

Spettroscopia di massa

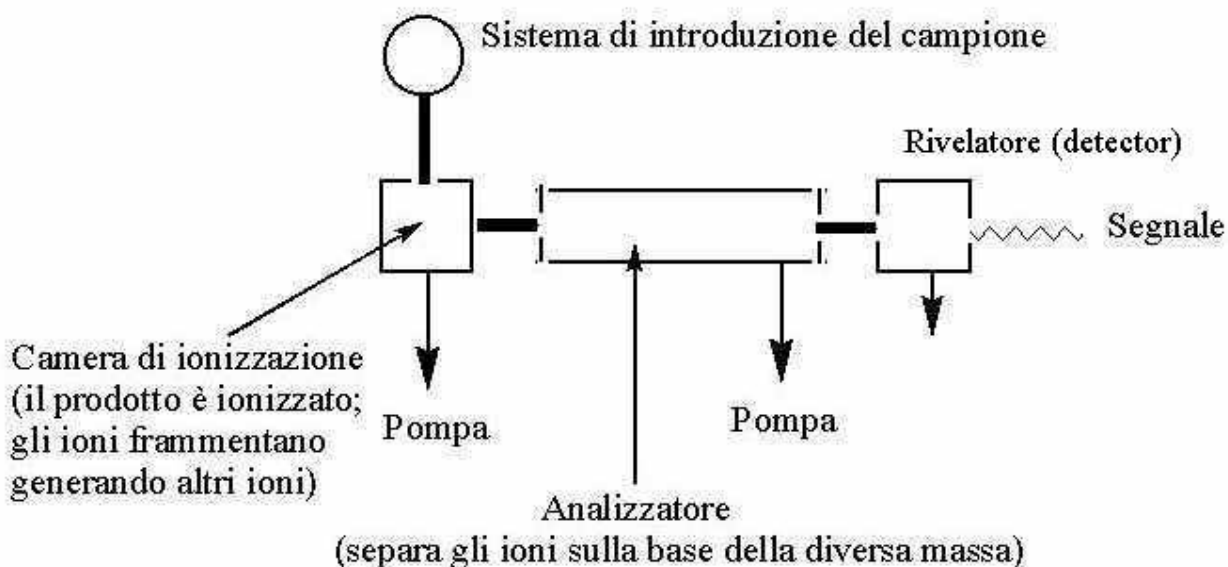
E' una tecnica non propriamente spettroscopica, in quanto non coinvolge l'interazione tra molecola e radiazione. La s. di m. permette di determinare:

- peso molecolare di una sostanza
- peso molecolare dei "frammenti" che compongono la molecola
- formula bruta

Il principio su cui si basa è il seguente: una molecola è ionizzata per espulsione di un elettrone; il radicale catione che si forma (*ione molecolare*) in parte si frammenta generando *ioni frammento*. Lo ione molecolare e i vari ioni che si originano per frammentazione (*ioni frammento*) (cationi e radicali cationi) vengono discriminati sulla base della loro massa e rivelati da un detector.

Lo strumento è costituito dai seguenti blocchi:

- Sistema di introduzione del campione
- Camera di ionizzazione
- Analizzatore di ioni
- Detector
- Registratore



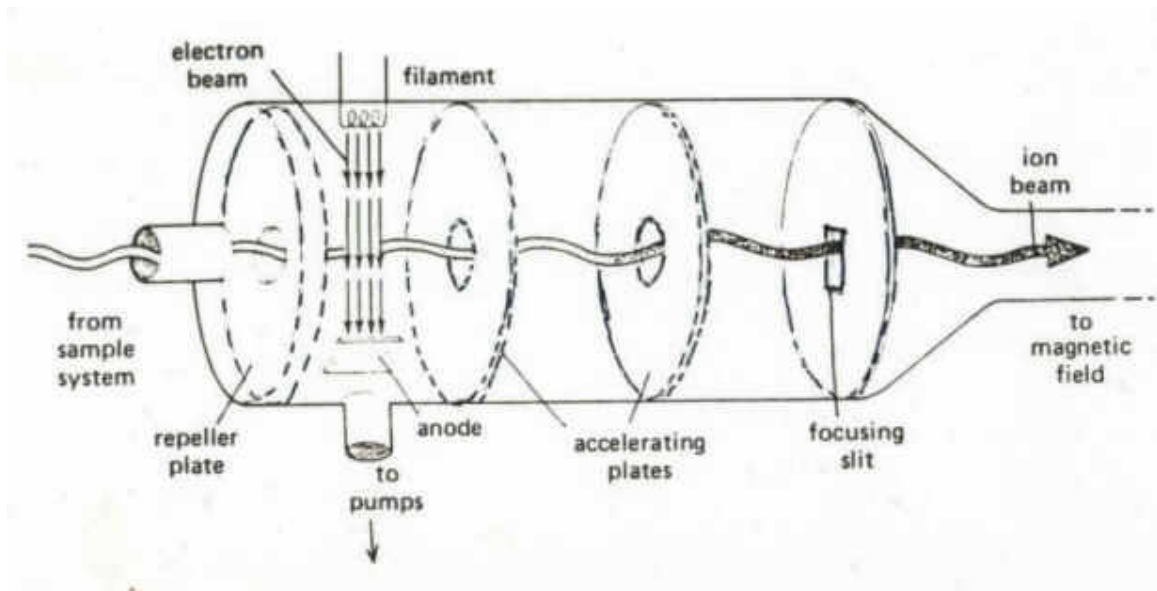
Introduzione del campione (Sample Inlet System)

L'introduzione del campione nella camera di ionizzazione può essere fatta sia allo stato solido, usando una sonda, che allo stato liquido o gassoso, usando un sistema di valvole che permettono di accedere alla camera di ionizzazione senza che questa venga a contatto con l'esterno. La quantità di prodotto necessario per registrare uno spettro è dell'ordine dei microgrammi/nanogrammi. E' possibile utilizzare l'uscita di un sistema GC o HPLC come ingresso dello spettrometro di massa. Queste tecniche, note come GC-MS e HPLC-MS, sono estremamente utili nell'analisi di miscele di prodotti.

Camera di ionizzazione

La camera di ionizzazione è costituita da un cilindro tenuto sotto alto vuoto (10^{-6} Atm); in queste condizioni, ed a opportune temperature, tutti i composti, anche quelli solidi, passano allo stato gassoso. Per ionizzare le molecole esistono varie tecniche:

- a. *Electronic Impact Ionization* (EI). La ionizzazione per impatto elettronico è la tecnica più comune. Un filamento di tungsteno incandescente emette un fascio di elettroni che, accelerati verso un anodo posto dalla parte opposta al filamento, acquistano un'elevata energia (ca. 70 eV). Quando questi elettroni vengono a contatto con la sfera elettronica di una molecola (impatto elettronico), le trasferiscono la loro energia, provocando l'espulsione di un elettrone con formazione di un radical catione.
- b. Siccome l'energia necessaria per ionizzare una molecola organica è di ca. 13-14 eV, i radical cationi sono prodotti ad un'energia vibrazionale molto alta, che ne può determinare la frammentazione con formazione di un radicale e un catione. Tutti gli ioni positivi (cationi e radical cationi) sono respinti da una piastra, tenuta ad un potenziale positivo, verso una serie di piastre forate, tenute a potenziale positivo crescente, dette piastre acceleratrici. Nel loro tragitto gli ioni subiscono un'accelerazione proporzionale al potenziale V delle piastre acceleratrici e vengono espulsi, attraverso una fenditura di uscita, con un'energia cinetica $\frac{1}{2}mv^2 = zV$ (z è la carica degli ioni; in genere, $z = 1$).



Questo tipo di ionizzazione è *hard*. Gli ioni vengono generati ad un livello energetico molto alto e si possono avere frammentazioni estese che lasciano poco o nulla dello ione molecolare. Questo ha portato alla messa a punto di tecniche di ionizzazione *soft*.

Le principali sono:

- c. *Chemical Ionization* (CI). La ionizzazione chimica viene utilizzata quando gli ioni molecolari prodotti con il metodo dell'impatto elettronico sono troppo poco stabili e si frammentano completamente. Il metodo consiste nell'introdurre, insieme al campione, del metano in forte eccesso. Statisticamente sarà il metano ad essere ionizzato per impatto elettronico, generando CH_4^+ ; questo, incontrando un'altra molecola di CH_4 , forma CH_3^+ e CH_5^+ , che funziona da acido per una molecola organica M generando l'acido coniugato MH^+ . Questa specie non viene generata ad un livello vibrazionale eccitato, e non frammenta. La particolarità è che nello spettro vedremo lo ione molecolare + 1.
- d. *Fast Atomic Bombardment* (FAB). Nella ionizzazione per bombardamento atomico il prodotto è introdotto in una matrice liquida e bombardato con elettroni ad alta velocità provenienti da una superficie metallica (Cesio) opportunamente riscaldata.
- e. *Electron Spray Ionisation* (ESI). Il campione, sciolto in un solvente polare, è nebulizzato a pressione atmosferica dentro alla camera di ionizzazione attraverso un ago tenuto ad un alto potenziale elettrico. Le goccioline di spray, che si sono caricate positivamente per azione del campo elettrico, vengono attratte verso una "lente di estrazione di ioni", che grossolanamente è costituito da un capillare mantenuto sotto vuoto e a un potenziale negativo; in tal modo il solvente evapora e gli ioni carichi sono accelerati verso l'analizzatore. Questa tecnica di ionizzazione è largamente usata negli strumenti HPLC-MS.

