

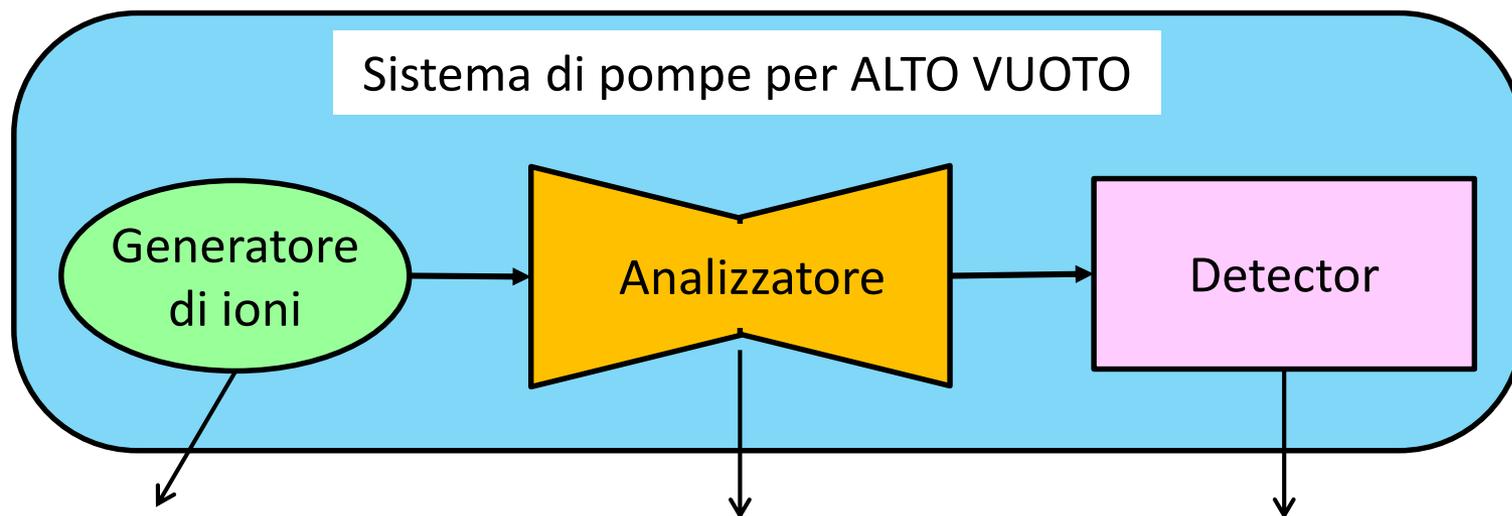
# **CHIMICA ANALITICA II**

**CON LABORATORIO**

**(AA 2019-20)**

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

## 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)

## Analizzatori (o selettori di $m/z$ )

**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

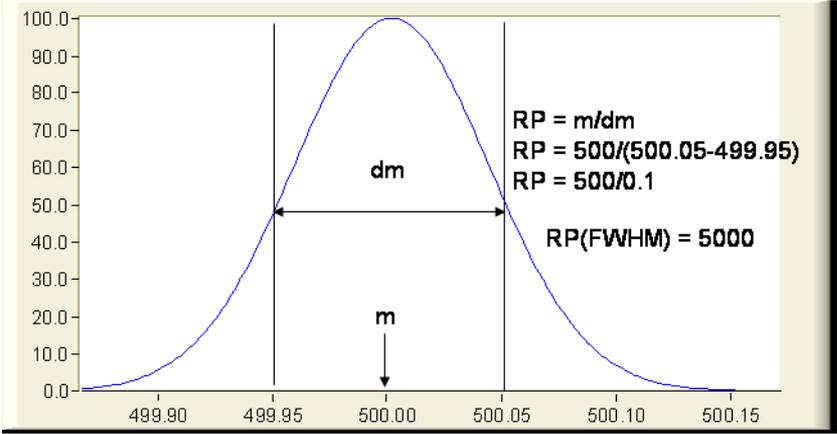
$$\frac{(\text{accurate mass} - \text{exact mass})}{(\text{exact mass})} \times 10^6$$

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

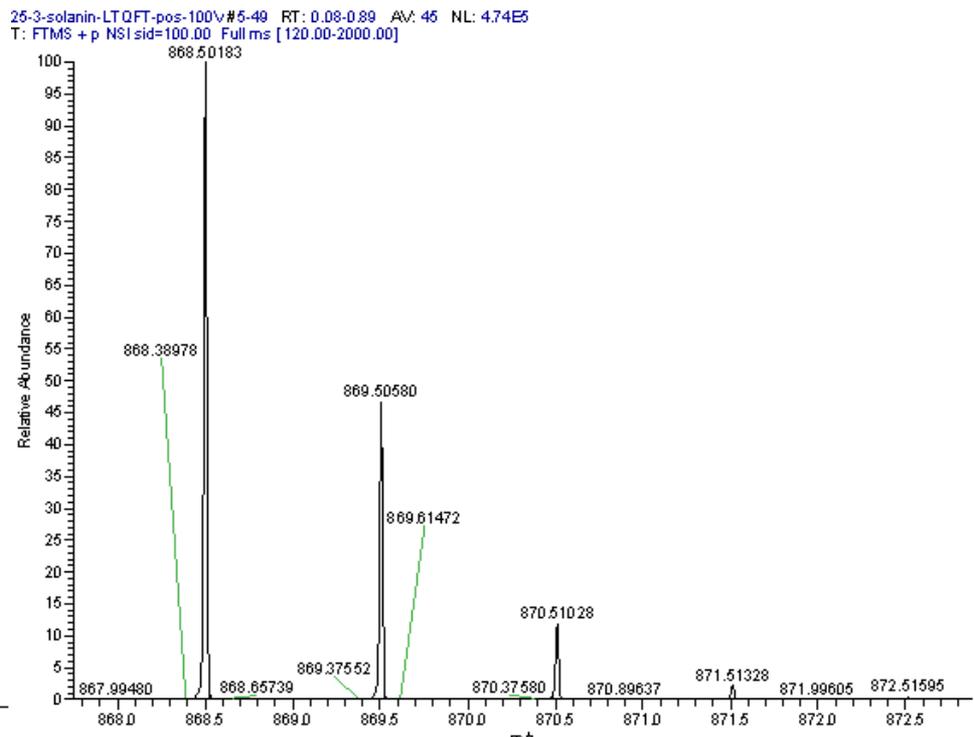
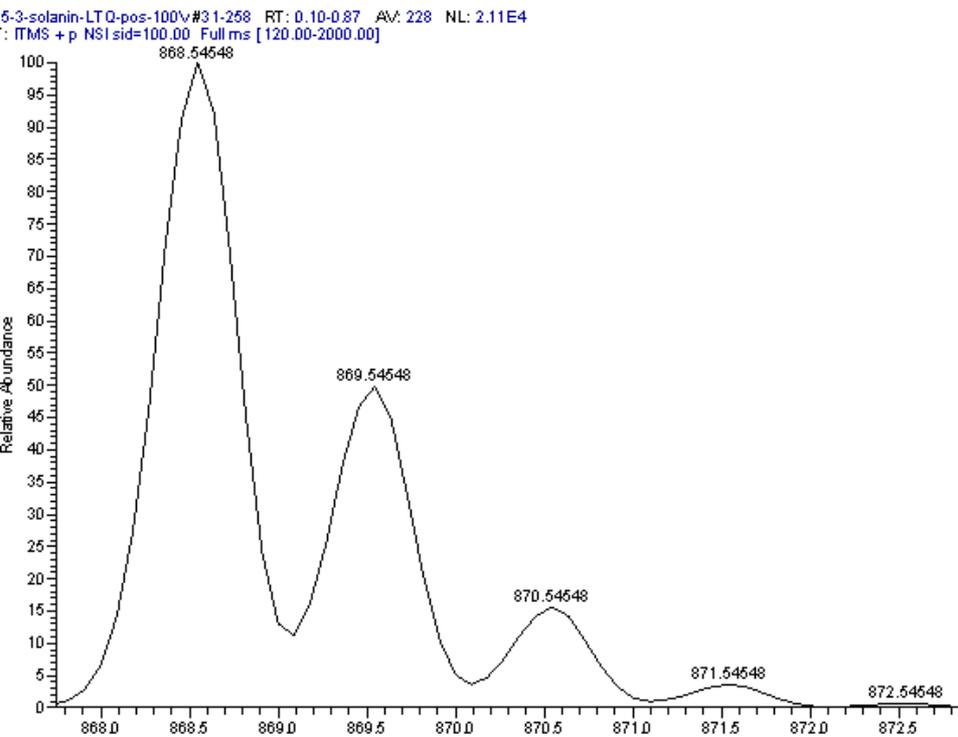
- 5) **il potere risolvete** ovvero il più piccolo  $\Delta m/z$  che l'analizzatore riesce a discriminare.

# Risoluzione (Resolving Power) FWHM

Type	Resolving Power (FWHM)
FT-ICR-MS	1,000,000
FT-Orbitrap	100,000
High-Res-TOF	60,000
TOF	10,000
Quadrupole / IonTrap in UltraZoom mode	10,000
Quadrupole / Iontrap	1,000



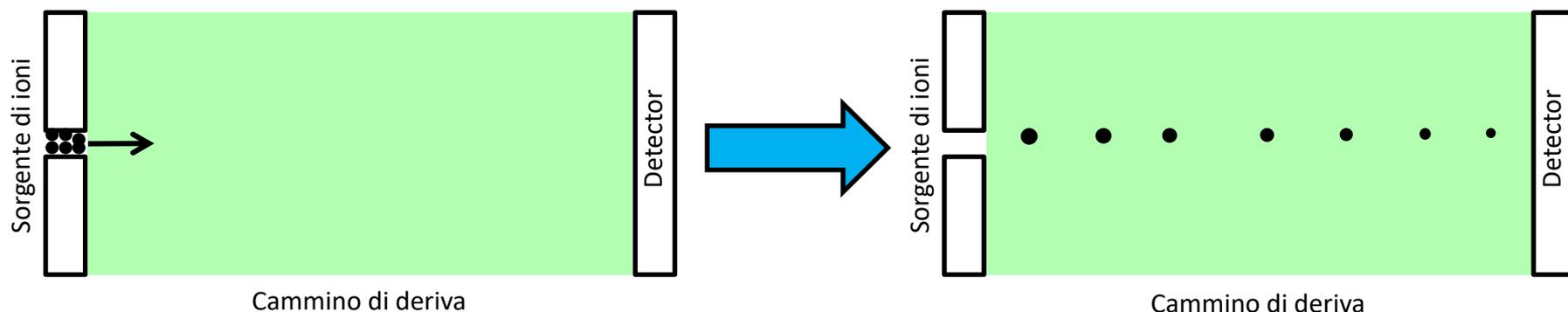
LTQ (low resolution, resolving power  $R = 1737$  at  $m/z$  868.5, peak width  $\sim 0.5$  FWHM) and LTQ-FT (high resolution, resolving power = 48,250 at  $m/z$  868.5, peak width  $\sim 0.018$ ; FWHM)



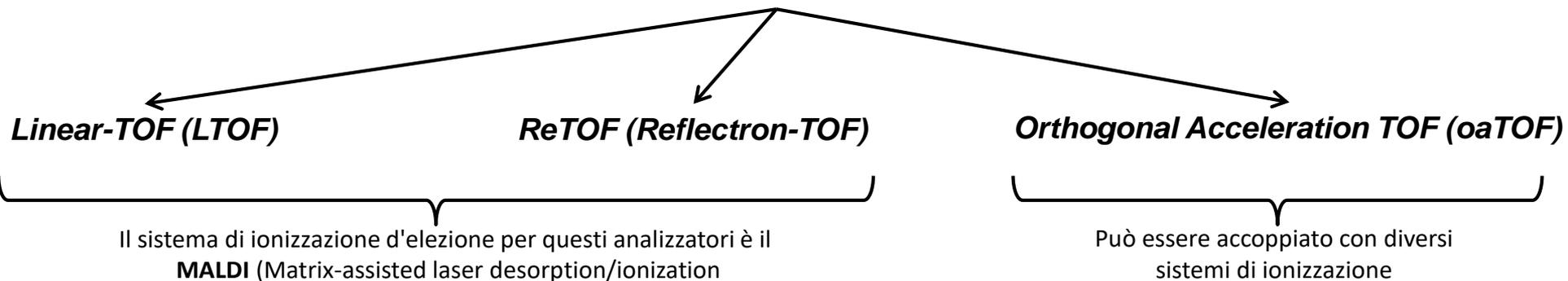
# Analizzatori a Tempo di Volo (Time Of Flight Analyzer - TOF)

Il principio del TOF è semplice: ioni con differente  $m/z$  vengono separati nel tempo durante il loro volo lungo un cammino di deriva in assenza di campi elettrici e magnetici di lunghezza nota.

