

Spettrometria di massa Concetti teorici fondamentali

CREIAMO
UNA SCIENZA MIGLIORE
TU E AGILENT





Nel quadro del proprio impegno
nei confronti del mondo
accademico, Agilent Technologies
consente l'accesso a contenuti
di proprietà dell'azienda.

Questa serie di diapositive è stata creata da Agilent
esclusivamente per scopi didattici.

Qualora si desiderino utilizzare le immagini, gli schemi
o i disegni per altri scopi, contattare anticipatamente Agilent.

Introduzione

La **spettrometria di massa (MS)** è una tecnica di chimica analitica che permette di identificare la quantità e il tipo di sostanze chimiche presenti in un campione mediante misura del rapporto massa/carica e dell'abbondanza degli ioni in fase gassosa.

Il diagramma dello spettro di massa generato riporta il segnale degli ioni in funzione del rapporto massa/carica. La massa dello ione molecolare e dei frammenti ricavata dagli spettri viene utilizzata per determinare la composizione elementare o firma isotopica di un composto. Queste informazioni sono impiegate per identificare le strutture chimiche di varie molecole, per esempio pesticidi o peptidi.

La spettrometria di massa opera ionizzando i composti chimici per generare molecole o frammenti di molecole carichi e quindi misurandone i rapporti massa/carica.

Fonte: Wikipedia (sito inglese)

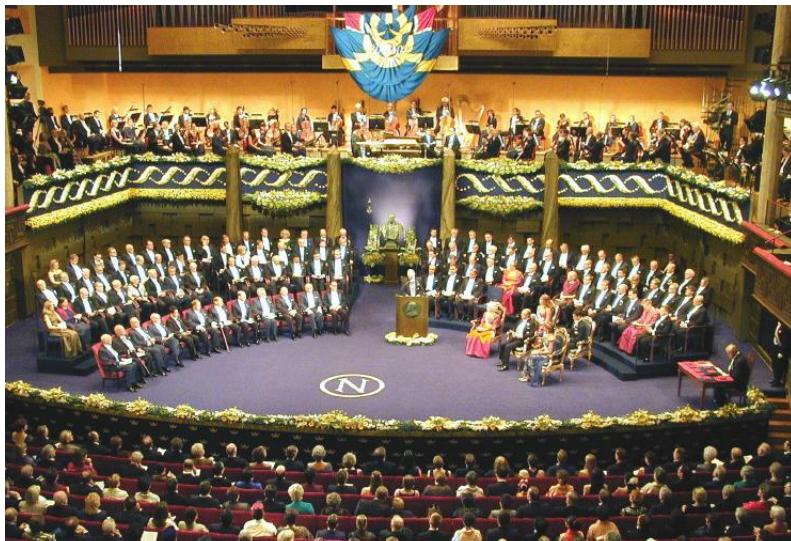


Introduzione

Tecnologia insignita del Premio Nobel

John Fenn e **Koichi Tanaka** hanno ottenuto il Premio Nobel per la Chimica nel 2002 per lo sviluppo di due tecnologie di ionizzazione soft:

- tecnologia elettrospray, Dr. Fenn
- desorbimento laser soft, Dr. Tanaka



Sala dei concerti, Stoccolma, Svezia, dicembre 2002



Il Dr. Fenn riceve il Premio Nobel dal Re di Svezia

Sommario

Introduzione

- [Nozioni essenziali](#)
- [Masse nella spettrometria di massa](#)
- [Passaggi fondamentali](#)

Come funziona

- [Ionizzazione](#)
 - [Impatto elettronico](#)
 - [Ionizzazione chimica](#)
 - [Considerazioni sui campioni \(LC/MS\)](#)
 - [Elettrospray](#)
 - [Ionizzazione chimica a pressione atmosferica](#)
 - [Fotoionizzazione a pressione atmosferica](#)
 - [Ionizzazione multimode](#)
 - [MALDI](#)
 - [ICP](#)

Come funziona

- [Analizzatore di massa](#)
 - [Singolo quadrupolo](#)
 - [Triplo quadrupolo](#)
 - [Trappola ionica](#)
 - [Time-of-flight](#)

Risultati

- [Spettro di massa](#)
- [Confronto tra singolo quadrupolo e time-of-flight](#)
- [Ioni a carica multipla e deconvoluzione](#)

Ulteriori informazioni

- [Sito web Agilent Academia](#)
- [Pubblicazioni](#)



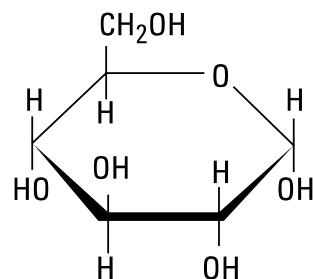
Introduzione

Nozioni essenziali

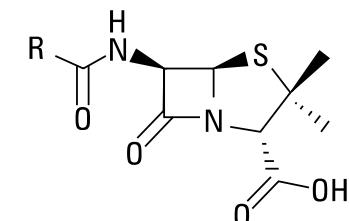
Gli elementi chimici possono essere identificati in maniera univoca in base alla loro massa. La spettrometria di massa è un metodo analitico che misura il peso molecolare o il peso atomico.

Fonte: tavola periodica, poster SI-0186

I composti, costituiti da diversi elementi, possono essere differenziati grazie alla loro massa:



Glucosio: $C_6H_{12}O_6$
PM: 180,1559 g/mol



Penicillina: $C_{16}H_{18}N_2O_4S$
PM: 334,39 g/mol

Sommario

Esclusivamente per la didattica

5 aprile 2016

Introduzione

Masse nella spettrometria di massa

La **massa media** di una molecola si ottiene sommando le masse atomiche medie degli elementi che la costituiscono.

Massa media dell'acqua (H_2O): $1,00794 + 1,00794 + 15,9994 = 18,01528$ Da

La **massa monoisotopica** è la somma delle masse degli atomi in una molecola calcolata a partire dalla massa a riposo nello stato fondamentale non legato dell'isotopo principale (più abbondante) di ciascun elemento anziché dalla massa isotopica media. Tipicamente la massa monoisotopica viene espressa in unità di massa atomica unificata.

La **massa accurata** (o, più appropriatamente, massa accurata misurata) è una massa ottenuta sperimentalmente che permette di determinare la composizione elementare. Per le molecole di massa inferiore a 200 u, un'accuratezza pari a 5 ppm è spesso sufficiente per stabilire in maniera univoca la composizione elementare.

 Sommario

Fonte: Wikipedia (sito inglese)

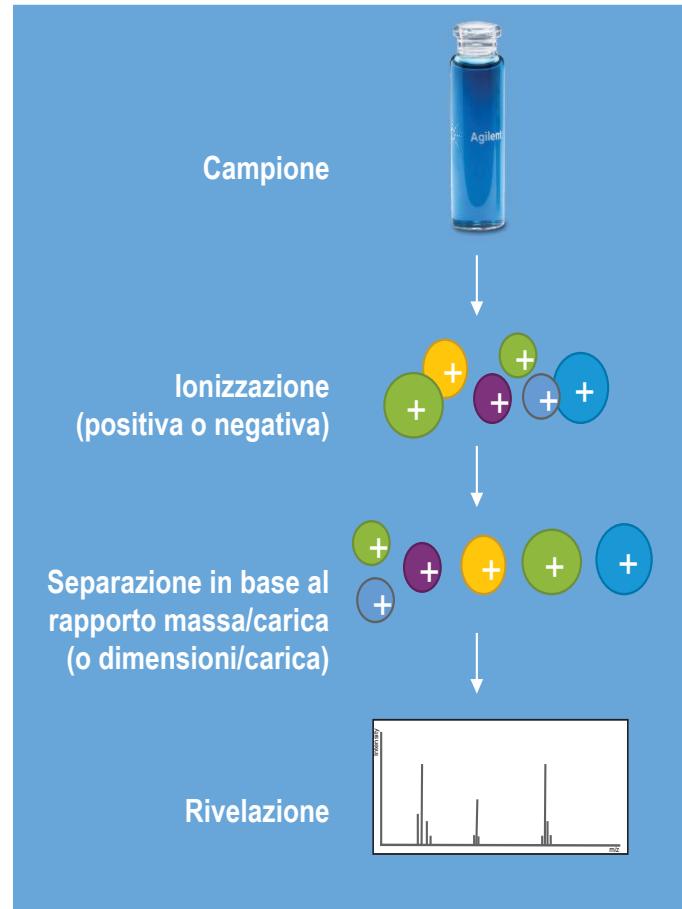


Introduzione

Passaggi fondamentali

Procedura di MS standard

- Il campione (solido, liquido, gassoso) viene ionizzato
- Durante la ionizzazione le molecole del campione possono rompersi generando frammenti carichi
- Gli ioni vengono separati in funzione del loro rapporto massa/carica (m/z)
- Gli ioni vengono rivelati da un meccanismo in grado di identificare le particelle cariche (per es., un elettromoltiplicatore)
- I risultati sono visualizzati sotto forma di spettri con l'abbondanza relativa in funzione del rapporto m/z
- L'identificazione viene eseguita correlando masse note alle masse identificate o tramite un pattern di frammentazione caratteristico



Sommario



Come funziona Ionizzazione

Prima dell'analisi in spettrometria di massa, il campione deve essere ionizzato nella sorgente ionica.

Introduzione di campioni gassosi:

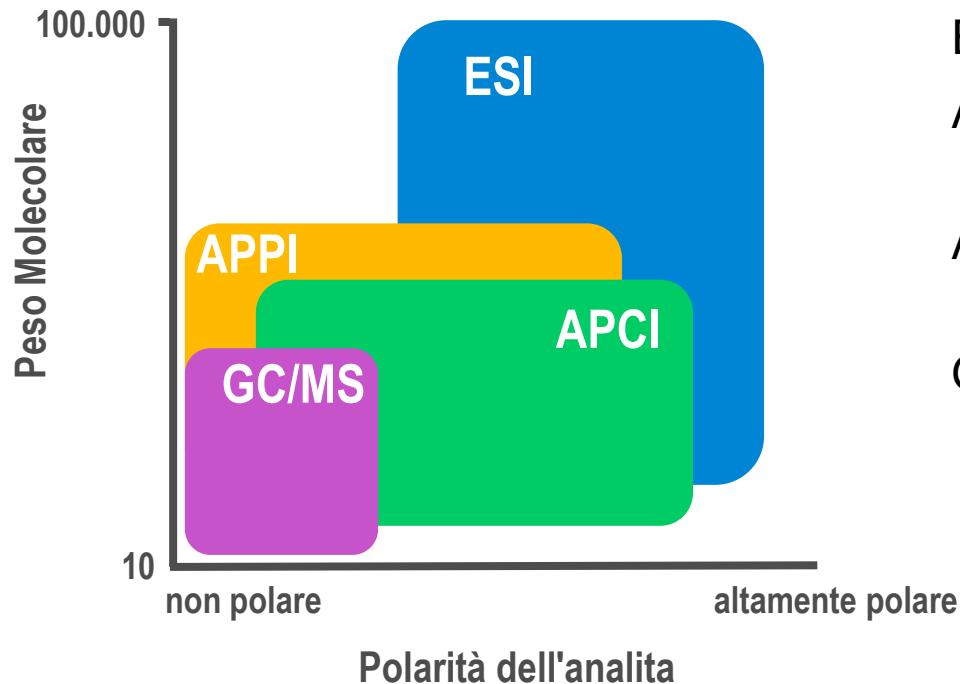
- ionizzazione elettronica (EI)
- ionizzazione chimica (CI)

Introduzione di campioni in soluzione:

- ionizzazione elettrospray (ESI)
- ionizzazione chimica a pressione atmosferica (APCI)
- fotoionizzazione a pressione atmosferica (APPI)
- ionizzazione multimode (MMI)
- desorbimento/ionizzazione laser assistito da matrice (MALDI)
- plasma accoppiato induttivamente (ICP)

Come funziona Ionizzazione

La polarità degli analiti determina il tipo di sorgente di ionizzazione.



