

# Introduzione alla ● Spettrometria di Massa in GC

dott. Davide Facciabene

GC & GC-MS Product Specialist at Thermo Fisher Scientific

VL. Leopardi 31/C - Montevarchi (AR)

3 e 4 Settembre 2013



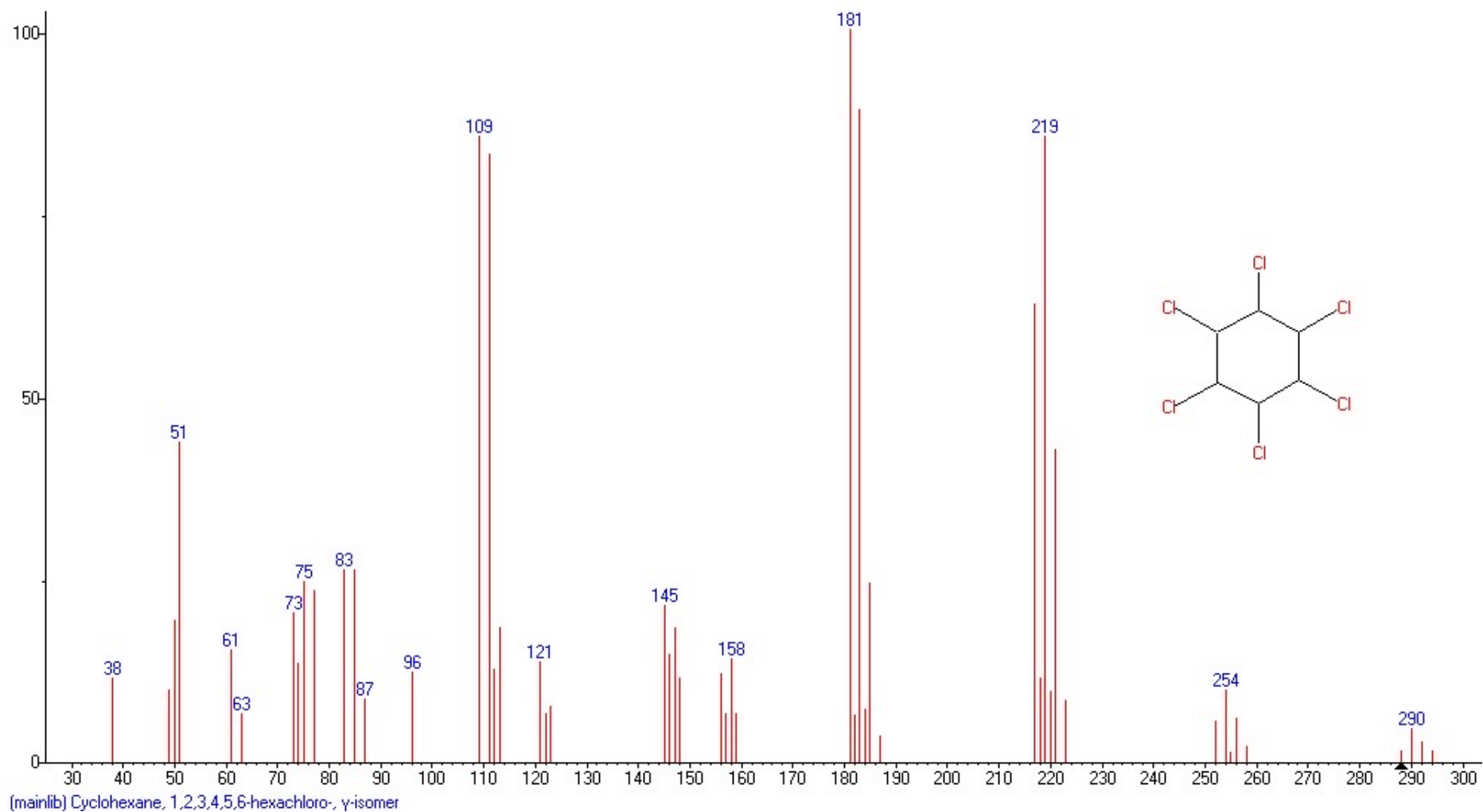
# DEFINIZIONE DI SPETTROMETRIA DI MASSA

---

**“ La spettrometria di massa si fonda sulla formazione di ioni e successiva separazione in funzione del loro rapporto massa-carica ( $m/z$ )”**

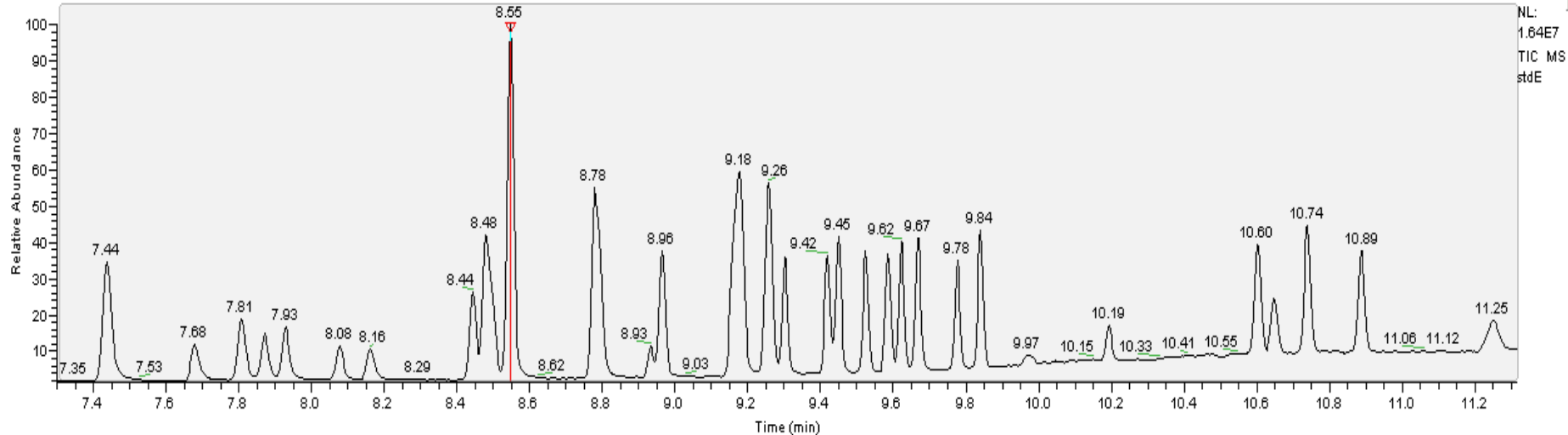
**“Lo spettro di massa risultante è un grafico che riporta i singoli ioni in funzione della loro abbondanza relativa”**

# SPETTRO DI MASSA



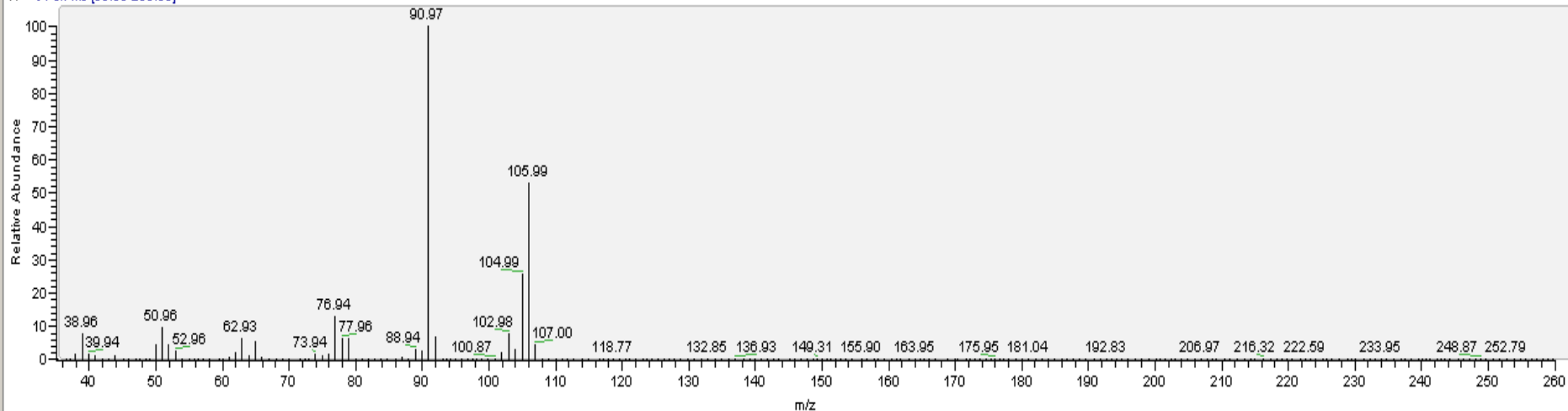
# SPETTRO DI MASSA

RT: 7.30 - 11.32

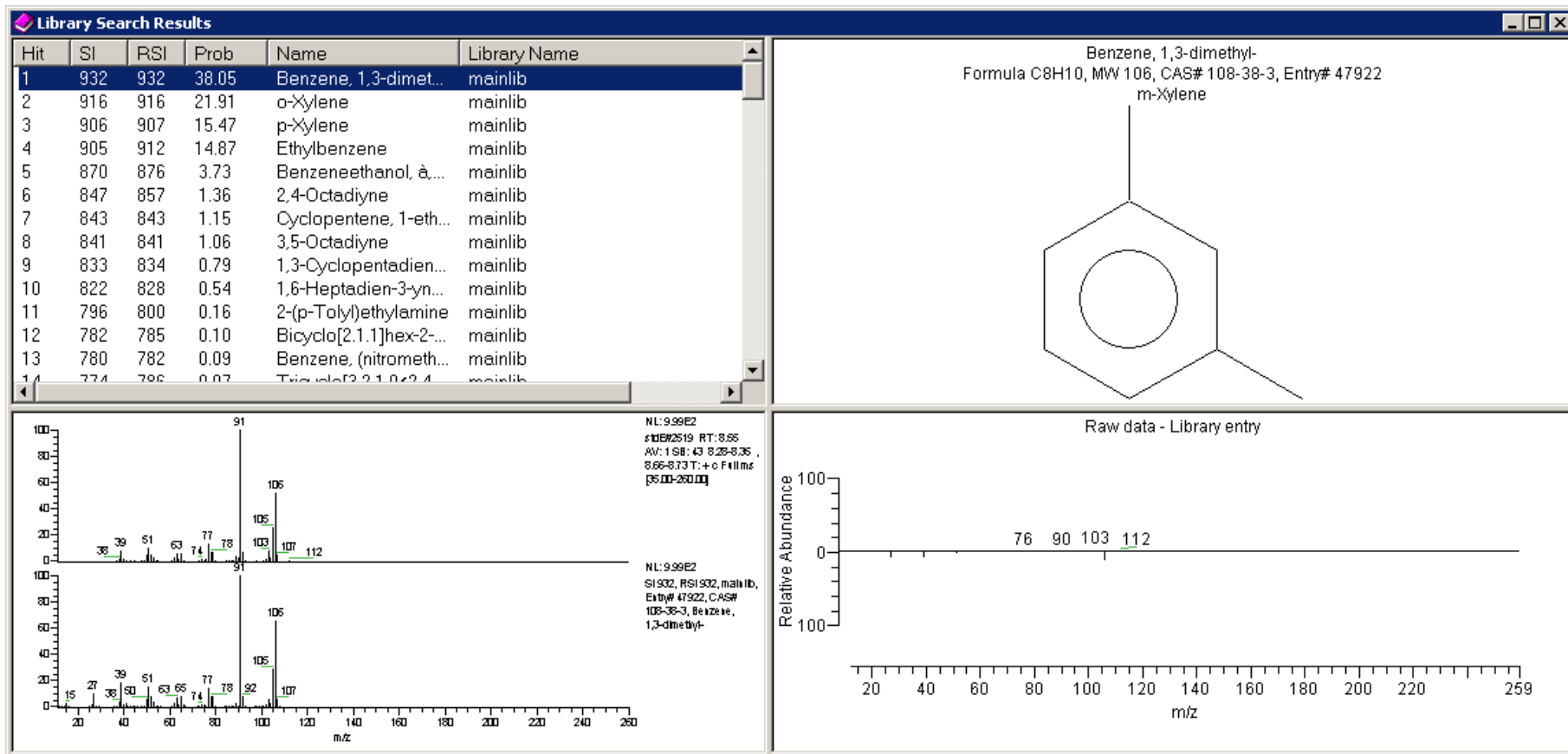


stdE #2518 RT: 8.55 AV: 1 NL: 5.45E6

T: + c Full ms [35.00-260.00]