Se gli ioni iniziano il cammino nello stesso istante gli ioni più leggeri arriveranno prima al detector rispetto agli ioni più pesanti.



*I TOF possono essere di tre tipi in base alle caratteristiche del dispositivo e della sua operatività:*



**MALDI** è ideale per TOF perché consente la produzione di impulsi (pacchetti) di ioni

## Teoria del tempo di volo di una massa in un TOF

La carica elettrica ( $q$ ) di uno ione di massa ( $m_i$ ) è uguale ad un numero intero ( $z$ ) di cariche elettroniche ( $e$ ), quindi  $q = ez$ . L'energia  $E_{el}$  acquisita dallo ione che si muove attraverso un voltaggio  $U$  è data da:

$$E_{el} = qU = ezU$$

L'energia potenziale di una particella carica in un campo elettrico viene convertita in energia cinetica  $E_{kin}$ , cioè in moto traslatorio

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

Supponendo che lo ione fosse a riposo inizialmente, che è corretto in prima approssimazione, la velocità raggiunta è

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

cioè la velocità dello ione ( $v$ ) è inversamente proporzionale alla radice quadrata della massa dello ione ( $m_i$ ). Uno ione a  $m/z$  sconosciuto, dopo essere stato accelerato da un voltaggio  $U$ , percorre una determinata distanza ( $s$ ) in un tempo ( $t$ ) dato da:

$$t = \frac{s}{v} \longrightarrow t = \frac{s}{\sqrt{\frac{2ezU}{m_i}}}$$

quindi ( $t$ ) è il tempo necessario allo ione per percorrere la distanza ( $s$ ) a velocità costante, cioè, in un ambiente privo di campi elettrici o magnetici (cammino di deriva) dopo che il processo di accelerazione è stato completato.

segue →

Riarrangiando l'equazione precedente si ottiene la relazione tra  $m/z$  e i parametri strumentali  $s$  e  $U$  e il valore di  $t$  ottenuto sperimentalmente:

$$\frac{m_i}{z} = \frac{2 e U t^2}{s^2} = \text{cost} \cdot t^2$$

Riarrangiando la precedente si ottiene che il tempo di deriva ( $t$ ) attraverso una lunghezza fissa ( $s$ ) di spazio libero da campi elettrici/magnetici è proporzionale alla radice quadrata di  $m/z$ :

$$t = \frac{s}{\sqrt{2eU}} \sqrt{\frac{m_i}{z}}$$

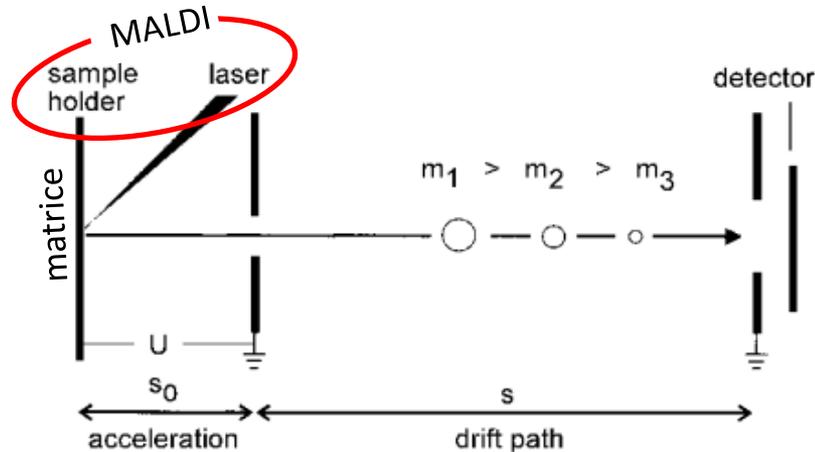
pertanto, l'intervallo di tempo  $\Delta t$  tra i tempi di arrivo di ioni a diverso  $m/z$  è proporzionale a  $s \cdot (m/z_1^{1/2} - m/z_2^{1/2})$ .

La proporzionalità tra tempo di volo e la radice quadrata di  $m/z$  fa sì che il  $\Delta t$  per una data  $\Delta m/z$  diminuisca all'aumentare del valore di  $m/z$ : alle medesime condizioni, un  $\Delta t$  che corrisponde ad un  $\Delta m/z = 1$  u per  $m/z = 20$  è uguale a 114 ns, a  $m/z = 200$  è uguale a 36 ns mentre a  $m/z = 2000$  è di soli 11 ns.

Pertanto, la realizzazione di un analizzatore di massa a tempo di volo dipende dalla capacità di misurare brevi intervalli di tempo con sufficiente accuratezza.

## Linear-TOF (LTOF)

E' il più semplice assetto strumentale di un TOF. Gli ioni vengono estratti da una matrice tramite un laser (ionizzazione MALDI), accelerati con un voltaggio  $U$  fino all'ingresso del cammino libero di deriva. Il cammino ( $s$ ) è lungo circa 1-2 m. Gli ioni formati durante l'impulso laser vengono continuamente estratti e accelerati dal momento in cui passano dalla matrice alla fase gas. La trasmittanza di un LTOF si avvicina la 90%.



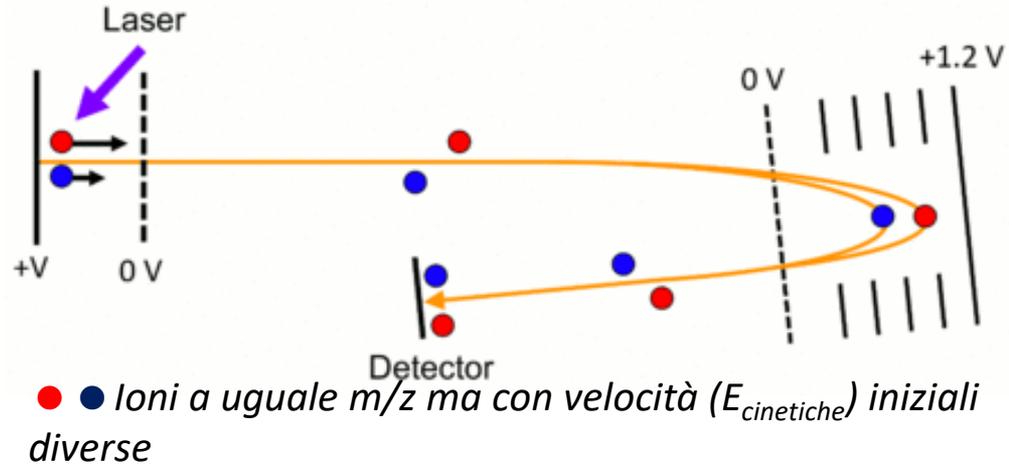
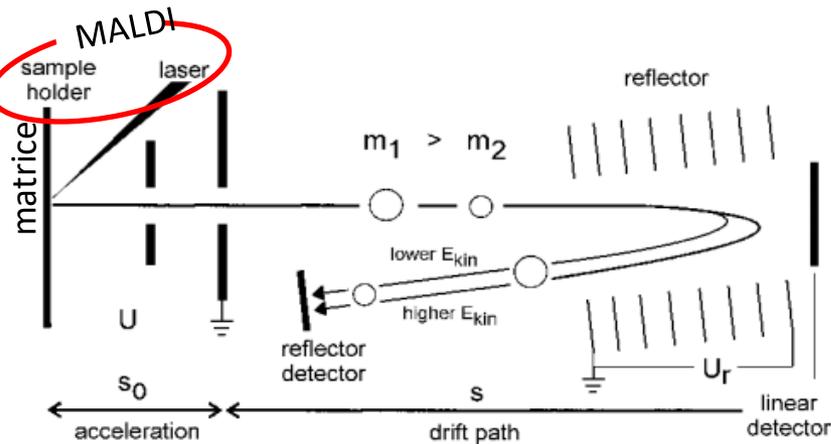
### Limiti del LTOF:

- essendo che ad alte  $m/z$  una differenza  $\Delta m/z = 1$  u comporta una variazione di tempo di volo  $\Delta t$  dell'ordine dei 10 ns, bisogna considerare che in un MALDI equipaggiato con un laser UV standard il tempo di estrazione degli ioni dalla matrice è di circa 10-50 ns, conseguentemente la variazione nei tempi di partenza di ioni con stesso  $m/z$  può essere superiore alla differenza in tempo di volo, con il conseguente peggioramento della risoluzione del LTOF.
- Gli ioni desorbiti tramite laser possiedono una energia di alcune decine di eV che si va ad aggiungere al voltaggio imposto per l'accelerazione degli ioni nel LTOF (10-30 kV) con la conseguenza che gli ioni che "partono" non possiedono tutti la stessa energia cinetica, quindi ioni a stesso  $m/z$  possono arrivare al detector con tempi diversi.

**Tutti questi effetti insieme limitano la risoluzione a  $R \sim 500$**

# Reflectron-TOF (ReTOF)

Il ReTOF è stato ideato per ovviare al difetto del LTOF di avere bassa risoluzione a causa della dispersione di energia cinetica tra ioni con stesso  $m/z$  entranti nella zona di cammino libero, che comporta una differenza  $\Delta t$  all'arrivo al detector NON correlata a differenze di  $m/z$ .



Nel Re-TOF il riflettore è posto alla fine del cammino libero. E' composto da una serie di elettrodi a forma di anello a potenziale via via maggiore quanto più sono posti lontano rispetto alla sorgente di ioni. Il loro voltaggio  $U_r$  è circa 1.05-1.10 volte il voltaggio  $U$  (di accelerazione degli ioni) per assicurare la riflessione di tutti gli ioni in arrivo.

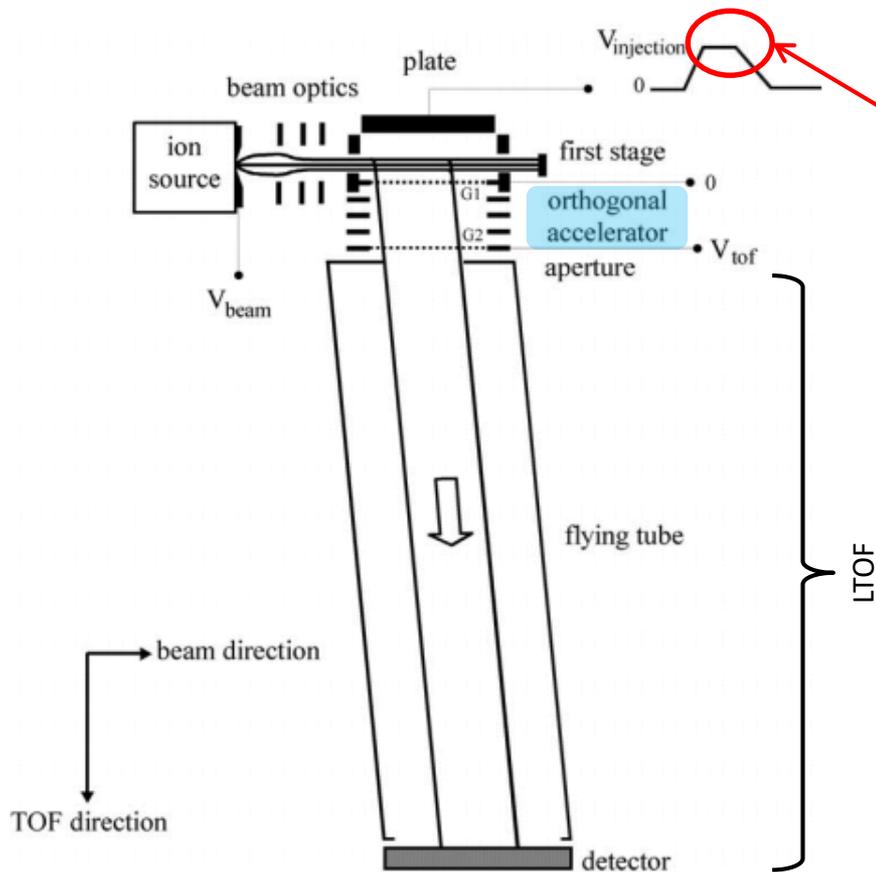
Il riflettore è capace di riallineare (nel tempo) ioni con stesso  $m/z$  ma diversa energia cinetica  $E_{kin}$ . Gli ioni con  $E_{kin}$  più alta penetreranno all'interno del riflettore più a fondo rispetto a ioni con  $E_{kin}$  minore, con il risultato che poi tutti gli ioni con stesso  $m/z$  usciranno nello stesso momento dal riflettore per raggiungere il detector.