ESI	Ionizzazione elettrospray
APPI	Fotoionizzazione a pressione atmosferica
APCI	Ionizzazione chimica a pressione atmosferica
GC/MS	Gascromatografia / Spettrometria di massa

Come funziona Ionizzazione elettronica (EI)

La ionizzazione elettronica (EI) è una tecnica consolidata nonché il metodo di ionizzazione più diffuso accoppiato alla gascromatografia (GC).

Le molecole in uscita dal gascromatografo sono bombardate da un fascio di elettroni (70 eV), che strappa un elettrone dalla molecola formando uno ione carico.



La tecnica EI tipicamente produce ioni frammento (frazioni delle molecole originali) e ioni molecolari a carica singola, sulla base dei quali si opera l'identificazione strutturale.



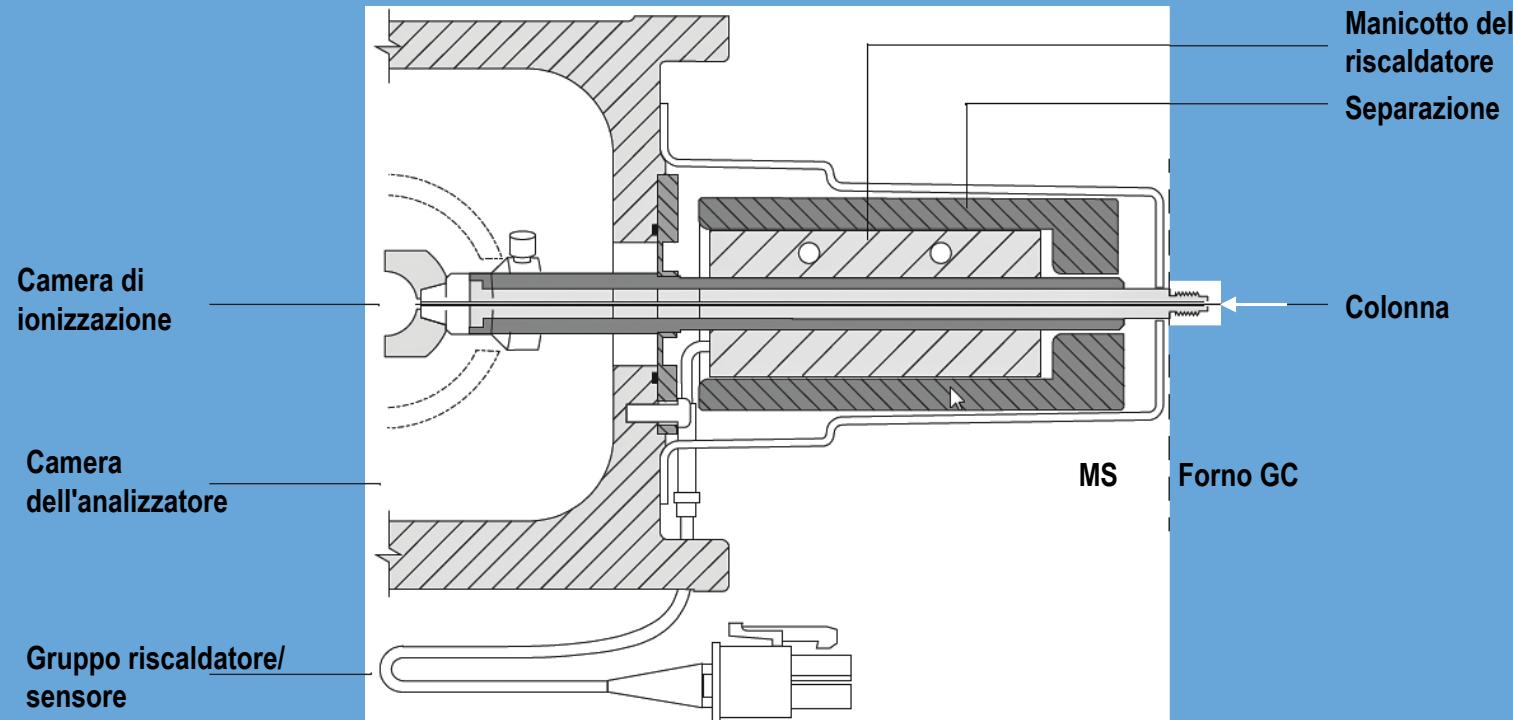
Un elettromoltiplicatore o un fotomoltiplicatore rivela gli ioni separati.
Lo spettro di massa generato riporta l'intensità del segnale in corrispondenza di uno specifico valore del rapporto m/z.

Sommario



Come funziona Ionizzazione elettronica (EI)

L'interfaccia GC/MS opera a temperature elevate.



L'interfaccia EI GC/MS. Fonte: [Agilent 7000 Series Triple Quad GC/MS Operation Manual \(p. 46\)](#)

Sommario

Come funziona Ionizzazione chimica (CI)

La tecnica EI è un processo di trasferimento diretto di energia in cui l'energia cinetica di un elettrone viene passata direttamente a una molecola di analita.

La tecnica CI è un processo indiretto che impiega un agente chimico intermedio. Ciò vale in particolare nel caso della ionizzazione chimica positiva (PCI), in cui la sorgente ionica è riempita con un gas reagente che viene ionizzato per creare ioni reagenti che reagiscono con l'analita.

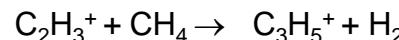
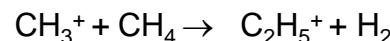
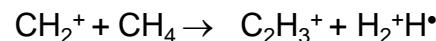
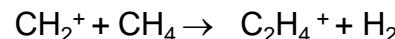
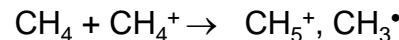
Gas reagenti utilizzati più di frequente: **metano, iso-butano e ammoniaca**.

Il gas reagente applicato determina il pattern di ionizzazione e frammentazione dell'analita.

Le principali reazioni del metano sono:



Il gas reagente viene ionizzato dagli elettroni che entrano nella sorgente di ionizzazione.



 **Sommario**

Vedere le note per ulteriori dettagli



Come funziona

Ionizzazione: considerazioni sui campioni (LC/MS)

ESI



Volatilità non necessaria

Tecnica preferita per gli analiti termicamente labili

Ioni formati in soluzione

Può formare ioni a carica multipla

APCI



Richiede una certa volatilità

L'analita deve essere termicamente stabile

Ioni formati in fase gassosa

Forma soltanto ioni a carica singola

APPI



Richiede una certa volatilità

L'analita deve essere termicamente stabile

Ioni formati in fase gassosa

Forma soltanto ioni a carica singola

Molti composti ionizzano bene con tutte e tre le sorgenti. Le tecniche APCI / APPI sono in grado di ionizzare quelle molecole la cui polarità è troppo alta per poter essere ionizzate con la tecnica ESI.

Sommario



Come funziona Ionizzazione: considerazioni sui campioni (LC/MS)

ESI



- Ioni in soluzione** per es., catecolamine, coniugati con solfati, ammine quaternarie
- Composti contenenti eteroatomi** per es., carbammati, benzodiazepine
- Composti che moltiplicano la carica in soluzione** per es., proteine, peptidi, oligonucleotidi

APCI



- Composti a PM e polarità intermedi** per es., PAH, PCB, acidi grassi, ftalati, alcoli
- Composti contenenti eteroatomi** per es., carbammati, benzodiazepine
- Composti troppo poco polari per una risposta ESI**

APPI



- Composti a PM intermedio e polarità da intermedia a bassa** per es., PAH, PCB, acidi grassi, ftalati, alcoli
- Composti contenenti eteroatomi** per es., carbammati, benzodiazepine
- Composti troppo poco polari per una risposta ESI**

Sommario



Come funziona Ionizzazione elettrospray (ESI)

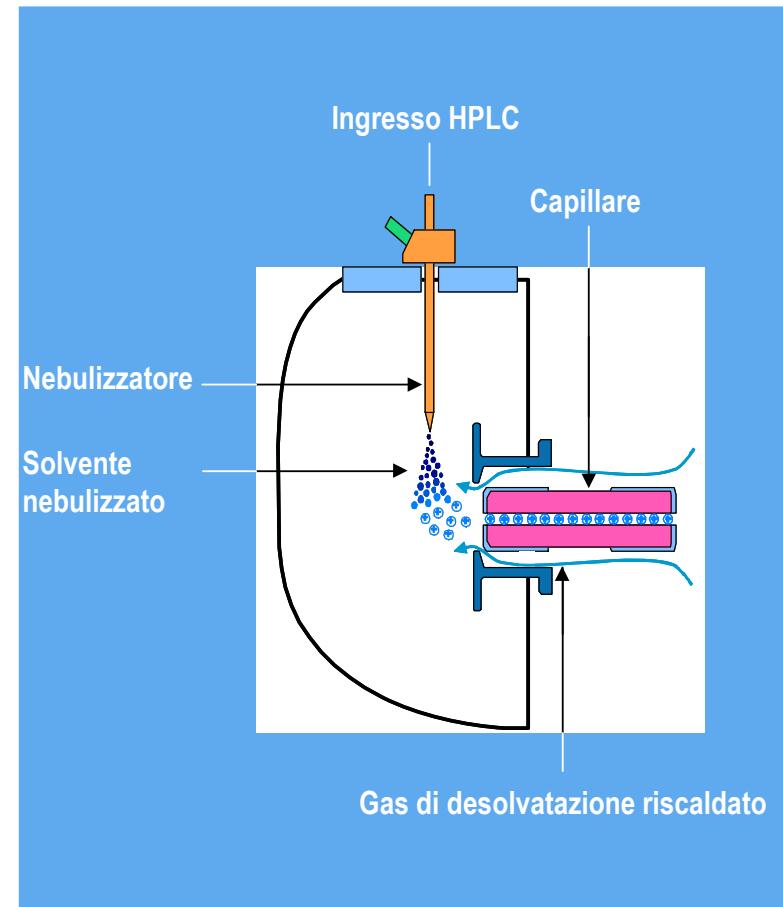
La ionizzazione elettrospray (ESI) è una tecnica di ionizzazione soft.

L'eluato LC viene spruzzato (nebulizzato) in una camera di nebulizzazione a pressione atmosferica in presenza di un forte campo elettrostatico e di un gas di desolvatazione riscaldato. Il campo elettrostatico si genera tra il nebulizzatore (a terra in questa specifica configurazione) e il capillare (ad alta tensione).

