

Spettrometria di massa

(J. B. Fenn, K. Tanaka, K. Wüthrich, premio nobel per la chimica nel 2002)

Analisi chimica dell'aerosol
Riconoscimento di inquinanti di tipo chimico/sostanze chimiche nell'ambiente
(idrocarburi policiclici aromatici)

Individuazione della presenza di metalli pesanti

Riconoscimento di isotopi radioattivi (→ datazione)
Determinazione della massa / identificazione delle proteine



Schema generale

Obiettivo: riuscire a "pesare" atomi e/o la cui massa va da alcune UMA a migliaia di UMA

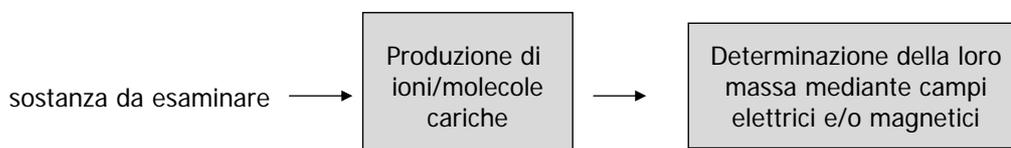
La sensibilità delle bilance non permette di rilevare sostanze con una massa così piccola; se però, invece di avere a disposizione atomi e/o molecole neutre avessimo a disposizione degli ioni, potremmo agire su di essi con dei campi elettrici/magnetici per alterare il loro moto e determinarne la massa.

Si sfrutta il fatto che:

- una particella carica viene attirata/respinta da un campo elettrico
- un campo magnetico altera la traiettoria di una particella carica in movimento

La risoluzione dello strumento determinerà la minima differenza di massa rilevabile

La sensibilità della tecnica permette di rivelare concentrazioni inferiori al ppm



La produzione di ioni

Ionizzazione indotta da elettroni (max 800 UMA)
(come nel caso delle radiazioni ionizzanti)
Ferrara - fisica

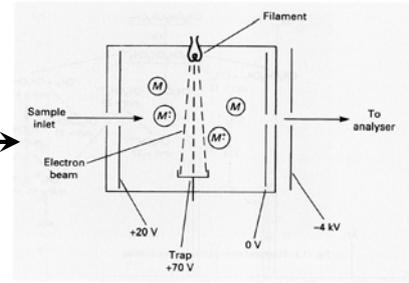
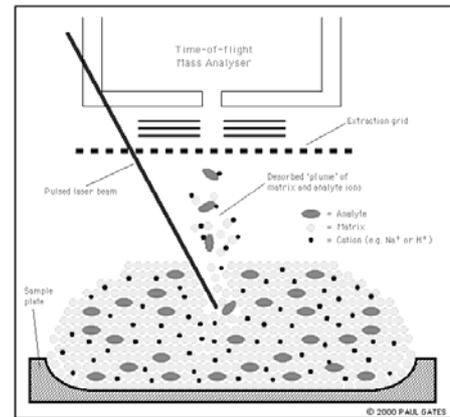


Fig. 11.3. Electron impact ionisation source.

Ionizzazione indotta da bombardamento con atomi veloci (FAB)
(max 5000 UMA)

Ionizzazione Chimica (CH4)

MALDI (matrix assisted laser desorption ionisation) fino a 300 kUMA
Ferrara - chimica



La separazione degli ioni in funzione della loro massa

Analizzatore magnetico

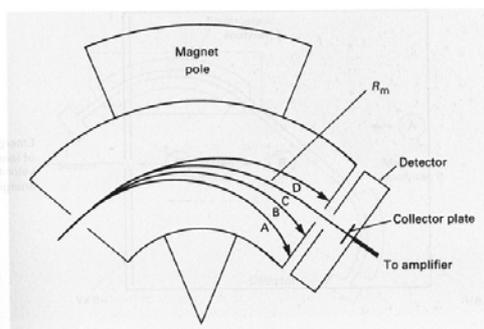
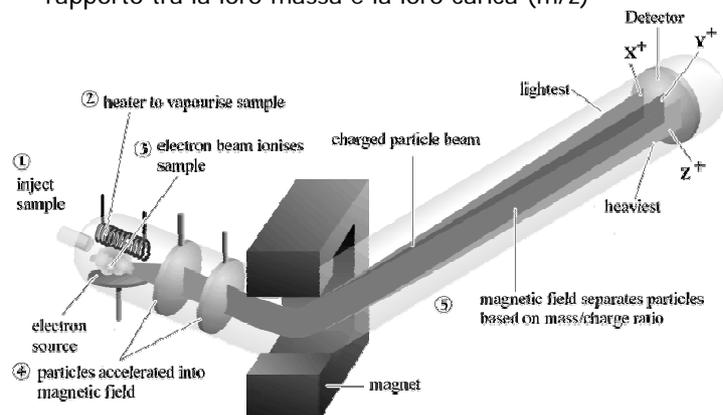


