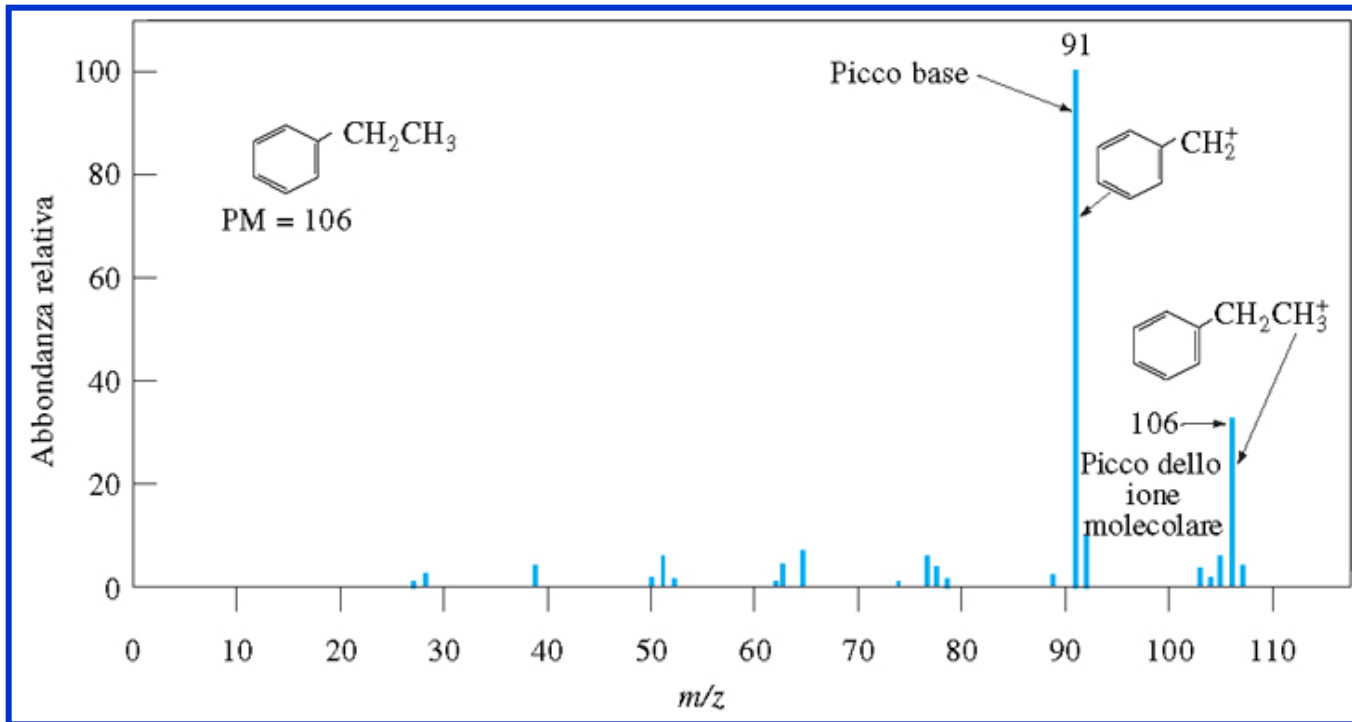


# Spettrometria di massa (MS)

L'analisi di un composto mediante spettrometria di massa si basa sul riconoscimento del **rapporto fra la massa e la carica ( $m/z$ )** dello ione/degli ioni da esso derivante/i e sulla determinazione di un responso ad essi correlato.



spettro di massa dell'etilbenzene ottenuto per ionizzazione elettronica

La massa molecolare viene espressa attualmente in termini di **unità di massa atomica unificata (u)**, pari ad 1/12 della massa dell'atomo di Carbonio 12 nel suo stato fondamentale =  $1.6605402 \cdot 10^{-24} \text{ g}$ .

# Evoluzione storica della spettrometria di massa (MS)

**Elements**

1912; 1930

**Electron Impact** Mass Spectrometry (EI-MS)

**Volatile organic molecules**

1966

**Chemical Ionization** Mass Spectrometry (CI-MS)

**Mixture of volatile organic molecules**

1958

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

**Non-volatile organic molecules & Inorganic molecules**

1969

**Field Desorption** (FD) MS

**Small biomolecules (peptides < 3000 Da)**

1980 **Thermospray** (TS) MS; LC-MS

1991 **Inductively coupled plasma** (ICP); metal ions

**Large biomolecules (proteins > 100,000 Da)**

1982

**Fast Atom Bombardment** Mass Spectrometry (FAB-MS)

1984

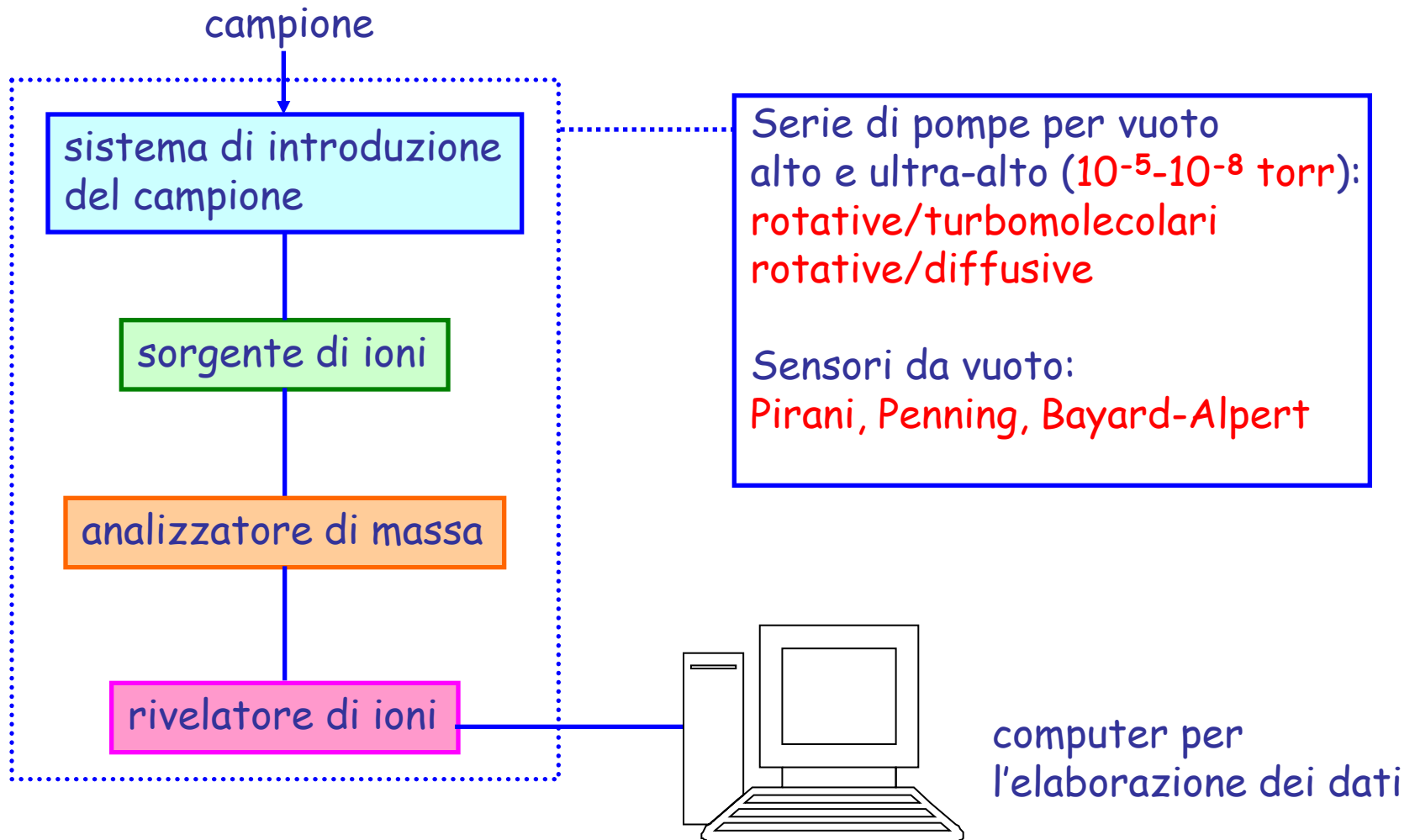
**Electrospray Ionization** (ESI) MS

**Premio Nobel per la Chimica 2002**

1985

**Matrix Assisted Laser Desorption Ionization** (MALDI) MS

# Schema a blocchi di uno spettrometro di massa

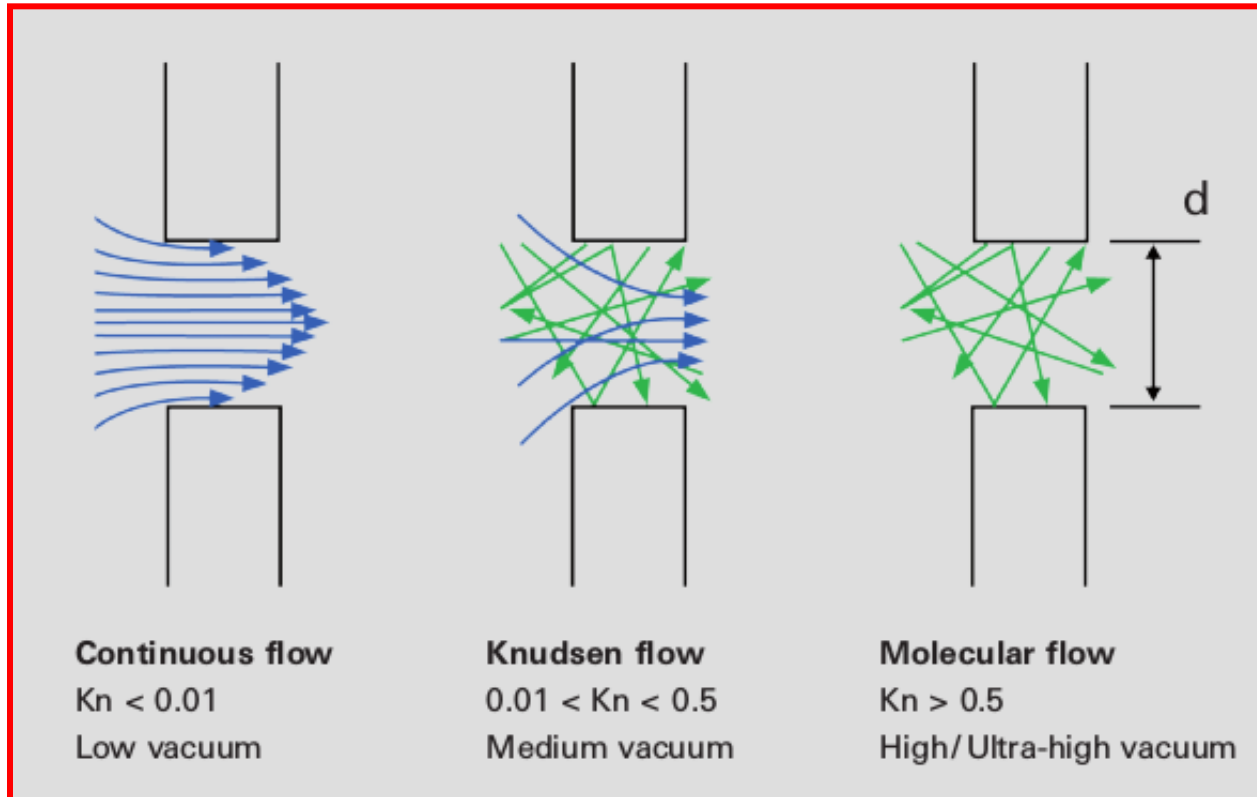


## Generazione di basse pressioni (alto vuoto)

Per poter essere impiegate alcune tecniche analitiche strumentali (spettrometria di massa, spettroscopie/spettrometrie di superficie) richiedono **condizioni di vuoto alto o ultra-alto (UHV)**:

Parametro	basso vuoto	medio vuoto	alto vuoto	ultra-alto vuoto (UHV)
Pressione/torr	760-1	$1-10^{-3}$	$10^{-3}-10^{-7}$	$< 10^{-7}$
Densità di particelle / $\text{cm}^{-3}$	$10^{19}-10^{16}$	$10^{16}-10^{13}$	$10^{13}-10^{19}$	$< 10^9$
Cammino libero medio / cm	$< 10^{-2}$	$10^{-2}-10$	$10-10^5$	$> 10^5$
Tempo di formazione di un monostrato adsorbito / s	$< 10^{-5}$	$10^{-5}-10^{-2}$	$10^{-2}-100$	$> 100$
Natura del flusso di gas	continuo (viscoso)	Knudsen	molecolare	molecolare

La tipologia del flusso di gas (o, in generale, di un fluido) in un canale o condotto dipende dal cosiddetto **numero di Knudsen (Kn)**, pari al rapporto fra il **cammino libero medio delle particelle di gas** e la **dimensione del canale**, a sua volta legato alla pressione (o, equivalentemente, al livello di vuoto, che influenza il libero cammino medio):



Il flusso continuo è laminare fino a certe velocità del fluido; a velocità superiori diventa turbolento (i vari strati di fluido non sono più paralleli).

## Pompe da vuoto: classificazione generale

Pompe che rimuovono  
le particelle del gas  
meccanicamente

rotative

a diffusione (in vapori di olio)

turbomolecolari

Pompe che rimuovono  
le particelle del gas  
mediante processi  
chimico-fisici

a sublimazione di titanio

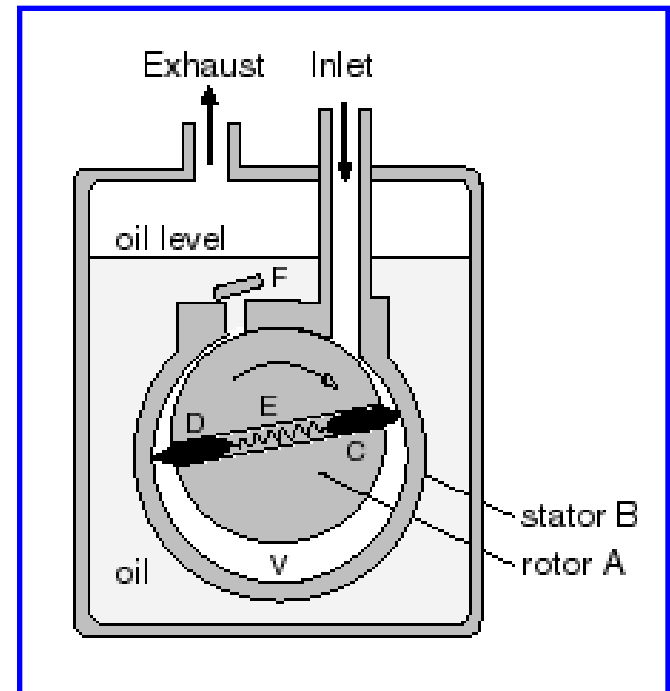
ioniche

## Pompe rotative

### Pompe rotative a stadio singolo

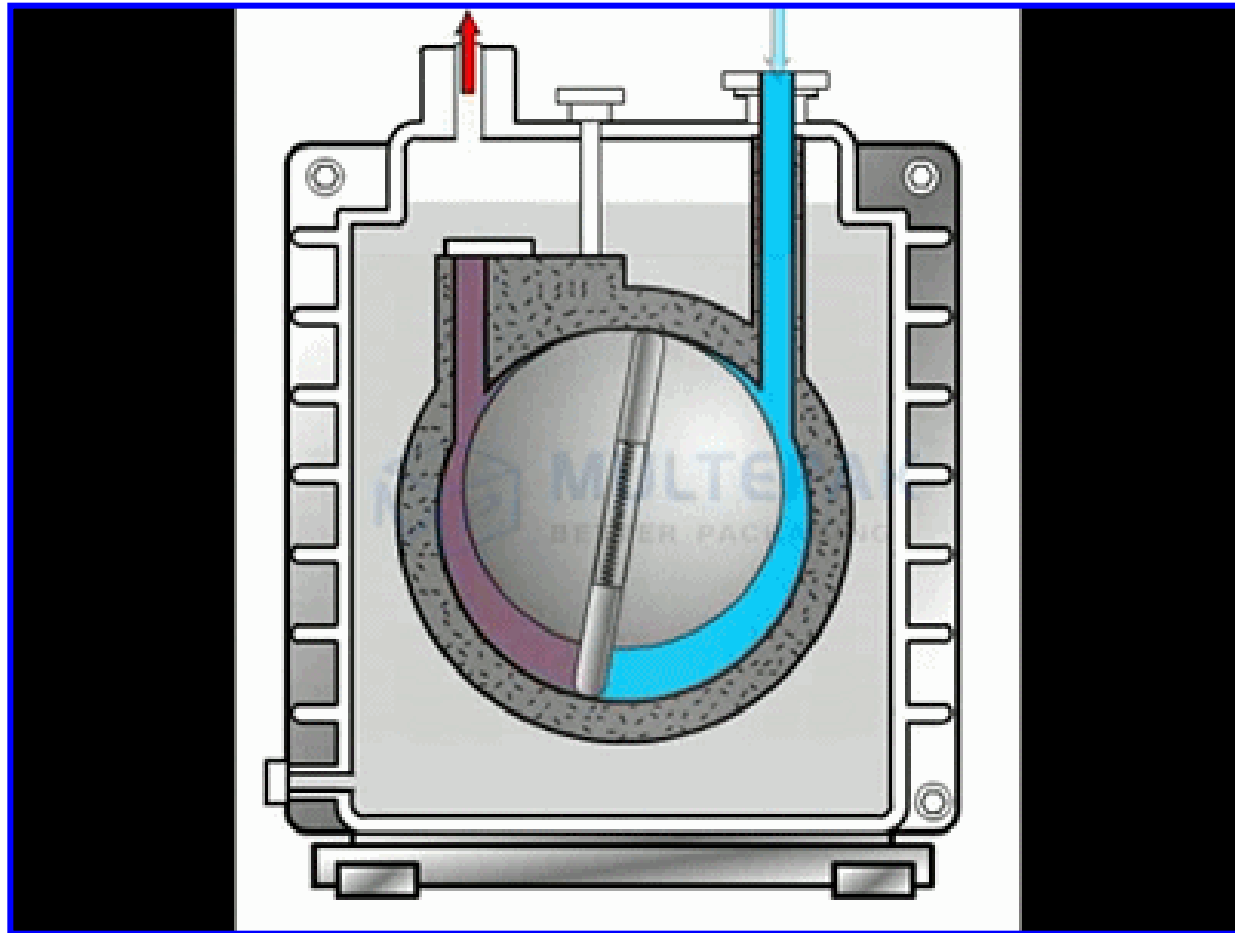
Le molecole di gas vengono forzate verso l'esterno del recipiente da evacuare (collegato attraverso l'inlet) da palette (C e D) collegate ad una molla inserita in una cavità apposita del rotore.

Il gas evacuato passa nella camera V dove la sua pressione aumenta facendo poi aprire la valvola F che ne consente lo sfiato.



Il limite di pressione raggiungibile è di  $10^{-3}$  torr, con una velocità di pompaggio dell'ordine di  $60 \text{ m}^3/\text{h}$ .

## Animazione relativa al funzionamento di una pompa rotativa



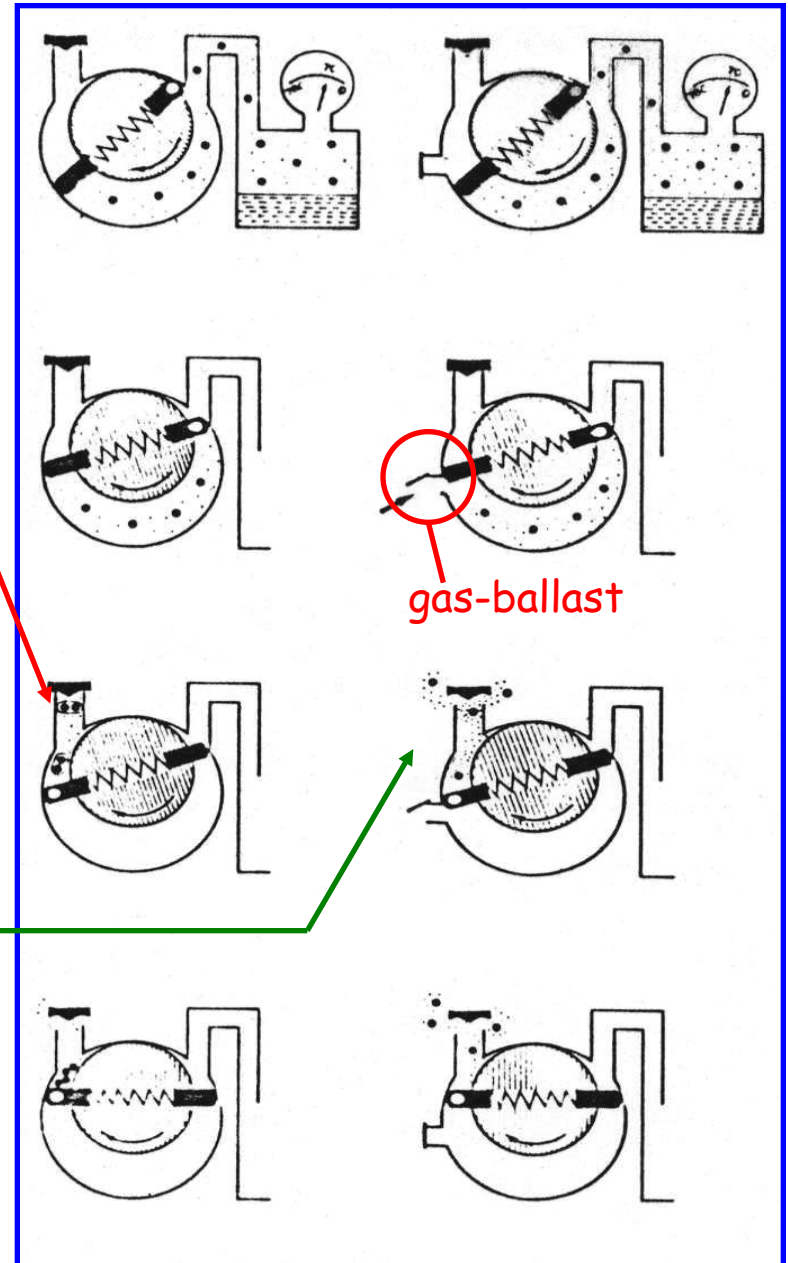


## Uso del dispositivo *gas-ballast*

Se il recipiente da evacuare contiene gas e vapori di un liquido insieme è possibile che i vapori condensino formando goccioline prima che lo sfiato si apra.

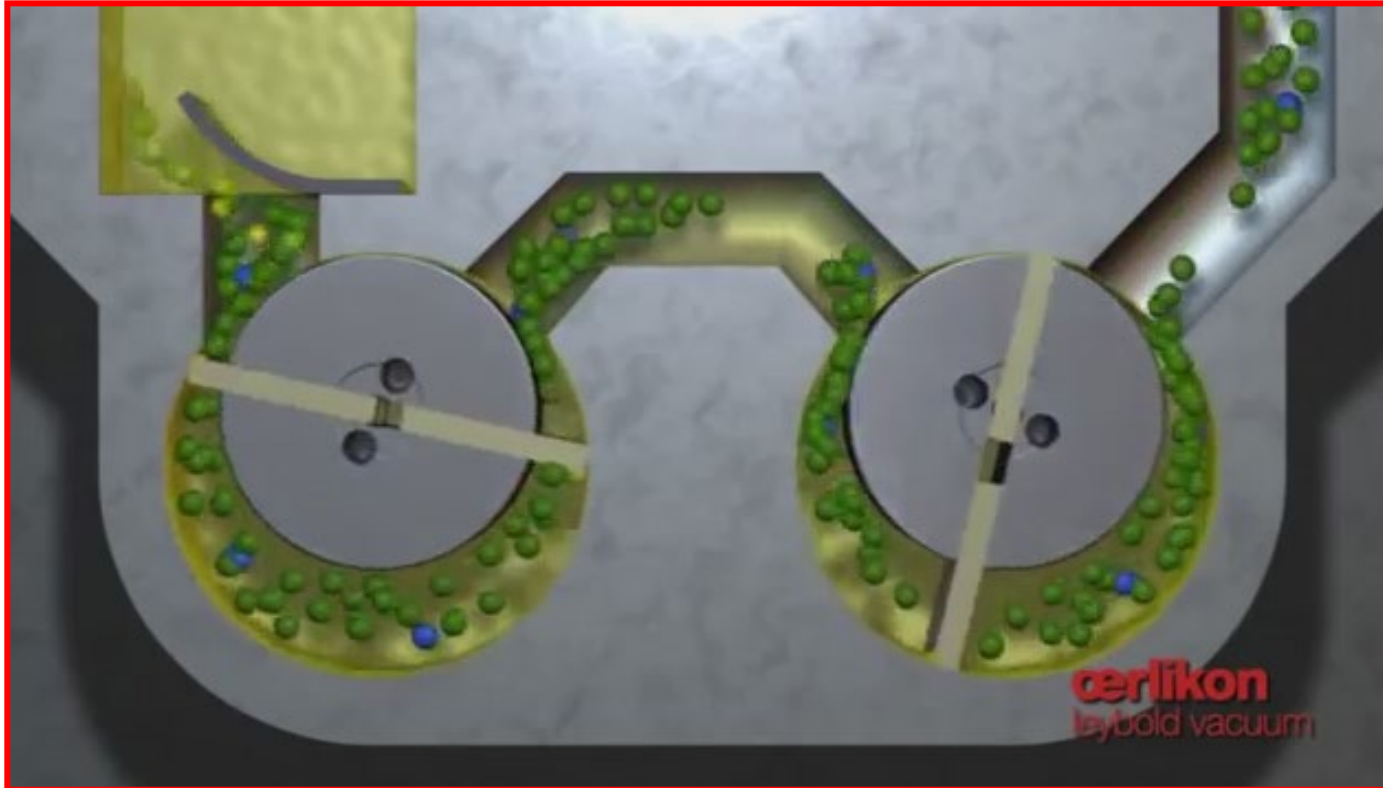
La *gas-ballast* (letteralmente *zavorra gassosa*) è una valvola che permette l'ingresso dall'esterno di aria nella camera di compressione.

La sovrappressione indotta dall'aria esterna fa aprire lo sfiato della pompa prima che i vapori possano condensare.



## Pompe rotative a doppio stadio

In questo caso lo sfiato di una pompa rotativa (quella a destra in figura) è collegato all'ingresso di una seconda pompa rotativa:



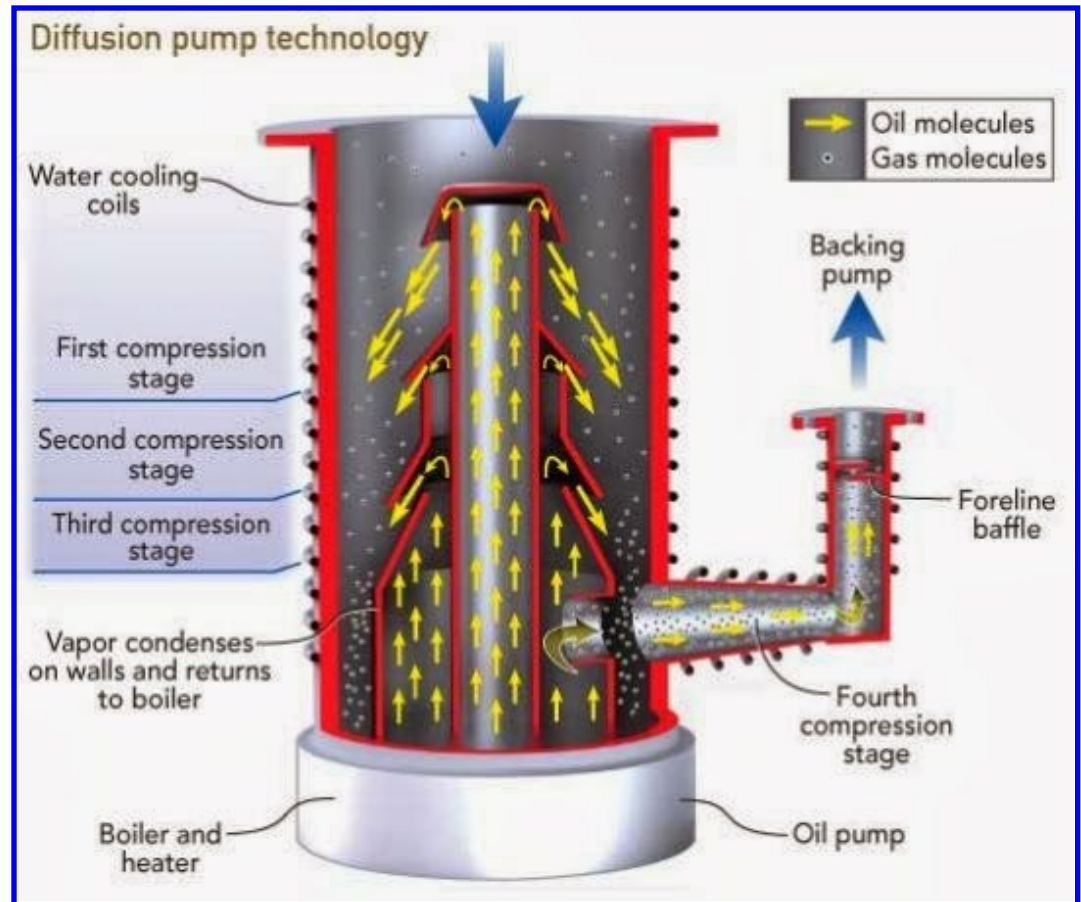
Il limite di pressione raggiungibile è, tipicamente, di  $10^{-5}$  torr.

## Pompe a diffusione in vapori di olio

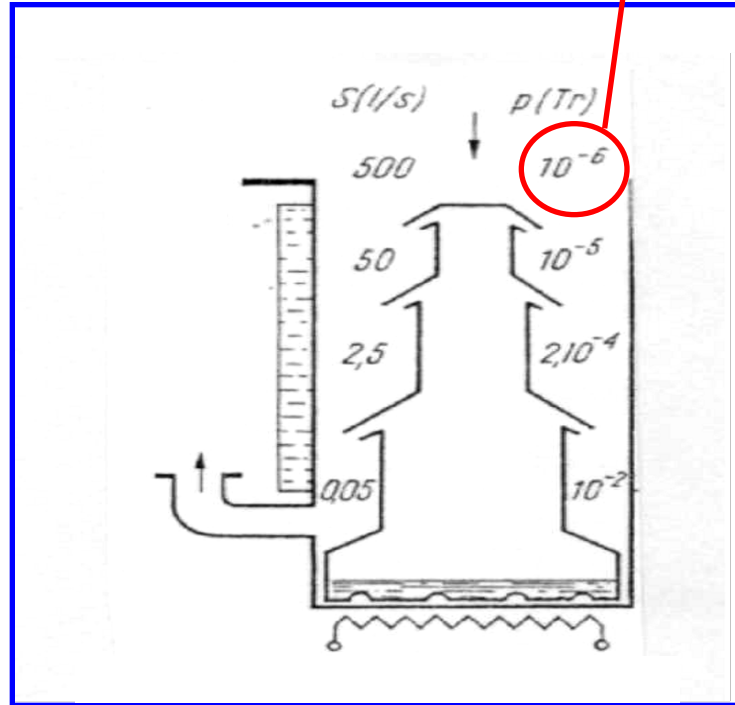
Nelle pompe a diffusione un olio siliconico (o, meno frequentemente, idrocarburico) viene scaldato nel bollitore posto sul fondo, generando un vapore.