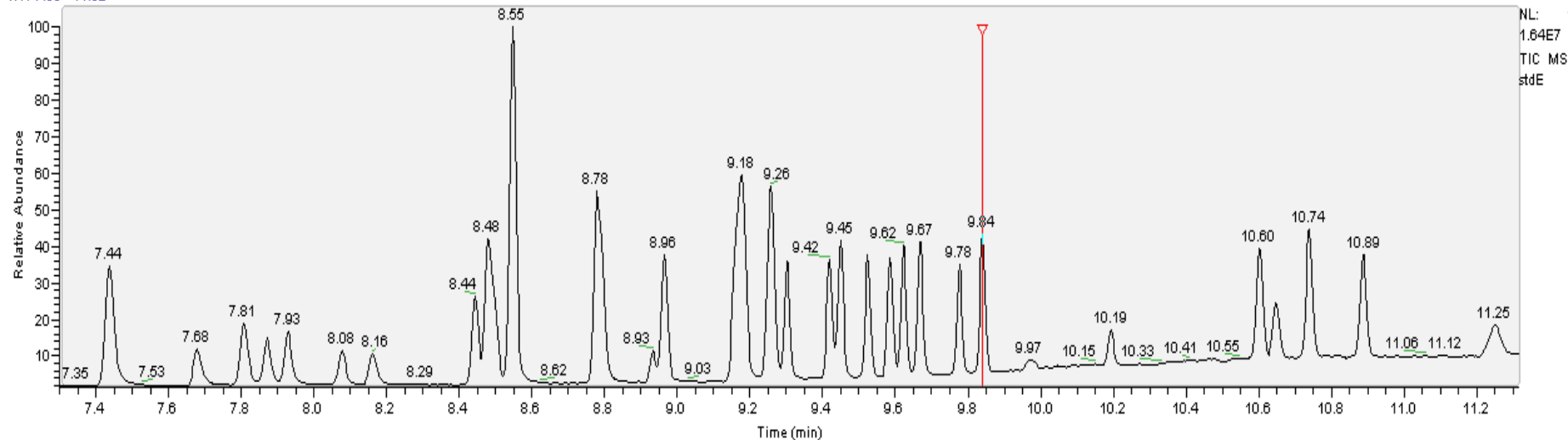


# SPETTRO DI MASSA



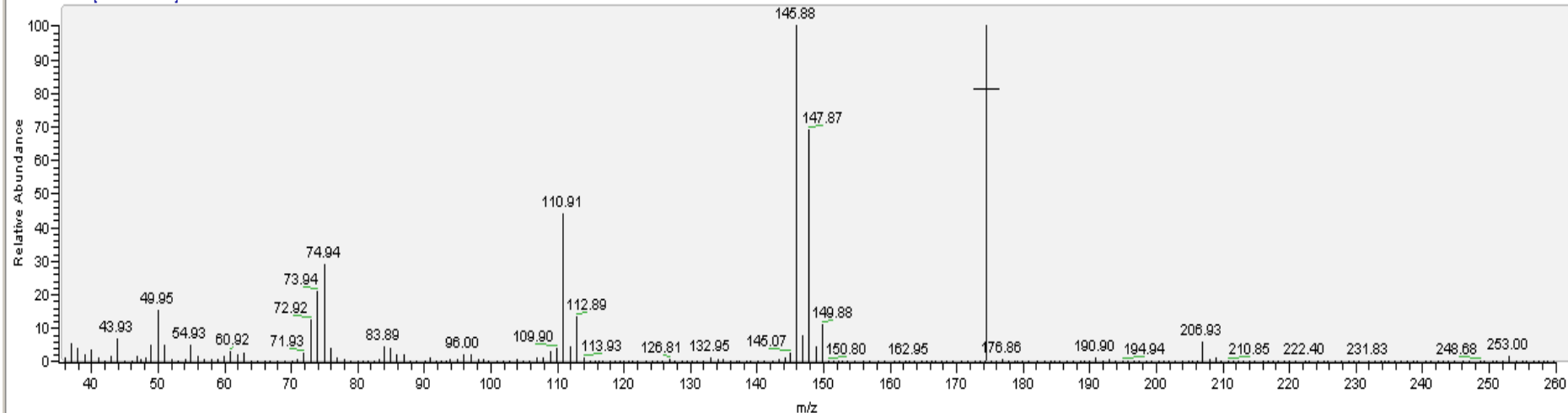
# SPETTRO DI MASSA

RT: 7.30 - 11.32



stdE #2917 RT: 9.84 AV: 1 NL: 1.42E6

T: + e Full ms [35.00-260.00]

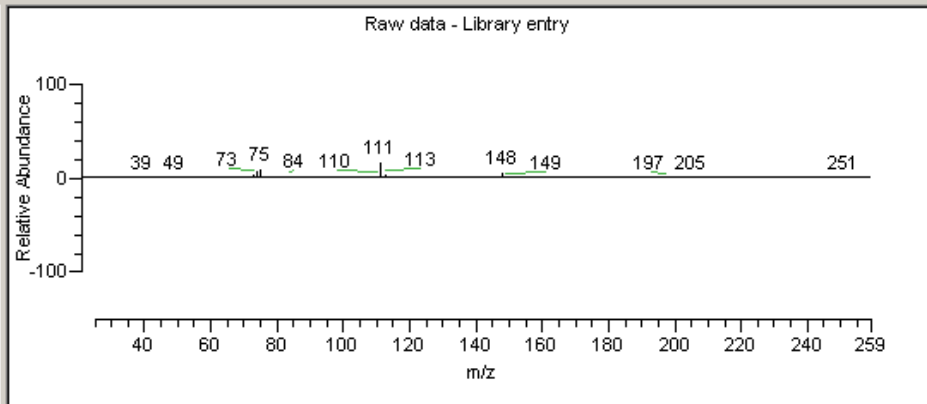
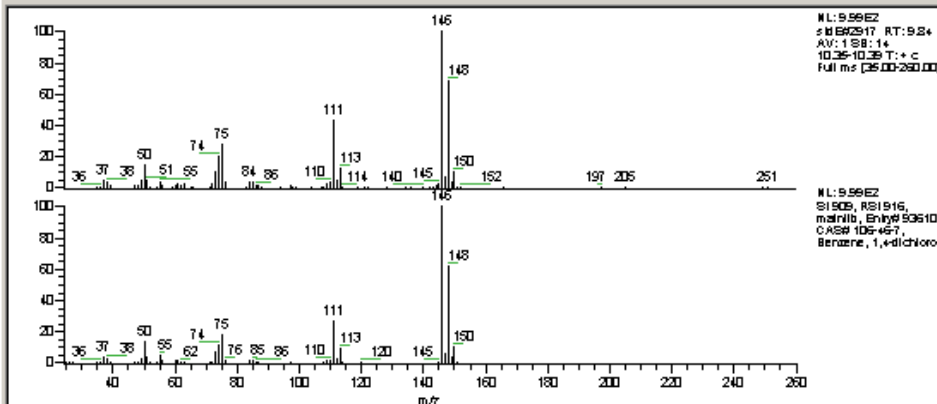
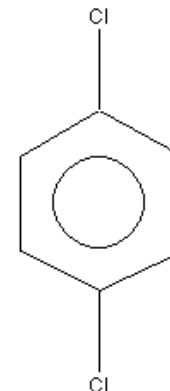


# SPETTRO DI MASSA

## Library Search Results

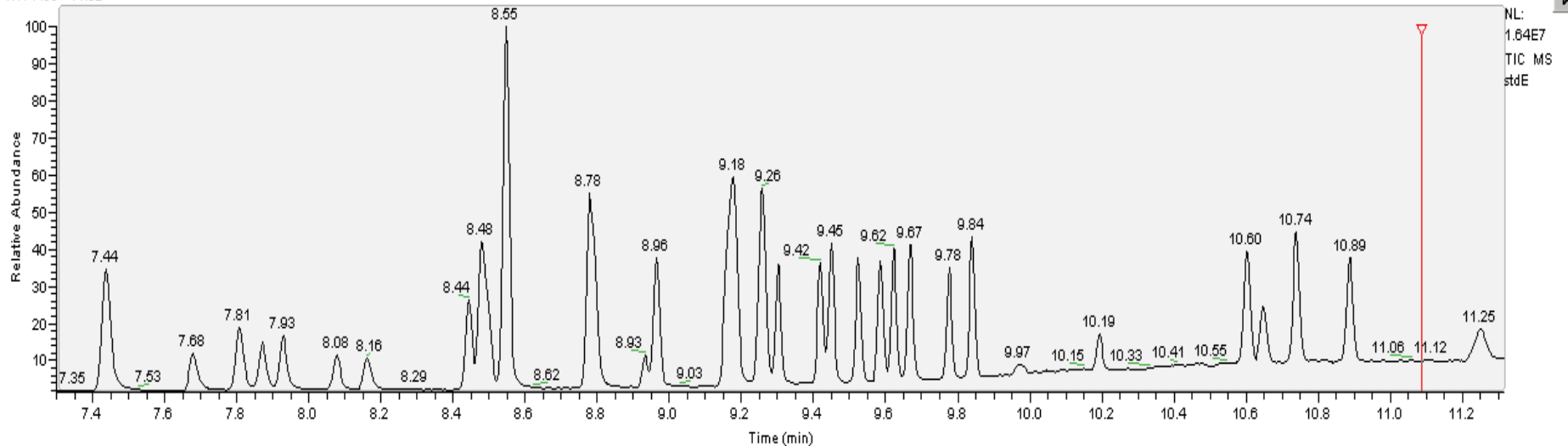
Hit	SI	RSI	Prob	Name	Library Name
1	909	916	41.31	Benzene, 1,4-dichloro-	mainlib
2	903	907	32.47	Benzene, 1,2-dichloro-	mainlib
3	897	901	25.52	Benzene, 1,3-dichloro-	mainlib
4	732	734	0.61	2,5-Dichloro-2,4,6-cycloheptatri...	mainlib
5	591	607	0.02	3-Chloro-4-fluorophenol	mainlib
6	573	694	0.01	5-Fluoro-4-chloro-2-methylpyrim...	mainlib
7	565	638	0.00	6-Chloro-3-hydroxypyridazine 1-...	mainlib
8	558	596	0.00	(4-Fluorophenyl)carbamic acid, ...	mainlib
9	536	558	0.00	2-Thiophenecarbonyl chloride	mainlib
10	534	564	0.00	3(2H)-Pyridazinethione, 6-chloro-	mainlib
11	534	538	0.00	Benzo[d]oxathiol-2-one, 7-chlor...	mainlib
12	533	687	0.00	Furan, 3-bromo-	mainlib
13	521	734	0.00	1H-Imidazole, 4-bromo-	mainlib
14	521	522	0.00	1-Propene, 1,2,3-trichloro-, (Z)-	mainlib
15	513	536	0.00	Naphthalene, 1-fluoro-	mainlib

Benzene, 1,4-dichloro-  
 Formula C6H4Cl2, MW 146, CAS# 106-46-7, Entry# 93610  
 Benzene, p-dichloro-



