

# **CHIMICA ANALITICA II**

**CON LABORATORIO**

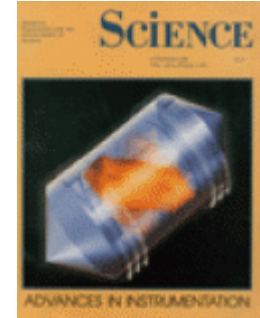
**(AA 2019-20)**

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

# 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 ( $^{133}\text{Cs}$ ), e oro ( $^{197}\text{Au}$ );(\*)

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

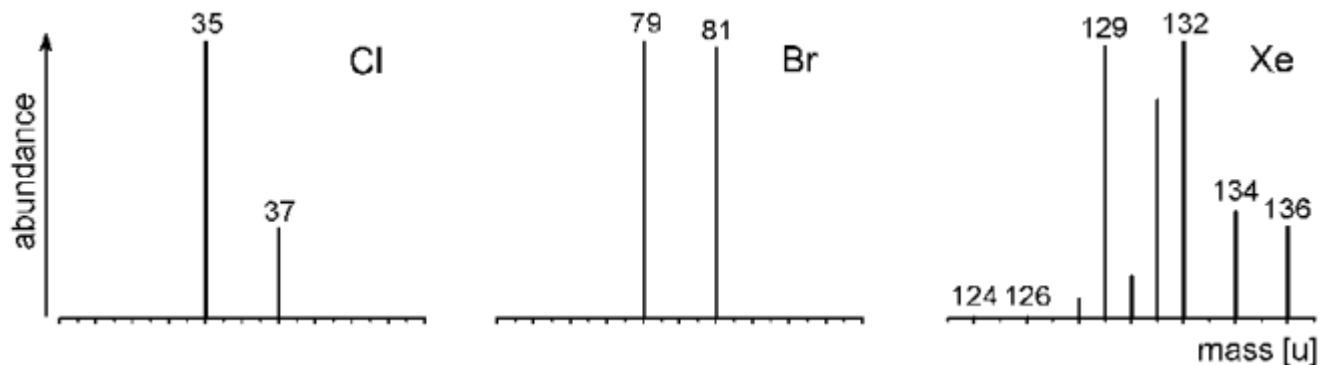
**b) di-isotopici, con numero di neutroni uguale a:**

❖  $X+1$ : 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).



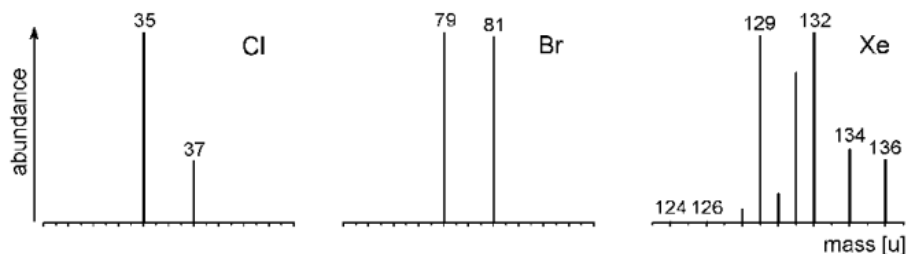
segue →

# 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:

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

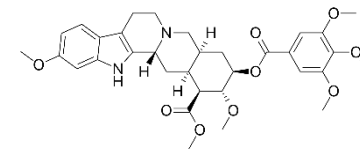
## ➤ **Massa molecolare media o relativa:**

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:

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





- Ad esempio, si consideri un *composto di formula*  $C_{33}H_{40}N_2O_9$  (reserpina, farmaco anti-ipertensivo):

**Using Average Atomic Masses:**

C:  $33 \times 12.011 = 396.363$

H:  $40 \times 1.0079 = 40.316$

N:  $2 \times 14.0067 = 28.013$

O:  $9 \times 15.9994 = 143.995$

Average molecular mass = 608.687

**Using Nominal Masses:**

C:  $33 \times 12 = 396$

H:  $40 \times 1 = 40$

N:  $2 \times 14 = 28$

O:  $9 \times 16 = 144$

Nominal molecular mass = 608

**Using Monoisotopic Masses:**

C:  $33 \times 12.0000 = 396.0000$

H:  $40 \times 1.0078 = 40.3120$

N:  $2 \times 14.0031 = 28.0062$

O:  $9 \times 15.9949 = 143.9542$

Monoisotopic molecular mass = 608.2723

- Si noti che calcoli diversi per la massa molecolare sono usati dagli spettrometristi di massa («*massisti*») e da altri chimici. Le masse molecolari medie vengono generalmente utilizzate dai chimici per calcolare le masse molecolari, le masse molecolari nominali vengono utilizzate dagli spettrometristi di massa analizzando piccole molecole (<800 Da) su strumenti a bassa risoluzione e le masse molecolari esatte vengono utilizzate dagli spettrometri di massa utilizzando strumenti ad alta risoluzione.

# 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

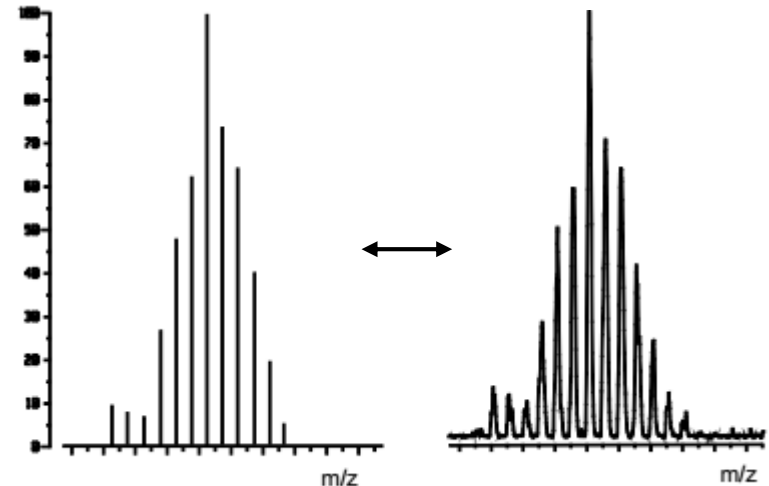
La **RISOLUZIONE** è la capacità dello strumento di distinguere ioni con rapporto  $m/z$  (massa/carica) quasi uguale (o molto prossimo).

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.