Analizzatore e Rivelatore

L'analizzatore il compito di selezionare gli ioni (cationi e radical cationi) sulla base della loro massa. I più comuni sono l'analizzatore magnetico, a quadrupolo e a trappola ionica.

Analizzatore magnetico (a tubo). E' l'analizzatore più usato, perchè consente di ottenere le risoluzioni migliori. E' costituito da un tubo lungo ca. 1 metro, piegato con un raggio di curvatura r' ed immerso in un campo magnetico H . Gli ioni che escono dalla camera di ionizzazione entrano nel tubo analizzatore e, per effetto del campo magnetico, subiscono una deviazione dalla loro traiettoria rettilinea (deflessione). La nuova traiettoria curvilinea ha un raggio di curvatura r che è direttamente proporzionale alla quantità di moto dello ione (mv) e inversamente proporzionale al campo magnetico H . Le relazioni in gioco sono le seguenti:
Energia cinetica degli ioni: $1/2mv^2 = zV$ (z = carica dello ione; V = potenziale di accelerazione) (1)

Interazione campo magnetico/ione:

$$Hz = mv/r$$

H = intensità del campo magnetico;

r = raggio di deflessione (2)

Poichè dalla (1) si ha:

$$v^2 = 2zV/m,$$

combinando la (1) e la (2) si ottiene :

$$H^2 \cdot z^2 = 2zVm/r^2,$$

da cui:

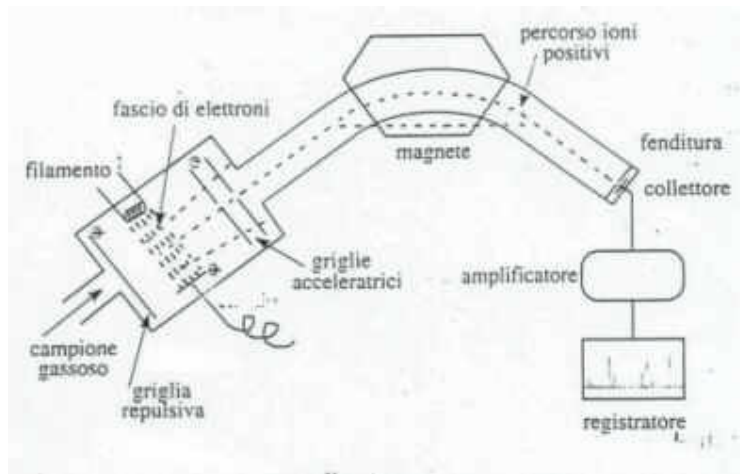
$$m/z = r^2(H^2/2V)$$

Per un certo valore della coppia H 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' .

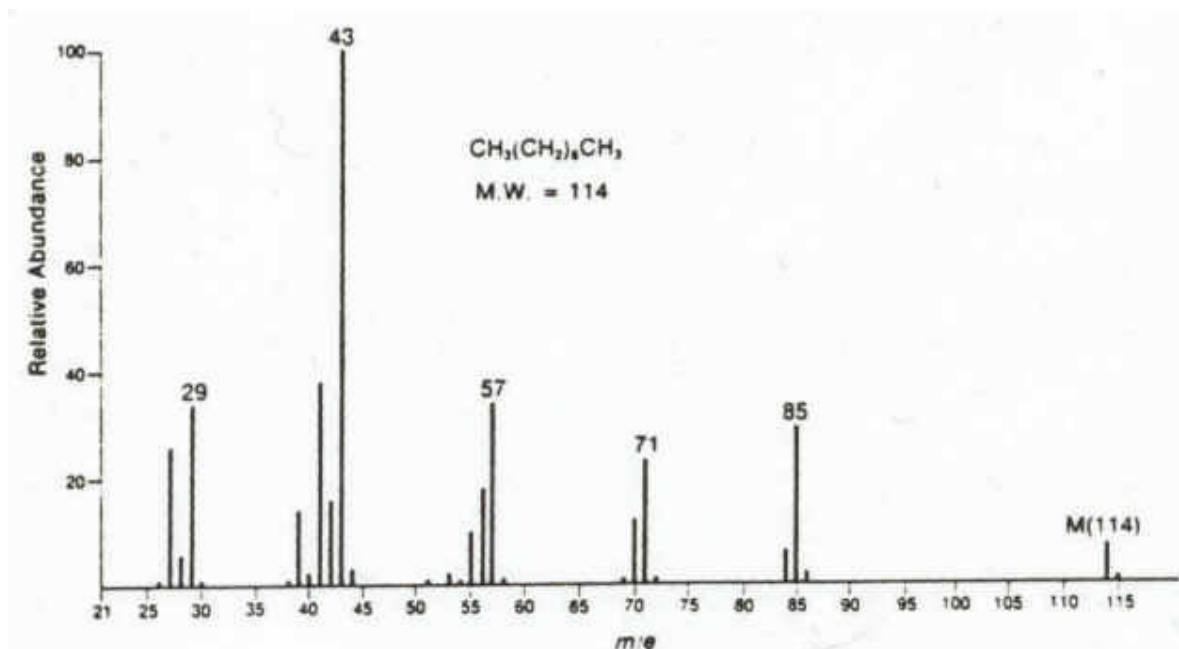
Gli ioni che hanno questo valore di massa escono dal tubo, gli altri no.

Operando a potenziale V costante e facendo una scansione di campo H è possibile fare uscire dal tubo gli ioni a diversa massa in tempi diversi. Gli ioni che escono dal tubo vengono raccolti da un fotomoltiplicatore, che traduce l'intensità degli ioni in corrente elettrica (Rivelatore).

Gli strumenti sono tarati (si usano dei perfluorocheroseni) in modo che a ciascun valore di campo corrisponda un certo valore di massa. In questo modo la corrente ionica è registrata in funzione non del campo B , ma della massa m . Si ottiene così lo *spettro di massa*, che è un istogramma che riporta in ascisse i valori di massa crescente (gli strumenti sono tarati in genere da 30 a 1000 uma) e in ordinate la corrente ionica.



Lo spettro di massa si presenta quindi come un insieme di linee verticali (*picchi*) di intensità diversa, ciascuna corrispondente al valore di massa di uno ione frammento. Il picco a valore di massa più elevato è quello relativo allo ione molecolare. In genere, la corrente ionica è normalizzata a 100, ossia il picco più alto (*picco base*) ha valore 100, indipendentemente dal suo valore assoluto.



Un parametro fondamentale dell'analizzatore è la *risoluzione*, che è definita come la capacità di discriminare due ioni di massa m_1 e m_2 .

La risoluzione è misurata dal rapporto $m/\Delta m$, dove m è la media delle masse molecolari dei due ioni $(m_1+m_2)/2$, e Δm la differenza (m_1-m_2) .

Un limite al potere risolutivo dell'analizzatore a tubo è che la velocità degli ioni che escono dalla camera di ionizzazione è dispersa (cioè, non tutti gli ioni hanno la stessa velocità).

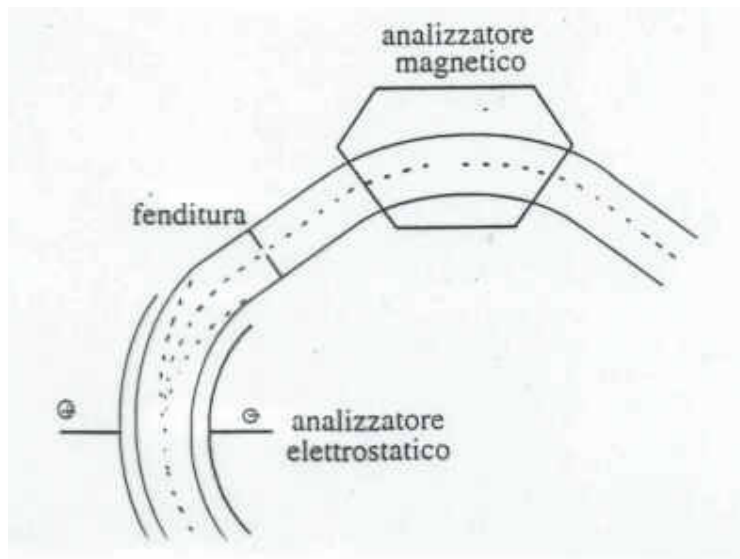
Quindi, poiché l'analizzatore discrimina gli ioni sulla base del prodotto $m \cdot v$, vengono focalizzati ioni a massa diversa.