Molecole idonee:

- molecole di piccole dimensioni (glucosio) e biomolecole di grandi dimensioni (proteine, oligonucleotidi)

Nella tecnica ESI la formazione di cariche multiple è il fenomeno che rende possibile l'analisi di molecole di dimensioni maggiori (-> [Deconvoluzione](#))



Sorgente ionica elettrospray
Fonte: [guida ai concetti LC/MS](#) (p. 22)

 Sommario



Come funziona

Processo di ionizzazione ESI

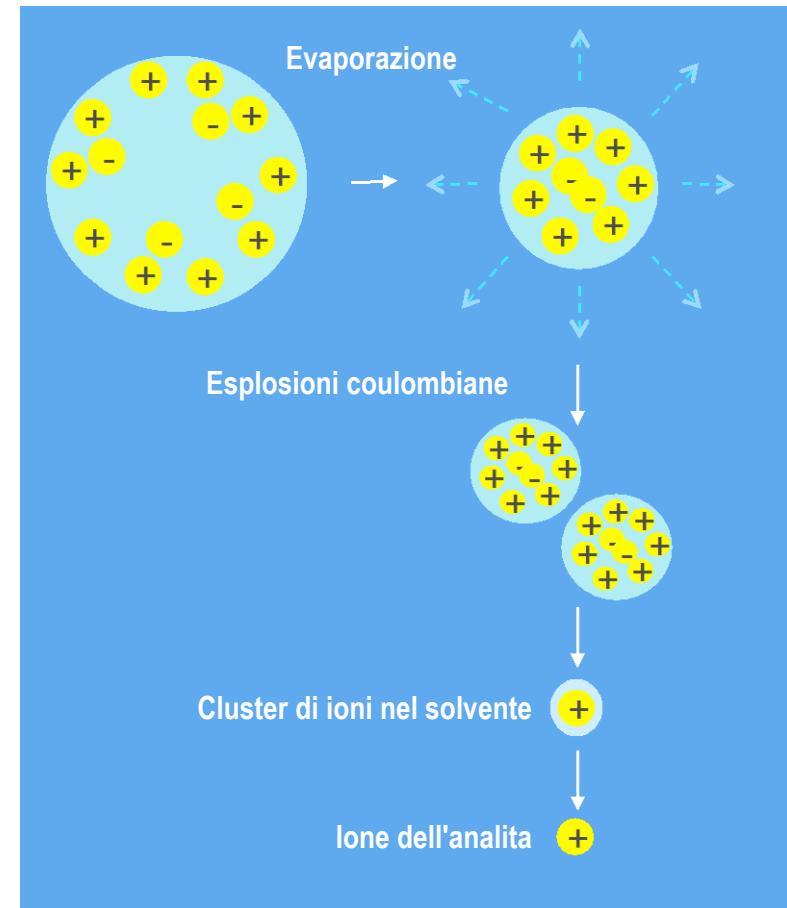
Da goccioline cariche a ioni degli analiti

Il nebulizzatore produce goccioline di dimensioni uniformi.

Le goccioline cariche sono attratte verso il capillare dielettrico. Il flusso di azoto riscaldato che avvolge il capillare causa la riduzione delle dimensioni delle goccioline. **Questo** processo è noto come desolvatazione.

Le dimensioni delle goccioline continuano a diminuire finché le forze elettrostatiche di repulsione (coulombiane) non superano le forze di coesione, provocando l'esplosione delle goccioline.

Questo processo si ripete finché non avviene il desorbimento degli ioni degli analiti nella fase gassosa, fenomeno provocato dai forti campi elettrici agenti sulla superficie delle micro-goccioline. Questo processo è noto come **evaporazione degli ioni**.



Sommario



Come funziona Ionizzazione chimica a pressione atmosferica (APCI)

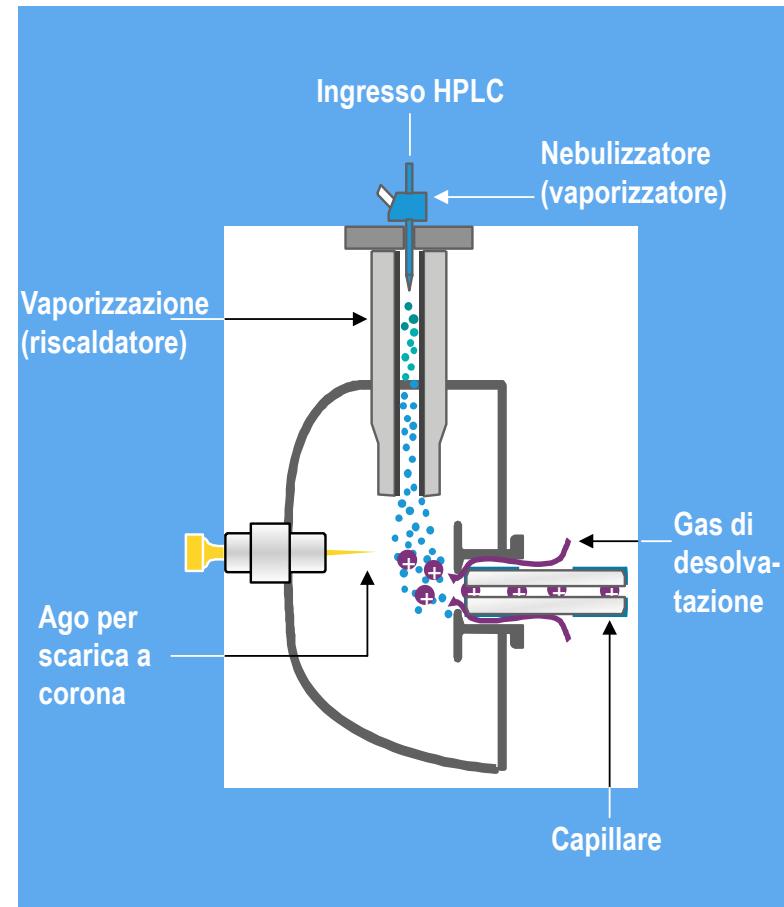
La tecnica APCI è un processo di ionizzazione chimica in fase gassosa. Pertanto, l'analita deve trovarsi in fase gassosa affinché venga ionizzato.

L'eluato LC attraversa un ago di nebulizzazione che crea un nebulizzato fine.

La vaporizzazione completa delle goccioline avviene in un tubo di ceramica riscaldato (~ 400-500°C).

Molecole idonee:

- molecole <1.500 u
- composti poco polari e non polari (tipicamente analizzati tramite cromatografia in fase normale)



Sorgente di ionizzazione chimica a pressione atmosferica
Fonte: [guida ai concetti LC/MS \(p. 27\)](#)

 Sommario



Come funziona

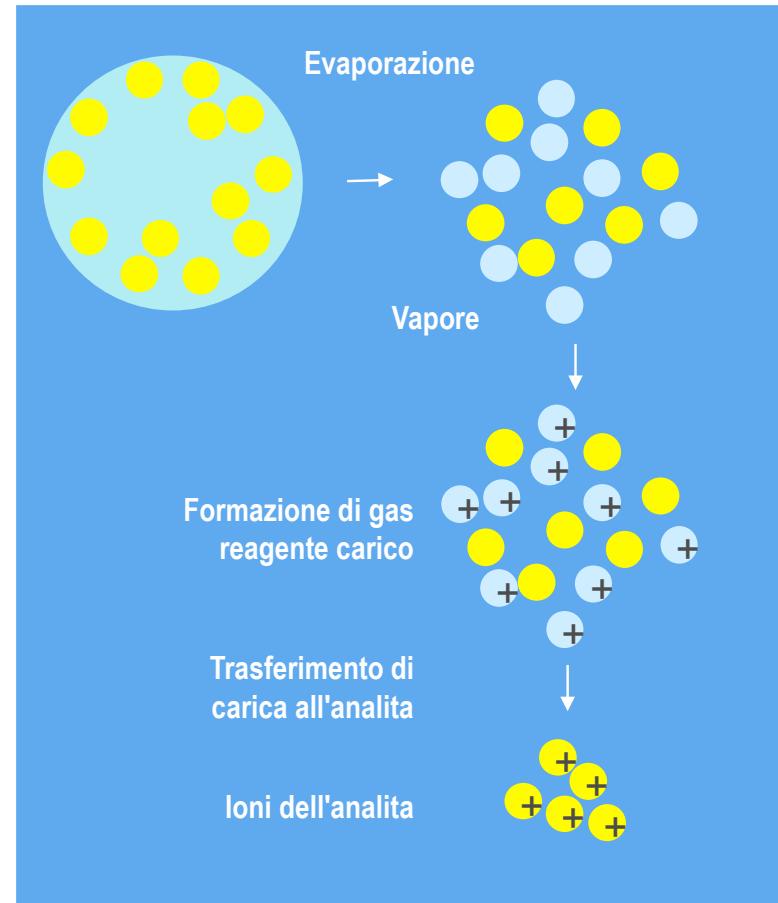
Processo di ionizzazione APCI

La figura illustra i processi di evaporazione e ionizzazione operati dalla tecnica APCI.

Si noti che la ionizzazione dell'analita avviene soltanto dopo l'evaporazione e la ionizzazione del gas reagente.

Il gas reagente trasferisce quindi una carica all'analita.

Normalmente la tecnica APCI produce soltanto ioni a carica singola, tuttavia è possibile ottenere ioni a carica doppia se i siti riceventi la carica sono tenuti separati (in genere da una regione idrofobica).



[Somma](#)

Vedere le note per ulteriori dettagli



Come funziona

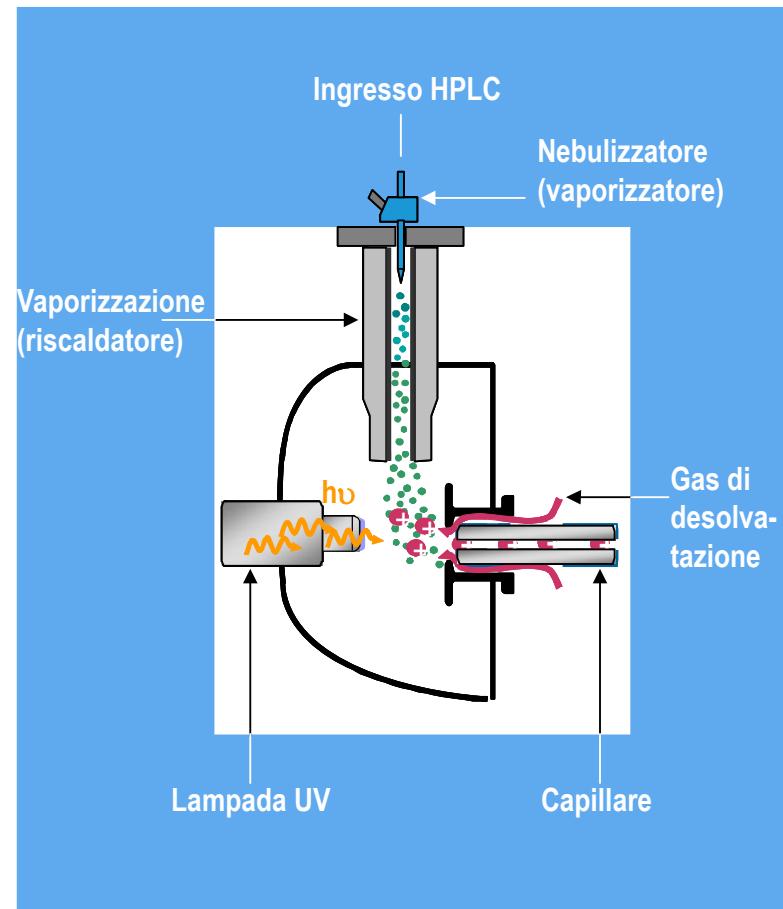
Fotoionizzazione a pressione atmosferica (APPI)

Nella tecnica APPI, l'eluato LC attraversa un ago di nebulizzazione per creare un nebulizzato fine.

