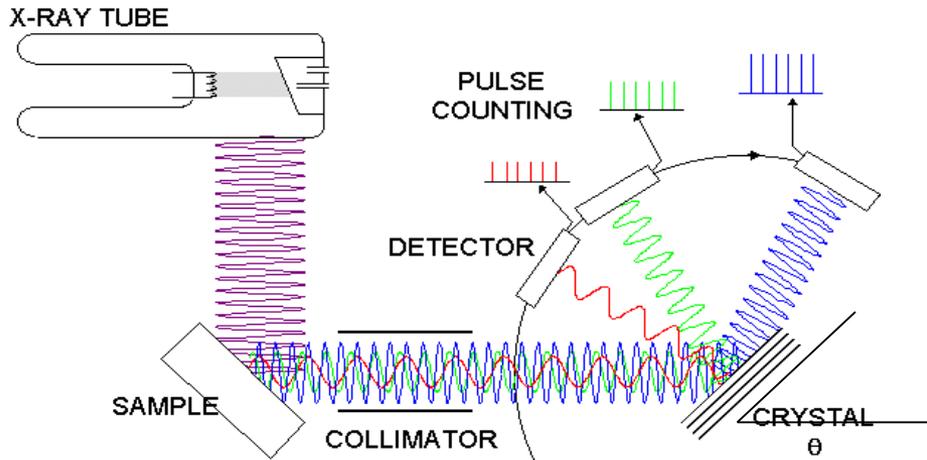
anodo: W, Cr, Cu, Mo, Rh, Au, Fe, Co

diametro del fascio primario: 1-2 mm



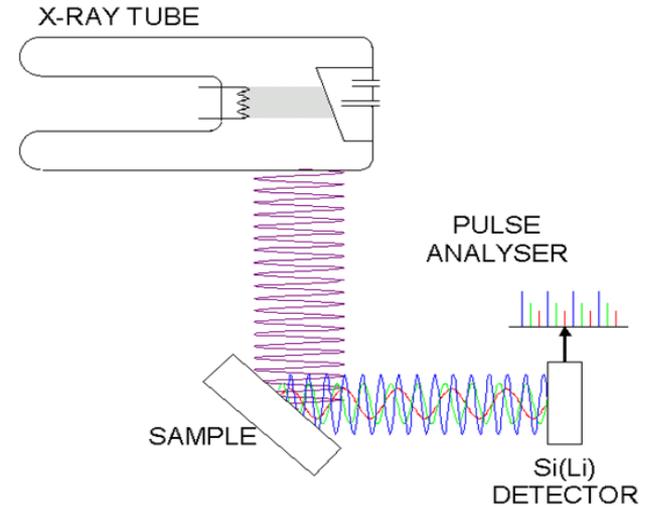
Spettroscopia XRF: la strumentazione

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

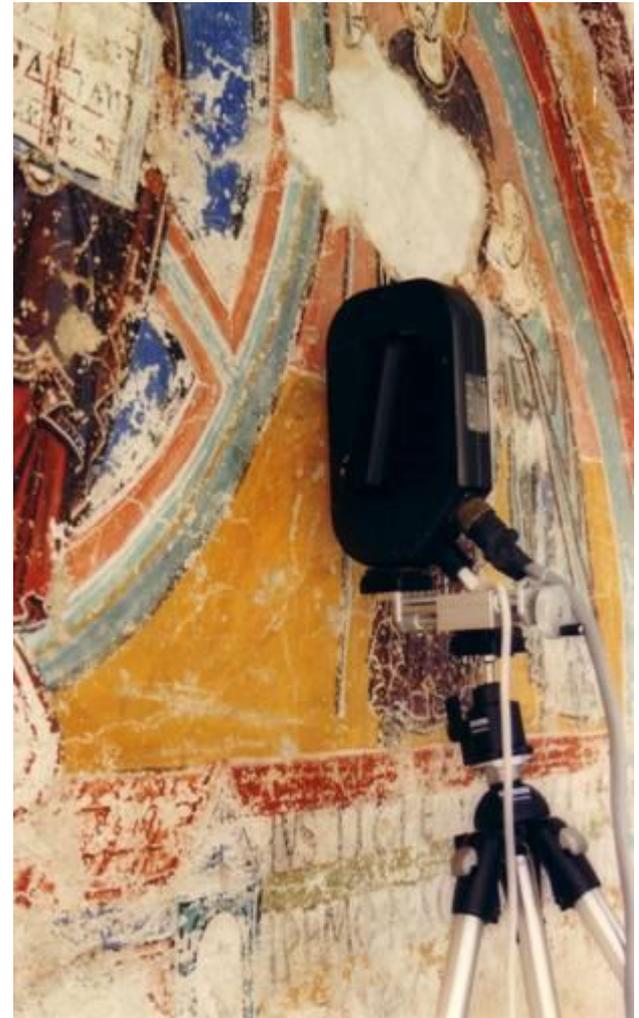
Strumenti XRF da banco

- 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.

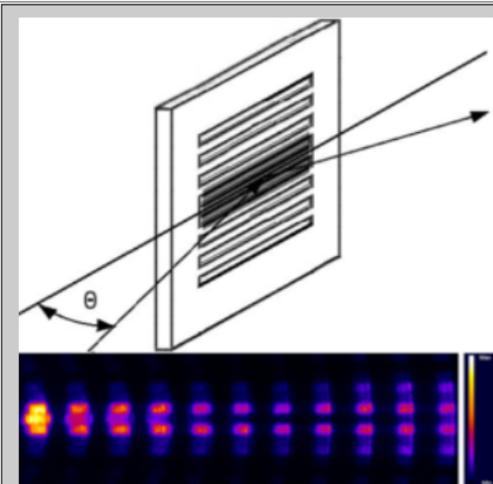
Analytical capabilities

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

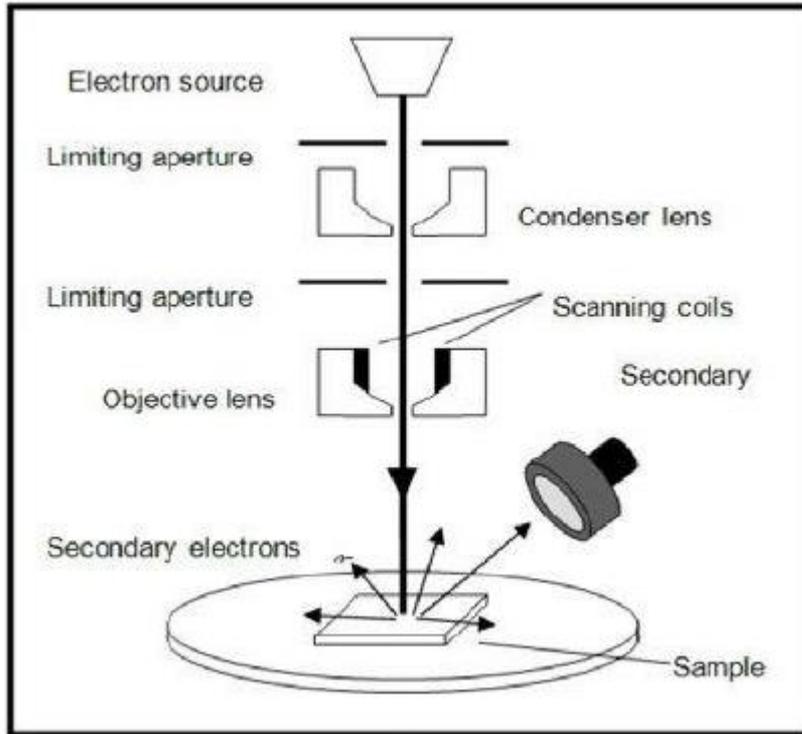
*individuazione degli elementi coloranti, composizione della
matrice*

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



Il campione è colpito da fascio ad alta energia di elettroni, che trasferisce energia a elettroni interni degli atomi superficiali, che vengono espulsi generando emissione di fluorescenza

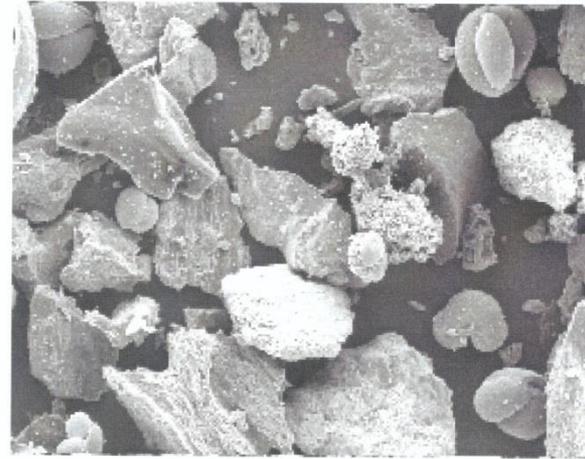


Figura 1 Immagine acquisita con il detector SE (Secondary Electrons)
Impostazioni: Magn = 200, HT = 15 kV, Spot = 5

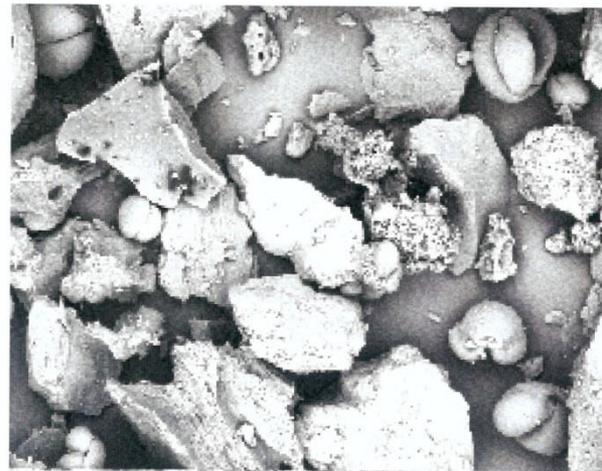


Figura 2 Immagine acquisita con il detector BSE (Back Scattered Electrons)
Impostazioni: Magn = 200, HT = 15 kV, Spot = 5

Nel caso il fascio ad alta energia sia costituito da protoni, la tecnica è nota come PIXE (Proton Induced X ray Emission)

La sorgente di luce di sincrotrone come sorgente di raggi X

Research article

X-RAY
Spectrometry

Received: 13 January 2011

Revised: 22 September 2011

Accepted: 23 October 2011

Published online in Wiley Online Library: 11 November 2011

(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/xrs.1377

Dimensional characterization of selected elements in airborne PM₁₀ samples using μ -SRXRF

F. Cozzi,^{a,*†} G. Gržinić,^{a,‡} S. Cozzutto,^a P. Barbieri,^a M. Bovenzi^b and G. Adami^a

Micro synchrotron radiation X-ray fluorescence (μ -SRXRF) is a powerful spectroscopy technique that uses synchrotron radiation to induce X-ray fluorescence in samples and provides exhaustive information on the micron and submicron scale. Among the major advantages of μ -SRXRF spectroscopy are its nondestructive nature and that samples can usually be analyzed without pretreatment. At the ESRF (Grenoble, France) ID-21 beamline, we examined PM₁₀ samples collected at two sites in the Province of Trieste, Italy, in order to determine possible correlations among some low- to mid-Z elements (S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, and Fe), as well as investigated the possibility of using synchrotron radiation imaging techniques as a way to examine the granulometry of PM₁₀ particles containing the various chemical elements. A consistent significant correlation between Ca and S has been found, which, coupled with the data obtained in a related study, indicates that a major part of the sulfate is present as CaSO₄. Granulometry measurement via imaging techniques has shown that some elements such as Fe, Ca, and S are more amenable to this type of analysis than others. Additionally, the spatial homogeneity of a PM_{2.5} certified reference material (NIST SRM-2783) has been investigated by analyzing four adjacent areas on the certified sample (total area 1 mm²). The certified reference material has shown a percentage relative standard deviation less than 7% for Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, V, Cr, and Fe, and close to 17% for Ti and Mn. Copyright © 2011 John Wiley & Sons, Ltd.