# SPETTRO DI MASSA

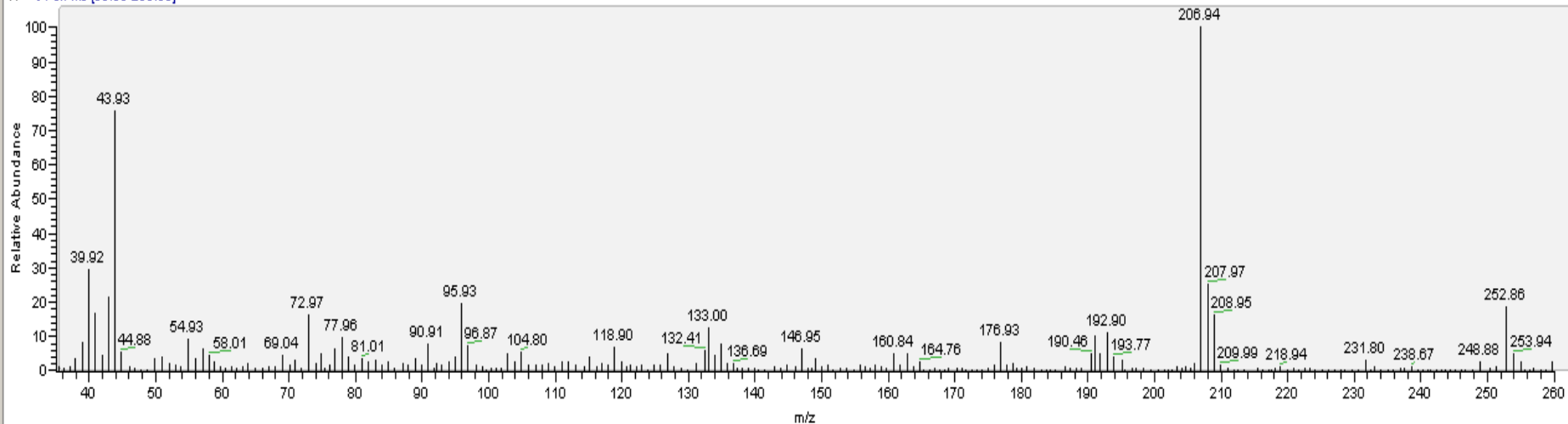
RT: 7.30 - 11.32



NL:  
1.64E7  
TIC MS  
stdE

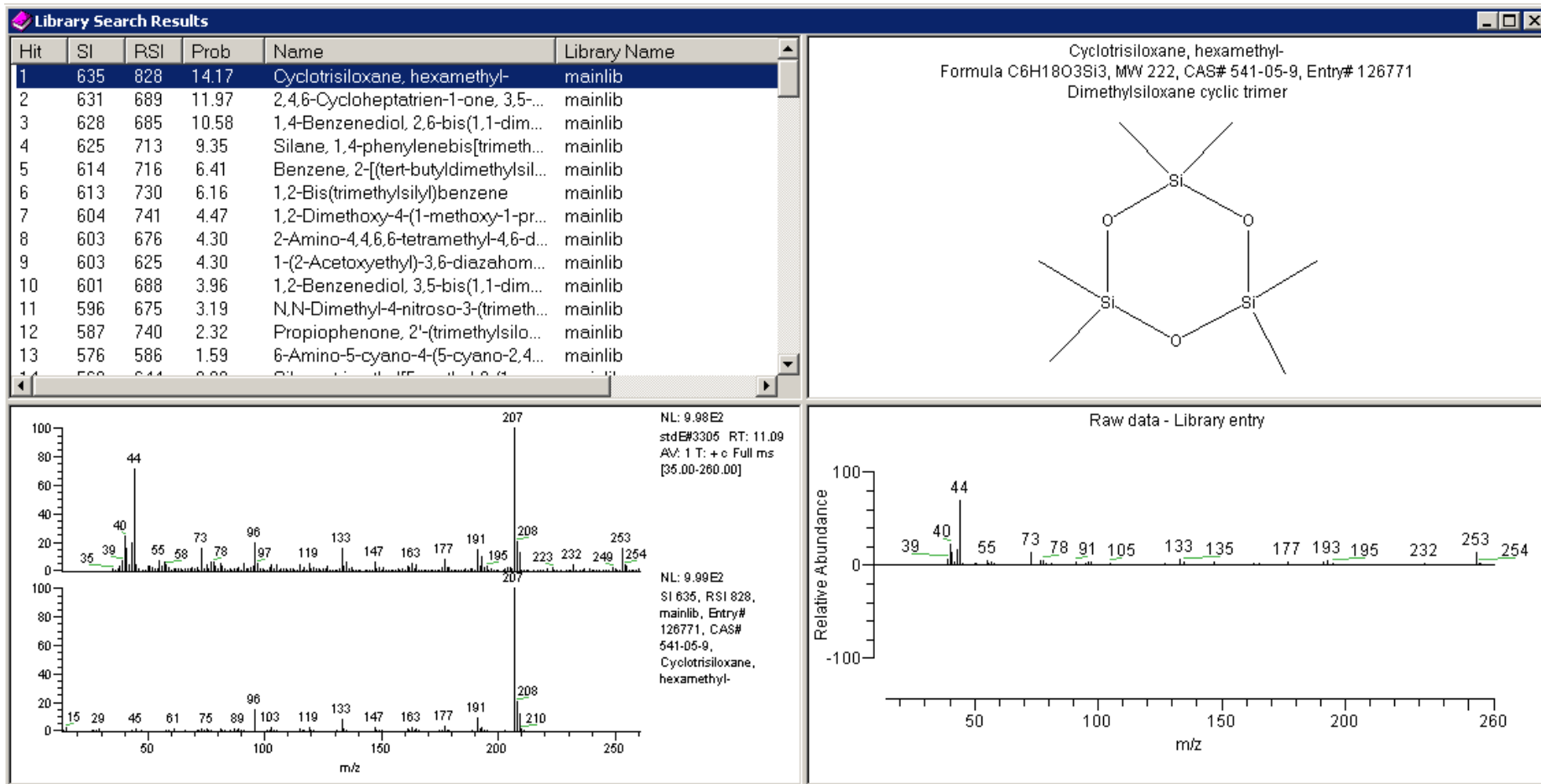
stdE #3303 RT: 11.09 AV: 1 NL: 2.11E5

T: + c Full ms [35.00-260.00]

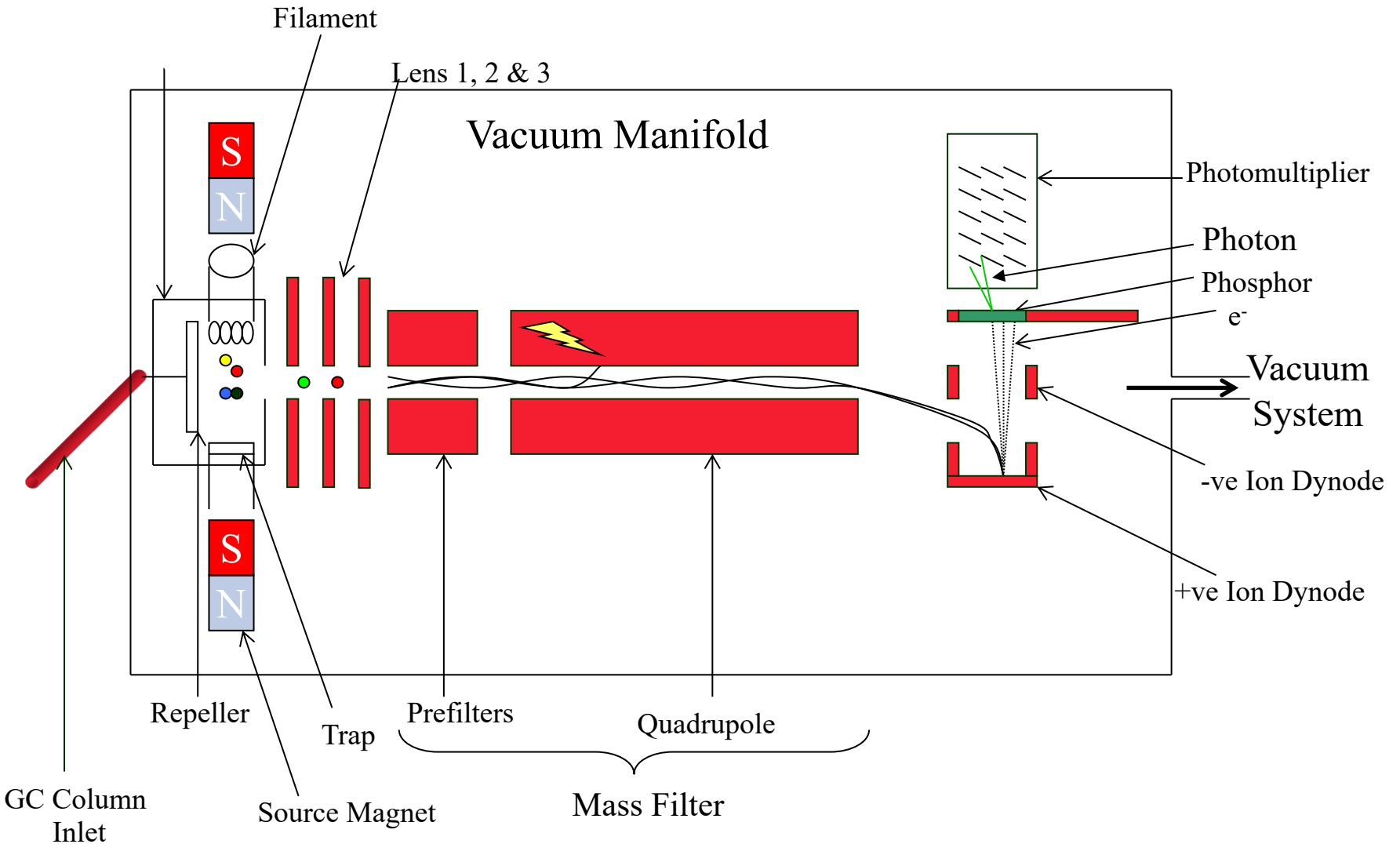




# SPETTRO DI MASSA



# SCHEMA DI UN SINGOLO QUADRUPOLO



# SISTEMI DI IONIZZAZIONE in GC-MS

## **EI : Electron Impact**

Il più comune sistema di ionizzazione in GC-MS

*Elettroni generati da un filamento per effetto termo-ionico, grazie ad un opportuno campo magnetico vengono condotti all'interno di una camera di ionizzazione (Ion Volume) dove reagiscono con gli analiti immessi dalla colonna cromatografica per formare ioni.*

*L'energia degli elettroni è standardizzata a 70 eV, al fine di avere spettri di massa confrontabili fra strumenti di marche e modelli differenti e quindi librerie universali di spettri di massa.*

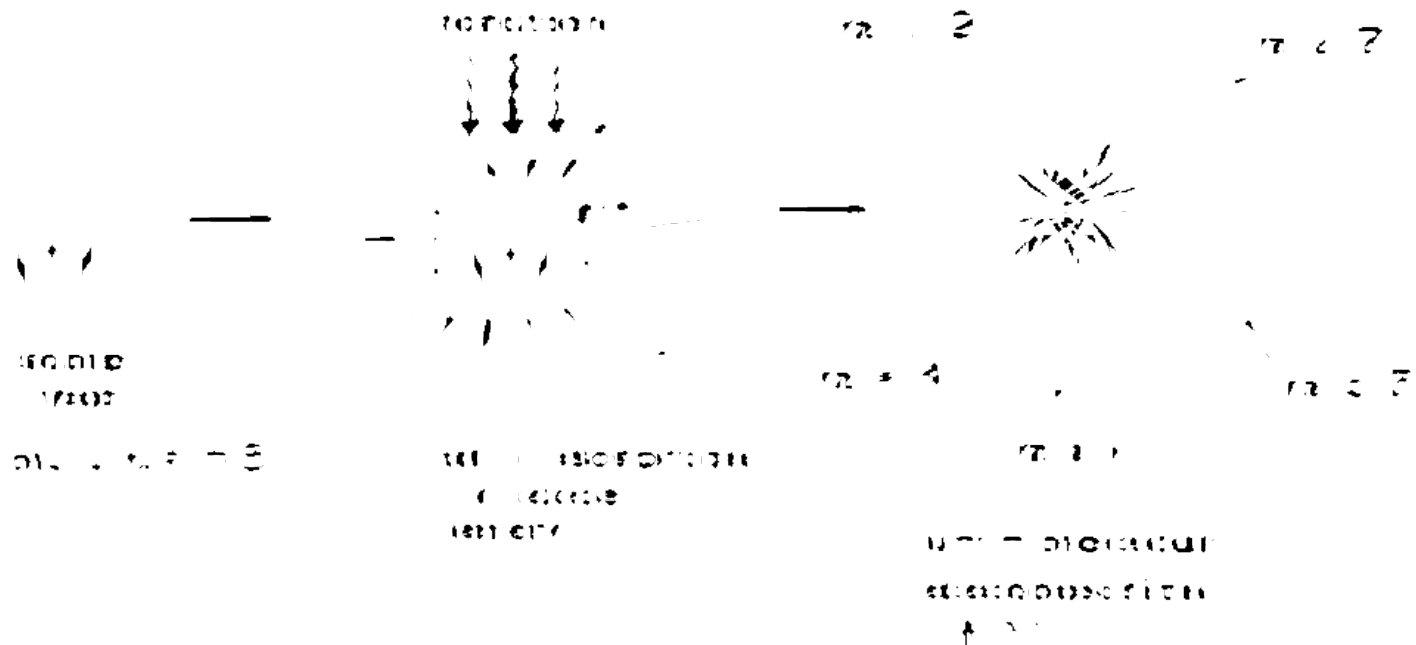
## **CI : Chemical Ionization**

*E' una ionizzazione di tipo EI, con l'aggiunta di un gas reagente (Ammoniaca o Metano), dove è il gas reagente a ionizzarsi e formare nuove specie ioniche con i principi attivi.*

# EI – FORMAZIONE DELLO SPETTRO DI MASSA

Trasferimento di energia che provoca l'espulsione di un elettrone proprio del principio attivo in esame, che porta alla formazione di una specie ionica metastabile di massa  $m$  e carica  $z$  positiva (ione molecolare).

In questo stato metastabile, lo ione molecolare frammenta in ioni più piccoli dando così origine ad uno spettro di massa

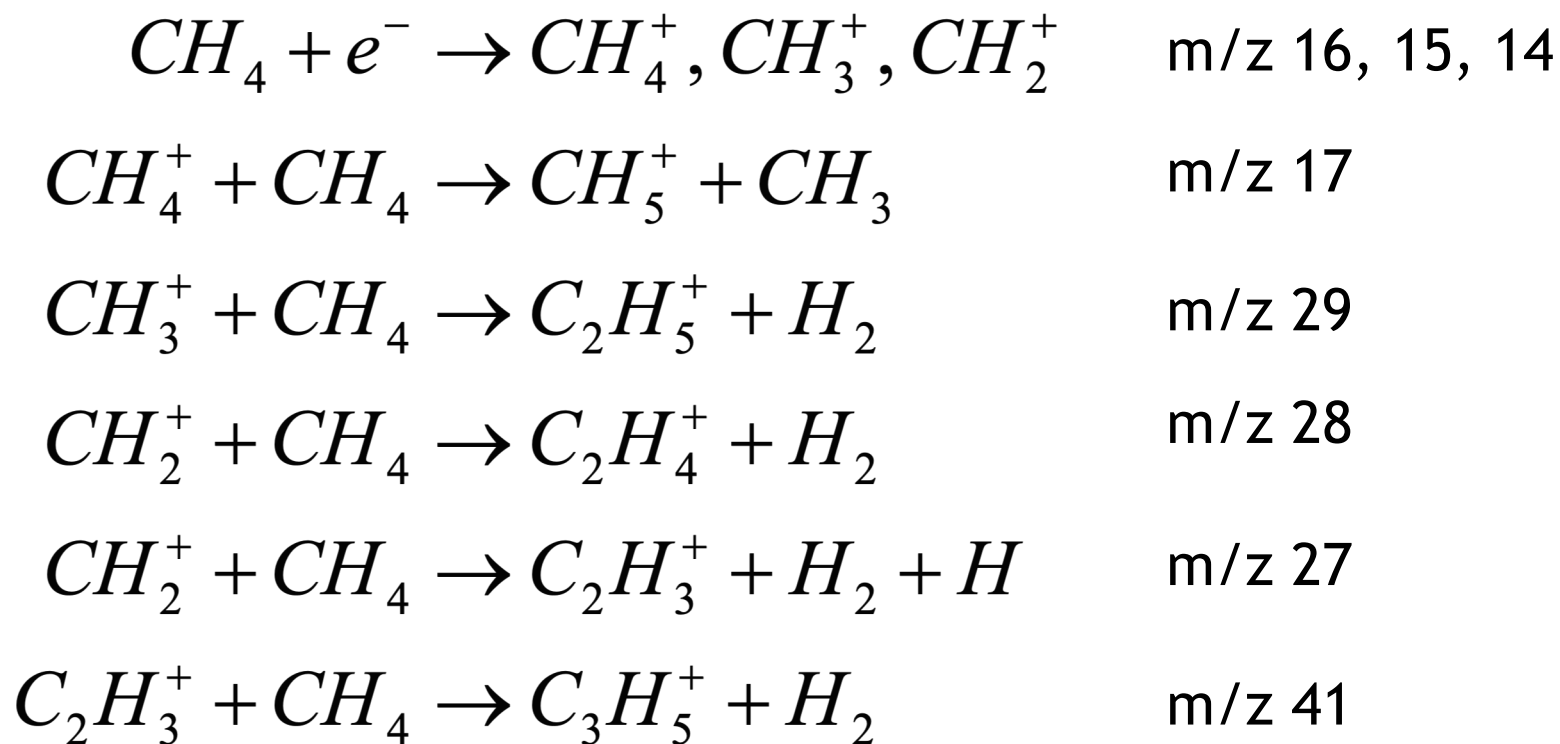


# EI – MECCANISMI DI FORMAZIONE DEGLI IONI

- $ABC + e^- > ABC^+ + 2e^-$  (***Molecular ion formation***)
- $ABC + e^- > A^+ + BC + 2e^-$  (***Fragmentation***)
- $ABC + e^- > AB^+ + C + 2e^-$
- $ABC + e^- > ABC^{++} + 3e^-$
- $ABC + e^- > A^+ + BC^- + e^-$
- $ABC + e^- > AB^+ + C^- + e^-$
- $ABC + e^- > AC^+ + B + 2e^-$
- $ABC + e^- > B^+ + AC + 2e^-$  (***Rearrangement***)
- $ABC + e^- > ABC^-$
- $ABC + e^- > AB^- + C$