La vaporizzazione completa delle goccioline avviene in un tubo di ceramica riscaldato.

La miscela gas/vapore attraversa il fascio di luce ultravioletta emessa da una lampada al kripton per ionizzare le molecole del campione. Gli ioni del campione vengono quindi introdotti nel capillare.

La tecnica APPI può essere impiegata con molti degli stessi composti solitamente analizzati tramite APCI e si è rivelata particolarmente valida nell'analisi di composti aromatici non polari.



Sorgente di fotoionizzazione a pressione atmosferica
Fonte: [guida ai concetti LC/MS \(p. 29\)](#)

Sommario



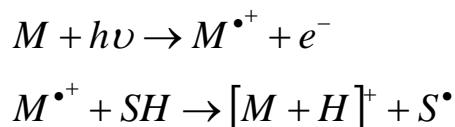
Come funziona

Processo di ionizzazione APPI

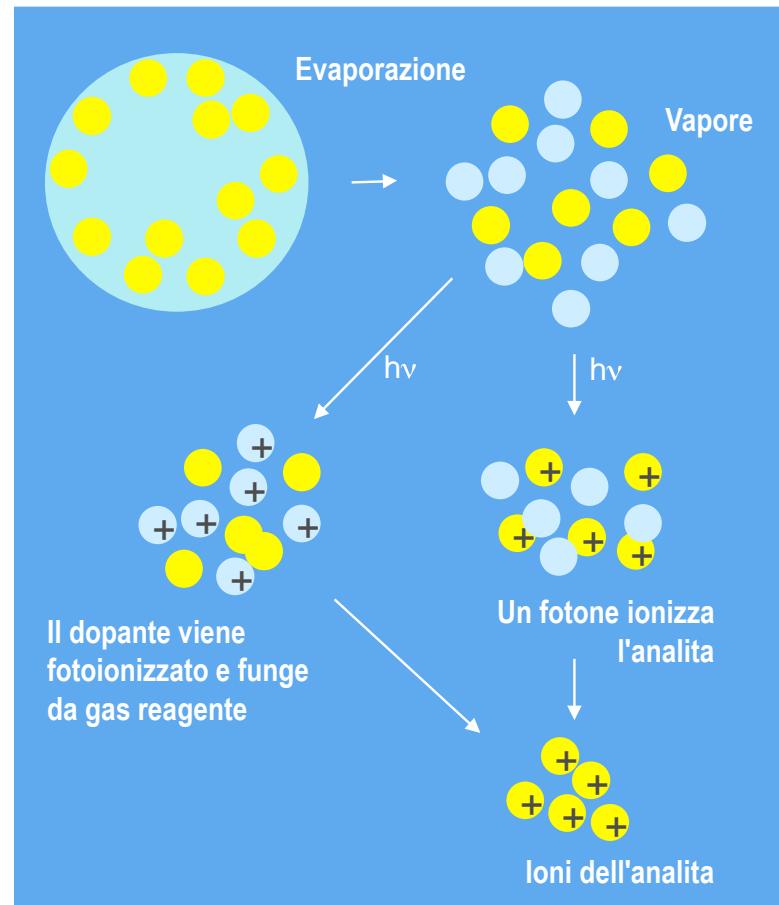
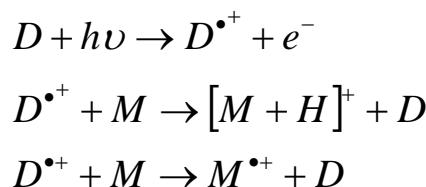
La figura illustra i processi di evaporazione e ionizzazione della fotoionizzazione.

Le tecniche APPI e APCI sono simili, eccetto che nella tecnica APPI una lampada sostituisce l'ago di scarica a corona per la ionizzazione. La tecnica APPI spesso impiega un solvente aggiuntivo o un modificatore della fase mobile, noto come "dopante" (D), per facilitare il processo di fotoionizzazione.

APPI diretta:



APPI con dopante:



 **Sommario**

Vedere le note per ulteriori dettagli



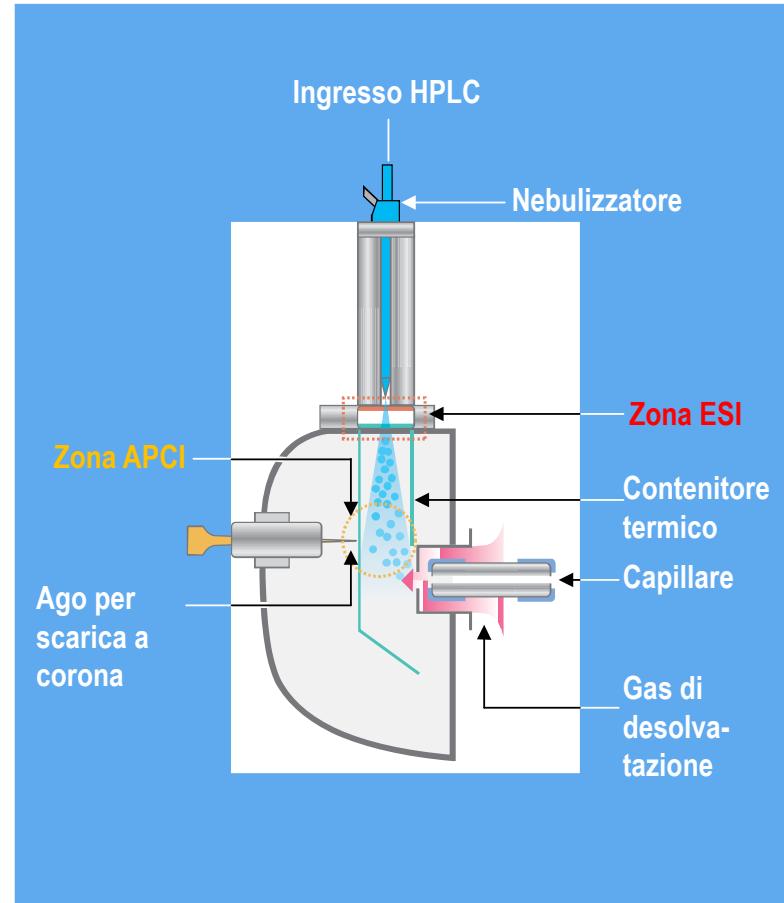
Come funziona Ionizzazione multimode (MMI)

La sorgente multimode è una sorgente ionica che può operare in tre diverse modalità:

- APCI
- ESI
- APCI/ESI simultanee

Questa configurazione integra due zone ottimizzate e separate elettricamente: una per l'ESI e l'altra per l'APCI. Durante il funzionamento in modalità APCI/ESI simultanee, gli ioni prodotti da entrambe le modalità di ionizzazione entrano nel capillare e vengono analizzati simultaneamente dallo spettrometro di massa.

La tecnica MMI è utile per lo screening di sostanze ignote o quando i campioni contengono una miscela di composti, alcuni con risposta ESI e altri con risposta APCI.



Sorgente multimode
Fonte: [guida ai concetti LC/MS](#) (p. 30)

 Sommario



Come funziona

Desorbimento/ionizzazione laser assistito da matrice (MALDI)

Il desorbimento/ionizzazione laser assistito da matrice (MALDI) è una tecnica di ionizzazione soft.

Il campione viene miscelato con la matrice e applicato su una piastra metallica.

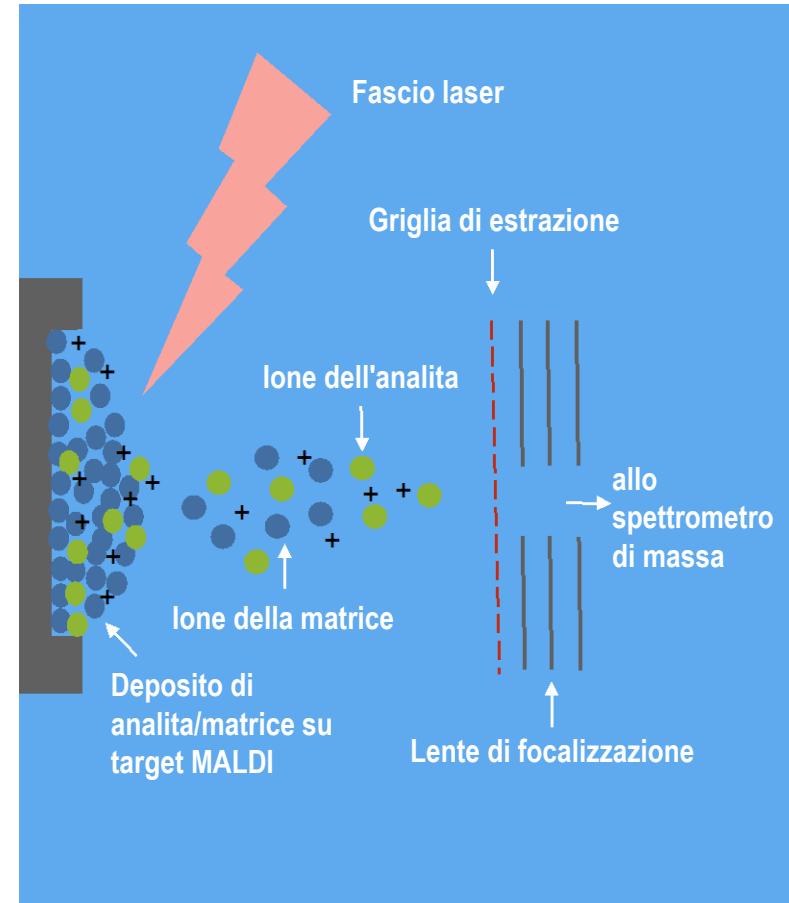
Un laser pulsato irraggia il campione, innescando i processi di ablazione e desorbimento.

Le molecole di analita vengono ionizzate nel pennacchio bollente dei gas prodotti dall'ablazione.

Gli ioni vengono accelerati nello spettrometro di massa.

Molecole idonee:

- biomolecole (DNA, proteine, zuccheri)
- molecole organiche di grandi dimensioni (polimeri)



Sommario



Come funziona

Ionizzazione: plasma accoppiato induttivamente (ICP)

Lo strumento al plasma accoppiato induttivamente (ICP) utilizza una sorgente di plasma la cui energia è alimentata da correnti elettriche prodotte dal fenomeno dell'induzione elettromagnetica, ossia da campi magnetici variabili nel tempo. L'energia del plasma è talmente elevata da ridurre le molecole a elementi ionizzati.