Fig. 11.25. Representative of ion generation between acceleration plates. Only ions following a trajectory of radius R_m will be focused. A, B and D are currently defocused. By altering the field, other ions can be forced to travel along R_m and be focused.

$$\left(\frac{m}{q}\right) = \frac{R^2 B^2}{2E_{acc} d}$$

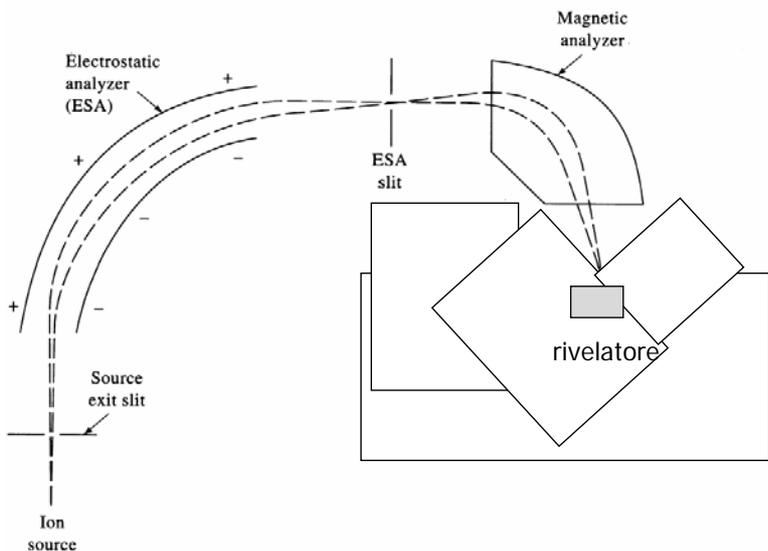
Separa in base al rapporto m/z ; in generale, gli ioni che hanno la stessa massa non escono tutti con la stessa energia, c'è una dispersione in E_{acc} d

La traiettoria delle particelle viene deflessa a causa della presenza del campo magnetico. Fissato il valore di B , la forza dipende solo dalla velocità che, a sua volta, è legata alla massa degli ioni
→ la deflessione dipende dalla massa delle sostanze che entrano nel selettore
→ cambiando B si selezionano ioni in funzione del rapporto tra la loro massa e la loro carica (m/z)



La separazione degli ioni in funzione della loro massa

Analizzatore magnetico & elettrostatico



Con uno spettrometro dotato di doppio analizzatore si raggiungono risoluzioni in massa dell'ordine di 100000



Si riesce a distinguere una molecola di massa pari a 100000 UMA da una di massa 100001 UMA

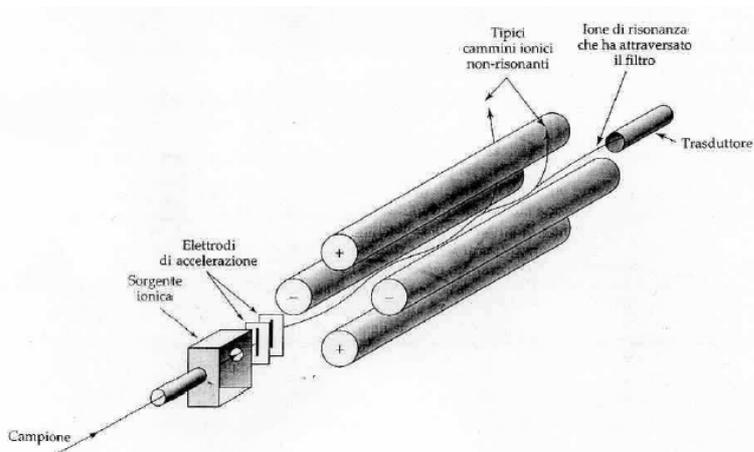
Gli strumenti a doppio analizzatore sono generalmente costosi

$$R = \frac{2E_{acc}d}{E}$$

Fa passare solo gli ioni che hanno una data energia; se di seguito si pone un analizzatore magnetico, quest'ultimo si occupa di separare gli ioni in funzione della massa (e non dell'energia).