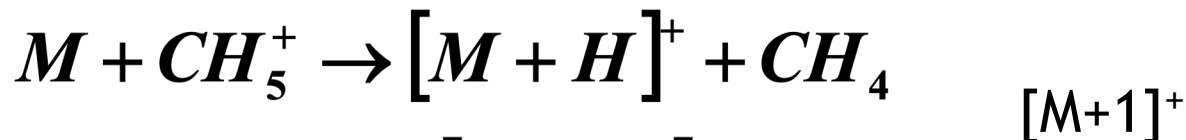
***“ Il meccanismo di formazione di ioni positivi sono significativamente preponderanti e più probabili di quelli negativi ”***

## Reazioni del gas ionizzante (Metano)



# CI - MECCANISMI DI FORMAZIONE DEGLI IONI

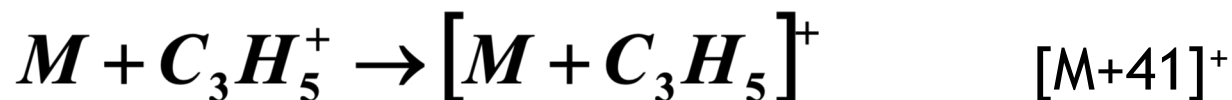
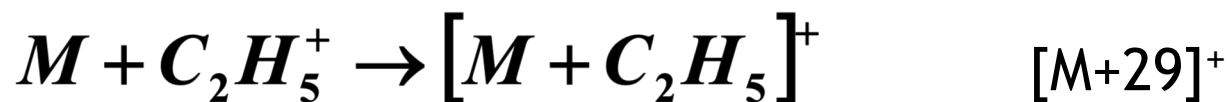
## ▶ Proton transfer



## ▶ Hydride abstraction



## ▶ Adduct formation



# Ionizzazione CI vs EI

---

- Tecniche complementari
- EI enormemente più diffusa
- CI relegata a tecnica particolare/speciale
- CI dà ulteriori informazioni sulla struttura molecolare
- CI incrementa la selettività (aumento di  $m/z$  rispetto a EI)



# Modalità di acquisizione

---

## **SIM - Single Ion Monitoring**

Acquisizione di singoli ioni

## **FULL SCAN**

Acquisizione di uno o più treni di ioni

## **MASSA-MASSA (MS/MS per Tripli Quad o MS<sub>n</sub> per Trappole)**

Più comunemente indicata come **SRM** (Single Reaction Monitor) o **MRM** (Multi Reaction Monitor).

# RISOLUZIONE di MASSA

La capacità di uno spettrometro di massa di differenziare le masse è generalmente espressa dalla risoluzione  $R$  definita come:

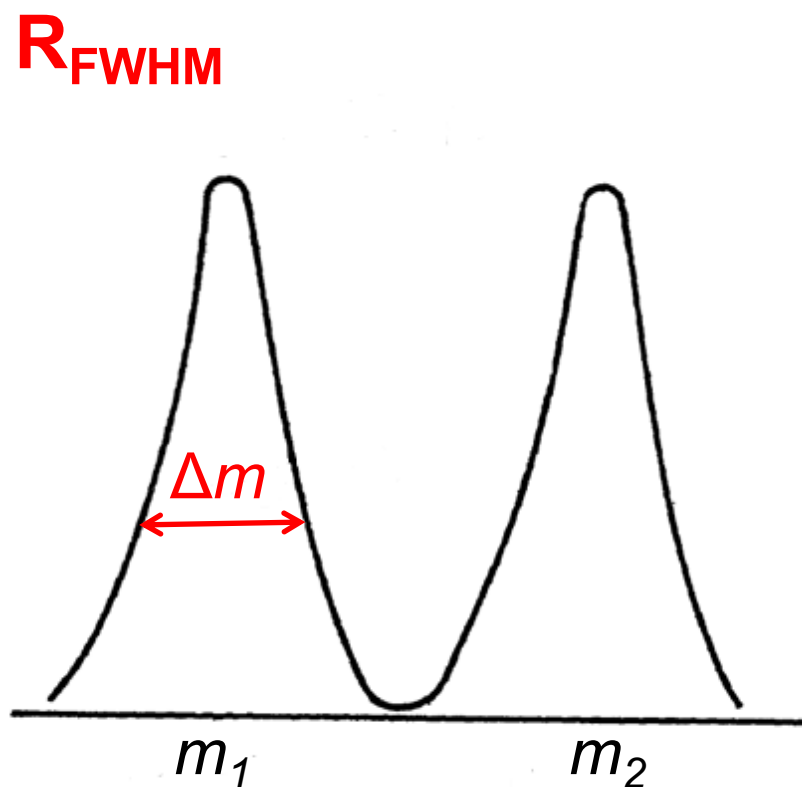
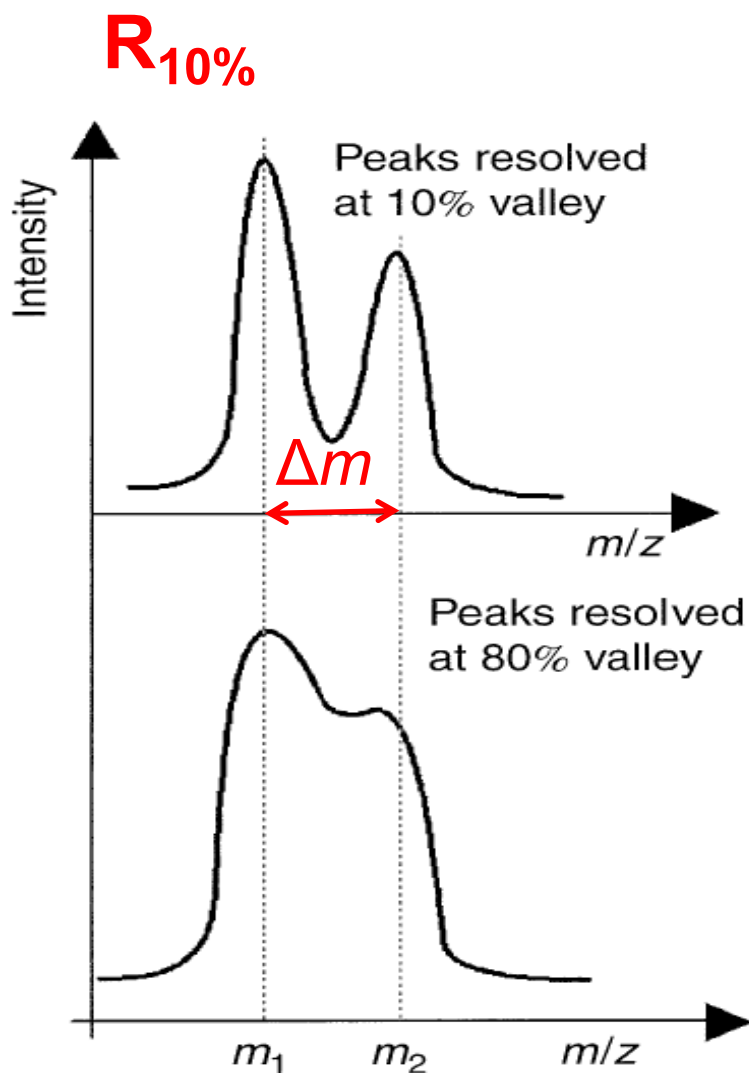
$$R = m/\Delta m$$

dove  $\Delta m$  (*Resolving Power*) è la differenza di massa tra due picchi adiacenti risolti e  $m$  è la massa nominale del primo picco (o la media delle masse dei due picchi).

Due picchi sono considerati risolti se l'altezza della valle tra di essi è inferiore del 10% all'altezza del picco meno intenso.

Uno spettrometro con una risoluzione di 4 000 risolverà due picchi con valori di  $m/z$  400,0 e 400,1 (o di 40,00 e 40,01).

# DEFINIZIONE di R come $R_{10\%}$ oppure $R_{FWHM}$



FWHM (Full Width Half Maximum)  
La risoluzione di un picco isolato si può anche definire come larghezza del picco a metà dell'altezza.

# RISOLUZIONE di MASSA - PRECISAZIONI

➤  $R_{10\%}$  e  $R_{FWHM}$  non sono confrontabili

teoricamente  $R_{FWHM}$  è circa 1.8 volte più grande di  $R_{10\%}$

➤ Alta Risoluzione (HR) vs Bassa Risoluzione (LR)

Non esiste un definizione ufficiale, comunemente si parla di bassa risoluzione con  $R = 500 - 2000$ , ed alta risoluzione con  $R > 10000$

➤ Alcuni testi definiscono erroneamente la Risoluzione in termini di  $\Delta m$ , ed il Resolving Power come  $R$