Il vapore viene spruzzato ad elevata velocità da opportuni ugelli diretti verso il basso e le molecole del gas da evacuare diffondono al suo interno e ne vengono trasportate verso il basso per essere poi allontanate da una pompa meccanica (ad esempio rotativa).

I vapori di olio ricodensano sulle pareti fredde del corpo della pompa e ricadono all'interno del bollitore.



Le pompe diffusive consentono di ridurre la pressione fino a  $10^{-6}$  torr.



**Vantaggi:** alte velocità di aspirazione (in media qualche decina di l/s), bassa rumorosità

**Svantaggio:** necessità di controllare che non ci sia retro-diffusione di vapori di olio nel volume da evacuare (si usano "trappole" fredde per far ricondensare i vapori).

# Pompe turbomolecolari

Consentono il raggiungimento di pressioni dell'ordine di  $10^{-11}$  torr.

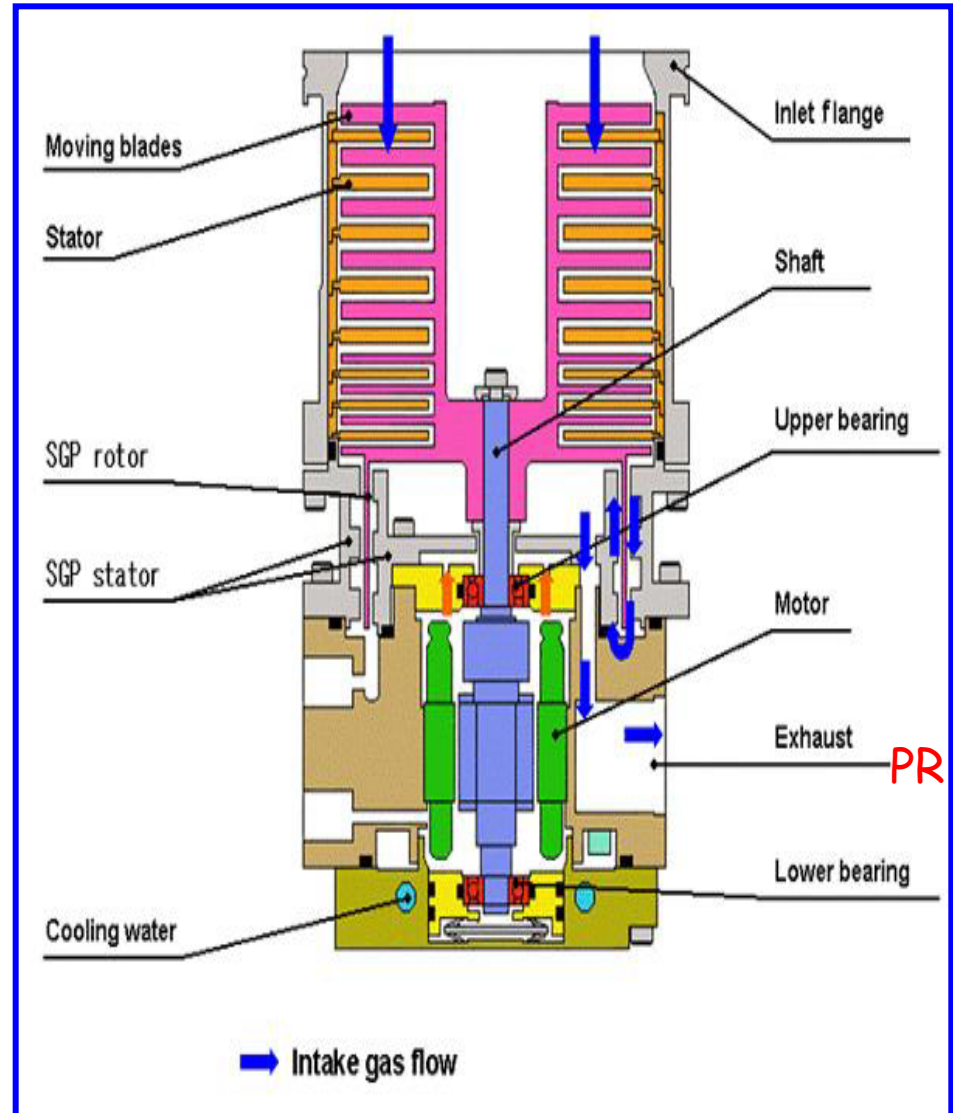
Il funzionamento è analogo a quello delle turbine di un jet:

le molecole di gas vengono rimosse meccanicamente grazie all'azione combinata di due serie di lame alternate lungo l'asse della pompa:

✓ **lame del rotore (moving blades):** ruotano a velocità dell'ordine di 20000-40000 giri/min

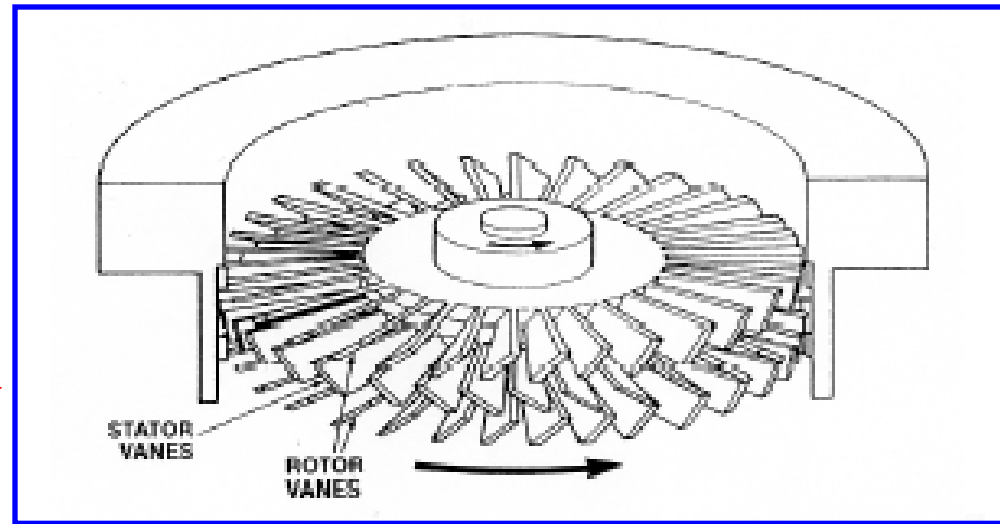
✓ **lame dello statore:** sono solidali con la parete cilindrica della pompa

Sul fondo della pompa è collegata una **pompa rotativa (PR)**, che allontana definitivamente le molecole di gas (*exhaust*).



## Dettaglio delle lame

Le lame del rotore sono inclinate in modo opposto a quelle dello statore, inoltre l'inclinazione va diminuendo man mano che si procede verso il basso.



La combinazione di rotore e statore consente di spingere verso il basso le molecole di gas nonostante la pressione vada aumentando:

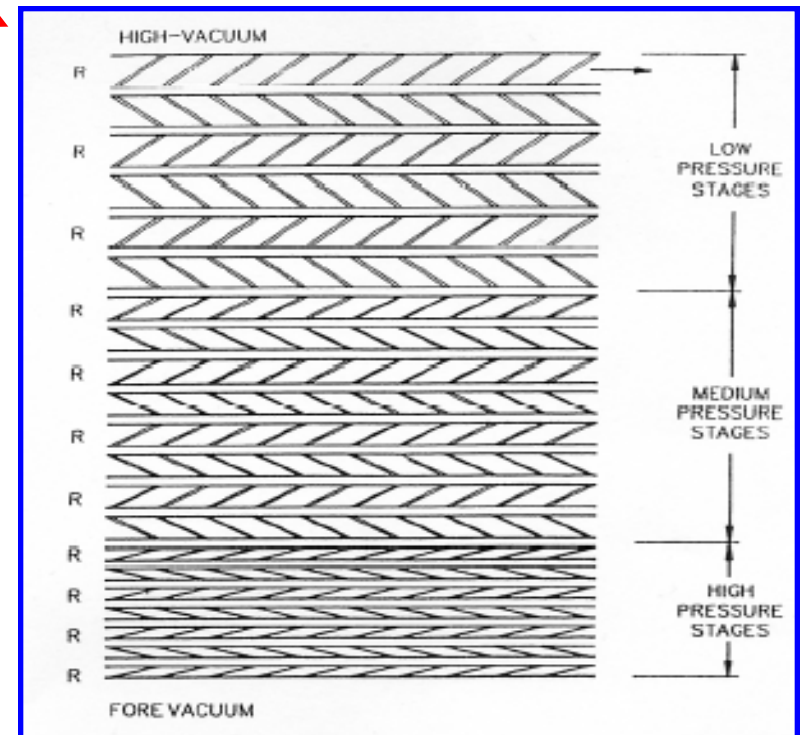
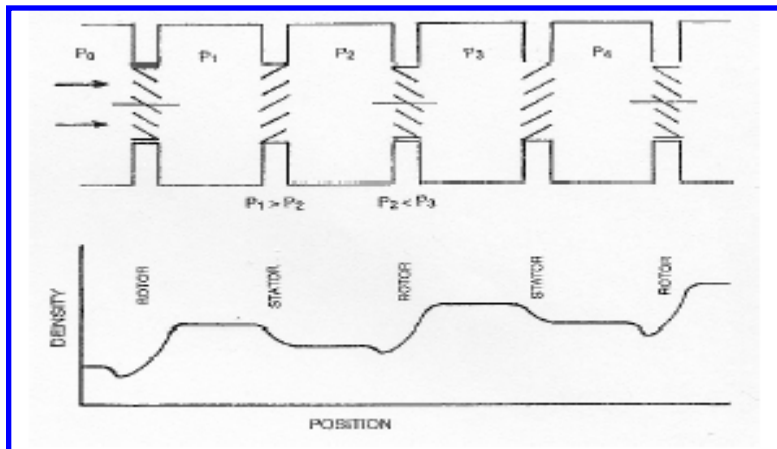


Foto di una pompa turbomolecolare parzialmente sezionata sulla parete della camera cilindrica per mostrare la successione di rotori e statori.





## Vantaggi

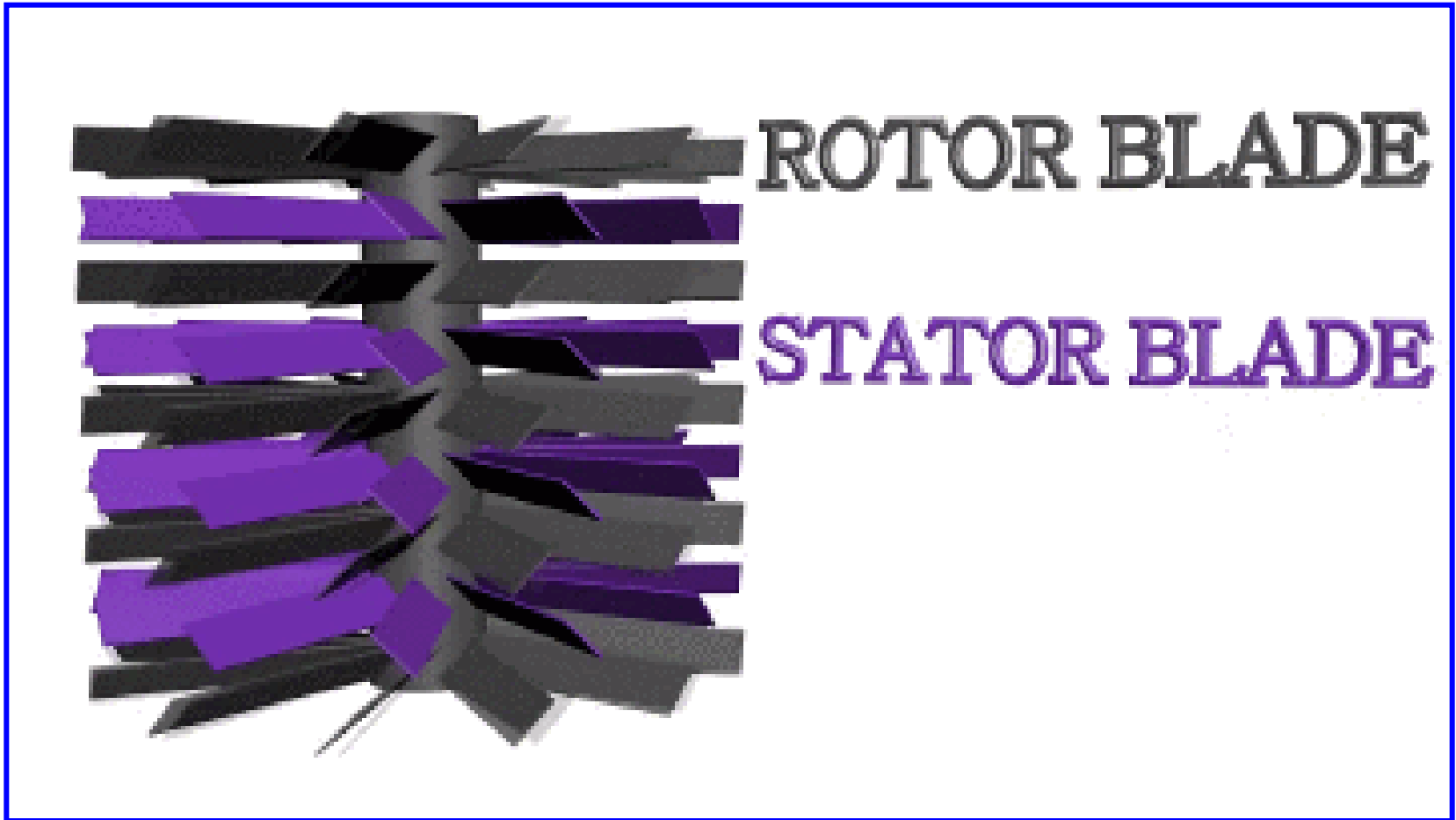
- ✓ altissime velocità di aspirazione (in media **200 l/s**)
- ✓ assenza di fenomeni di retro-diffusione di olio
- ✓ possibilità di avvio e di spegnimento molto rapidi
- ✓ possibilità di montaggio in qualunque posizione (non necessariamente verticale, come per le pompe a diffusione)

## Svantaggi

- ✓ costo elevato rispetto alle altre pompe UHV
- ✓ elevata rumorosità



Animazione relativa al funzionamento di una pompa turbomolecolare

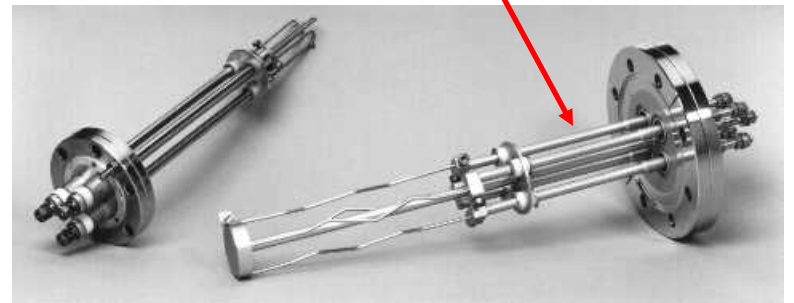
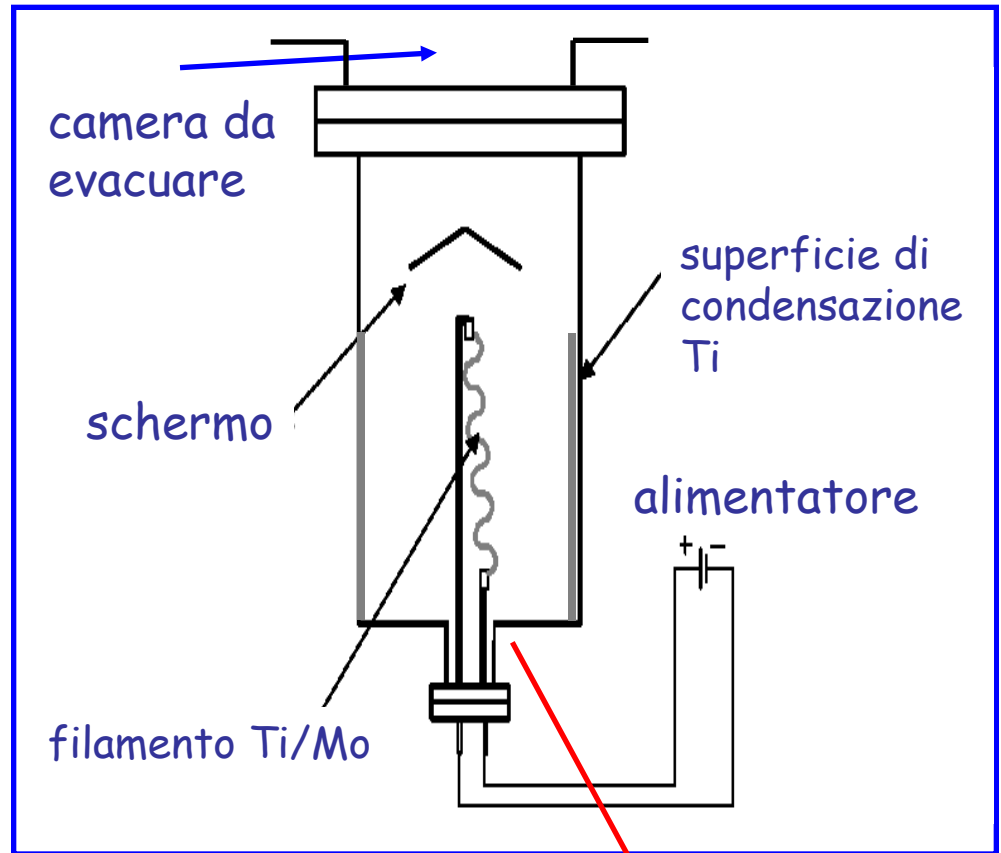


## Pompe a sublimazione di titanio

Vapori di titanio sono generati per sublimazione di un filamento di Ti/Mo (85-15%, w/w) riscaldato sotto vuoto parziale.

Essi vengono successivamente condensati sulle pareti della pompa, raffreddate eventualmente con acqua (20 °C) o con azoto liquido (-173°C).

L'allontanamento dei gas dal volume da evacuare è legato al loro **chemi-adsorbimento sul film di titanio** prodotto.



La capacità di evacuazione dipende dal coefficiente di adesione di un gas sul film di titanio:

☞  $H_2$ ,  $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2O$ ,  $CO$  sono evacuati con velocità prossima a  $10 \text{ L}/(\text{s}\cdot\text{cm}^2)$  sotto raffreddamento con azoto liquido e ad alcuni  $\text{L}/(\text{s}\cdot\text{cm}^2)$  con raffreddamento ad acqua

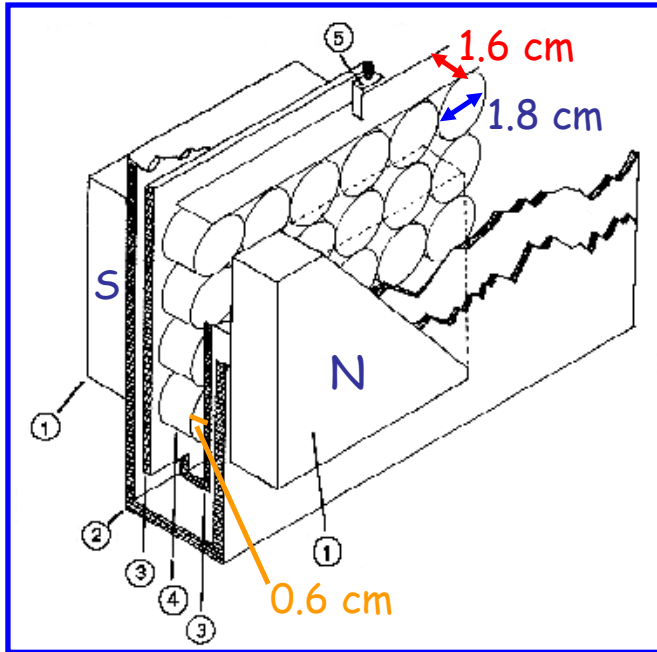
☞ **gas nobili e idrocarburi** non interagiscono con il film di titanio

Le pompe a sublimazione di titanio vengono impiegate di solito per abbassare ulteriormente la pressione in camere già portate in condizioni di vuoto medio-alto, raggiungendo valori finali di  $10^{-9}$ - $10^{-10}$  torr.

Possono essere impiegate in **due modalità**:

- ✓ **intermittente** (*batch sublimation*) - si lascia saturare di gas il film di titanio depositato in precedenza prima di far riprendere la sublimazione
- ✓ **continua** - si ripristina continuamente un film di titanio in grado di adsorbire gas

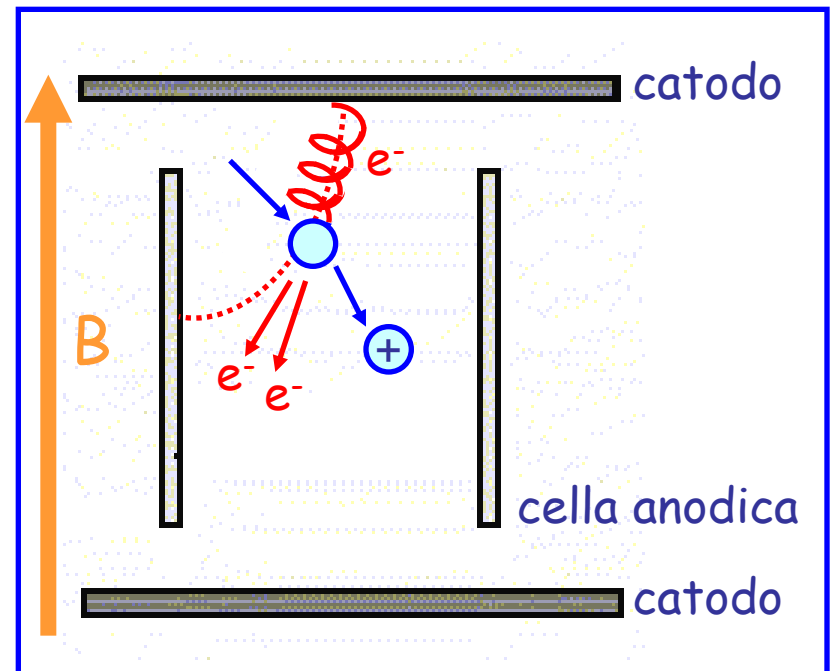
# Pompe ioniche



1. poli di un magnete permanente
  2. camera della pompa
  3. catodi in **titanio**
  4. anodi cilindrici in serie
  5. contatto elettrico per gli anodi
- 3-7 kV

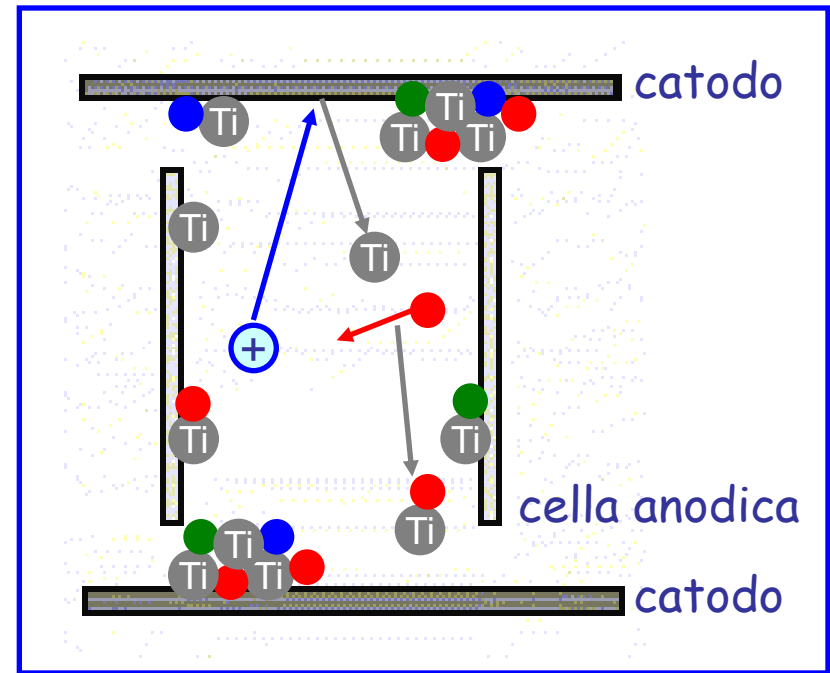
Gli **elettroni** emessi dai catodi percorrono traiettorie elicoidali, per effetto del campo magnetico esterno, mentre raggiungono gli anodi.

Nel loro cammino essi ionizzano le molecole di gas presenti nella pompa.



Gli ioni positivi così generati colpiscono i catodi rilasciando atomi di titanio (*sputtering*), in grado di catturare molecole gassose (come nel caso delle pompe a sublimazione).

Le pompe ioniche hanno un limite di pressione di  $10^{-11}$  torr.



### Vantaggi

- ✓ nessun problema di retro-diffusione di vapori di olio
- ✓ silenziosità
- ✓ possibilità di misurare indirettamente la pressione raggiunta, dalla corrente di scarica fra gli elettrodi

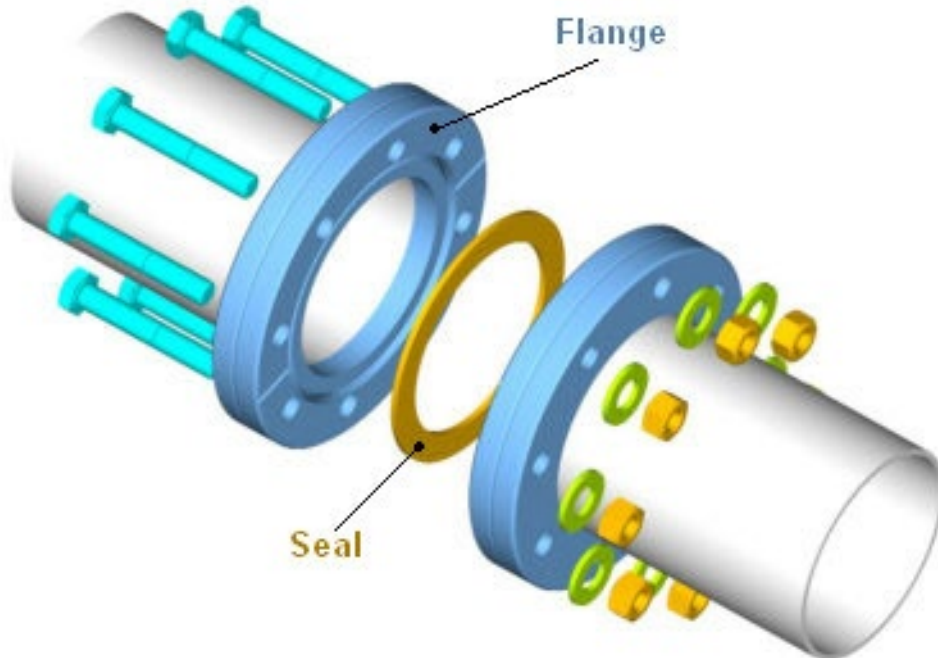
### Svantaggio

- ✓ capacità limitata

## Giunzioni per ultra-alto vuoto

Per assicurare la tenuta in corrispondenza delle giunzioni di un sistema per (ultra)-alto vuoto è necessario inserire **un anello in rame (seal)** nella scanalatura che si crea quando vengono affacciate **le due parti della giunzione (flange)**.

Le viti di serraggio esterne, se serrate correttamente, assicurano il perfetto contatto fra le due flange mentre l'anello in rame impedisce l'ingresso di gas attraverso possibili fessure poste in corrispondenza della giunzione.



# Dispositivi per la misura di basse pressioni: classificazione

Sistema di misura della pressione

totale

parziale

Metodo di misura

**diretto**

si misura la forza esercitata per unità di superficie, **indipendentemente** dalla natura del gas che la esercita

manometro di Bourdon

**indiretto**

si misura una proprietà correlata alla pressione, **dipendente dalla natura del gas**

**conducibilità termica**

Pirani

**ionizzazione**

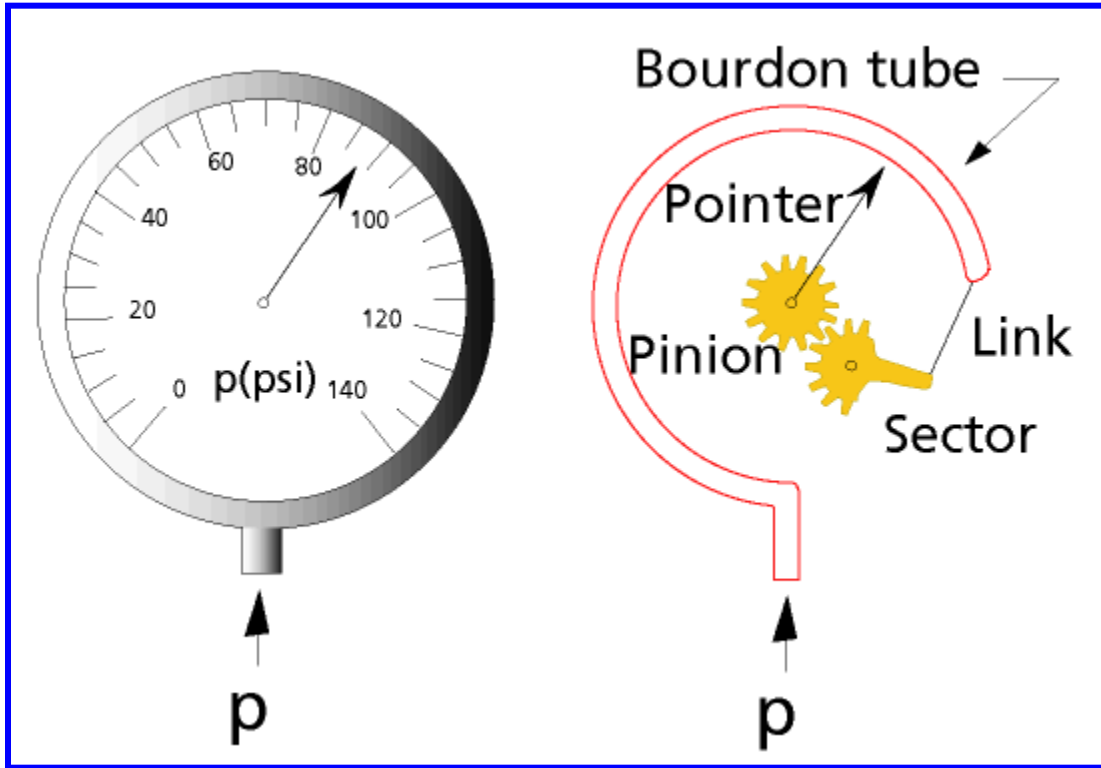
**catodo freddo**

Penning

**catodo caldo**

Bayard-Alpert

## Manometro di Bourdon



Il tubo di Bourdon è un tubicino metallico cavo collegato al recipiente in cui si vuole misurare la pressione ( $P$ ). La variazione di quest'ultima fa flettere il tubicino in modo diverso provocando lo spostamento dell'ago indicatore su una scala tarata (psi = pounds/squared inch = libbre/pollice quadrato = 51.71 torr).