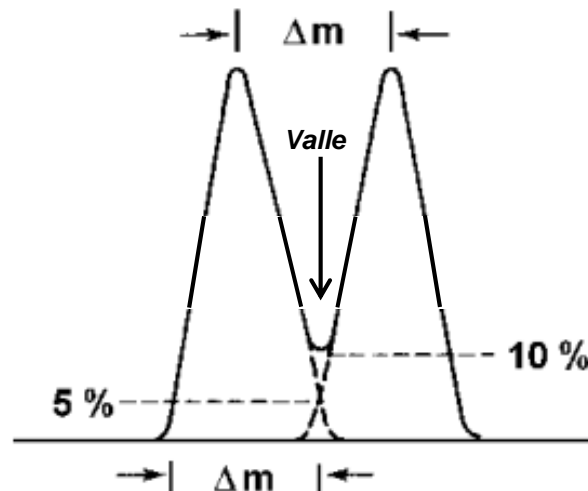


segue →

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

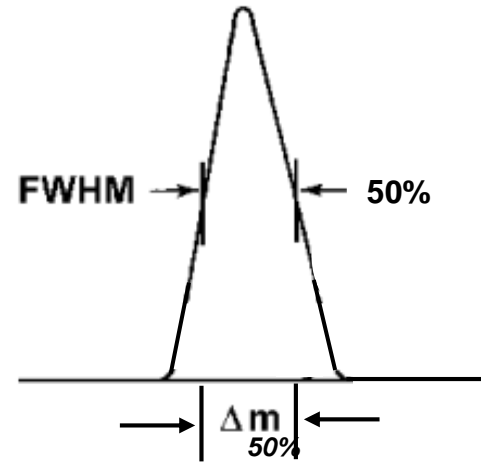


segue →

**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:

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

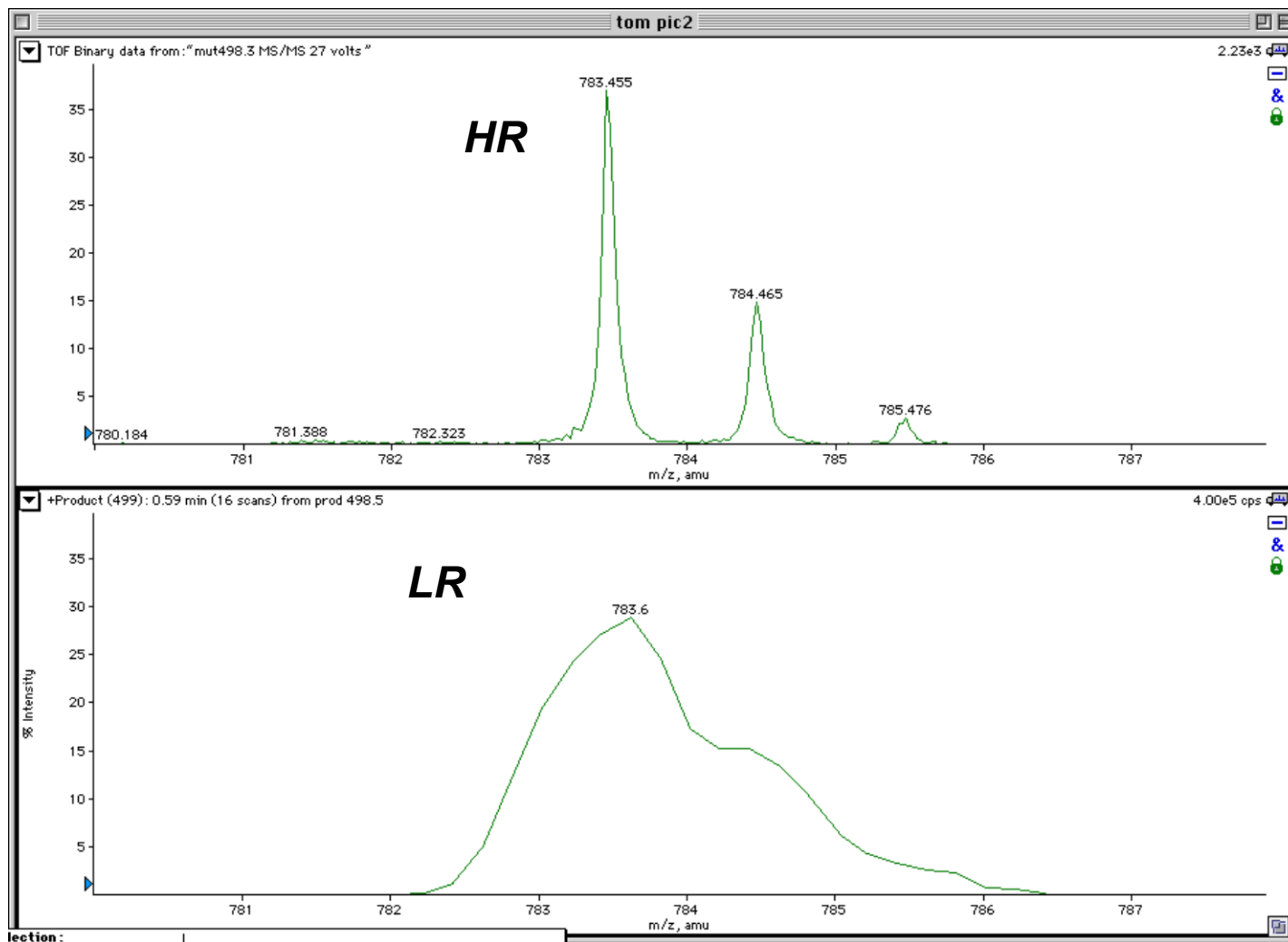


Per picchi di forma gaussiana la relazione tra le due definizioni di risoluzione è:

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

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 organica

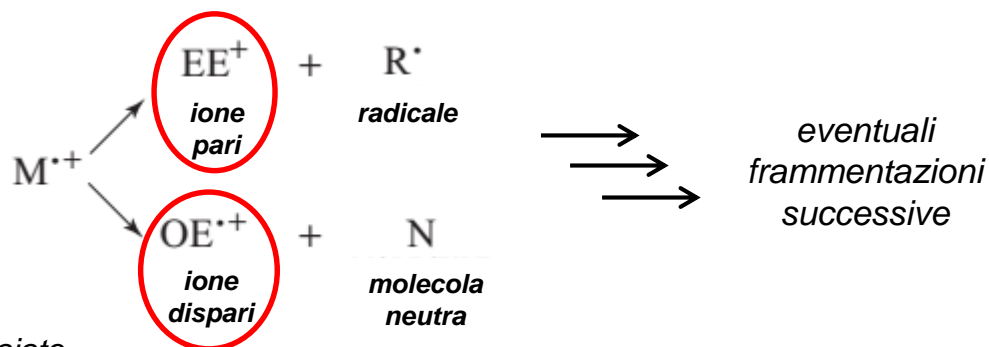
La spettrometria di massa organica consente di identificare e quantificare specie molecolari. Come già anticipato, le molecole vengono portate in fase gassosa e ionizzate, quindi con questa tecnica vengono identificati e quantificati i diversi ioni formati in base al loro rapporto  $m/z$ .

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



La ionizzazione porta alla formazione di un catione radicale  $M^+$  che possiede un certo rapporto  $m/z$ , quindi può essere rivelato dal detector.  $M^+$  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  $M^+$  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!!!

