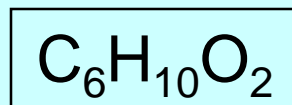
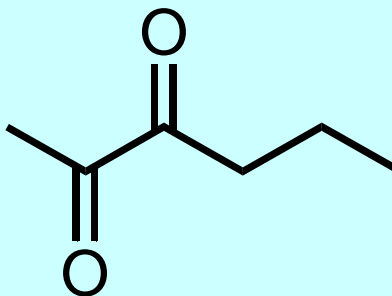
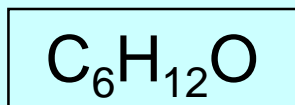
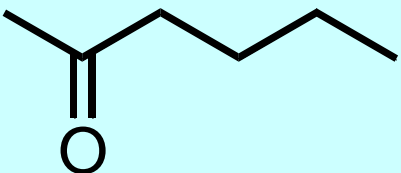
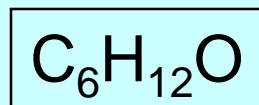
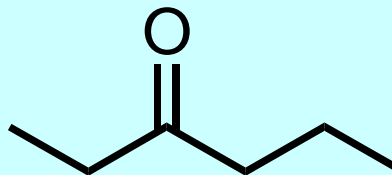
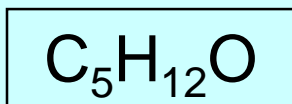
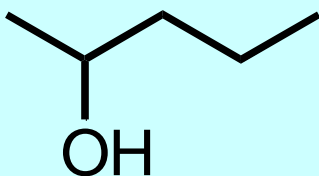


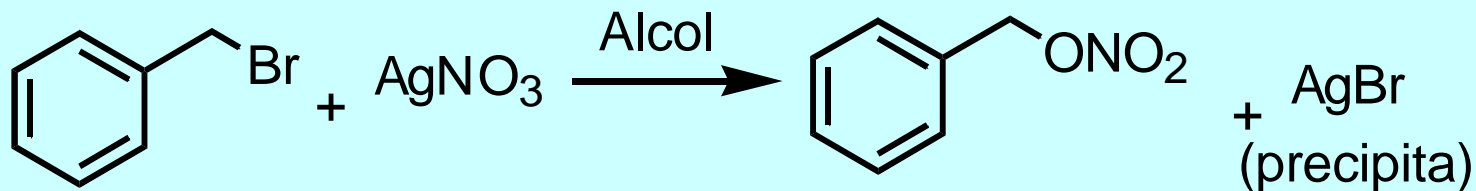
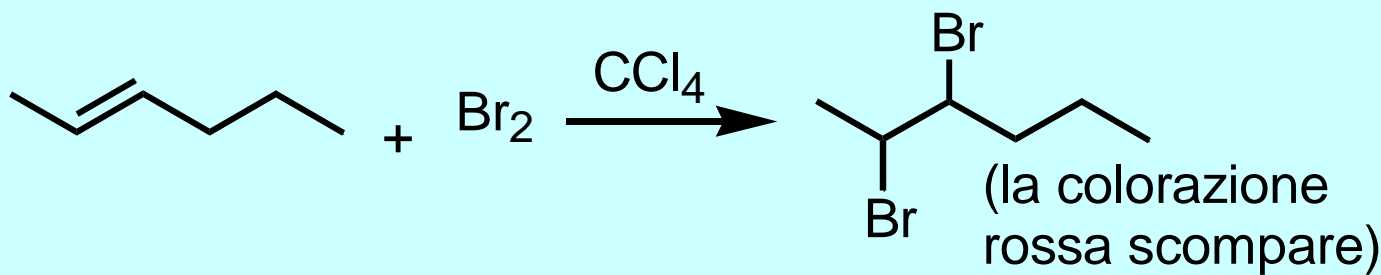
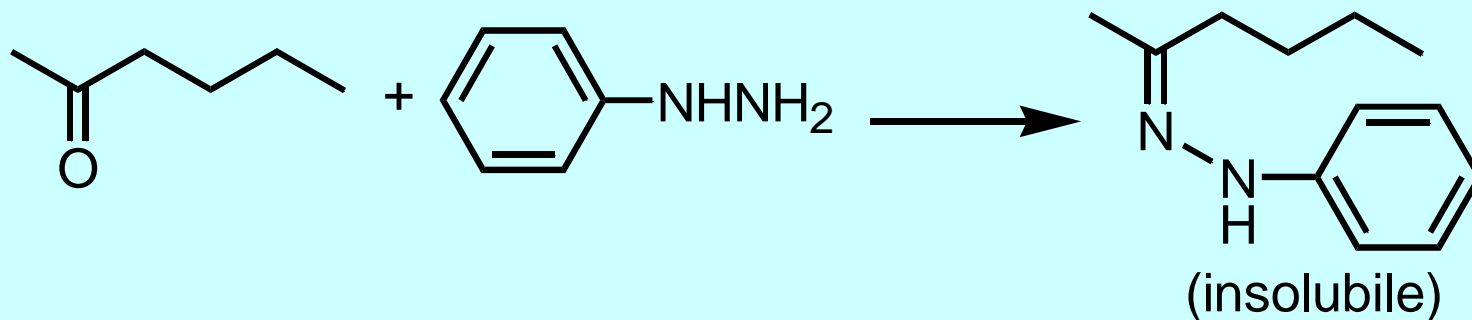
# Metodi *chimici* per la determinazione strutturale

Analisi elementare:



# Metodi *chimici* per la determinazione strutturale

Saggi chimici (gruppi funzionali):



# Metodi *chimici* per la determinazione strutturale

## Svantaggi dei metodi chimici:

- sono lunghi e laboriosi
- richiedono elevate quantità di campione
- sono distruttivi

## Metodi spettroscopici:

- Spettroscopia ultravioletta (UV)
- Spettroscopia infrarossa (IR)
- Risonanza magnetica nucleare (NMR)

## Metodi spettrometrici:

- Spettrometria di massa (MS)



# Spettrometria di massa

- Serve a misurare la massa delle molecole.
- Fornisce la massa molecolare, e anche la *formula* molecolare
- La molecola deve essere ionizzata, così da misurare il rapporto massa/carica ( $m/z$ ) dello ione risultante.

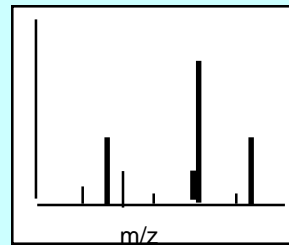
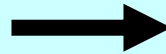
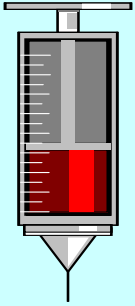