La separazione degli ioni in funzione della loro massa

Analizzatore a quadrupolo (Ferrara - fisica)



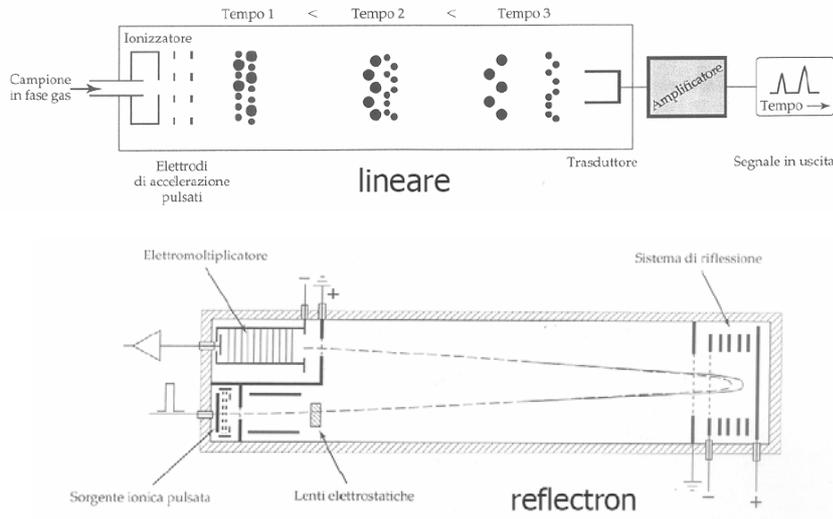
Questo tipo di analizzatore è di norma più compatto e ha costi più contenuti di quello formato dal doppio analizzatore.

La risoluzione, però, è inferiore (2000) ed il range di masse rivelabili si estende fino a circa 4000 UMA.

La separazione degli ioni in funzione della loro massa

Analizzatore a tempo di volo (TOF) (Ferrara – chimica)

Le particelle più pesanti impiegano un tempo maggiore, rispetto a quelle leggere, per percorrere la medesima distanza



Il range di masse analizzabili non ha virtualmente limiti superiori; la risoluzione raggiunge un valore di 12000

Risoluzione

Se, al meglio delle condizioni di lavoro, lo strumento riesce a distinguere la massa m_1 dalla massa m_2

$$R = \frac{1}{2} \frac{(m_1 + m_2)}{m_1 - m_2}$$

Fissata la risoluzione, riesco a distinguere il contributo dato, ad esempio, dalla presenza di diversi isotopi per valori di massa in UMA pari a circa R

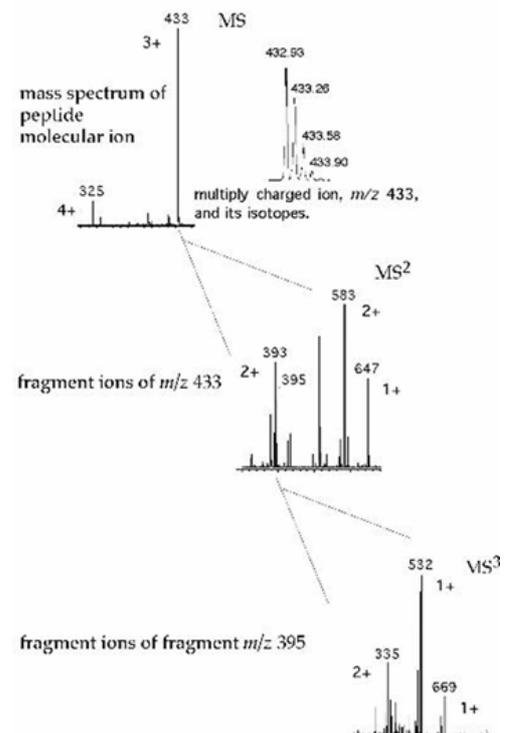
$$R = 1000$$

- distinguo 1001 da 1000
- distinguo 4004 da 4000

Fissata la risoluzione, la capacità di distinguere una massa da una simile aumenta al diminuire del valore della massa.