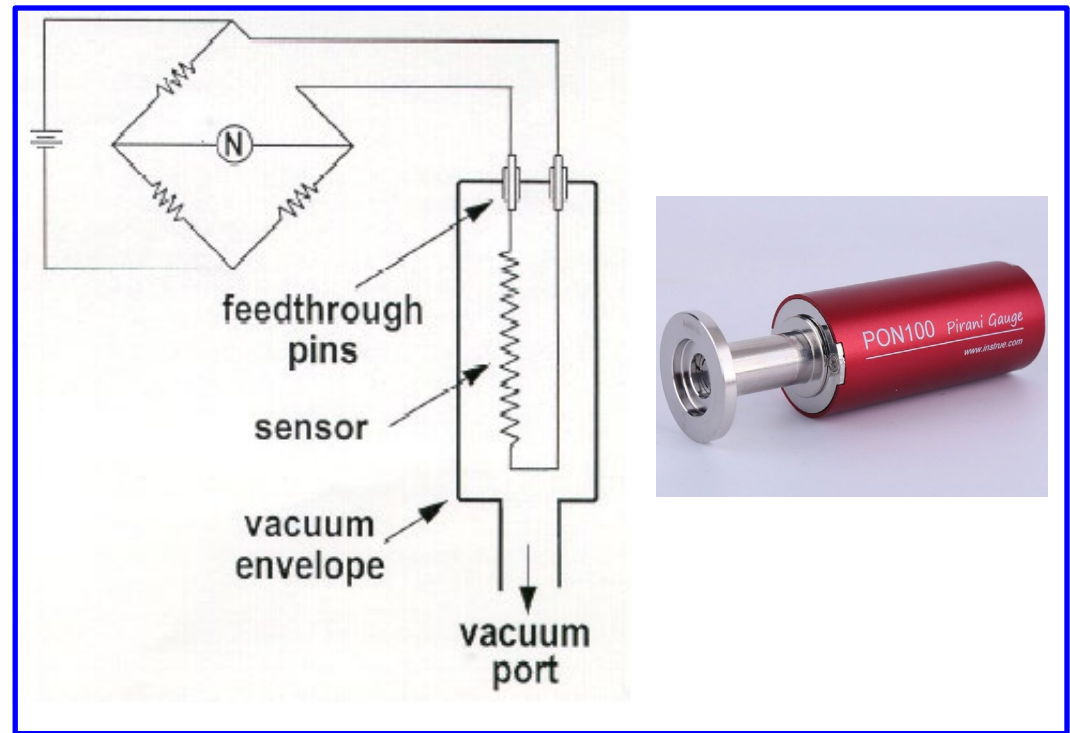
L'intervallo d'impiego tipico è da 10 bar/10 atm/150 psi in giù.



## Manometro a conducibilità termica (Pirani o convectron)

Il principio del manometro di Pirani è analogo a quello dei rivelatori a conducibilità termica per gas-cromatografia.

La variazione di pressione nell'alloggiamento di uno dei filamenti (realizzato in lega Ni/W) riscaldati di un **ponte di Wheatstone** fa sbilanciare il ponte e genera un passaggio di corrente attraverso il misuratore N.



In questo caso la correlazione intensità di corrente/pressione dipende dalla **capacità termica del gas**, quindi i valori di pressione letti possono essere diversi, a parità di intensità di corrente nel ponte di Wheatstone, se cambia il gas residuo presente nella camera da evacuare.

L'intervallo d'impiego tipico per i manometri Pirani è  $1 \cdot 10^{-3}$  torr. Essi hanno tempi di risposta molto bassi (ms) e buona precisione (1-2%).

## Sensori da vuoto a ionizzazione

Quando le pressioni da misurare sono inferiori a  $10^{-3}$  torr i metodi di misura meccanici o basati sul trasporto di calore diventano inutilizzabili.

Si sfrutta quindi la misura dell'intensità di corrente associata agli ioni generati a partire dalle molecole/atomi del gas presente nel recipiente sotto vuoto.

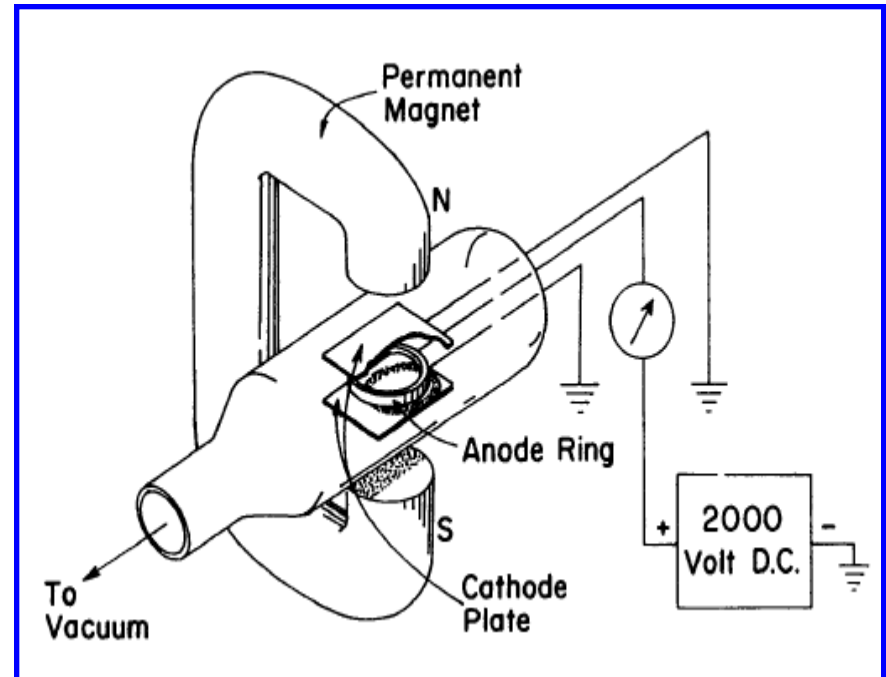
### Sensori a catodo freddo (Penning)

La configurazione strumentale è molto simile a quella delle pompe ioniche.

L'intensità di corrente della scarica Penning è correlabile alla pressione mediante taratura; la dipendenza è quasi lineare:

$I = kP^n$ , con  $n$  compreso fra 1 e 1.4

L'intervallo operativo è  $10^{-3}$ - $10^{-8}$  torr.



Andamento dell'intensità di corrente in funzione della pressione in un sensore Penning:

a pressioni elevate l'elevato potenziale applicato fra catodo e anodo induce l'accensione di un plasma sostenuto dal gas residuo presente nella camera evacuata e, di fatto, la corrente non è più proporzionale alla pressione, anzi, tende a diminuire al suo aumento.

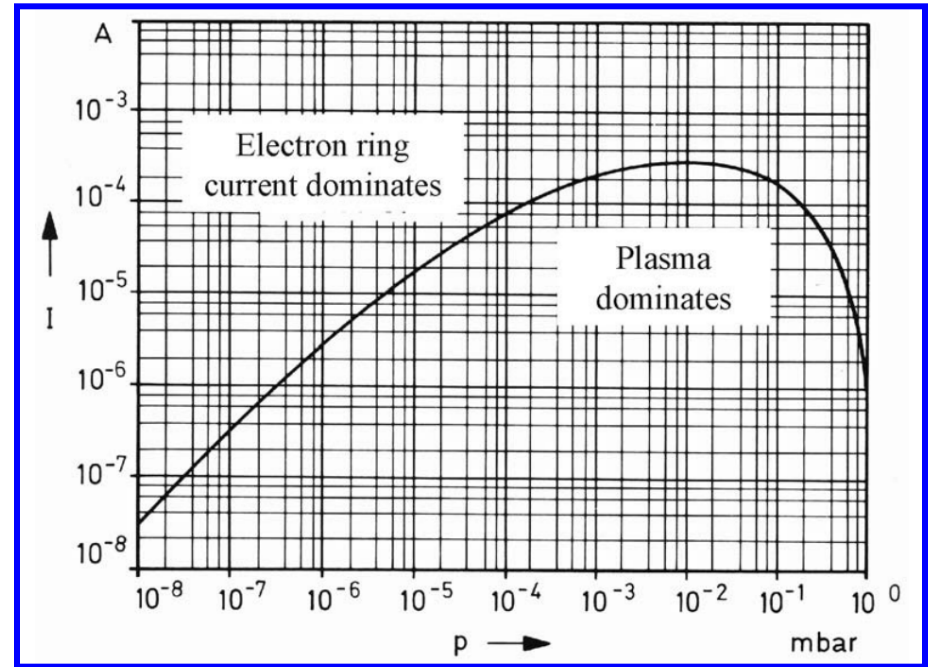


Foto di modelli di sensori Penning



## Sensori a catodo caldo

Sono in assoluto i sensori più diffusi per la misura di pressioni nell'ultra-alto vuoto.

In questo caso un catodo di W (o Ir), riscaldato a 1000 °C, emette elettroni per effetto termoionico.

Gli elettroni vengono accelerati verso un anodo a griglia e nel loro cammino possono interagire con le molecole gassose ionizzandole.

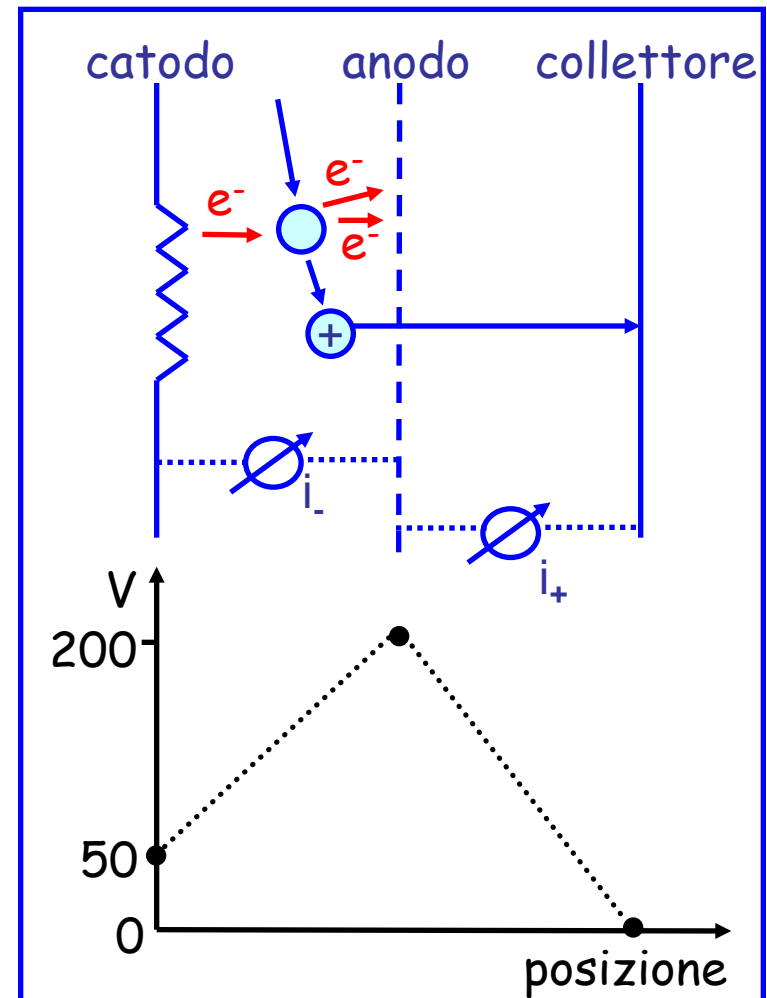
Gli ioni positivi così generati vengono raccolti sul collettore dando origine ad un'intensità di corrente ( $i_+$ ) che è correlata alla pressione:

$$i_+ = S i_- P$$

dove:

$i_-$  = corrente dovuta agli elettroni (0.1-10 mA)

$S$  = sensibilità della pompa



Esistono quattro diverse configurazioni per i sensori a catodo caldo:

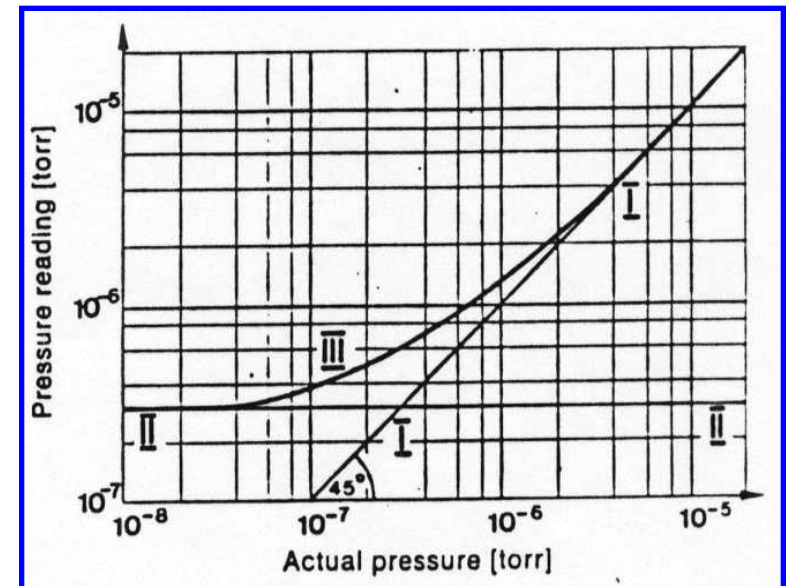
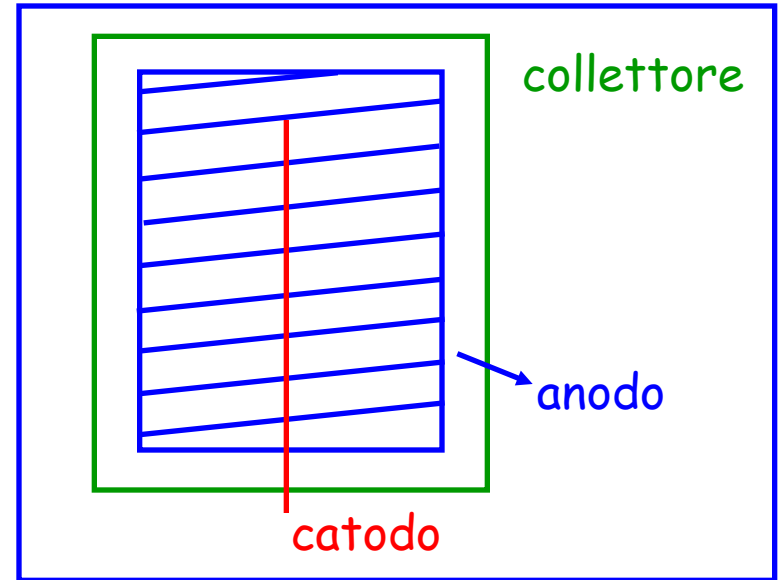
### Configurazione convenzionale

L'anodo è una spirale cilindrica al centro della quale è posto il catodo, mentre il collettore è posto all'esterno.

In questo caso la risposta del sensore è influenzata da due effetti:

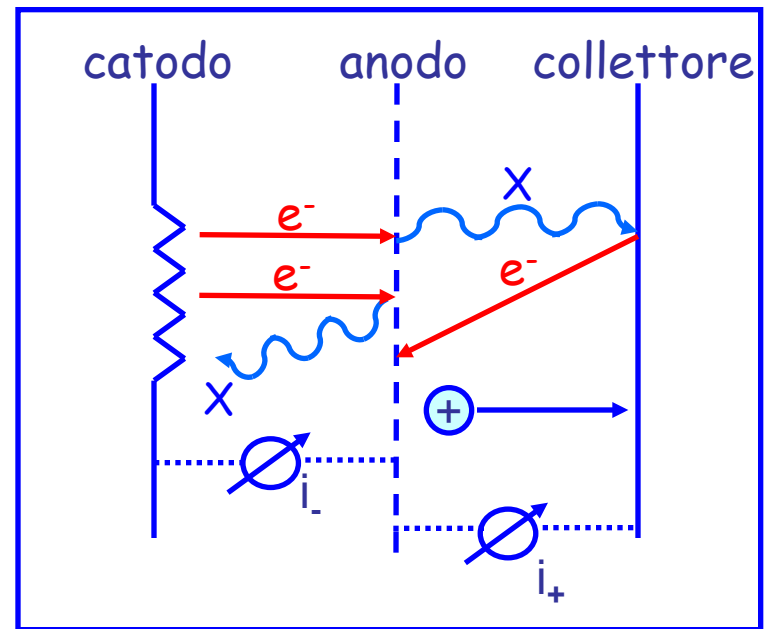
- ✓ emissione di raggi X
- ✓ desorbimento di ioni

Il risultato di tali due effetti (II) è un'apparente aumento di corrente nel circuito anodo-collettore ( $i_+$ ) e quindi un valore di pressione (III) più elevato di quello reale (actual pressure, I), a partire da  $10^{-5}$  torr.



## Effetto raggi X

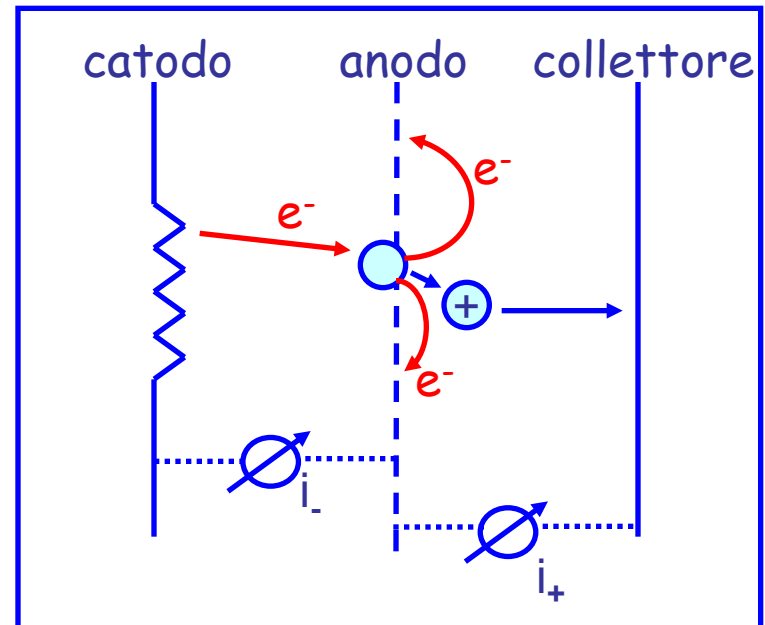
Colpendo l'anodo gli elettroni emettono fotoni X in tutte le direzioni. Se questi colpiscono il collettore stimolano l'emissione di altri elettroni che tenderanno a tornare all'anodo, facendo aumentare la corrente ( $i_+$ ) nel circuito anodo-collettore e quindi il valore di pressione letto.



## Desorbimento di ioni

Gli elettroni emessi dal catodo possono colpire atomi/molecole di gas adsorbiti sull'anodo ionizzandoli.

Gli ioni così generati vengono raccolti dal collettore, facendo aumentare la corrente ( $i_+$ ) nel circuito anodo-collettore.



## Configurazioni Bayard-Alpert per i sensori a catodo caldo

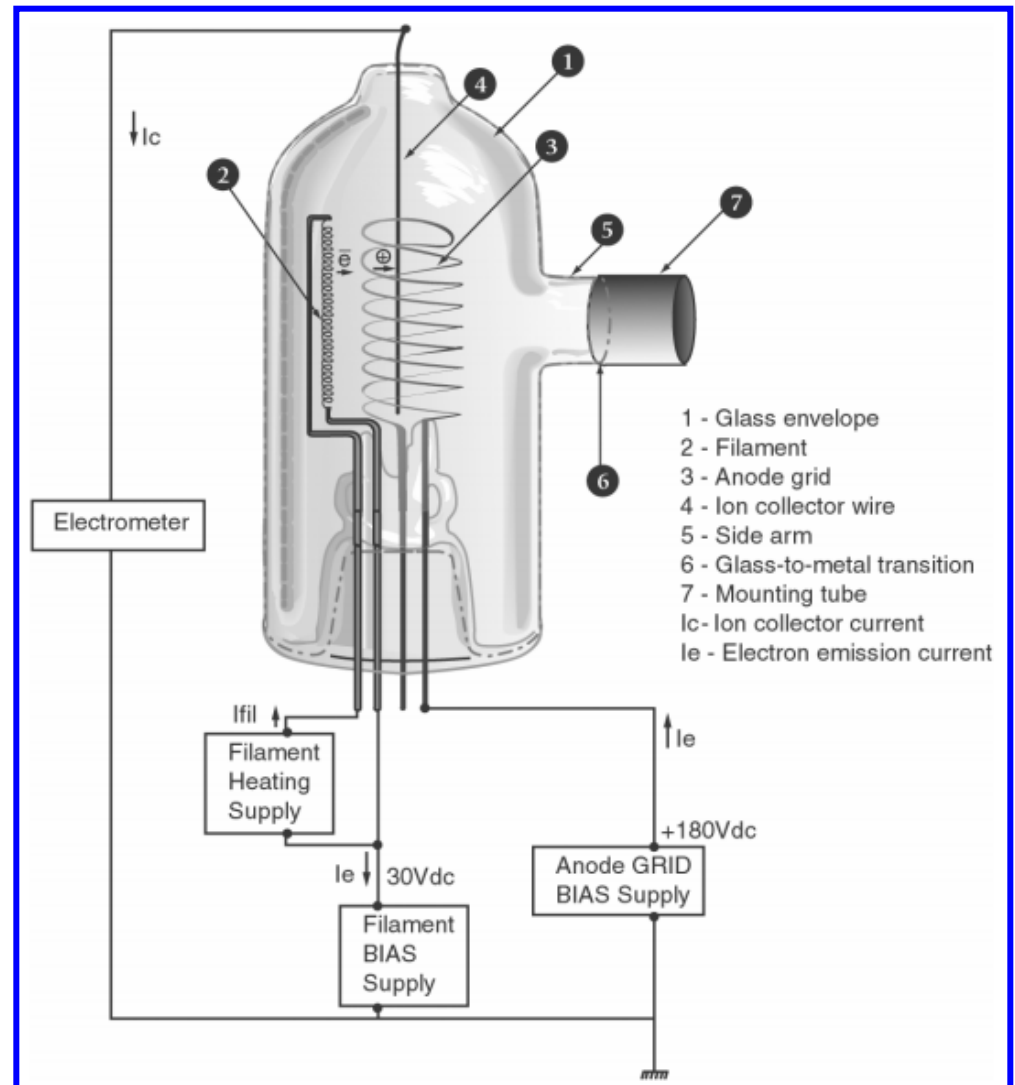
L'effetto raggi X e il desorbimento di ioni possono essere ridotti rendendo il **collettore filiforme** e cambiando la disposizione degli elettrodi:

Il collettore filiforme (4) riduce statisticamente la probabilità di interazione con i fotoni X emessi dall'anodo a griglia (3).

Resta inalterato l'effetto del desorbimento di ioni.

Nel complesso la **minima pressione misurabile in modo affidabile** scende a  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  torr.

Il sensore viene collegato direttamente alla camera in cui si vuole misurare la pressione.

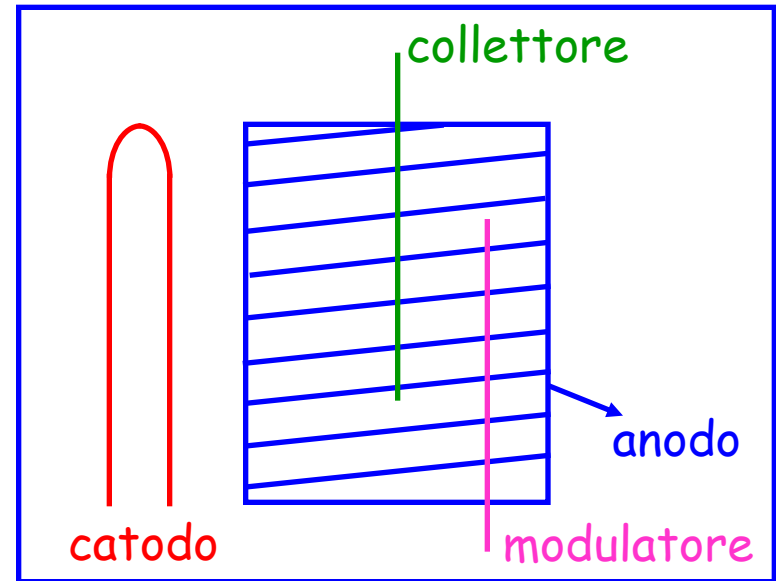


## Sensore Bayard-Alpert con modulatore

Il modulatore è un ulteriore elettrodo filiforme, analogo al collettore, anch'esso inserito all'interno della spirale dell'anodo.

Se il potenziale del modulatore è uguale a quello dell'anodo risulta:

$$P_{\text{misurata}} = P_{\text{vera}} + P_{\text{raggi X, des}}$$



Se il potenziale del modulatore è uguale a quello del collettore risulta:

$$P_{\text{misurata}}^{\text{PM}} = P_{\text{vera}}^{\text{PM}} + P_{\text{raggi X, des}}$$

perché il contributo dei raggi X e del desorbimento di ioni non cambia in modo significativo fra i due casi.



Combinando le due equazioni e definendo  $\alpha = P_{\text{vera}}^M / P_{\text{vera}}$  si ricava:

$$P_{\text{vera}} = (P_{\text{misurata}} - P_{\text{misurata}}^M) / (1 - \alpha)$$

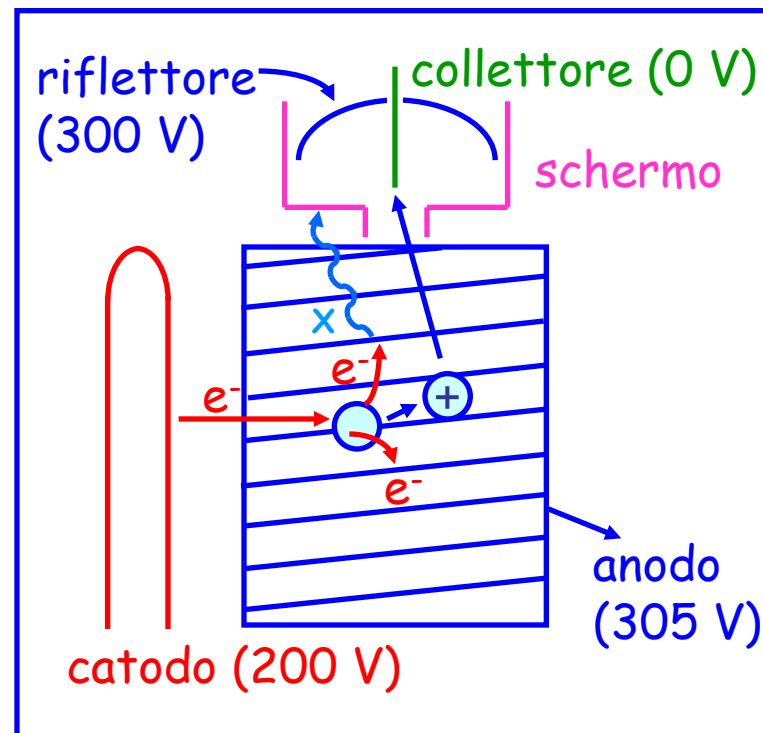
Il rapporto  $\alpha$  è legato alla geometria del sensore e alle dimensioni degli elettrodi e può essere determinato dalla misura della pressione con il modulatore posto prima al potenziale dell'anodo e poi a quello del collettore in condizioni in cui il contributo  $P_{\text{raggi X, des}}$  sia trascurabile ( $P > 10^{-5}$  torr).

Il sensore Bayard-Alpert con modulatore può misurare pressioni fino a  $10^{-11}$  torr.

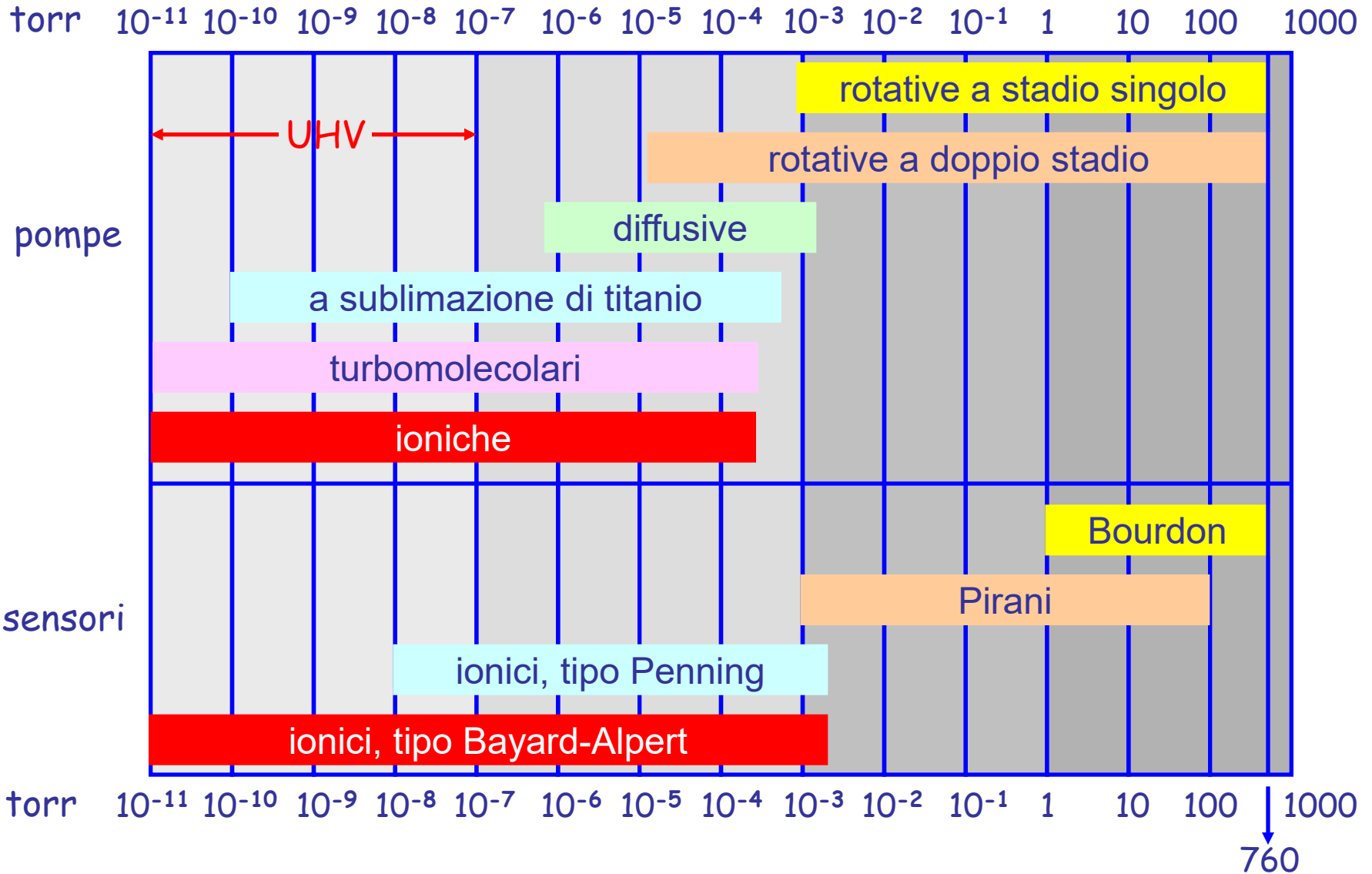
### Sensore Bayard-Alpert con estrattore

L'estrattore è dato dalla combinazione di uno schermo anti-raggi X e un elettrodo a calotta (riflettore) al centro del quale è collocato il collettore e posto ad un potenziale leggermente inferiore a quello dell'anodo. Il riflettore tende (come uno specchio) a concentrare gli ioni positivi sul collettore.