Per migliorare la risoluzione dell'analizzatore a tubo si usano strumenti a *doppia risoluzione*.

All'uscita della camera di ionizzazione è posto un analizzatore elettrostatico, costituito da un tubo immerso in un campo elettrico, che permette il passaggio dalla fenditura di uscita solo degli ioni che hanno la stessa velocità v .

La risoluzione di questi strumenti può arrivare a 100.000. Gli strumenti a doppia risoluzione consentono di determinare la massa dello ione molecolare con una precisione di 1 ppm (Spettroscopia di massa in alta risoluzione, HRMS).

Da questo valore è possibile determinare la *formula bruta* del composto.



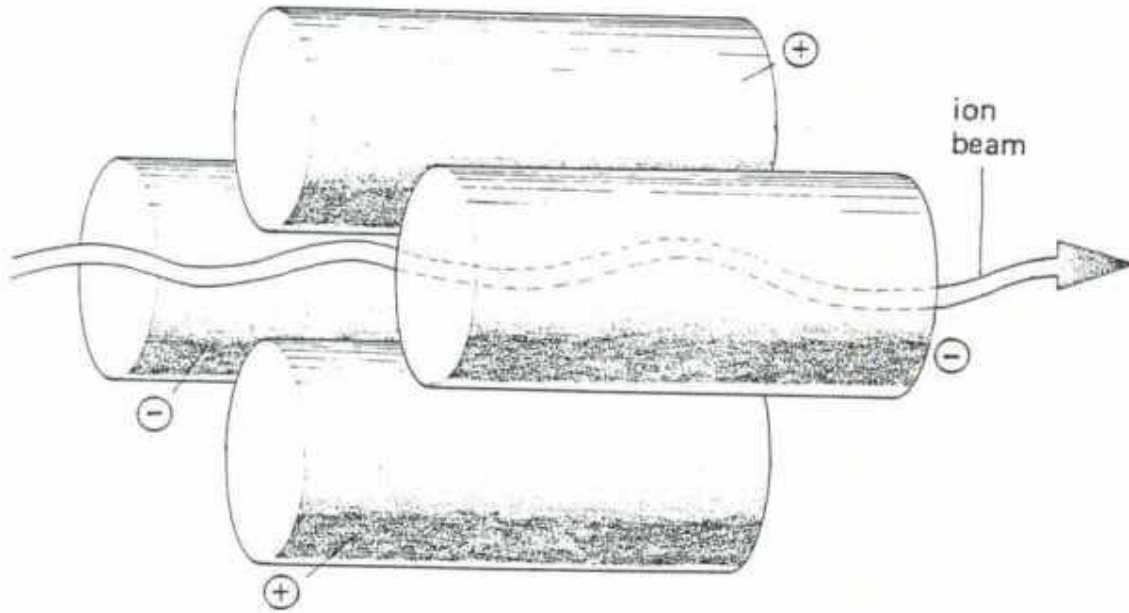
Analizzatore a quadrupolo E' costituito da quattro barre cilindriche metalliche, lunghe ca. 20 cm., che delimitano il "cammino" percorso dagli ioni provenienti dalla camera di ionizzazione e diretti al detector.

Le barre sono mantenute ad un potenziale elettromagnetico oscillante, in modo che quando le due sbarre verticali hanno potenziale positivo quelle orizzontali l'hanno negativo, e viceversa.

Gli elettroni, accelerati dalle piastre acceleratrici, entrano nel tunnel delimitato dalle barre e vengono respinti dai poli positivi ed attratti dai negativi.

Tuttavia, a causa dell'oscillazione del quadrupolo gli ioni assumono una traiettoria a zig zag e finiscono con lo scaricarsi su una delle barre, tranne quelli che, per un certo valore di frequenza di oscillazione, hanno un'energia cinetica tale per cui il moto diventa sinusoidale e riescono ad uscire dal tunnel ed entrare nel sistema di rivelazione (fotomoltiplicatore).

Operando quindi una scansione di frequenza di oscillazione del campo è possibile far uscire ioni a massa molecolare crescente. Rispetto all'analizzatore a tubo il quadrupolo ha una risoluzione più bassa (< 1000), ma tempi di scansione più bassi e un minor costo.



Trappola Ionica Può essere considerato una variante dell'analizzatore a quadrupolo. Anzichè permettere agli ioni di attraversare il campo quadrupolare, la trappola ionica trattiene tutti gli ioni al suo interno.

Lo spettro di massa è generato variando il potenziale elettrico in modo da espellere in sequenza dalla trappola verso il rivelatore gli ioni secondo un valore m/z crescente.

Altri tipi di rivelatori sono: *Spettrometro di massa a risonanza ionica elettronica in trasformata di Fourier (FT-ICR)* e lo *Spettrometro di massa a tempo di volo (Time of Flight, TOF)*.

Analisi dello spettro

Ioni doppiamente carichi.

Come detto, lo spettro di massa si presenta come un insieme di righe verticali (*picchi*), ciascuna corrispondente ad un certo valore di massa m .

Il picco a valore di m più elevato è lo ione molecolare, gli altri corrispondono a ioni-frammento derivati per frammentazione dello ione molecolare.

L'altezza dei picchi è normalizzata a 100.

Il picco alto 100 è il *picco base*; corrisponde allo ione-frammento più stabile, che può essere o meno lo ione molecolare.

Nella camera di ionizzazione può succedere che alcuni ioni subiscono un ulteriore strappo di elettroni, con formazione di ioni *doppiamente carichi* (M^{++}).

Questi vengono focalizzati come se fossero ioni di massa $(M/2)^+$.

Nonostante che questo fenomeno sia molto raro, è comunque corretto mettere in ascisse non la massa m , ma il rapporto m/z , dove z è la carica dello ione.

I picchi satelliti.

Osservando i picchi sullo spettro di massa, si vede che ogni picco a massa m è accompagnato da picchi minori a massa $(m+1)$, $(m+2)$, etc..

Sono i cosiddetti picchi satelliti, che prendono origine dall'esistenza di isotopi.

La distribuzione dei picchi satelliti ci da informazioni sul tipo di atomi presenti nella molecola, specie se sono presenti atomi di:

zolfo [isotopi 32 (96%) e 34 (4%)],

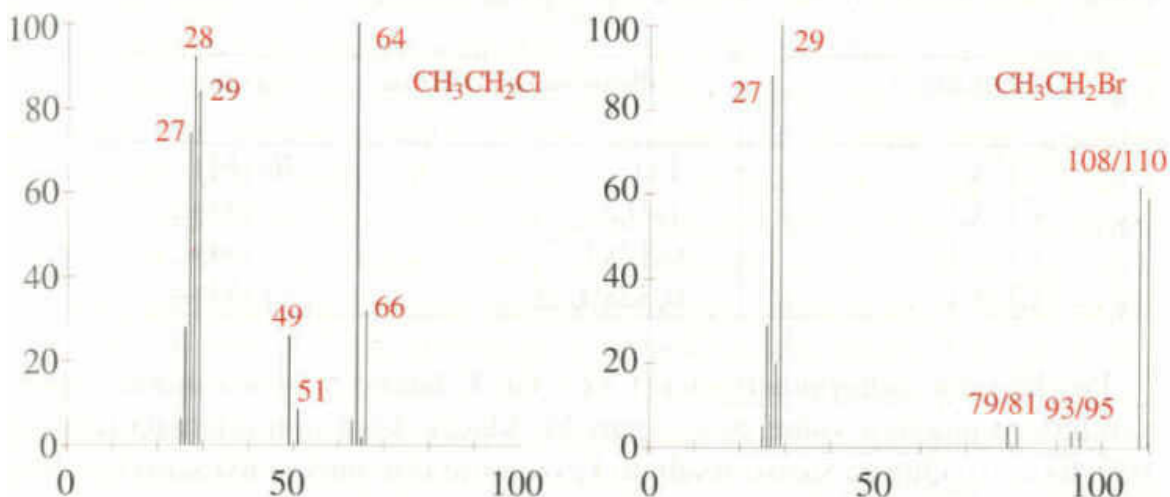
cloro [isotopi 35 (67%) e 37 (33%)],

bromo [isotopi 79 (50%) e 81 (50%)], etc.

Composizione isotopica di alcuni elementi normalizzata
a 100 per l'isotopo più abbondante

Elemento	Isotopo 1		Isotopo 2		Isotopo 3	
	Massa	%	Massa	%	Massa	%
H	1	100	2	0,015	-	-
B	11	100	10	24,84	-	-
C	12	100	13	1,11	-	-
N	14	100	15	0,37	-	-
O	16	100	17	0,04	18	0,20
F	19	100	-	-	-	-
Si	28	100	29	5,06	30	3,36
P	31	100	-	-	-	-
S	32	100	33	0,79	34	4,46
Cl	35	100	37	31,98	-	-
Br	79	100	81	97,28	-	-
I	127	100	-	-	-	-

Si tenga conto che i *pesi atomici* sono la media pesata dei singoli isotopi. Ad esempio, il peso atomico del bromo è 80. Questo valore è la media pesata dei due isotopi a massa 79 e 81, che sono presenti in abbondanza naturale 50:50. Nello spettro del bromoetano non troveremo un picco a m/z 109, ma due ioni molecolari a m/z 198 e 110 di intensità 1:1. Analogamente, nello spettro del cloroetano troveremo due ioni molecolari a m/z 66 e 64, di intensità 1:3, derivanti rispettivamente da $^{37}\text{ClCH}_2\text{CH}_3$ e $^{35}\text{ClCH}_2\text{CH}_3$.