Keywords: X-ray fluorescence; synchrotron radiation; airborne particulate matter; dimensional characterization; imaging techniques

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://lena.unipv.it/index.php/visite-didattiche/>
- <http://www.rcp.ijs.si/ric/index-a.htm>
- http://www.rcp.ijs.si/ric/pdf/reactor_utilization.pdf

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

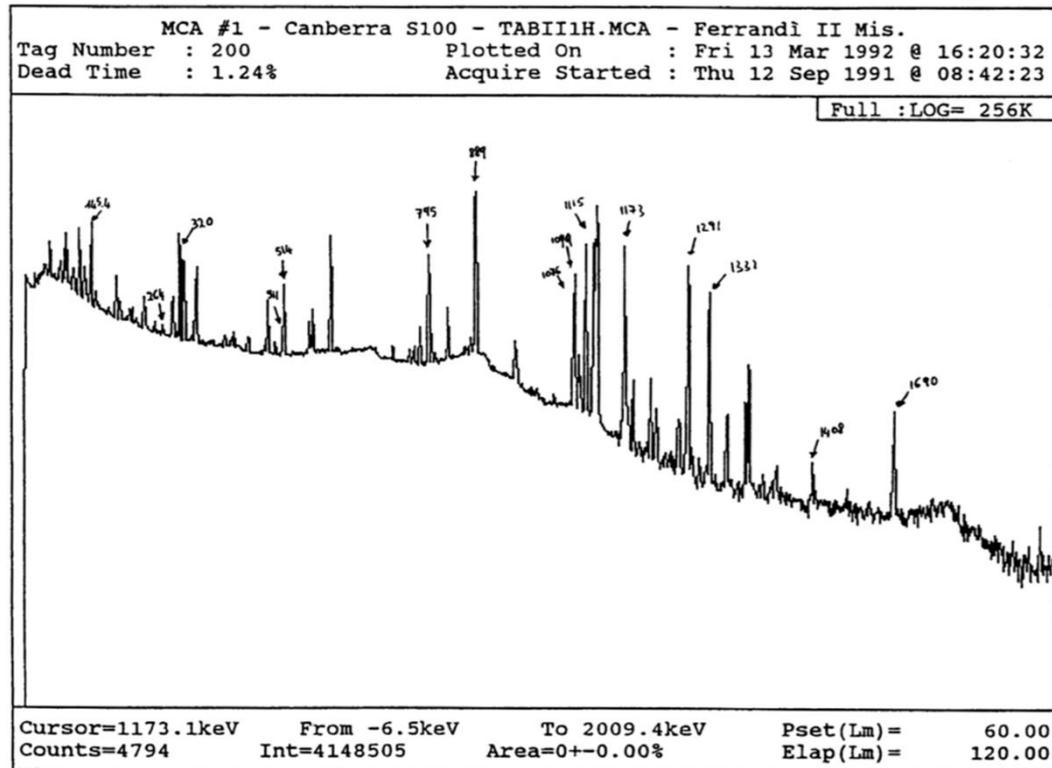
L'ANALISI STRUMENTALE PER ATTIVAZIONE NEUTRONICA UN POTENTE STRUMENTO NELLA DETERMINAZIONE DELLA CONTAMINAZIONE AMBIENTALE TEORIA ED APPLICAZIONI

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.

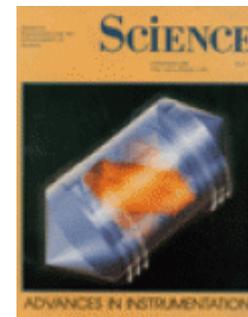


LA SPETTROMETRIA DI MASSA

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

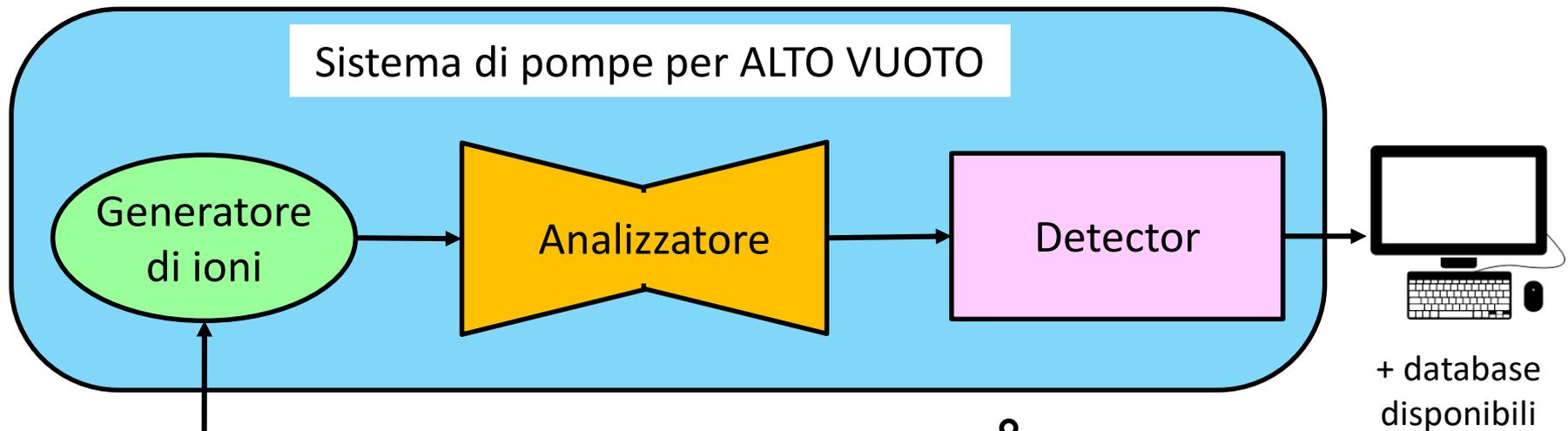


Uno spettrometro di massa è uno strumento che viene utilizzato per:

- 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 (da σκοπέω osservo, visivamente), perché NON coinvolge assorbimento o emissione di fotoni

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 →

Il cammino libero degli ioni

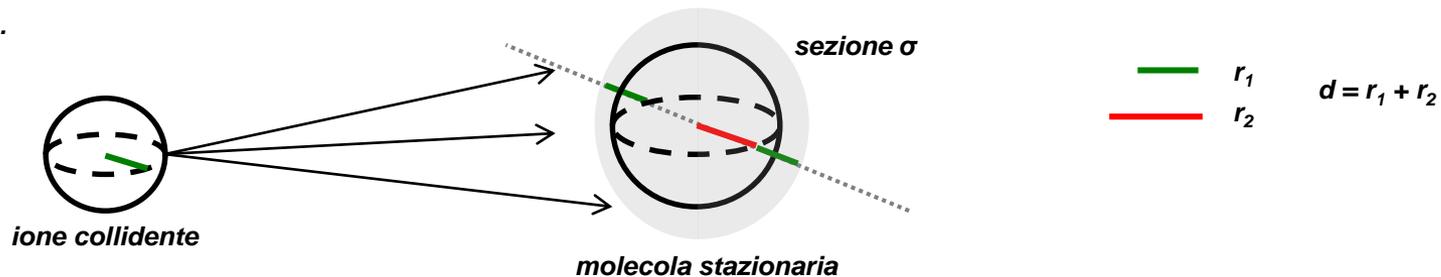
La condizione di **alto vuoto** è necessaria per consentire agli ioni di raggiungere il detector senza incorrere in collisioni con altre molecole gassose, poiché:

- le collisioni produrrebbero una deviazione della traiettoria e lo ione potrebbe perdere la sua carica andando a sbattere contro le pareti dello strumento;
- le collisioni con altre molecole potrebbero produrre reazioni non desiderate e quindi aumentare la complessità dello spettro di massa ottenuto.

Secondo la teoria cinetica dei gas il **cammino libero medio** L (in m) è dato da:

$$L = \frac{kT}{\sqrt{2}p\sigma}$$

dove k è la costante di Boltzmann, T è la temperatura (in K), p è la pressione (in Pa) e σ è l'**area della sezione di collisione** (in m^2) con $\sigma = \pi \cdot d^2$, dove d (in m) è la somma dei raggi dello ione collidente e della molecola stazionaria.



segue →

$$L = \frac{kT}{\sqrt{2}p\sigma}$$

N.B. la costante di Boltzmann $k = \frac{R}{N_A}$

con R = costante universale dei gas (espressa in $\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)
 N_A = numero di Avogadro.

Si può approssimare il cammino libero medio di uno ione a condizioni normali in uno spettrometro di massa sostituendo nell'equazione soprastante: $k = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$, $T \sim 300 \text{ K}$, $\sigma \sim 45 \times 10^{-20} \text{ m}^2$ (in cui approssimativamente ad es. $r_1 = 1 \text{ \AA}$ e $r_2 = 3 \text{ \AA}$):

$$L = \frac{0.0065}{p}$$

con L in **m**, e p in **Pa**

$$L = \frac{5 \cdot 10^{-5}}{p}$$

con L in **m**, e p in **Torr**

Quindi, ad es. per garantire ad uno ione un cammino libero di 1 metro il vuoto deve essere di almeno $5 \cdot 10^{-5} \text{ Torr}$.