Questo effetto aumenta il potere risolvete del ReTOF rispetto a LTOF, permettendo di ottenere delle composizioni isotopiche risolte anche per molecole con  $m/z > 500$ .

# Orthogonal Acceleration -TOF (oaTOF)

L'oaTOF è stato ideato per essere accoppiato anche con sistemi di ionizzazione che producono ioni in modo continuo (e non solo pulsato come MALDI). In linea di principio oaTOF può essere accoppiato con qualsiasi sistema di ionizzazione.

L'oaTOF è capace di estrarre ioni da una sorgente continua in modo pulsato, quindi non è più necessario che sia lo ionizzatore accoppiato al TOF a produrre gli impulsi di ioni.



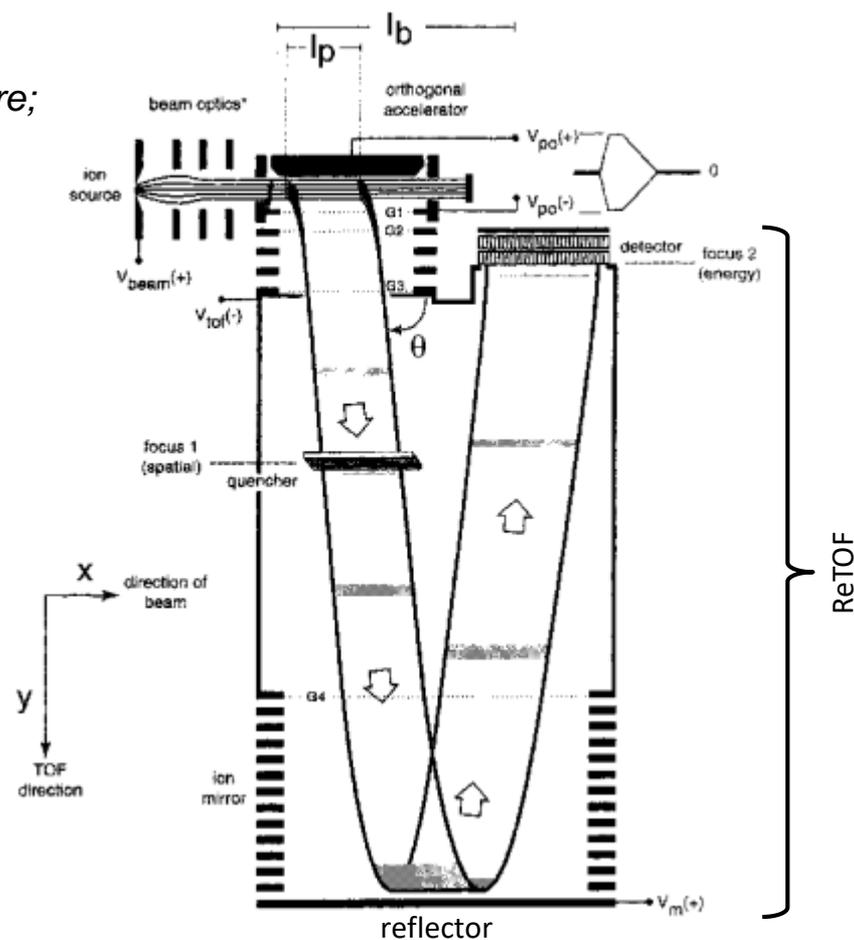
- i) Gli ioni focalizzati in uscita dallo ionizzatore flussano in modo continuo nello spazio tra il "plate" (inizialmente a voltaggio  $V_{injection} = 0$ ) e la griglia G1.
- ii) Poi viene applicato un potenziale  $V_{injection}$  che genera un campo elettrico tra il "plate" e G1 in direzione perpendicolare a quella di cammino degli ioni che vengono quindi deviati ortogonalmente verso G2.
- iii) In G2 agli ioni viene applicato un potenziale  $V_{tof} = U$  che accelera gli ioni fino al cammino libero che porta al detector.

segue →

## I vantaggi dell'oa TOF sono:

- alta trasmissione (quindi alta sensibilità);
- alta velocità di scansione;
- alto potere risolvete;
- **masse accurate anche a più di 1 ppm;**
- possibilità di accoppiamento con diversi tipi di ionizzatore;
- design compatto.

Gli oaTOF possono anche essere costruiti  
con il TOF in modalità Re-TOF



# Vantaggi TOF

## I principali vantaggi di strumenti TOF sono:

- i. in linea di principio, l'intervallo  $m/z$  è illimitato;
- ii. Da ogni evento ionizzanti, ad esempio, un solo colpo laser MALDI, si ottiene uno spettro di massa completa in qualche decina di microsecondi;
- iii. La trasmissione di un analizzatore TOF è molto alta, dando origine ad alta sensibilità;
- iv. La costruzione di uno strumento TOF è relativamente semplice e poco costosa;
- v. strumenti più recenti (oaTOF) consentono misurazioni di massa accurate e accoppiamento di analizzatori di massa in serie (MS-MS tandem)

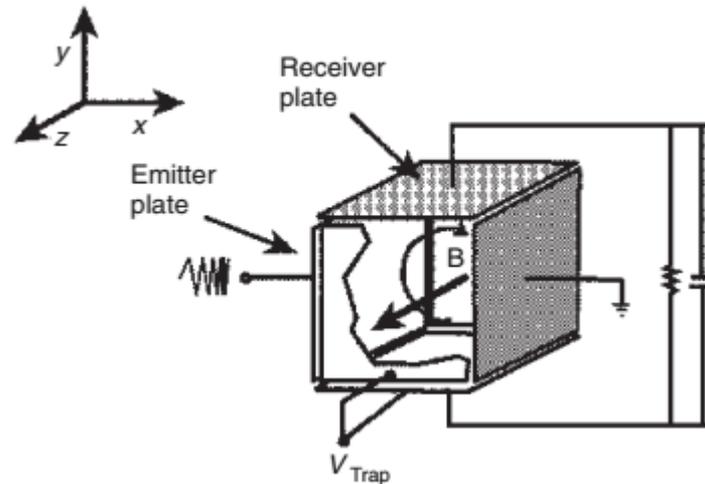
## NOTA:

- a) l'implementazione dei sistemi per alto vuoto porta ad un aumento del potere risolvete poiché ci sono meno molecole "non desiderate" con cui gli ioni possono collidere nella loro traiettoria lungo il cammino libero;
- b) nella tecnica TOF è fondamentale che il detector possa misurare  $\Delta t$  molto piccoli, il potere risolvete del TOF è anche correlato alla velocità di conversione del segnale da analogico a digitale del detector. Con detector con frequenza di conversione di 4 GHz il potere risolvete può arrivare fino a  $R = 45'000$ .



# Analizzatore a risonanza ionica ciclotronica a trasformata di Fourier (FT-ICR)

Come già visto negli analizzatori a settore magnetico, ioni immersi in un campo magnetico curvano la loro traiettoria. Se la velocità dello ione non è elevata e il campo magnetico è grande, il raggio della traiettoria diventa piccolo, tanto che lo ione può rimanere "intrappolato" in una traiettoria circolare all'interno del campo magnetico, questo è il principio del ciclotrone per ioni.



Il campo magnetico è orientato lungo l'asse z. Gli ioni vengono iniettati nella trappola e intrappolati da un voltaggio  $V_{trap}$  imposto tra i due "plate" opposti della trappola.

Gli ioni intrappolati si muovono con una traiettoria con due componenti: circolare intorno all'asse z e lineare lungo l'asse z. Il senso di rotazione dipende se gli ioni hanno carica positiva (in figura) o carica negativa.

segue →

*Gli ioni si stabilizzano lungo una traiettoria risultante dal bilancio della forza centripeta e centrifuga:*

$$qvB = \frac{mv^2}{r} \quad \text{or} \quad qB = \frac{mv}{r}$$

Forza centripeta      Forza centrifuga

*Lo ione completa una traiettoria circolare di  $2\pi r$  con una frequenza di:*

$$v = \frac{v}{2\pi r}$$

$v$  velocità  
 $v$  frequenza

*Quindi la velocità angolare risultante è:*  $\omega_c = 2\pi v = \frac{v}{r} = \frac{q}{m} B$

*La frequenza e la velocità angolare, pertanto, dipendono dal rapporto (q/m) e da B, ma sono indipendenti dalla velocità.*

*In pratica gli ioni vengono iniettati nel dispositivo e si trovano immersi in un campo magnetico di 3-9.4 Tesla, prodotto da un magnete superconduttore.*

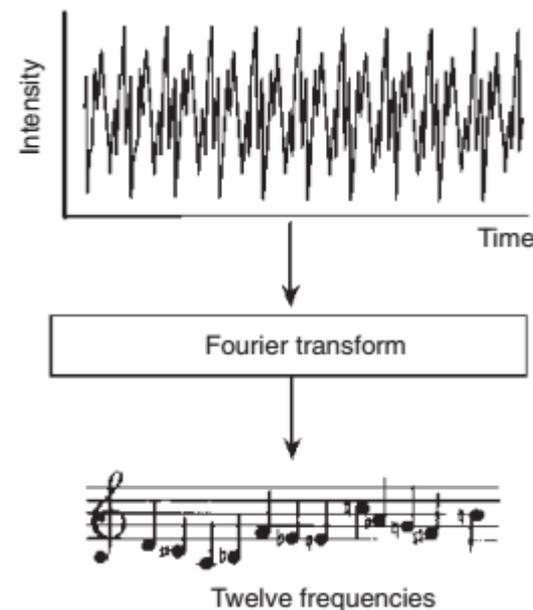
*La relazione tra la frequenza e la massa mostra che in questo caso la determinazione della massa si effettua misurando una frequenza.*

segue →

Per misurare la frequenza degli ioni si utilizza la tecnica della **Trasformata di Fourier** .