La sorgente serve a *volatilizzare e ionizzare* il campione

L'analizzatore serve a misurare il rapporto  $m/z$  degli ioni prodotti

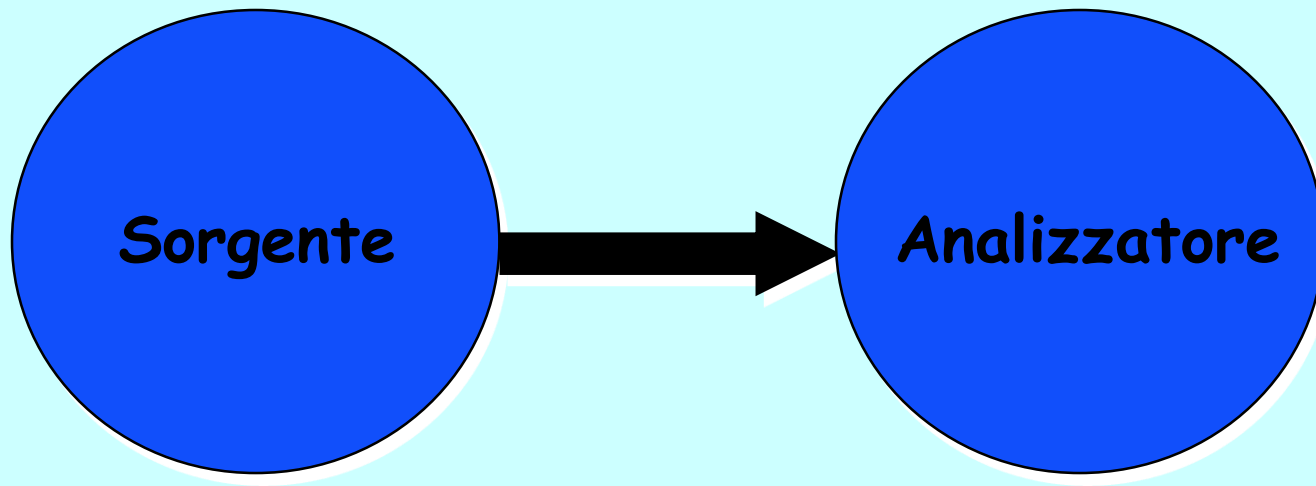
Il detector serve a rivelare gli ioni che arrivano dall'analizzatore

# I componenti dello spettrometro



Spettro

Computer



### Sorgenti:

- Sorgente **EI** (impatto elettronico)
- Sorgente **CI** (ionizzazione chimica)
- Sorgente **FAB** (fast atom bombardment)
- Sorgente **electrospray**
- Sorgente **MALDI** (Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization).

### Analizzatori:

- Analizzatore **magnetico**
- Analizzatore a **quadrupolo**
- Analizzatore a **trappola ionica** (ion-trap)
- Analizzatore **TOF** (time of flight - tempo di volo)

# Meccanismi di ionizzazione

- Espulsione di  $e^-$ :  $M \longrightarrow M^{+\cdot} + e^-$
- Protonazione:  $M + H^+ \longrightarrow MH^+$
- Cationizzazione:  $M + Cat^+ \longrightarrow M Cat^+$
- Deprotonazione:  $MH \longrightarrow M^- + H^+$

# Sorgenti

- Sorgente EI (impatto elettronico)
- Sorgente CI (ionizzazione chimica)

volatilizzazione

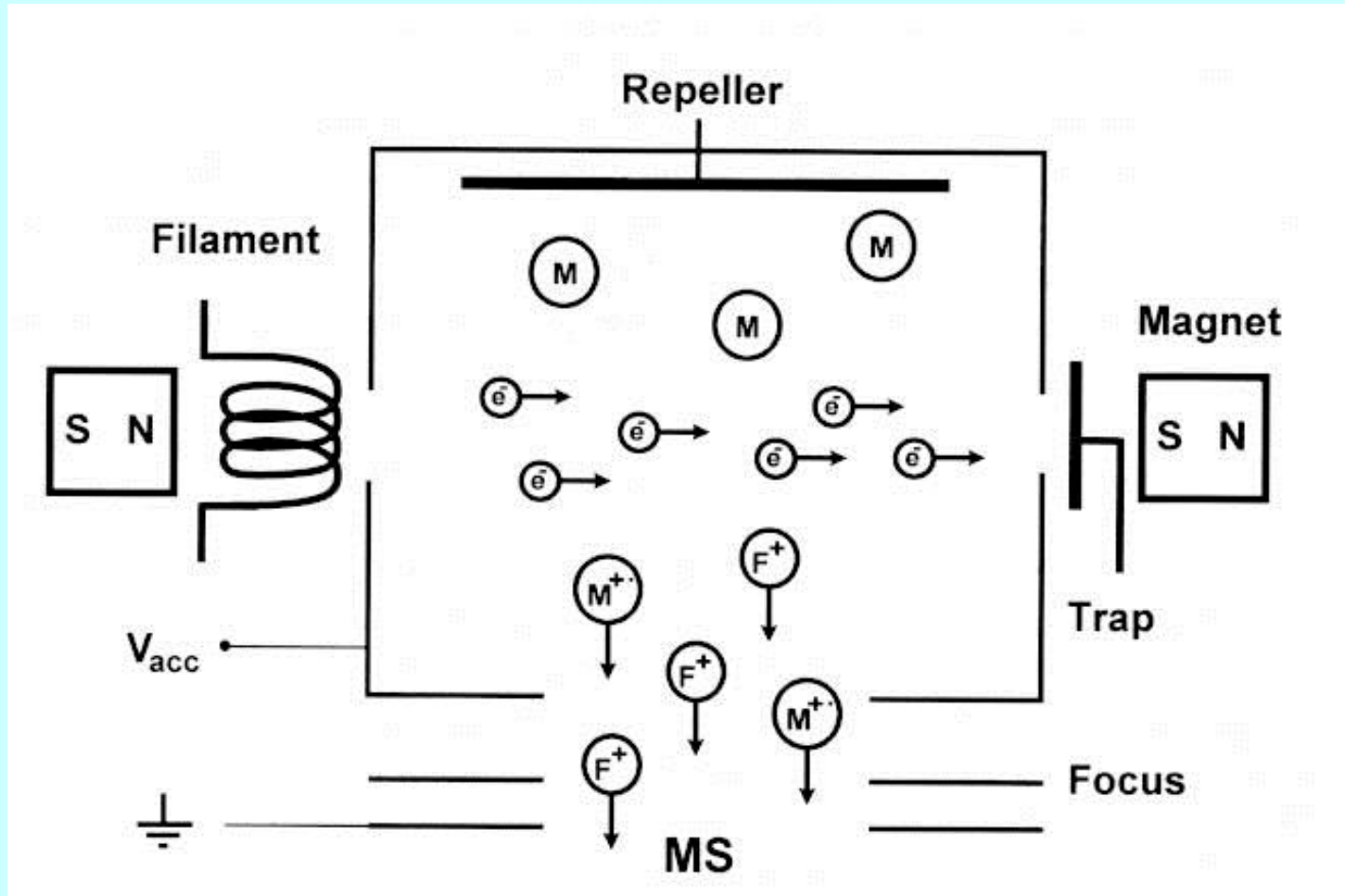
- Sorgente FAB (fast atom bombardment)
- Sorgente electrospray
- Sorgente MALDI

Senza volatilizzazione

La volatilizzazione è un grande limite per le molecole polari e con elevato peso molecolare