Tuttavia, a seconda del tipo di spettrometro di massa, in cui possono variare i diversi dispositivi di generazione di ioni e separazione degli stessi, possono essere necessarie condizioni di vuoto diverse.

I sistemi di generazione del vuoto utilizzano delle pompe meccaniche in accoppiata con pompe turbomolecolari (o a diffusione o criogeniche). Le pompe meccaniche portano il sistema a circa 10^{-3} Torr , poi si attivano gli altri tipi di pompe che possono portare il sistema anche fino a circa 10^{-10} Torr .

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

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

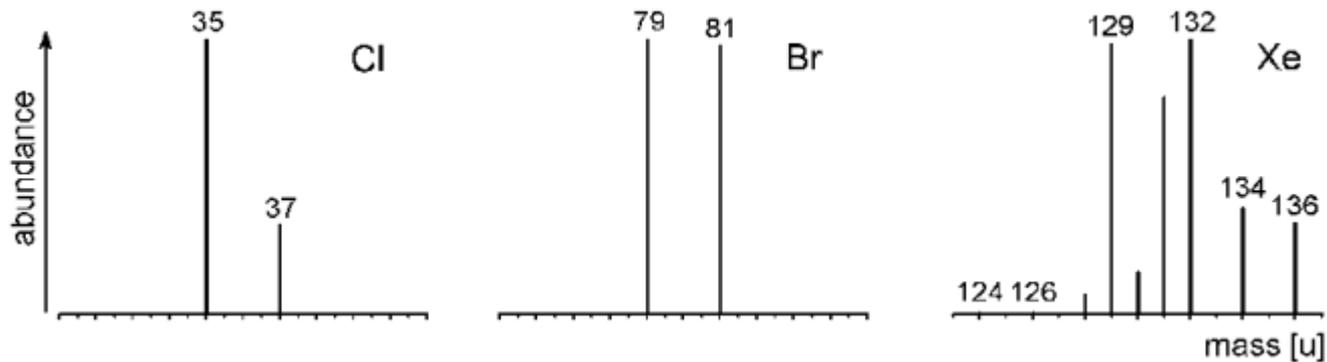
b) di-isotopici, con numero di neutroni uguale a:

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

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

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

c) poli-isotopici: ossigeno (^{16}O , ^{17}O , ^{18}O), zolfo (^{32}S , ^{33}S , ^{34}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 %.

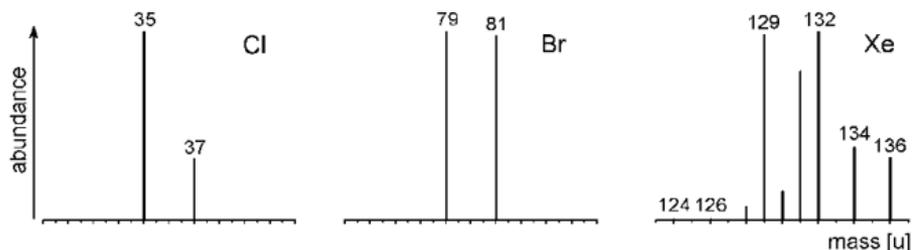


Table 3.1. Isotopic classifications and isotopic compositions of some common elements. A complete table is provided in the Appendix. © IUPAC 2001 [7,8]

Classification	Atomic symbol	Atomic number Z	Mass number A	Isotopic composition	Isotopic mass [u]	Relative atomic mass [u]
(X) ^a	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 ^b	12.0108
			13	1.08	13.003355	
X+1	N	7	14	100	14.003074	14.00675
			15	0.369	15.000109	
(X+2) ^a	O	8	16	100	15.994915	15.9994
			17	0.038	16.999132	
			18	0.205	17.999116	
(X+2) ^a	Si	14	28	100	27.976927	28.0855
			29	5.0778	28.976495	
			30	3.3473	29.973770	
(X+2) ^a	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	

^a Classification in parentheses = "not in the strict sense". ^b 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}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}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}Cl (34.968853 u) e ^{37}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) ^a	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 ^b	12.0108
			13	1.08	13.003355	
X+1	N	7	14	100	14.003074	14.00675
			15	0.369	15.000109	
(X+2) ^a	O	8	16	100	15.994915	15.9994
			17	0.038	16.999132	
			18	0.205	17.999116	
(X+2) ^a	Si	14	28	100	27.976927	28.0855
			29	5.0778	28.976495	
			30	3.3473	29.973770	
(X+2) ^a	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	

^a Classification in parentheses = "not in the strict sense". ^b 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}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}Cl è sia l'isotopo più abbondante per il cloro che quello a massa minore, per lo stagno l'isotopo più abbondante è ^{120}Sn (e l'isotopo a massa minore è ^{112}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

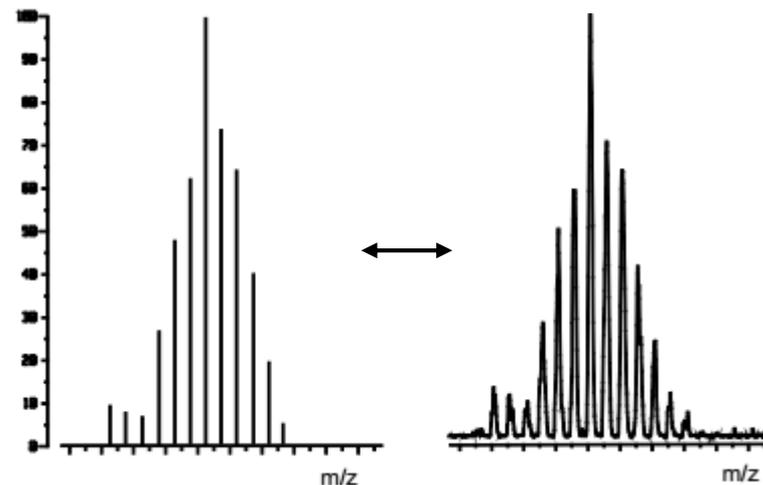
La **RISOLUZIONE** è la capacità dello strumento di distinguere ioni con rapporto m/z (massa/carica) quasi uguale (o molto prossimo).

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.

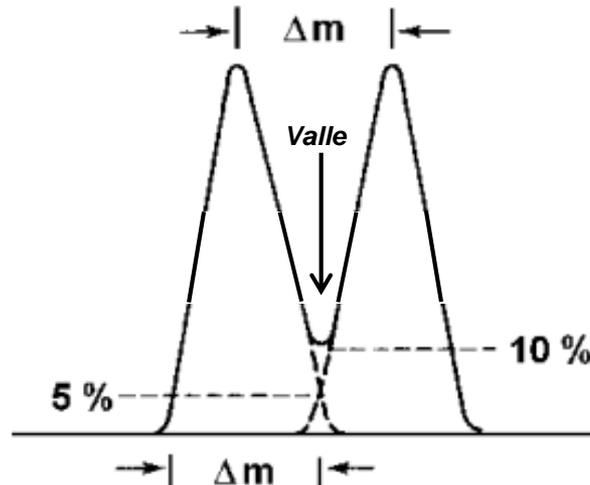


segue →

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 ($5\%+5\% = 10\%$).

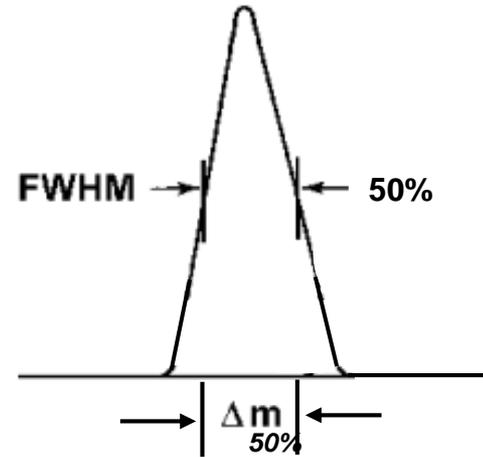


segue →

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:

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

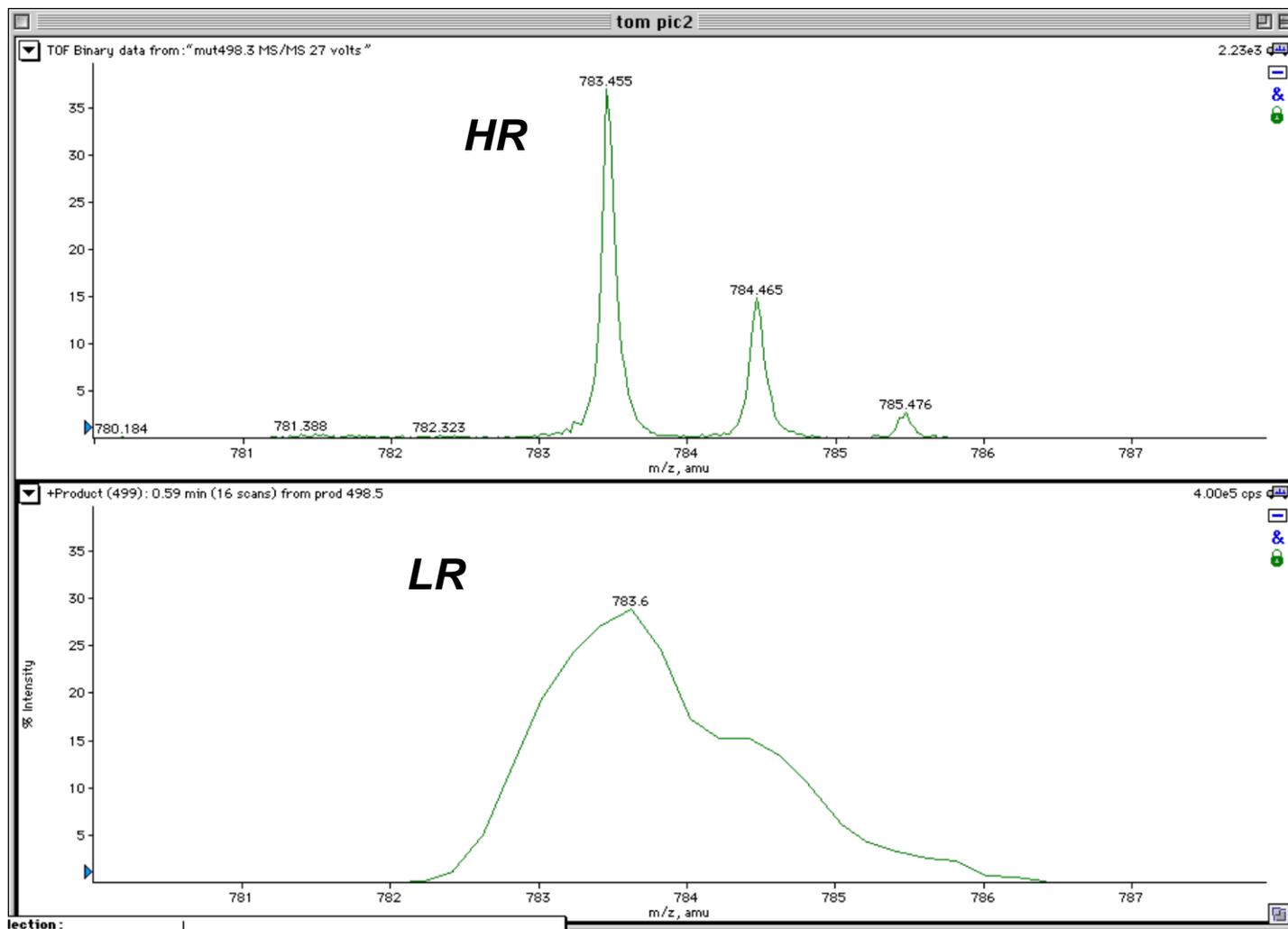


Per picchi di forma gaussiana la relazione tra le due definizioni di risoluzione è:

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

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 $R > 5000$

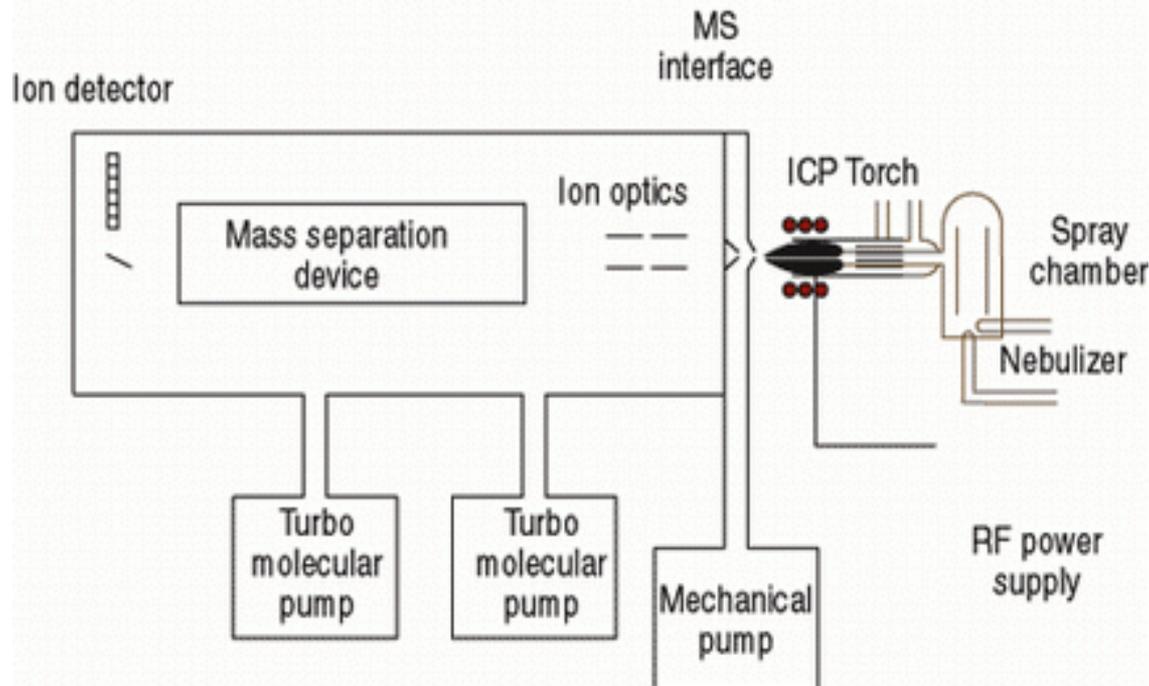


La spettrometria di massa inorganica

La spettrometria di massa inorganica consente di effettuare l'analisi elementare qualitativa e quantitativa dei campioni. In questa tecnica non c'è necessità di rilevare ioni più grandi di 300 u (al contrario della spettrometria di massa organica, che verrà discussa in seguito).

Invece è di grande interesse riuscire a rilevare ioni con massa < 10 u.

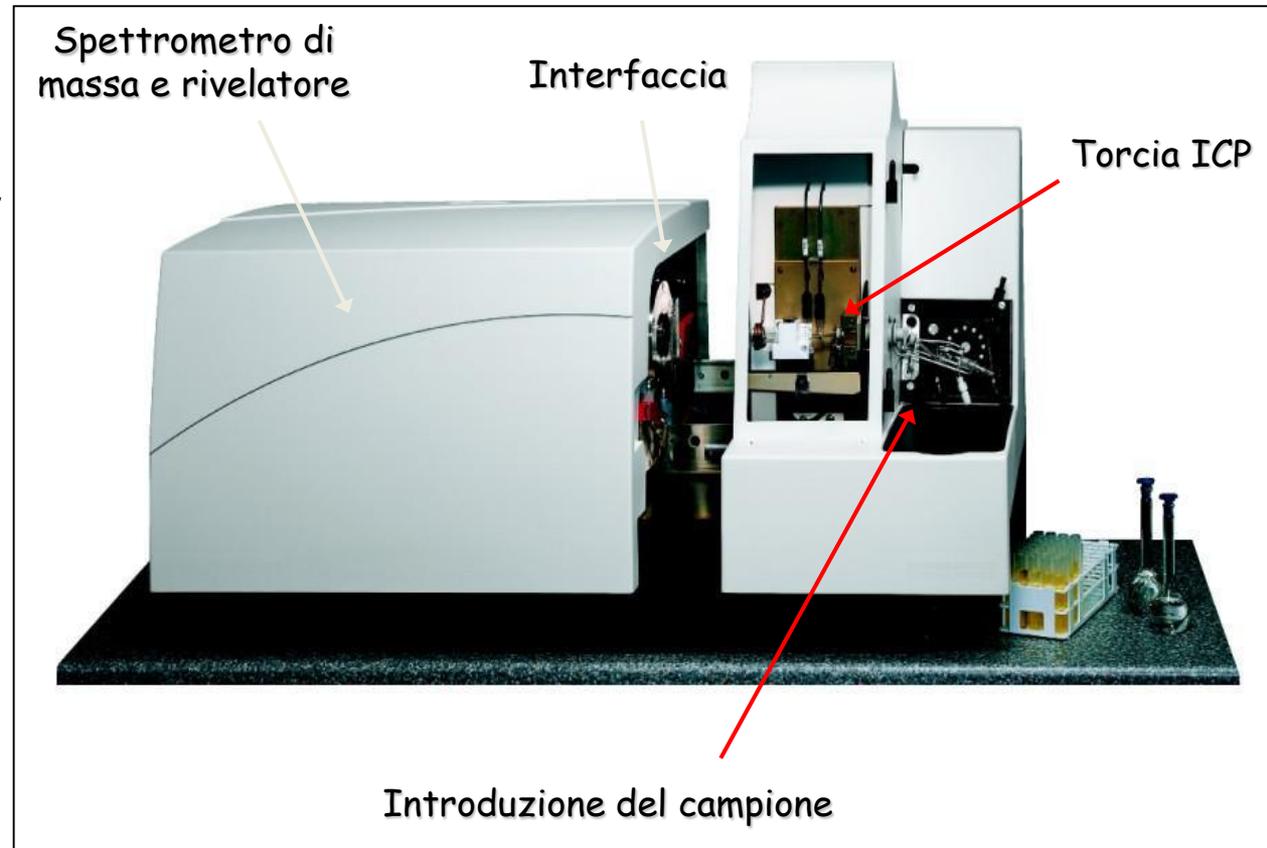
In questo tipo di tecnica il più diffuso dispositivo di GENERAZIONE DI IONI è il Plasma Induttivamente Accoppiato (ICP). In successione è presente un Analizzatore (separatore di ioni in base a m/z) e un Detector. I diversi tipi di Analizzatori e Detector sono comuni con la spettrometria di massa organica e verranno discussi in seguito.



segue →

Caratteristiche tecniche

- *tecniche distruttive (1500-8000 °C);*
- *si determinano elementi;*
- *si analizzano liquidi, solidi se disciolti;*
- *analisi totale del campione;*
- *risultati espressi in concentrazione;*
- *ottima sensibilità (ng/l)*



segue →

Confronto tra tecniche

	ICP-MS	ICP-AES	Flame AAS	GFAAS
Detection limits	Excellent for most elements	Very good for most elements	Very good for some elements	Excellent for some elements
Sample throughput	all elements 2-6 min/sample	5-30 elements /min/sample	15 seconds/ element/sample	4 mins/element /sample
Linear dynamic range	10 ⁵ (10 ⁸ with range ext'n)	10 ⁵	10 ³	10 ²
Precision				
Short term	1-3%	0.3-2%	0.1-1%	1-5%
Long term (4hrs)	<5%*	<5%*		
	* precision improves with use of internal standards			
Interferences				
Spectral	few	common	almost none	few
Chemical (matrix)	moderate	almost none	many	many
Ionization	minimal	minimal	some	minimal
Mass effects	high on low	NA	NA	NA
Isotopes	yes	no	no	no
Dissolved solids (maximum tolerable concentration)	0.1-0.4%	2-25%	0.5-3%	>20%
No. of elements	>75	>73	>68	>50
Sample usage	low	high	very high	very low
Semi-quantitative analysis	yes	yes	no	no
Isotope analysis	yes	no	no	no
Routine operation	easy	easy	easy	easy
Method development	skill required	skill required	easy	skill required
Unattended operation	yes	yes	no	yes
Combustible gases	no	no	yes	no
Operating cost	high	high	low	medium
Capital cost	very high	high	low	medium/high

Differenza di sensibilità per le diverse tecniche:

- *mg/l per FAAS e FAES;*
- *µg/l per GFAAS e ICP-AES;*
- *ng/l per ICP-MS*

segue →

Limiti di rilevabilità

Table 3. Detection limit comparison ($\mu\text{g/L}$)

Element	ICP-MS	ICP-AES	Flame AAS	GFAAS
As	<0.050	<20	<500	<1
Al	<0.010	<3	<50	<0.5
Ba	<0.005	<0.2	<50	<1.5
Be	<0.050	<0.5	<5	<0.05
Bi	<0.005	<20	<100	<1
Cd	<0.010	<3	<5	<0.03
Ce	<0.005	<15	<200000	ND
Co	<0.005	<10	<10	<0.5
Cr	<0.005	<10	<10	<0.15
Cu	<0.010	<5	<5	<0.5
Gd	<0.005	<5	<4000	ND
Ho	<0.005	<1	<80	ND
In	<0.010	<30	<80	<0.5
La	<0.005	<0.05	<4000	ND
Li	<0.020	<1	<5	<0.5
Mn	<0.005	<0.5	<5	<0.06
Ni	<0.005	<10	<20	<0.5
Pb	<0.005	<20	<20	<0.5
Se	<0.10	<50	<1000	<1.0
Tl	<0.010	<30	<40	<1.5
U	<0.010	<30	<100000	ND
Y	<0.005	<0.5	<500	ND
Zn	<0.02	<1.0	<2	<0.01