**Principio della trasformata di Fourier (FT):**

*l'intensità di un segnale misurata come una funzione tempo-dipendente, è formata dalla sovrapposizione delle singole intensità di ogni frequenza da cui essa è formata. La trasformazione di Fourier consente di individuare le singole frequenze e la loro intensità*



*Nell' analizzatore FT-ICR gli ioni intrappolati nel ciclotrone vengono eccitati simultaneamente da una rapida scansione di un largo intervallo di frequenze (con una corrente alternata AC in radiofrequenza – RF – a voltaggio  $V_0$ ) nel tempo di circa  $1\mu s$ . Gli ioni, eccitati da questa scansione, dispongono la loro traiettoria tutti lungo lo stesso raggio, che dipende da:*

$$r = \frac{V_0 T_{exc}}{B_0}$$

→ tempo di eccitazione  
→ campo magnetico

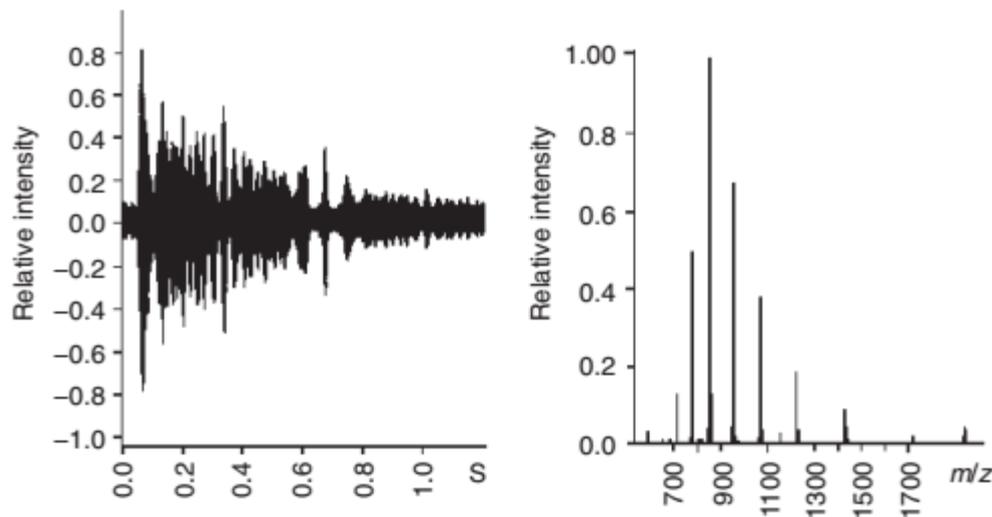
*Il raggio è indipendente da  $m/z$ , invece la frequenza a cui "risuonano" gli ioni nel ciclotrone dipende da  $m/z$ .*

*Quindi dopo l'eccitazione ogni ione avrà una sua frequenza caratteristica, pur ruotando sulla traiettoria di raggio  $r$  assieme agli altri ioni.*

<https://www.youtube.com/watch?v=7EHngA4S3Ws>

segue →

Quindi nel FT-ICR l'intensità del segnale in funzione del tempo viene trasformata in intensità parziali in funzione di  $m/z$



### Vantaggi del FT-ICR:

- *potere risolvete  $R = 10^5$ - $10^6$ ;*
- *accuratezza di misura della massa  $\Delta m = 10^{-4} - 10^{-3} u$ ;*
- *sensibilità fino alle attomoli ( $10^{-18}$  moli) in dipendenza del sistema di ionizzazione accoppiato;*
- *elevato intervallo di  $m/z$  misurabile.*

### Svantaggi del FT-ICR:

- *necessità di magneti superconduttori per ottenere l'intensità di campo magnetico necessaria (quindi necessità di utilizzo di gas criogenici);*
- *necessità di un alto vuoto perfettamente controllato (per evitare collisioni "indesiderate" degli ioni con molecole presenti che possono defasare la frequenza di ioni con stesso  $m/z$ ).*

Una trasformata integrale è un'applicazione, generalmente lineare, di uno spazio di funzioni su un altro spazio di funzioni, realizzata attraverso un integrale.

La trasformata di Fourier permette di scrivere una funzione dipendente dal tempo nel [dominio delle frequenze](#),

<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ed064pA228>

## Fourier transforms for chemists. Part 1. Introduction to the Fourier transform

L. Glasser

*J. Chem. Educ.*, 1987, 64 (10), p A228

DOI: 10.1021/ed064pA228

Publication Date: October 1987

 Cite this: *J. Chem. Educ.* 64, 10, XXX-XXX

 RIS Citation 

## topics in chemical instrumentation

edited by  
FRANK A. SETTLE, JR.  
Virginia Military Institute  
Lexington, VA 24450

### Fourier Transforms for Chemists

Part I. Introduction to the Fourier Transform

L. Glasser

University of the Witwatersrand, 1 Jan Smuts Avenue, Johannesburg 2001, South Africa

Using Mathematical Software To Introduce Fourier Transforms in Physical Chemistry To Develop Improved Understanding of Their Applications in Analytical Chemistry

Tierney C. Miller, John N. Richardson, and Jeb S. Kegerreis\*

*J. Chem. Educ.*, 2016, 93 (2), pp 299–303

DOI: 10.1021/acs.jchemed.5b00493

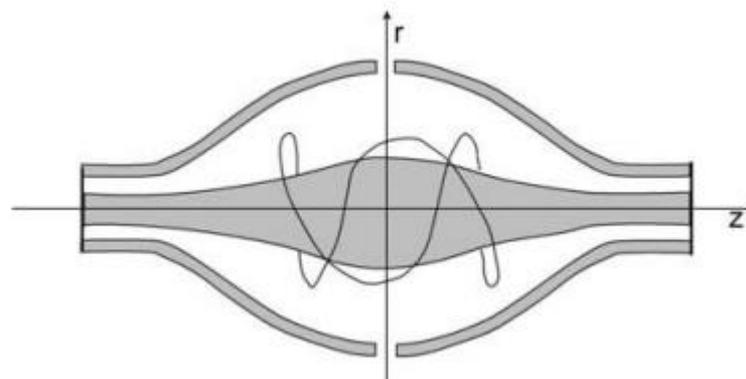
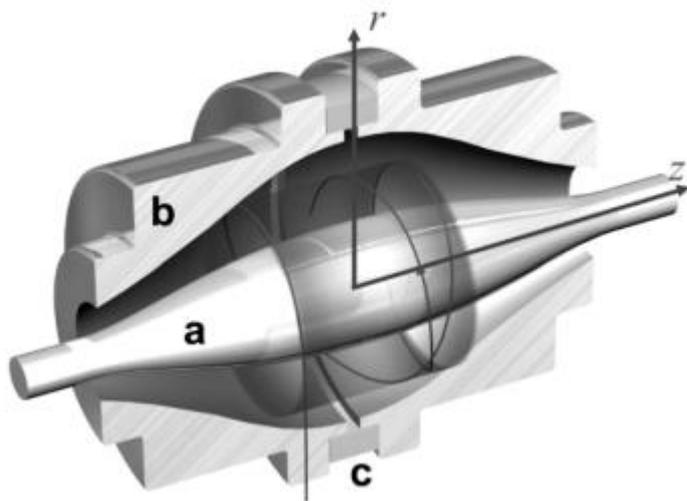
<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jchemed.5b00493>

## Orbitrap

L'Orbitrap è un trappola ionica che sfrutta unicamente un campo elettrostatico (no campo magnetico, no corrente AC in radiofrequenza) per intrappolare gli ioni.

E' formato da due elettrodi "concentrici": l'elettrodo interno è a forma di fuso, l'elettrodo esterno è a forma di botte ed è diviso in due parti mantenute isolate da un anello di ceramica.

Gli ioni che vengono iniettati all'interno, tramite un orifizio nell'anello di ceramica, si muovono in spirali attorno all'elettrodo centrale. Il movimento degli ioni si assesta in traiettorie a spirale indotte dal campo elettrostatico generato applicando una differenza di potenziale tra i due elettrodi.

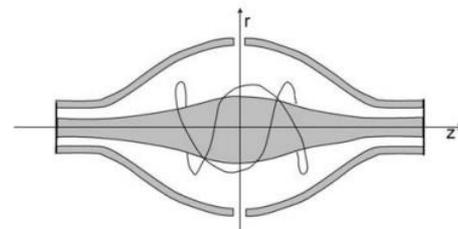


segue →

La traiettoria a spirale ha due componenti: radiale (lungo  $r$ ) e assiale (lungo  $z$ ).

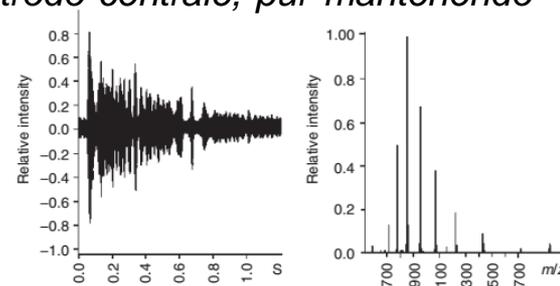
Si può dimostrare che la frequenza di oscillazione assiale è data da:

$$\omega_z = \sqrt{k \left( \frac{q}{m_i} \right)}$$



quindi è inversamente proporzionale alla radice quadrata di  $m/z$  ( $k$  è una costante che ingloba le caratteristiche del campo elettrico dovuto alla particolare forma dei due elettrodi concentrici).

La misura di  $m/z$  dei diversi ioni presenti nella trappola avviene utilizzando la trasformata di Fourier, come per FT-ICR, anche se in questo caso non serve applicare una corrente alternata AC prima della misura, poiché è il campo elettrico che allinea le traiettorie degli ioni alla stessa distanza dall'elettrodo centrale, pur mantenendo frequenza di oscillazione assiale diversa in dipendenza di  $m/z$ .



### Vantaggi dell'Orbitrap:

- non necessita di intensi campi magnetici e correnti alternate (RT) come FT-ICR;
- ha un potere risolvete più alto di FT-ICR a  $m/z > 800$  (mentre FT-ICR ha un potere risolvete più alto di Orbitrap a valori di  $m/z$  più bassi).

## Riassumendo...

**Table 2.1** Types of analysers used in mass spectrometry.

Type of analyser	Symbol	Principle of separation
Electric sector	E or ESA	Kinetic energy
Magnetic sector	B	Momentum
Quadrupole	Q	$m/z$ (trajectory stability)
Ion trap	IT	$m/z$ (resonance frequency)
Time-of-flight	TOF	Velocity (flight time)
Fourier transform ion cyclotron resonance	FTICR	$m/z$ (resonance frequency)
Fourier transform orbitrap	FT-OT	$m/z$ (resonance frequency)

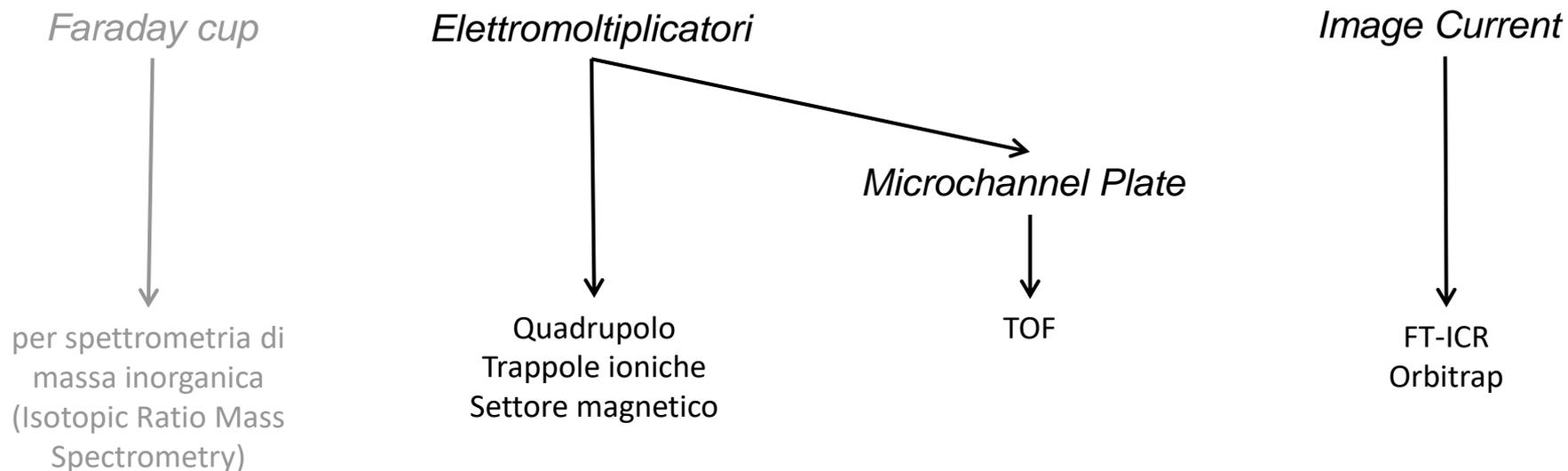
**Table 4.1.** Common mass analyzers

Type	Acronym	Principle
Time-of-flight	TOF	Time dispersion of a pulsed ion beam; separation by time-of-flight
Magnetic sector	B	Deflection of a continuous ion beam; separation by momentum in magnetic field due to Lorentz force
Linear quadrupole	Q	Continuous ion beam in linear radio frequency quadrupole field; separation due to instability of ion trajectories
Linear quadrupole ion trap	LIT	Continuous ion beam delivers ions for trapping; storage, and eventually separation in linear radio frequency quadrupole field by resonant excitation
Quadrupole ion trap	QIT	Trapped ions; separation in three-dimensional radio frequency quadrupole field by resonant excitation
Fourier transform-ion cyclotron resonance	FT-ICR	Trapped ions in magnetic field (Lorentz force); separation by cyclotron frequency, image current detection and Fourier transformation of transient signal
Orbitrap	orbitrap	Axial oscillation in inhomogeneous electric field; detection of frequency after Fourier transformation of transient signal

