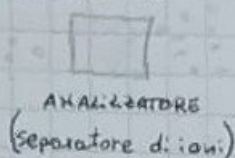
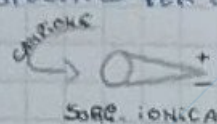


18

SPETTROMETRIA DI MASSA (MS)

CONSISTE IN UN INSIEME DI TECNICHE ANALITICHE CHE CONSENTONO DI MISURARE LE MASSE MOLECOLARI E QUINDI DI DETERMINARE LA FORMULA DI STRUTTURA DI COMPOSTI SCONOSCIUTI, ANCHE AVENDO A DISPOSIZIONE PICCOLE QUANTITÀ. PERÒ UNA MOLECOLA PER POTER ESSERE OSSERVATA E MISURATA NEGLIE SUE PROPRIETÀ DI MASSA, DEVE ESSERE PRIMA IONIZZATA (alcune sono cariche di natura \Rightarrow mantengono la carica; altre sono di natura neutra \Rightarrow vengono caricate tramite una sorgente ionica). LA SEPARAZIONE DELLE MOLECOLE IN UNA MISCELA CON MS SI BASA SUL RAPPORTO MASSA/CARICA CHE È SPECIFICO PER OGNI COMPOSTO.



LA SORG. IONICA PRODUCE CARICHE " $+$ " E " $-$ ".
LA NATURA CHIMICA DELLA MOLECOLA DETERMINA SE SI CARICHERÀ POSIT. O NEG. (o perderà parte).

- LE INFORMAZIONI ANALITICHE CHE SI POSSONO AVERE TRAMITE MS SONO SIA:
- QUALITATIVE \rightarrow struttura di specie molecolari complesse; composizione di una miscela; purezza di un picco cromatografico.
 - QUANTITATIVE \rightarrow concentrazione (numeri) dei componenti di una miscela. Per info quantitative bisogna costruire rete di taratura almeno per ogni classe di analiti presenti nella miscela.

A DIFFERENZA DELLE TECNICHE SPETTROSCOPICHE, ESSA È UN METODO D'ANALISI **DISTRUTTIVO**, QUINDI LA MOLECOLA NON RIMANE INTATTA DOPO L'ANALISI.

\rightarrow Determinazione della struttura e del peso molecolare...

UNO SPETTRO DI MASSA ED IN PARTICOLARE LA LOCALIZZAZIONE DEL PICCO MOLECOLARE CONSENTE DI AVERE IL PESO MOLECOLARE DI UNA SOSTANZA. IL LIVELLO DI INFORMAZIONE CHE POSSIAMO OTTENERE DA UNO SPETTROMETRO DI MASSA DIPENDE DAL SUO POTERE RISOLUTIVO. STRUMENTI A BASSA RISOLUZIONE FORNISCONO SOLO LA MASSA NOMINALE DEGLI IONI (cioè la massa intera \Rightarrow quella approssimata degli isotopi più abbondanti); STRUMENTI AD ALTA RISOLUZIONE FORNISCONO LA MASSA MONOISOTOPICA DEGLI IONI (cioè la massa esatta degli isotopi più abbondanti). POI ESISTE ANCHE LA MASSA MEDIA CALCOLATA TENENDO IN CONSIDERAZIONE L'ABBONDANZA RELATIVA DEI DIVERSI ISOTOP. **RICORDA \Rightarrow UNITÀ DI MASSA È IL DALTON $\Rightarrow 1u = 1Da = 1,6605 \cdot 10^{-27} \text{ Kg}$.**

QUINDI IN UNO STRUMENTO A BASSA RISOLUZIONE C_2H_6 FORNISCE UN UNICO SEGNALE A MASSA NOMINALE 28; MENTRE IN UNO STRUMENTO AD ALTA RISOLUZIONE SI POSSONO OSSERVARE 3 DIVERSI PICCHI CHE CORRISPONDONO ALLA MASSA ESATTE DEGLI ISOTOPI DEGLI ELEMENTI DI C_2H_6 (1° caso 4 picchi doppi; 2° caso 3 picchi singoli). IN CASO DELLO SPETTRO CON PIÙ PICCHI, PER CONVENZIONE SI PRENDE IL 1° PICCO COME VALORE REALE DELLA MASSA MOLECOLARE DEL COMPOSTO \rightarrow QUESTO PERCHÈ IL 1° È L'UNICO CHE RAPPRESENTA UNA POPOLAZIONE DI MOLECOLE OMOGENEE (cioè quella che contiene tutto ^{12}C , 1H , ^{14}N ecc...), GLI ALTRI PICCHI SONO TUTTE POPOLAZIONI ETEROGENEE. QUESTO CONCETTO È CONFERMATO E DIMOSTRATO DALL' **ESPANSIONE BINOMIALE**! \rightarrow FINO A 60 ATOMI DI " C " IL 1° PICCO È ANCHE QUELLO PIÙ INTENSO (oltre a rappresentare il valore reale della massa molecolare della molecola), MA CON UN NUMERO DI " C " ELEVATO (tipo C_{100}) SI VERIFICA IL FENOMENO DELL' **INVERSIONE ISOTOPICA** DOVE IL PICCO CON INTENSITÀ MAGGIORE È IL 2° (perché il contributo degli isotopi più pesanti diventa preponderante rispetto a quello degli isotopi più leggeri, ma il valore reale di massa molecolare resta rappresentato dal 1° picco). QUINDI LO SCOPPO MOLTO GRANDI SI RISCHIA DI AVERE UN PICCO TROPPO BASSO E QUINDI CON POCA RISOLUZIONE E SI RISCHIA DI COMMITTERE ERRORI NELL'ANALISI.