# Impatto elettronico EI



# Problemi con EI

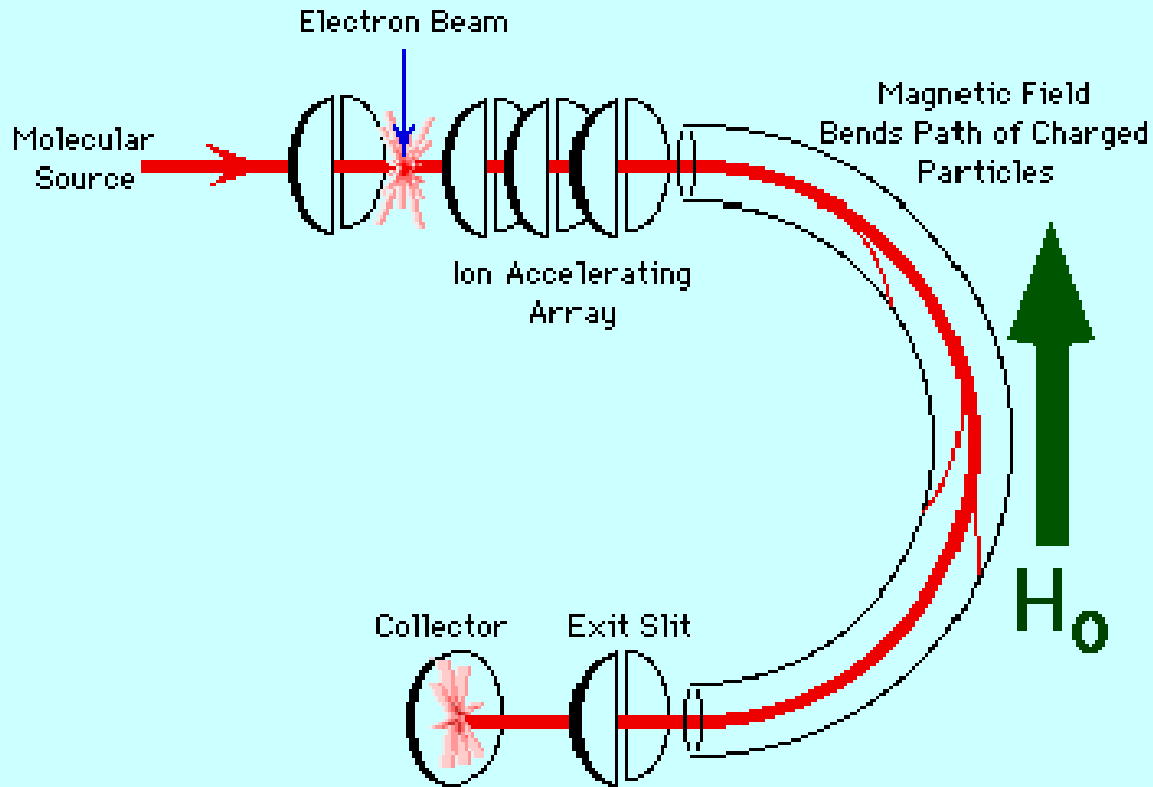
- Si produce uno ione radicale
- Lo ione molecolare può non essere visibile
- Eccessiva frammentazione
- La sostanza deve essere volatilizzata

# Gli analizzatori

## Magnetico

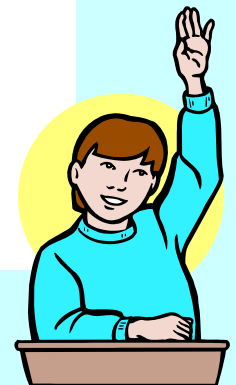
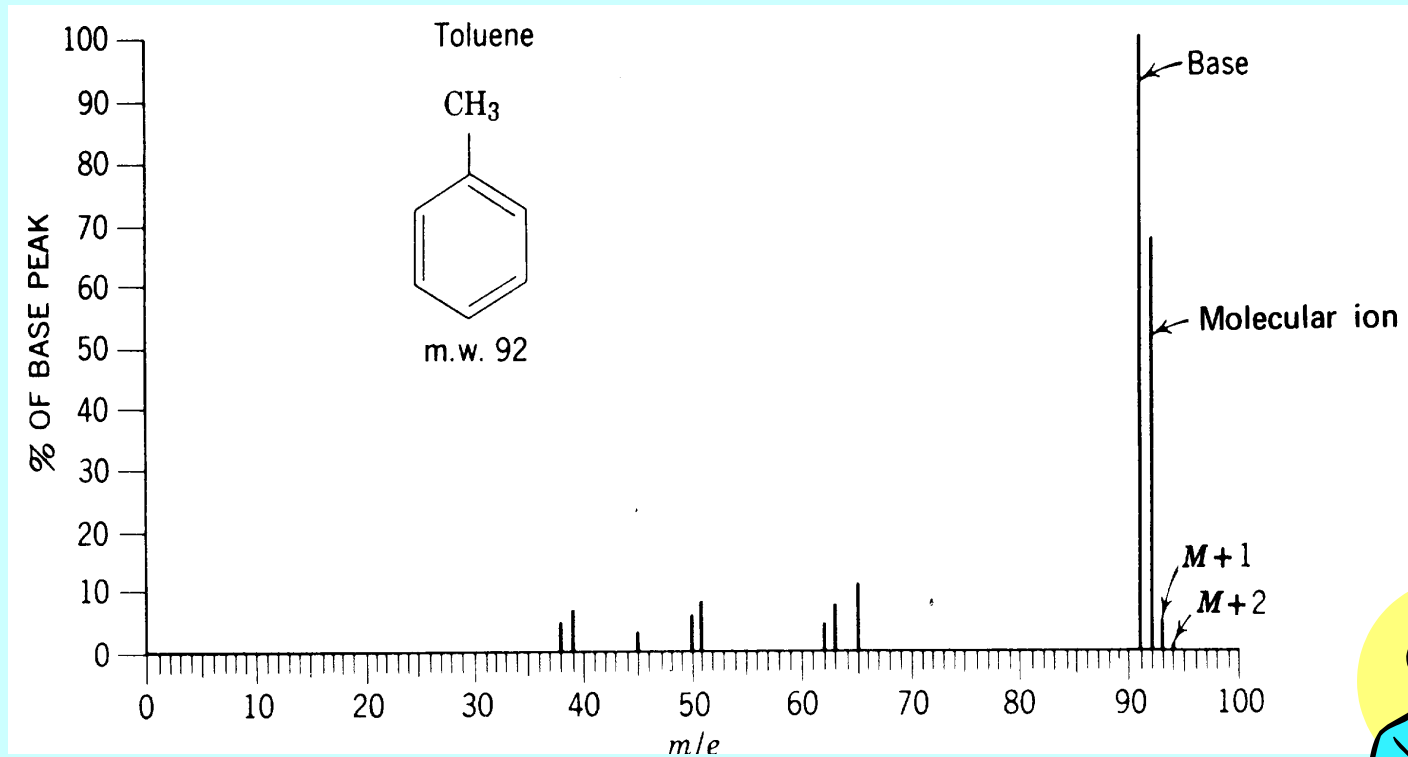
Un campo magnetico è in grado di far deviare particelle cariche in movimento, per cui gli ioni provenienti dalla sorgente possono seguire la curvatura del tubo. L'entità della deviazione dipende dall'intensità del campo magnetico, dall'energia fornita dal potenziale elettrostatico e dal rapporto  $m/z$  dello ione. In particolare per ogni valore di potenziale elettrostatico e campo magnetico, solo ioni con un ben preciso rapporto  $m/z$  riusciranno ad attraversare la fenditura posta alla fine dell'analizzatore, ed arrivare quindi al collettore di ioni, che genera un segnale elettrico dipendente dall'intensità della corrente ionica che lo colpisce.

Gli ioni sono accelerati da un intenso potenziale elettrostatico verso l'analizzatore.



# Informazioni ottenibili dalla spettrometria di massa

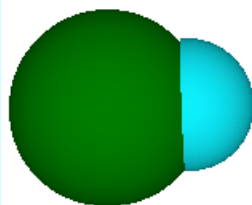
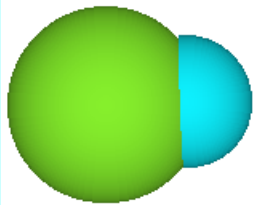
- **Peso molecolare della sostanza sotto indagine**
- **Frammentazioni**