## Detector (o rivelatori)

*I detector sono dispositivi che sono in grado di convertire la corrente di ioni in uscita dall'analizzatore in una corrente elettrica proporzionale all'abbondanza degli ioni.*

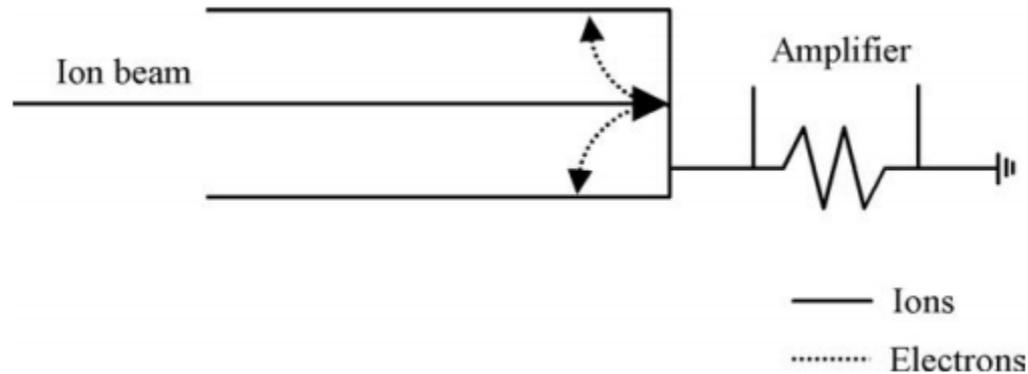
*Esistono diversi tipi di detector, tutti sono basati sulla rivelazione della massa e/o della carica e/o della velocità degli ioni. Il detector, in genere, viene scelto in base alle caratteristiche dell'analizzatore presente nello strumento o comunque in base all'assetto strumentale complessivo. Sotto vengono illustrati gli accoppiamenti più diffusi:*



## Faraday cup

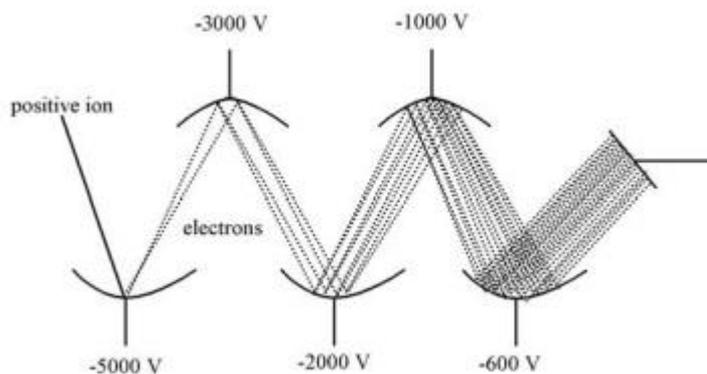
La coppa di Faraday è il primo e più semplice detector applicato agli spettrometri di massa. E' formata da una coppa o un cilindro di metallo con un piccolo orifizio per l'ingresso degli ioni. Gli ioni che entrano nella coppa vengono neutralizzati quando collidono con le pareti donando o acquisendo un elettrone (a seconda del segno della loro carica). Queste collisioni generano una corrente nel resistore che viene amplificata. E' un dispositivo con bassa sensibilità e un tempo di risposta lento.

Le sua applicazione è al giorno d'oggi è limitata alla misura di differenze isotopiche di alcune specie atomiche con alta accuratezza (es.  $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ )

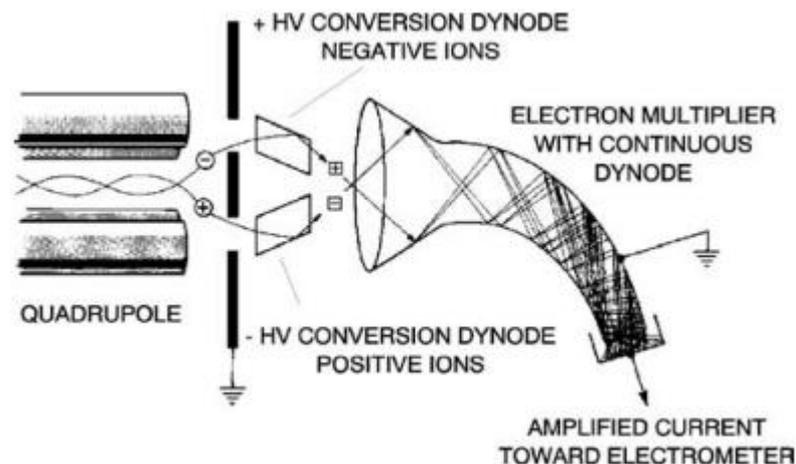


## Elettromoltiplicatori (EM)

Sono i detector al giorno d'oggi più utilizzati in spettrometria di massa. In questi detector gli ioni che provengono dall'analizzatore vengono accelerati ad alta velocità all'interno di un elettrodo a serie di dinodi, in cui viene mantenuto un potenziale di 3-30 kV di segno opposto rispetto alla carica degli ioni. Uno ione che impatta con un dinodo produce una serie di particelle secondarie (elettroni) che continuano a moltiplicarsi lungo tutta la serie di dinodi, amplificando il segnale. Gli EM possono essere a serie di dinodi discreta (con 12-20 dinodi) o costituiti da un unico dinodo (elettromoltiplicatore a dinodo continuo), il secondo ha un potere di amplificazione maggiore del primo.



EM a serie discreta di dinodi



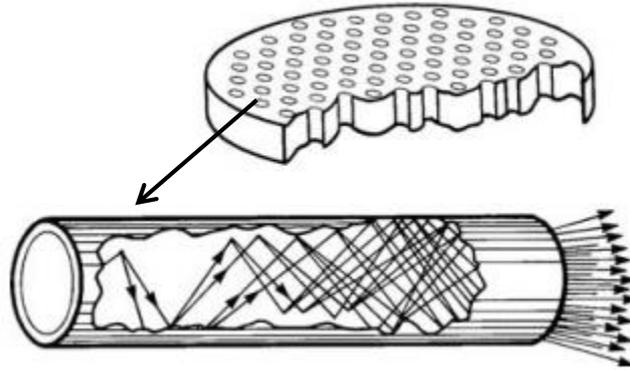
EM a dinodo continuo ricurvo

segue →

## Microchannel plate

*E' composto da un array di dinodi continui lineari, può moltiplicare il numero di elettroni nell' ordine di  $10^2 - 10^4$ .*

*E' possibile predisporre più microchannel plates in serie per raggiungere amplificazioni fino a  $10^8$ .*

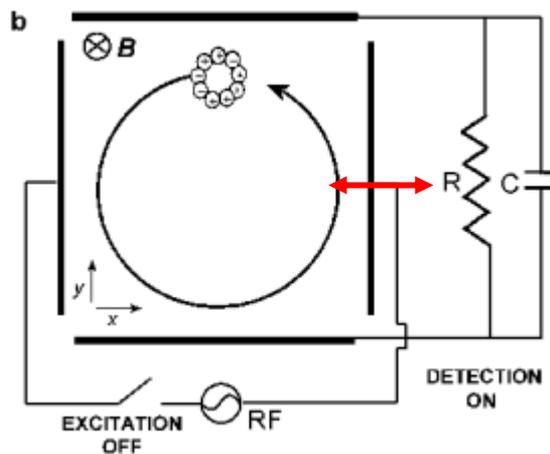


*Questo detector è caratterizzato da una risposta molto veloce poiché il percorso degli elettroni nei canali è molto breve (la lunghezza di ogni microcanale è di pochi millimetri). Quindi è ottimale per essere accoppiato con analizzatori TOF in cui gli ioni arrivano al detector con intervalli temporali di decine o centinaia di ns.*

## Image Current

Questo detector viene utilizzato in accoppiata con FT-ICR e Orbitrap.

Esso consiste in una coppia di placche di metallo (plates), che fungono da elettrodi, poste all'interno dell'analizzatore molto vicino alle traiettorie percorse dagli ioni. Una nube di ioni in movimento ripetitivamente attrae (se ioni positivi) o respinge (se ioni negativi) gli elettroni dell'elettrodo a cui si avvicina inducendo negli elettrodi una piccolissima corrente (corrente immagine) che poi viene amplificata e trasformata in un voltaggio.

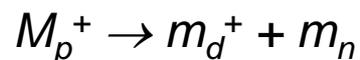


Rivelazione della corrente immagine in un FT-ICR



## Spettrometria di Massa Tandem (MS/MS)

- Negli studi sulla struttura delle molecole, spesso **si vogliono maggiori informazioni sugli ioni generati nel processo di ionizzazione**. Ciò vale in particolare per le ionizzazioni “soft”.
- Un aumento dell'energia interna di uno ione generato con una ionizzazione soft, porterà alla frammentazione di questi ioni.
- Si può ottenere ciò in diversi modi; ad esempio con attivazione per collisione con molecole di gas neutro (**collision-induced dissociation, CID**), mentre altri approcci prevedono la foto-dissociazione indotta da laser o da superfici.
- A seguito dell'aumento di energia interna, si ha frammentazione unimolecolare



$M_p^+$  è lo ione precursore,  $m_d^+$  lo ione prodotto e  $m_n$  rappresenta molecole neutre. Avviene fuori dalla sorgente di ioni. Alcuni frammenti si formano nella sorgente, altri nel percorso accelerato verso il detector (processo probabilistico)

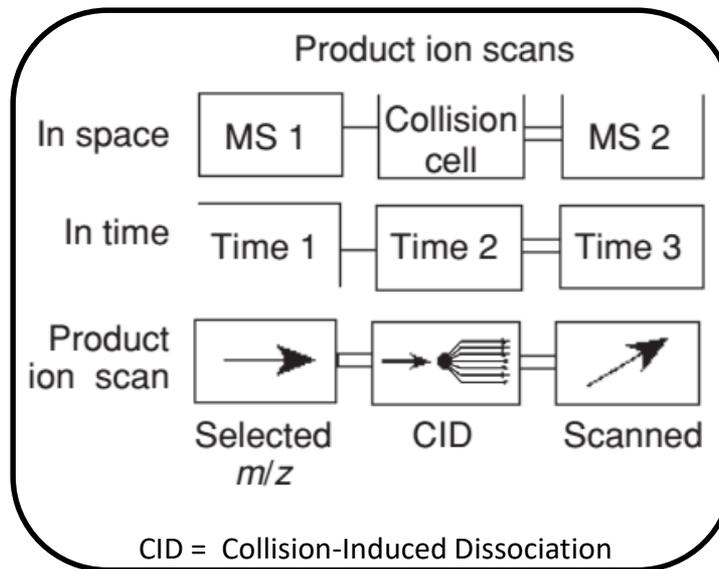
segue →

**La spettrometria di massa Tandem (o MS/MS) comprende le numerose tecniche in cui ioni selezionati secondo determinati  $m/z$  vengono sottoposti ad una seconda analisi in spettrometria di massa.**

Uno spettrometro di massa tandem incorpora almeno due stadi di analisi di  $m/z$ , di solito denominate MS1 e MS2.