# ANALIZZATORI di MASSA

---

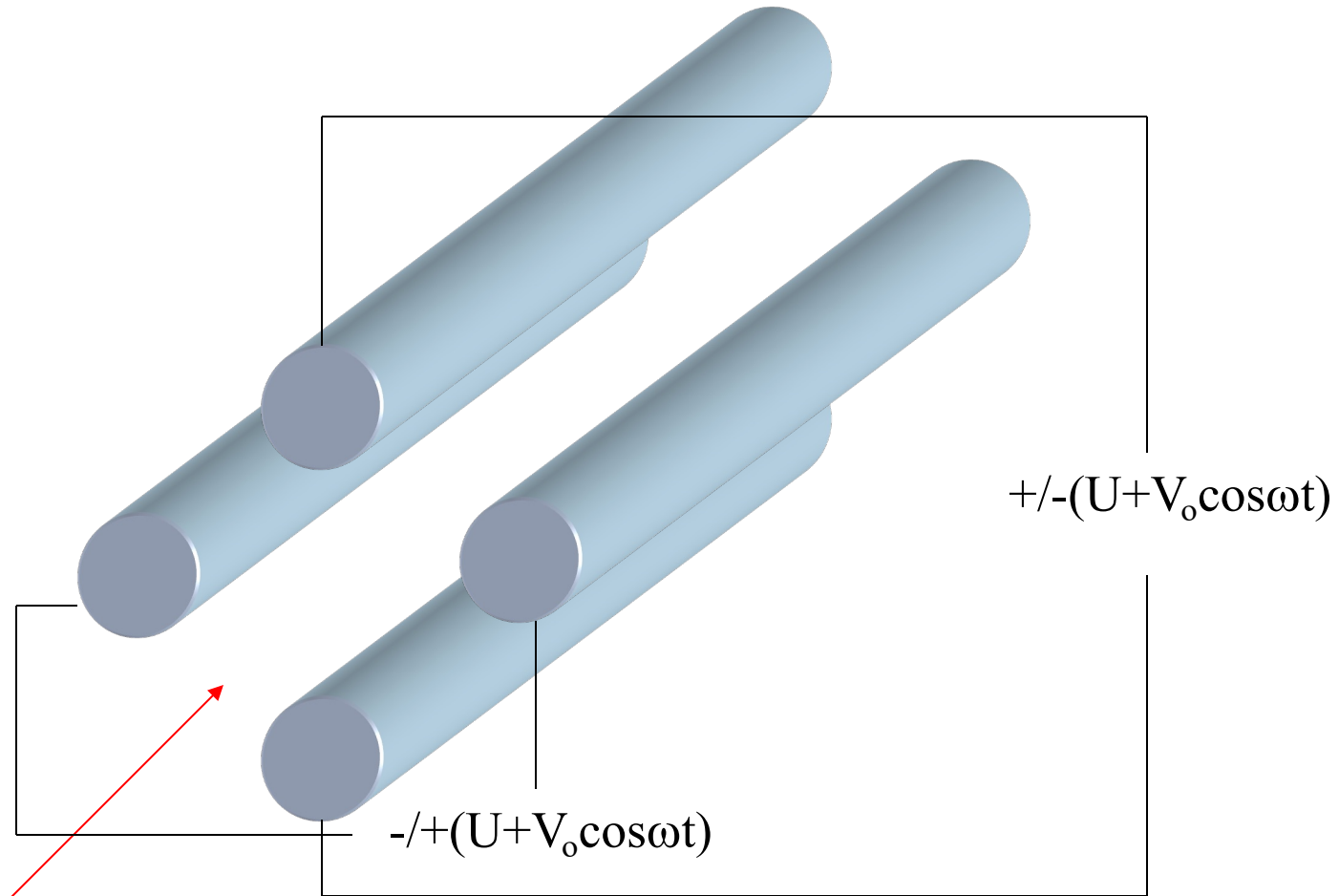
## Bassa Risoluzione

- Singolo Quadrupolo
- Trappola Ionica
- Triplo Quadrupolo

## Alta Risoluzione

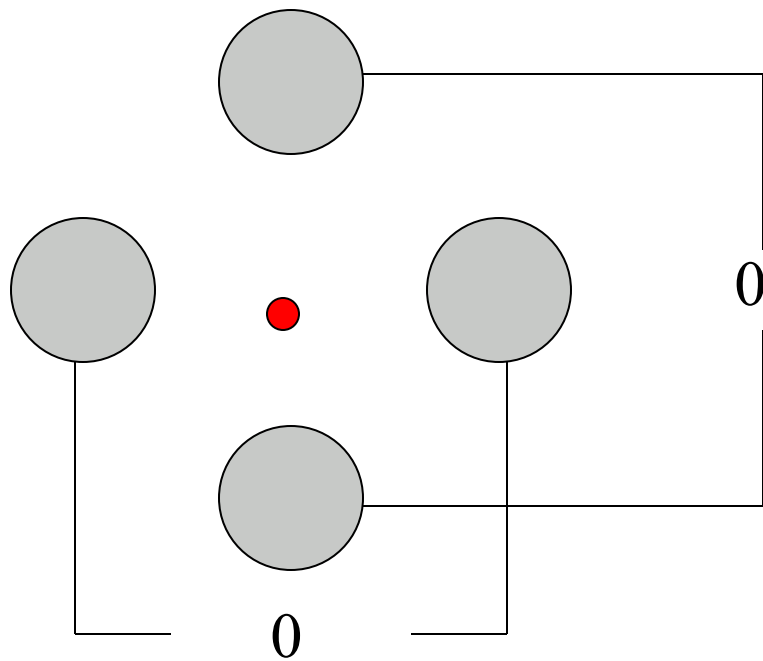
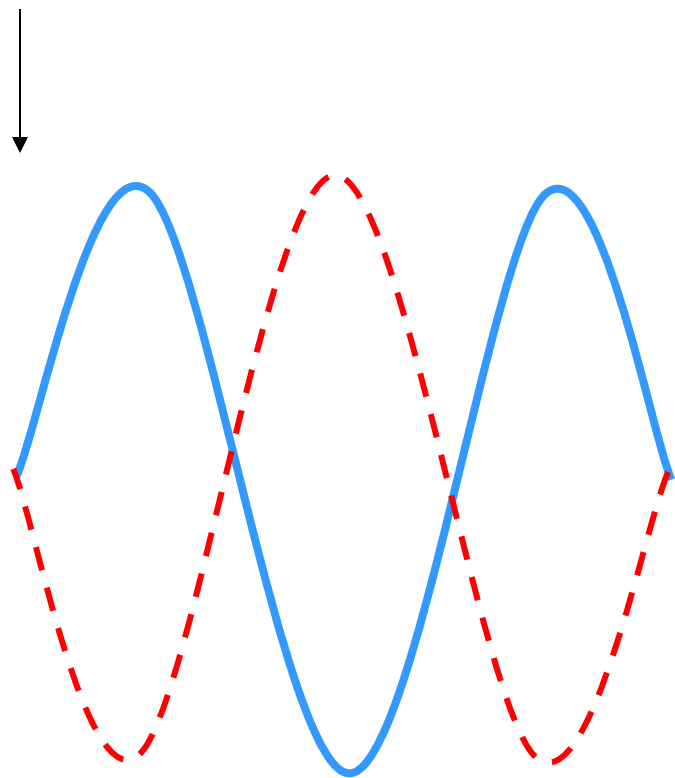
- TOF (Time Of Flight)
- Orbitrap
- Magnetico (doppio settore)

# CAMPO QUADRUPOLE

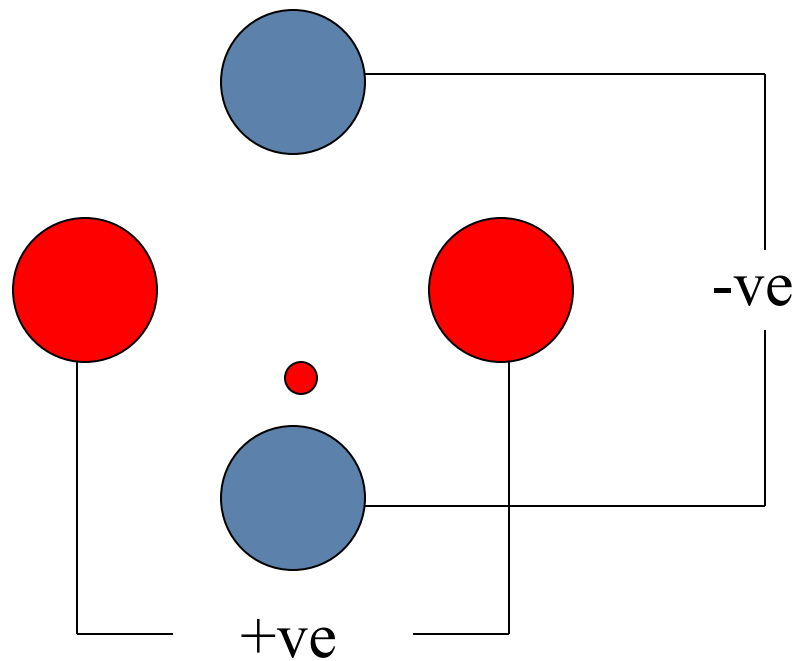
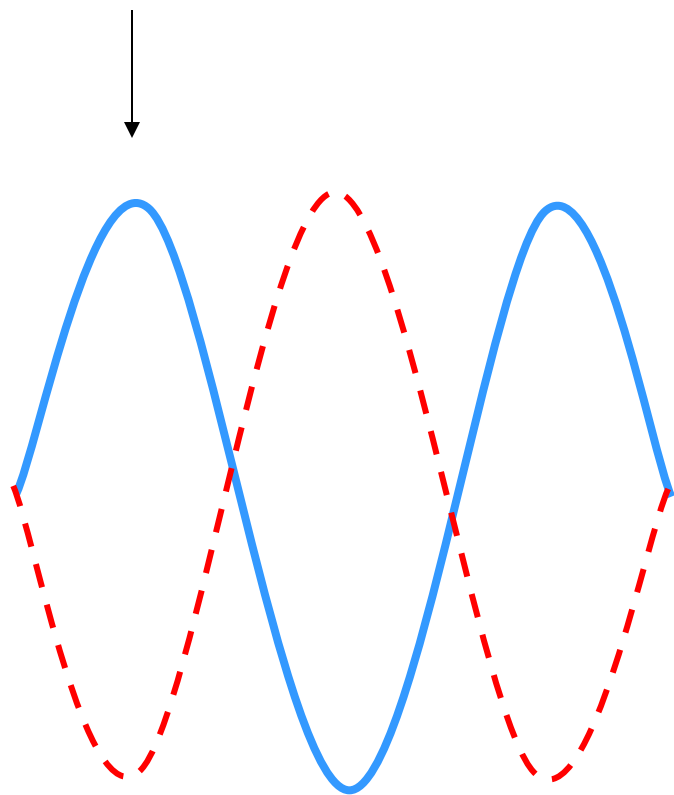


Ion beam

# CAMPO QUADRUPOLE

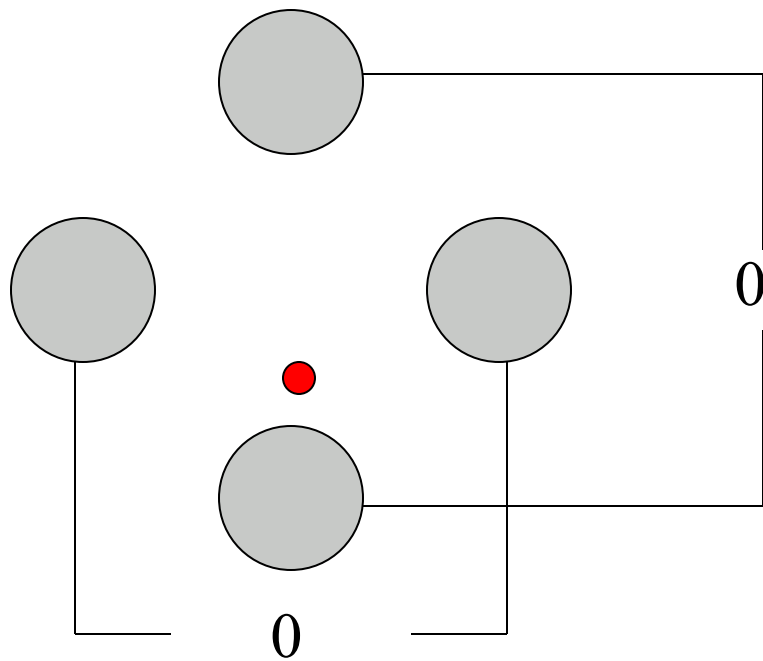
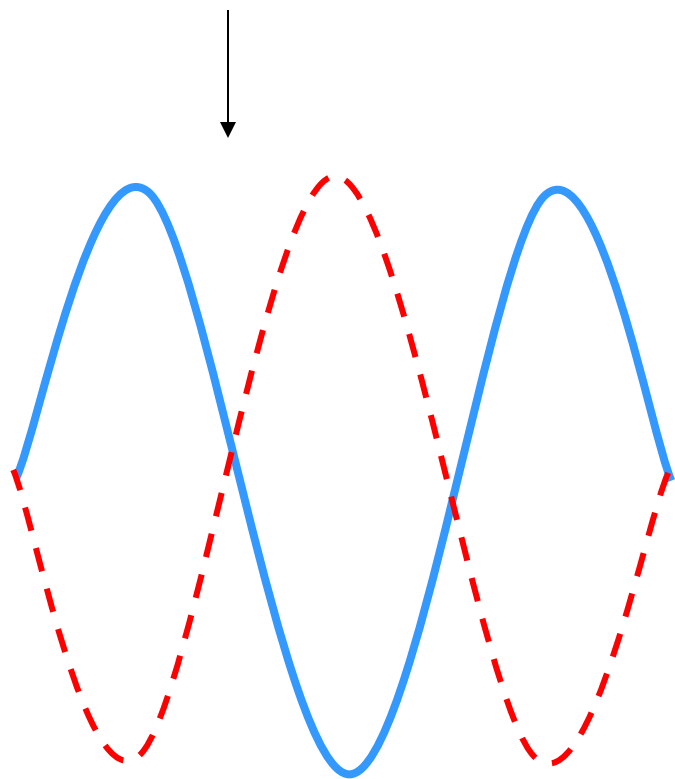


# CAMPO QUADRUPOLORE

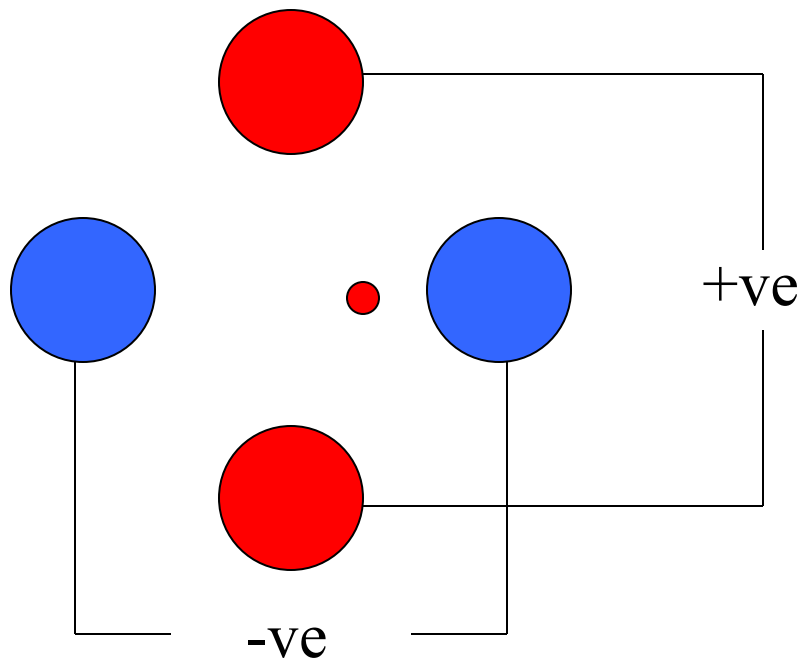
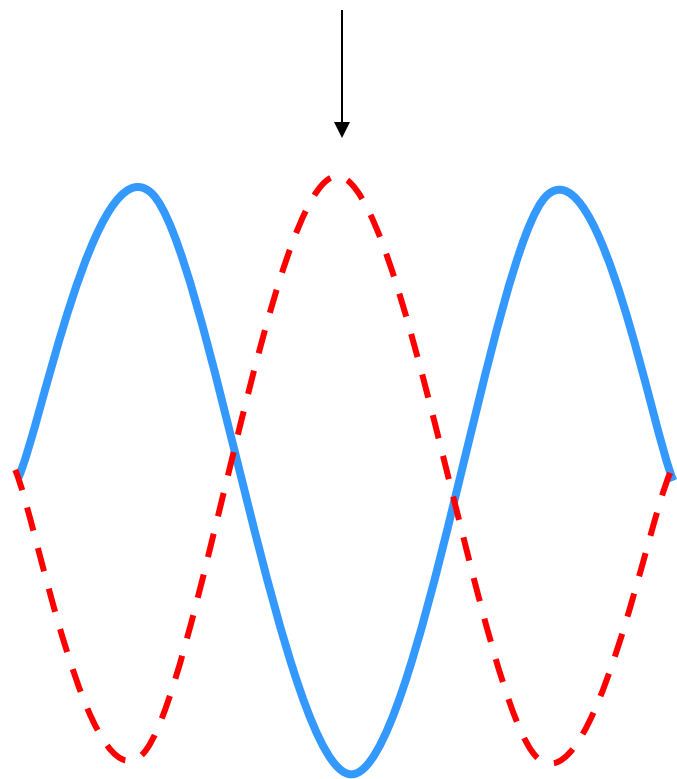