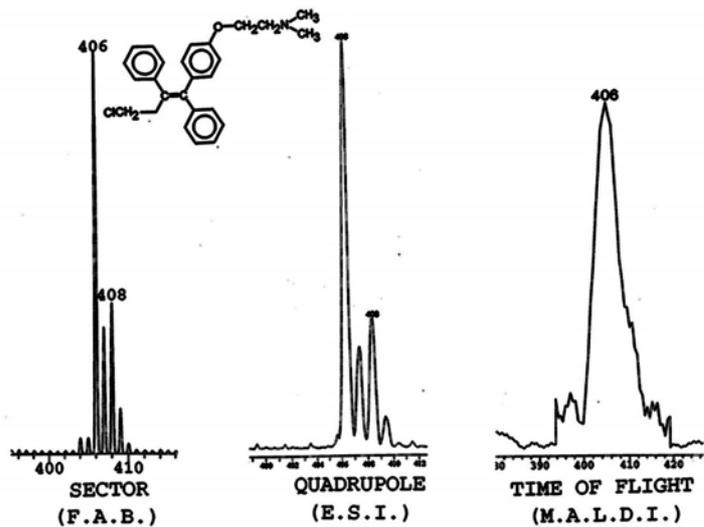
Tandem mass spectroscopy

Per migliorare la capacità di distinguere i vari frammenti tra loro, i frammenti prodotti dallo spettrometro vengono analizzati in più stadi



<http://msms.cmb.usc.edu/tutorial.html>

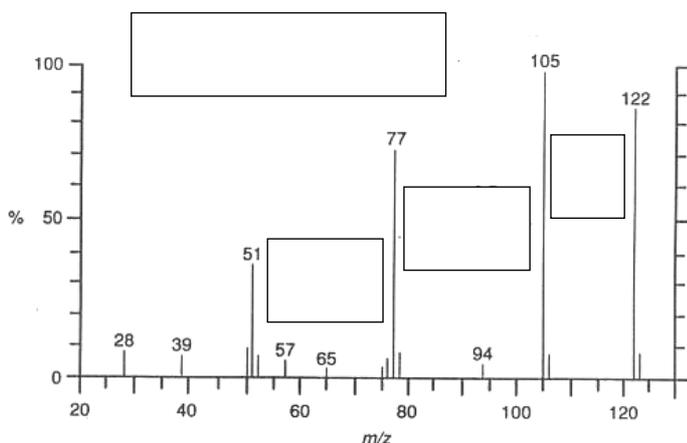
Effetto della risoluzione sul segnale rivelato dallo strumento



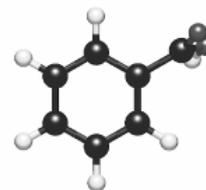
Il segnale che si misura utilizzando lo spettrometro di massa fornisce informazioni dirette sulla massa dei frammenti in cui è stata scomposta la molecola originale, NON sulla molecola stessa

Alta risoluzione → Bassa risoluzione

Determinazione della massa delle molecole inserite nello spettrometro



acido benzoico



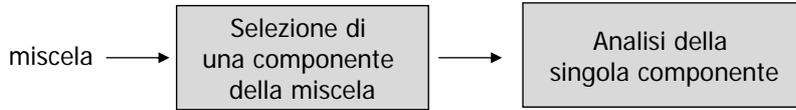
La situazione si complica ulteriormente all'aumentare della massa della molecola considerata.

Fissato il tipo di molecola, però, la probabilità che si producano certi tipi di frammenti piuttosto che altri è nota; grazie a questo fenomeno, è possibile effettuare la ricostruzione della massa della molecola originale a partire dallo spettro di massa dei suoi frammenti (esistono appositi database per questo).