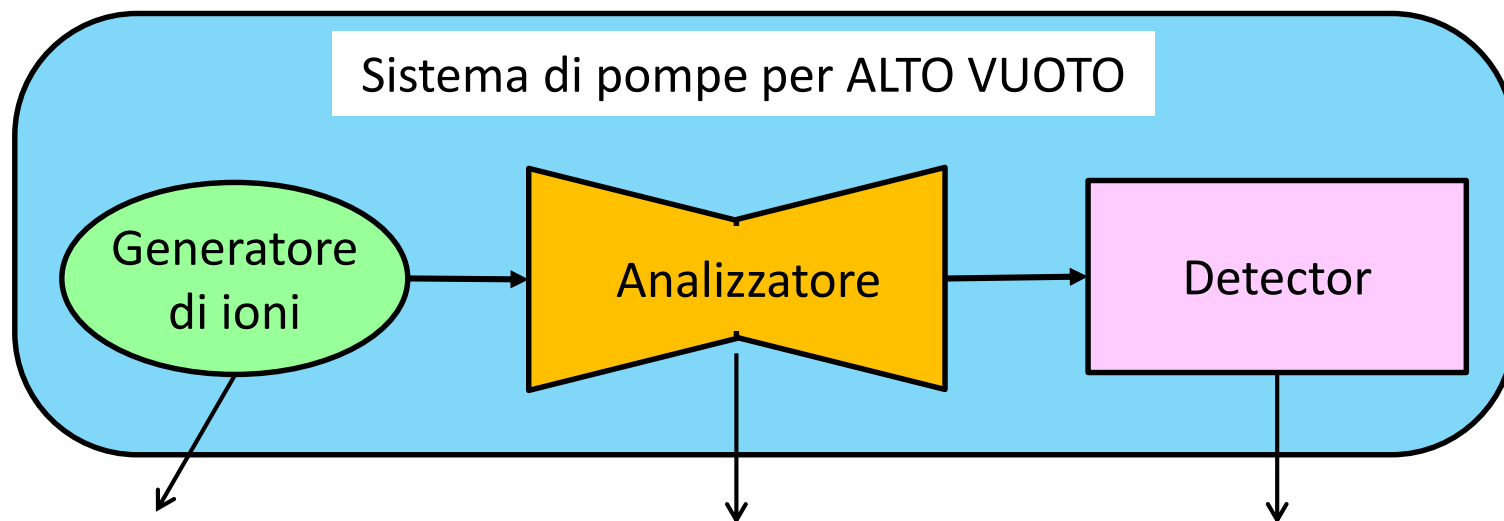


ione pari (even)= $i$ . con elettroni appaiati  
ione dispari (odd)= $i$ . con un elettrone spaiato

segue →



## Possibili assetti strumentali di uno spettrometro di massa



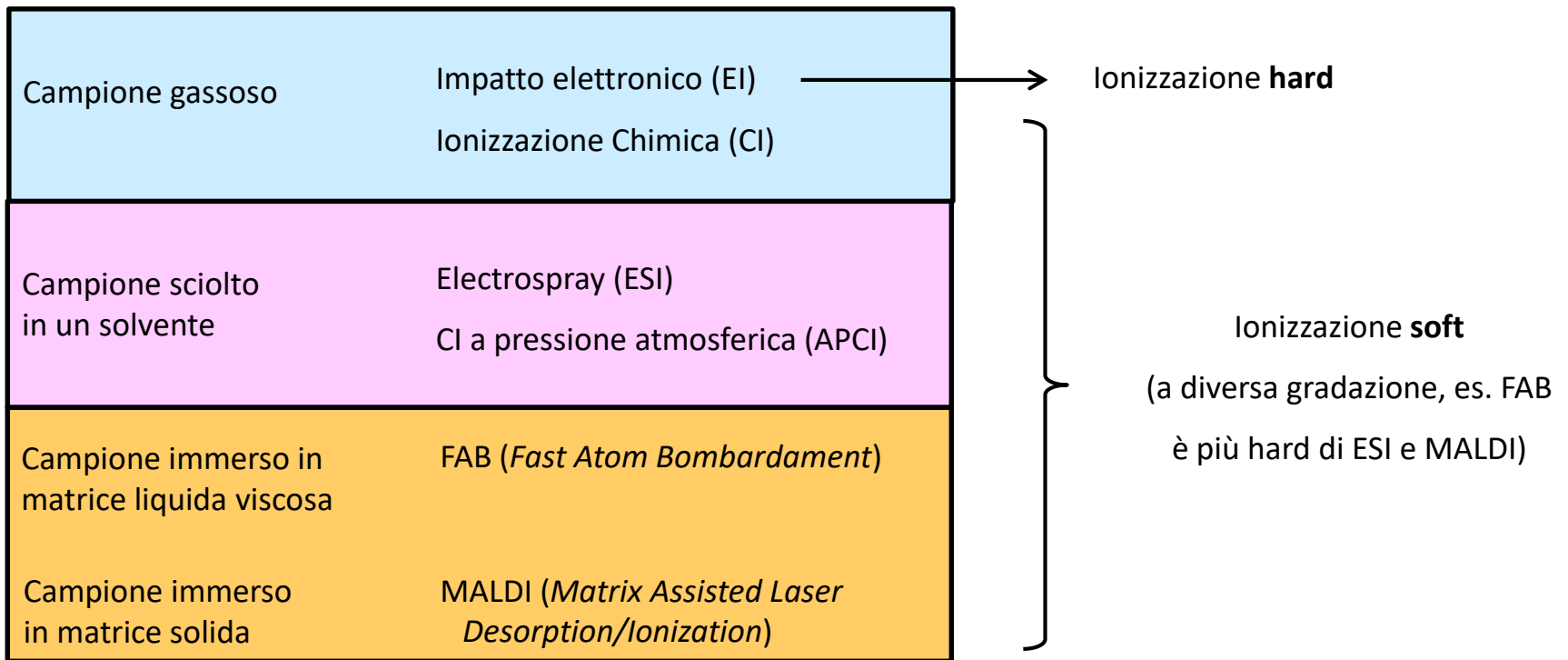
- Impatto elettronico (EI)
- Ionizzazione Chimica (CI)
- Electrospray (ESI)
- CI a pressione atmosferica (APCI)
- FAB (*Fast Atom Bombardament*)
- MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization*)

- 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:

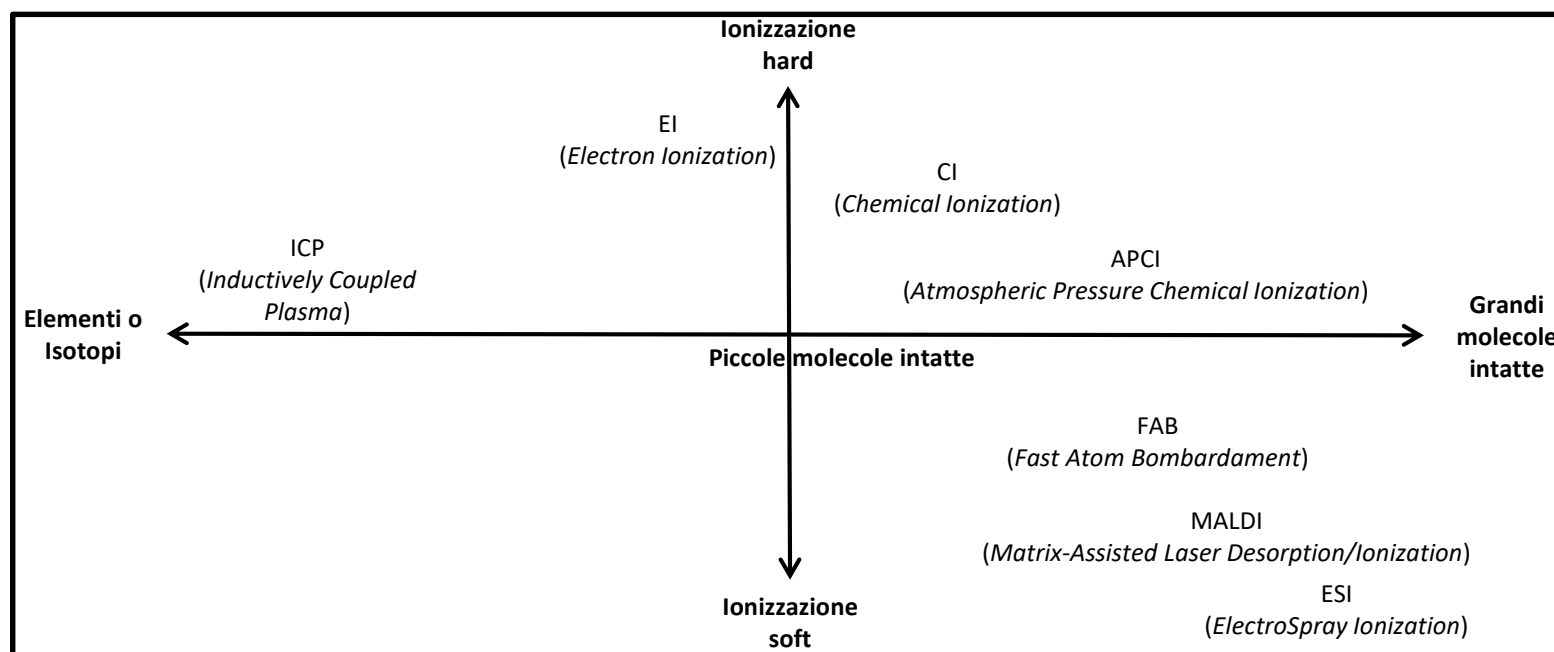
- a seconda **dello stato in cui deve essere il campione** quando viene introdotto nello strumento (gas, sciolto in un solvente, immerso in una matrice);
- a seconda **della quantità di energia di ionizzazione** che viene fornita al campione (molta → "hard ionization", poca → "soft ionization")



segue →

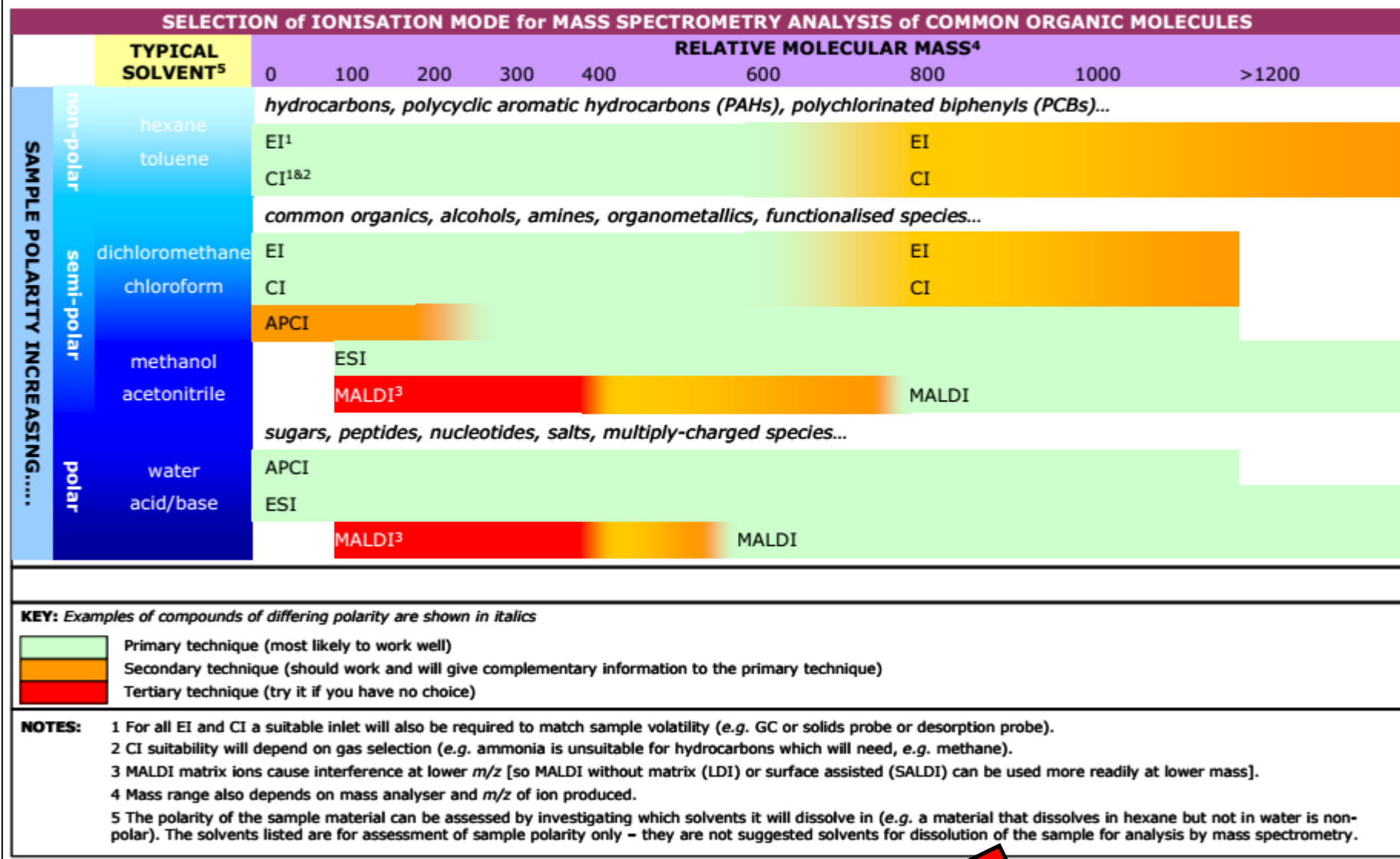
Riassumendo....

ionization method	type of ion formed	analytes	sample intro	mass limits	method type
EI	$M^+, (M^-)$	small volatiles	GC, liquid or solid probe	$10^3$	hard method structural info
CI	$[M + H]^+, [M + X]^+$	small volatiles	GC, liquid or solid probe	$10^3$	soft method
APCI	$[M + H]^+, [M + X]^+, [M - H]^-$	small volatiles (less polar species)	LC or syringe	$2 \times 10^3$	soft method
ESI	$[M + nH]^{n+}, [M - nX]^{n-}$	peptides, proteins nonvolatile	LC or syringe	$2 \times 10^5$	soft method multiply charged ions
FAB	$[M + H]^+, [M - H]^-$	carbohydrates organometallics peptides, nonvolatile	in viscous matrix	$6 \times 10^3$	soft but harder than ESI or MALDI
MALDI	$[M + H]^+, [M + X]^+$	peptides, proteins nucleotides	in solid matrix	$5 \times 10^5$	soft



segue →

**Figure 2: Chart to assist with ionisation mode selection** (reproduced from EPSRC National Mass Spectrometry Service Centre Summer School, B K Stein, 2006, with permission from EPSRC National Mass Spectrometry Service Centre)



**Per separare gli ioni formati tramite l'utilizzo dei sistemi di ionizzazione si sfruttano due fenomeni correlati alla massa ed alla carica.**