QUINDI I PRINCIPALI PARAMETRI IMPORTANTI PER AVERE UNA BUONA PERFORMANCE SONO:

1. **PRECISIONE DI MASSA**: CIOE' L'ACCURATEZZA DELLE INFORMAZIONI DI MASSA FORNITE DALLO SPETTROMETRO DI MASSA. L'ACCURATEZZA DELLA MASSA E' LA DIFFERENZA TRA LA MASSA TEORICA E LA MASSA MISURATA TUTTO MISURATO IN PPM. L'ACCURATEZZA DIPENDE DALLA RISOLUZIONE \Rightarrow ALTA RISOLUZIONE SIGNIFICA MIGLIOR ACCURATEZZA DI MASSA.
2. **RISOLUZIONE**: CIOE' LA CAPACITA' DI UNO SPETTROMETRO DI MASSA DI DIFFERENZIARE LE MASSE $\Rightarrow R = m/\Delta m$ dove Δm e' la differenza di massa tra 2 picchi adiacenti risolti; mentre "m" e' la massa nominale del 1° picco (o la media delle masse dei prim. 2 picchi). DUE PICCHI SONO CONSIDERATI RISOLTI SE L'ALTEZZA DELLA VALLE TRA DI ESSI E' INFERIORE AD UNA CERTA PERCENTUALE DELL'ALTEZZA DEL PICCO PIU' INTENSO (di solito 10%; gli spettrometri commerciali hanno $500 \leq R \leq 500.000$).
3. **SENSIBILITA'**: qual e' la minima quantita' che puo' essere analizzata? NON ESISTE UN LIMITE, TUTTO DIPENDE DAL CAMPIONE PRESO IN CONSIDERAZIONE.



L'OBIETTIVO E' QUELLO DI AVERE MACCHINE CON ALTA RISOLUZIONE ED ALTA ACCURATEZZA, SOPRATTUTTO AD ORG. CHE SI FANNO STUDI DI SCIENZE ORGANICHE!!

→ Le tecniche più utilizzate...

ALCUNE TECNICHE DI IONIZZAZIONE SONO POTENTI E QUINDI OPERANO AD ALTA ENERGIA, PORTANO AD UNA FRAMMENTAZIONE SPINTA (TECNICHE HARD); ALTRE INVECE OPERANO A BASSA ENERGIA PRODUCENDO UN NUMERO INFERIORE DI FRAMMENTI IONIZZATI (TECNICHE SOFT). IN BASE AL TIPO DI SORRENTE UTILIZZATA LA IONIZZAZIONE PRIMARIA DEL CAMPIONE VIENE REALIZZATA IN VARIO MODO, LE TECNICHE PIU' UTILIZZATE SONO:

1. **ELECTRON IMPACT (E. I.)** → E' LA 1° TECNICA SVILUPPATA, E' UNA TECNICA DI IONIZZAZIONE HARD. NELLA CAMERA DI IONIZZAZIONE, LE MOLECOLE DEL CAMPIONE DA ANALIZZARE INTERAGISCONO CON UN FASCIO DI e^- GENERATO DA UN FILAMENTO INCANDESCENTE (Rhenio o Tungsteno) ED ACCELERATO ATTRAVERSO UN POTENZIALE REGOLABILE DALL'OPERATORE. L'ENERGIA DEL FASCIO E' NORMALMENTE FISSATA A 70 eV. NELLA SORRENTE AD E. I. L'ANALITA DEVE ESSERE ALLO STATO GASSOSO → questo pone dei limiti all'applicabilita' del metodo, anche se la maggior parte delle sostanze possono essere rese più volatili mediante derivatizzazione chimica. L'INTERAZIONE DELLA SOSTANZA CON GLI e^- PUO' PROVOCARE: 1) perdita di $1e^-$ \Rightarrow formazione di ione radical positivo; 2) l' e^- viene acquisito dalla sostanza \Rightarrow formazione di ione radical negativo. GLI SPETTRI E. I. SONO GENERALMENTE REGISTRATI CON LETTURA SU IONI POSITIVI (per questioni di probabilita' a livello energetico). ESSENDO COMunque UNA IONIZZAZIONE HARD, LA SOSTANZA PUO' DAR LUOGO A TANTISSIMI FRAMMENTI SEMPRE PIU' PICCOLI (perche' gli ioni sono instabili quindi cercano stabilita') ALCUNI NEUTRI (che escono e non danno segnale) ALTRI A LORO VOLTA CARICHI (che danno segnale) \Rightarrow SI VENGONO A CREARE SPETTRI POCO CHIARI CON MOLTE RISPOSTE (difficolta' nel trovare il valore reale di massa molecolare della sostanza d'interesse).
2. **IONIZZAZIONE CHIMICA (C. I.)** → E' UN TIPO DI TECNICA HARD, MA DETERMINA UNA PICCOLA FRAMMENTAZIONE DEL CAMPIONE DANDO LUOGO A SPETTRI PIU' CHIARI. E' MOLTO VANTAGGIOSA NELLA DETERMINAZIONE DELLE MASSE MOLECOLARI DAL MOMENTO IN CUI VENGONO PRODOTTI IONI MOLECOLARI CON ELEVATA INTENSITA'. ESSA SI BASA SU FENOMENI CHIMICI E NON FISICI (non abbiamo e^- ad alta velocita', ma dei reagenti chimici che realizzano la ionizzazione). LA STRUTTURA DELLA SORRENTE E' ESSENZIALMENTE LA STESSA USATA IN E. I., MA LA CAMERA VIENE RIEMPIUTA DA UN GAS (tipo metano) A CONCENTR. ELEVATE E SI LAVORA A PRESSIONI PIU' BASSE (MAX 1 Torr) \Rightarrow SI GENERANO IONI DEL TIPO MH^+ DETTI PSEUDO MOLECOLARI (in E. I. si formavano ioni M^+ detti molecolari) CHE SONO PIU'

STABILITÀ DI QUELLI MOLECOLARI, PER QUESTO S' È DIFFICILE LA FRAGMENTAZIONE E DI CONSEGUENZA LO SPETTRO RISULTANTE È PIÙ CHIARO E SI RIESCE A DISTINGUERE IL PICCO. QUESTA TECNICA È SPESSE ACCOMPAGNATA A QUELLA E.I. PERCHÉ ENTRAMBE SONO VANTAGGIOSE PER 2 MOTIVI DIVERSI ⇒ PER AVERE UN QUADRO COMPLETO SI OPERANO ENTRAMBE (CON E.I. POSSIAMO CREARE BUONE DATI).

3. ELECTROSPRAY (E.S.) ⇒ SI TRATTA DI UNA SORRENTE DI IONIZZAZIONE SOFT, USA UN GAS INERTE (di solito azoto) PER PROVOCARE UN PROCESSO DI NEBULIZZAZIONE. LE DUE CARATTERISTICHE ESSENZIALI DELL'ES. SONO:

- la ionizzazione si verifica a pressione atmosferica (il campione e liquido inizialmente);
- sulla specie molecolare si può depositare una **CARICA MULTIPLA** (i primi 2 metodi prevedevano 1 sola carica ⇒ il rapporto massa/carica non aveva molta importanza, qui invece si ⇒ le sostanze si distinguono in base a questo rapporto!).

IL PROCESSO AVVIENE IN SOLUZIONI (tipo metanolo + H₂O) CHE VENGONO POI NEBULIZZATE IN UNA CAMERA A CUI APPICCATO UN CAMPO ELETTRICO. LA NEBULIZZAZIONE COMPORTA LA FORMAZIONE DI **PICCOLE GOCCIOLE** DI SOLVENTE CHE CONTENGONO SPECIE IONIZZATE (l'analita carica). DI SOLITO LA IONIZZAZIONE È SPONTANEA, MA PUÒ ESSERE ANCHE INDOTTA ABBINANDO REAGENTI. NELLA SORRENTE IL GAS FLUSSA A BASSE VELOCITÀ PER FACILITARE L'EVAPORAZIONE DEL SOLVENTE ⇒ MAN MANO CHE IL SOLVENTE EVAPORA, LE GOCCIOLE DIVENTANO + PICCOLE FINO A CHE LA **REPULSIONE ELETTRICA SUPERA LA TENSIONE SUPERFICIALE DELLA GOCCIA** ⇒ LA GOCCIA **SCOPPIA** CREANDO UNA **CORRENTE DI IONI NUDI** CHE RESTITUISCONO UN SEGNALE.