# Lo ione molecolare

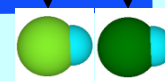
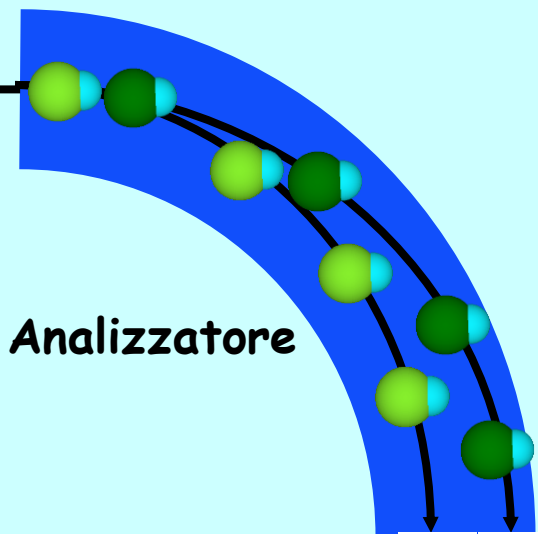
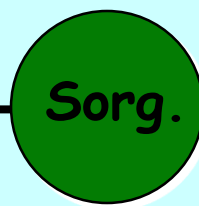
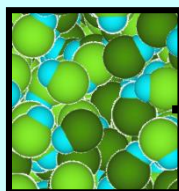
- Si indica con  $M$
- Consente di ottenere il peso molecolare della sostanza
- In alcuni casi, con apparecchi molto sofisticati, dall'analisi del suo  $m/z$  è possibile ottenere la formula molecolare
- E' sempre accompagnato da picchi di minore intensità,  $M+1$ ,  $M+2$ , denominati picchi isotopici

# Picchi isotopici: HCl

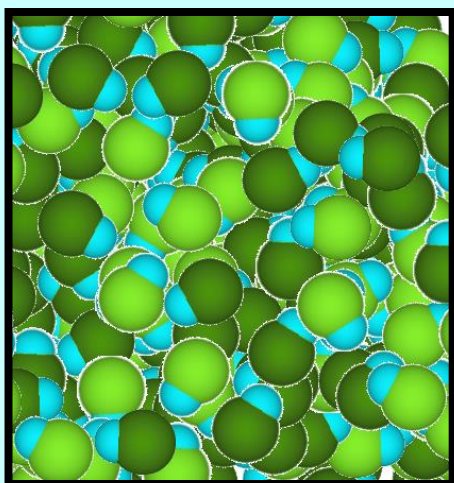


$\text{H}^{35}\text{Cl}$   
MW 36  
(75%)

$\text{H}^{37}\text{Cl}$   
MW 38  
(25%)



$m/z$  36 (75%)     $m/z$  38 (25%)

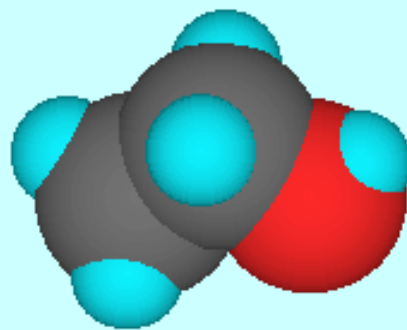


$6.02 \cdot 10^{23}$  molecole  
= 1 mol  
= 36.55 g

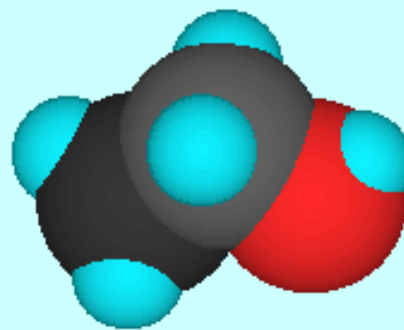
BILANCIA

MS

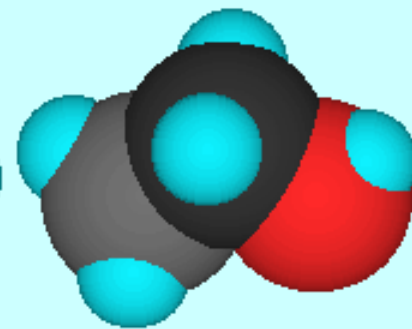
# Picchi isotopici: EtOH



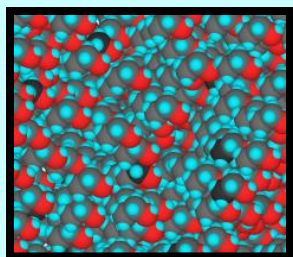
CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH  
MW 46



<sup>13</sup>CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH  
MW 47  
1.1%



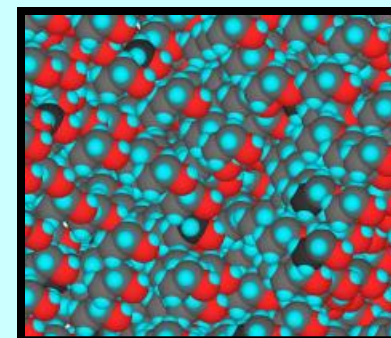
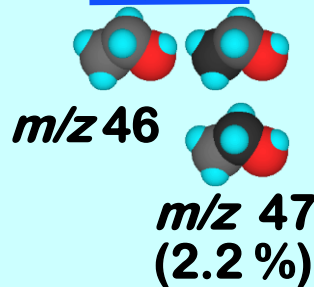
CH<sub>3</sub><sup>13</sup>CH<sub>2</sub>OH  
MW 47  
1.1%



Sorg.

MS

Analizzatore



BILANCIATA

$6.02 \cdot 10^{23}$  molecole  
= 1 mol  
= 46.07 g

# Picchi isotopici

**M+1**

$$1.1\% \bullet (\text{numero di C}) + 0.36\% \bullet (\text{numero di N})$$

**M+2**

**Cl (33% di M)**

**Br (100% di M)**

**S (4% di M)**

Table I. Exact Masses of Isotopes

Element	Atomic Weight	Nuclide	Mass
Hydrogen	1.00797	<sup>1</sup> H	1.00783
		D ( <sup>2</sup> H)	2.01410
Carbon	12.01115	<sup>12</sup> C	12.00000 (std)
		<sup>13</sup> C	13.00336
Nitrogen	14.0067	<sup>14</sup> N	14.0031
		<sup>15</sup> N	15.0001
Oxygen	15.9994	<sup>16</sup> O	15.9949
		<sup>17</sup> O	16.9991
		<sup>18</sup> O	17.9992
Fluorine	18.9984	<sup>19</sup> F	18.9984
Silicon	28.086	<sup>28</sup> Si	27.9769
		<sup>29</sup> Si	28.9765
		<sup>30</sup> Si	29.9738
		<sup>31</sup> P	30.9738
Phosphorus	30.974	<sup>32</sup> S	31.9721
		<sup>33</sup> S	32.9715
		<sup>34</sup> S	33.9679
		<sup>35</sup> Cl	34.9689
Sulfur	32.064	<sup>37</sup> Cl	36.9659
		<sup>79</sup> Br	78.9183
Chlorine	35.453	<sup>81</sup> Br	80.9163
		<sup>127</sup> I	126.9045
Bromine	79.909		
Iodine	126.904		

$$\%(M + 1) = \left[ (1.1 \cdot \text{numero atomi di C}) + (0.38 \cdot \text{numero atomi di N}) \right]$$

$$\%(M + 2) = \left[ \left( \frac{(1.1 \cdot \text{numero atomi di C})^2}{200} \right) + (0.2 \cdot \text{numero atomi di O}) \right]$$