- 1) la traiettoria di uno ione o di una particella carica in movimento può essere modificata per azione di un campo magnetico od elettrico, e l'entità della deviazione è funzione del rapporto  $m/z$  della particella: a parità di carica, particelle di massa minore subiranno deviazione maggiore;**
- 2) ioni o particelle cariche, accelerati da un campo elettrico, assumono velocità diverse in dipendenza della loro massa: a parità di carica, particelle di massa maggiore assumono velocità minore.**

*Gli spettrometri di massa di prima generazione sfruttavano unicamente il primo fenomeno; attualmente sono disponibili strumenti che si basano sul primo o sul secondo fenomeno.*

*Gli **analizzatori di tipo (1)** sono detti "**a scansione**" poiché fanno passare ioni a differente  $m/z$  uno alla volta in lungo un certo percorso al loro interno.*

*Gli **analizzatori di tipo (2)** fanno passare **tutti gli ioni assieme** lungo un certo loro percorso interno.*

segue →

**Le cinque principali caratteristiche atte a valutare *le prestazioni* di un analizzatore di massa sono:**

- 1) ***l'intervallo di m/z misurabili;***
- 2) ***la velocità di analisi (detta anche velocità di scansione) ovvero la velocità a cui l'analizzatore riesce a misurare un certo intervallo di m/z (espressa in  $u \cdot s^{-1}$  o  $u \cdot ms^{-1}$ );***
- 3) ***la trasmissione ovvero il rapporto tra il numero di ioni che raggiungono il detector (quindi in uscita dall'analizzatore) rispetto al numero di ioni che entrano nell'analizzatore;***
- 4) ***l'accuratezza di misura della massa ovvero la differenza tra risposta sperimentale e la massa esatta teorica (per misurare l'accuratezza si utilizzano sostanze di cui si conosce la massa esatta);***

“The achievable mass accuracy in practice depends on the resolution of the mass analyzer and the quality and stability of the calibration of the m/z axis. An instrument providing unit-mass resolution generally allows m/z determination for single-charge ions with an accuracy of  $\pm 0.1$  u (nominal mass determination). In HRMS, the mass accuracy is generally expressed either as an absolute mass error (accurate mass–exact mass, in mu) or as a relative error (in ppm), calculated from

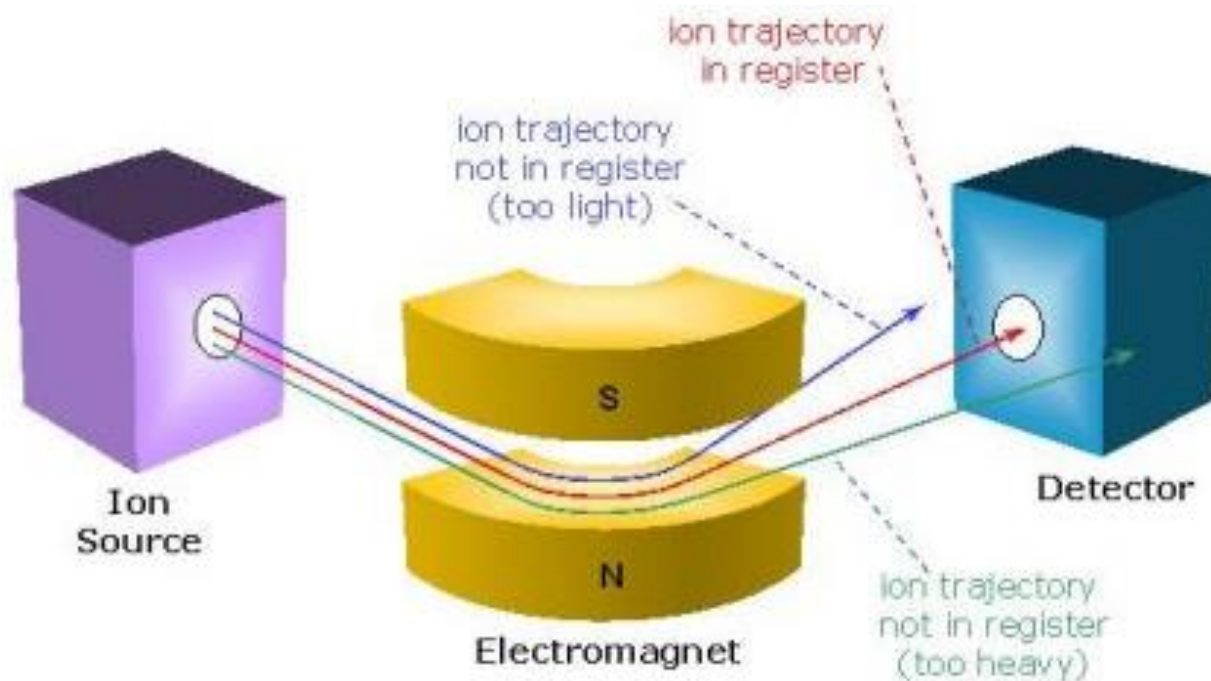
$$\frac{(\text{accurate mass} - \text{exact mass})}{(\text{exact mass})} \times 10^6$$

In HRMS of small molecules, the error in m/z determination will typically be in the third decimal place (accurate mass determination).”

- 5) ***il potere risolvete ovvero il più piccolo  $\Delta m/z$  che l'analizzatore riesce a discriminare (vedasi slides introduttive).***

## L'analizzatore a Settore Magnetico

La tecnica consiste nell'accelerare ad alta velocità gli ioni provenienti dallo ionizzatore facendoli passare attraverso un settore magnetico in cui un campo magnetico è applicato perpendicolarmente rispetto alla direzione degli ioni. Variando il campo magnetico si consente solo a ioni con un determinato  $m/z$  di raggiungere il detector percorrendo una traiettoria corretta. Gli ioni a diverso  $m/z$  impattano contro le pareti dello strumento e non raggiungono il detector. Variando il campo magnetico con un certo "passo" si riesce a portare al detector gli ioni con diversi  $m/z$  "uno alla volta" (o meglio a "pacchetti" di ioni con massa uguale).



segue →

Per spiegare quale effetto viene esercitato su una particella carica che entra in un campo magnetico viene utilizzata l'**equazione della forza di Lorentz**. La forza di Lorentz ( $F_L$ ) dipende dalla velocità della particella ( $v$ ), dal campo magnetico ( $B$ ) e dalla carica dello ione ( $q$ ). Nella forma più semplice lo scalare della forza (che per sua natura è un vettore) è così espresso:

$$F_L = qvB$$

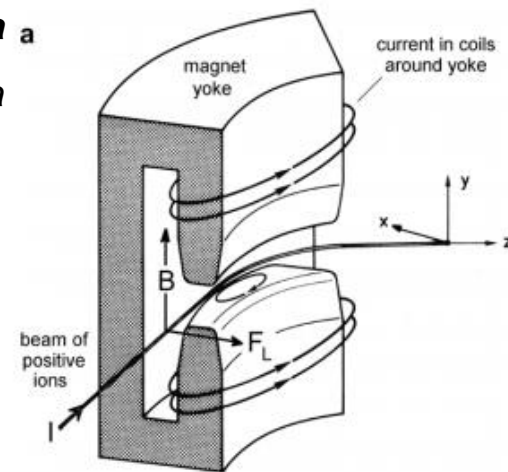
Questa espressione è valida se la velocità ( $v$ ) e il campo magnetico ( $B$ ) sono perpendicolari tra di loro.