ICP-MS, ICP-AES, Flame AAS: Detection limits (defined on the basis of 3 standard deviations of the blank)

GFAAS: Sensitivity (0.0044 absorbance) measured with 20 μL of sample

ND: Not determined

La spettrometria di massa organica

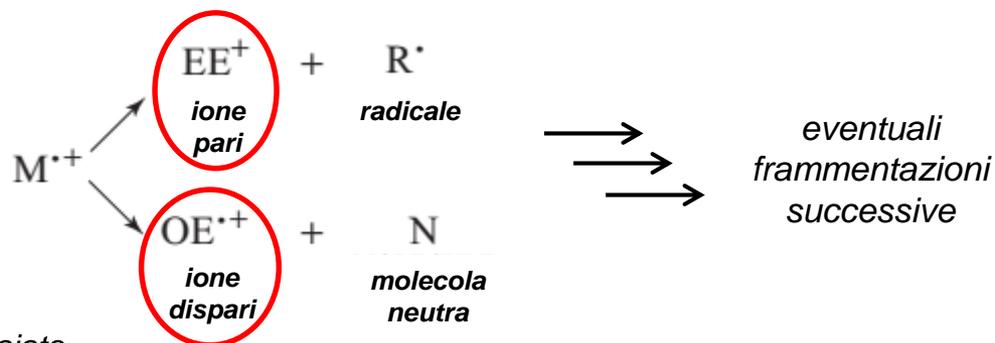
La spettrometria di massa organica consente di identificare e quantificare specie molecolari. Come già anticipato, le molecole vengono ionizzate, quindi con questa tecnica vengono identificati e quantificati i diversi ioni formati in base al loro rapporto m/z .

Supponiamo che una molecola venga ionizzata con l'ausilio di un fascio di elettroni:



La ionizzazione porta alla formazione di un catione radicale $M^{\bullet+}$ che possiede un certo rapporto m/z , quindi può essere rivelato dal detector. $M^{\bullet+}$ è detto anche "ione molecolare". Questo ione, a seconda del tipo di ionizzatore utilizzato, può essere ulteriormente frammentato in così detti "ioni figli". In particolare, essendo $M^{\bullet+}$ un radicale catione a numero dispari di elettroni, la sua frammentazione può portare alla formazione di un catione+un radicale oppure di un catione radicale+molecola neutra:

Solo gli ioni vengono rilevati dal detector!!!



ione pari (even)= i . con elettroni appaiati
ione dispari (odd)= i . con un elettrone spaiato

segue →

Dato che molti elementi che si ritrovano in natura possono essere di- o poli-isotopici, se ne deduce che negli spettri di massa di molecole che contengono questi tipi di atomi si troverà riscontro delle abbondanze isotopiche:

Es. spettro di massa (con ionizzazione a impatto elettronico) del CH_2Cl_2 , massa nominale = 84 u

Fonte: http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi (free!!!)

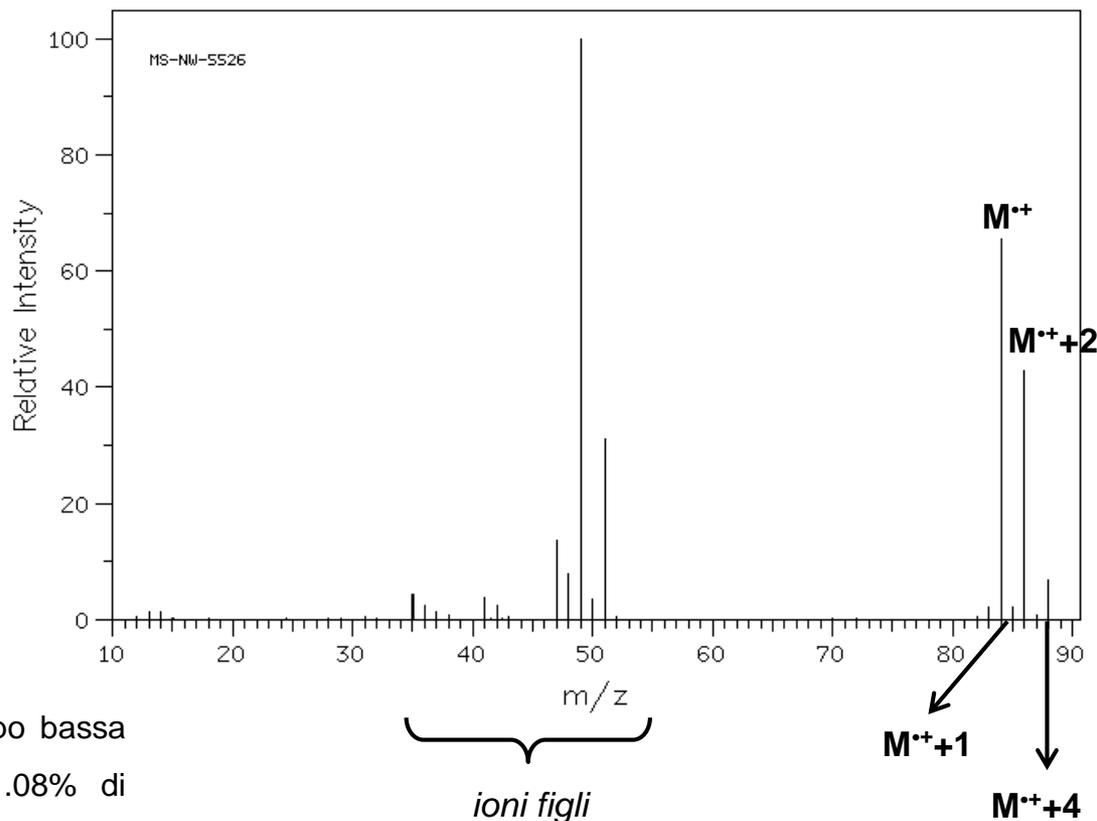
M^{++} contiene 2 atomi di ^{35}Cl e 1 di ^{12}C

$\text{M}^{++}+1$ contiene 2 atomi di ^{35}Cl e 1 di ^{13}C

$\text{M}^{++}+2$ contiene 1 atomo di ^{35}Cl , 1 di ^{37}Cl e 1 di ^{12}C

$\text{M}^{++}+4$ contiene 2 atomi di ^{37}Cl e 1 di ^{12}C

Altre combinazioni con il ^{13}C hanno abbondanza troppo bassa per essere rilevate (considerando che il ^{13}C ha 1.08% di abbondanza relativa, rispetto al 100% del ^{12}C).

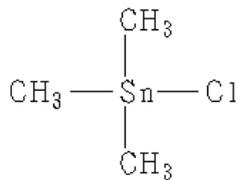


segue →

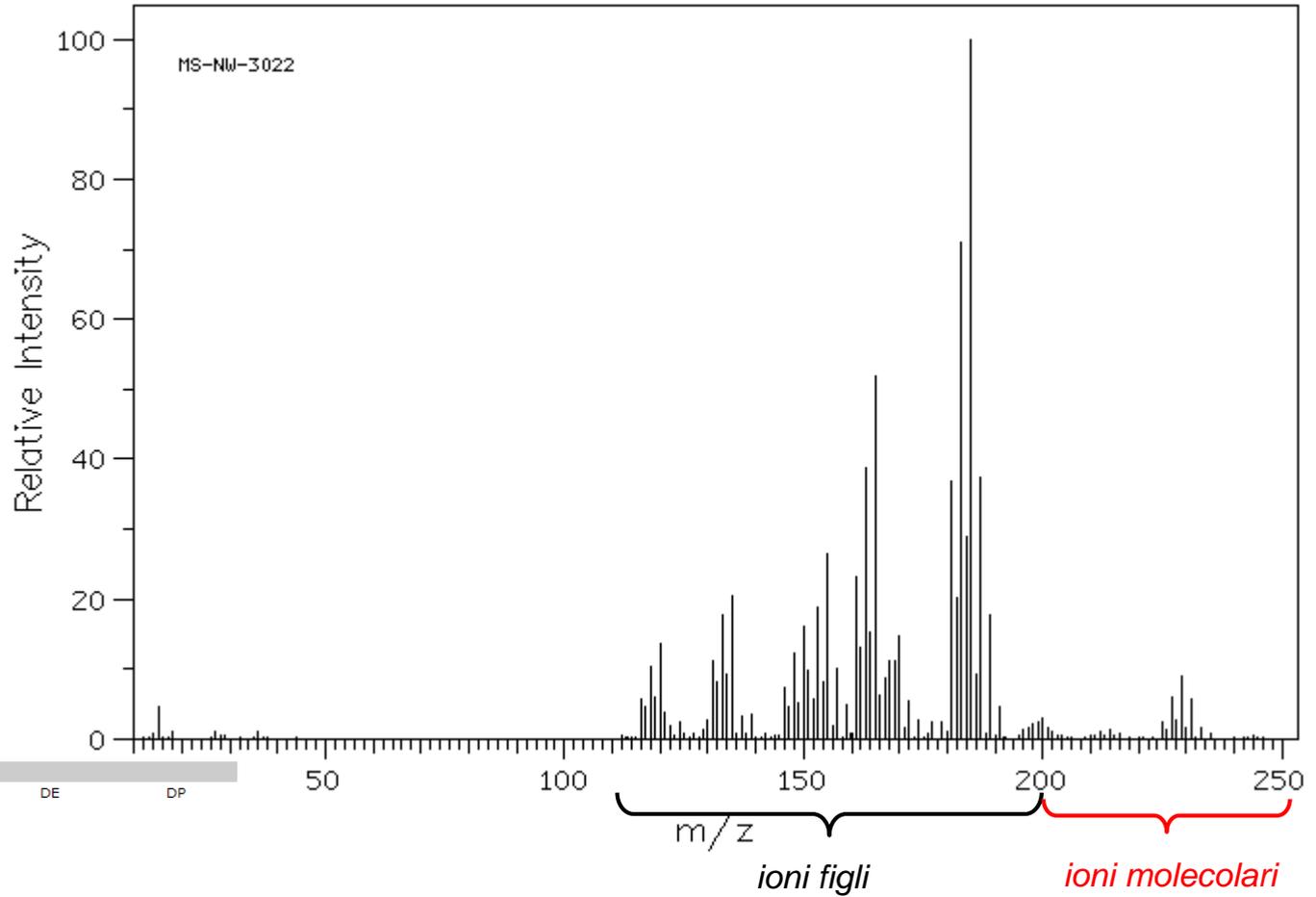
Es. spettro di massa (con ionizzazione a impatto elettronico) del trimetilstagno cloruro ($(CH_3)_3SnCl$,

massa nominale = 200 u

Fonte: http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi (free!!!)