Sono disponibili vari tipi di geometrie di ICP accoppiabili a diverse tecnologie:

- ICP-AES Spettroscopia a emissione atomica
- ICP-OES Spettroscopia a emissione ottica
- ICP-MS Spettrometria di massa
- ICP-RIE Incisione ionica reattiva

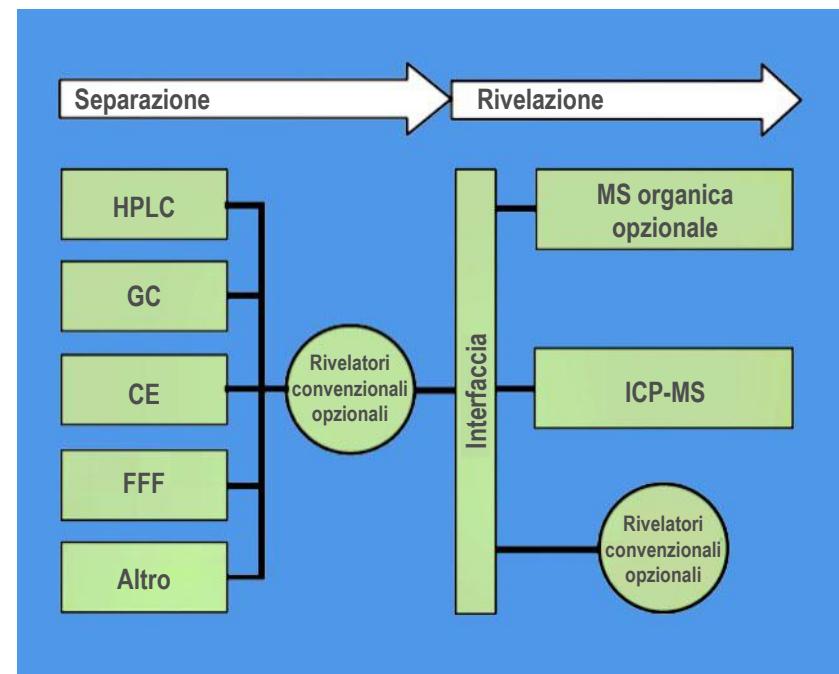


Diagramma delle interrelazioni tra i vari componenti di un sistema ICP-MS accoppiato

Sommario

Fonte: Wikipedia (sito inglese)



Come funziona

Analizzatore di massa

Dopo la ionizzazione e il trasporto degli ioni, gli analiti entrano nell'analizzatore di massa.

Lo spettrometro di massa misura i segnali degli ioni e genera uno spettro di massa, che può fornire informazioni importanti su peso molecolare, struttura, identità e quantità di un composto.

Esistono diversi tipi di analizzatori di massa:

- singolo quadrupolo (SQ)
- triplo quadrupolo (QQQ)
- time-of-flight (TOF)
- trappola ionica (IT)



Come funziona

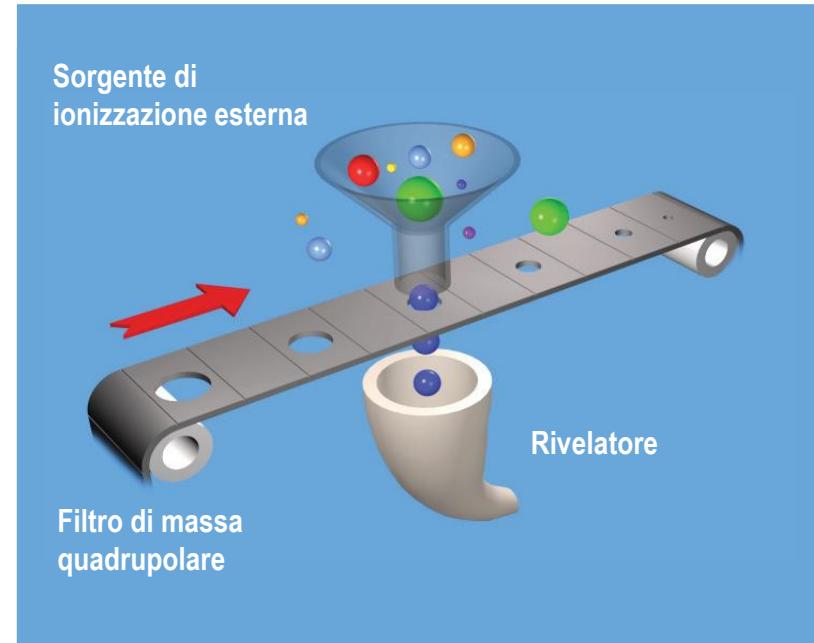
Analizzatore di massa: singolo quadrupolo (SQ)

Gli ioni carichi generati nella sorgente ionica entrano nell'analizzatore di massa. L'analizzatore di massa a quadrupolo esegue una scansione sequenziale che consente il passaggio solo degli ioni caratterizzati da uno specifico valore di m/z alla volta. Tutti gli altri ioni vanno perduti.

m/z - rapporto massa/carica:

massa di uno ione (espressa in Dalton oppure u) divisa per il numero di cariche sullo ione

Informazioni ottenute: **solo MS**



Modello concettuale: singolo quadrupolo

 **Sommario**



Come funziona

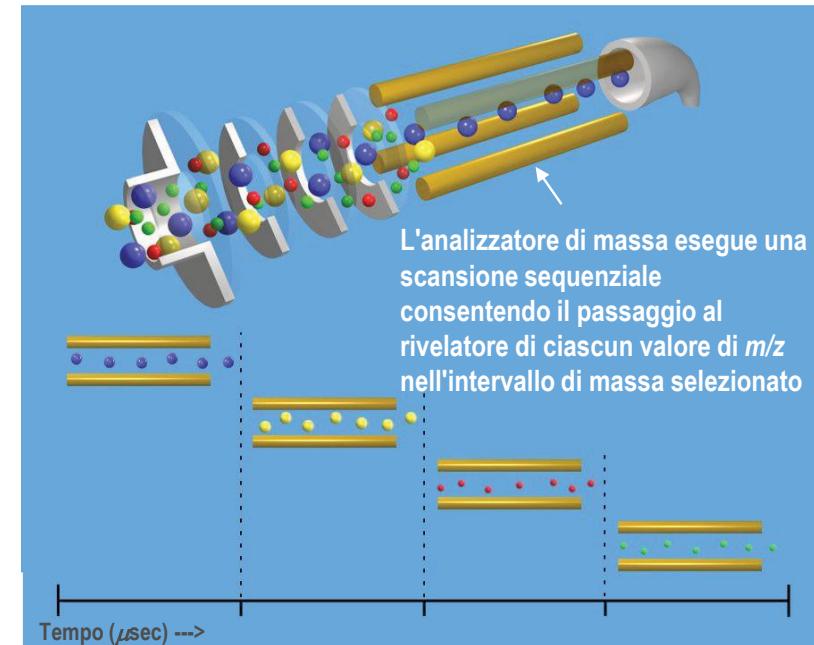
Analizzatore di massa: singolo quadrupolo (SQ)

Monitoraggio di singoli ioni (SIM)



Viene monitorato uno ione target con uno specifico valore di m/z . La tecnica SIM su uno strumento a singolo quadrupolo offre la migliore sensibilità per la quantificazione ma è carente in quanto a specificità.

Modalità di scansione



Nella modalità MS a scansione, l'analizzatore di massa a quadrupolo esegue una scansione sequenziale consentendo il passaggio al rivelatore di un unico valore di m/z alla volta.

Sommario



Come funziona

Analizzatore di massa: triplo quadrupolo (QQQ)

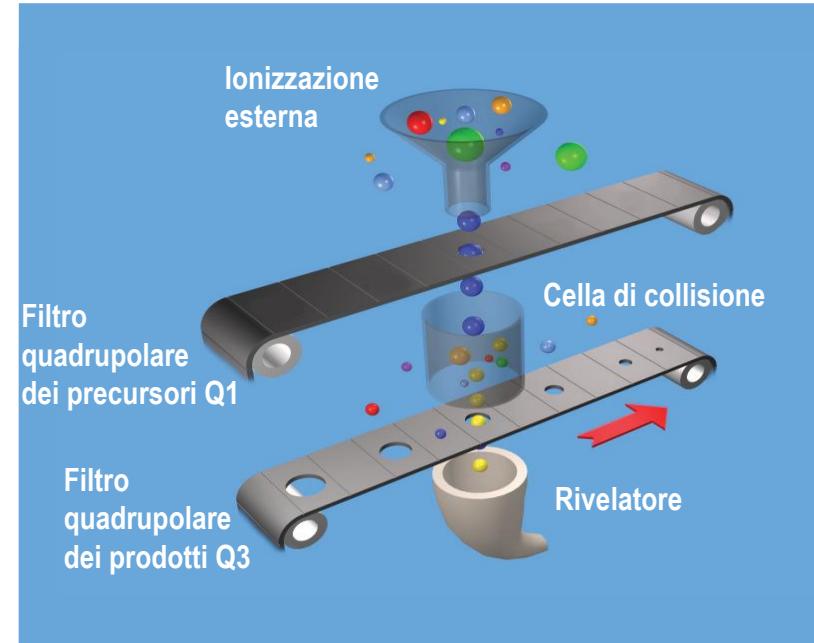
Gli ioni carichi generati nella sorgente ionica entrano nell'analizzatore di massa.

L'analizzatore è composto da tre quadrupoli (Q1-Q3) che, a seconda delle varie modalità di funzionamento, consentono di ottenere informazioni di diversa natura.