Uno ione di massa ( $m$ ) e carica ( $q$ ) che viaggia in direzione perpendicolare rispetto a quella di un campo magnetico omogeneo **seguirà una traiettoria circolare di raggio ( $r_m$ )** che soddisfa le condizioni di equilibrio tra  $F_L$  e la forza centrifuga apparente  $F_C$ .

$$F_L = qvB = \frac{m_i v^2}{r_m} = F_C$$

Dal riarrangiamento dell'equazione precedente si ottiene il raggio ( $r_m$ ) di questa traiettoria circolare:

$$r_m = \frac{m_i v}{qB}$$



segue →



Bisogna ricordare che lo ione entra nel campo magnetico dopo aver subito una accelerazione nel sistema di ionizzazione. La sua energia cinetica in uscita dallo ionizzatore dipende dalla differenza di potenziale che è stata applicata, cioè dal campo elettrico applicato:

$$E_k = E_{el}$$

da cui:

$$E_k = \frac{1}{2} m_i v^2 = ezU = E_{el}$$

dove:

$ez = q$  (carica dello ione) e

$U$  = differenza di potenziale del campo elettrico

Quindi la velocità dello ione si può esprimere come:

$$v = \sqrt{\frac{2ezU}{m_i}}$$

Riprendendo le formule della slide precedente ( $r = mv/qB$ ) e sostituendo  $v$ :

$$r_m = \frac{m_i}{ezB} \sqrt{\frac{2ezU}{m_i}} = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2\cancel{ez}m_i^2U}{z^2\cancel{e^2}m_i}} \quad \longrightarrow \quad r_m = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2m_iU}{ze}}$$

Quindi  $r_m$  dipende dalla radice quadrata del rapporto  $m/z$ .

segue →

Alternativamente il rapporto  $m_i/q$  può essere espresso come:

$$\frac{m_i}{q} = \frac{r_m B}{v}$$

da cui, per sostituzione di  $v$ , si ottiene:

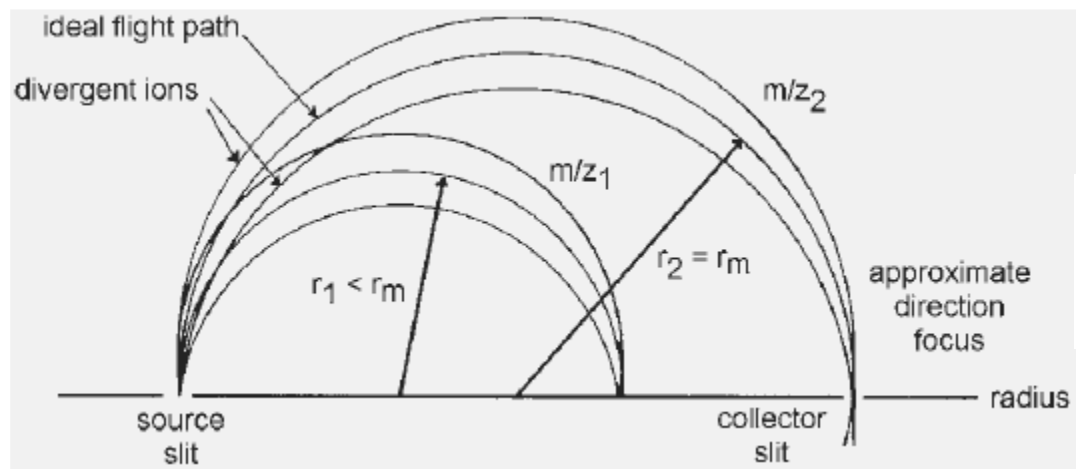
$$\frac{m_i}{q} = \frac{r_m B}{\sqrt{\frac{2qU}{m_i}}} \Rightarrow \frac{m_i}{q} = \frac{r_m^2 B^2}{2U}$$

Essendo il settore magnetico il primo tipo di analizzatore impiegato, l'equazione soprastante un tempo era conosciuta come "l'equazione base della spettrometria di massa".

Poiché ad oggi molti diversi analizzatori sono stati progettati e realizzati, è noto che in ogni tipo di analizzatore lo ione si comporta secondo una equazione base diversa che dipende dal modo in cui è stato costruito l'analizzatore impiegato.

segue →

**La focalizzazione** che avviene applicando un campo magnetico omogeneo a un fascio di ioni che hanno la stessa  $m/z$  e la stessa energia cinetica può essere ben illustrato su un settore circolare di  $180^\circ$ .



$$\frac{m_i}{q} = \frac{r_m^2 B^2}{2U}$$

Ad  $r_m$ , dati che siano  $B$  e  $U$ , giungono ioni caratterizzati da  $m_i/q$

**Ioni con differente  $m/z$  viaggiano lungo un traiettoria con un raggio diverso.** Ad es. gli ioni più leggeri  $m_1/z$  collidono con la parete dello strumento mentre gli ioni con  $m_2/z$  riescono a raggiungere la fenditura (slit).

Per consentire la rivelazione di diverse masse, questo tipo di analizzatore fu equipaggiato con una piastra fotografica quale detector che deve essere posizionata nel piano focale. In questo modo sono stati ottenuti i primi, così detti, spettrografi di massa.

Alternativamente questo tipo di analizzatore può essere **concepito con un campo magnetico variabile** che consente di portare alla fenditura differenti  $m/z$ , quindi varia  $B$  e rimane costante  $r_m$ . In questo modo, effettuando una **scansione**, si riescono a portare alla fenditura in sequenza (nel tempo) tutti i rapporti  $m/z$  desiderati

segue →

Energia cinetica

Lavoro di estrazione

$$e\Delta V = \frac{1}{2}mv^2$$

Forza centrifuga

Forza di Lorentz

$$ma = \frac{mv^2}{R} = qvB$$

$$\frac{m}{e} = \frac{B^2 R^2}{2\Delta V}$$

*Per un certo valore della coppia  $B$  e  $V$ , esisterà un solo valore di massa  $m$  per cui il raggio di deflessione  $r$  coincide con il raggio di curvatura del tubo  $R$ .*

*Di conseguenza gli ioni che hanno questo valore di massa escono dal tubo, gli altri no.*

*Operando a potenziale  $V$  costante e facendo una scansione di campo  $B$  è possibile fare uscire dal tubo gli ioni a diversa massa in tempi diversi.*

segue →

Il design di settore magnetico di 180° richiede settori magnetici larghi e pesanti. Un singolo settore magnetico ottimizzato può dare una risoluzione di  $R = 2000-7000$ , dipendentemente dal raggio.

**La limitazione nasce dal fatto che gli ioni che emergono dalla sorgente non sono di fatto monoenergetici**, quindi ioni con differente  $m/z$  possono avere lo stesso momento ( $mv$ ) e pertanto entrare insieme nella fenditura e **sovrapporsi nella rivelazione**.

Ad es. considerando l'equazione: 
$$r_m = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2m_i U}{ze}}$$
 che deriva da 
$$r_m = \frac{m_i v}{qB}$$

$r_m$  rimane costante finché  $m_i U = \text{cost}$ . Se lo strumento lascia passare uno ione di  $m/z = 500$  e energia di 3000eV, farà passare allo stesso modo anche uno ione di  $m/z = 501$  con energia = 2994eV o  $m/z = 499$  con energia 3006 eV.