Lo stagno ha 10 isotopi
stabili conosciuti in natura!



Isotopi più stabili					
iso	NA	TD	DM	DE	DP
112Sn	0,97%	Sn è stabile con 62 neutroni			
114Sn	0,65%	Sn è stabile con 64 neutroni			
115Sn	0,34%	Sn è stabile con 65 neutroni			
116Sn	14,54%	Sn è stabile con 66 neutroni			
117Sn	7,68%	Sn è stabile con 67 neutroni			
118Sn	24,23%	Sn è stabile con 68 neutroni			
119Sn	8,59%	Sn è stabile con 69 neutroni			
120Sn	32,59%	Sn è stabile con 70 neutroni			
121Snm		55anni	IT	0,006	121Sb
122Sn	4,63%	Sn è stabile con 72 neutroni	β-	0,394	
124Sn	5,79%	Sn è stabile con 74 neutroni			
126Sn	sintetico	1 · 10 ⁵ anni	β-	0,380	126Sb

iso = isotopo
 NA = abbondanza in natura
 TD = tempo di dimezzamento
 DM = modalità di decadimento
 DE = energia di decadimento in MeV
 DP = prodotto del decadimento

segue →

Per un singolo composto => possibile alta complessità dello spettro di massa
(anche se si considerano solo i possibili ioni molecolari senza le frammentazioni!)

E per miscele di composti????



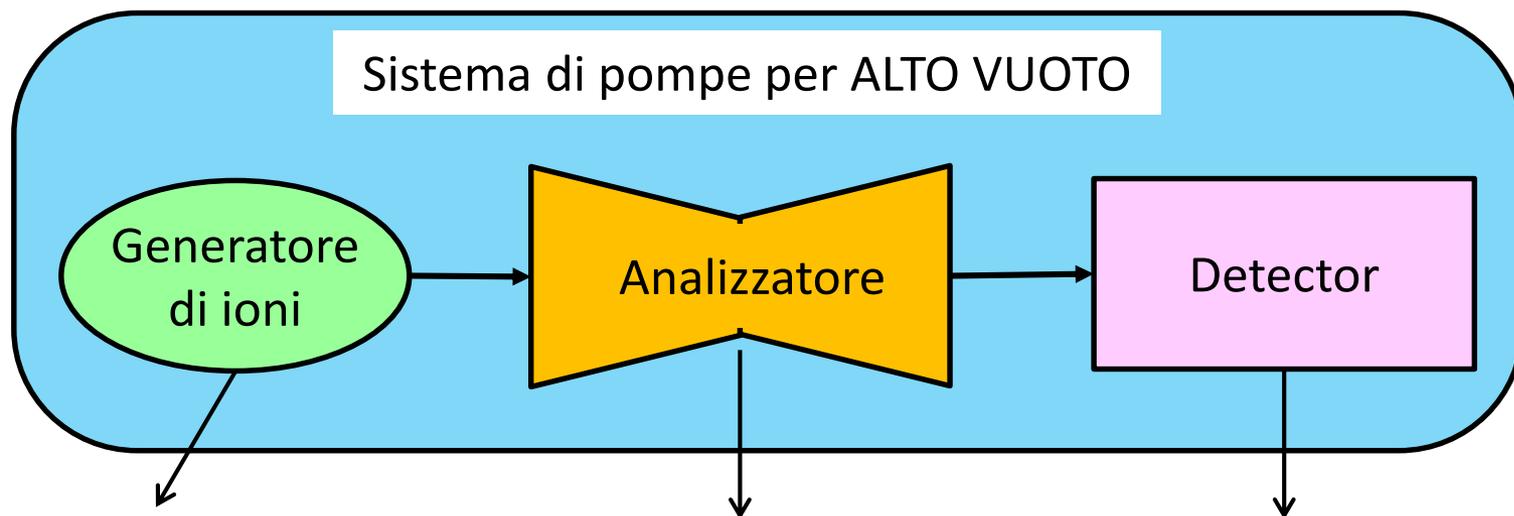
Software
per l'interpretazione



Database di
spettri di massa

P.S.: c'è un'altra possibilità → separare le miscele prima dell'introduzione nello spettrometro di massa
...to be continued... **!!!**

Possibili assetti strumentali di uno spettrometro di massa



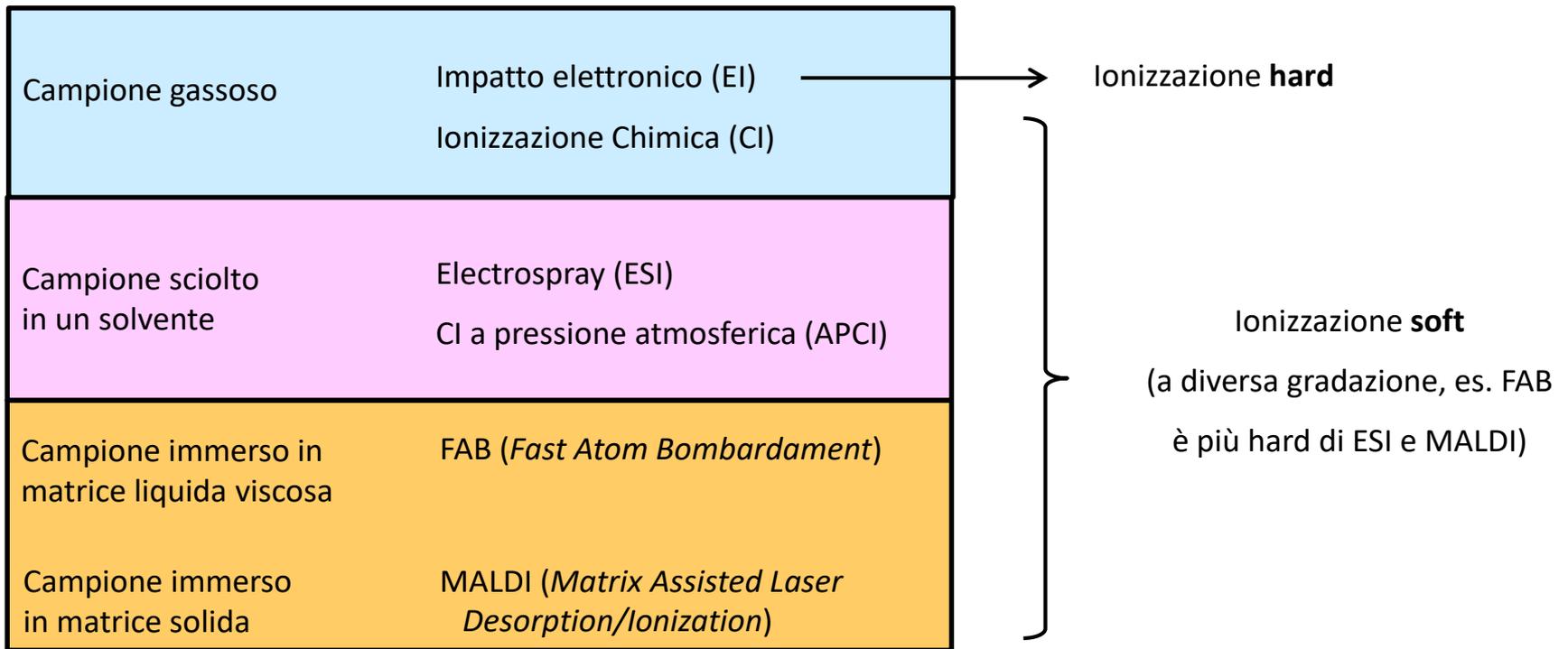
- Impatto elettronico (EI)
- Ionizzazione Chimica (CI)
- Electrospray (ESI)
- CI a pressione atmosferica (APCI)
- FAB (*Fast Atom Bombardament*)
- MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization*)

- Quadrupoli lineari (Q)
- Quadrupoli a trappole ioniche (QIT)
- Settori magnetici
- Tempo di volo (TOF)
- Risonanza ciclotronica (FT-ICR-MS)
- Orbitrap

- Faraday cup
- Elettromoltiplicatori
- Microchannel Plate (per TOF)
- Corrente Immagine (per FT-ICR e Orbitrap)

I sistemi di ionizzazione possono essere classificati principalmente in due modi:

- a seconda **dello stato in cui deve essere il campione** quando viene introdotto nello strumento (gas, sciolto in un solvente, immerso in una matrice);
- a seconda **della quantità di energia di ionizzazione** che viene fornita al campione (molta → "hard ionization", poca → "soft ionization")