### Isotopic Abundance Calculator

C  H  N  O  S  Si

Molecular Ion  
100%

M + 1

M + 2




### Isotopic Abundance Calculator

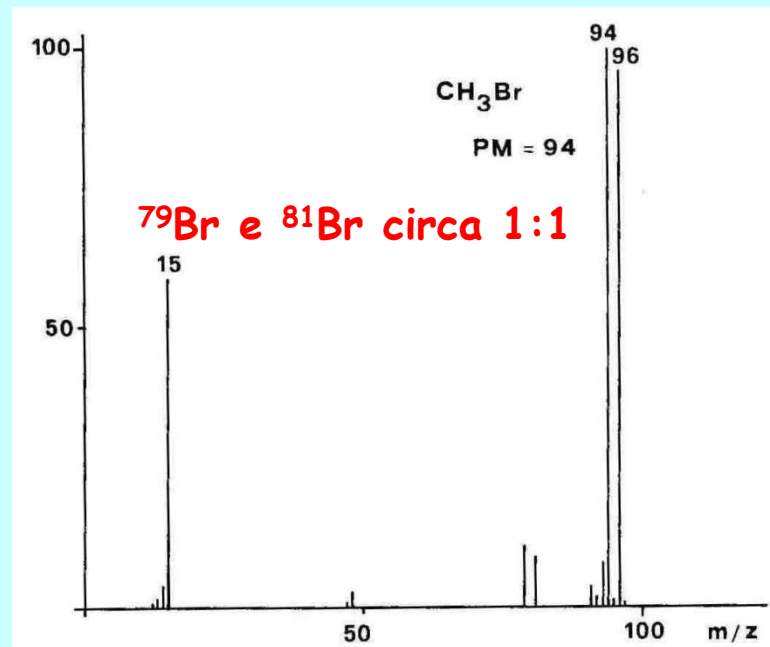
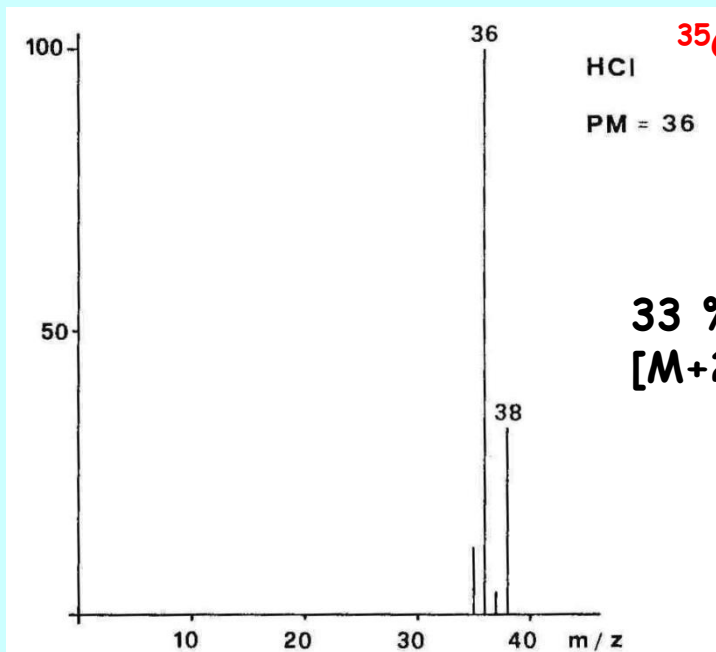
C  H  N  O  S  Si

Molecular Ion  
100%

M + 1

M + 2

# Picchi isotopici: composti polialogenati



$$(a + b)^n$$

- a** = % abbondanza naturale isotopo più leggero
- b** = % abbondanza naturale isotopo più pesante
- n** = numero di atomi di alogeno presenti nella molecola

# Picchi isotopici: composti polialogenati

Supponiamo di avere una molecola con 2 atomi di cloro:

$a$  = % abbondanza naturale isotopo più leggero

$$100 / (100 + 32,5) = 0,754$$

$b$  = % abbondanza naturale isotopo più pesante

$$32,5 / (100 + 32,5) = 0,245$$

$$(a + b)^n = a^2 + 2ab + b^2$$

$$0,754^2 + 2 \times 0,754 \times 0,245 + 0,245^2 = 0,568 + 0,371 + 0,060$$

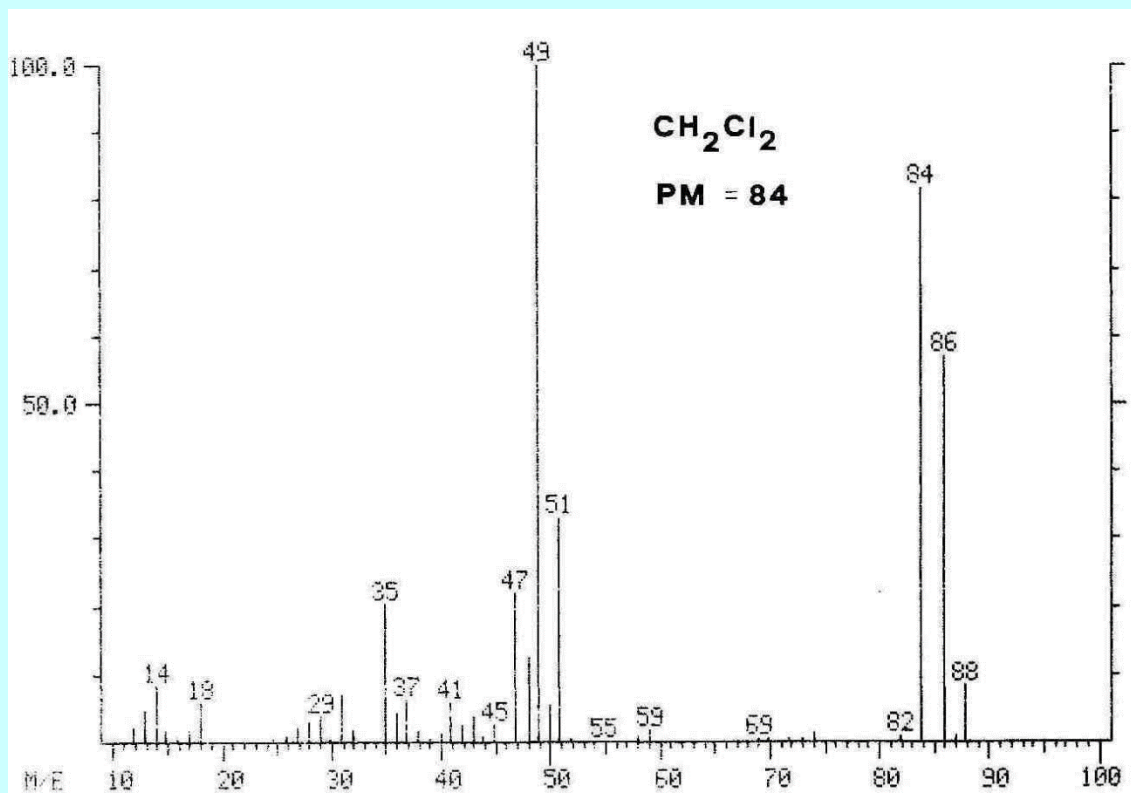
Abbondanza relativa  
35Cl 100%  
37Cl 32,5%

$$0,568 + 0,371 + 0,060$$
$$100 + 65,32 + 10,56$$

Normalizzando rispetto al numero più alto

M+2 (un cloro ha massa 37),  
M+4 (entrambi i clori hanno massa 37).