Il catodo è solitamente esterno all'anodo.

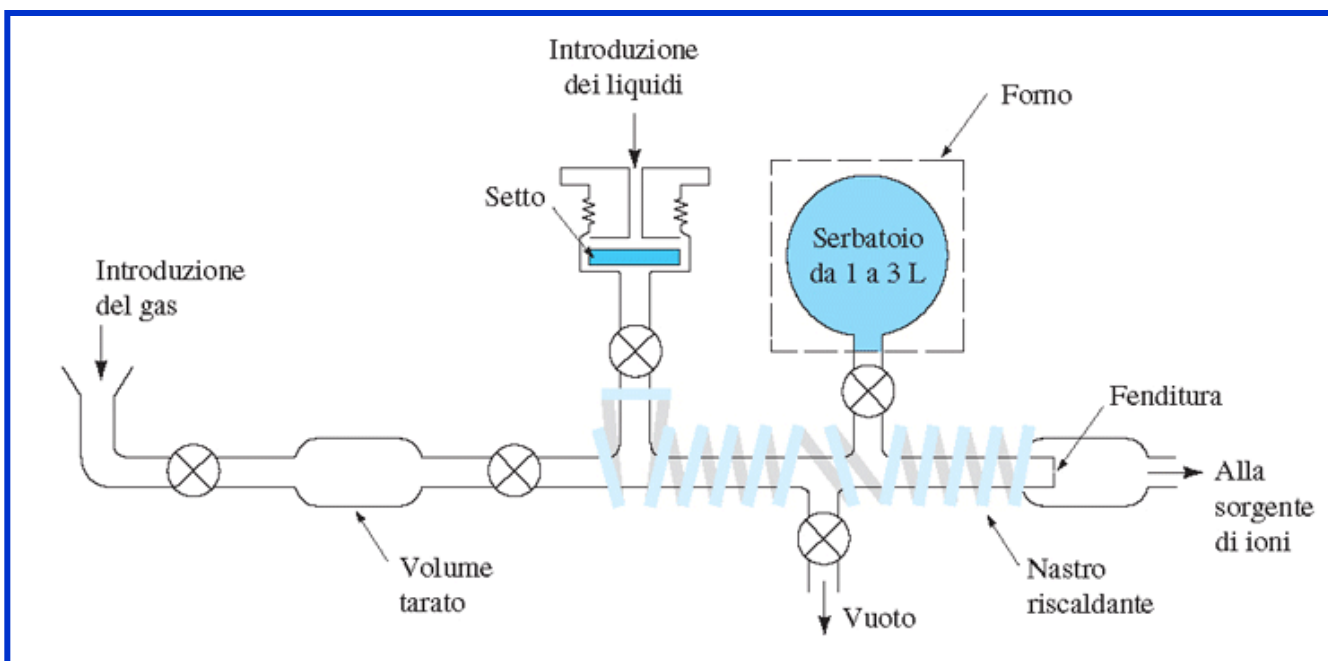


# Intervalli di applicazione di pompe e sensori da vuoto



# Introduzione del campione in spettrometria di massa

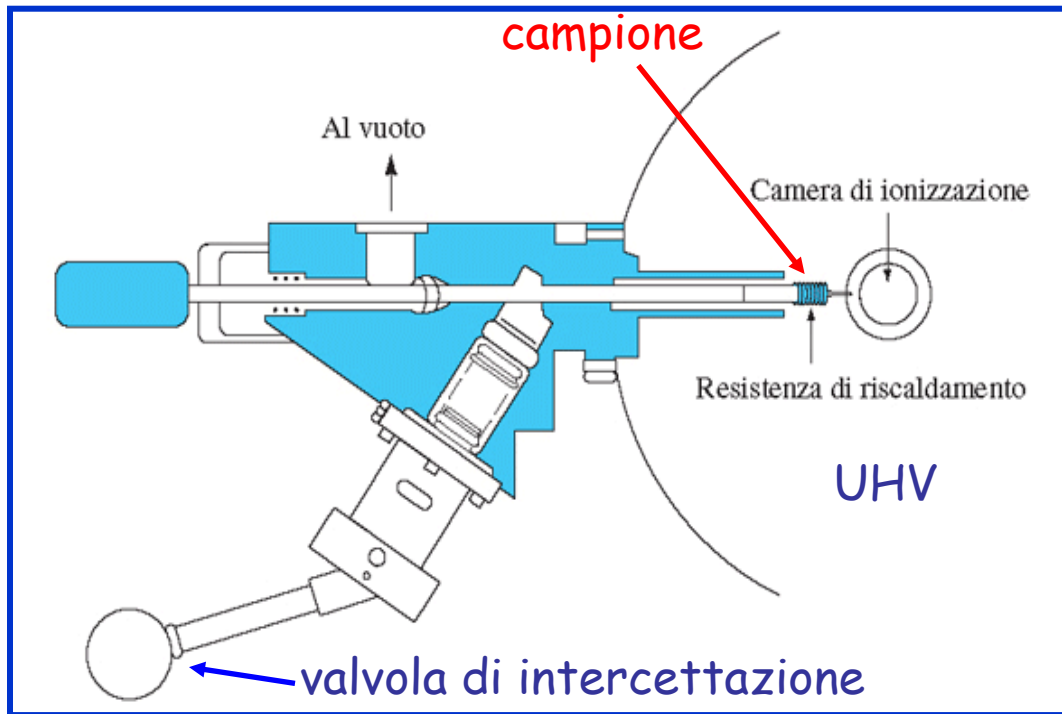
## Introduzione di campioni gassosi o costituiti da liquidi volatili



I **campioni gassosi** vengono immessi direttamente, dopo essere stati confinati in un volume tarato.

I **campioni liquidi** più volatili vengono invece iniettati attraverso un setto e poi vaporizzati per riscaldamento. Quelli meno volatili possono essere riscaldati in un forno ad elevato volume e fatti evaporare sotto vuoto.

## Introduzione di campioni solidi o liquidi poco volatili



Il campione viene caricato all'estremità di un tubicino capillare (vetro/alluminio) introdotto poi meccanicamente all'interno dello spettrometro.

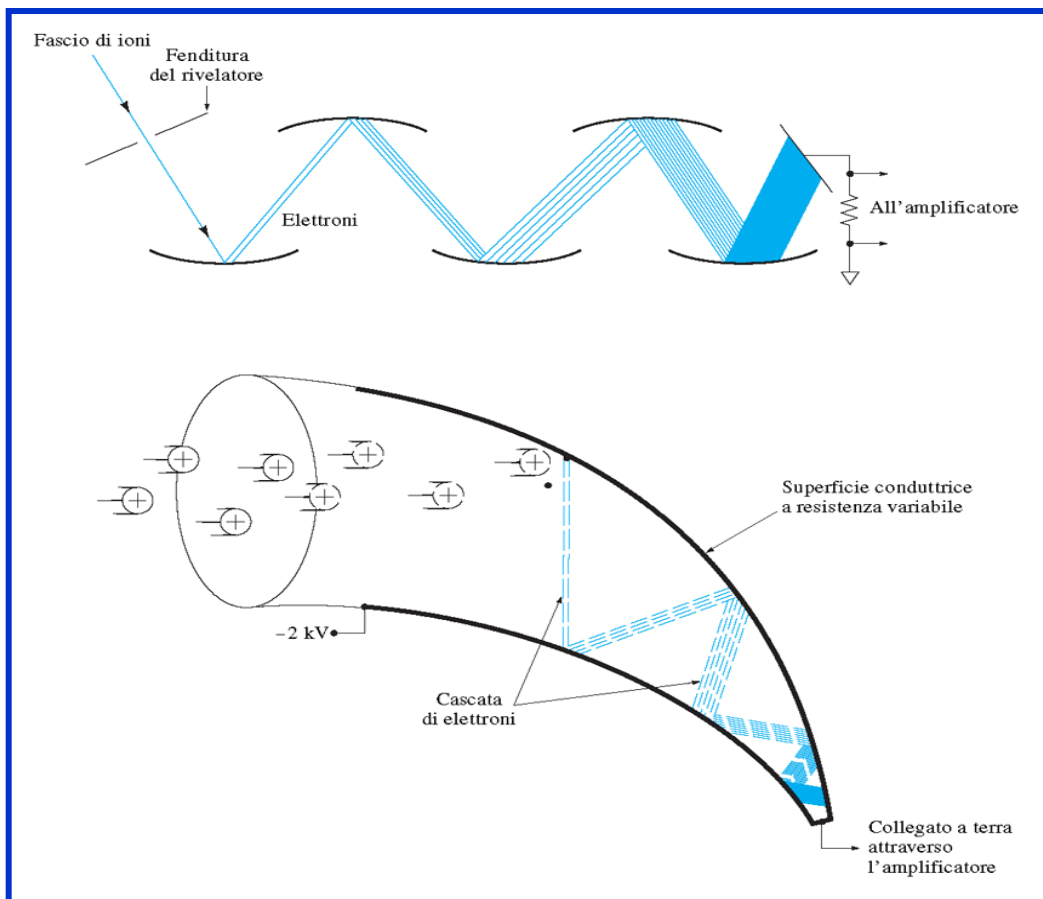
La valvola di intercettazione si chiude al momento dell'estrazione del tubicino, impedendo la comunicazione fra l'esterno e l'interno e si riapre al momento dell'introduzione.

L'estremità del tubicino viene riscaldata per favorire l'evaporazione o la sublimazione del campione proprio in prossimità dell'ingresso della camera di ionizzazione.

# Rivelatori di ioni

## Moltiplicatori di elettroni

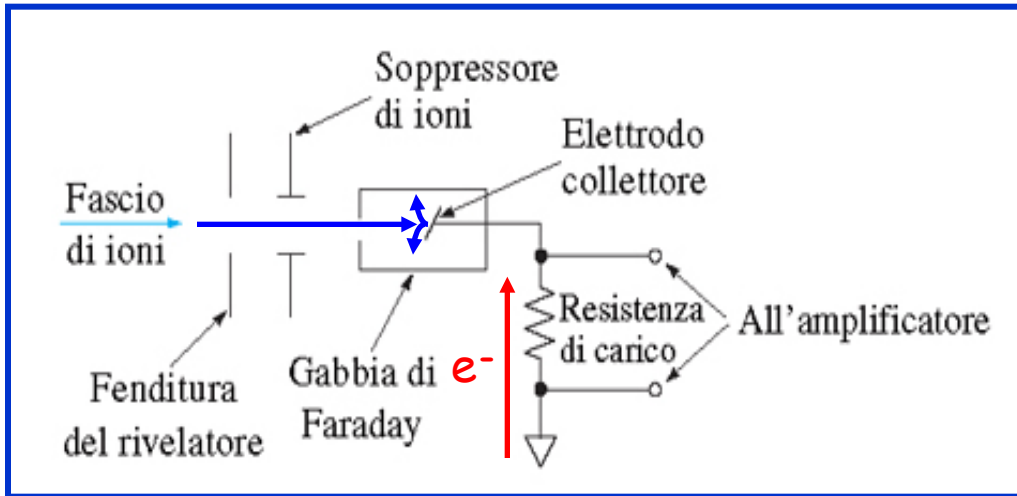
Il principio della rivelazione di ioni è identico a quello su cui si basano i fotomoltiplicatori:



Moltiplicatore di elettroni a dinodi separati (fino a 20 dinodi, guadagno massimo:  $10^7$ )

Moltiplicatore di elettroni continuo o channeltron (massima tensione 2 kV, guadagno da  $10^5$  a  $10^8$ )

## Coppa (gabbia) di Faraday



Gli ioni (positivi) provenienti dall'analizzatore vengono in parte focalizzati su un elettrodo collettore collegato alla terra, in parte riflessi verso una **gabbia di Faraday**, che circonda l'elettrodo collettore ed è anch'essa collegata a terra.

Essi vengono neutralizzati da elettroni provenienti dalla terra che generano una corrente elettrica misurabile in termini di caduta ohmica ( $V = R \cdot I$ ) su una **resistenza di carico** e successivamente amplificabile.

Il **soppressore ionico** è un elettrodo mantenuto a potenziale negativo, per raccogliere ioni (positivi) divergenti rispetto alla direzione del fascio.

Nel caso della **rivelazione di ioni negativi** elettroni vengono rilasciati sulla gabbia e raggiungono la terra spostandosi in verso opposto a quello indicato in figura. **All'ion suppressor è applicato un potenziale positivo**, in tal caso.

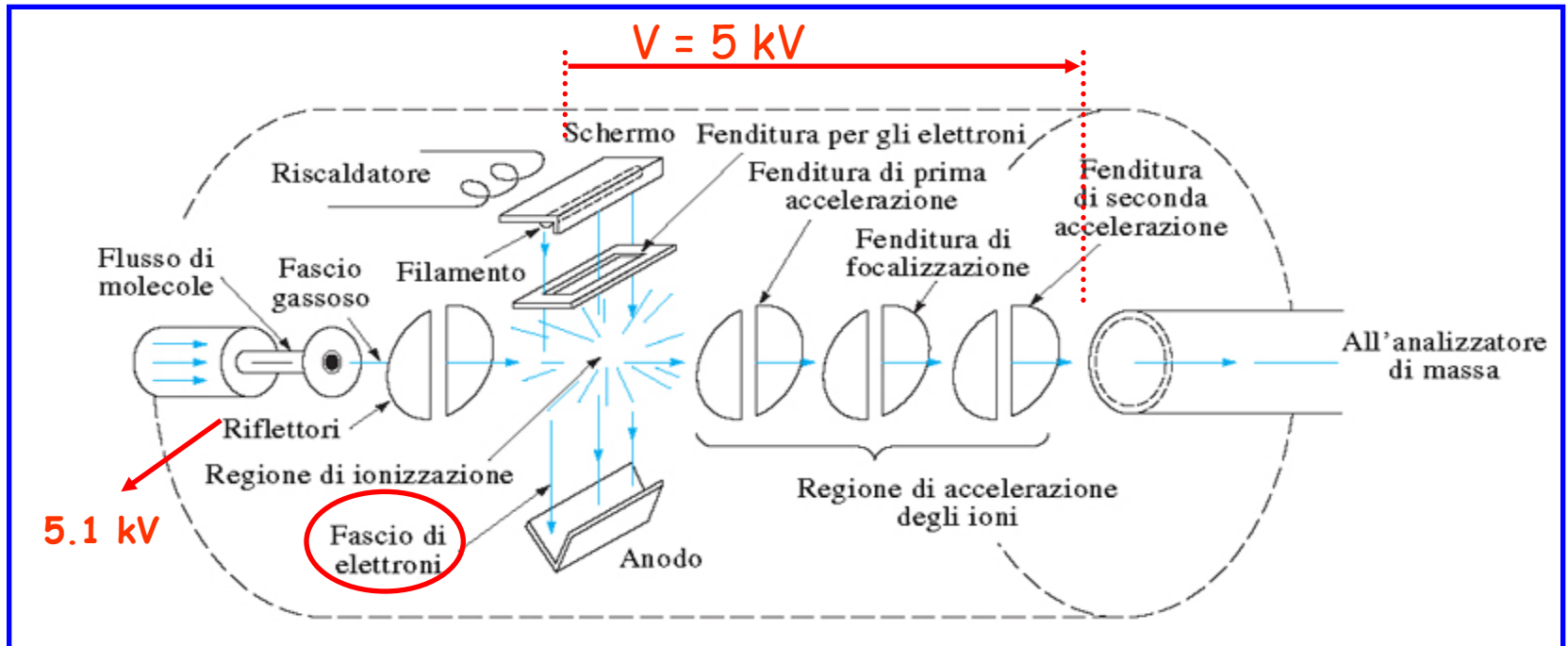
La coppa di Faraday risponde più lentamente e con minore sensibilità rispetto ai moltiplicatori di elettroni.

## Sorgenti di ioni

Meccanismo	Nome/Acronimo	Agente ionizzante
Ionizzazione in fase gassosa	Ionizzazione elettronica (EI)	Elettroni ad alta energia
	Ionizzazione chimica (CI)	Ioni reattivi
	Ionizzazione di campo (FI)	Potenziale elevato
Desorbimento	Desorbimento di campo (FD)	Potenziale elevato
	Bombardamento con atomi veloci (FAB)	Atomi ad elevata energia
	Desorbimento in plasma (PD)	Prodotti di fissione del $^{252}\text{Cf}$
	Ionizzazione elettrospray (ESI)	Potenziale elevato
	Ionizzazione laser assistita dalla matrice (MALDI)	Laser

## Ionizzazione elettronica (EI)

È stato il **primo metodo di ionizzazione introdotto** nella spettrometria di massa (1920).



**Elettroni prodotti da un filamento per effetto termoionico** vengono usati come "proiettili" (angolo di "impatto":  $90^\circ$ ) contro le molecole di analita in fase gassosa.

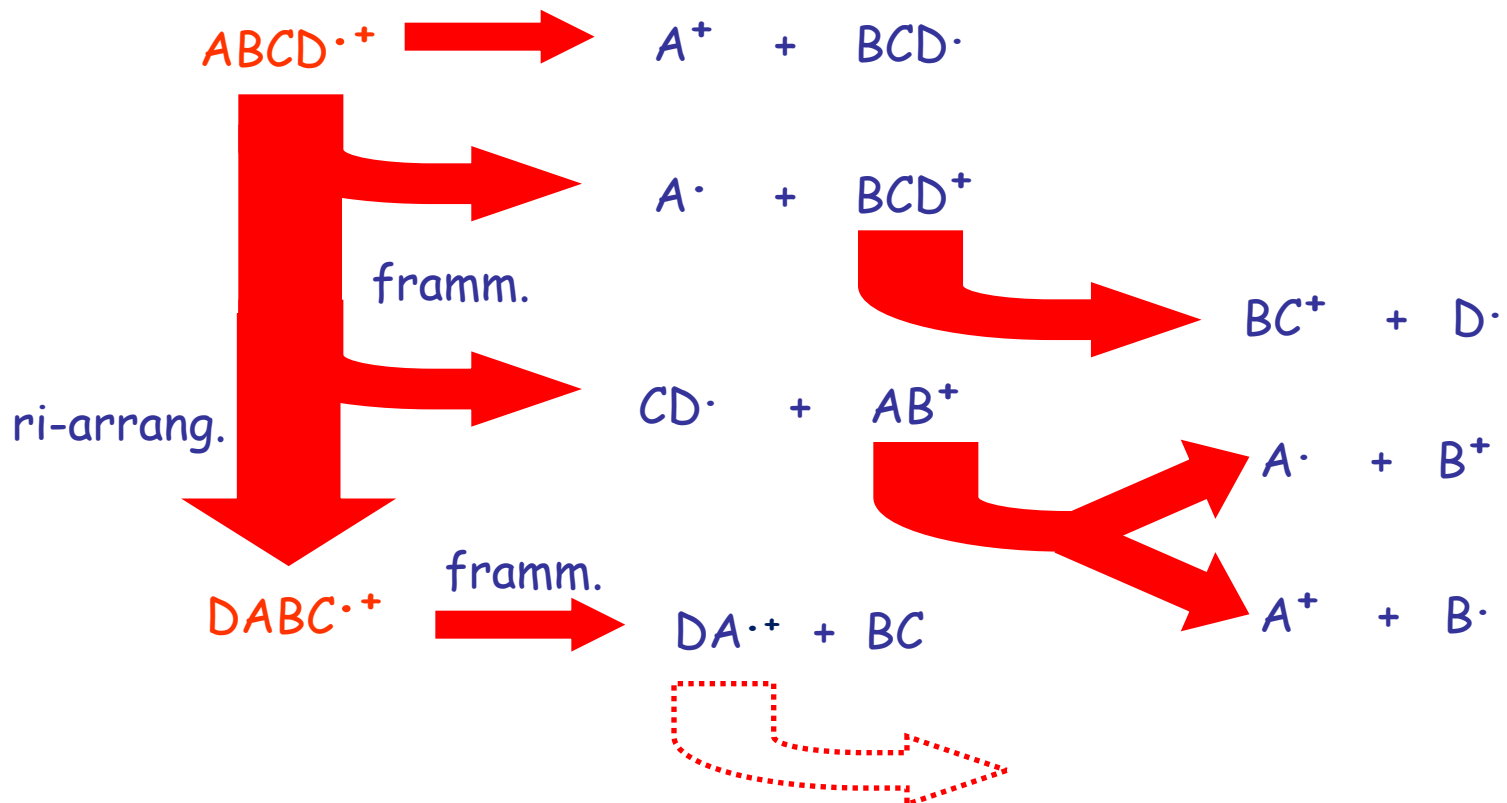
L'interazione fra molecole ed elettroni genera ioni positivi che vengono poi accelerati verso l'analizzatore di massa da una tensione di almeno 5 kV.



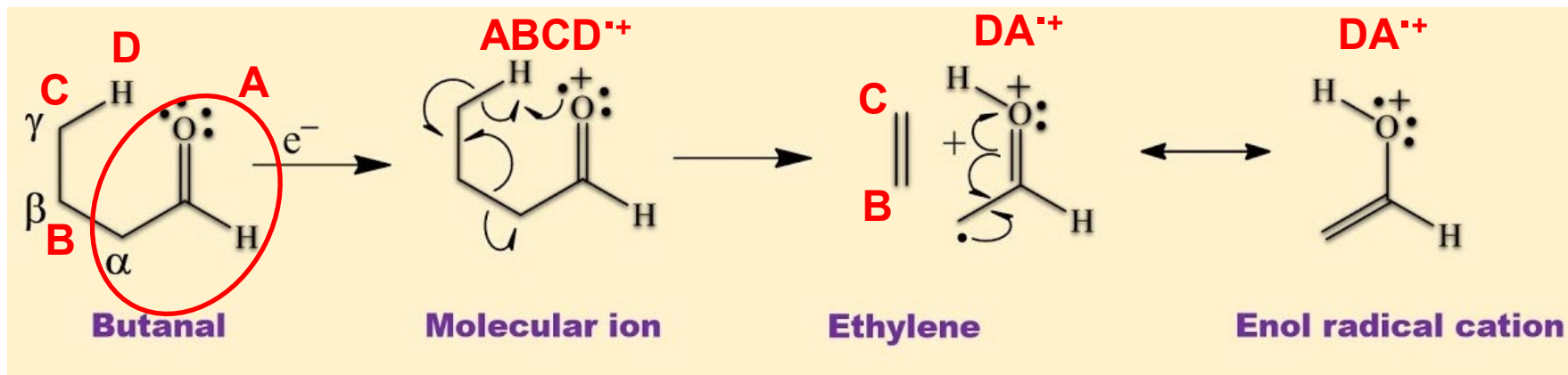
Gli elettroni hanno energie dell'ordine di 50-70 eV e provocano una cascata di processi a carico delle molecole colpite, a partire dalla formazione del radicale catione, detto ione molecolare:



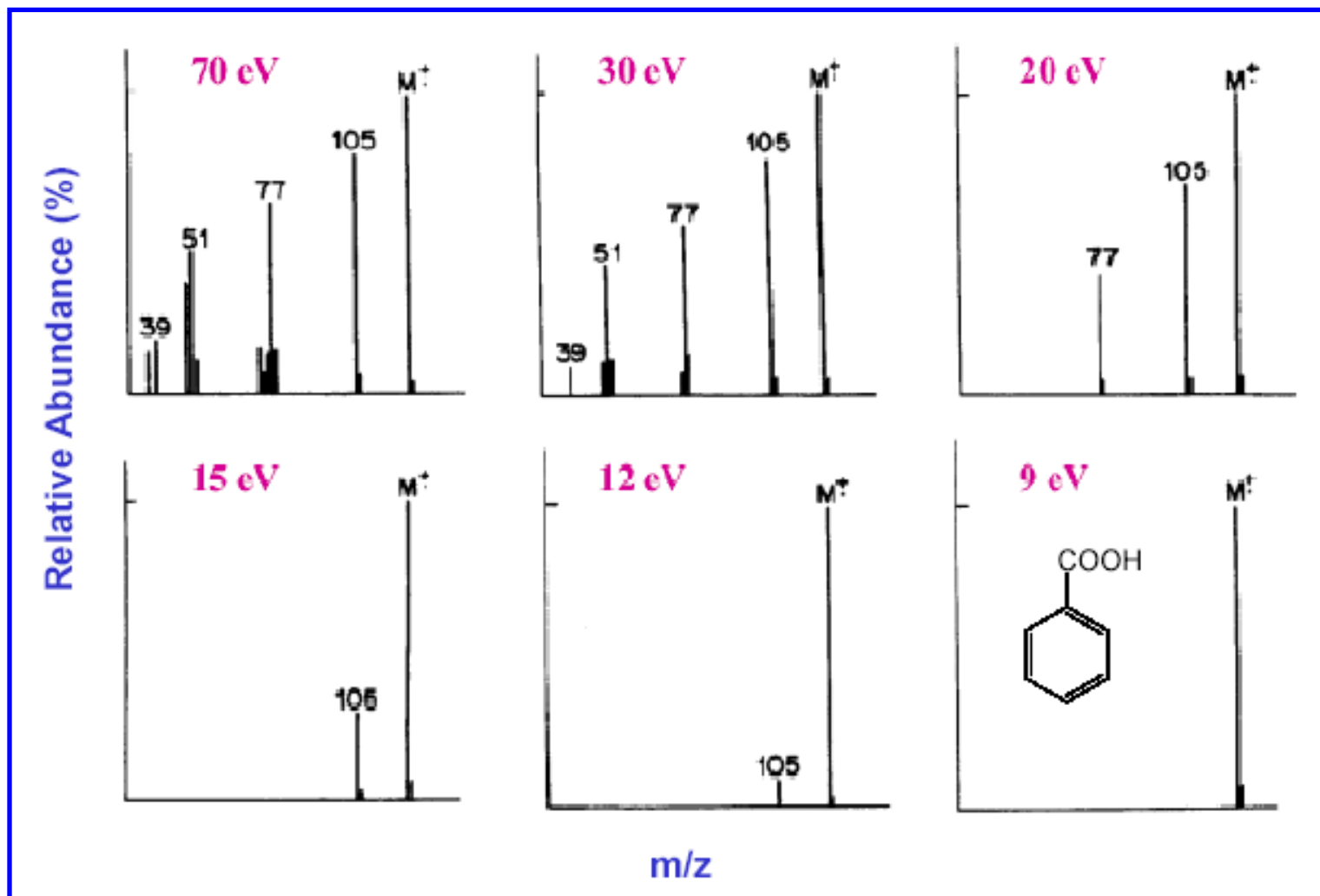
L'impatto provoca anche la frammentazione o il ri-arrangiamento (seguito da frammentazione) dello ione molecolare:



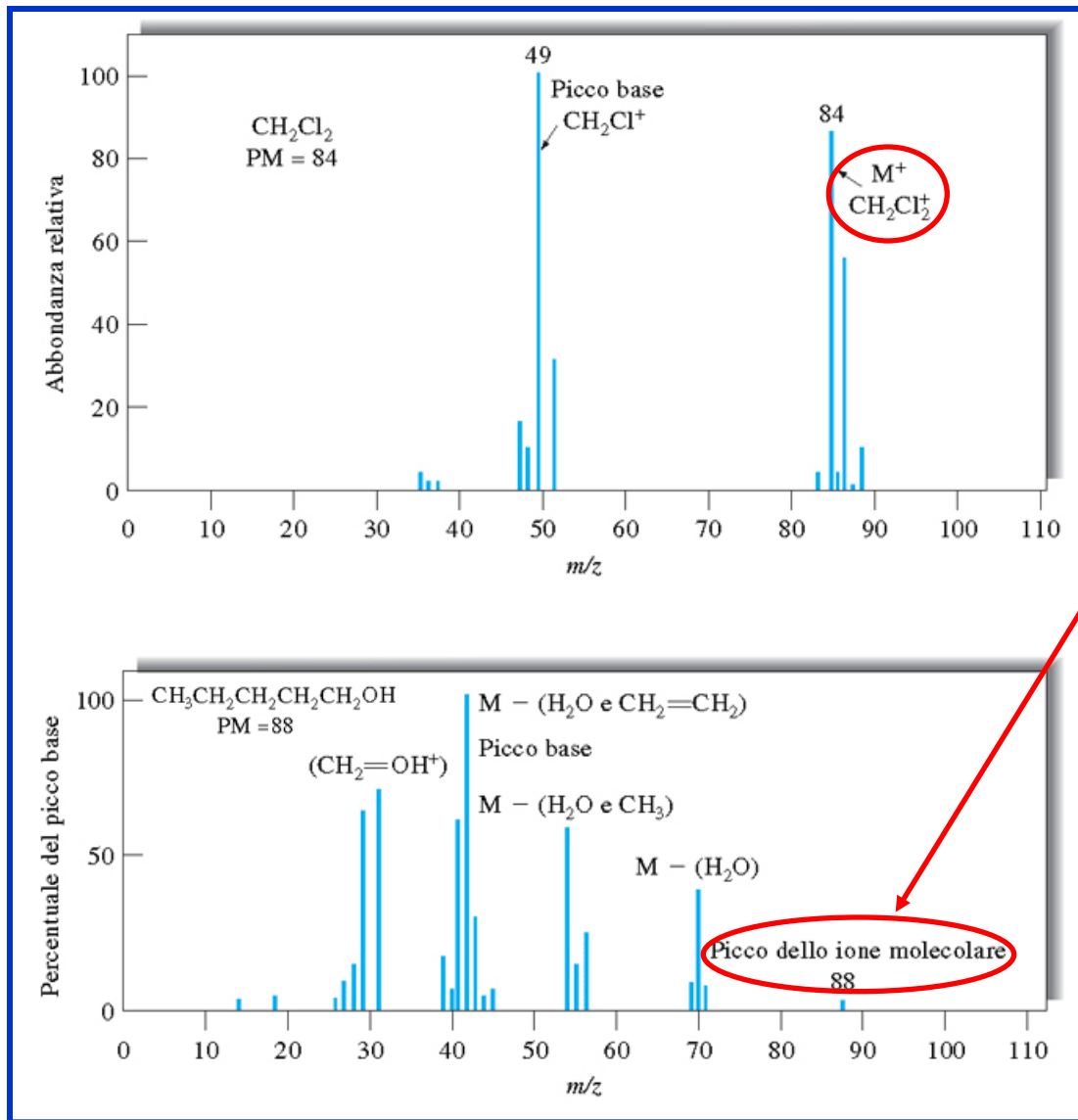
Esempio di riarrangiamento osservato durante la ionizzazione elettronica:  
riarrangiamento secondo McLafferty nel radicale catione (ione molecolare)  
del butanale.