Una configurazione tipica è la seguente:

- Q1: utilizzato come filtro per uno specifico valore di m/z (ione precursore)
- Q2: utilizzato come cella di collisione per frammentare lo ione precursore e generare gli ioni prodotto
- Q3: impostato su uno specifico valore di m/z (SRM o MRM) o in modalità di scansione (scansione degli ioni prodotto)

Informazioni ottenute: **MS e MS/MS**



Modello concettuale: triplo quadrupolo
Nello schema è mostrata la modalità SRM

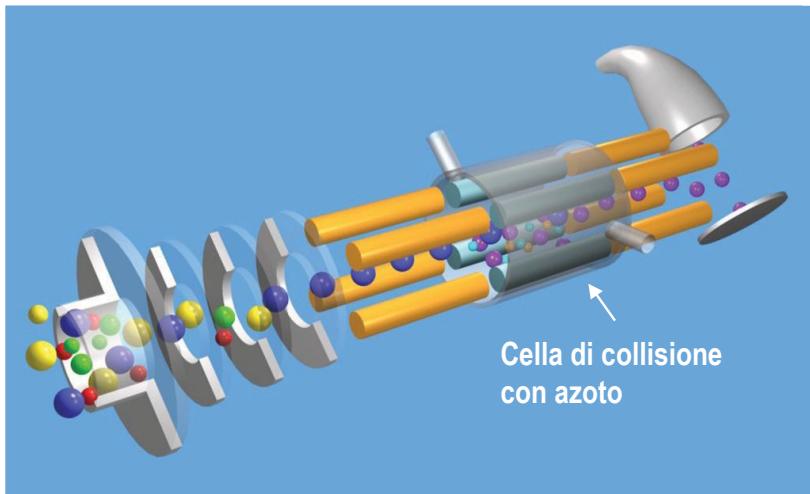
 **Sommario**



Come funziona

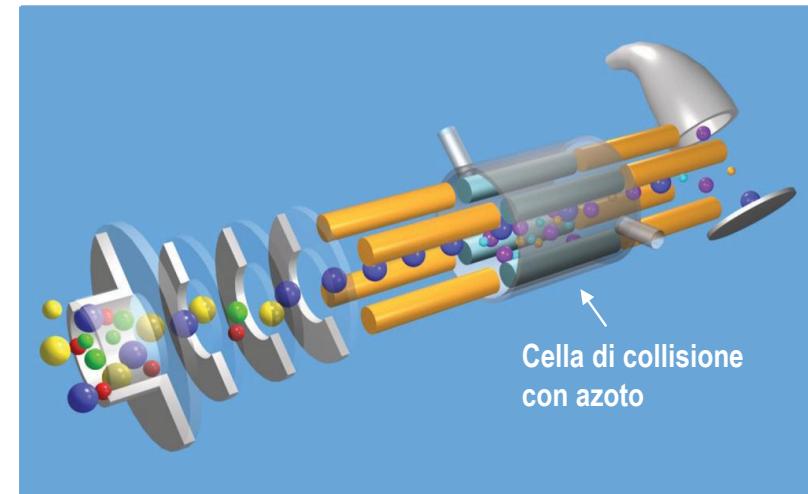
Analizzatore di massa: triplo quadrupolo (QQQ)

Monitoraggio di reazioni multiple (MRM)



Gli ioni precursori con un singolo valore di m/z raggiungono la cella di collisione. Gli ioni frammento sono generati in seguito alla collisione con le molecole di azoto. Il quadrupolo Q3 è impostato su un singolo valore di m/z di uno ione frammento specifico. Si tratta di un metodo molto sensibile utilizzato per la quantificazione.

Modalità MS/MS Scansione degli ioni prodotto



La differenza tra modalità a scansione degli ioni prodotto e SRM/MRM è rappresentata dalla funzione di scansione. Il quadrupolo Q3 esegue una scansione sequenziale consentendo il passaggio al rivelatore di un unico valore di m/z alla volta. Viene generato uno spettro degli ioni prodotto. Questa modalità di funzionamento è meno sensibile rispetto alla tecnica SRM/MRM.

Sommario



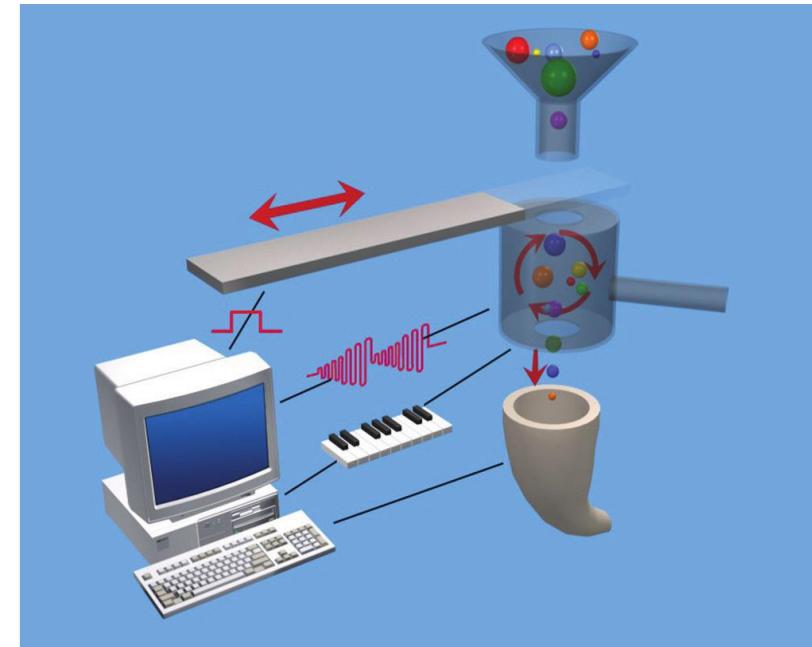
Come funziona

Analizzatore di massa: trappola ionica (IT)

Gli ioni carichi generati nella sorgente ionica entrano nell'analizzatore di massa. Tutti gli ioni aventi la polarità selezionata nell'intervallo di massa selezionato possono essere immagazzinati contemporaneamente nella trappola. Nell'analizzatore di massa a trappola ionica gli ioni possono essere trattenuti eseguendo più fasi di separazione e frammentazione prima della fase finale di rivelazione.

Anziché quattro barre parallele, la geometria della trappola ionica prevede un elettrodo ad anello circolare e due terminali che formano una “trappola”.

Informazioni ottenute: **MS** e **MS/MS**



Modello concettuale: trappola ionica

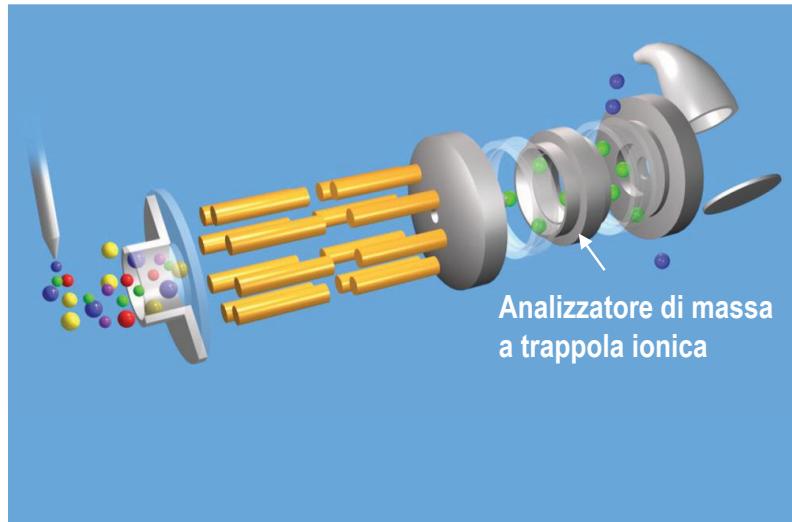
Sommario



Come funziona

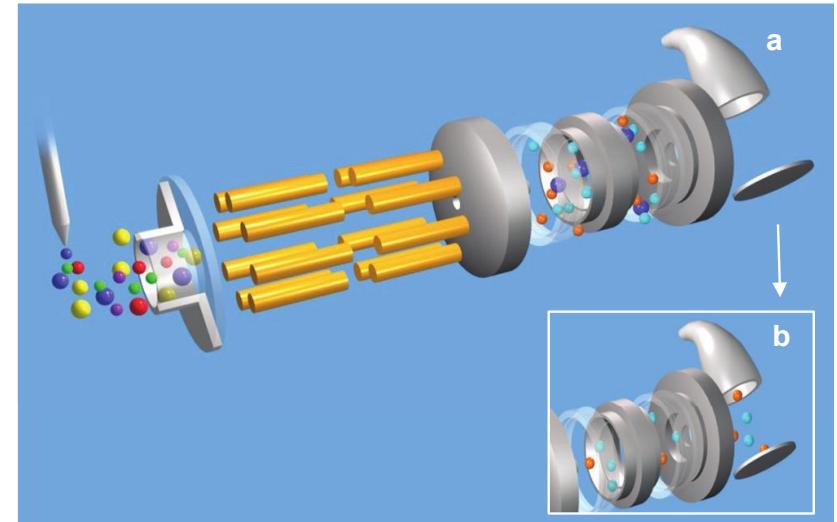
Analizzatore di massa: trappola ionica (IT)

Fase 1: isolamento dello ione precursore



Al termine delle fasi di iniezione e accumulo, il dispositivo di introduzione degli ioni chiude l'accesso, interrompendone l'ingresso nell'analizzatore di massa. L'applicazione di opportune forme d'onda consente di espellere le masse superiori e inferiori alla massa dello ione precursore.

Fase 2: frammentazione dello ione precursore



L'eccitazione per risonanza dello ione precursore provoca la dissociazione indotta da collisione (CID) con conseguente formazione di ioni prodotto (a). Gli ioni prodotto vengono espulsi e raggiungono il rivelatore (b) per la scansione completa.

Sommario



Come funziona

Analizzatore di massa: time-of-flight (TOF)

Gli ioni carichi generati nella sorgente ionica entrano nell'analizzatore di massa.

Componenti dell'analizzatore:

- filtro di massa (Q1), opzionale
- tubo di volo
- cella di collisione (Q-TOF)

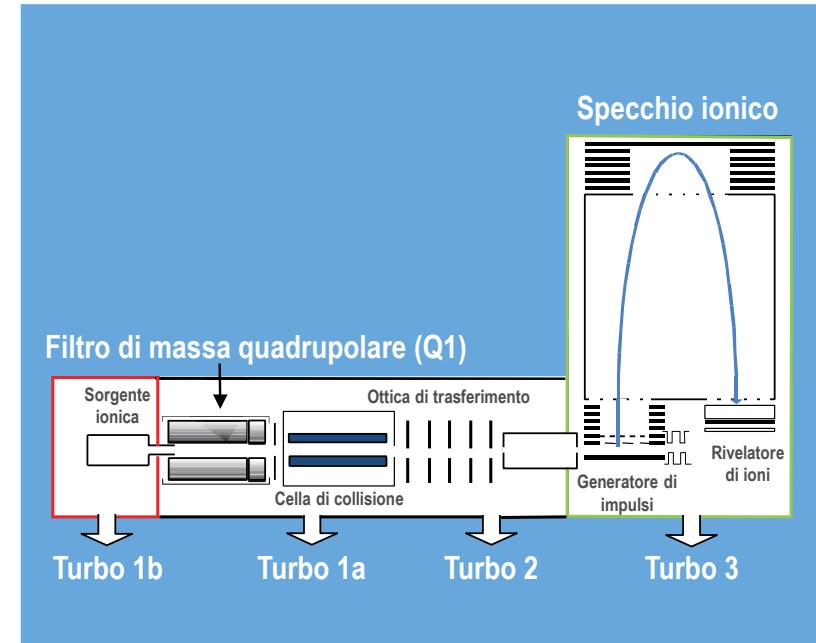
Dopo aver attraversato il quadrupolo o la cella di collisione, gli ioni raggiungono il generatore di impulsi. L'applicazione di un impulso ad alto voltaggio accelera gli ioni nel tubo di volo.

Uno specchio ionico posto in fondo al tubo riflette gli ioni inviandoli al rivelatore, che ne registra l'istante di arrivo.

Informazioni ottenute:

TOF: **solo MS**

Q-TOF: **MS e MS/MS**



Schema di uno spettrometro di massa time-of-flight.