$$100 + 65,32 + 10,56$$



Se sono presenti bromo e cloro insieme l'espressione per il calcolo delle intensità dei picchi isotopici diventa:

$$(a + b)^n (c + d)^r$$

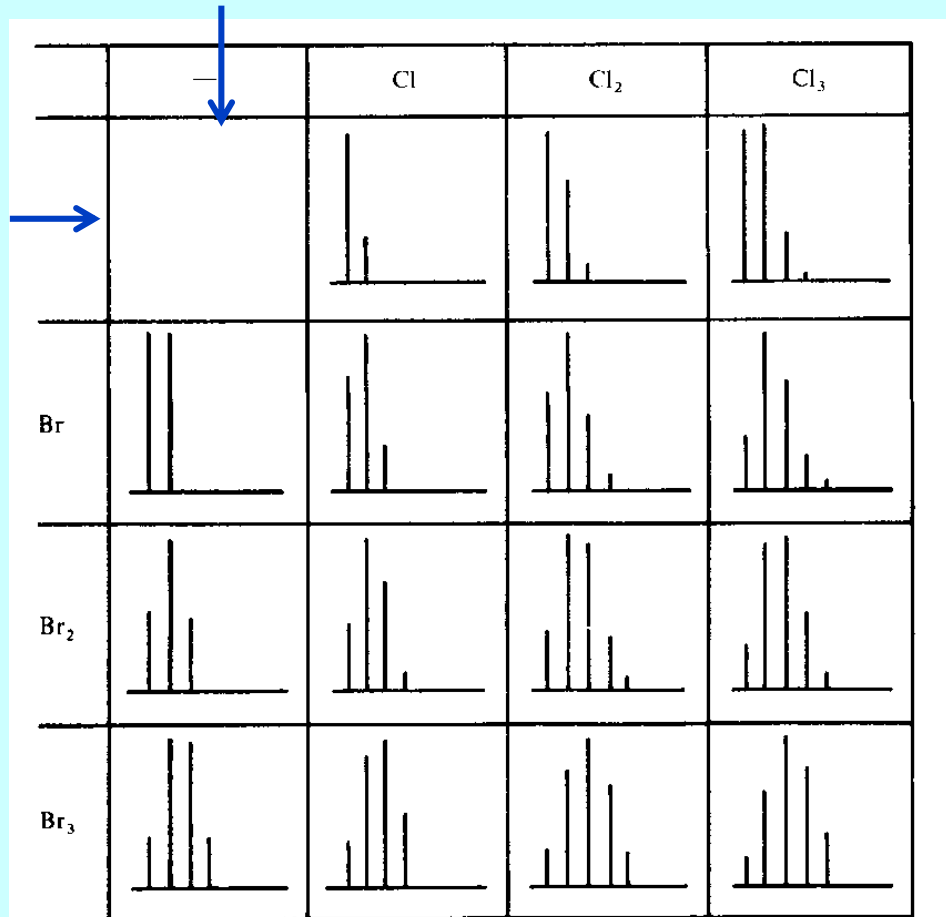
a, b, c e d = abbondanze percentuale di  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{37}\text{Cl}$ ,  $^{79}\text{Br}$  e  $^{81}\text{Br}$

b = abbondanza naturale percentuale dell'isotopo più pesante

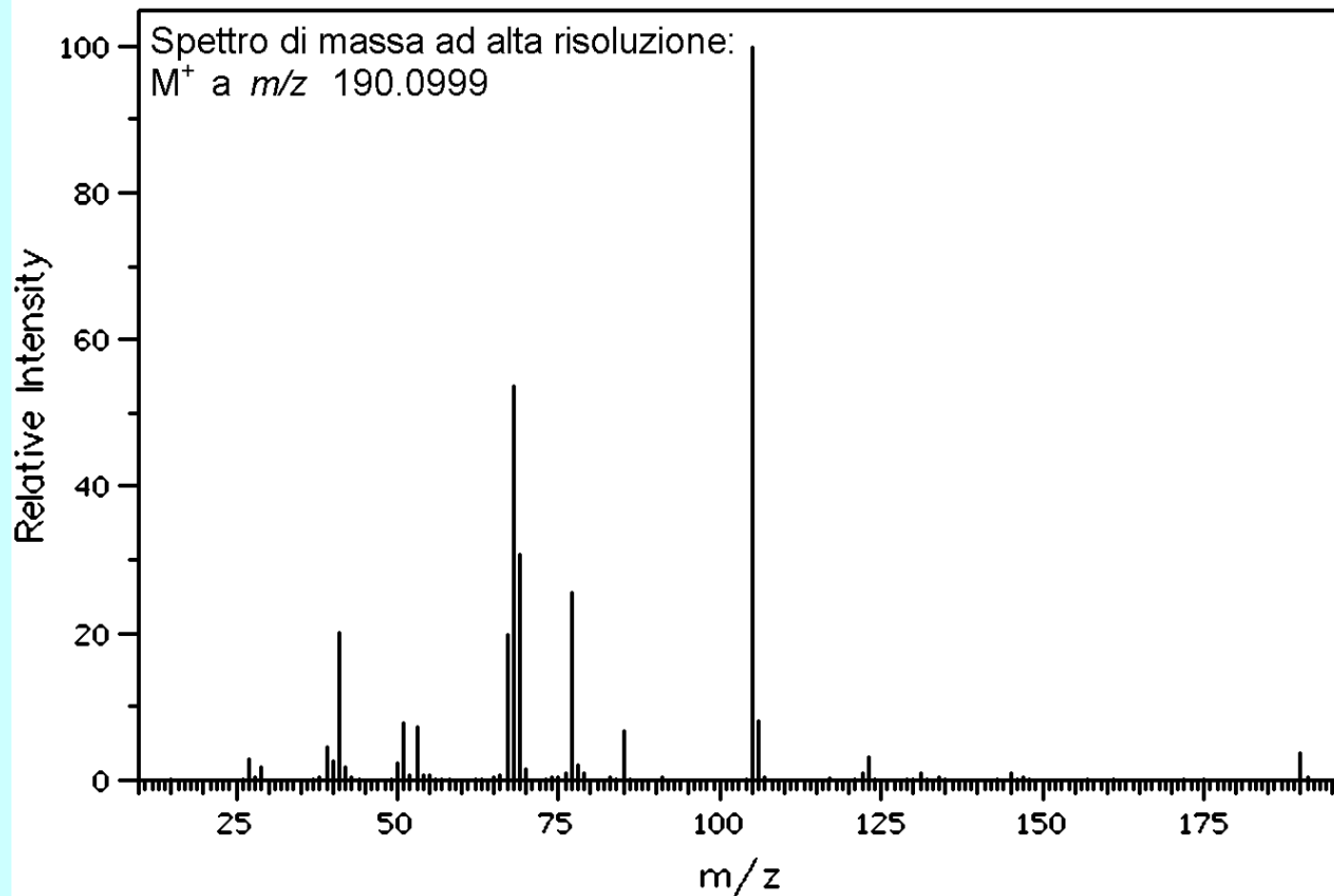
n e r = numero di atomi di cloro e bromo