L'energia degli elettroni gioca un ruolo cruciale nel determinare l'entità della frammentazione dello ione molecolare:



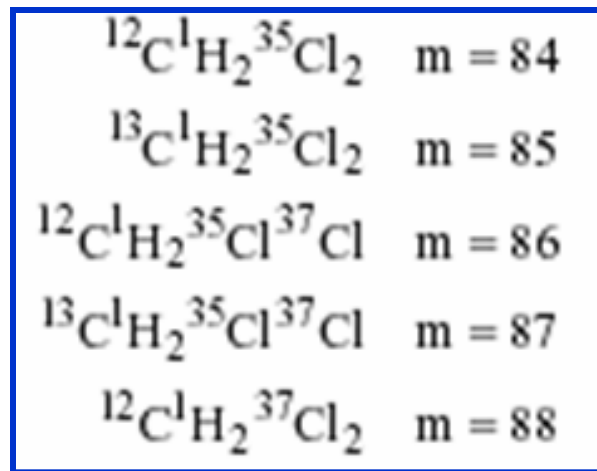
Di solito la molteplicità dei processi possibili dopo l'impatto elettronico ad alta energia (> 50 eV) rende gli spettri di massa di tipo EI molto complessi:



Talvolta lo ione molecolare risulta quasi invisibile nello spettro.

Il riconoscimento della struttura molecolare può essere tuttavia effettuato a partire dalle frammentazioni, tipicamente mediante confronto con spettri EI presenti in banche dati elettroniche.

Negli spettri sono visibili anche i picchi isotopici, dovuti a molecole aventi la stessa formula bruta (e la stessa struttura) ma nelle quali cambiano gli isotopi degli elementi costituenti, portando a pesi molecolari diversi, come mostrato per il diclorometano:



Si noti che, per i pesi molecolari indicati, eccettuato quello più basso, si possono in realtà scrivere ulteriori formule, considerando anche gli isotopi dell'idrogeno.

Ad esempio:



Molecole che differiscono nella composizione isotopica ma hanno la stessa formula bruta si definiscono isotopologi.

Per ciascun isotopologo si possono individuare vari isotopomeri, ossia molecole che differiscono solo per la posizione degli isotopi.

L'intensità relativa dei vari isotopologi di una molecola (pattern isotopico) dipenderà:

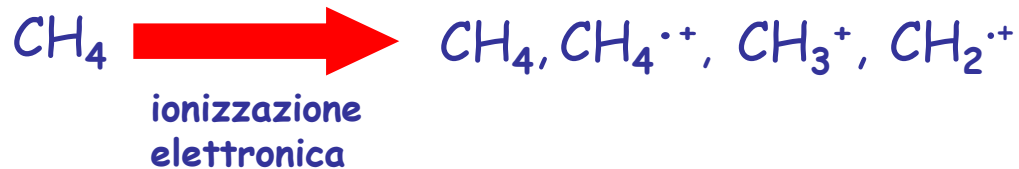
- ✓ dalla distribuzione in natura degli isotopi degli elementi costituenti
- ✓ dalle possibili collocazioni degli isotopi sulla struttura molecolare.

Element	Mass number	Mass (Da) <sup>a</sup>	Abundance (atom %) <sup>b</sup>
Proton	1	1.007 276 467	—
Neutron	1	1.008 664 916	—
Electron	—	0.000 548 580	—
H	1	1.007 825	99.988
	2	2.014 10	0.012
B	10	10.012 94	19.9
	11	11.009 31	80.1
C	12	12(exact)	98.93
	13	13.003 35	1.07
N	14	14.003 07	99.632
	15	15.000 11	0.368
O	16	15.994 91	99.757
	17	16.999 13	0.038
	18	17.999 16	0.205
F	19	18.998 40	100
Si	28	27.976 93	92.230
	29	28.976 49	4.683
	30	29.973 77	3.087
P	31	30.973 76	100
S	32	31.972 07	94.93
	33	32.971 46	0.76
	34	33.967 87	4.29
	36	35.967 08	0.02
Cl	35	34.968 85	75.78
	37	36.965 90	24.22
Ar	36	35.967 55	0.336
	38	37.962 73	0.063
	40	39.962 38	99.600

## Ionizzazione chimica (CI)

E' stata sviluppata molto più recentemente (1966) della ionizzazione elettronica e consente una frammentazione meno estesa dello ione molecolare.

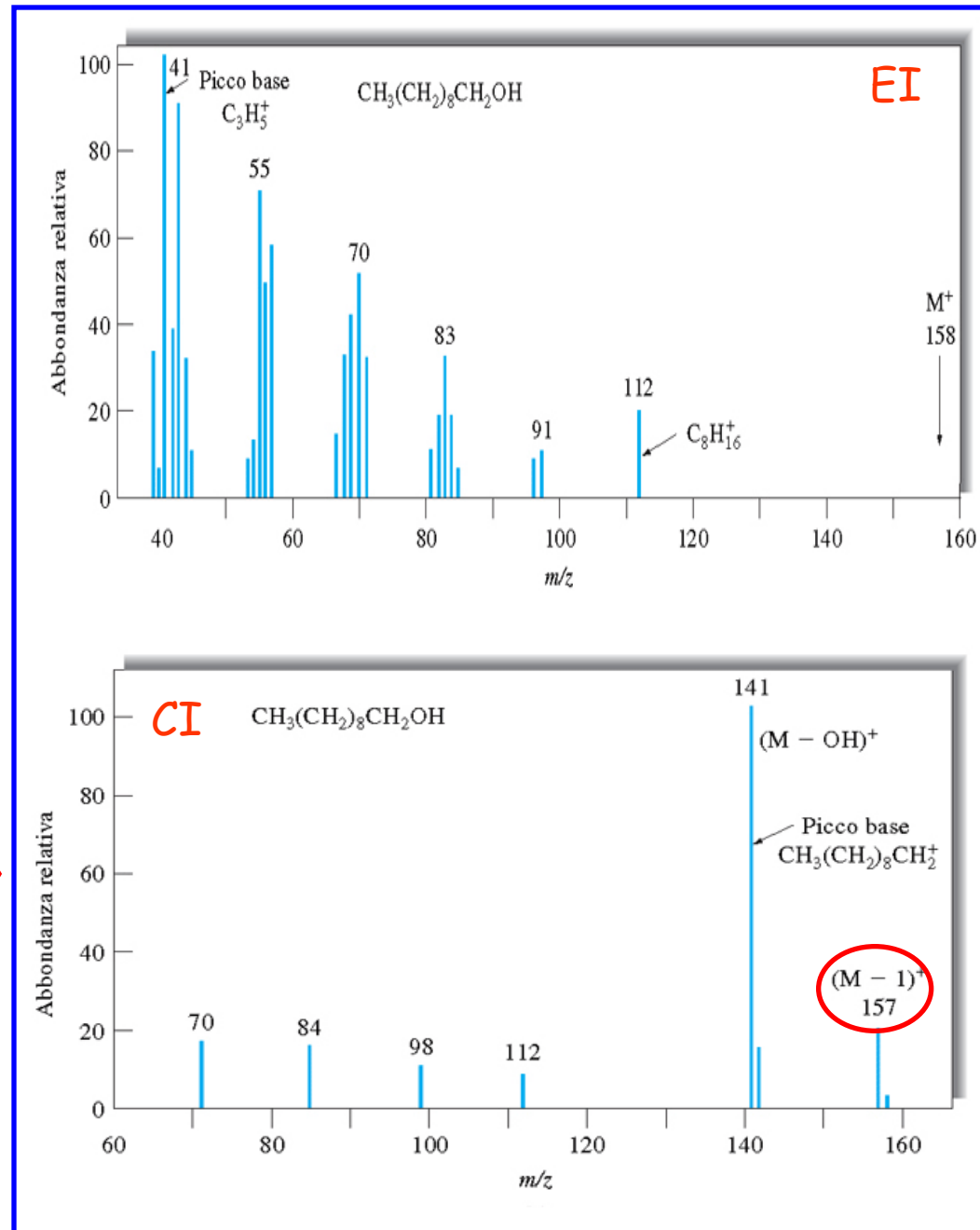
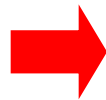
In questo caso si introduce nella camera di impatto elettronico un gas reagente, ad esempio  $\text{CH}_4$ , in rapporto  $10^3/10^4$  rispetto all'analita vaporizzato:



Ioni come  $\text{CH}_5^+$  o  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  sono estremamente reattivi e possono trasformare le molecole di analita neutre (MH) in ioni positivi:



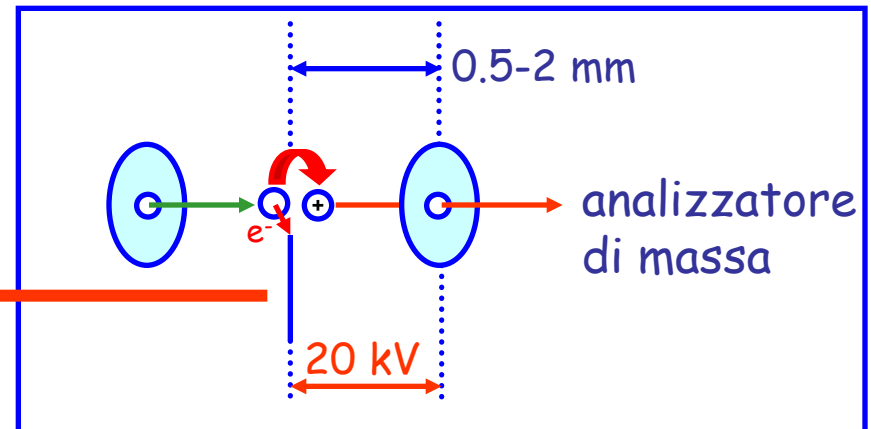
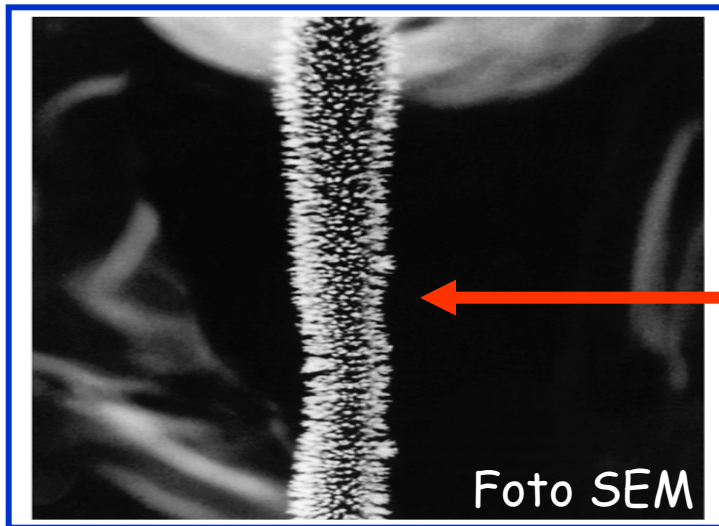
La ionizzazione chimica è notevolmente più blanda rispetto a quella elettronica e consente solitamente di ottenere un buon segnale anche per lo ione molecolare (o pseudo-molecolare, se derivante, ad esempio, dal distacco di un atomo, come si vede in figura).



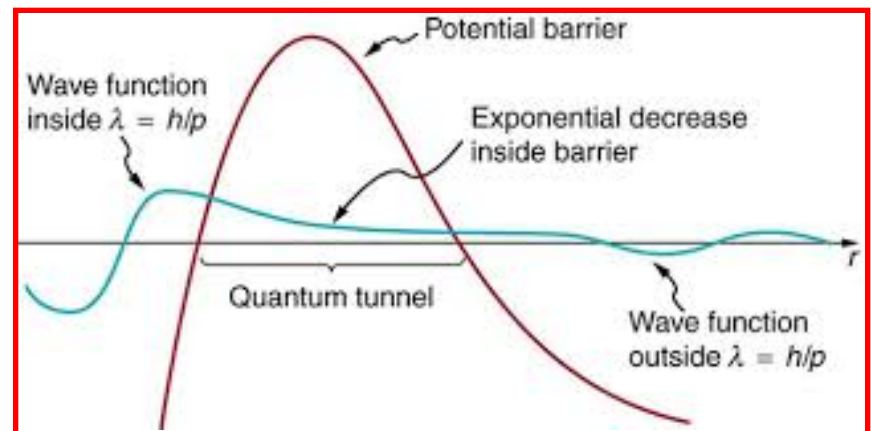


## Ionizzazione di campo (Field Ionization, FI) - 1975

Gli ioni vengono generati in questo caso per interazione delle molecole di analita con **campi elettrici elevatissimi ( $10^8$  V/cm)** ottenuti applicando tensioni dell'ordine di 10-20 kV ad **un filo di tungsteno ricoperto in superficie da migliaia di microscopici aghi di carbonio**:



Gli elettroni vengono strappati alle molecole neutre in seguito al processo quantomeccanico detto **effetto tunnel**:



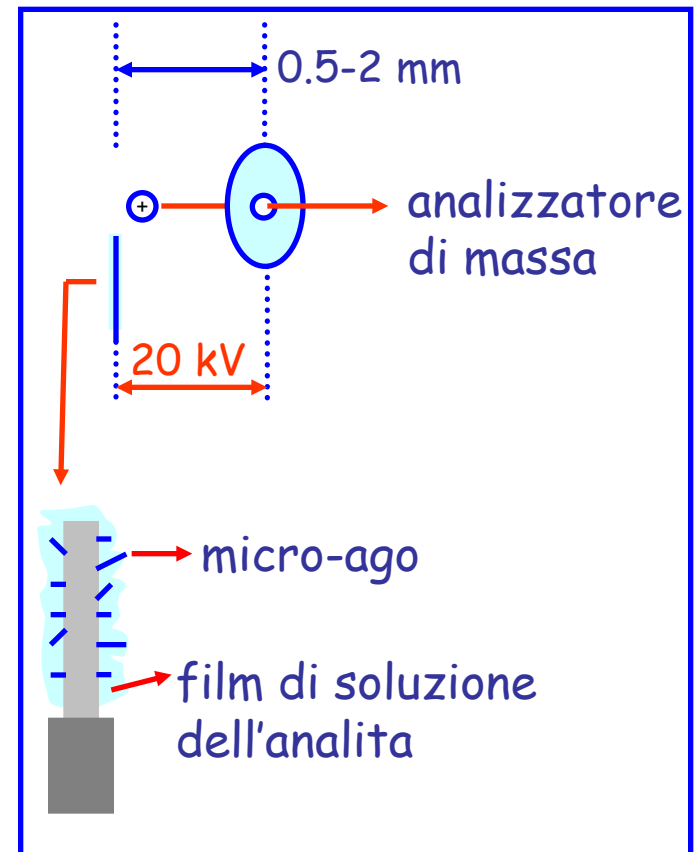
## Desorbimento di campo (Field Desorption, FD) - 1969

I metodi di desorbimento consentono di aggirare l'ostacolo della bassa volatilità di molecole ad elevato peso molecolare ( $> 1000$  Da), producendo ioni direttamente a partire dal campione solido o liquido.

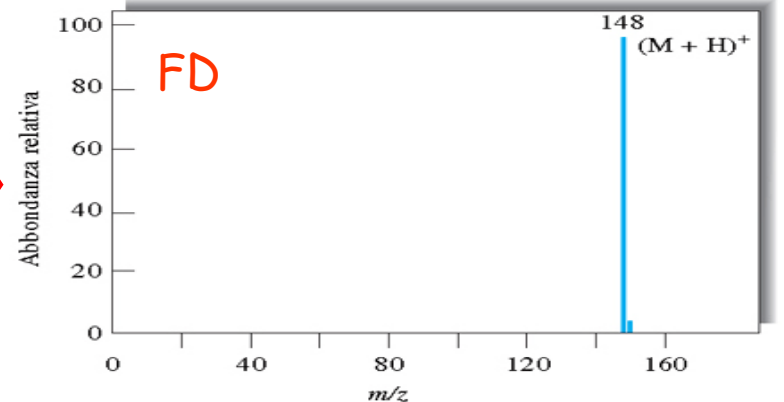
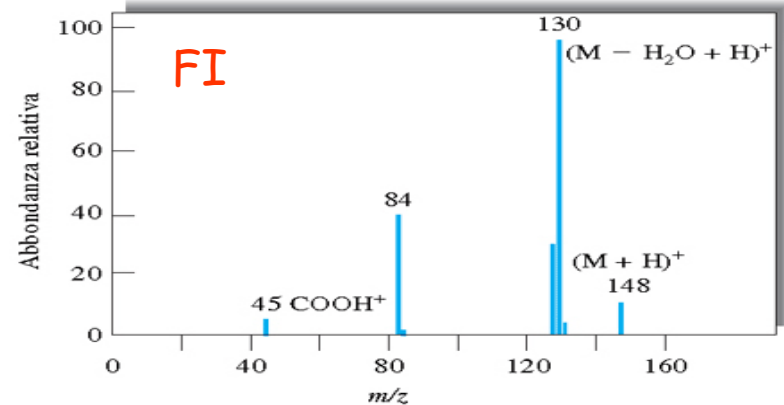
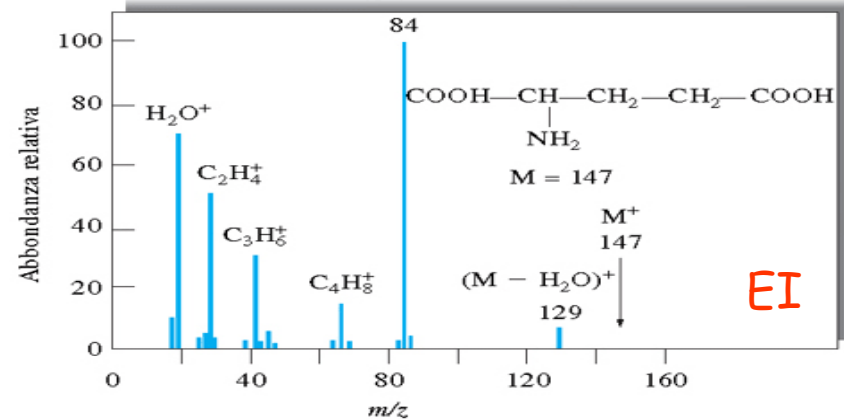
Nel **desorbimento di campo** l'elettrodo a microaghi per FI viene montato su una sonda che consente la sua introduzione direttamente all'interno dello spettrometro.

Prima dell'analisi esso viene direttamente immerso in una soluzione dell'analita, venendone ricoperto (*dipping*).

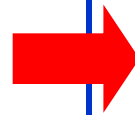
Dopo l'introduzione nella camera di desorbimento/ionizzazione all'elettrodo viene applicata l'alta tensione ed eventualmente esso può essere riscaldato per favorire il desorbimento di ioni.



# Confronto fra metodi di ionizzazione e di desorbimento: acido glutammico

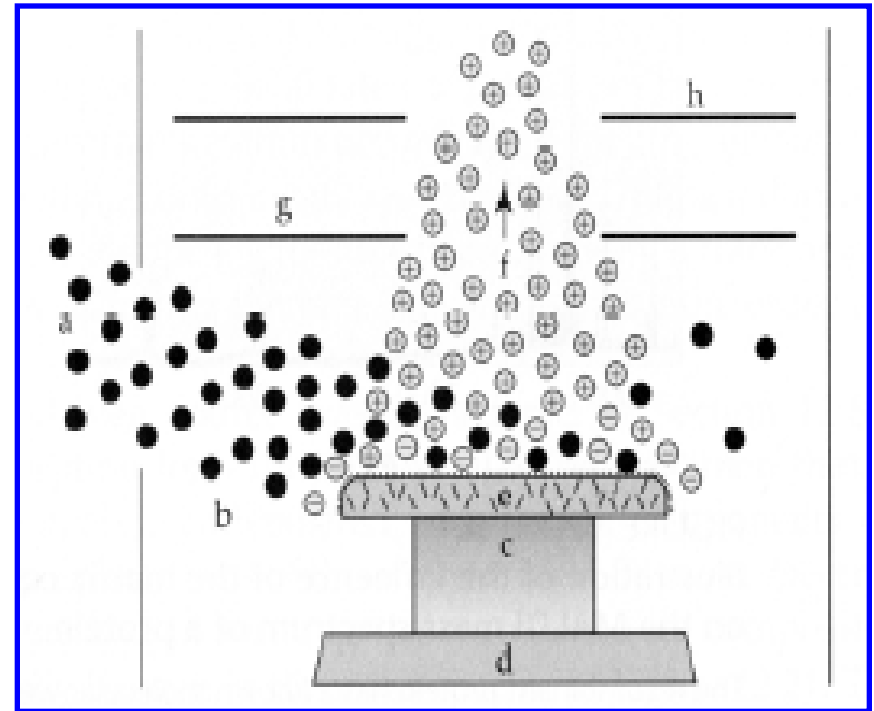


Il desorbimento di campo (FD) consente una ionizzazione ancora più blanda dell'analita, con quasi totale eliminazione dei processi di frammentazione.

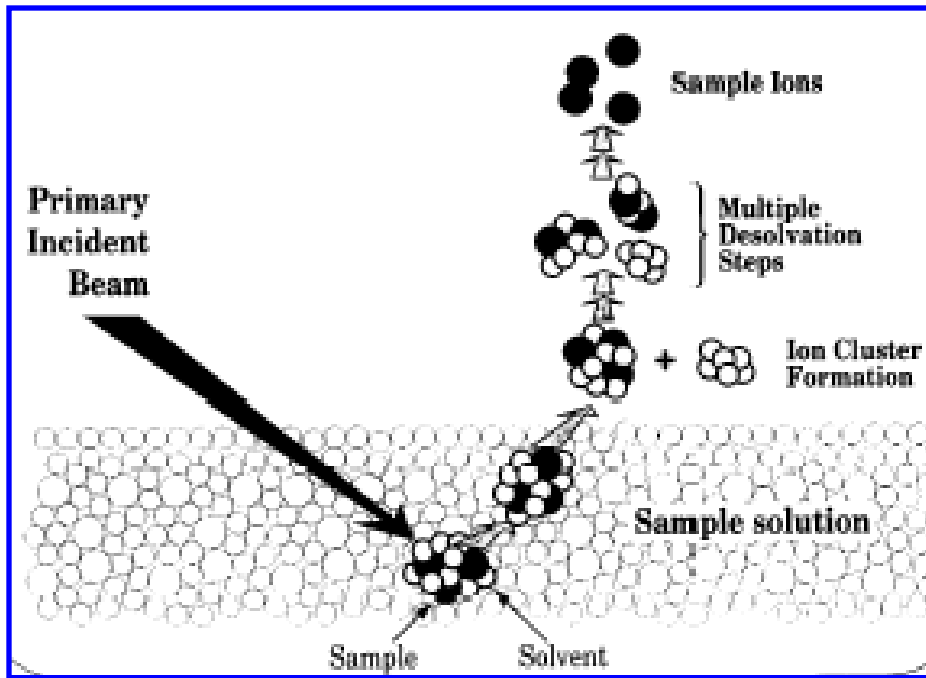


# Bombardamento con atomi veloci (Fast Atom Bombardment, FAB) - 1981

Atomi di argon (o anche cesio o xenon, **a**) vengono accelerati contro il campione sfruttando lo scambio di energia cinetica con ioni  $Ar^+$  veloci:

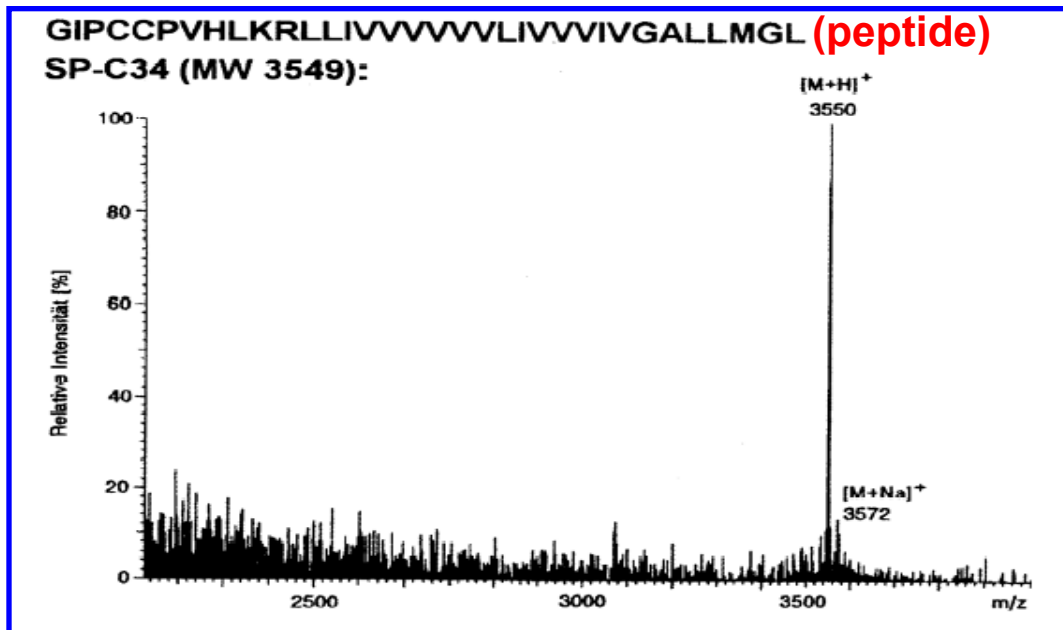


Il campione (**e**) è disciolto di solito in una matrice viscosa (glicerolo) che consente di attenuare gli effetti del "bombardamento", favorendo il desorbimento degli ioni molecolari dell'analita (**f**) che vengono poi accelerati (dalla lente elettrostatica **g**) e inviati all'analizzatore di massa attraverso la fenditura **h**.



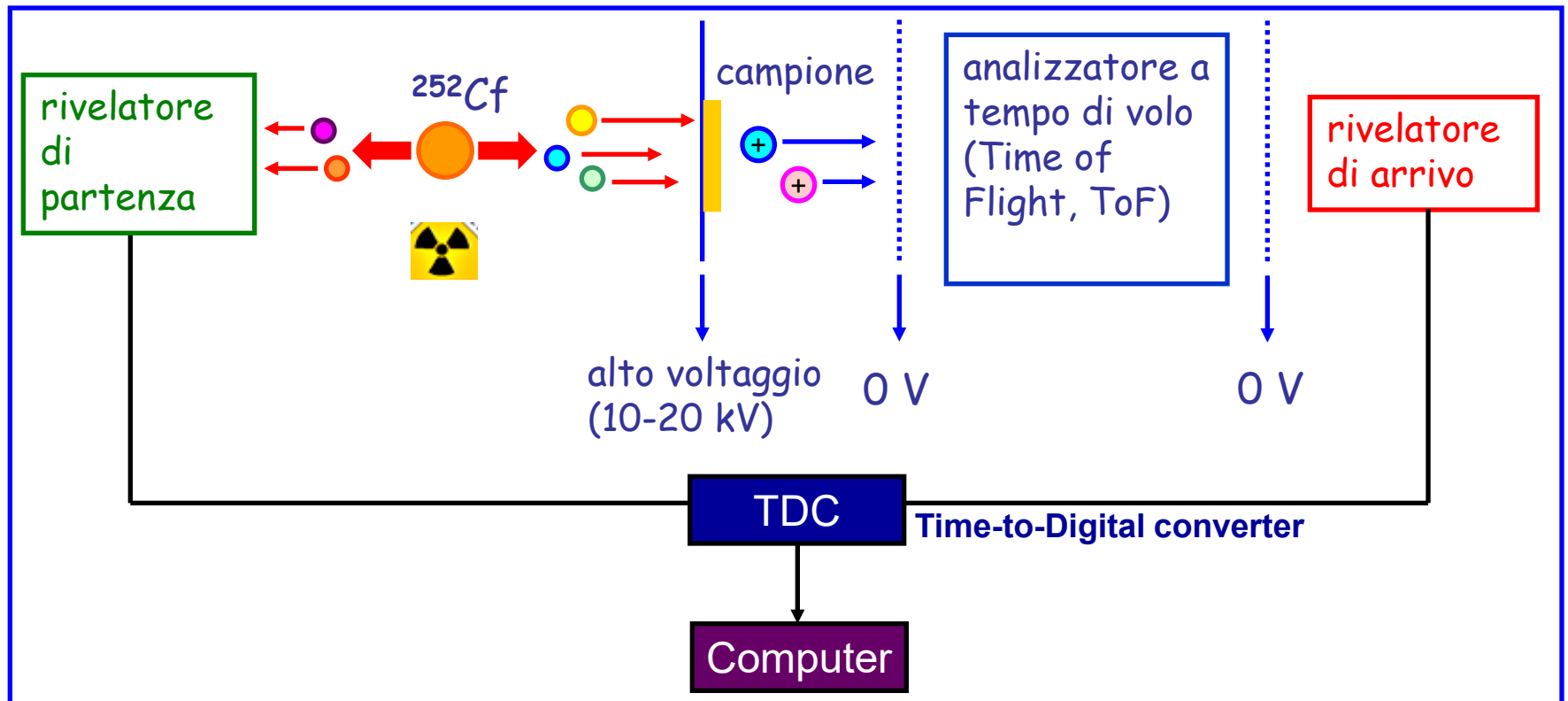
Dettaglio del processo di ionizzazione con FAB.

Tipicamente l'analita è presente già come ione protonato nella soluzione (ad esempio composti basici in soluzione acida)



La tecnica FAB-MS è particolarmente adatta a ionizzare macromolecole con pesi molecolari fino a 10000.

## Desorbimento in plasma (Plasma Desorption) - 1974



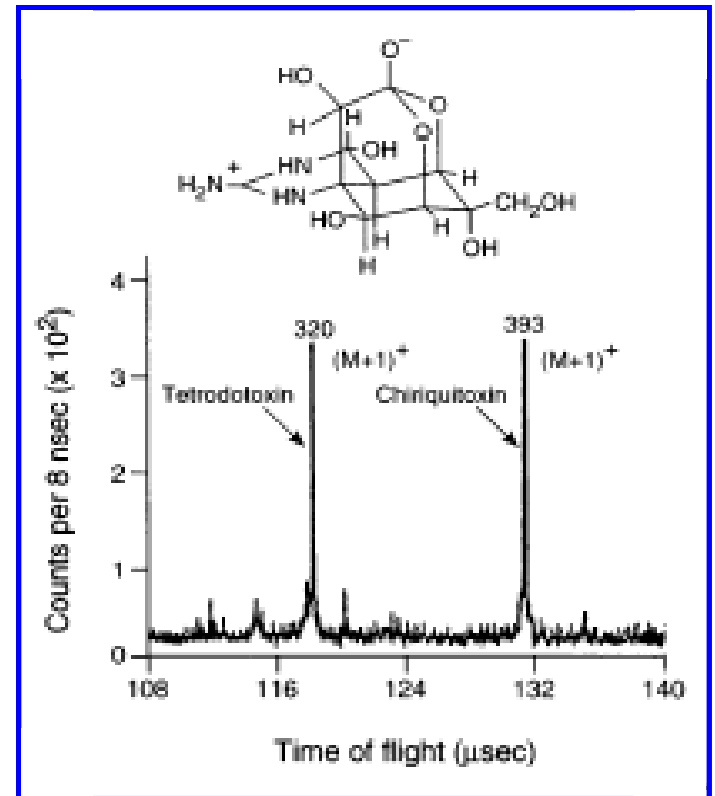
In questo caso si utilizza un **isotopo radioattivo altamente instabile ( $^{252}\text{Cf}$ )** che si scinde in nuclidi più piccoli ad elevatissima energia ( $\text{MeV} = 10^6 \text{ eV}$ ).