**Questo è il motivo per cui per ottenere una alta risoluzione la distribuzione di energie cinetiche deve stare in un intervallo molto stretto.**

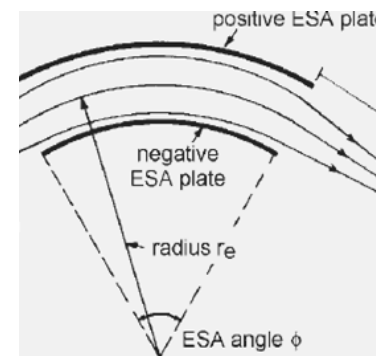
**Questa necessità ha portato alla progettazione di strumenti a DOPPIA FOCALIZZAZIONE.**

segue →

**Il settore elettrostatico o analizzatore elettrostatico (ESA)** produce un campo elettrico radiale tra due lastre (plates) a carica opposta che si estendono attraverso l'angolo ESA ( $\Phi$ ). Uno ione attraversa il percorso intermedio (centrale) di un ESA su un percorso circolare se:

$$F_e = qE = \frac{m_i v^2}{r_e} = F_c$$

dove  $F_e$  = forza elettrica,  $E$  = intensità del campo elettrico,  $r_e$  = raggio dell'ESA.



ESA funziona come dispositivo di dispersione di energia:

$$r_e = \frac{m_i v^2}{qE} = \frac{m_i v^2}{ezE}$$

$$v = \sqrt{\frac{2ezU}{m_i}}$$

la distribuzione di energia cinetica di un fascio di ioni può essere ristretta. La seguente relazione descrive il raggio dell'ESA.

$$r_e = \frac{2U}{E}$$

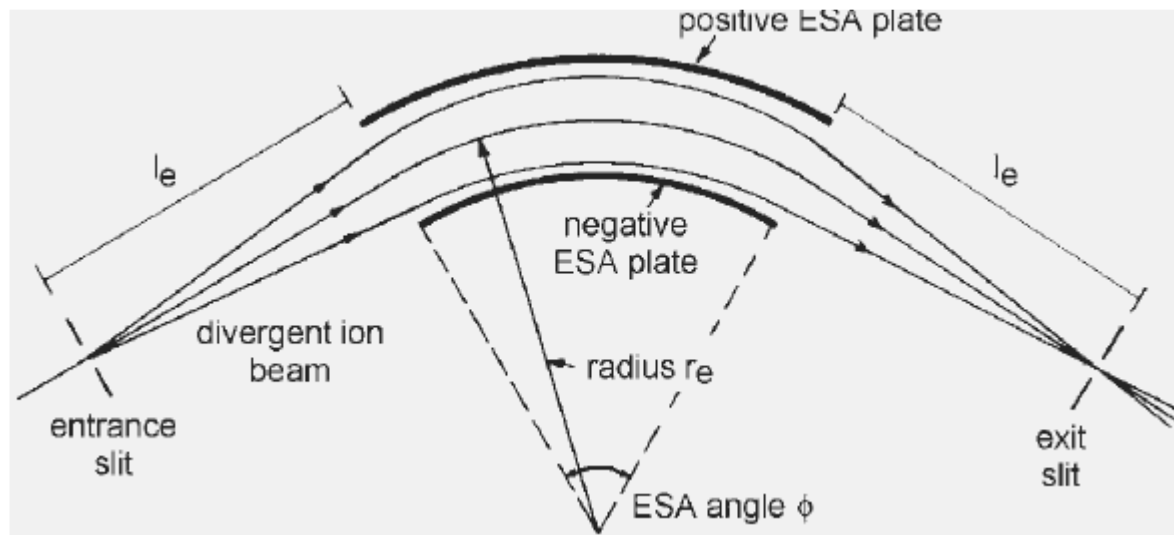
segue →

*Si immagini uno ione che segue un percorso di deriva verso l'outer plate che ha la stessa carica dello ione.*

*Al suo avvicinarsi alla platea lo ione subisce una decelerazione a causa del campo elettrico opposto ed infine viene riflesso verso il centro del fascio. Dato che **la sua componente radiale della velocità ( $v$ ) viene invertita, esso attraversa il cammino ideale  $l_e$ .***

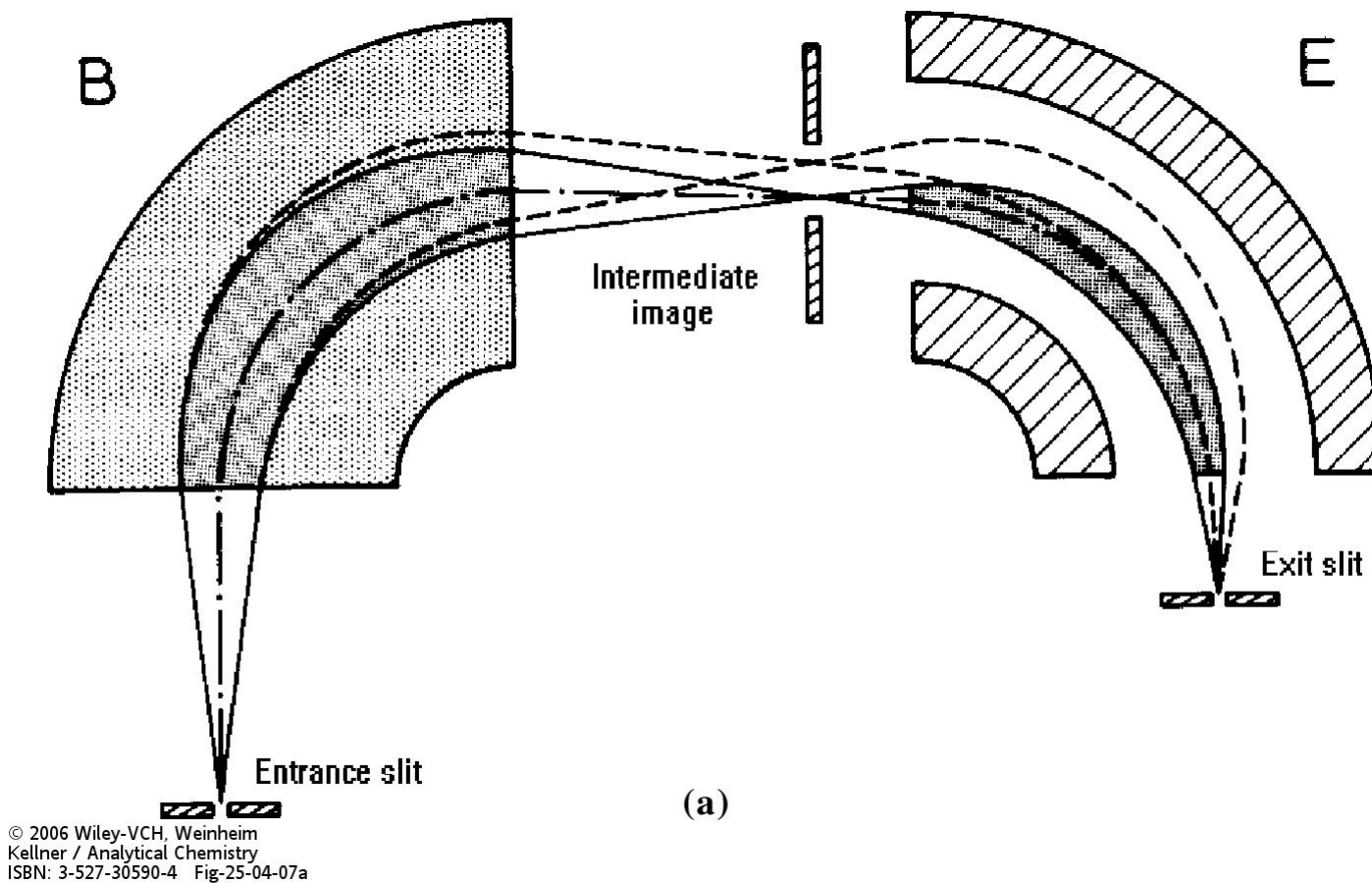
*Allo stesso modo, uno ione che si avvicina all'inner plate viene accelerato dalla forza attrattiva.*