Solo atomi di bromo

Solo atomi di cloro

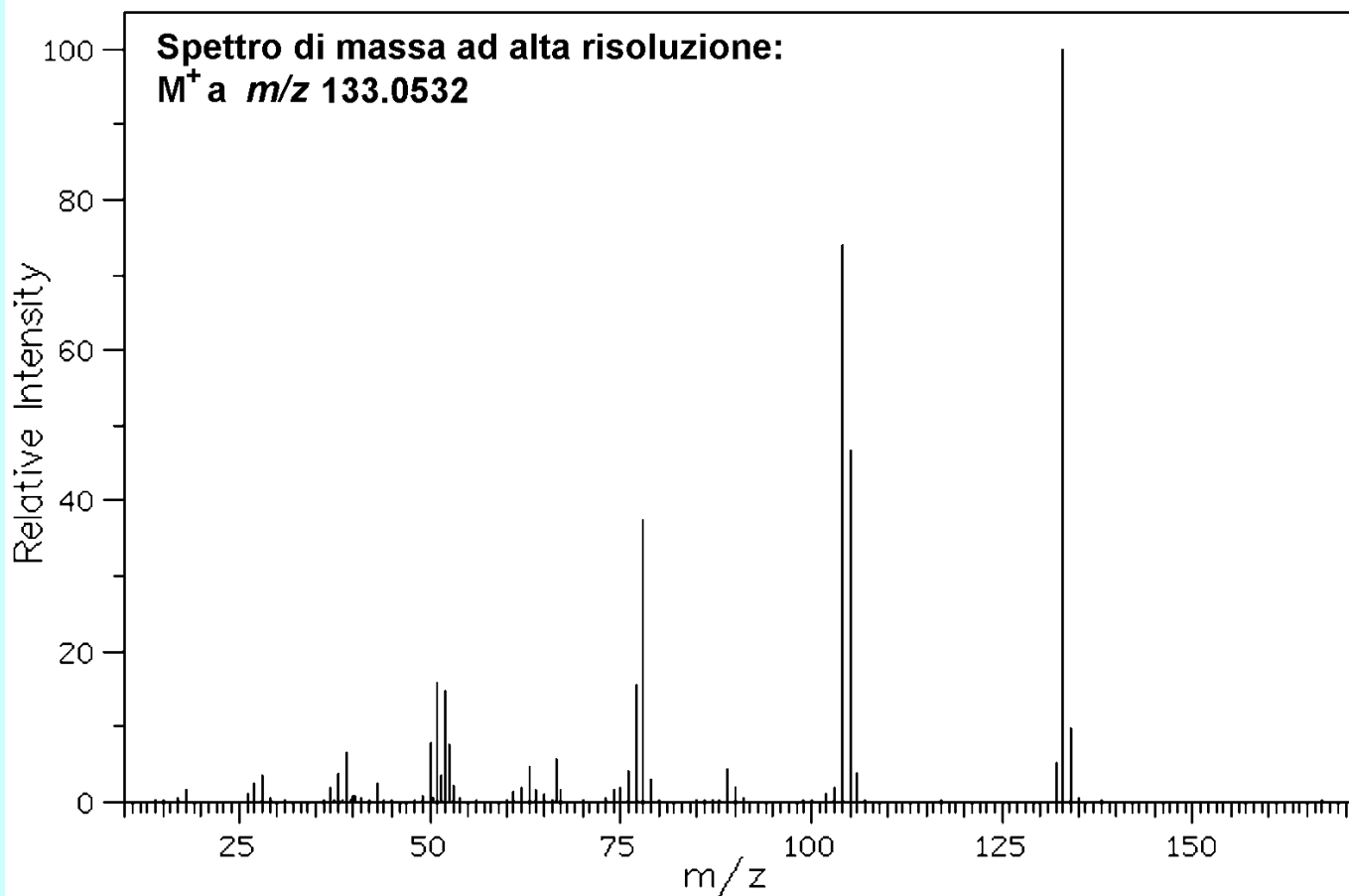


Cloro e bromo  
insieme



Spettro di massa EI

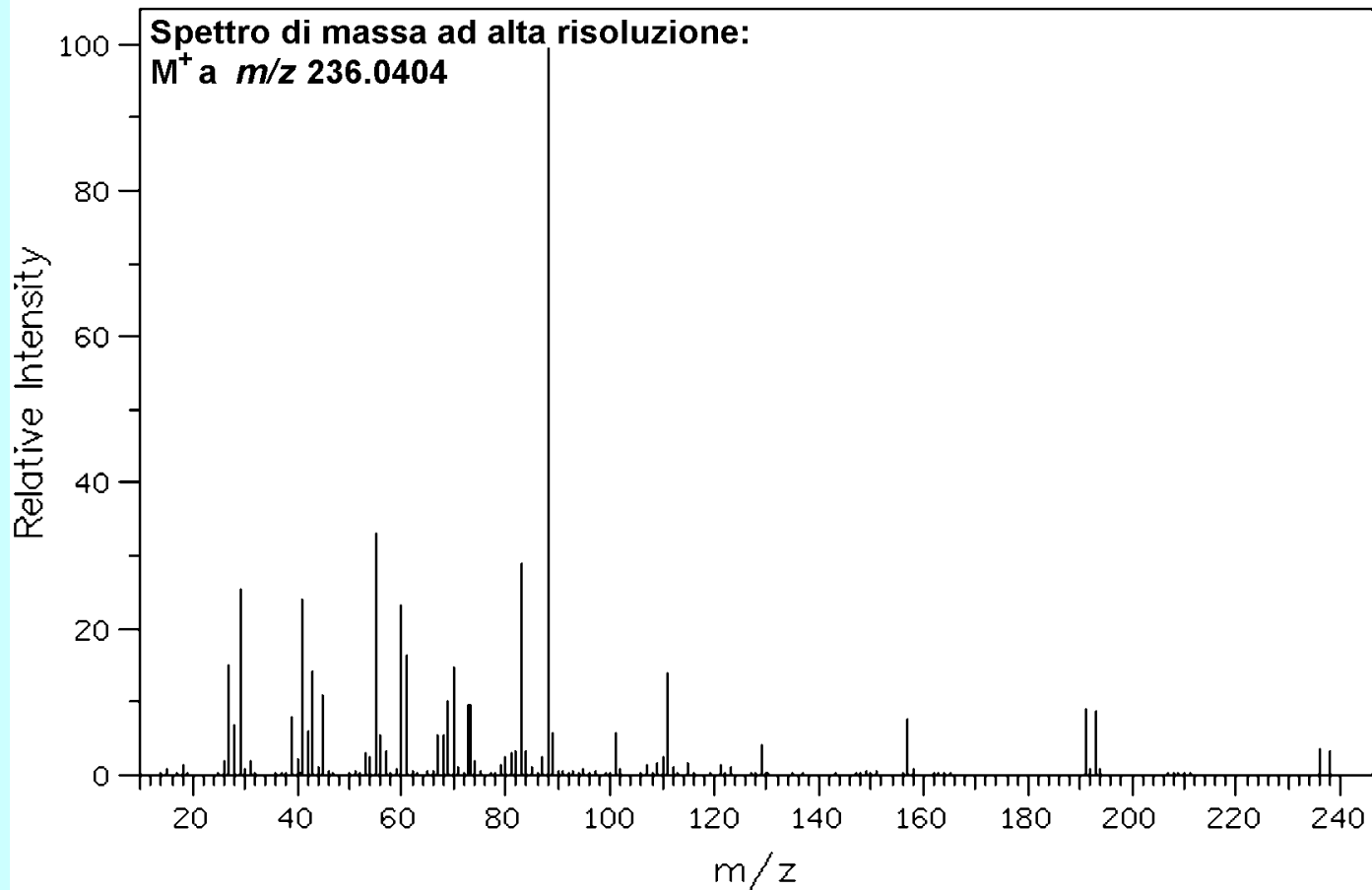
190	
C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	190.0954
C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	190.1193
C <sub>7</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	190.1431
C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	190.0491
C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>4</sub>	190.1080
C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	190.1318
C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	190.1557
C <sub>8</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O	190.1795
C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	190.0617
C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O	190.0856
C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	190.1205
C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>3</sub>	190.1444
C <sub>9</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	190.1682
C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>3</sub>	190.0504
C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	190.0743
C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O	190.0981
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub>	190.1220
C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	190.1569
C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	190.0630
C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>2</sub>	190.0868
C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O	190.1107
C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub>	190.1346
<b>C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>190.0994</b>
C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> NO	190.1233
C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub>	190.1471
C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O	190.1358
C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N	190.1597
C <sub>14</sub> H <sub>22</sub>	190.1722
C <sub>15</sub> H <sub>10</sub>	190.0783



**133**

$C_3H_5N_2O_4$	133.0249
$C_3H_7N_3O_3$	133.0488
$C_3H_9N_4O_2$	133.0726
$C_4H_7NO_4$	133.0375
$C_4H_9N_2O_3$	133.0614
$C_4H_{11}N_3O_2$	133.0852
$C_4H_{13}N_4O$	133.1091
$C_5H_9O_4$	133.0501
$C_5H_{11}NO_3$	133.0739
$C_5H_{13}N_2O_2$	133.0978
$C_5H_{15}N_3O$	133.1216
$C_6H_5N_4$	133.0515
$C_6H_{13}O_3$	133.0865
$C_6H_{15}NO_2$	133.1103
$C_7H_5N_2O$	133.0402
$C_7H_7N_3$	133.0641
$C_8H_7NO$	133.0528
$C_8H_9N_2$	133.0767
$C_9H_9O$	133.0653
$C_9H_{11}N$	133.0892
$C_{10}H_{13}$	133.1018