segue →

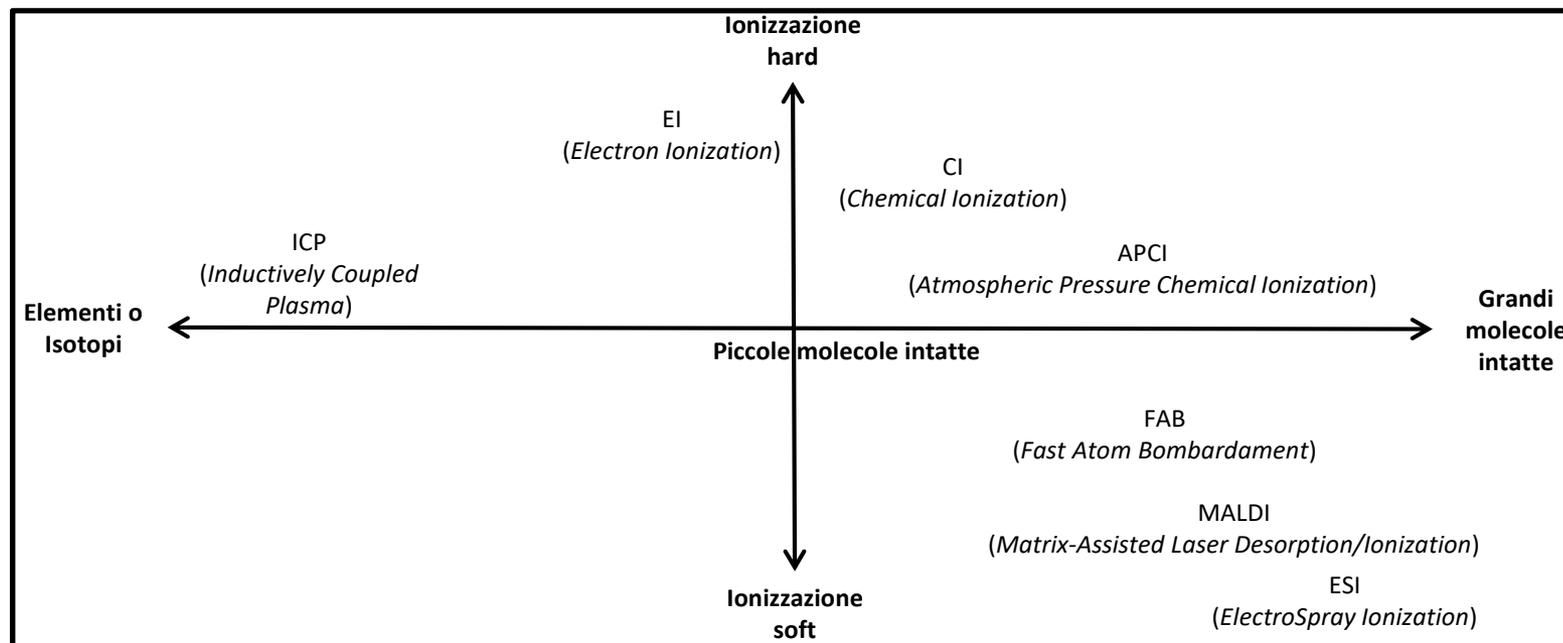
➤ **Ionizzazione hard:** un quantitativo rilevante di energia è trasferito allo ione analita durante il processo di ionizzazione, generando gli ioni molecolari e, per frammentazione, gli ioni figli.

E' possibile che tutti gli ioni molecolari vengano frammentati, quindi si perde l'informazione sulla massa dello ione, ma dai tipi di frammentazione avvenuta si possono ricavare informazioni strutturali sulla molecola.

➤ **Ionizzazione soft:** genera una frammentazione limitata fornendo quindi informazione sulla massa molecolare. I diversi metodi di ionizzazione soft generano gli stessi tipi di ioni:

- molecole "cationizzate", come risultato dell'attacco di uno ione H^+ o NH_4^+ nella modalità a ione positivo, o
- molecole "anionizzate" nella modalità a ione negativo.

Gli ioni più importanti generati sono rispettivamente $[M + H]^+$ e $[M - H]^-$. Le due modalità (positiva e negativa) possono generare informazioni complementari sulla molecola.



Ionizzazione elettronica (EI)

Un fascio di elettroni viene fatto passare attraverso il campione (allo stato gassoso). Gli elettroni collidano con le molecole neutre di analita producendo gli ioni molecolari M^+ (cationi radicale) che vengono ulteriormente frammentati in ioni figli. Generalmente vengono utilizzati elettroni con energia di 70 eV.

Questo metodo produce spettri di massa molto riproducibili (a parità di energia fornita dagli elettroni) che forniscono informazioni strutturali sulla molecola (tramite le frammentazioni), poiché lo schema delle frammentazioni è tipico per ogni specie molecolare.

Questo metodo consente di creare dei database di spettri di massa di sostanze che sono utilizzabili per il riconoscimento delle stesse utilizzando un qualsiasi strumento con il medesimo assetto strumentale e a parità di energia degli elettroni utilizzati.

La sorgente consiste in un filamento riscaldato che emette elettroni.

Gli elettroni vengono accelerati verso un anodo e collidono con le molecole di campione (allo stato gassoso) che sono state iniettate nella camera di ionizzazione.

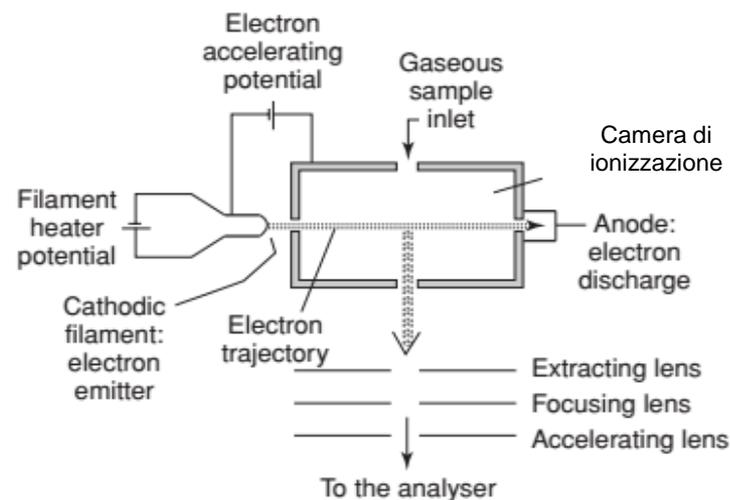


Figure 1.1
Diagram of an electron ionization source.

Ionizzazione chimica (CI)

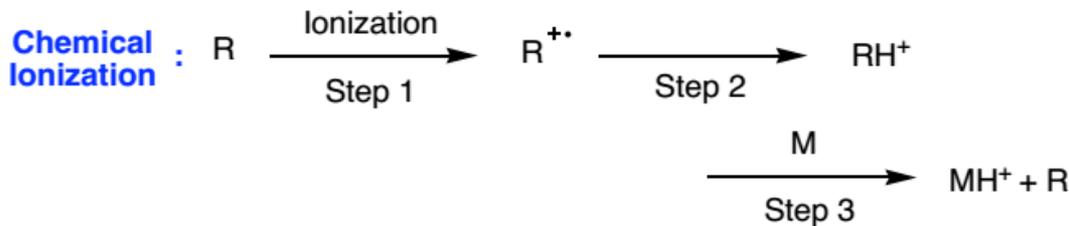
Gli analiti sono ionizzati da reazioni ione-molecola in fase gassosa.

Per ottenere ciò un gas reagente (di solito metano, iso-butano, ammoniaca o acqua) è inserito nella sorgente di ioni a pressione relativamente alta (1-250 Pa) e gli ioni gassosi reagenti sono prodotti per impatto elettronico.

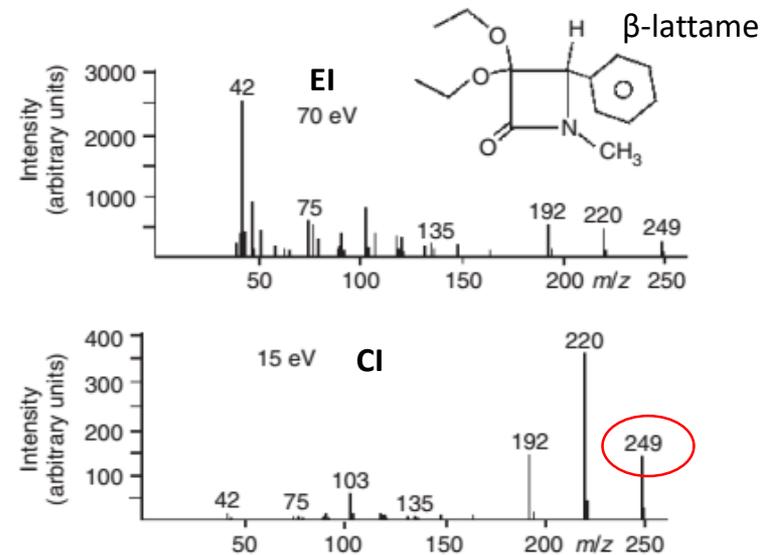
Le molecole di analita sono ionizzate indirettamente attraverso una serie di reazioni con il gas reagente, attraverso il quale solo un piccolo quantitativo di energia è trasferito alle molecole tramite collisioni.

Questa ionizzazione soft genera una minore frammentazione e quindi un maggior quantitativo di ione molecolare rispetto all'EI, ma anche una minor informazione strutturale.

La dipendenza degli spettri CI dalle condizioni sperimentali (es. pressione della sorgente ionica) rende difficile comparare spettri tratti da strumenti diversi o con database.



reagent gas (R)	molecular ion	reactive reagent ion
H ₂	H ₂ ^{+\bullet}	H ₃ ⁺
C ₄ H ₁₀	C ₄ H ₁₀ ^{+\bullet}	C ₄ H ₁₁ ⁺
NH ₃	NH ₃ ^{+\bullet}	NH ₄ ⁺
CH ₃ OH	CH ₃ OH ^{+\bullet}	CH ₃ OH ₂ ⁺
NO	NO ^{+\bullet}	NO ⁺



El e CI sono tecniche che danno informazioni complementari

ElectroSpray Ionization (ESI)

Si basa sulla nebulizzazione di un liquido e la successiva generazione di ioni dalle goccioline. La nebulizzazione avviene a pressione atmosferica.

Lo spray viene prodotto applicando un forte campo elettrico, a pressione ambiente, a un liquido che passa attraverso un tubo capillare con un debole flusso (circa $1-10 \mu\text{l min}^{-1}$).

Il campo elettrico si ottiene applicando una differenza di potenziale tra il capillare e il contro-elettrodo.

Il campo elettrico induce un accumulo di carica alla superficie del liquido che si trova alla punta del capillare, che consente la separazione del liquido in gocce multi-carica.



Le gocce passano attraverso un flusso laminare di azoto riscaldato per la rimozione delle molecole di solvente.

La formazione delle gocce inizia ad un determinato voltaggio, in dipendenza della tensione superficiale del solvente.