Il carbonio ha isotopi 12 (99%) e 13 (1%). Statisticamente, in una molecola che ha 10 atomi di carbonio ci sarà una probabilità del 10% di trovare un atomo di carbonio C13. Troveremo quindi lo ione molecolare di massa m e lo ione a massa $(m+1)$ di intensità 1/10 rispetto al precedente.

La regola dell'azoto.

Le masse molecolari, calcolate sugli isotopi più abbondanti, hanno sempre valore pari, a meno che non sia presente un numero dispari di atomi di azoto. Quindi, quando si trova un valore dispari dello ione molecolare significa che nella molecola sono presenti 1 o 3 atomi di azoto.

La spettroscopia in alta risoluzione (HRMS)

Con gli strumenti a doppia risoluzione magnetica/elettrostatica è possibile determinare le masse molecolari con una precisione di 1 ppm. Questo permette di determinare la formula bruta del composto. A titolo esemplificativo si consideri una molecola che, a risoluzione normale, ha fornito un valore di $M^+ = 44$.

Questo valore non ci da alcuna indicazione, perchè potrebbe trattarsi di anidride carbonica, propano o altro.

Trovato	44	44.06276
CS	44	43.97207
CO ₂	44	43.98980
C ₃ H ₈	44	44.06264

Ripetendo lo spettro in alta risoluzione supponiamo di trovare un valore di 44.06276 (*massa esatta*). Dal confronto con la massa trovata e le masse calcolate si evince che la massa trovata è compatibile solo con quella del propano.

Quindi, per determinare la formula bruta si confronta la massa esatta trovata con le masse esatte di **tutte** le possibili strutture. La formula bruta del composto sarà quella compatibile con la massa trovata (l'errore deve essere inferiore a 1 ppm). Ovviamente, il confronto è fatto con l'ausilio di data systems.

Principali frammentazioni degli ioni molecolari di alcune famiglie di composti organici

Schemi di frammentazione

La molecola M è ionizzata e produce un radical catione (ione molecolare) ($M - e \rightarrow M^+$).

Lo ione molecolare può frammentare in uno dei seguenti modi:

- ♦ per rottura omolitica di un legame ($M^+ \rightarrow A\cdot + B^+$).

In genere la frammentazione avviene a carico del legame meno stabile.

Vengono prodotti un radicale neutro e un catione. Solo il catione B^+ è rivelato.

- ♦ per rottura eterolitica di un legame ($M^+ \rightarrow X^+ + D$).
Vengono prodotti un radicale catione secondario e una molecola neutra .

Solo il radical catione è rivelato.

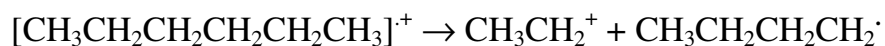
Questo tipo di frammentazione è importante quando la molecola neutra è CO, CO₂, SO, SO₂, etilene, acetilene, acido cianidrico, acqua, HCl, HBr, HI .

- ♦ subire una trasposizione, in genere una migrazione 1,5 di un protone, seguita da eliminazione di una molecola neutra (trasposizione di McLafferty).
I cationi o i radical cationi generati da una frammentazione possono a loro volta frammentare generando ioni o radical ioni secondari.

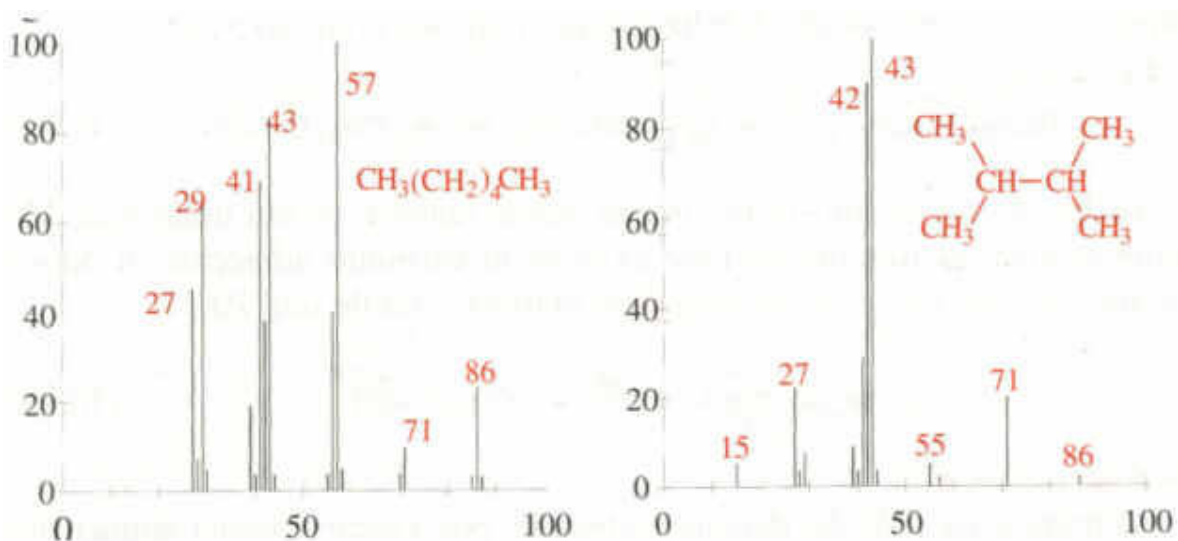
Alcani

Ione molecolare di intensità generalmente bassa. Frammentano liberando di norma (regola di Stevenson) il radicale più pesante. Gli ioni secondari frammentano con eliminazione di una molecola neutra.

Esempio:



I cationi formati dalla frammentazione possono generare frammenti secondari per perdita di etilene o idrogeno.

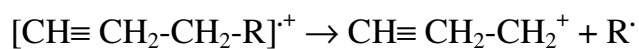
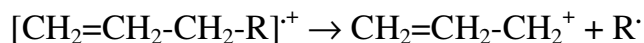


Alcheni e Alchini

Presentano uno ione molecolare più intenso che negli alcani.

La frammentazione principale (generalmente di intensità 100) è la frammentazione allilica (o propargilica).

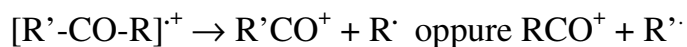
Esempio:



Composti carbonilici

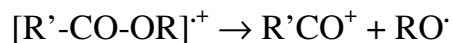
La frammentazione principale è la α scissione.

Esempio:

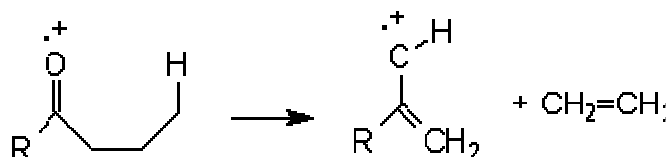


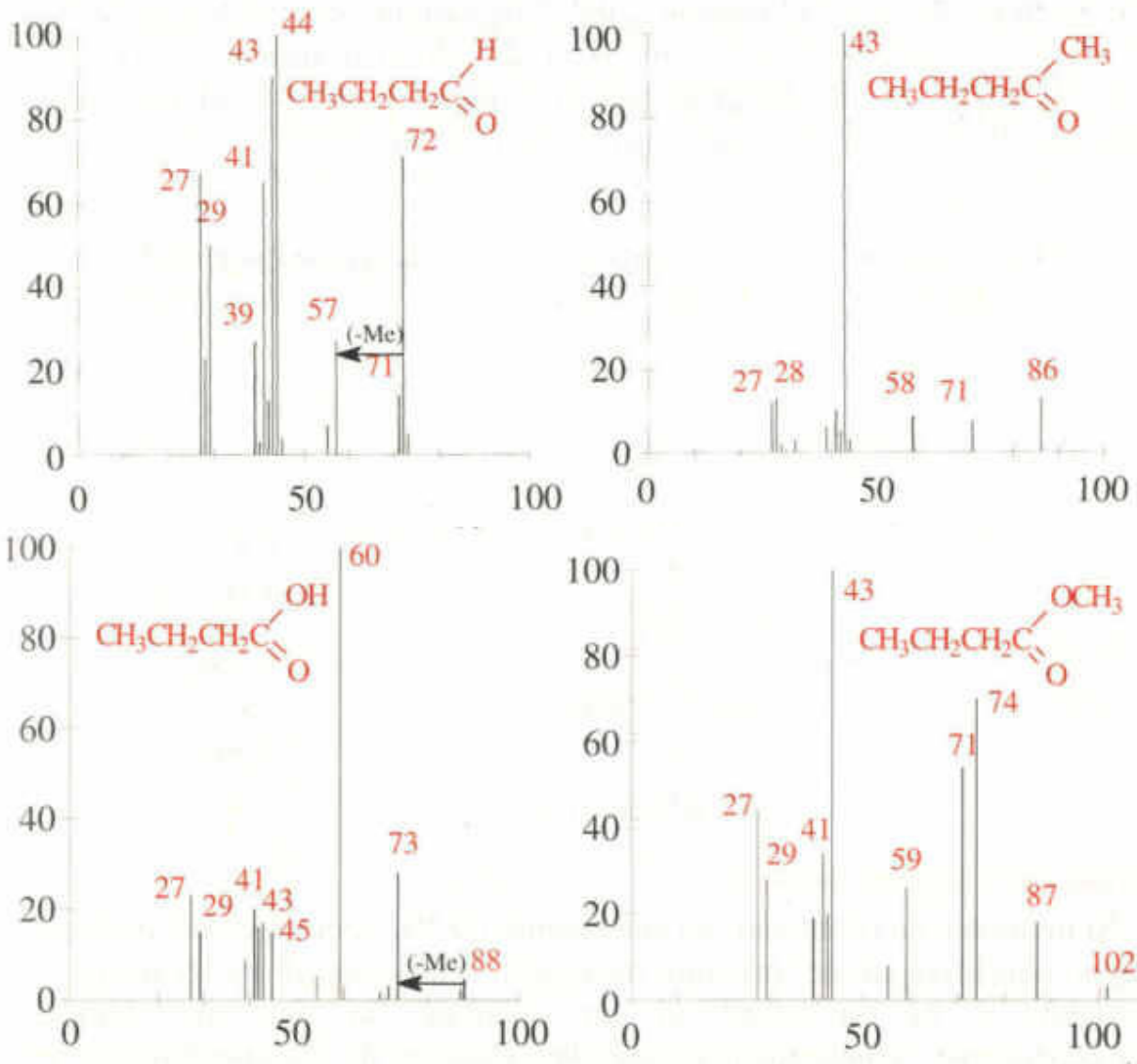
Gli acidi eliminano COOH^+ (45).

Gli esteri eliminano RO^\cdot :



Quando è possibile si verifica una trasposizione di McLafferty:





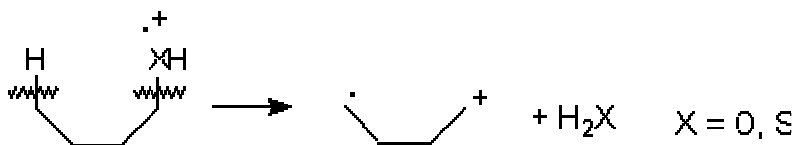
Alcoli, Eteri, Solfuri, Tioli, Ammine

Lo strappo dell'elettrone avviene sul doppietto di non legame dell'eteroatomo.

I radicali ioni frammentano per α scissione.

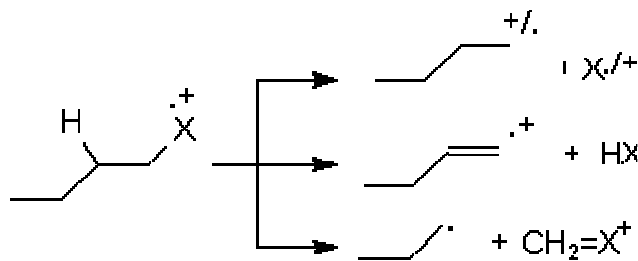


Gli alcoli e i tioli danno eliminazione di acqua e acido solfidrico, rispettivamente, se sono presenti idrogeni sul carbonio δ



Alogenuri

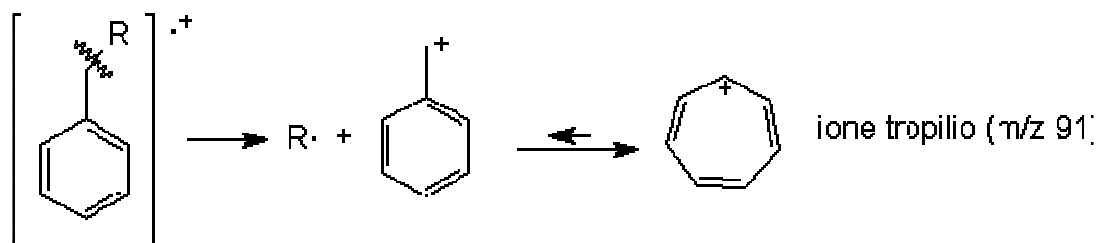
Frammentano in tre modi principali: perdita di alogeno (radicale o catione), eliminazione di acido alogenidrico, α scissione:



Composti aromatici

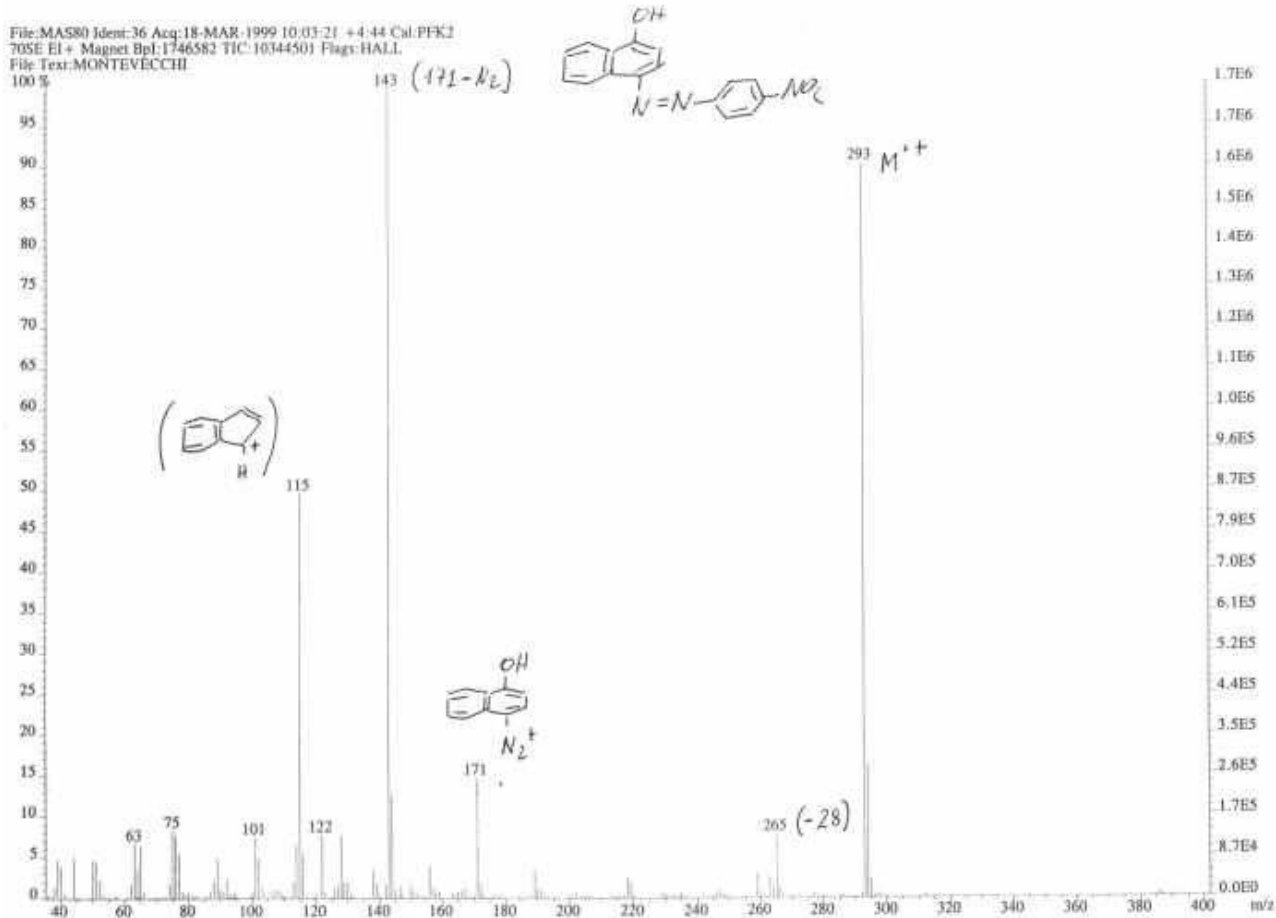
Presentano ioni molecolari molto intensi (100), con pochi ioni frammento.