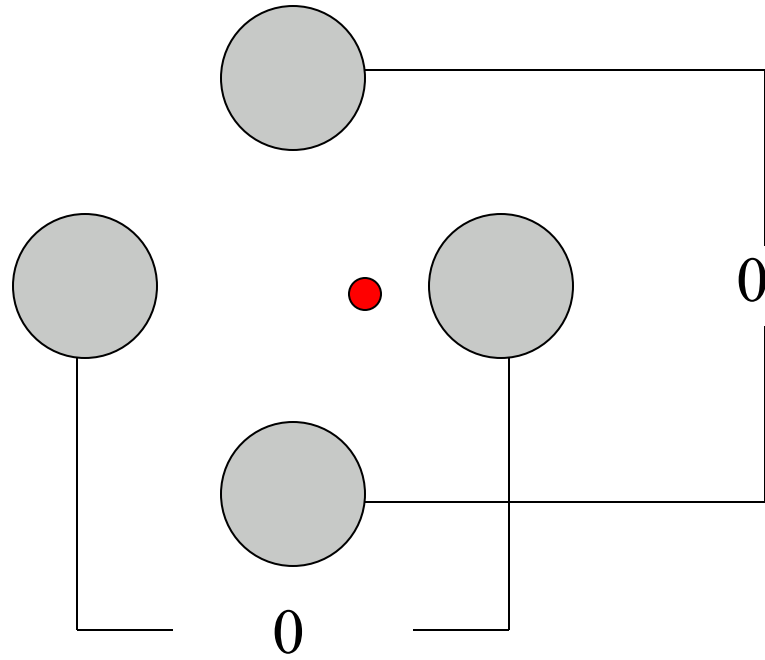
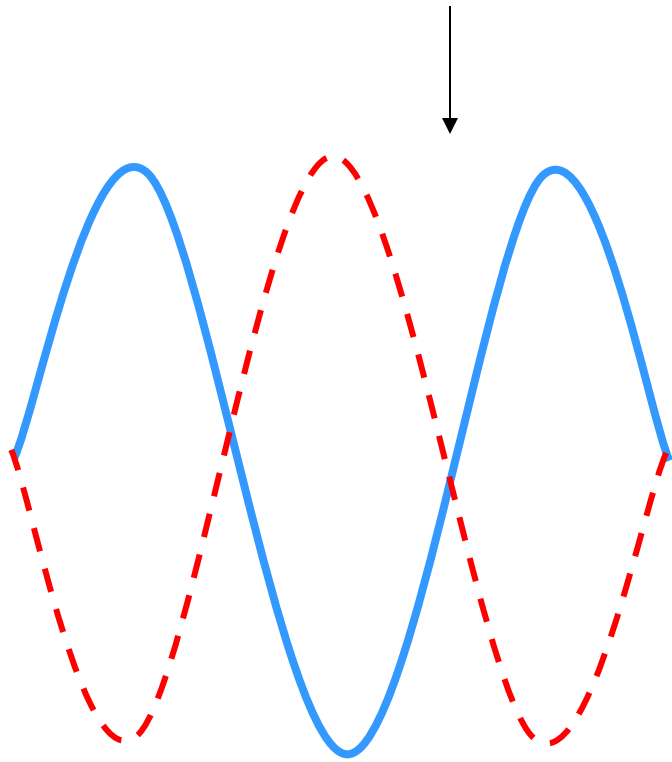
# CAMPO QUADRUPOLORE



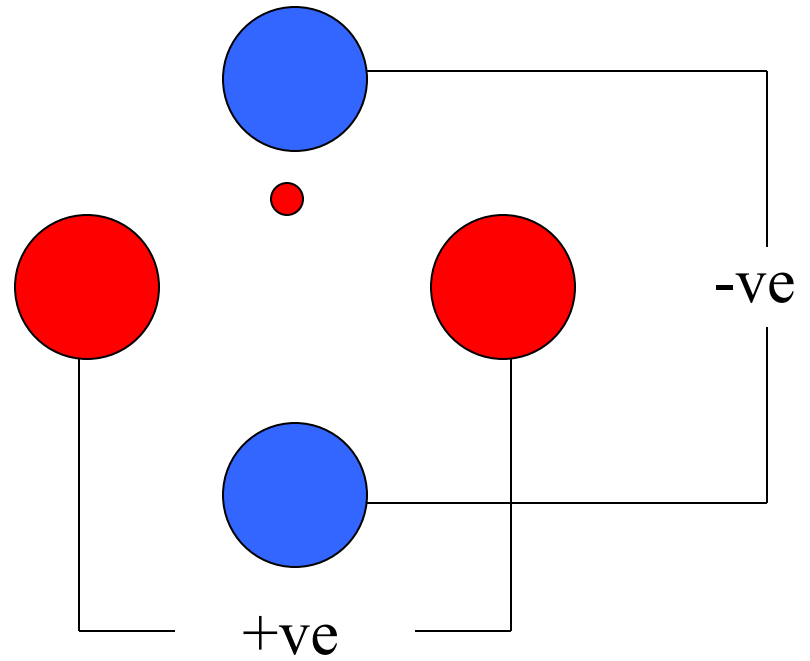
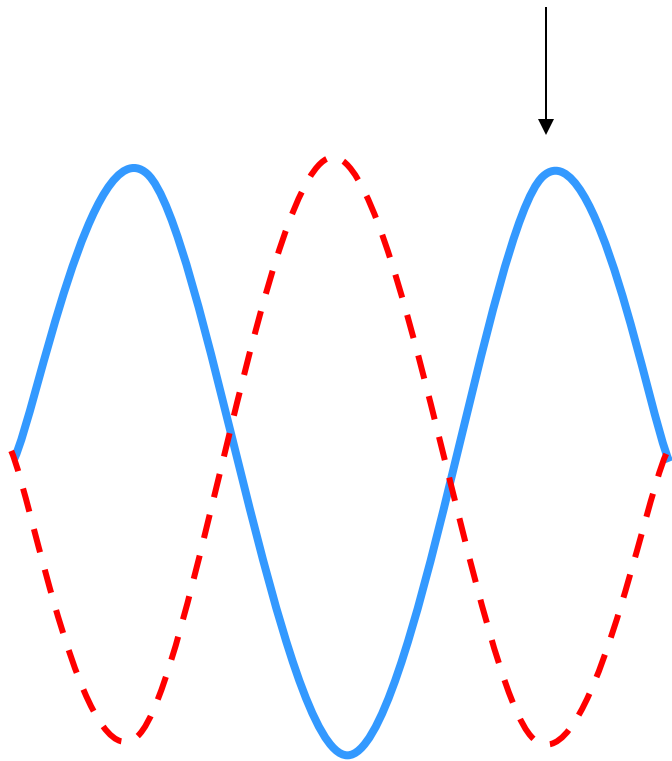
# CAMPO QUADRUPOLARE