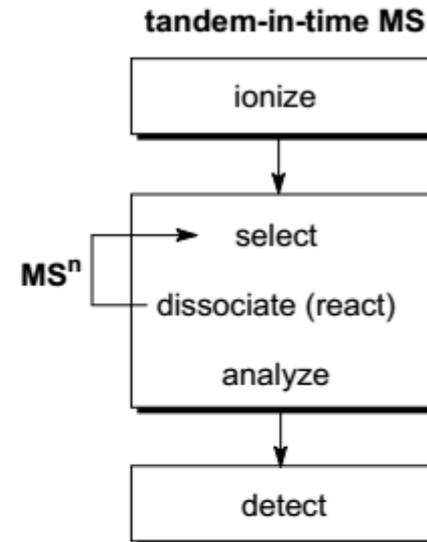
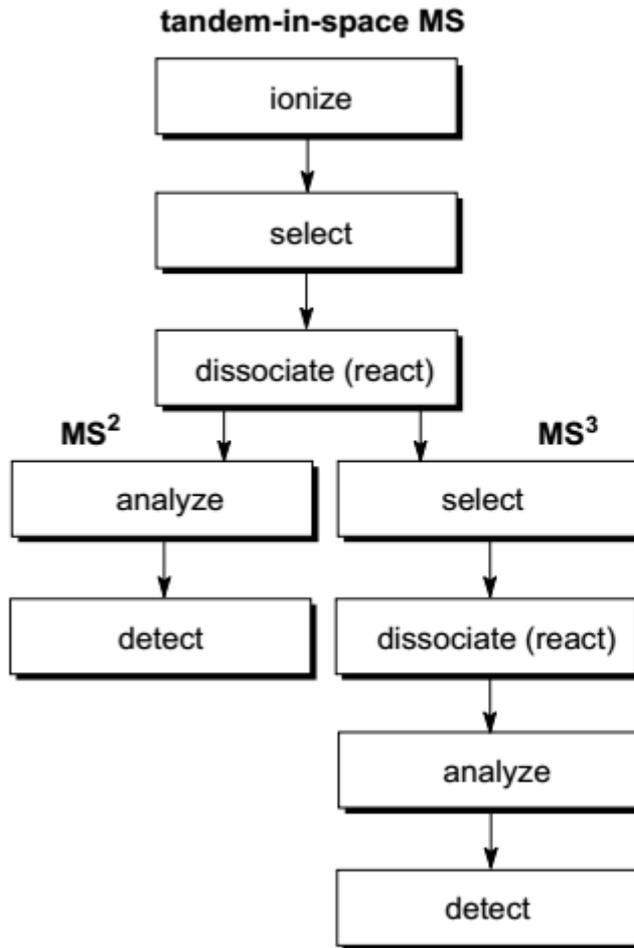
Uno strumento MS/MS può essere costruito secondo due diversi design : la "**MS/MS nello spazio**" o la "**MS/MS nel tempo**".

Nella **MS/MS nello spazio** gli spettri di ioni vengono registrati utilizzando due analizzatori di massa posti in serie. Nel primo analizzatore vengono selezionati alcuni ioni con determinati  $m/z$  che vengono poi dissociati in un comparto successivo dello strumento e i prodotti vengono analizzati dal secondo analizzatore per ottenere lo spettro.



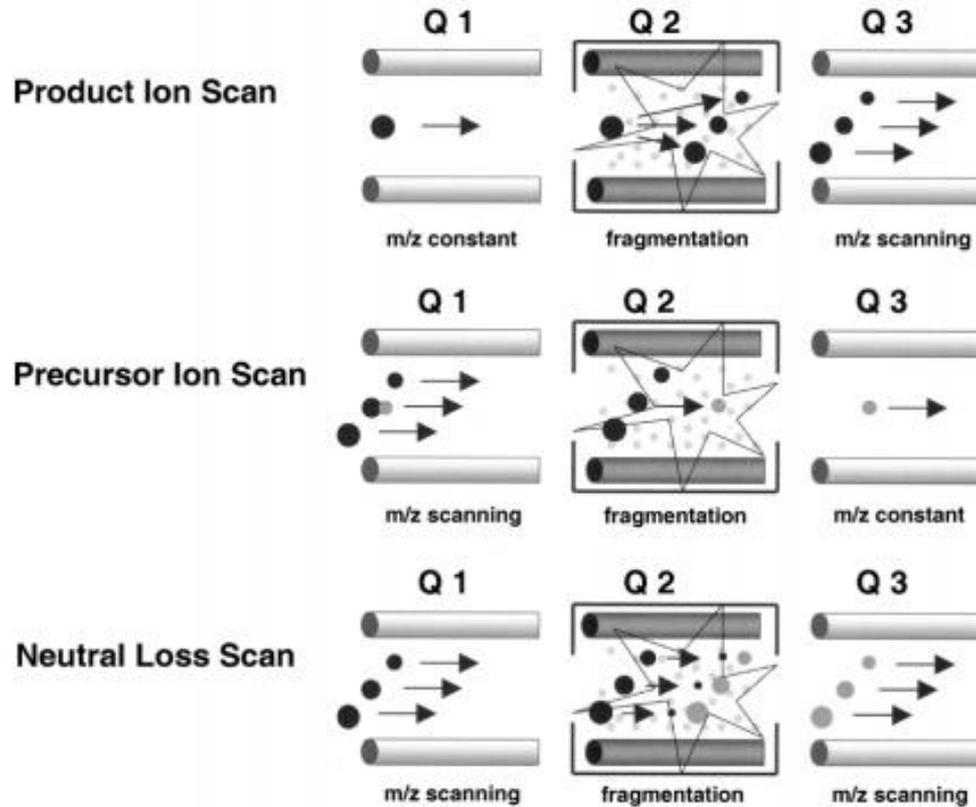
Nella **MS/MS nel tempo** si utilizza un unico analizzatore di massa che può operare per passaggi successivi di selezione di ioni, attivazione e analisi dei prodotti di ionizzazione nello stesso comparto dello strumento ma in sequenza nel tempo.

segue →



segue →

# Tripli quadrupoli (QqQ)

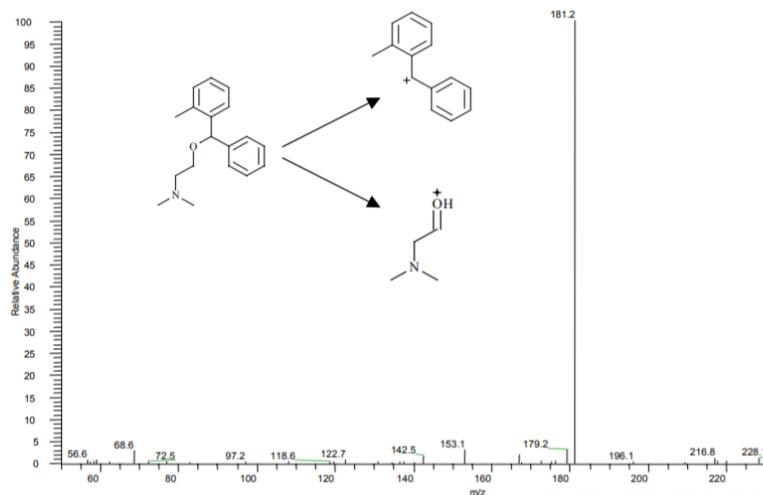


Possibili processi di frammentazione/analisi nel QqQ

# Full Scan Product Ion

Q1 is set to allow only the transmission of Orphenadrine m/z 269

Q3 is scanned between 50 to 268 amu - qualitative information



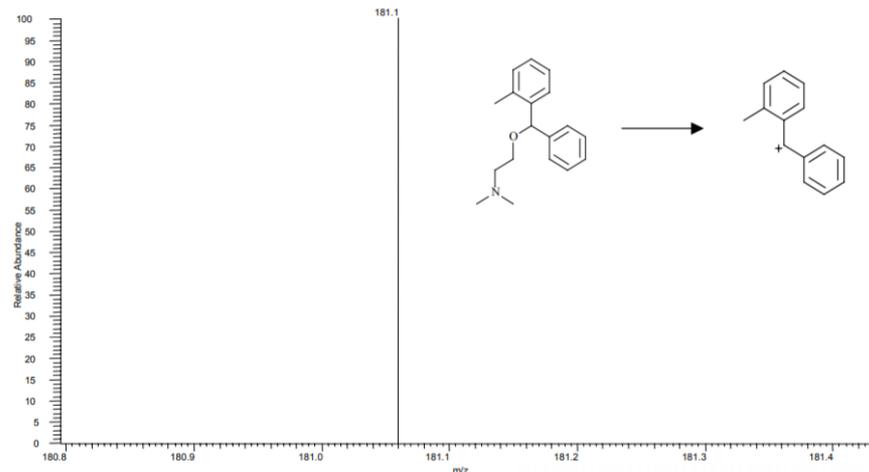
[https://www.enovatia.com/wp-content/uploads/2009/07/Scan\\_types.pdf](https://www.enovatia.com/wp-content/uploads/2009/07/Scan_types.pdf)

## SRM Product Ion Scan

Q1 is set to allow only the transmission of Orphenadrine m/z 269.9

Q3 is scanned only to detect m/z 181.1 +/- 0.3

SRM provides best selectivity and signal to noise ratio for quantitation

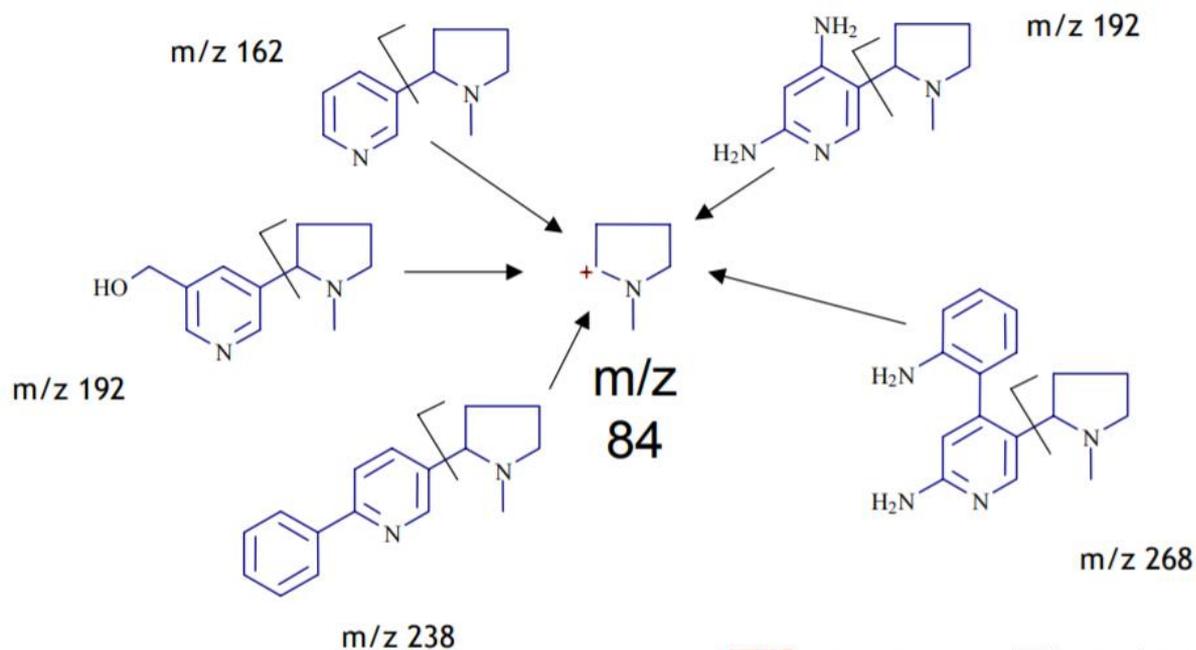


Product ion scans also know as daughter ion scans

- Q1 is set to allow only the transmission of one m/z
- The parent ion collides with Argon gas in Q2 to create fragment or product ions
- Product ions are scanned through Q3

# Precursor ion scans

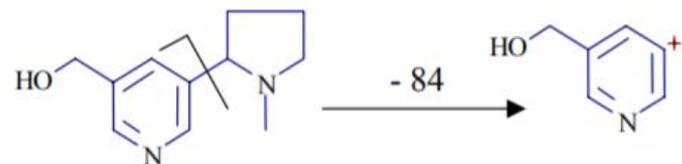
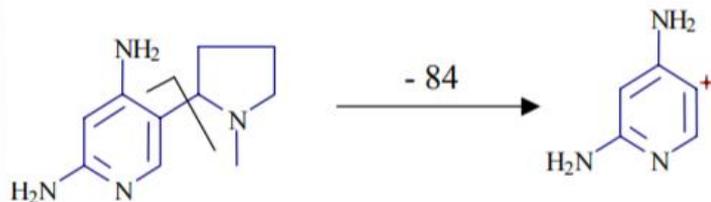
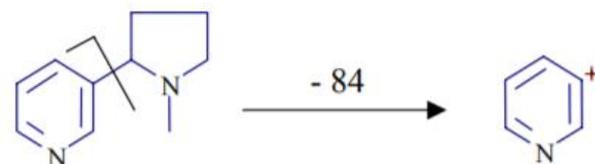
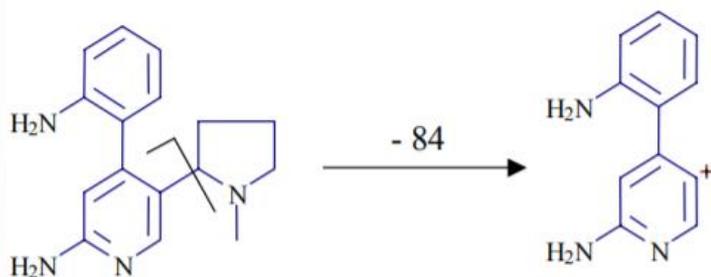
Precursor ion scans are used for screening experiments where a group of compounds all give the same fragment ion