Fanno eccezione i composti sostituiti con una catena alchilica, che presentano una forte frammentazione benzilica:

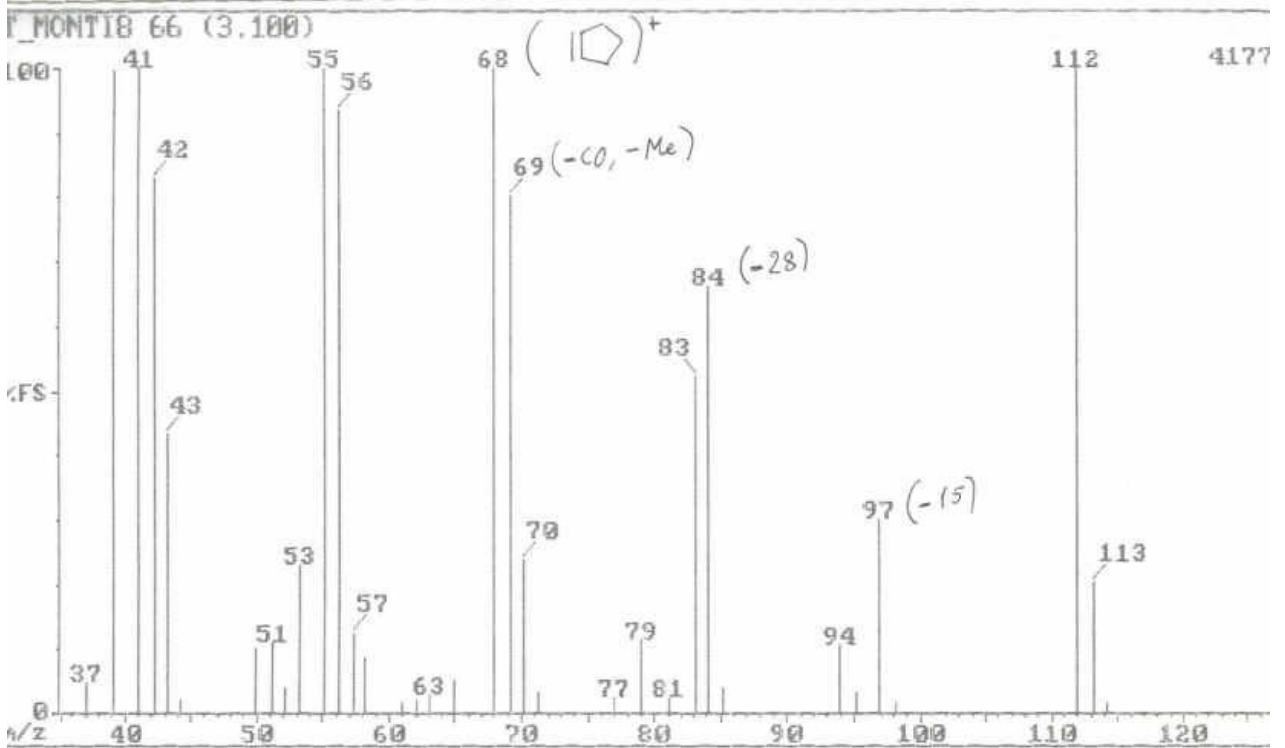


Consideriamo gli spettri più significativi dei prodotti sintetizzati in laboratorio:

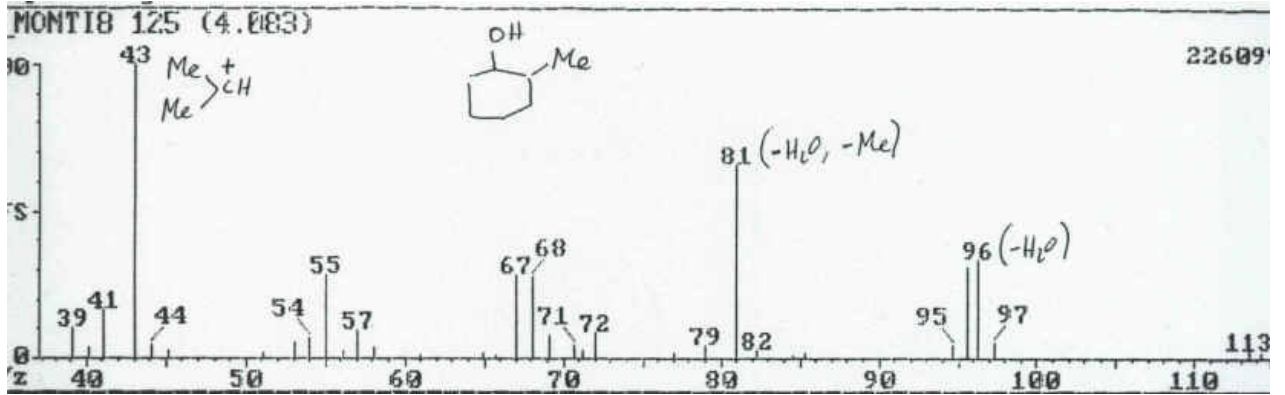
1. *Magneson*



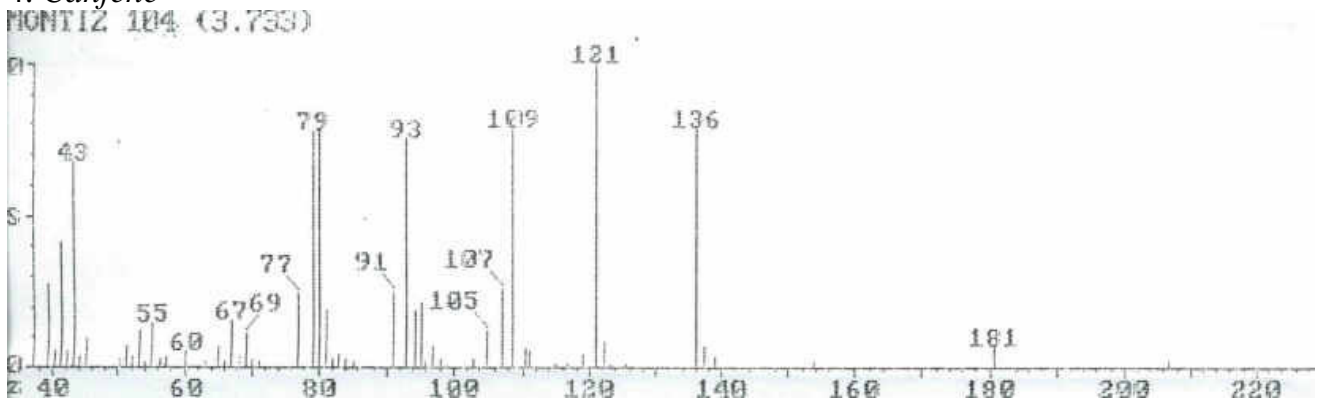
2. 2-Metilcicloesano



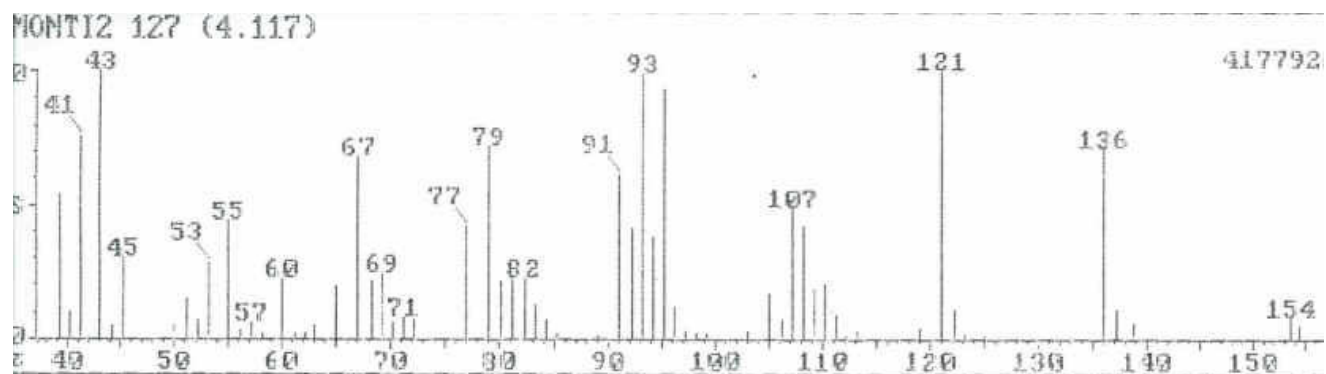
3. 2-Metilcicloesano



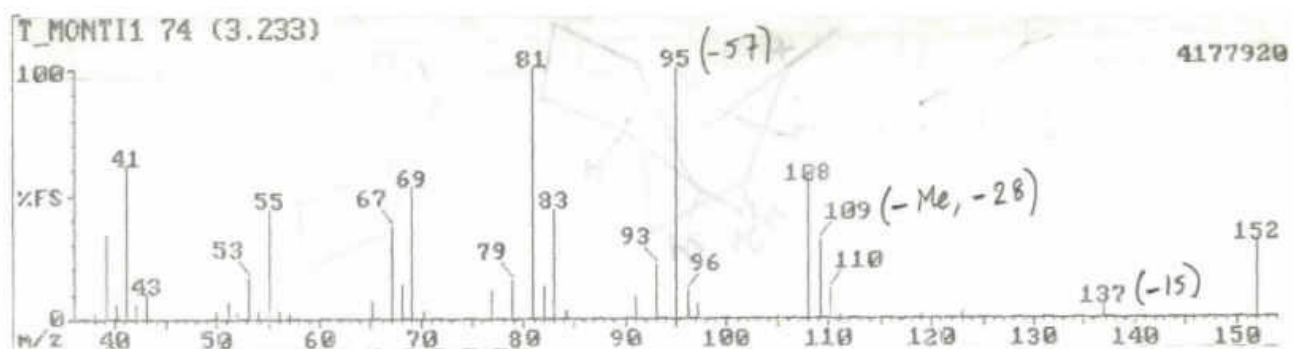
4. Canfene



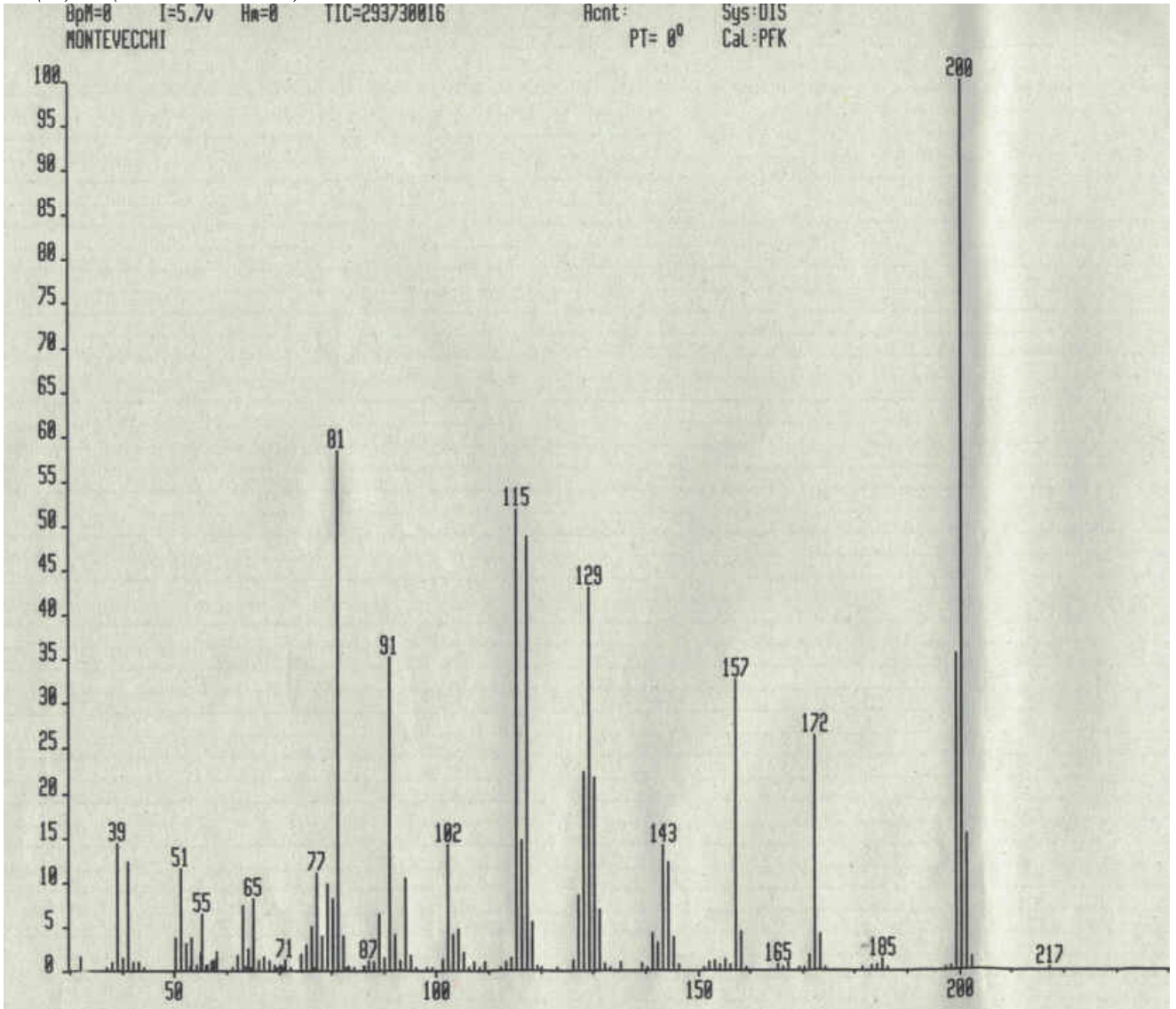
5. *Isborneolo*



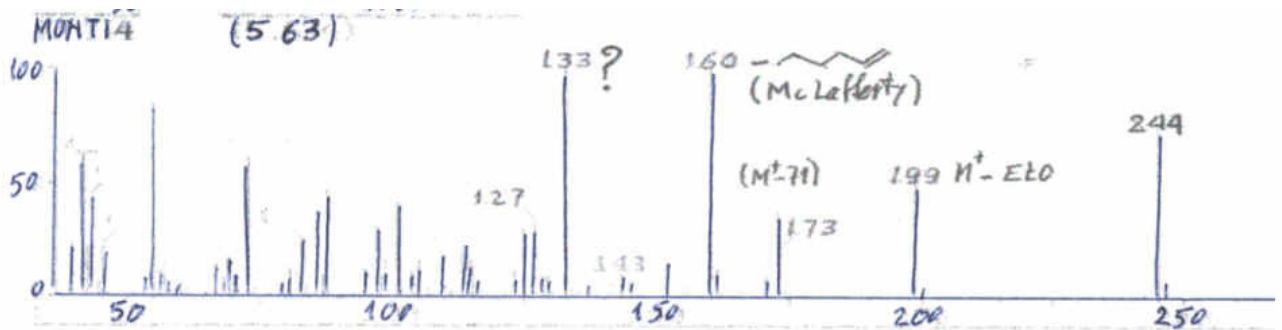
6. *Canfora*



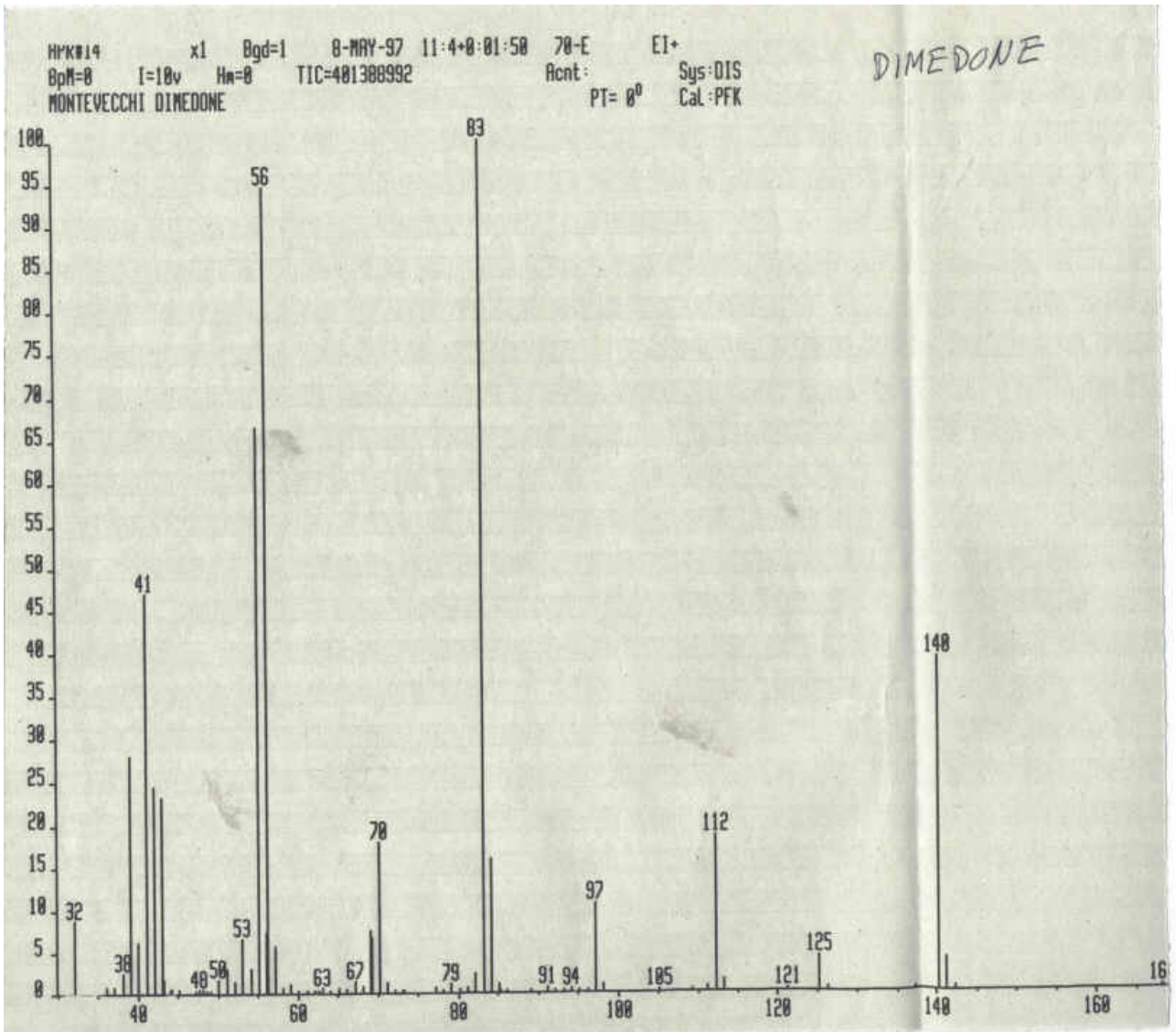
7. (E)-2-(Fenilmetilene)-5-metilciclooesanone