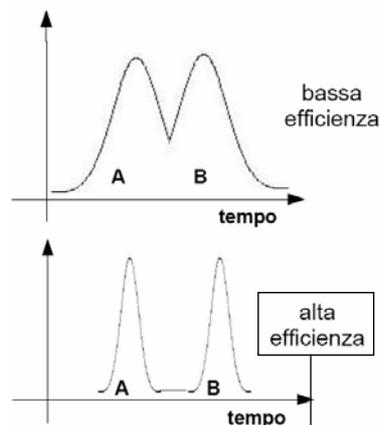
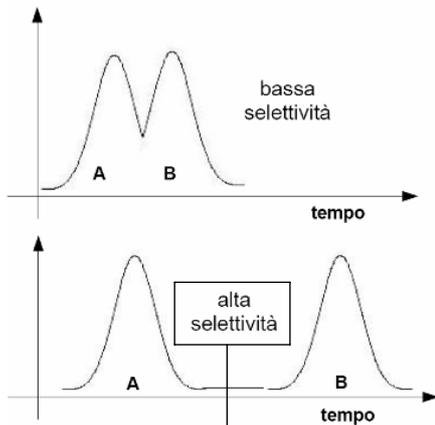
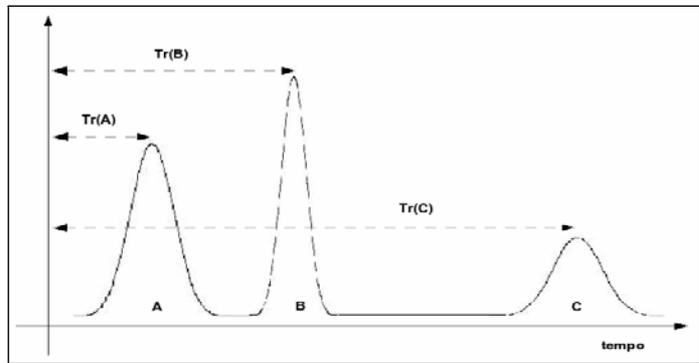
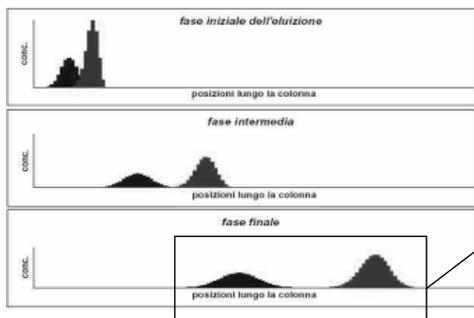
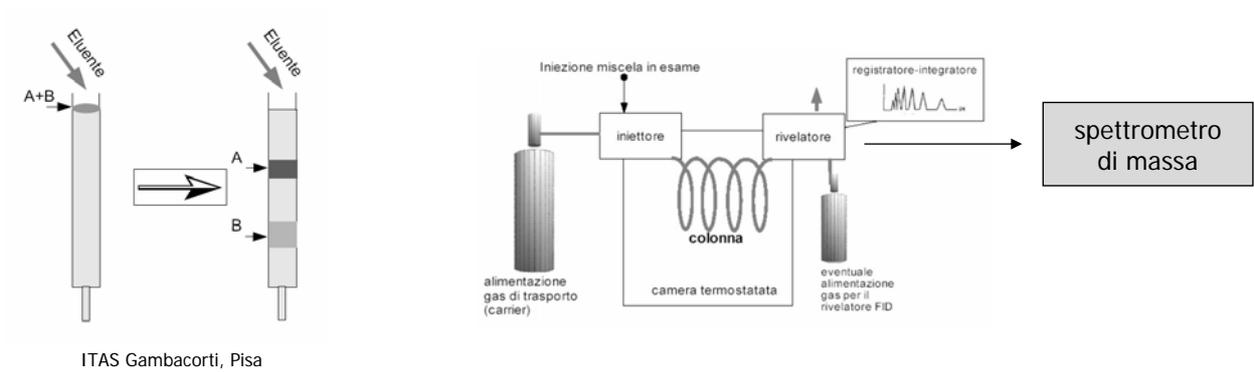
m/z	Ion	Chemical Structure
122	M ⁺	<chem>O=C(O)c1ccccc1</chem>
105	(M-OH) ⁺	<chem>[O+]=C(O)c1ccccc1</chem>
77	(M-OH-CO) ⁺	<chem>c1ccccc1[CH+]</chem>
51	(M-OH-CO-C ₂ H ₂) ⁺	<chem>C#CC[CH+]</chem>

Nel caso in cui, invece di una sostanza monocomponente, venisse introdotta nello spettrometro di massa una miscela, all'uscita dell'analizzatore di massa si verrebbero a trovare i frammenti di tutte le sostanze presenti nella miscela; risulterebbe quindi molto difficile risalire alla massa dei componenti della miscela a partire dallo spettro di massa dei frammenti di ciascuna componente

→ utilizzare 2 spettrometri di massa, uno dopo l'altro



→ affiancare allo spettrometro di massa un gas-cromatografo



caratteristiche adatte per una successiva analisi spettrometrica