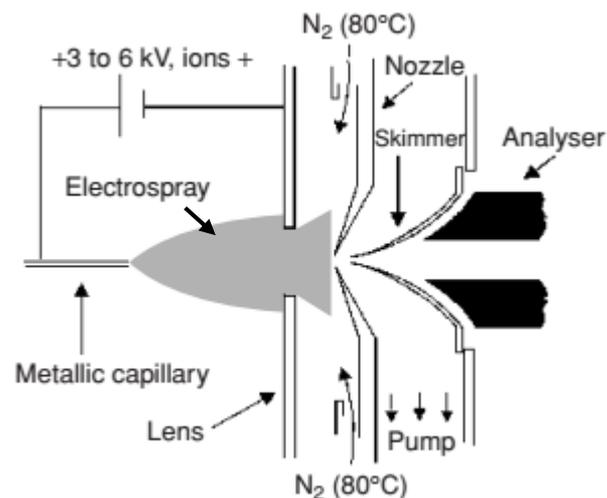


Diagramma della sorgente electro-spray, che usa dei restringimenti (*skimmer*) per la focalizzazione degli ioni e un flusso laminare di azoto riscaldato per la desolvatazione.

segue →

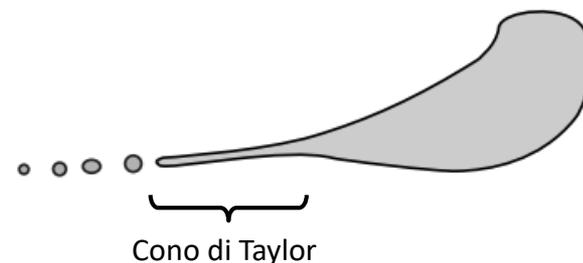
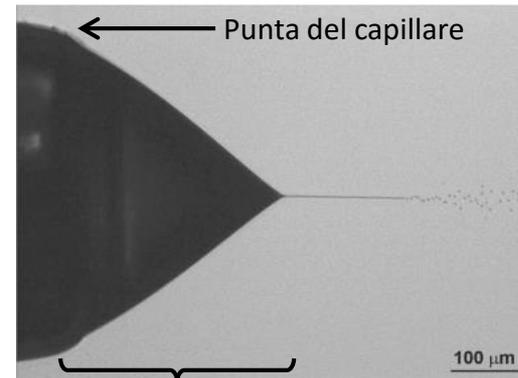
La teoria della formazione degli ioni dallo spray, che coinvolge diversi principi fisici, è ancora dibattuta al giorno d'oggi. Comunque si ritiene un fatto consolidato che la formazione degli ioni avvenga attraverso i seguenti passaggi:

- i) generazione di un spray caricato elettricamente;
- ii) drastica riduzione della grandezza delle gocce per desolvatazione;
- iii) liberazione degli ioni dalla superficie delle gocce.

Una goccia staccatasi dalla punta del capillare, cioè dal così detto "cono di Taylor", che si forma a causa della presenza del campo elettrico, è detta di "prima generazione" e ha un diametro di circa $1.5 \mu\text{m}$ e porta circa 50'000 cariche.

A causa della presenza del campo elettrico le cariche all'interno della goccia si spostano deformando la goccia stessa, fino a formare un cono di Taylor sulla goccia, da cui si staccano delle "gocce figlie" di circa $0.1 \mu\text{m}$ di diametro e che portano circa 300-400 cariche, con un fattore moltiplicativo di densità di carica di circa 7.

Da qui avviene un processo a cascata di formazione di "gocce figlie" sempre più piccole (e contenenti sempre meno solvente), quindi con sempre maggiore densità di carica finché il campo elettrico alla superficie delle gocce risulta abbastanza elevato da consentire l'espulsione degli ioni molecolari desolvatati dalla superficie delle gocce.



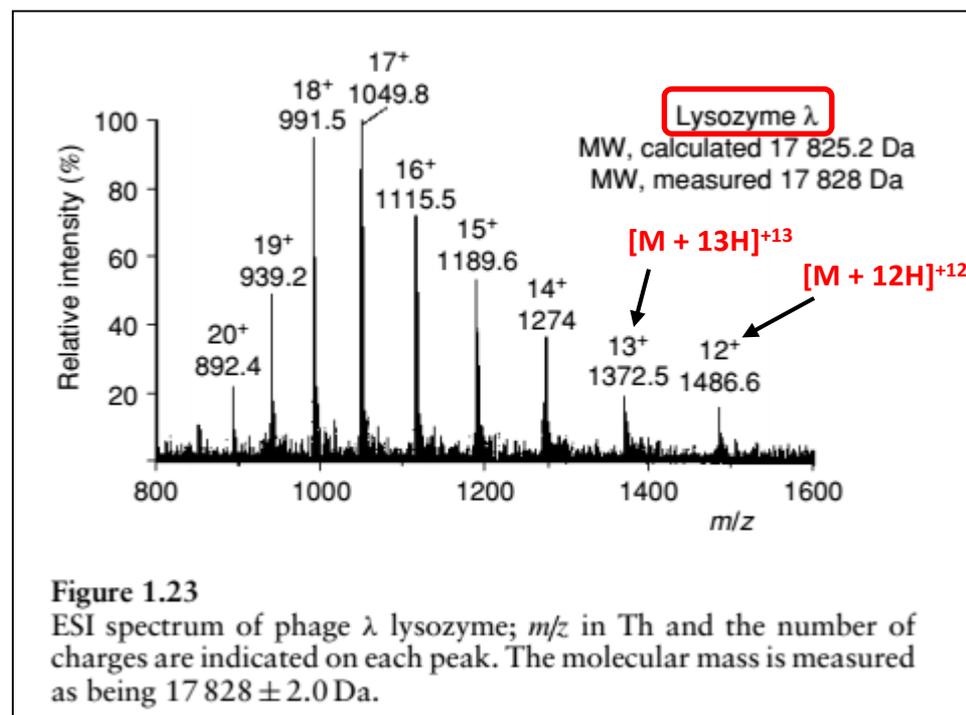
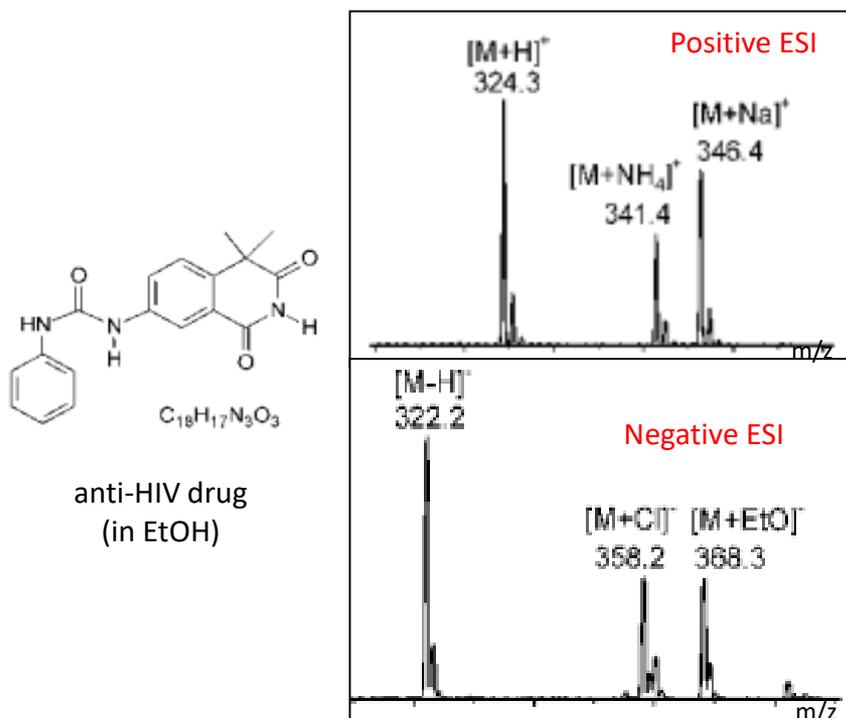
Il tempo che intercorre tra la formazione della prima goccia dal capillare e l'espulsione degli ioni è di meno di un millisecondo!!!

segue →

ESI viene utilizzata per identificare e misurare la massa di specie molecolari che possiedono siti ionizzabili (positivi o negativi). I cationi e gli anioni vengono acquisiti dalla molecola sono presenti nel solvente in cui è sciolto il campione.

ESI è in grado di desolvatare ioni molecolari carichi positivamente o negativamente (a seconda della modalità in cui si opera).

Di solito gli ioni prodotti da molecole molto grandi (es. proteine) sono multi-carica poiché esse possiedono molti siti ionizzabili, mentre quelli di molecole relativamente piccole sono monocarica.



$$1 \text{ Thomson} = 1 \text{ Th} = 1 \text{ u/e} = 1.036\,426 \times 10^{-8} \text{ kg C}^{-1}$$

Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)

Si basa su principi analoghi a CI (ionizzazione chimica), tuttavia il campione viene iniettato tramite una soluzione e non allo stato gassoso. I dispositivi per EI, se progettati appropriatamente, possono operare anche in modalità CI. Allo stesso modo dispositivi ESI possono operare anche in modalità APCI.

La differenza principale è che ESI ha bisogno di flussi molto bassi di soluzione (circa $1-10 \mu\text{l min}^{-1}$), mentre APCI di flussi molto più elevati (circa $200-1000 \mu\text{l min}^{-1}$).

In APCI il processo di desolvatazione avviene per riscaldamento ($500 \text{ }^\circ\text{C}$), tuttavia il passaggio nella "cartuccia riscaldata" è veloce, quindi le molecole non riescono a raggiungere l'equilibrio termico, pertanto anche molecole termicamente labili possono essere analizzate con questa tecnica.

APCI è utile perché, al contrario di ESI, è in grado di generare attivamente ioni da molecole neutre.

Tipicamente **la scarica elettrica per effetto corona genera ioni N_2^+ o O_2^+** . **Questi reagiscono con il solvente allo stato gassoso, il quale forma ioni di gas reagente che ionizzano gli analiti presenti.**

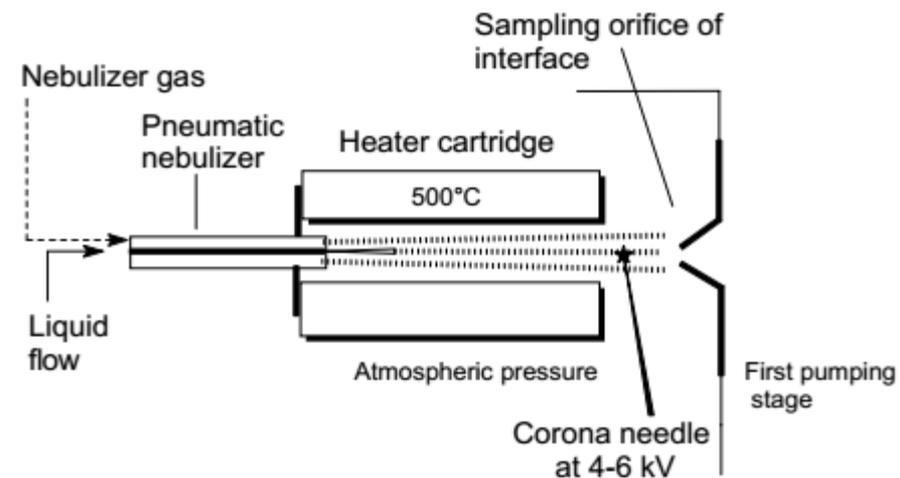


Diagramma della sorgente APCI. Il flusso di liquido viene spruzzato pneumaticamente in un vaporizzatore riscaldato, dove la ionizzazione viene iniziata per effetto corona a pressione atmosferica.