**Thermo**Finnigan

# Neutral loss scans

Neutral loss scans are used for screening experiments where a group of compounds all give the same loss

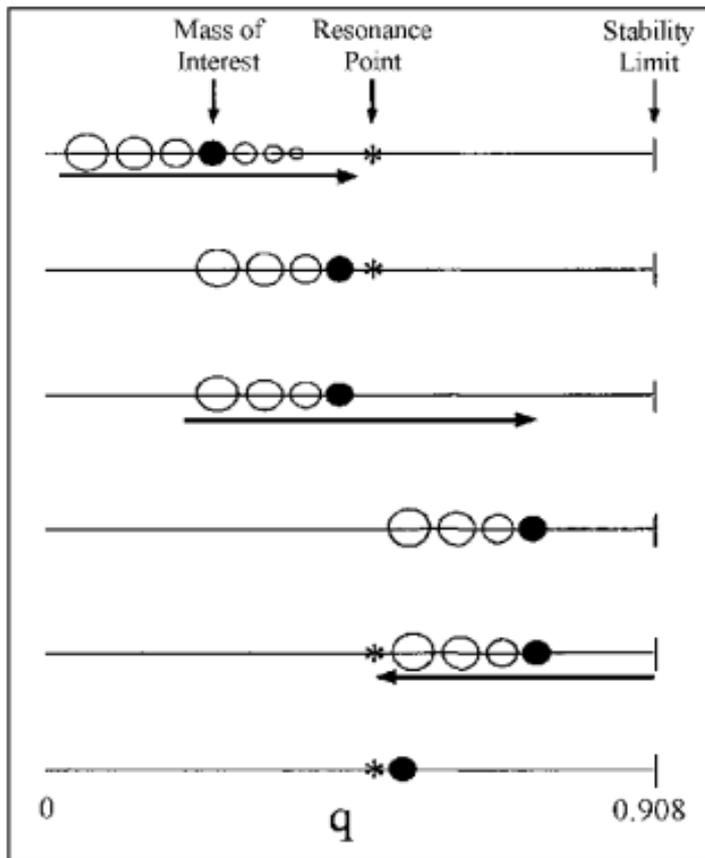


**Thermo**Finnigan

## MS/MS con trappola ionica (QIT)

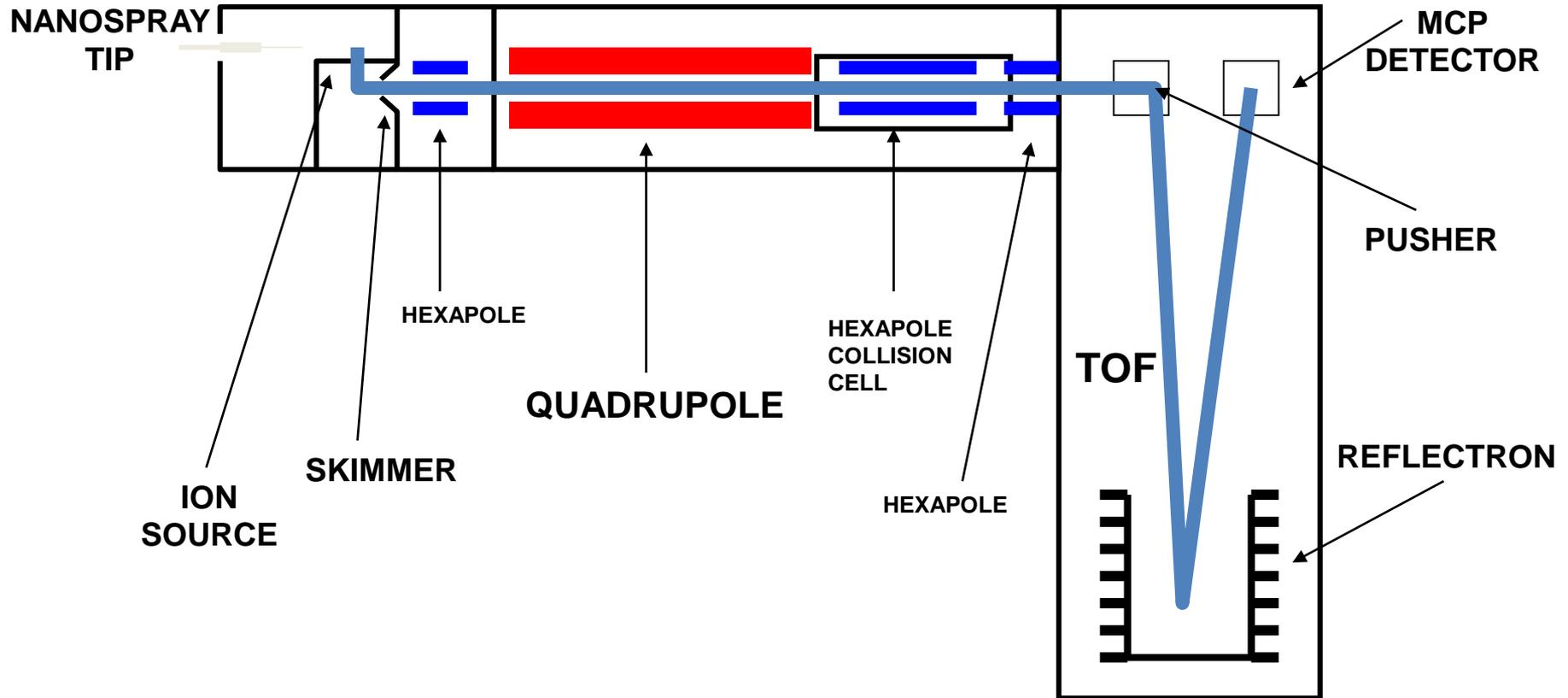
*In pratica la trappola trattiene alcuni ioni espellendo gli ioni che non sono di interesse.*

*Gli ioni rimasti vengono poi "attivati" per indurre la frammentazione e quindi espulsi in sequenza verso il detector.*

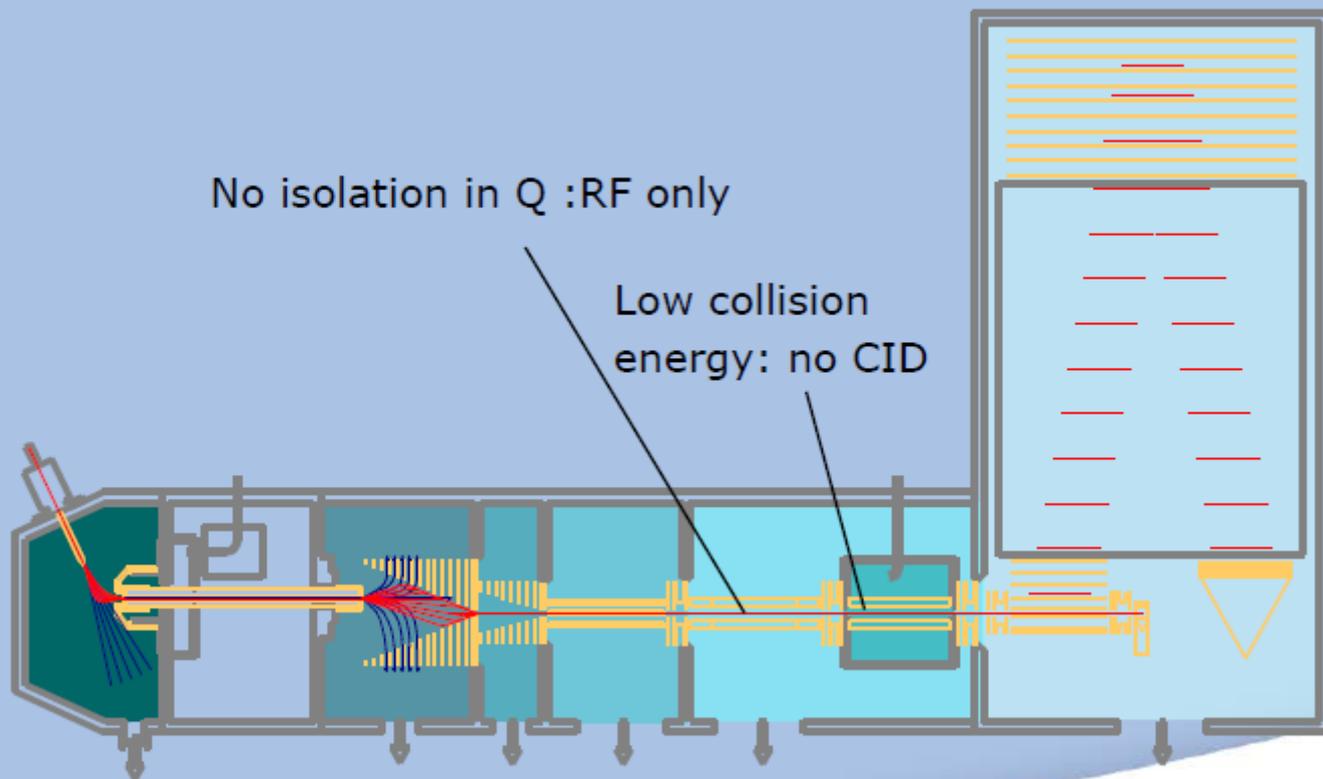


**Fig. 9.19.** The principle of isolation of a precursor ion by using forward and reverse scanning of a QIT. Ions smaller than the precursor are ejected by exciting them above the stability limit at  $q = 0.908$ , then settings are changed so that reduction of the RF amplitude causes ejection of the heavier ions. Reproduced from Ref. [106] with permission. © John Wiley & Sons, 1992.