I nuclidi attraversano una **sottile lastra metallica su cui è depositato il campione** ed interagiscono con quest'ultimo liberando ioni positivi che vengono poi accelerati da un'elevata differenza di potenziale verso un **analizzatore a tempo di volo (ToF)**.

I nuclidi attraversano una **sottile lastra metallica su cui è depositato il campione** ed interagiscono con quest'ultimo liberando ioni positivi che vengono poi accelerati da un'elevata differenza di potenziale verso un **analizzatore a tempo di volo (ToF)**.

Il rapporto  $m/z$  degli ioni generati dall'interazione fra i nuclidi e il campione viene misurato indirettamente, a partire dal **tempo impiegato dagli ioni a percorrere il tubo di volo**, una regione senza campo elettrico, compresa fra le due griglie mantenute a potenziale 0.

Il tempo zero viene misurato dall'impatto dei nuclidi con il rivelatore di partenza; il **tempo di volo** corrisponde a quello in cui gli ioni colpiscono il rivelatore di arrivo.



La tecnica PD-MS ha consentito la prima analisi MS di una specie peptidico-proteica, l'insulina, nel 1982.

## Analizzatori di massa

In uno spettrometro di massa l'analizzatore ha il compito di separare, nello spazio o nel tempo, in base al loro rapporto massa/carica ( $m/z$ ), gli ioni generati nella sorgente.

### Principali analizzatori di massa

- ✓ Settore magnetico e a doppia focalizzazione (elettrostatico-magnetico)
- ✓ Tempo di volo (ToF)
- ✓ Quadrupolo (Q)
- ✓ Trappola ionica tridimensionale (3D-IT)
- ✓ Trappola ionica lineare (LIT)
- ✓ Risonanza ionica di ciclotrone (ICR)
- ✓ Orbitrap (O)



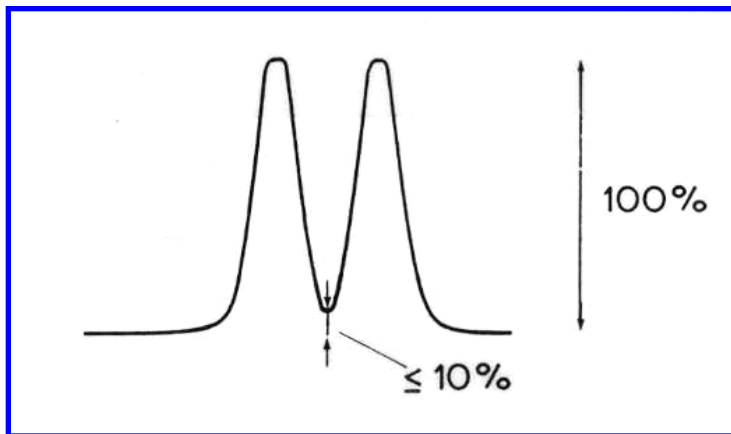
## Risoluzione di un analizzatore di massa

E' la capacita' dell'analizzatore di massa di distinguere ioni aventi masse  $m$  e  $m + \Delta m$ , facendoli apparire nello spettro di massa come picchi separati:

$$\text{Risoluzione (R)} = m / \Delta m$$

Per calcolare la risoluzione è necessario stabilire un criterio di distinzione fra due picchi relativi a masse diverse nello spettro di massa.

Si adotta di solito il **criterio della valle pari al 10 % del picco**:



La risoluzione è accettabile se nel punto di sovrapposizione il segnale ha un'intensità al massimo uguale al 10% di quella massima dei due picchi.

In base alla definizione di  $R$ , la minima separazione apprezzabile fra due picchi nello spettro di massa sarà diversa a seconda della regione dello spettro.

Ad esempio:

$R = 5000$  implica che appariranno come picchi separati quelli relativi alle masse (rapporti  $m/z$ ):

50.000 e 50.010      ( $\Delta m = 0.01$ ) oppure

100.000 e 100.020      ( $\Delta m = 0.02$ ) oppure

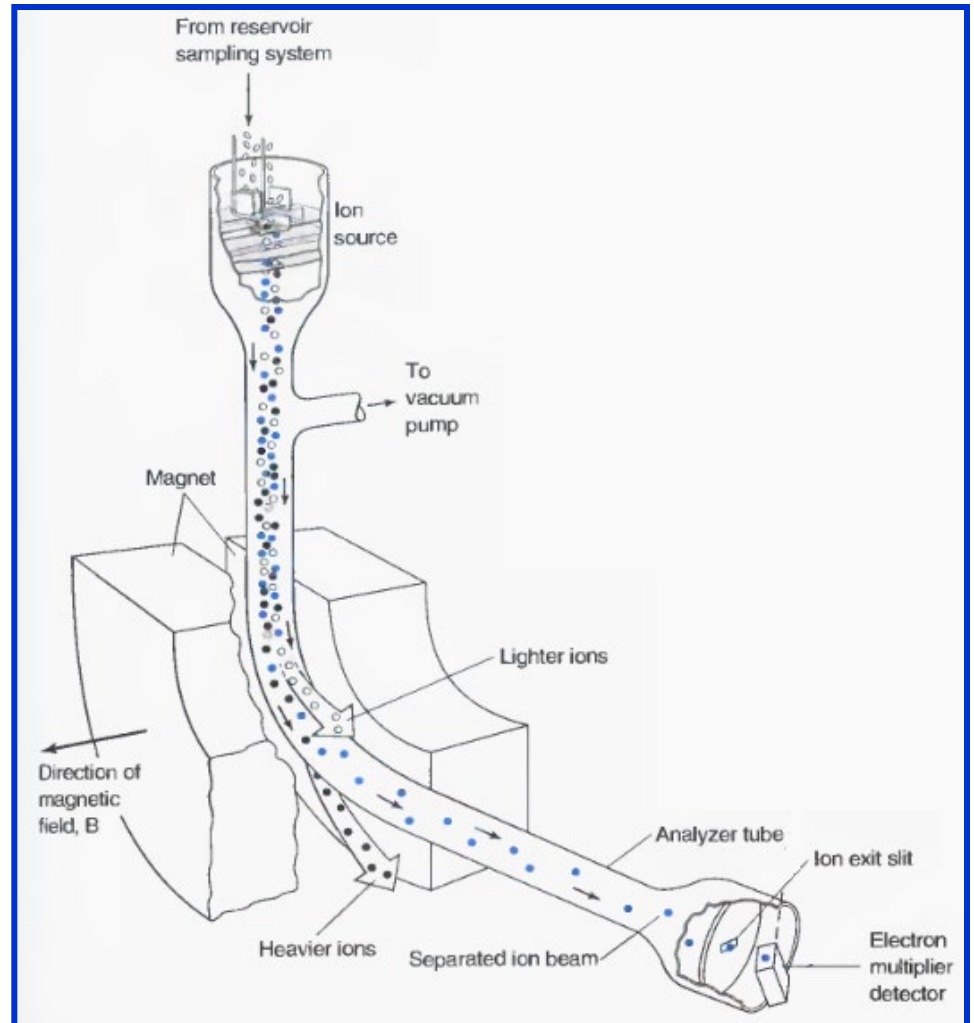
1000.000 e 1000.2000      ( $\Delta m = 0.2$ )

# Analizzatore di massa a settore magnetico

## Principio di funzionamento

Particelle dotate di carica elettrica seguono traiettorie circolari quando sottoposte ad un campo magnetico applicato in direzione perpendicolare a quella del loro moto.

Nell'analizzatore magnetico gli ioni generati nella sorgente vengono separati in base alla capacità di percorrere una particolare traiettoria, corrispondente ad un settore circolare (60 o 90° di solito), che permette loro di raggiungere il rivelatore.



## Relazioni fondamentali

La forza esercitata da un campo magnetico  $B$  su uno ione di massa  $m$  e carica  $z$  che entra nella regione sottoposta al campo con una velocità  $v$  è data da (**Forza di Lorentz**):

$$F = Bzv \quad (1)$$

Poiché lo ione percorre una traiettoria circolare tale forza deve bilanciare la forza centrifuga:

$$mv^2/r = Bzv \quad (2)$$

D'altra parte l'energia cinetica con cui lo ione entra nell'analizzatore magnetico è determinata dal potenziale  $V$  applicato alle piastre di accelerazione, che accelerano gli ioni fra la sorgente e l'analizzatore:

$$\frac{1}{2} mv^2 = zV \quad (3)$$



Combinando le equazioni 2 e 3 si ottiene la relazione:

$$m/z = B^2 r^2 / 2V$$

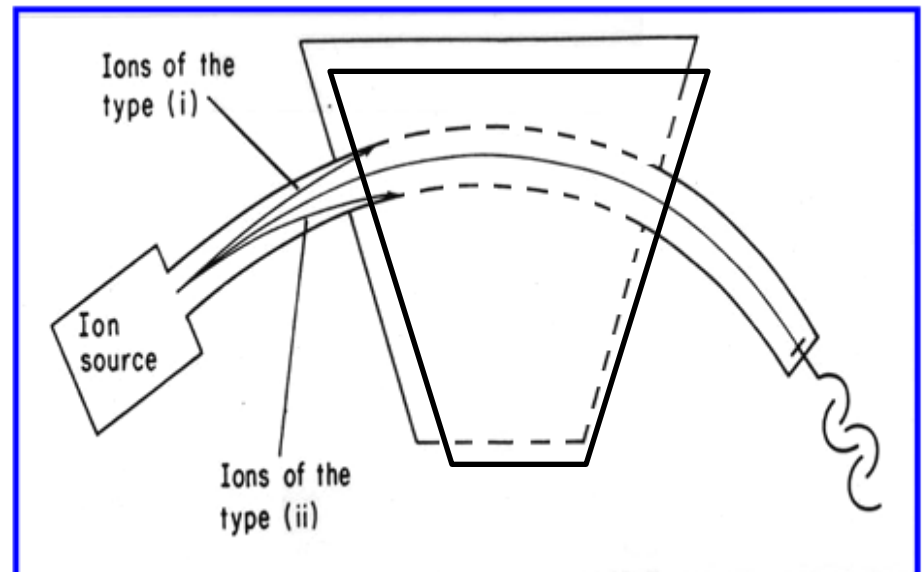


In corrispondenza di una particolare coppia di valori di  $B$  e  $V$  solo gli ioni caratterizzati da un determinato valore del rapporto  $m/z$  potranno percorrere la traiettoria circolare avente raggio  $r$  che li conduce al detector.

Invece:

- ✓ ioni con  $m/z$  maggiore (i) hanno traiettorie di raggio maggiore
- ✓ ioni con  $m/z$  minore (ii) hanno traiettorie di raggio minore.

In figura il tubo in cui gli ioni si muovono è posto fra due poli magnetici disegnati come trapezi.



Variando regolarmente  $B$  o  $V$  è possibile fare in modo che ioni con  $m/z$  crescenti si trovino man mano nella condizione di seguire la traiettoria che li condurrà al detector. Tutti gli altri ioni si scaricheranno sulle pareti dell'analizzatore magnetico

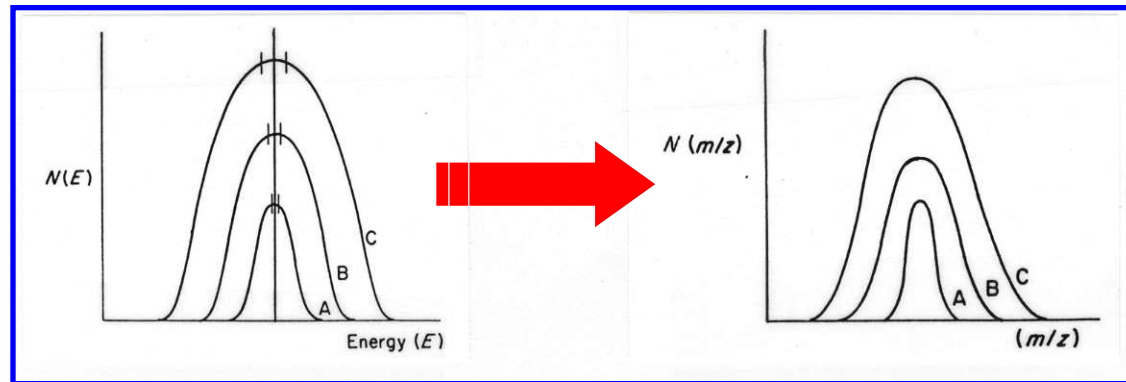


scansione delle masse

Nella maggior parte degli spettrometri di massa a settore magnetico attuali si applica una scansione del campo magnetico mantenendo invece il potenziale di accelerazione  $V$  costante.

## Limitazioni alla risoluzione massima di un analizzatore di massa a settore magnetico

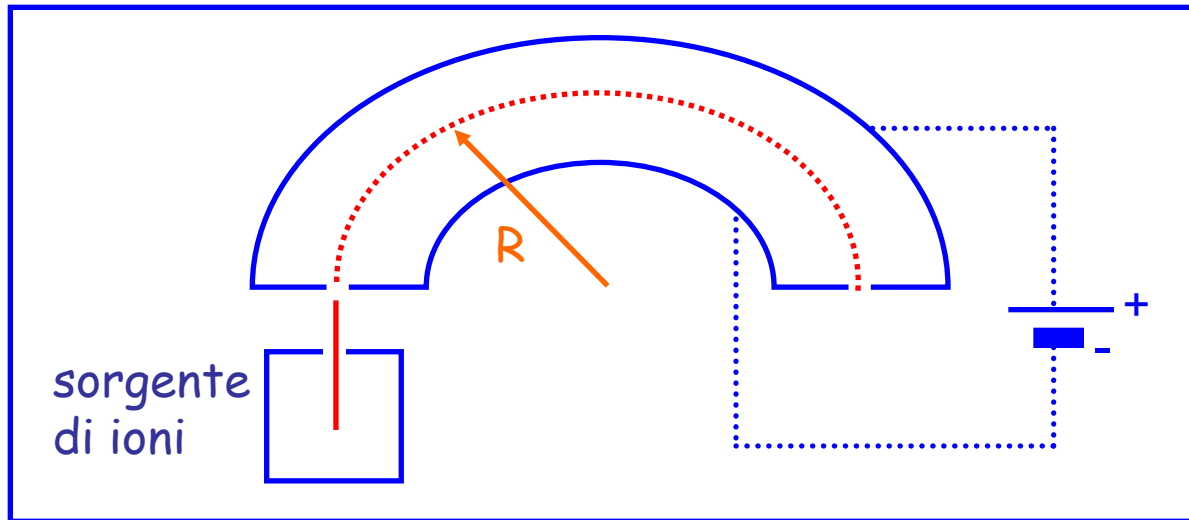
Ioni con lo stesso rapporto  $m/z$  ma provenienti dalla sorgente con diversa velocità verranno "visti" dall'analizzatore come ioni con  $m/z$  diverso:



Distribuzioni slargate dell'energia cinetica iniziale degli ioni determinano picchi slargati e quindi una peggiore risoluzione

Per migliorare la risoluzione è necessario ridurre l'ampiezza della distribuzione delle energie cinetiche degli ioni che entrano nell'analizzatore di massa

## Analizzatore a settore elettrostatico (ESA)



Detto  $R$  il raggio della traiettoria circolare che collega le due fenditure ed  $E$  il campo elettrico applicato fra le piastre metalliche dell'analizzatore, si ha:

$$mv^2/R = zE$$

ed essendo sempre  $zV = \frac{1}{2} mv^2$  si ricava:

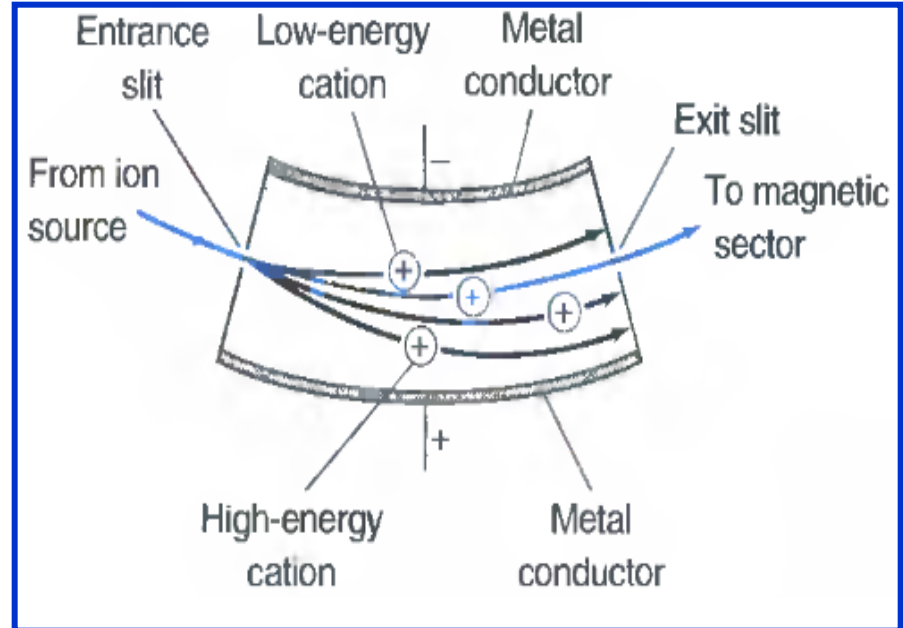
$$R = 2V / E$$



Ioni positivi accelerati dopo la sorgente da un potenziale  $V$  avranno **TUTTI** una traiettoria circolare di raggio  $R$  nel settore elettrostatico a cui è applicato il campo elettrico  $E$ , a prescindere dal loro rapporto  $m/z$ .

Se il potenziale accelerante è inferiore o superiore a  $V$  il raggio della traiettoria sarà inferiore o superiore ad  $R$ :

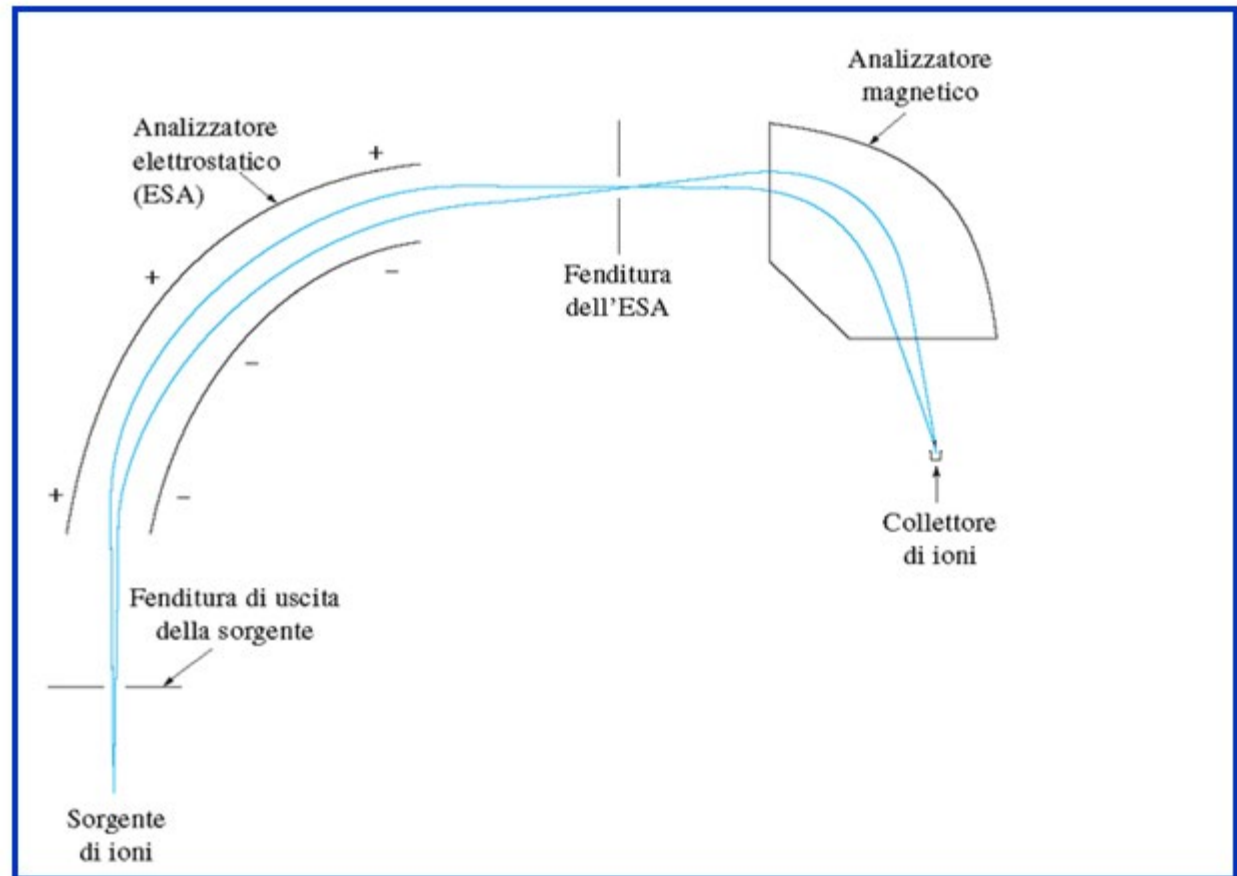
ioni più lenti o più veloci di quelli su cui il settore è "sintonizzato" finiranno per scaricarsi sulle pareti del settore elettrostatico o ai lati della fenditura di uscita.



l'analizzatore elettrostatico permette di ridurre lo slargamento della distribuzione delle energie cinetiche degli ioni prima che essi entrino nell'analizzatore magnetico

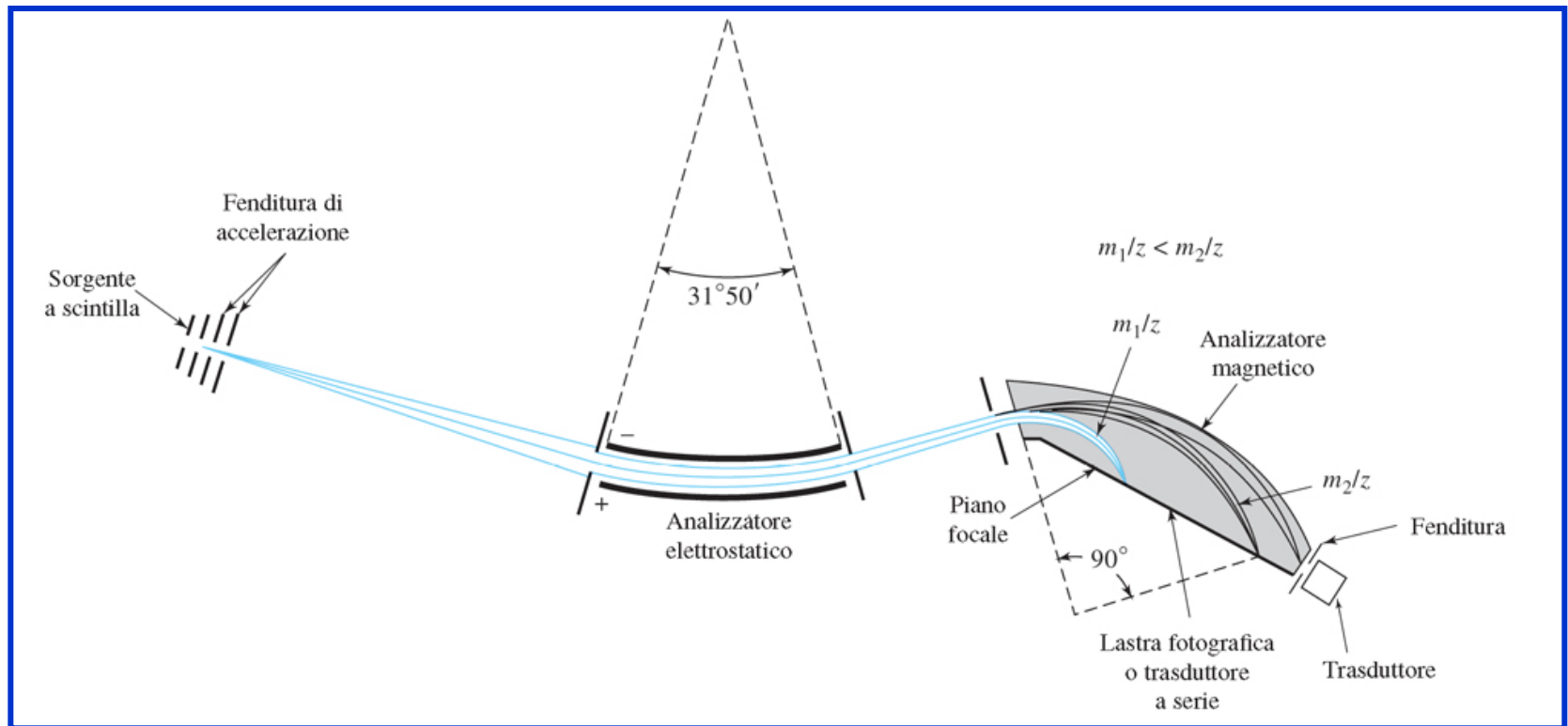
## Analizzatori di massa a doppia focalizzazione

La **doppia focalizzazione** deriva dall'impiego, in serie, di un **settore elettrostatico** per focalizzare le energie degli ioni (e anche la direzione degli ioni), e un **settore magnetico**, per focalizzare i loro rapporti  $m/z$ .



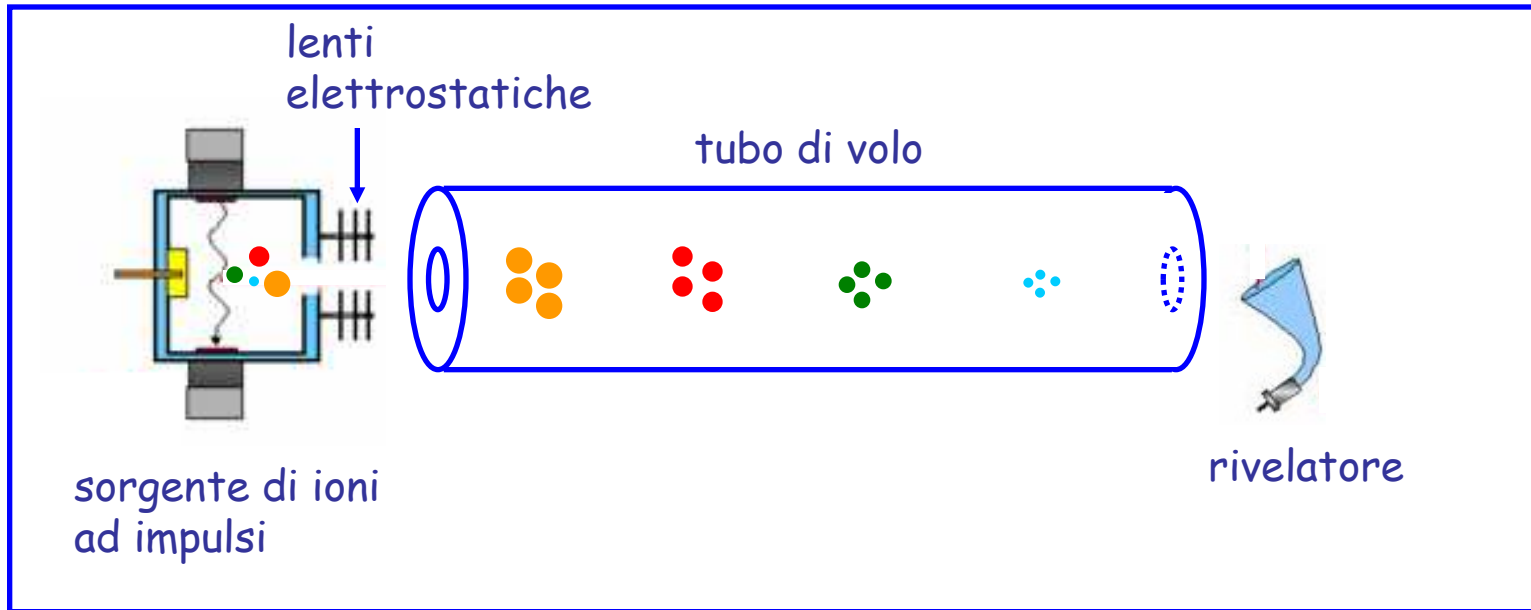
Analizzatore tipo  
Nier-Johnson  
(traiettoria ionica  
ad U)

## Analizzatore tipo Mattauch-Herzog (traiettoria ionica ad S)



Gli analizzatori a doppia focalizzazione possono arrivare a risoluzioni dell'ordine di 100000, rispetto ai valori intorno a 2000 di quelli a settore magnetico

## Analizzatori di massa a tempo di volo (ToF)



### Principio di funzionamento

In un analizzatore di massa a tempo di volo gli ioni sono generati in una sorgente pulsata ed accelerati (da **potenziali dell'ordine di 1000-10000 V**) verso una regione priva di campo elettrico (tubo di volo) in cui si separano in base al rapporto  $m/z$ :

**Ioni con  $m/z$  più elevato viaggeranno più lentamente, raggiungendo il rivelatore in tempi successivi rispetto a ioni con  $m/z$  minore.**

## Relazioni fondamentali

Detta  $V$  la differenza di potenziale che accelera gli ioni verso il tubo di volo, la loro energia cinetica e' data ancora una volta da:

$$\frac{1}{2} mv^2 = zV$$

e quindi la velocita' con cui entrano nel tubo di volo e':

$$v = (2zV/m)^{1/2}$$

se  $D$  e' la distanza che separa l'ingresso del tubo di volo dall'uscita (dove e' collocato il rivelatore), il tempo impiegato da uno ione a percorrere il tubo di volo e':

$$t = D/v = D (m/2zV)^{1/2}$$

ioni con diverso rapporto  $m/z$  impiegheranno tempi diversi (tipicamente da 1 a 30  $\mu s$ ) a raggiungere il rivelatore:

$$m/z = 2V (t/D)^2$$

## Risoluzione di un analizzatore ToF

E' possibile ottenere l'espressione per la risoluzione di un analizzatore ToF differenziando l'equazione che lega il rapporto  $m/z$  al tempo:

$$\Delta m/z = (4Vt/D^2) \Delta t \quad (1)$$

dividendo poi membro a membro quella equazione per la 1 si ottiene:

$$R = m / \Delta m = t/2\Delta t$$

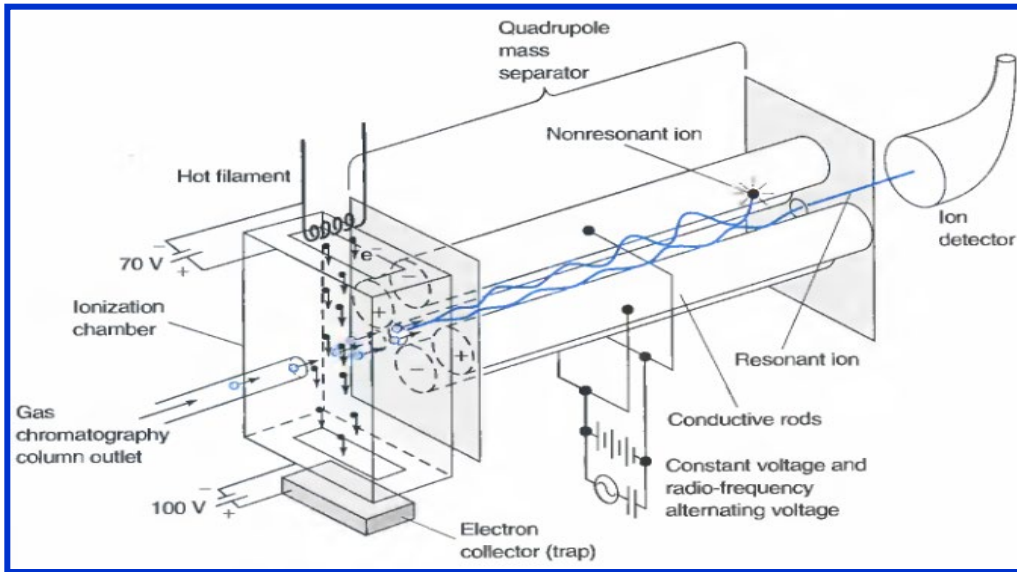
La risoluzione di un analizzatore ToF puo' essere dunque migliorata:

- ✓ allungando il tempo di volo  $t$ , ossia riducendo il voltaggio di accelerazione (e quindi la velocita' degli ioni) o aumentando la lunghezza del tubo di volo
- ✓ riducendo i tempi di risposta del detector, ossia rendendo minimo l'intervallo di tempo ( $\Delta t$ ) ad esso necessario per rivelare distintamente due ioni che lo colpiscono successivamente.