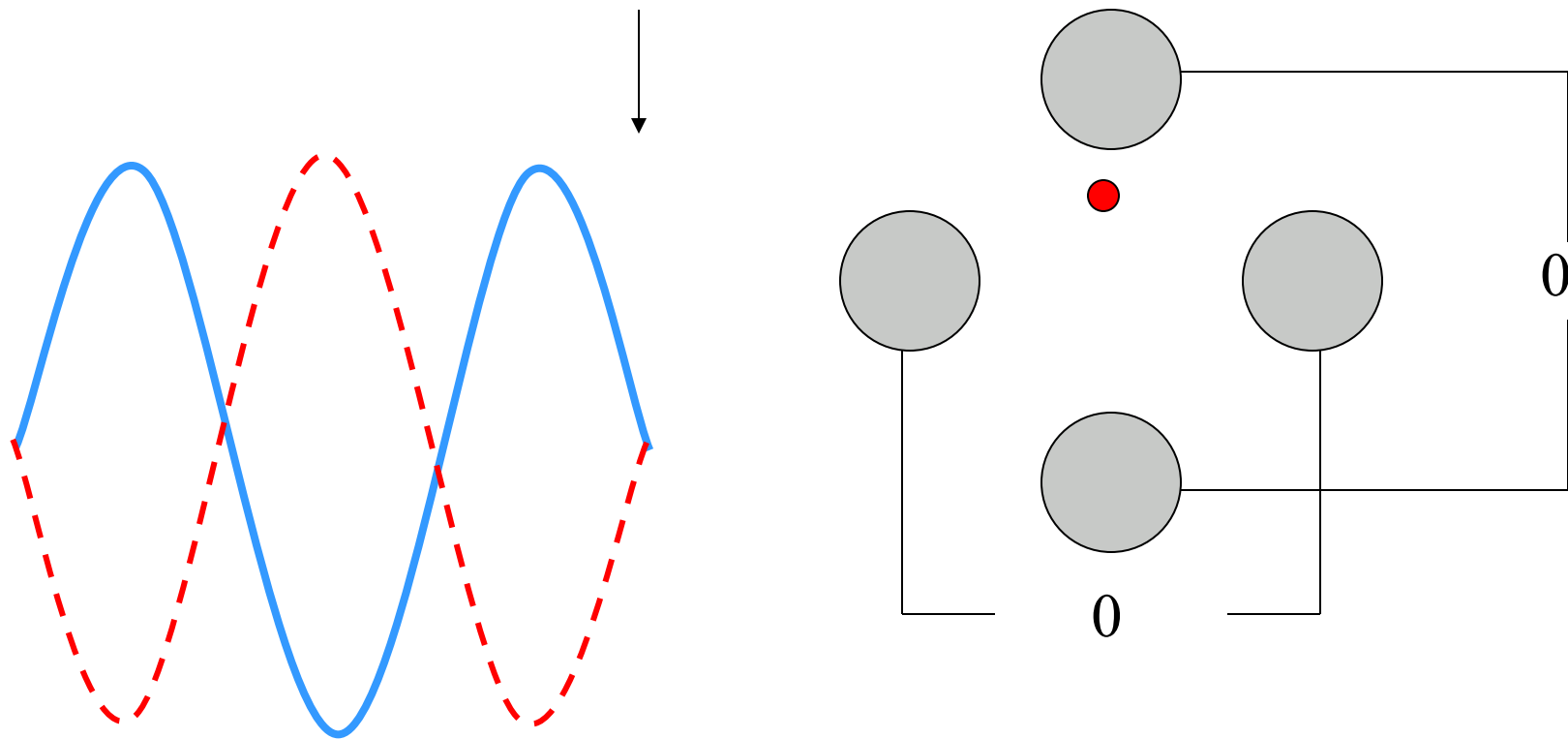
# CAMPO QUADRUPOLORE



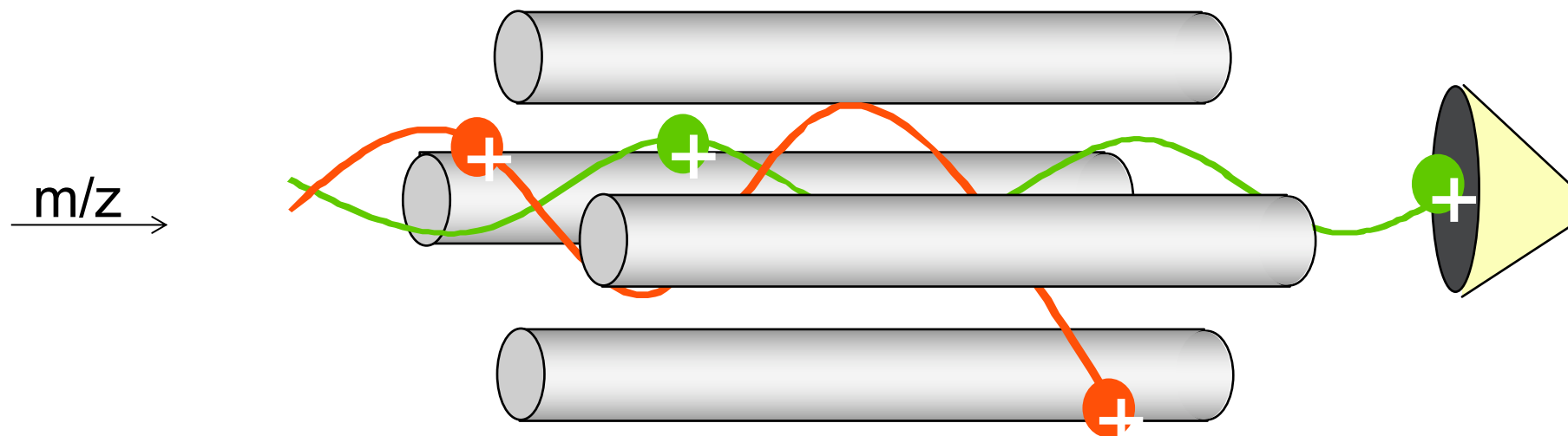
# CAMPO QUADRUPOLORE



# CAMPO QUADRUPOLE



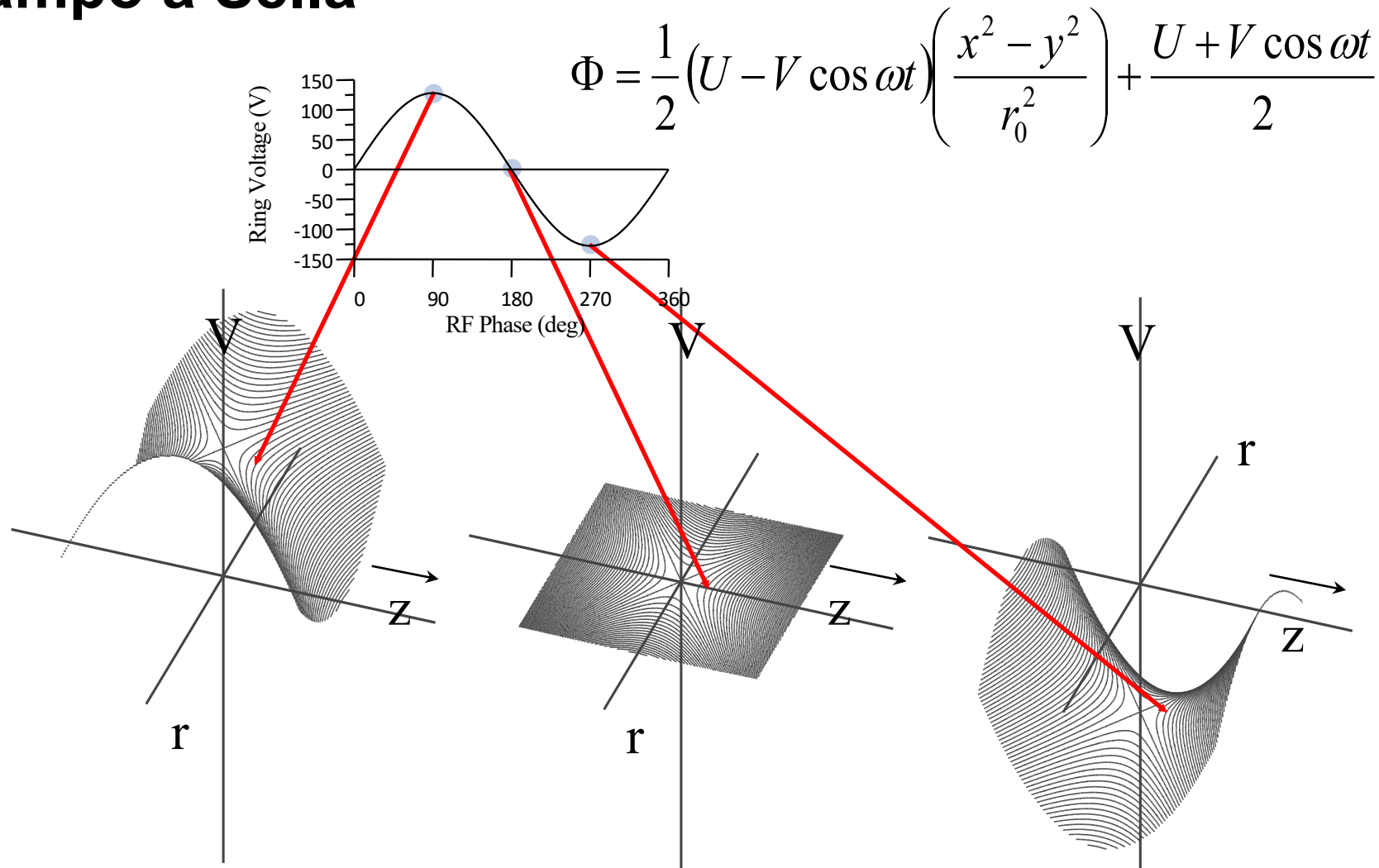
# CAMPO QUADRUPOLO



Gli ioni vengono filtrati in funzione del rapporto DC/RF applicato lungo il quadrupolo

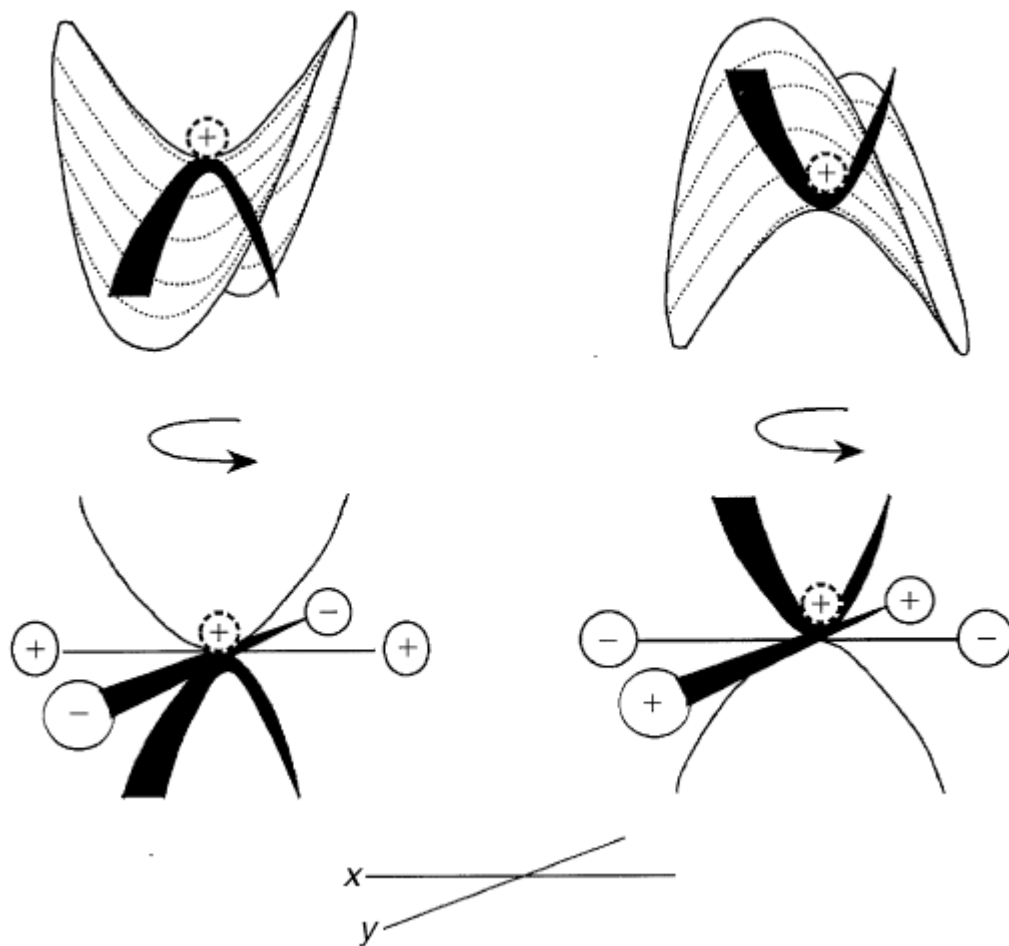
# CAMPO QUADRUPOLORE – Energia Potenziale

## Campo a Sella



# CAMPO QUADRUPOLORE – Energia Potenziale

## Campo a Sella



Al centro del quadrupolo lo ione si trova in un potenziale elettrico a sella, che ruota alla frequenza del campo a RF.

L'energia dello ione viene continuamente convertita da cinetica a potenziale e viceversa.

Lo ione assume quindi un moto oscillatorio attorno alla posizione di equilibrio (sull'asse del quadrupolo), con una frequenza ed un'ampiezza di oscillazione che dipendono dalla frequenza e ampiezza del campo, dalla massa e dalla carica dello ione.



# ANALIZZATORI di MASSA a bassa risoluzione

## Singolo Quadrupolo

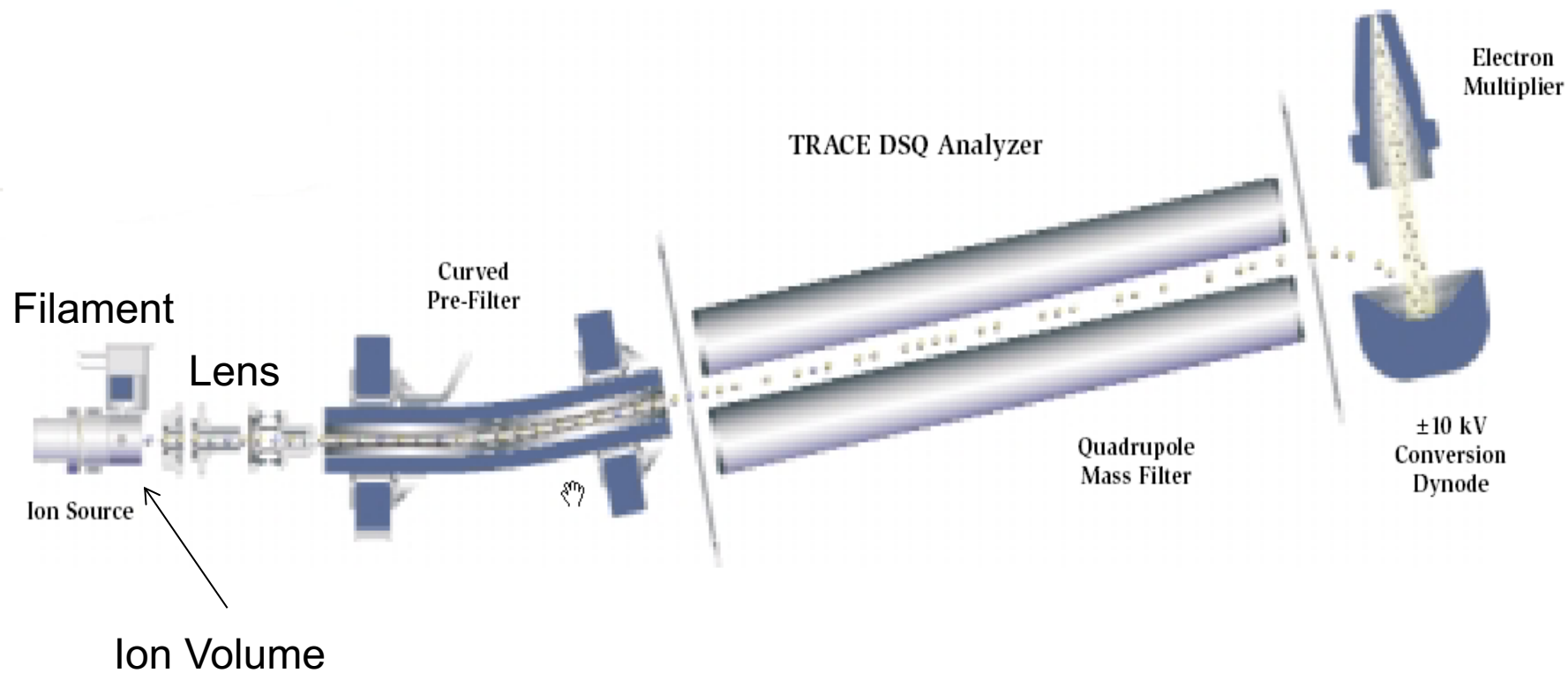
Consiste di 4 barre metalliche a sezione sferica o iperbolica, disposte parallelamente. La separazione degli ioni avviene mediante la combinazione di un campo elettrico variabile (RF) ed uno costante (DC) applicato alle barre.

Gli ioni percorrono lo spazio all'interno delle 4 barre, e solo gli ioni con il rapporto  $m/z$  desiderato riescono ad attraversare il campo quadrupolare ed essere rilevati.

## Trappola Ionica

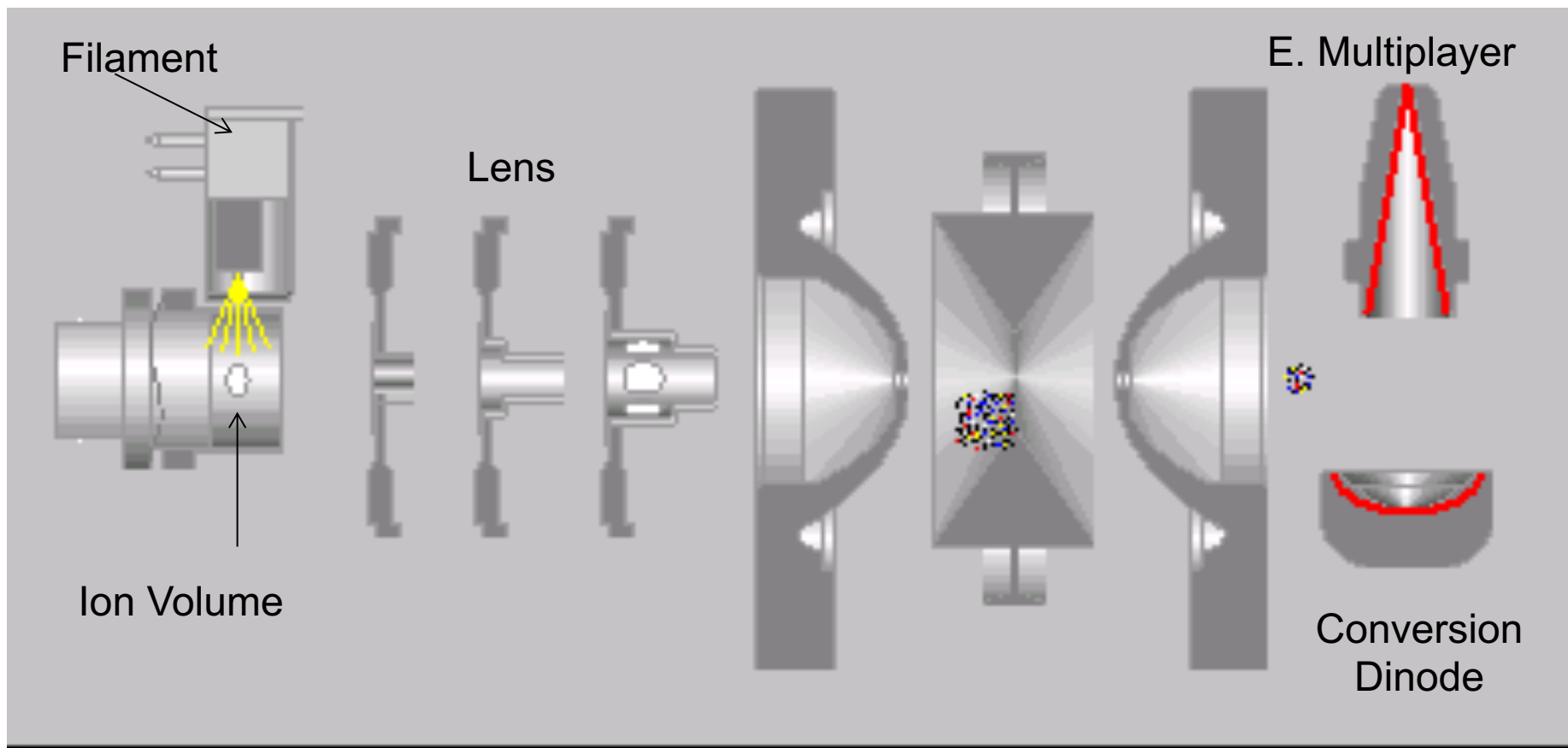
Concettualmente lo si può immaginare come un singolo quadrupolo le cui barre, anziché essere lineari, sono richiuse su loro stesse a formare 4 anelli. Gli ioni si muovono all'interno dello spazio formata dalle 4 barre (come nel singolo quadrupolo) ma lo spazio è virtualmente infinito, di conseguenza la selezione dello ione viene eseguita in funzione del tempo. Solo gli ioni che riescono a rimanere "intrappolati" nel campo quadrupolare per un determinato tempo saranno rilevati.