# Quadrupolo-TOF (QTOF)

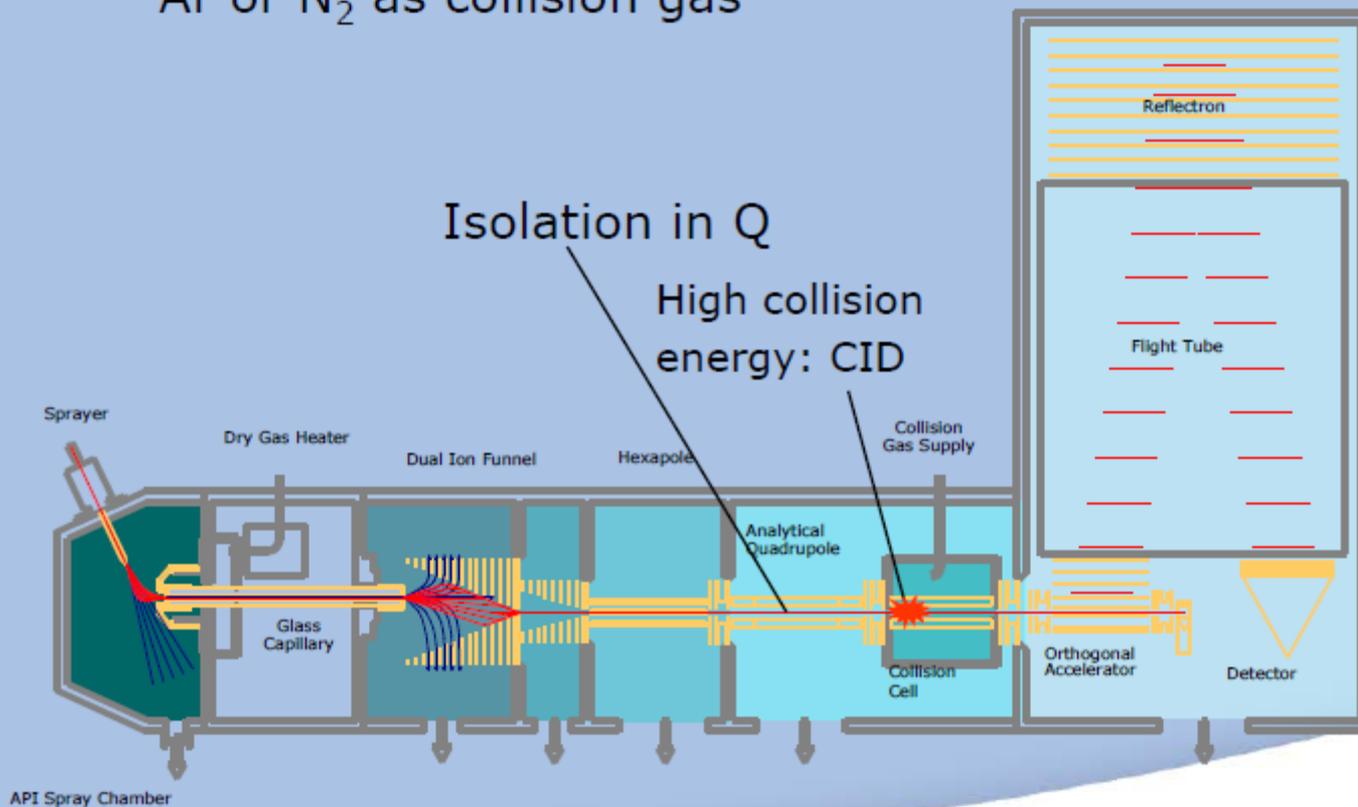


## microOTOF Q in MS mode



# MicrOTOF Q MSMS mode

Ar or N<sub>2</sub> as collision gas

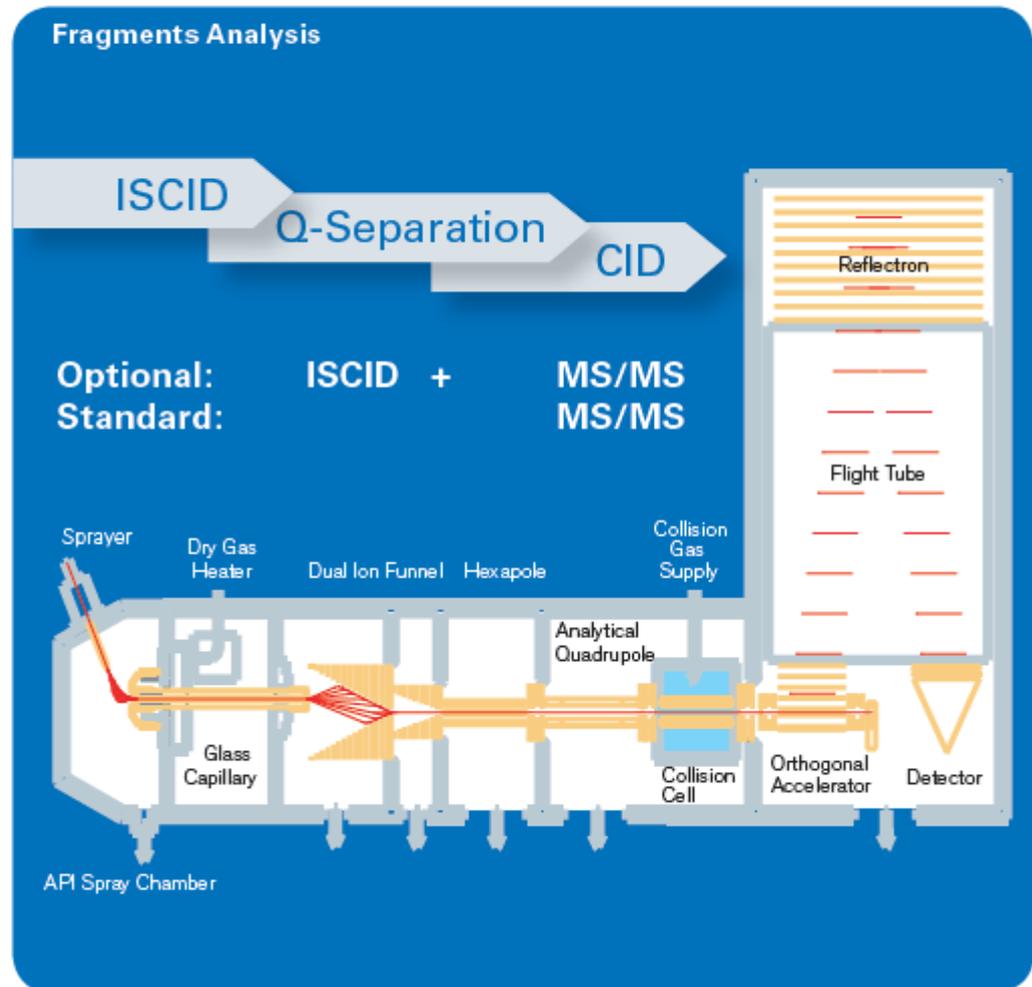


# Ultimate Performance with Superiour Detection Power

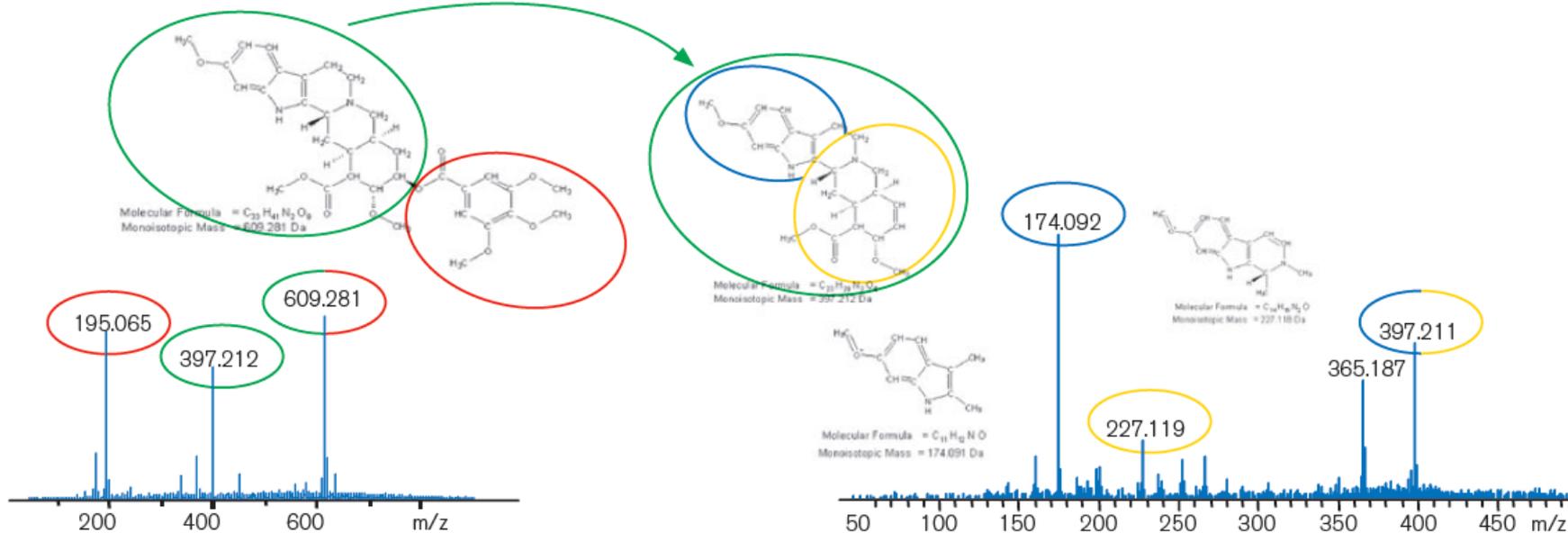
## Fragments Analysis

The micrOTOF-Q provides exceptional mass accuracy in MS/MS for metabolite and protein identification.

Achieve optional additional fragmentation performance with a source designed for ion fragmentation prior to the quadrupole (In-Source CID). After isolation in the analytical quadrupole, the ISCID fragments can be further fragmented in the collision cell (CID).



## MS<sup>3</sup> with the microTOF-Q



Reserpine: In-Source CID,  
Isolation of ISCID ions and  
fragmentation: MS<sup>3</sup>.

x 279 mm

alcaloide indolico con attività antipertensiva e  
antipsicotica

**Table 4.1.** Common mass analyzers

Type	Acronym	Principle
Time-of-flight	TOF	Time dispersion of a pulsed ion beam; separation by time-of-flight
Magnetic sector	B	Deflection of a continuous ion beam; separation by momentum in magnetic field due to Lorentz force
Linear quadrupole	Q	Continuous ion beam in linear radio frequency quadrupole field; separation due to instability of ion trajectories
Linear quadrupole ion trap	LIT	Continuous ion beam delivers ions for trapping; storage, and eventually separation in linear radio frequency quadrupole field by resonant excitation
Quadrupole ion trap	QIT	Trapped ions; separation in three-dimensional radio frequency quadrupole field by resonant excitation
Fourier transform-ion cyclotron resonance	FT-ICR	Trapped ions in magnetic field (Lorentz force); separation by cyclotron frequency, image current detection and Fourier transformation of transient signal
Orbitrap	orbitrap	Axial oscillation in inhomogeneous electric field; detection of frequency after Fourier transformation of transient signal

**ThermoFisher SCIENTIFIC**

## Orbitrap Instrumentation: the First Decade and Beyond

Alexander Makarov  
April 24, 2015

"Orbitrap and Science: 10 years together"

The world leader in serving science

making connections winning together

0:03 / 31:33

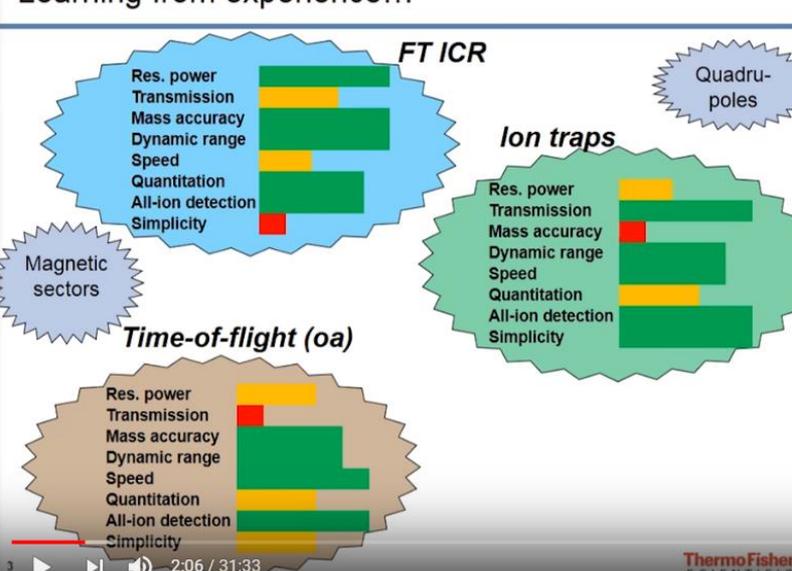


**Alexander Makarov, PhD**  
Director of Global Research LSMS  
Thermo Fisher Scientific

**ThermoFisher SCIENTIFIC**

Un webinar  
<https://www.youtube.com/watch?v=jijxTW1NbTg>

### Learning from experience...



Metric	FT ICR	Ion traps	Time-of-flight (oa)
Res. power	High	Low	Low
Transmission	High	Low	Low
Mass accuracy	High	Low	Low
Dynamic range	High	High	High
Speed	High	High	High
Quantitation	High	High	High
All-ion detection	High	High	High
Simplicity	Low	High	High

**FT ICR** (Magnetic sectors)

**Ion traps** (Quadrupoles)

**Time-of-flight (oa)**

3 2:06 / 31:33

**ThermoFisher SCIENTIFIC**



**Alexander Makarov, PhD**  
Director of Global Research LSMS  
Thermo Fisher Scientific

**ThermoFisher SCIENTIFIC**