*La velocità incrementata che ne risulta, causa un aumento della forza centripeta e quindi agisce come una correzione della traiettoria verso quella ideale.*



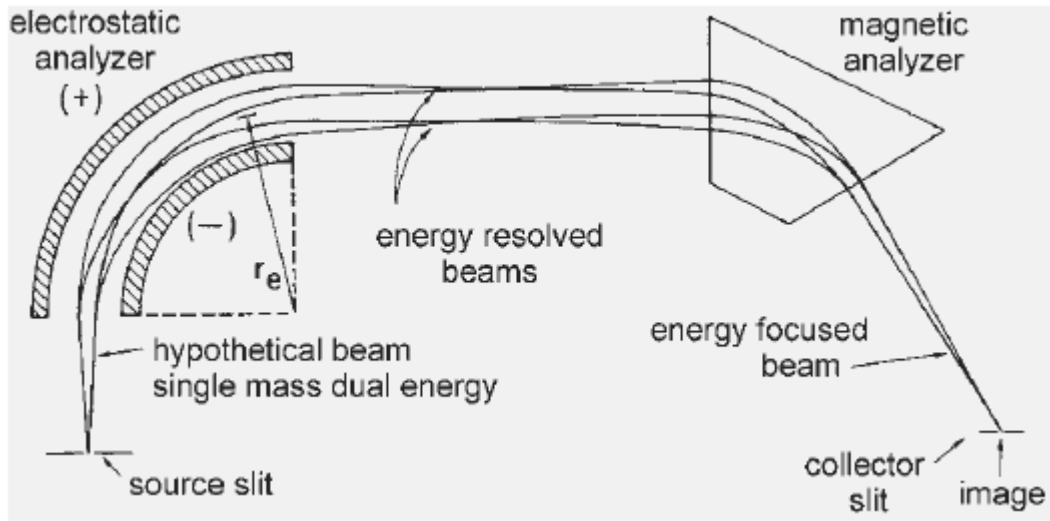
segue →

**Dall'accoppiamento di un settore elettrostatico ESA e di un settore magnetico B si ottengono gli strumenti a DOPPIA FOCALIZZAZIONE**



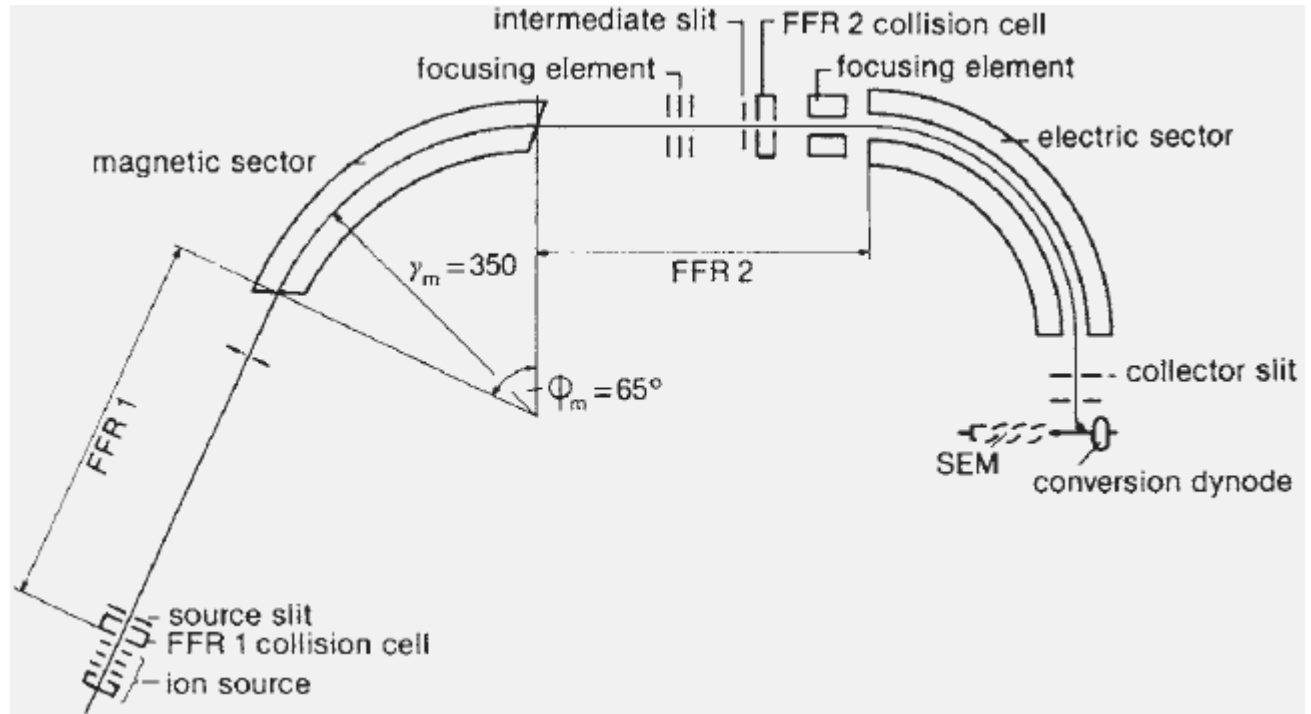
segue →





Configurazione diretta EB  
**R>10000**

Configurazione  
 Inversa BE  
**R>70000**



segue →

## **IN CONCLUSIONE:**

*La separazione di ioni con diverso rapporto  $m/z$  si può conseguire con:*

- ❖ la variazione del raggio di curvatura che porterà gli ioni ad esser separati nello spazio, mentre*
- ❖ la variazione di  $B$  o  $V$  porterà gli ioni con diverso  $m/z$  ad esser separati nel tempo (i.e. possono esser rilevati uno dopo l'altro da un detector a posizione fissa dietro una fenditura. La risoluzione dipende dalle fenditure in ingresso a  $B$  ed in uscita al detector (compromesso selettività/sensibilità).*
- ❖ Prestazioni in termini di risoluzione di massa sono migliorabili con analizzatore elettrostatico (ESA), che focalizza gli ioni con uguale  $m/z$  ma diversa energia cinetica (si migliora la risoluzione senza perder segnale) → strumenti a doppia focalizzazione (HR, masse accurate).*
- ❖ Elevato intervallo di masse, alta risoluzione, buona capacità di quantificazione... ma costi alti.*