# SINGOLO QUADRUPOLO



# TRAPPOLA IONICA

PolarisQ / ITQ



# Singolo Quadrupolo vs Trappola Ionica

## Vantaggi del Trappola Ionica:

- Maggiore sensibilità in MSn e Full Scan
- Fornisce più informazioni sulla struttura molecolare grazie al MSn
- Più performante su matrici complesse grazie al MSn
- Selettività

## Punti deboli della Trappola Ionica:

- Scarsa sensibilità in presenza di umidità
- Scarsa produttività in MSn (velocità di scansione lenta)
- Non sempre è possibile lavorare in MSn  
(molecole piccole o che non danno frammentazione, meno performante su VOC e IPA)
- Librerie di massa non standardizzate

# Singolo Quadrupolo vs Trappola Ionica

## Vantaggi del Singolo Quadrupolo:

- Maggiore ripetibilità
- Maggior selettività (risoluzione sub unitaria)
- Più performante su piccole molecole
- Veloce sviluppo del metodo
- Librerie di massa universalmente standardizzate
- Estremamente diffuso sul mercato
- Grande quantità di pubblicazioni scientifiche, metodi normati ecc. ecc.
- Costo inferiore

## Punti deboli della Singolo Quadrupolo:

- Significativamente meno performante su matrici complesse
- Meno performante in acquisizioni di Full Scan e con grandi ioni (> 300)

# ANALIZZATORI di MASSA a bassa risoluzione

## Triplo Quadrupolo (Tandem Mass o QqQ )

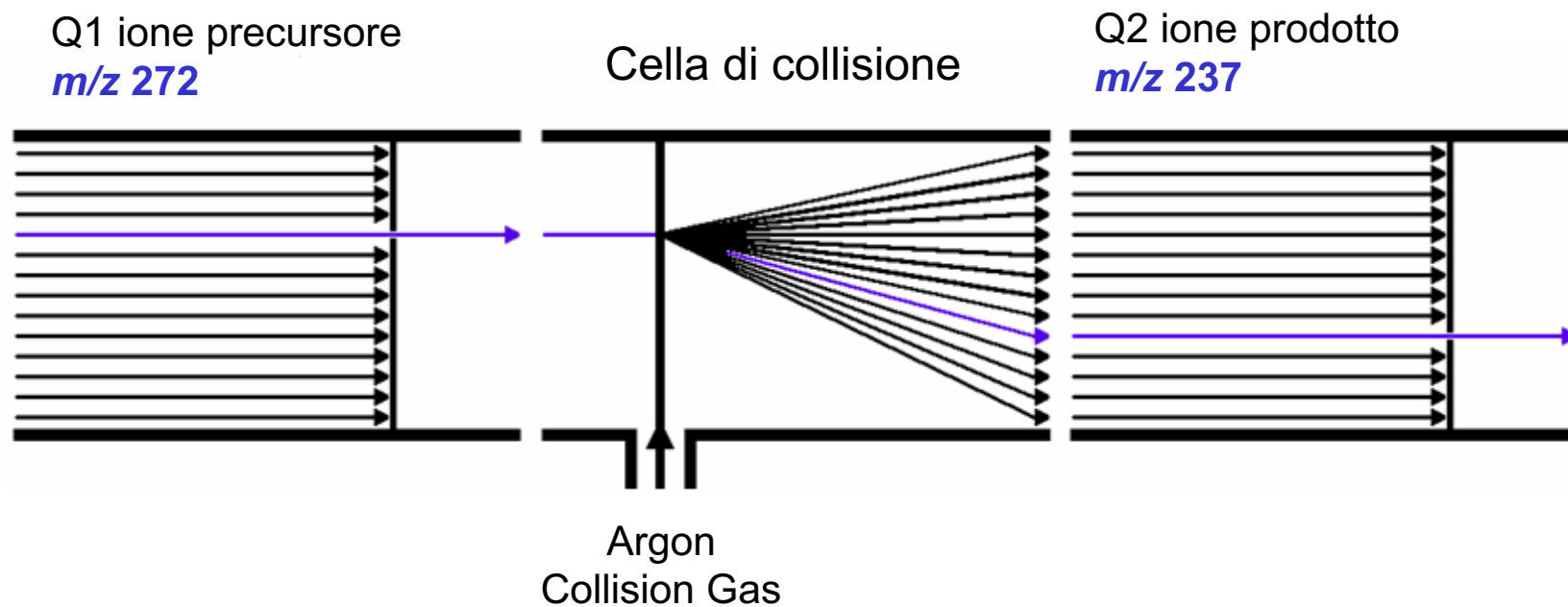
Composto da due singoli quadrupoli con una cella di collisione interposta. La geometria può essere di tipo lineare, a 90 o 180 gradi, con la cella di collisione a dare la curvatura.

Unisce in un unico strumento la velocità, selettività e ripetibilità del singolo quadrupolo alla possibilità di fare il MS/MS.

La tipica modalità di acquisizione di un triplo quadrupolo è l' SRM (Single Reaction Monitor) , detta anche MRM (Multi Reaction Monitor). Dove i due quadrupoli lavorano in modalità SIM e la cella di collisione provvede alla frammentazione degli ioni precursori provenienti dal primo quadrupolo.

# TRIPLO QUADRUPOLO

## Modalità di acquisizione SRM



# TRIPLO QUADRUPOLE

## Never Vent for Source Maintenance



ExtractaBrite wireless ion source cartridge

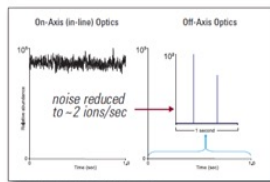
Allows full source removal without venting, including ion guide surface. No wire connections are necessary, and never vent to clean your instrument.



Seeing is believing:  
[www.thermo.com/NeverVent](http://www.thermo.com/NeverVent)

## No Noise is Good Noise

Off-axis optics provided by curved ion guide effectively eliminates neutral noise, resulting in less background and lower limits of detection.



Noise reduction due to off-axis ion optics

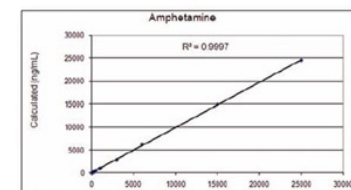
## No Helium Required

Chose between nitrogen or argon for collision gas. No expensive helium required.



## Industry Leading Detector Linearity

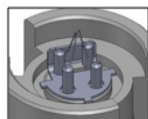
The DynaMax detection system standard on the SuperQuad offers industry best linearity. Combined with the low detection limits attainable by MRM, this detector makes the SuperQuad the ultimate quantitative instrument.



Excellent analytical linearity reduces re-analysis needs

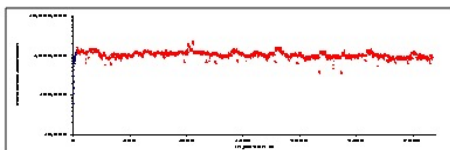
## Dual Filaments for Prolonged Uptime

Intelligent dual filament design keeps you running longer between maintenance intervals.



## Dual Heated Zones on Source Maximize Ruggedness

Dual independently heated zones on the SuperQuad allow for thousands of injections of the dirtiest matrices before source cleaning is required.



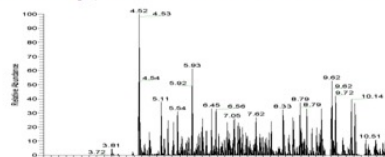
1200 injections of common pesticide in cucumber matrix acquired over two month period with no loss in intensity and no source maintenance

## Never Clean or Replace Quads

Heated ion guide protects main quadrupole sets so they never have to be cleaned or replaced.

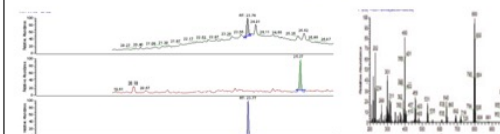
## Fast Scanning Allows Fast Chromatography

Dynamic ion expulsion in collision cell allows hundreds of MRM transitions per second. Combined with TMRM for efficiently managing transition scheduling, the SuperQuad can analyze hundreds of compounds with multiple transitions each over short chromatographic runs.

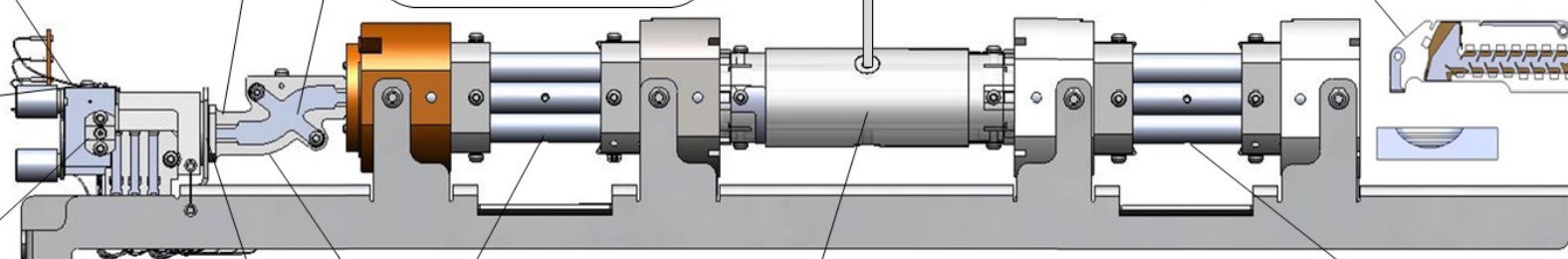


Chromatogram showing 200 pesticides analyzed in 12 minutes in tea matrix

## Switch Between Fullscan, SIM and MRM in Milliseconds with the Fastest Scanning Triple Quad



The top trace shows a fullscan chromatogram, the middle trace shows an SIM event, and bottom trace shows an MRM transition, all acquired on the same injection. The spectrum on the right is taken from the fullscan event on the left. This is made possible because the SuperQuad has the fastest scanning quads for a triple quad at 11,111 u/sec.





# TRIPLO QUADRUPOLO

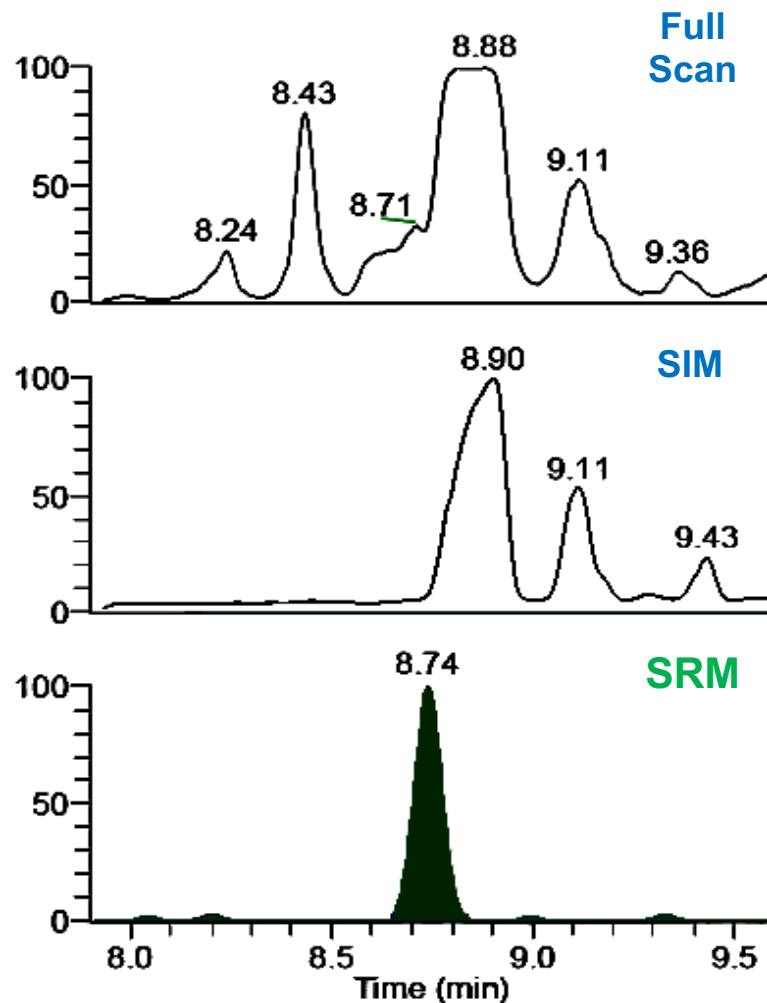
## Vantaggi:

- produttività
- sensibilità
- ripetibilità
- selettività

## Punti deboli:

- costo

Dichlorvos , 5 ppb in erba secca



**FINE**

*Grazie per l'attenzione*