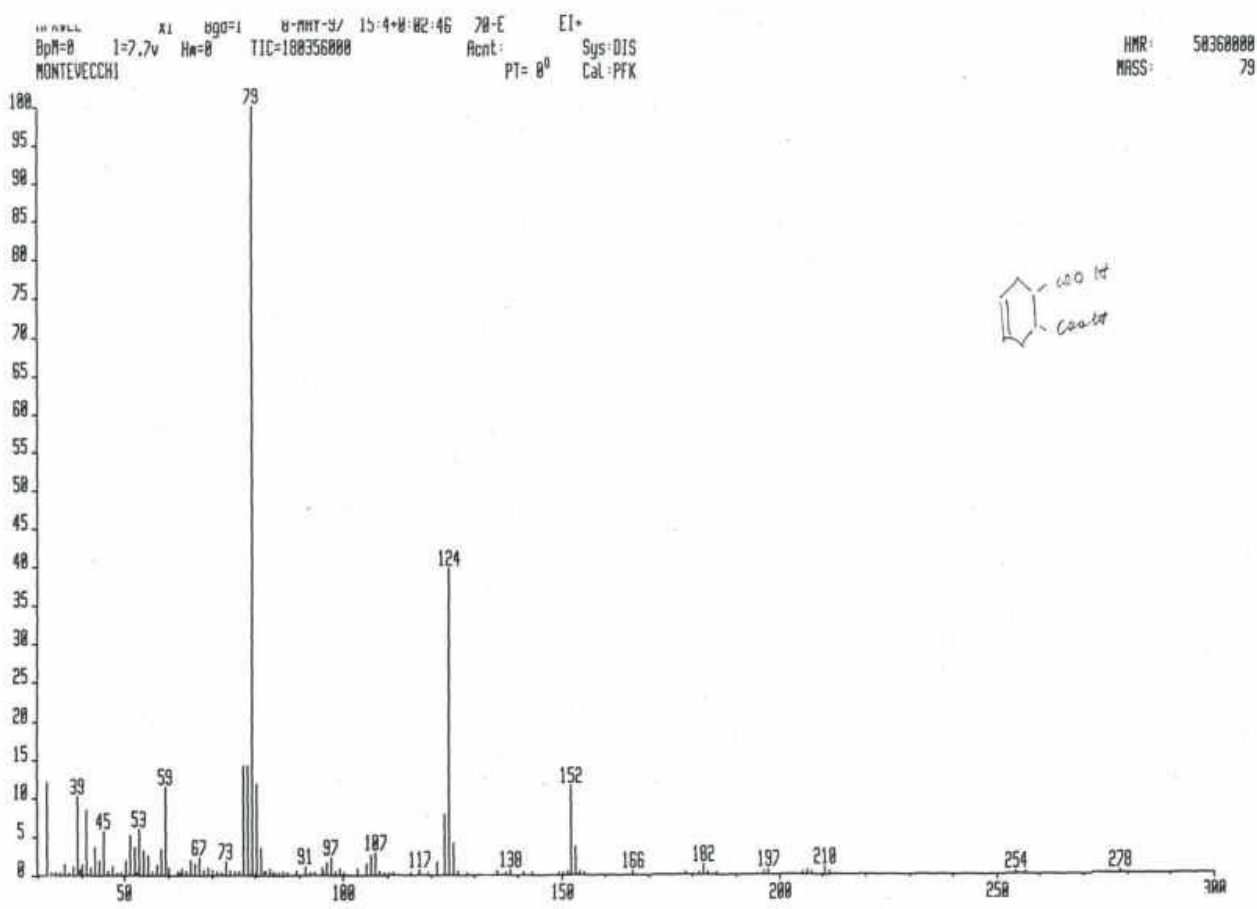
8. Dimetil 2-esilmalonato



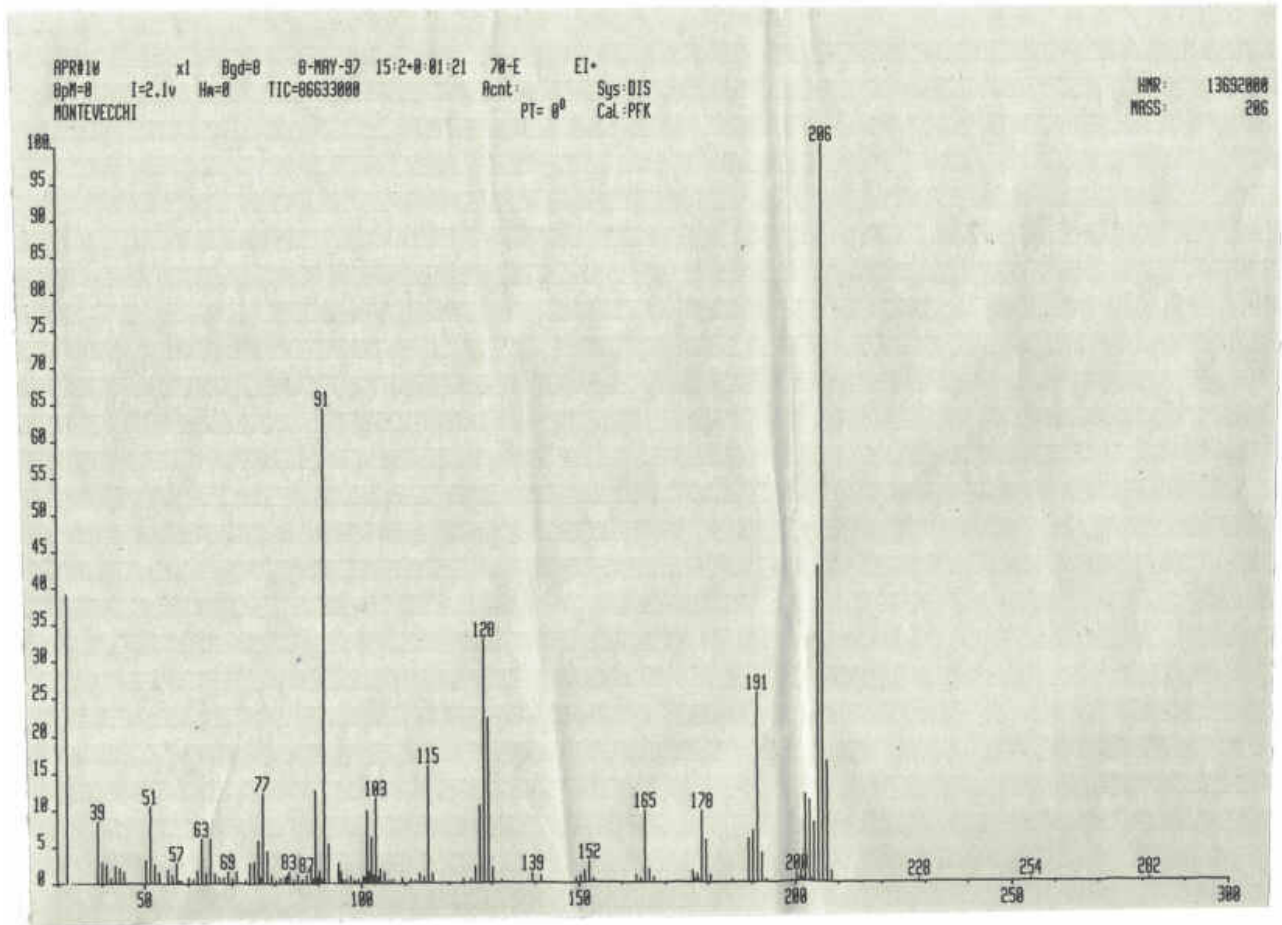
9. Dimedone



10. Acido 4,5-dicarbossicicloesene



11. 1,4-Difenilbutadiene



12. 3-Propil-5-acetossi-5-fenil-2(2H)furanone

File:MAS80 Ident:30 Acq: 7-OCT-1999 14:00:41 +3:58 Cal:PFK2
70SE EI+ Magnet Dpl:10917948 TIC:69363112 Flags:HALL
File Text:MONTEVECCH