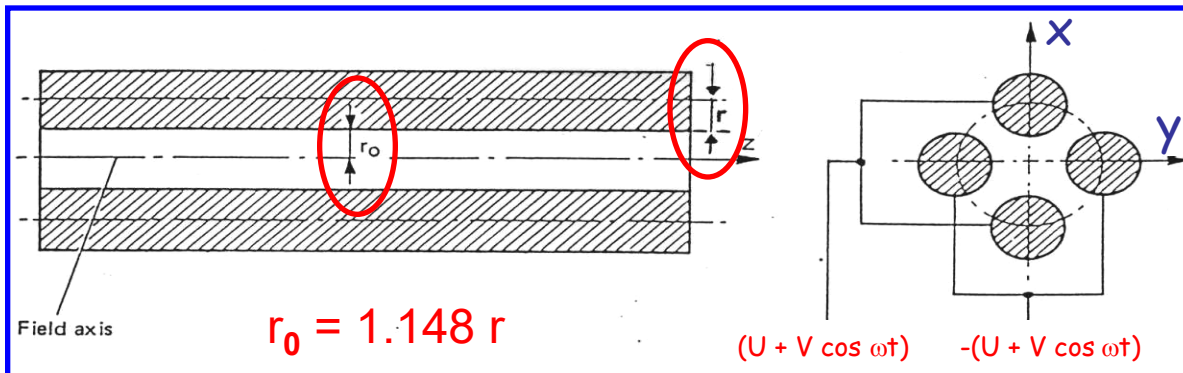
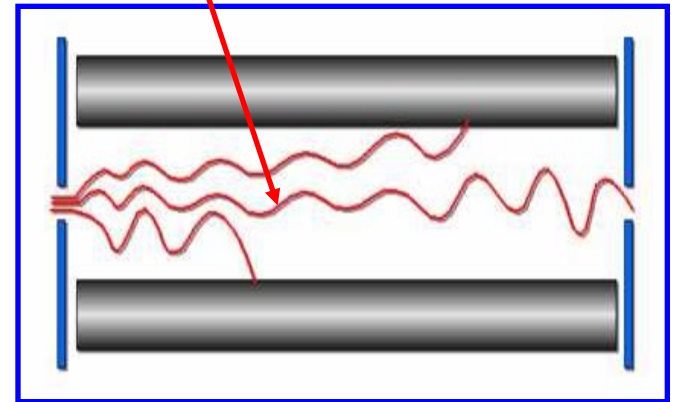
Valori tipici di  $R$  per analizzatori ToF lineari attuali sono dell'ordine di 1000

# Analizzatori di massa a quadrupolo (Q)

L'analizzatore di massa a quadrupolo separa ioni aventi rapporto  $m/z$  diverso sfruttando la loro **diversa stabilita'** all'interno di un **campo elettrico quadrupolare a radiofrequenza**:



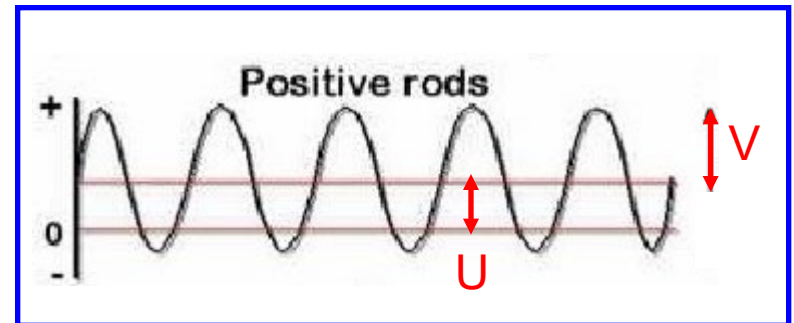
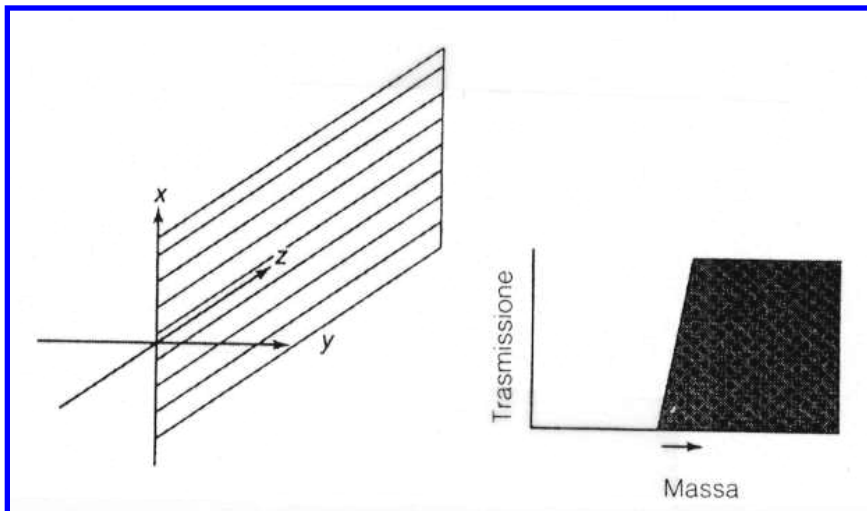
traiettoria stabile



geometria e potenziali applicati alle barre

## Descrizione fenomenologica del moto di ioni (positivi) all'interno di un quadrupolo

- ✓ Moto in presenza della componente continua del potenziale ( $U > 0$ ): piano x-z
- ❖ Ioni positivi ad elevato  $m/z$  saranno influenzati principalmente dalla componente continua e verranno dunque focalizzati lungo l'asse z
- ❖ Ioni positivi a basso  $m/z$  saranno influenzati principalmente dalla componente alternata e durante le escursioni negative del potenziale potranno essere sufficientemente defocalizzati da collidere con un elettrodo, scaricarsi ed essere allontanati come specie neutre



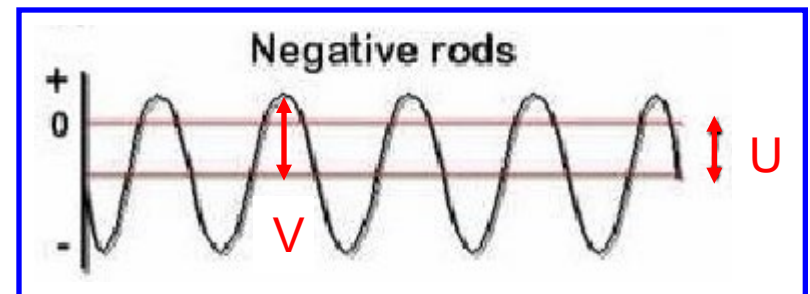
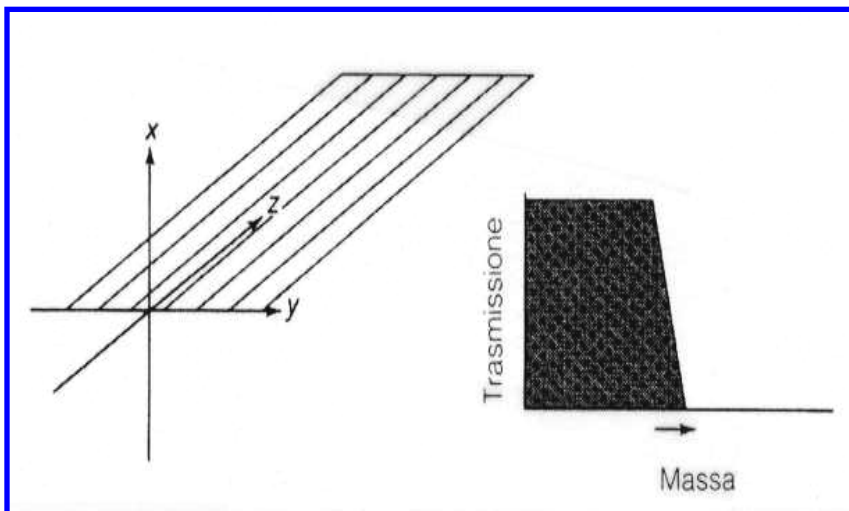
filtro di massa "passa alto"  
nel piano x-z



- ✓ Moto in presenza della componente continua del potenziale ( $U > 0$ ):  
piano  $y$ - $z$

In questo caso se domina la componente continua il potenziale delle barre è negativo, quindi:

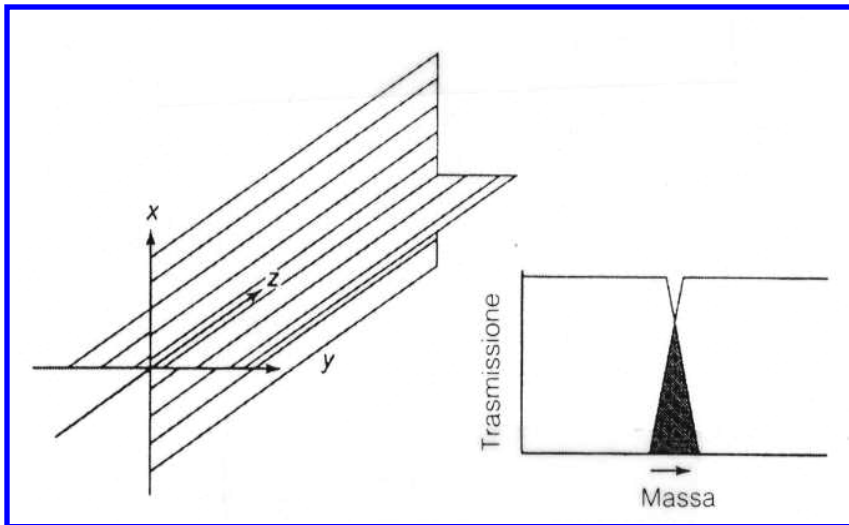
- ❖ Ioni positivi ad elevato  $m/z$  saranno influenzati principalmente dalla componente continua e verranno attratti verso gli elettrodi e filtrati
- ❖ Ioni positivi a basso  $m/z$  saranno focalizzati quando la componente positiva alternata diventa più grande di quella continua negativa



filtro di massa "passa basso"  
nel piano  $y$ - $z$

Uno ione puo' attraversare indenne il quadrupolo e giungere al rivelatore solo se rimane stabile sia nel piano x-z che nel piano y-z

L'intervallo di rapporti massa/carica per i quali si realizza tale condizione e' dato dalla sovrapposizione dei filtri nei due piani (filtro "passa banda"):



L'ampiezza della banda passante dipende dal rapporto dei potenziali continuo e alternato applicati agli elettrodi

Il valore di  $m/z$  al centro della banda passante e' invece legato ai valori assoluti di tali potenziali

## Descrizione matematica del moto di ioni (positivi) all'interno di un quadrupolo

Il potenziale elettrico all'interno del quadrupolo e' dato da:

$$\phi = (U + V \cos \omega t) (x^2 - y^2) / 2r_0^2$$

dove:

$U$  = valore del potenziale continuo

$V$  = ampiezza del potenziale alternato

$\omega = 2\pi f$  = frequenza angolare del potenziale alternato

$r_0$  = distanza fra l'asse  $z$  e le superfici elettrodiche

Le componenti del **campo elettrico nelle tre direzioni** sono dunque:

$$E_x = - \delta\phi / \delta x = - (U + V \cos \omega t) x / r_0^2$$

$$E_y = - \delta\phi / \delta y = (U + V \cos \omega t) y / r_0^2$$

$$E_z = - \delta\phi / \delta z = 0$$

La forza cui sono soggetti gli ioni istante per istante nelle tre direzioni e' data dal prodotto del campo elettrico per la carica:

$$F = z E$$

inoltre se si considera che  $F_i = m \delta^2 i / \delta t^2$  (con  $i =$  coordinata), si possono scrivere le equazioni del moto:

$$\delta^2 x / \delta t^2 = F_x / m = - (U + V \cos \omega t) z x / m r_0^2$$

$$\delta^2 y / \delta t^2 = F_y / m = (U + V \cos \omega t) z y / m r_0^2$$

$$\delta^2 z / \delta t^2 = 0$$

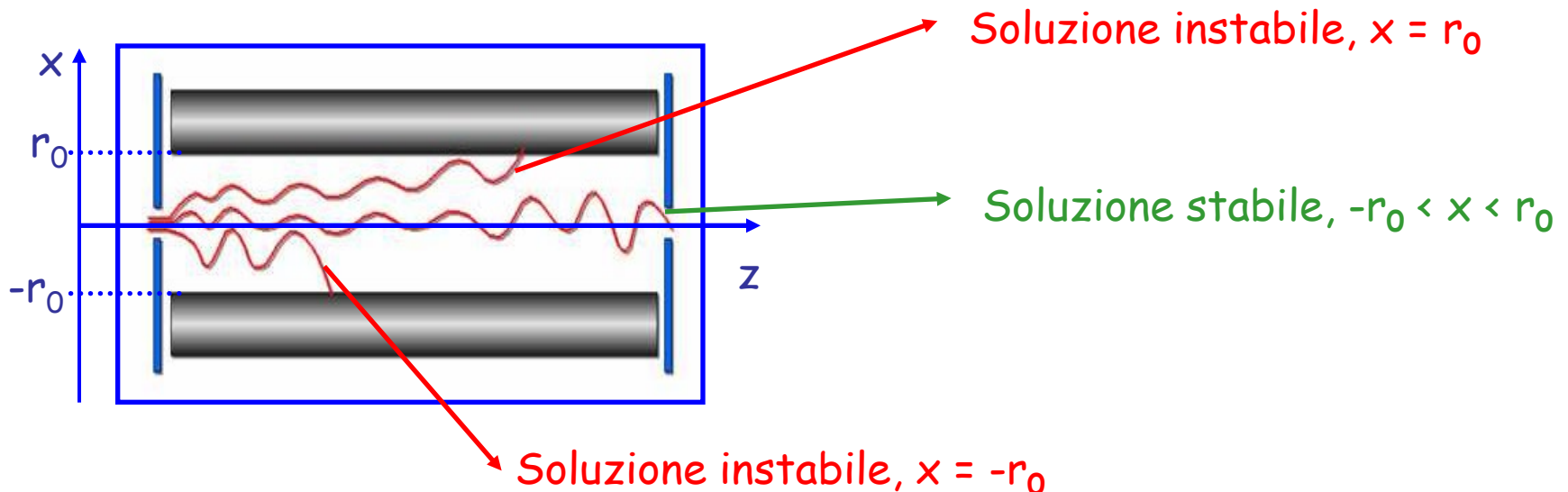
Tali equazioni possono essere riscritte in forma diversa (**Equazioni di Mathieu**), introducendo le variabili:

$$a = 4zU / \omega^2 r_0^2 m$$

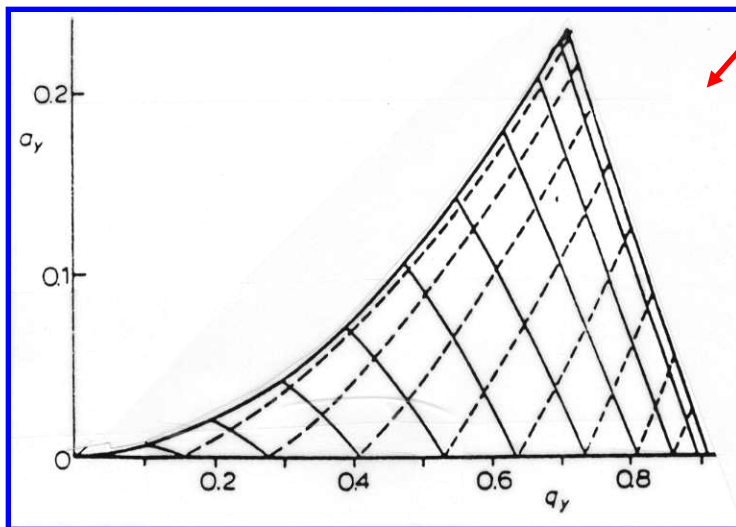
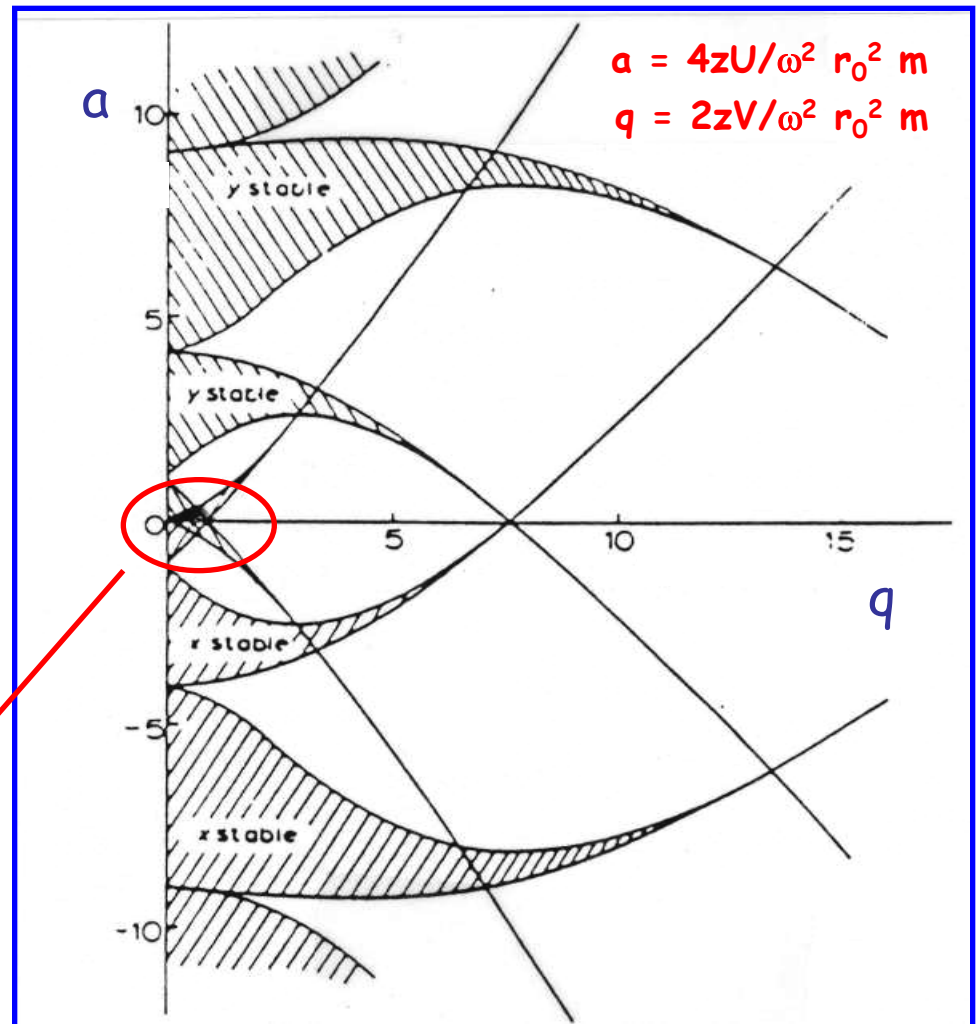
$$e \quad q = 2zV / \omega^2 r_0^2 m$$

In base ai valori di  $a$  e  $q$ , ossia del rapporto massa/carica, dei potenziali  $U$  e  $V$  applicati, nonché della frequenza angolare  $\omega$  del potenziale alternato, **le equazioni di Mathieu possono avere:**

- ✓ **soluzioni instabili:** l'ampiezza di oscillazione degli ioni aumenta indefinitamente e diventa maggiore del raggio  $r_0 \Rightarrow$  **gli ioni collidono con le barre del quadrupolo, neutralizzandosi**
- ✓ **soluzioni stabili:** l'ampiezza di oscillazione si mantiene sempre inferiore a  $r_0 \Rightarrow$  **gli ioni possono attraversare il quadrupolo**



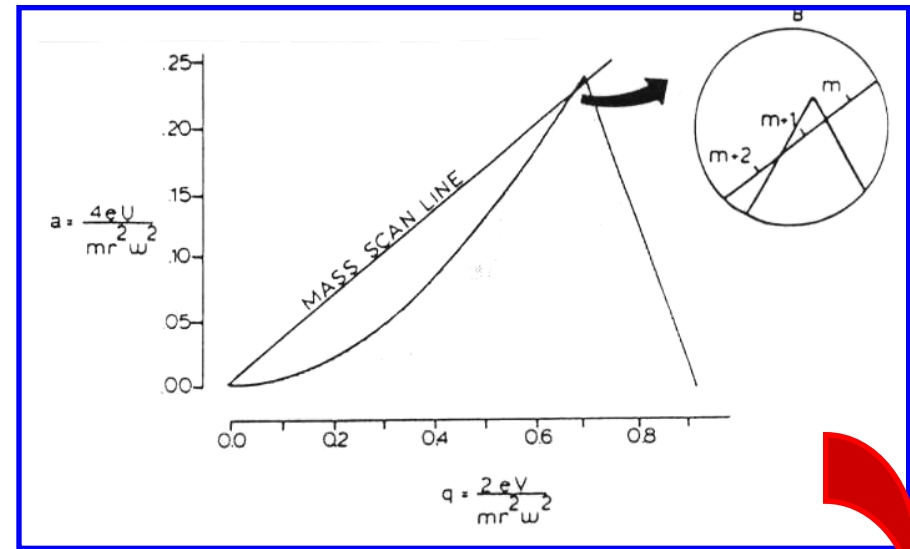
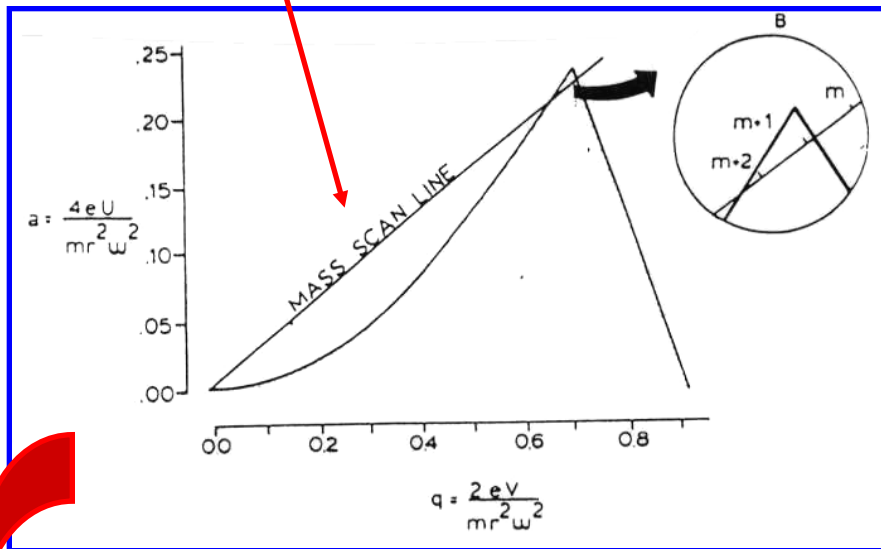
E' possibile rappresentare nel piano  $(q,a)$  le zone di stabilita' relative ai piani  $y$ - $z$  ( $y$  stable) e  $x$ - $z$  ( $x$  stable) ottenute dalla soluzione delle equazioni di Mathieu:



zona di stabilita' sia nel piano  $x$ - $z$  che nel piano  $y$ - $z$

## Aspetti operativi per un analizzatore a quadrupolo

Normalmente si sceglie di lavorare mantenendo costante il rapporto  $a/q = 2U/V \Rightarrow$  i punti operativi per tutti gli ioni si troveranno sulla stessa linea (mass scan line) nel piano  $(q,a)$ :

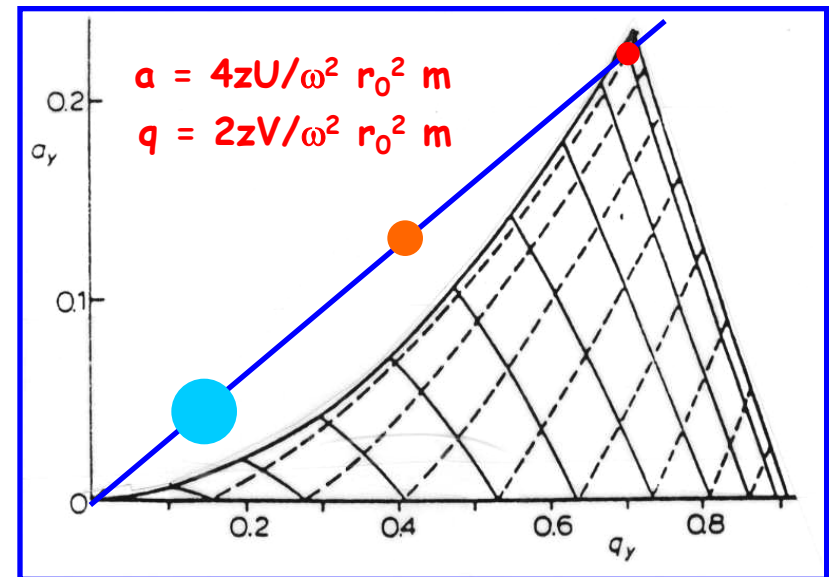
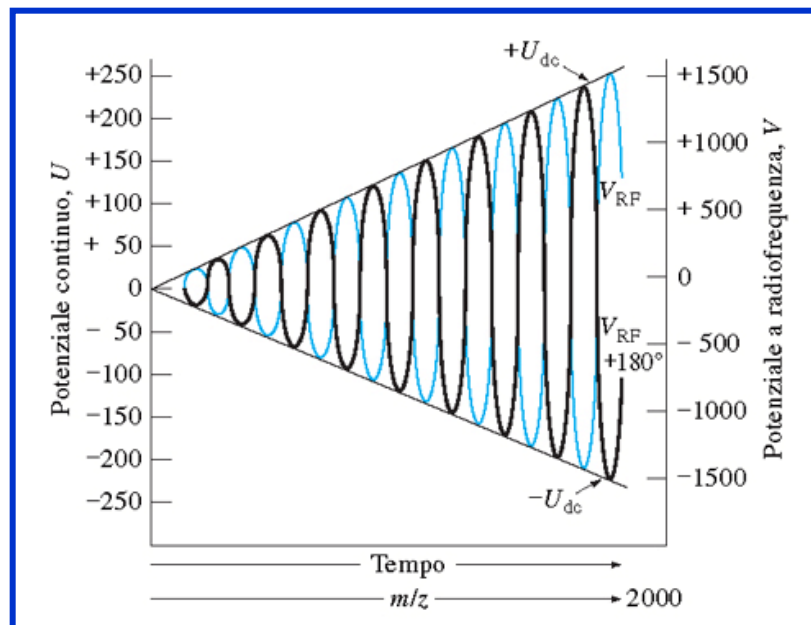


maggiore e' la pendenza della mass scan line, minore e' la lunghezza del segmento di linea incluso nella regione di stabilita' e con esso l'intervallo di rapporti massa/carica degli ioni che attraversano il quadrupolo, ossia la risoluzione. Il massimo valore di R per un quadrupolo è dell'ordine di 1000.

Scelto il rapporto  $U/V$  ottimale la scansione dei rapporti massa/carica può essere effettuata:

✓ variando il voltaggio applicato (approccio convenzionale)

se  $U$  e  $V$  vengono aumentati simultaneamente (ma sempre con  $U/V$  costante) rapporti massa/carica sempre più grandi corrisponderanno ai punti della *mass scan line* compresi nella regione di stabilità'

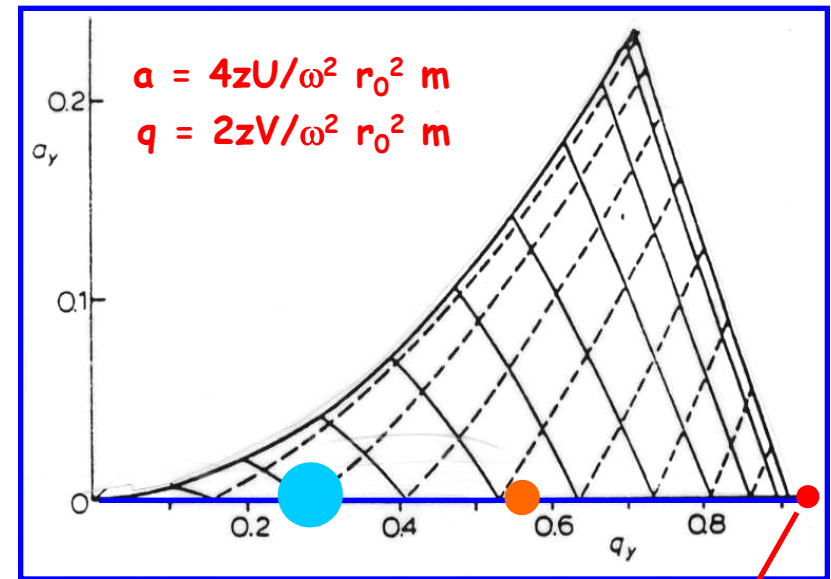




✓ variando la frequenza del potenziale alternato  $\omega$

si opera in condizioni in cui il potenziale continuo  $U$  non è mai applicato (ossia  $a = 0$  sempre) e l'ampiezza del potenziale alternato  $V$  è costante.

In questo caso, a seconda del valore di  $\omega$ , vi sarà un valore limite di  $m/z$  al di sotto del quale tutti gli ioni saranno instabili.