Fonte: [Time-of-Flight Mass Spectrometry](#)

In figura è mostrato un sistema Q-TOF

Sommario



Come funziona

Analizzatore di massa: time-of-flight (TOF)

Il tempo di volo (t) di ciascuna massa è unico e dipende dall'energia (E) alla quale lo ione viene accelerato, dalla distanza (d) che deve percorrere e dal valore di m/z .

$$E = 1/2mv^2$$

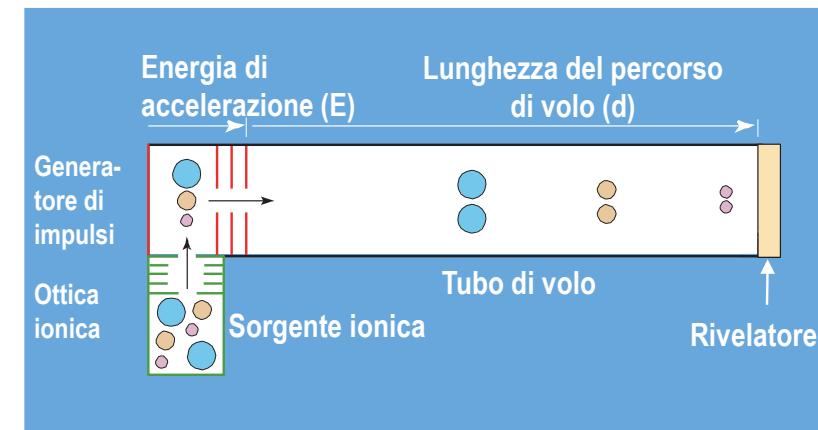
risulta rispetto a m diventa:

$$m = 2E / v^2$$

e risulta rispetto a v diventa:

$$v = \sqrt{(2E / m)}$$

equazione 1



In base all'equazione, a parità di energia cinetica E le masse più piccole possiedono velocità più alte rispetto alle masse più grandi. Pertanto, gli ioni a massa inferiore raggiungono prima il rivelatore.

La velocità (e, di conseguenza, la massa) viene determinata misurando il tempo necessario affinché uno ione raggiunga il rivelatore.

 **Sommario**

Come funziona

Analizzatore di massa: time-of-flight (TOF)

La seconda equazione è la ben nota formula che esprime la velocità (v) come rapporto tra distanza (d) e tempo (t): $v = d / t$

Combinando le equazioni 1 e 2 si ottiene: $m = (2E / d^2)t^2$

A parità di energia (E) e distanza, la massa è proporzionale al quadrato del tempo di volo dello ione. I parametri E e d sono mantenuti costanti e inglobati in un'unica variabile A, semplificando in tal modo l'equazione: $m = A \cdot t^2$

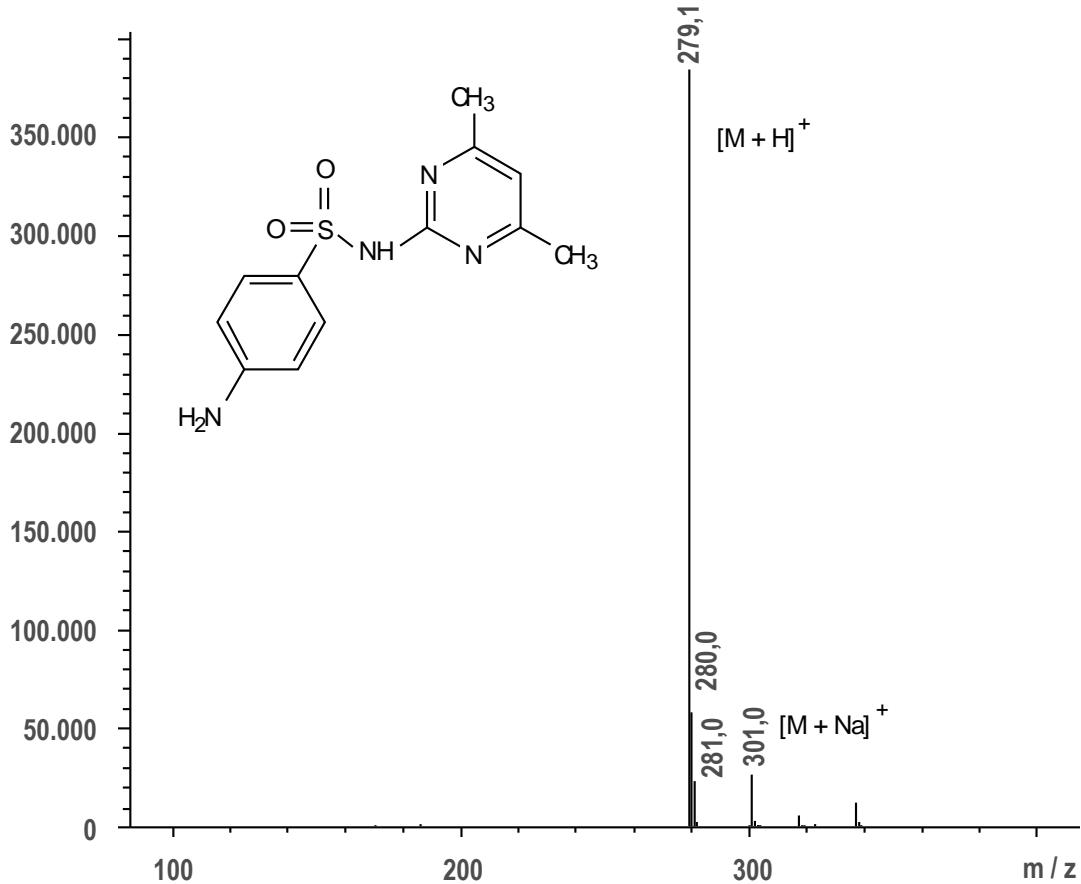
A onor di precisione, è necessario tenere conto anche del ritardo temporale per l'applicazione dell'alta tensione: $t = t_m - t_0$

Ciò conduce all'equazione finale: $m = A(t_m - t_0)^2$



Risultati

Esempio 1



Spettro di massa della sulfametazina ottenuto con un analizzatore di massa a singolo quadrupolo

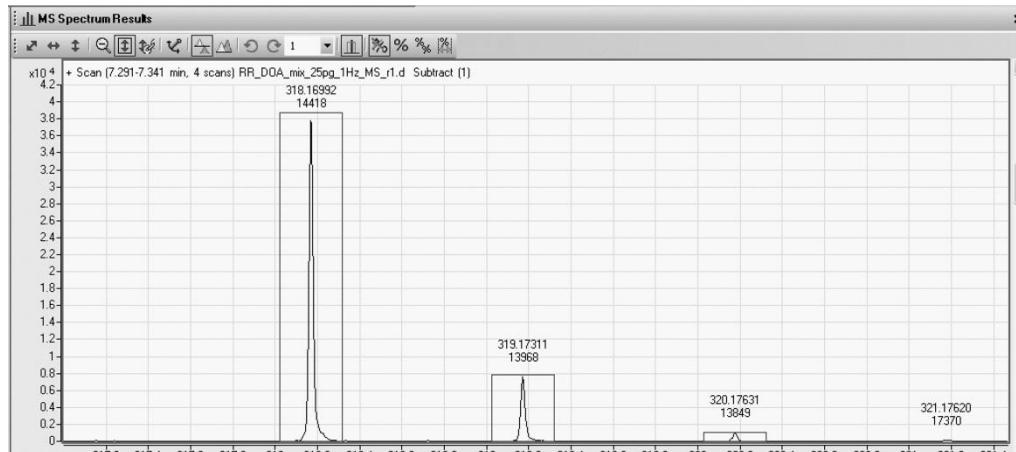
Formula molecolare: **C₁₂H₁₄N₄O₂S**
[M+H]⁺: 279,33

Spettro di massa della sulfametazina.
Fonte: [G1960-90083](#) (p. 17)

Sommario

Risultati

Esempio 2



m/z	/	Ion	Formula	Abundance
318.16992		(M+H) ⁺	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	39016
		Best	Formula (M)	Score
			C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	100

	m/z	Ion	Formula	Abundance	Score	Mass	Calc Mass	Difference (ppm)	Mass Score	DBE
318.16992		(M+H) ⁺	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	39016						
		Best	Formula (M)	Score	Mass	Calc Mass	Difference (ppm)	Mass Score	DBE	
			C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	100	317.16264	317.16271	0.22	99.97	8	
			C ₁₉ H ₁₉ N ₅	80.01	317.16264	317.16405	4.43	87.06	13	
			C ₁₄ H ₁₉ N ₇ O ₂	56.96	317.16264	317.16002	-8.25	61.86	9	

Spettro di massa del cocaetilene ottenuto con un analizzatore di massa Q-TOF

Formula molecolare: **C₁₈H₂₃NO₄**
[M+H]⁺: 318,387

Spettro di massa del cocaetilene.

Fonte: [A comparison of several LC/MS techniques for use in toxicology \(Fig 36, p. 37\)](#)

Sommario

Esclusivamente per la didattica

5 aprile 2016

36

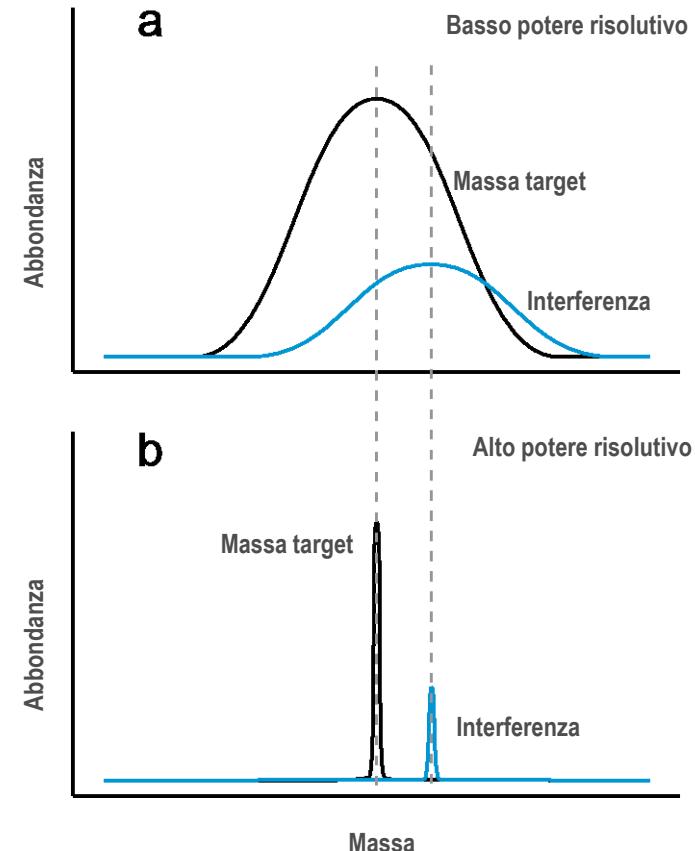
Risultati

Confronto tra singolo quadrupolo e time-of-flight ad alta risoluzione

L'analisi con un singolo (triplo) quadrupolo fornisce informazioni sulla massa nominale (basso potere risolutivo), mentre gli strumenti time-of-flight sono in grado di produrre informazioni in massa accurata (alto potere risolutivo).

Per ottenere la migliore accuratezza di massa possibile nelle analisi time-of-flight, è necessario provvedere alla calibrazione continua del sistema TOF. In genere la deviazione delle misurazioni è pari a poche parti per milione (ppm).