Ione instabile

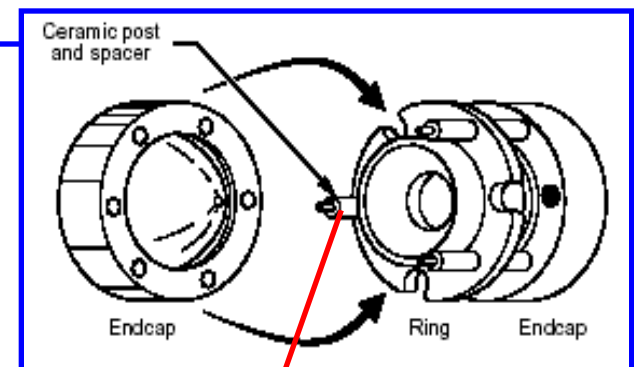
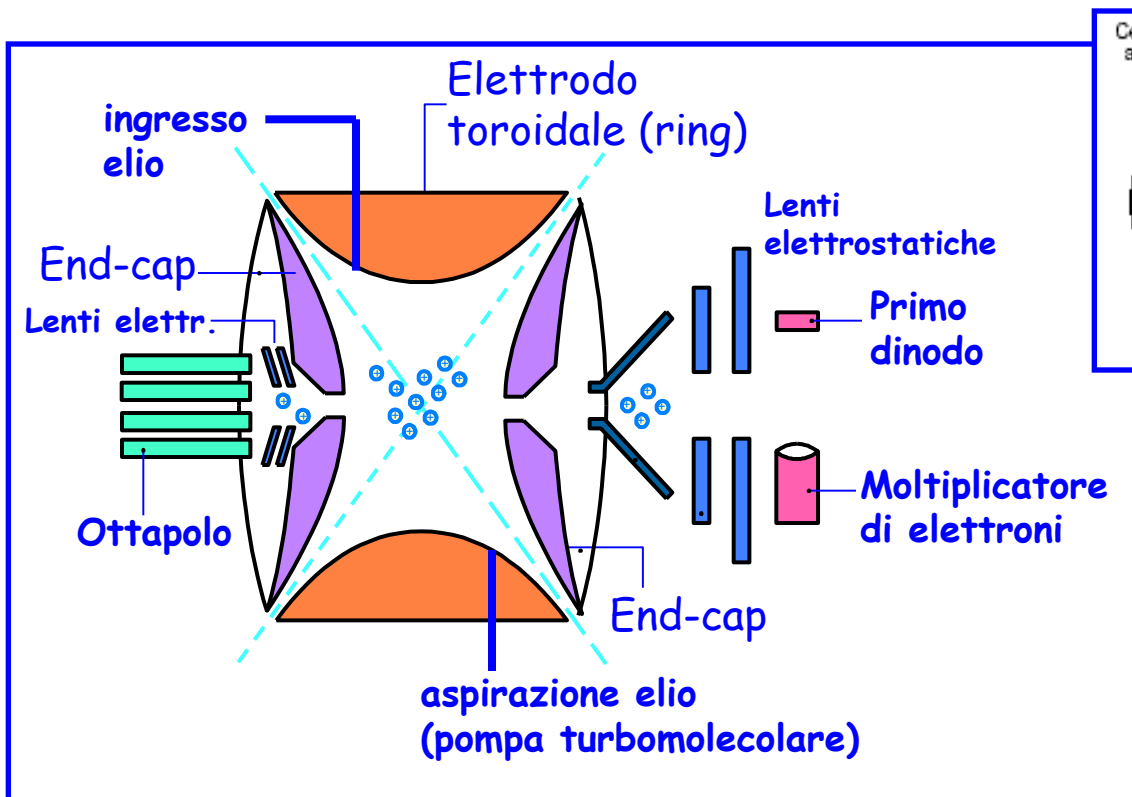
Il quadrupolo opera in questo caso come un *filtro di massa passa alto*.

Abbassando sempre più il valore limite di  $m/z$  si può raggiungere la condizione di *trasmissione ionica totale*, ossia tutti gli ioni vengono fatti passare attraverso il quadrupolo.

# Analizzatori di massa a trappola ionica (Ion Trap, IT)

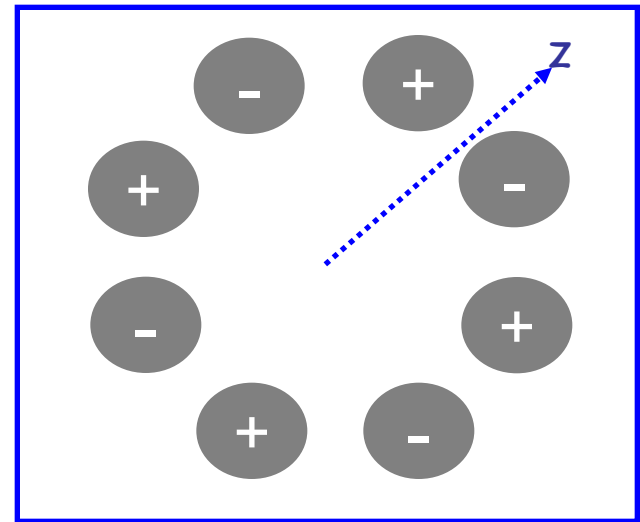
La trappola ionica è l'evoluzione tridimensionale dell'analizzatore a quadrupolo. In questo caso **gli elettrodi sono tre**:

- ✓ un **elettrodo toroidale centrale (ring)**
- ✓ due **elettrodi a calotta laterali (end-cap)**



**Gli spaziatori in ceramica isolano elettricamente l'elettrodo toroidale dagli end-cap**

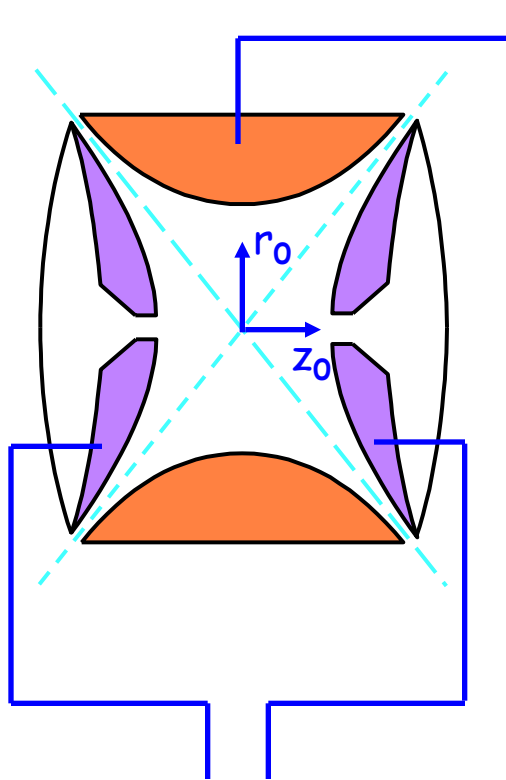
Prima dell'ingresso nella trappola ionica gli ioni provenienti dalla sorgente vengono focalizzati da uno o più **ottapoli** (il cui principio di funzionamento è simile a quello dei quadrupoli):



L'ingresso degli ioni nella trappola non avviene continuamente: le lenti **elettrostatiche** operano come un "cancello" per gli ioni, quando il loro potenziale diventa negativo (se gli ioni sono positivi) il "cancello" si apre, facendoli entrare.

All'interno della trappola è presente elio ad una pressione dell'ordine di  $10^{-5}$  torr. Esso opera come un "ammortizzatore", rallentando gli ioni che entrano con velocità più alta ed accelerando quelli più lenti, mediante collisioni (*termalizzazione*). Nel complesso la distribuzione delle energie cinetiche degli ioni diventa più stretta.

## Schema dei potenziali applicabili ai tre elettrodi della trappola ionica



potenziale di intrappolamento a radiofrequenza:

$$V_{RF}\cos(\omega_{RF}t)$$

è l'equivalente del potenziale alternato applicato alle barre del quadrupolo e consente di intrappolare una serie di ioni con diverso rapporto  $m/z$ .

Nella fase di intrappolamento degli ioni i due end-cap sono allo stesso potenziale.

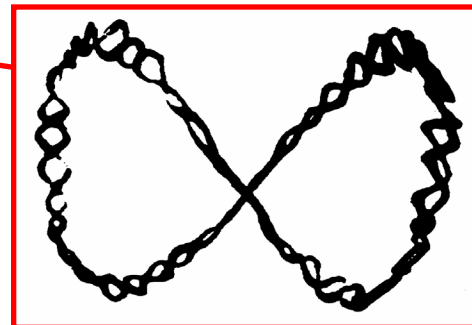
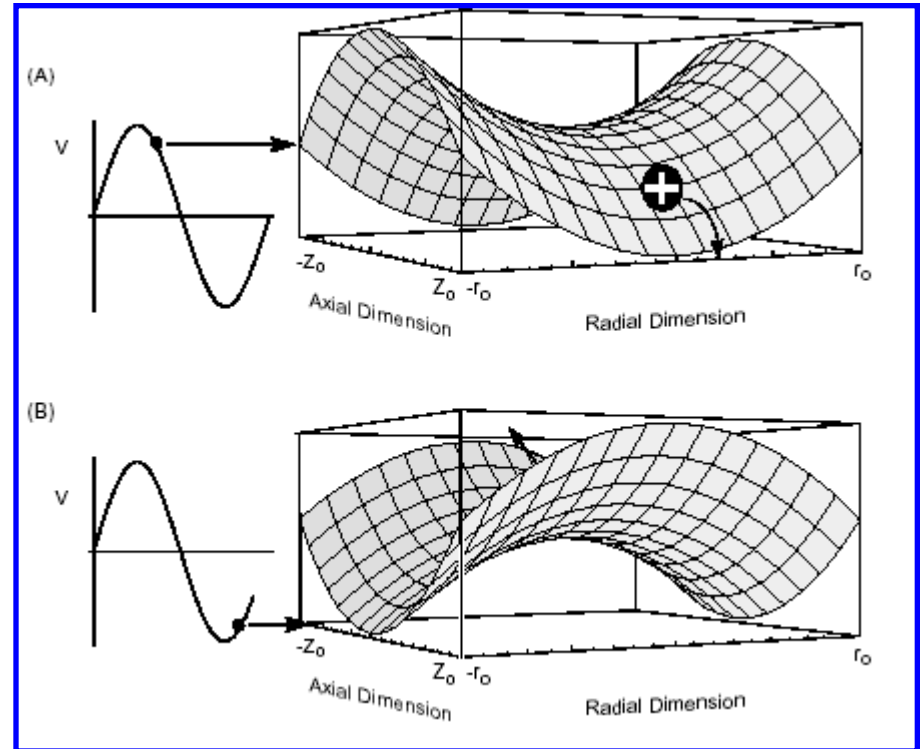
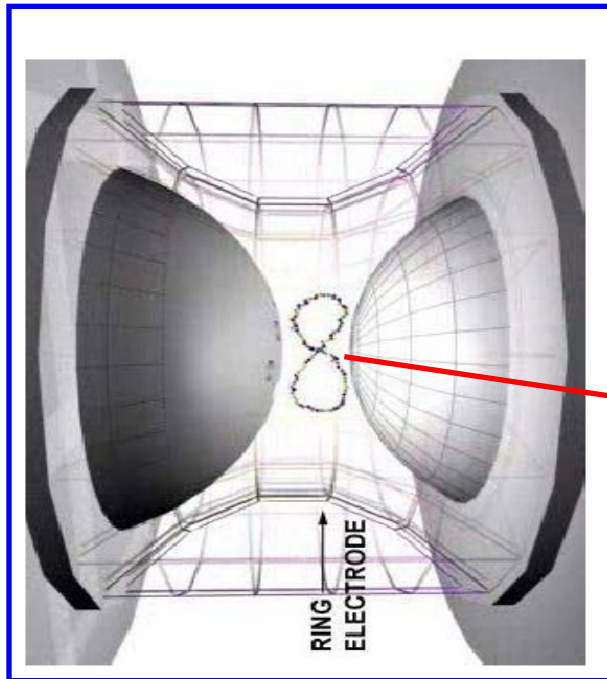
potenziale di risonanza (espulsione/eccitazione):

$$V_{res}\cos(\omega_{z-res}t)$$

è applicato soltanto quando si vuole espellere una serie di ioni dalla trappola o si vuole eccitare lungo la direzione  $z$  uno ione intrappolato in precedenza.

# Effetto del potenziale di intrappolamento

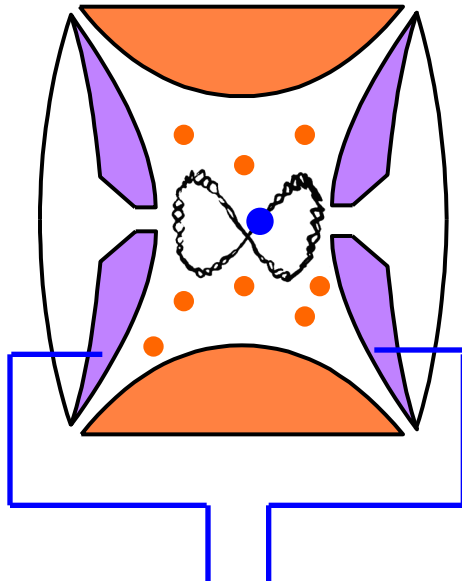
L'applicazione del potenziale di intrappolamento genera delle superfici di potenziale sulle quali gli ioni si muovono, restando intrappolati nello spazio compreso fra i tre elettrodi, senza toccarne alcuno:



moto degli ioni

## Spettrometria di massa tandem (MS/MS) e sequenziale (MS<sup>n</sup>) in trappola ionica

Dopo l'isolamento uno ione può essere frammentato all'interno della trappola ionica per ottenere informazioni sulla sua struttura molecolare. La frammentazione avviene per eccitazione lungo la direzione z dello ione isolato, applicando fra gli end-cap un potenziale alternato alla frequenza secolare ( $\omega_{z-res}$ ) dello ione.

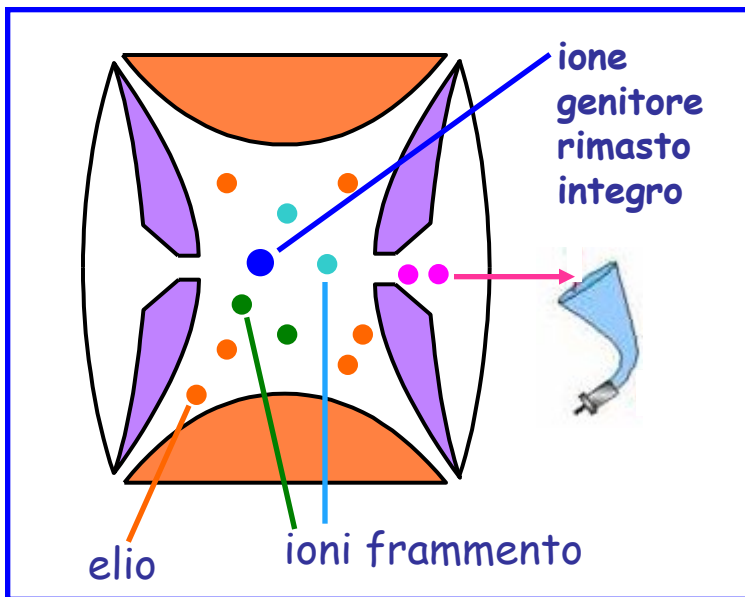


potenziale di eccitazione

$$V_{res} \cos(\omega_{z-res} t)$$

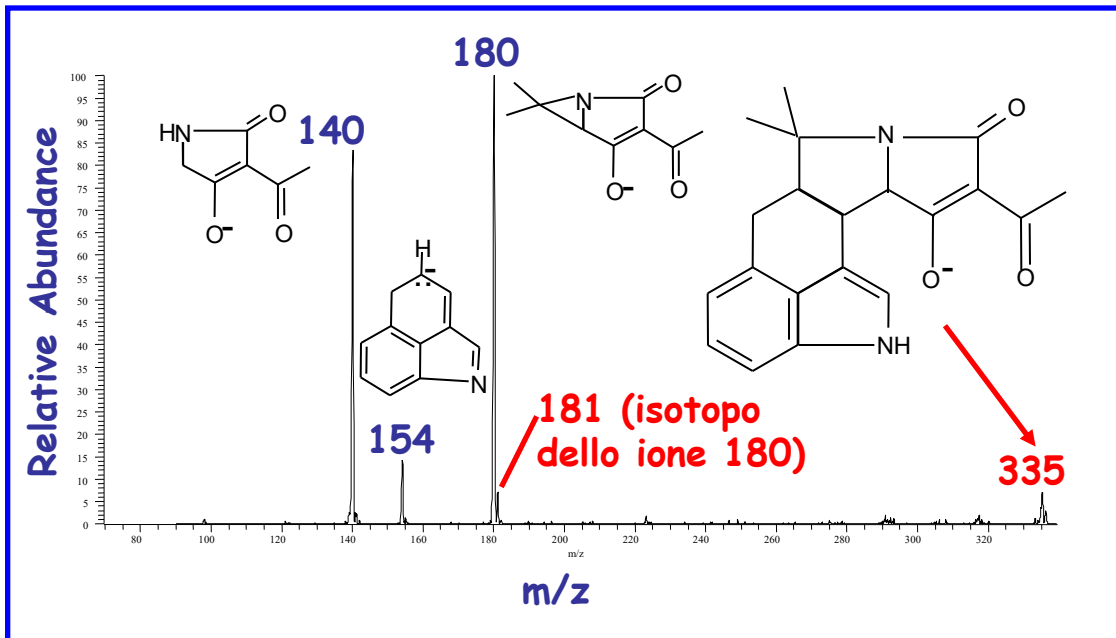
### Frammentazione

Nel suo moto lo ione isolato, detto anche "ione genitore" (blu) collide con gli atomi di elio (arancione) presenti nella trappola e si frammenta, in modo tanto più evidente quanto maggiore è l'ampiezza del potenziale di eccitazione.



## Scansione MS/MS

I frammenti generati dallo ione genitore possono essere espulsi in successione dalla trappola, ottenendo lo spettro MS/MS

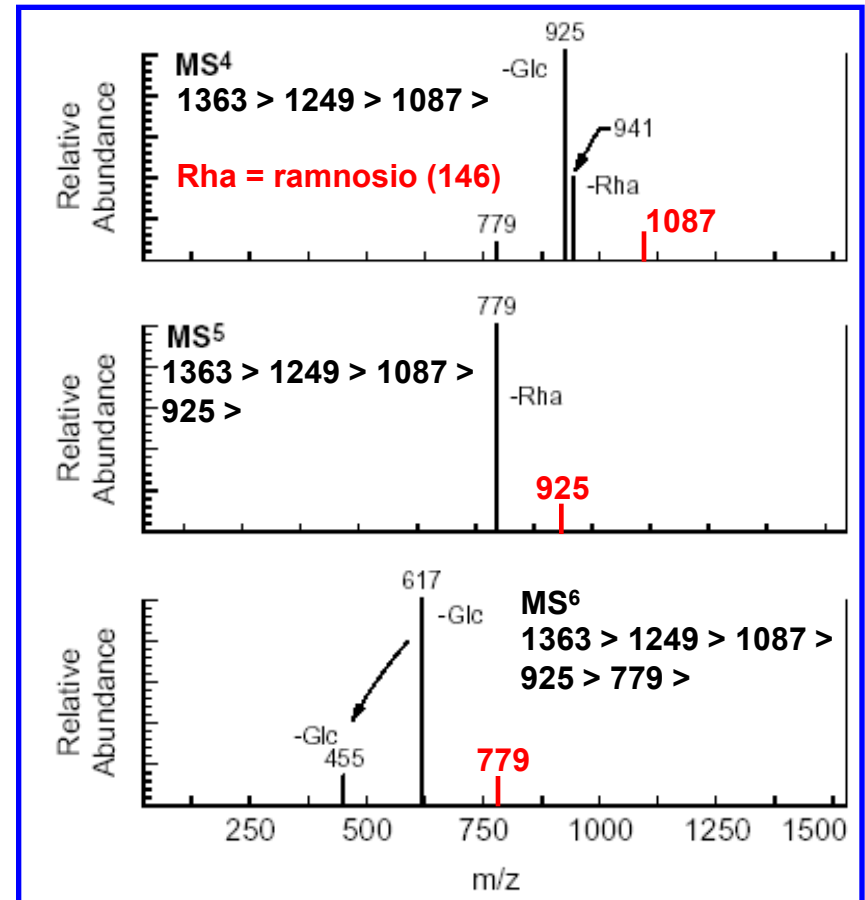
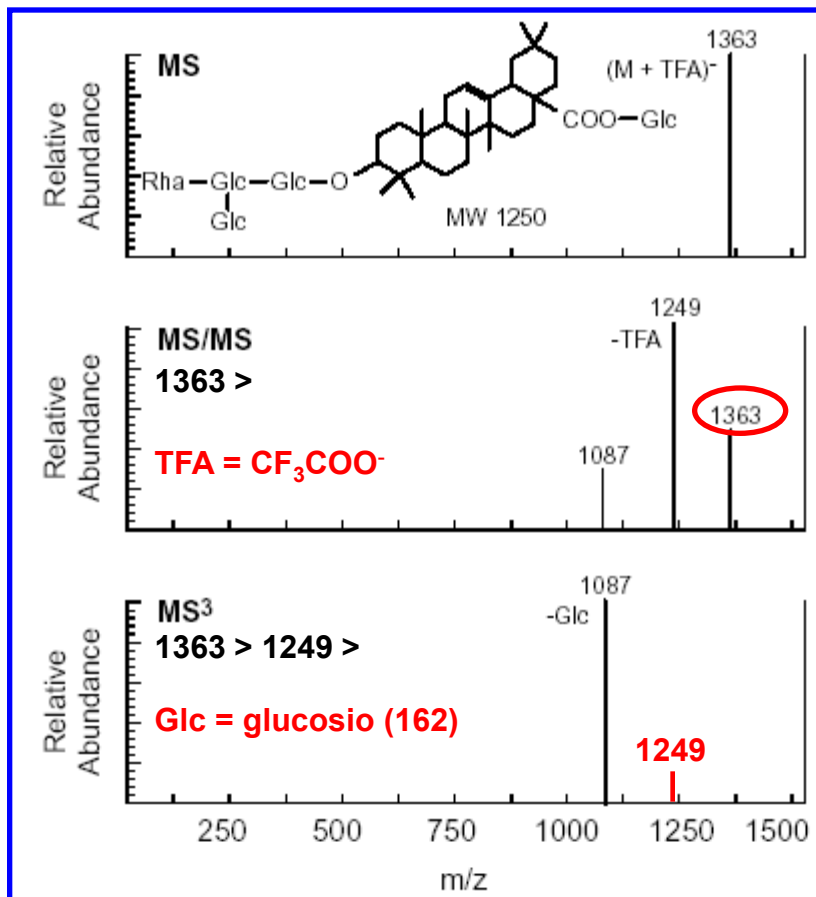


Spettro MS/MS dello ione molecolare deprotonato dell'acido ciclopiazonico (m/z 335)

## Scansione MS<sup>n</sup>

Un frammento MS/MS può essere a sua volta isolato nella trappola e frammentato ulteriormente, ottenendo così lo spettro MS<sup>3</sup>.

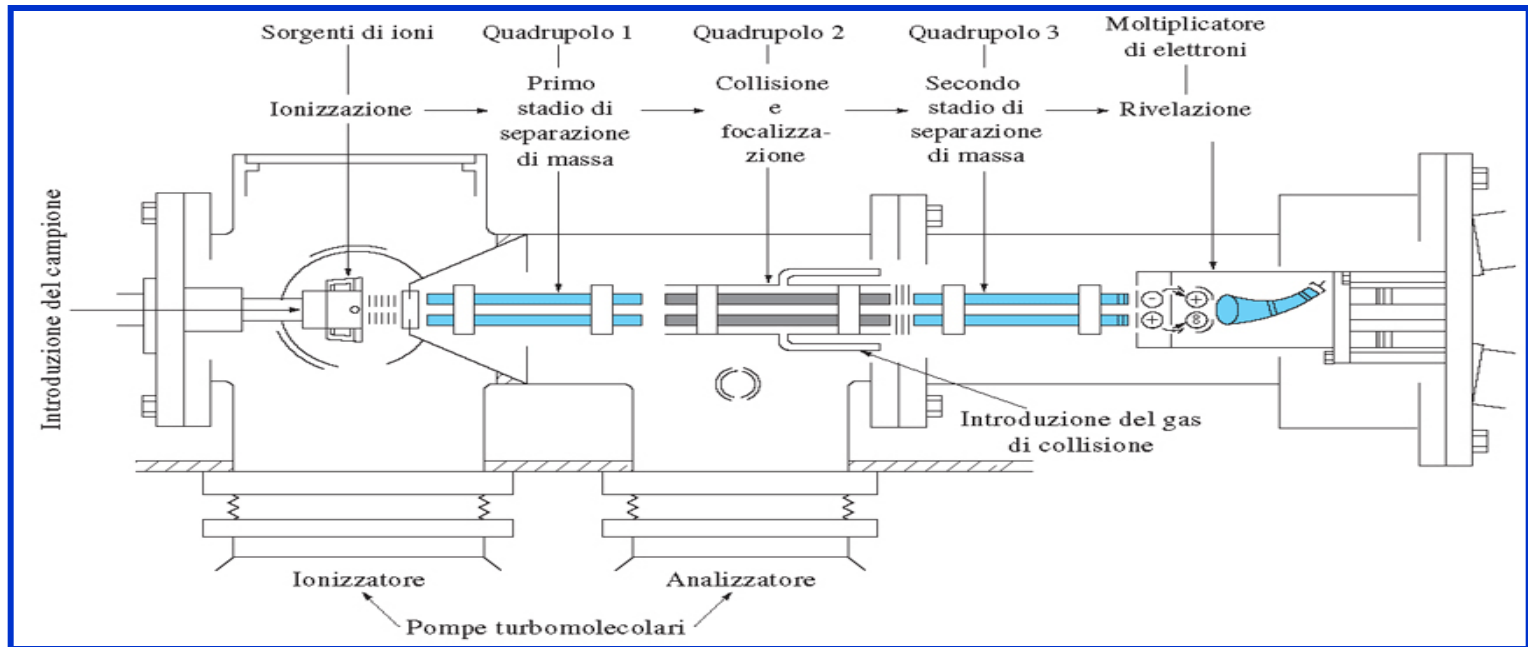
L'operazione può proseguire a cascata fino a MS<sup>9</sup>-MS<sup>10</sup>.





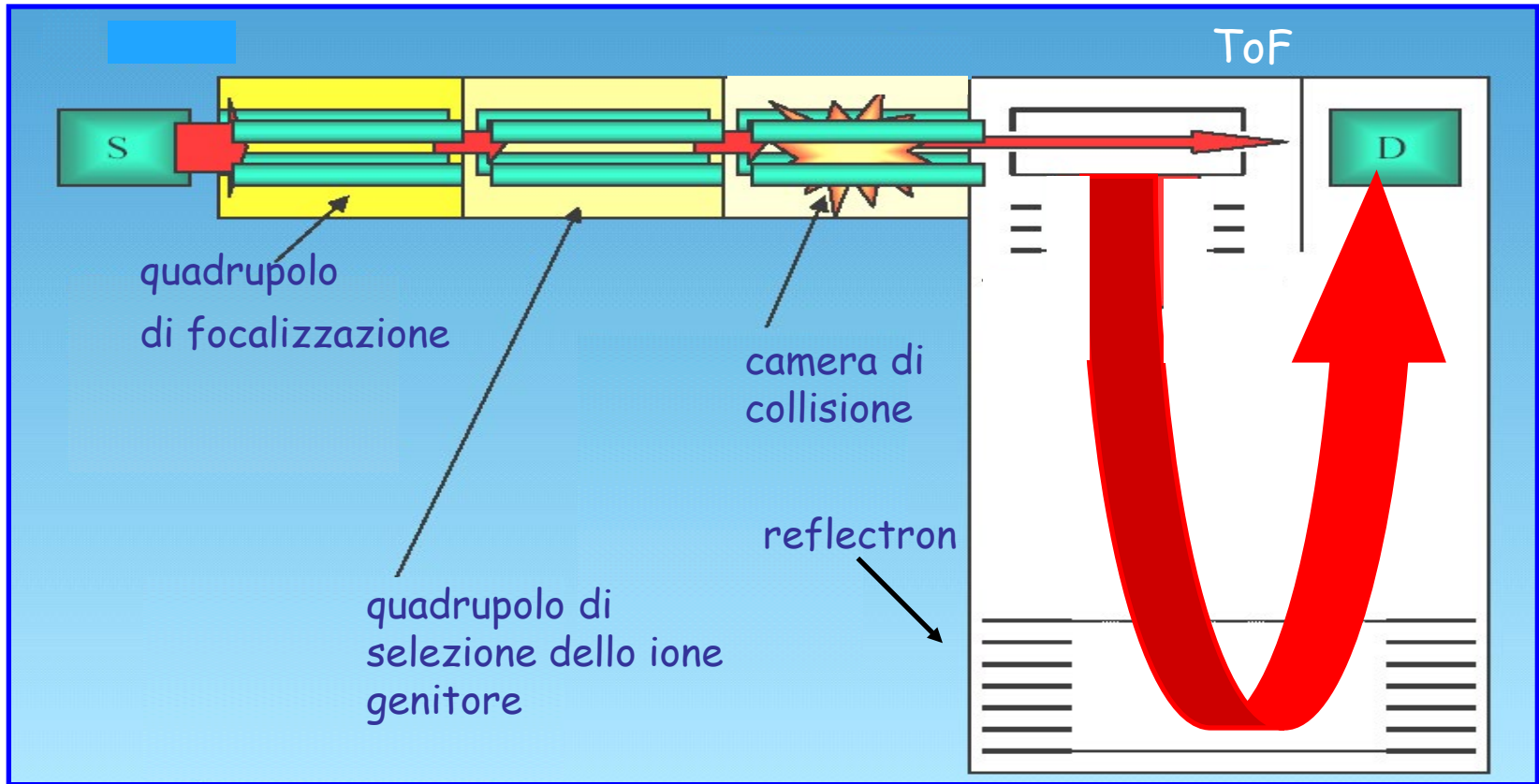
# Approcci alternativi alla spettrometria di massa tandem e sequenziale

## Triplo quadrupolo (MS/MS)



- ❖ il **quadrupolo 1** lascia passare soltanto lo ione genitore (precursore)
- ❖ esso viene intrappolato nel **quadrupolo 2** dove avviene la collisione con un gas inerte
- ❖ il **quadrupolo 3** effettua la scansione dei frammenti generati all'interno del quadrupolo 2.

## Quadrupolo-Tempo di volo (Q-ToF)



L'uso di un analizzatore a tempo di volo, ortogonale al quadrupolo, **fa aumentare notevolmente la risoluzione** dello spettro di massa dei frammenti.

## Confronto fra gli analizzatori di massa considerati

Nome	risoluzione	limite di m/z	Vantaggi	svantaggi
magnetico-elettrostatico	$10^5$	$10^4$	elevata sensibilità	costo elevato, ingombro
tempo di volo	$10^3$ - $10^4$	$10^6$	rapidità di risposta, elevata trasmissione	ionizzazione pulsata
quadrupolo	$10^3$ - $10^4$	$10^3$ - $10^4$	compattezza, basso costo, bassi voltaggi	risoluzione limitata
trappola ionica 3D	$10^3$ - $10^4$	$10^3$ - $10^4$	potenzialità $MS^n$ , compattezza	bassa sensibilità