Se dotato di risoluzione di massa e accuratezza di massa sufficienti, uno spettrometro di massa time-of-flight consente di confermare con sicurezza la composizione elementare.



Confronto tra il potere risolutivo di uno strumento a singolo quadrupolo (a) e uno strumento time-of-flight (b).
Fonte: [5989-2549EN](#) (p. 14)

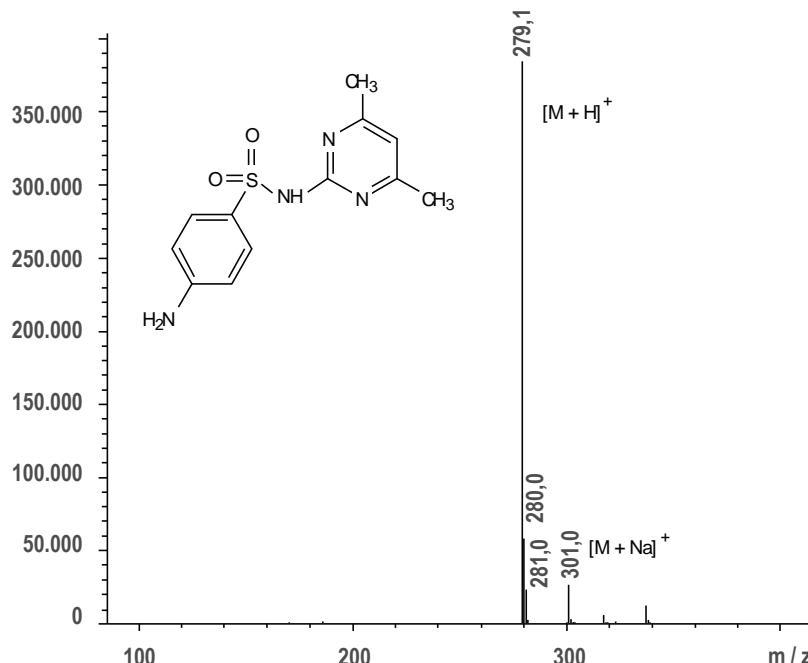
Sommario



Risultati

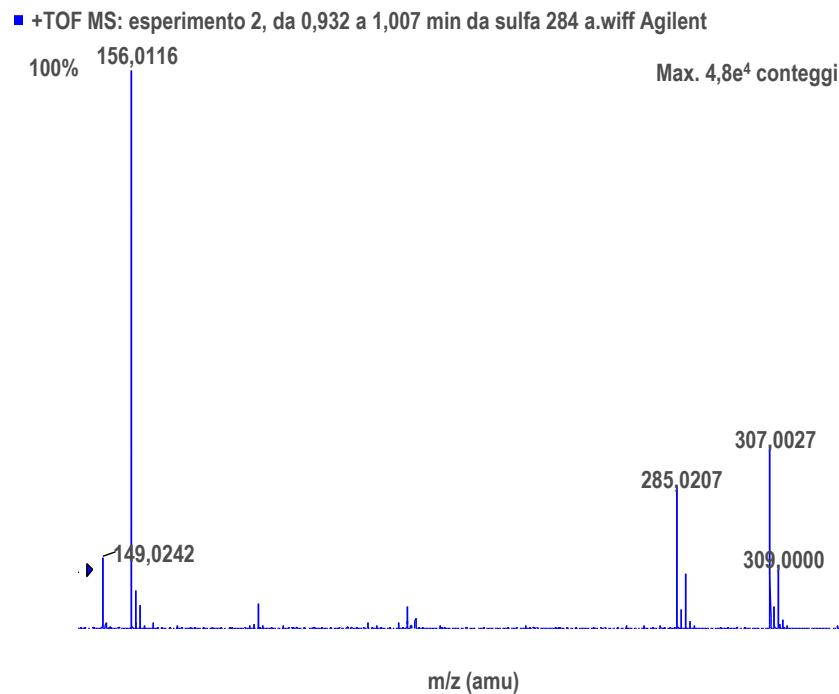
Confronto tra singolo quadrupolo e time-of-flight

Spettro di massa tipico di uno strumento a singolo quadrupolo



Spettro di massa della sulfametiazina.
Fonte: [G1960-90083](#) (p. 17)

Spettro di massa tipico di uno strumento time-of-flight



Spettro di massa della sulfachloropyridazine con ioni frammento e addotti. Fonte: [5989-2549EN](#) (p. 25)

Risultati

Ioni a carica multipla e deconvoluzione

A seconda della molecola analizzata e della tecnica di ionizzazione, è possibile generare ioni a carica multipla.

La tecnica APCI applicata a molecole di piccole dimensioni permette di ottenere molecole a carica singola:

il valore di m/z misurato corrisponde al peso molecolare dopo aver sottratto (ione positivo) o sommato (ione negativo) la massa del portatore di carica.

Nel caso di molecole di grandi dimensioni (peptidi, proteine) ionizzate con la tecnica ESI, sono disponibili più siti di carica potenziali (per la protonazione o la deprotonazione) e quindi possono formarsi ioni a carica multipla:

questa proprietà rende la spettrometria di massa accessibile alle molecole di grandi dimensioni, quali gli anticorpi (>1 Mio Da), poiché gli ioni misurati subiscono uno spostamento in un intervallo di m/z misurabile.

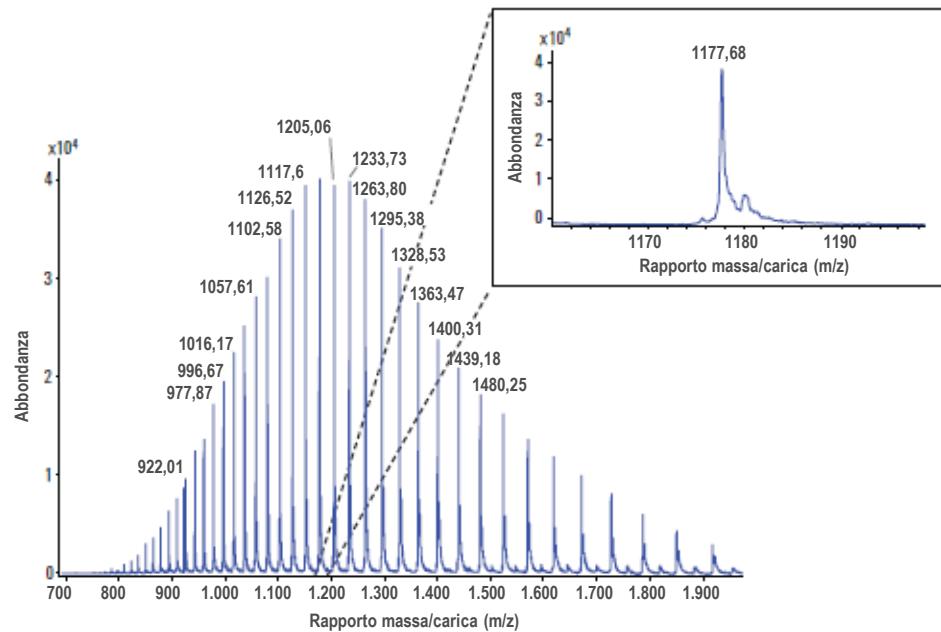
Per ricavare il peso molecolare reale dal valore di m/z misurato è necessario applicare un algoritmo matematico. Questo processo è noto come **deconvoluzione**.

 Sommario



Risultati

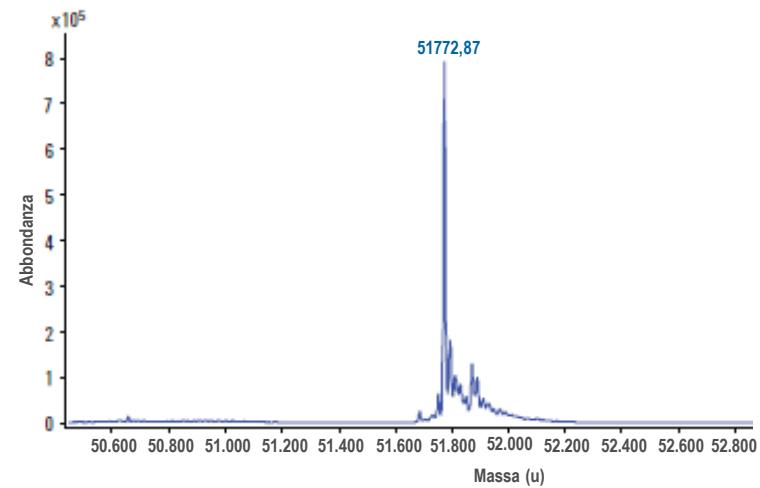
Ioni a carica multipla e deconvoluzione: esempio



Spettro di massa della glutammina sintetasi espressa.

Fonte: [Accurate-Mass LC/TOF-MS for Molecular Weight Confirmation of Intact Proteins](#) (Fig. 1, p. 4)

Massa prevista della glutammina sintetasi non modificata: 51.772,7 u



Spettro di massa deconvoluto della glutammina sintetasi espressa.

Abbreviazioni

Abbreviazione	Definizione
APCI	Ionizzazione chimica a pressione atmosferica
APPI	Fotoionizzazione a pressione atmosferica
CI	Ionizzazione chimica
CID	Dissociazione indotta da collisione
D	Dopante (APPI)
Da	Dalton
EI	Impatto elettronico
ESI	Ionizzazione eletrospray
GC	Gascromatografia
GC/MS	Gascromatografia/spettrometria di massa
ICP	Plasma accoppiato induttivamente
IT	Trappola ionica

Abbreviazione	Definizione
LC/MS	Cromatografia liquida/spettrometria di massa
<i>M</i>	Ione molecolare
MALDI	Desorbimento/ionizzazione laser assistito da matrice
MMI	Ionizzazione multimode
MS	Spettrometria di massa
m/z	Rapporto massa/carica
QQQ	Tripla quadrupola
SIM	Monitoraggio di singoli ioni
SH	Molecole di solvente
SQ	Singolo quadrupolo
MRM	Monitoraggio di reazioni multiple
(Q) - TOF	Time-of-flight

Sommario



Ulteriori informazioni

Ulteriori informazioni sui prodotti Agilent sono disponibili all'indirizzo www.agilent.com o www.agilent.com/chem/academia

Per domande o suggerimenti su questa presentazione, rivolgersi all'indirizzo e-mail academia.team@agilent.com

Pubblicazione	Titolo	Codice pub.
Manuale	Serie 7000C GC/MS a triplo quadrupolo Manuale operativo	G7000-94044
Guida	Agilent 6100 Series Quadruple LC/MS system – Concepts Guide	G1960-90083
Raccolta di note applicative	Time-of-Flight Solutions in Pharmaceutical Development – the Power of Accurate Mass	5989-2549EN
Caratteristiche tecniche	Time-of-Flight Mass Spectrometry	5990-9207EN
Nota applicativa	Accurate-Mass LC/TOF-MS for Molecular Weight Confirmation of Intact Proteins	5989-7406EN
Nota applicativa	A Comparison of Several LC/MS Techniques for Use in Toxicology	5990-3450EN
Video	www.agilent.com/chem/teachingresources	
Immagini	www.agilent.com/chem/teachingresources	

 Sommario



GRAZIE

Codice pubblicazione 5991-5857ITE