**Regola dell'azoto!!!**



$$M - {}^{79}\text{Br} = 236.0404 - 78.9183 = 157.1221$$

Element	Nuclide	Mass	Element	Nuclide	Mass	Element	Nuclide	Mass
Hydrogen	${}^1\text{H}$	1.00783	Oxygen	${}^{16}\text{O}$	15.9949	Sulfur	${}^{32}\text{S}$	31.9721
	$\text{D}({}^2\text{H})$	2.01410		${}^{17}\text{O}$	16.9991		${}^{33}\text{S}$	32.9715
Carbon	${}^{12}\text{C}$	12.00000 (std)		${}^{18}\text{O}$	17.9992		${}^{34}\text{S}$	33.9679
	${}^{13}\text{C}$	13.00336	Fluorine	${}^{19}\text{F}$	18.9984	Chlorine	${}^{35}\text{Cl}$	34.9689
Nitrogen	${}^{14}\text{N}$	14.0031	Silicon	${}^{28}\text{Si}$	27.9769		${}^{37}\text{Cl}$	36.9659
	${}^{15}\text{N}$	15.0001		${}^{29}\text{Si}$	28.9765	Bromine	${}^{79}\text{Br}$	78.9183
		${}^{30}\text{Si}$		29.9738	${}^{81}\text{Br}$		80.9163	
		Phosphorus	${}^{31}\text{P}$	30.9738	Iodine	${}^{127}\text{I}$	126.9045	

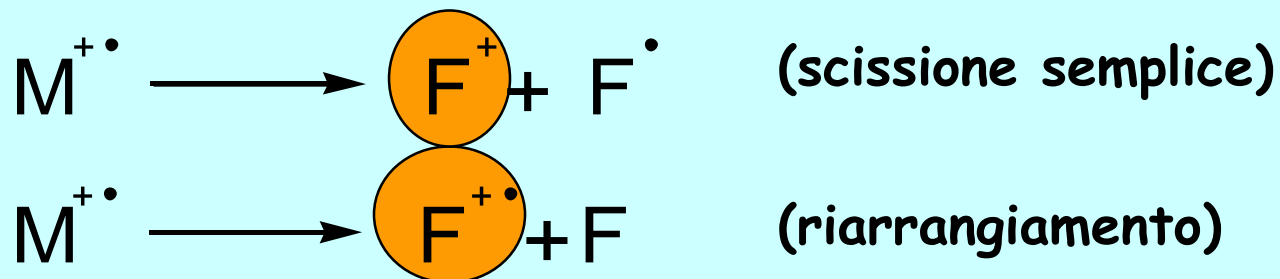
**157**

$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_4$	157.0249
$\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3$	157.0488
$\text{C}_5\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2$	157.0726
$\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_4$	157.0375
$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3$	157.0614
$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2$	157.0852
$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}$	157.1091
$\text{C}_7\text{H}_9\text{O}_4$	157.0501
$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_3$	157.0739
$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2$	157.0978
$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$	157.1216
$\text{C}_7\text{H}_{17}\text{N}_4$	157.1455
$\text{C}_8\text{H}_5\text{N}_4$	157.0515
$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_3$	157.0865
$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2$	157.1103
$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$	157.1342
$\text{C}_8\text{H}_{19}\text{N}_3$	157.1580
$\text{C}_9\text{H}_5\text{N}_2\text{O}$	157.0402
$\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_3$	157.0641
$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{O}_2$	157.1229
$\text{C}_9\text{H}_{19}\text{NO}$	157.1467
$\text{C}_9\text{H}_{21}\text{N}_2$	157.1706
$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}$	157.0528
$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_2$	157.0767
$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}$	157.1593
$\text{C}_{10}\text{H}_{23}\text{N}$	157.1832
$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}$	157.0653
$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}$	157.0892
$\text{C}_{12}\text{H}_{13}$	157.1018

**Le frammentazioni**

# Frammentazioni

Due grandi classi di frammentazioni:

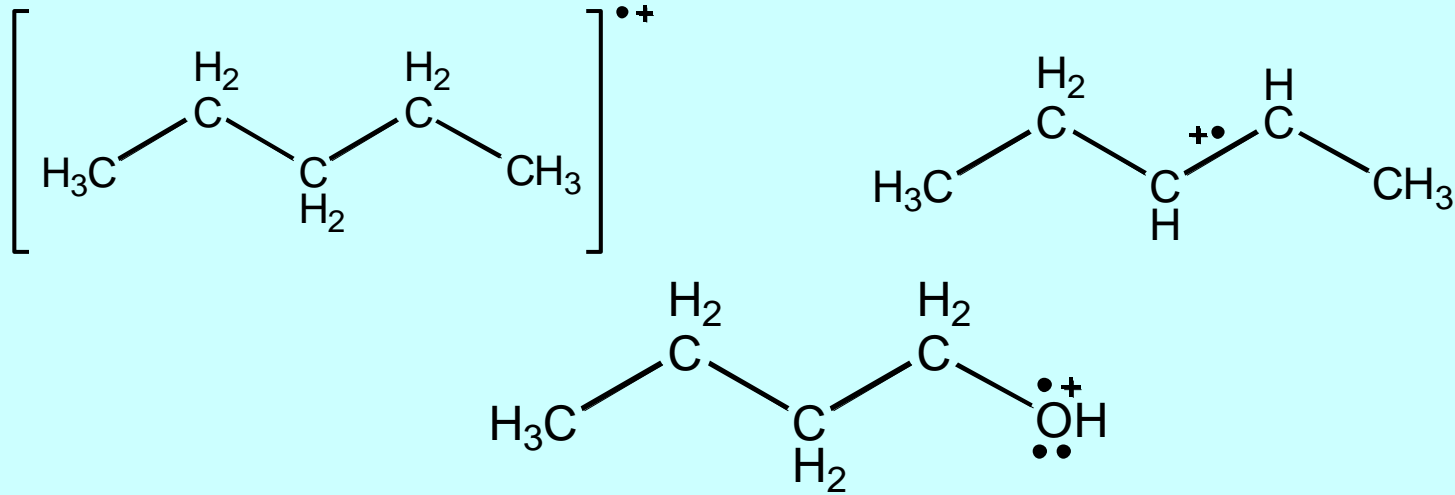


Sono favorite le frammentazioni che portano a frammenti stabili.

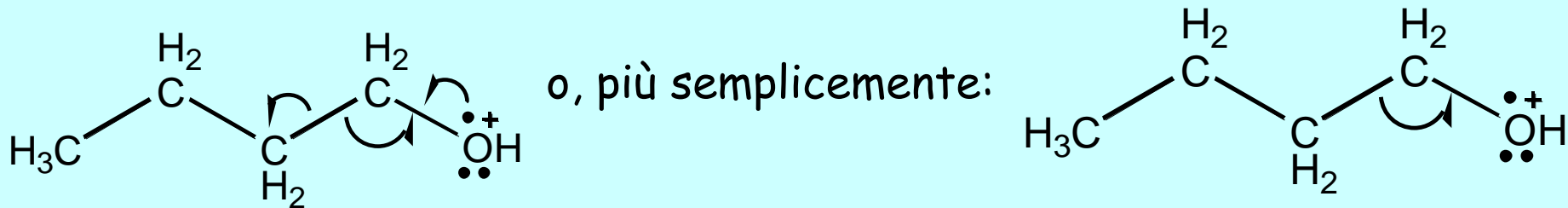
Con la spettrometria di massa è possibile rivelare solo i frammenti carichi

# Frammentazioni

La sorgente ad impatto elettronico produce ioni-radicali.

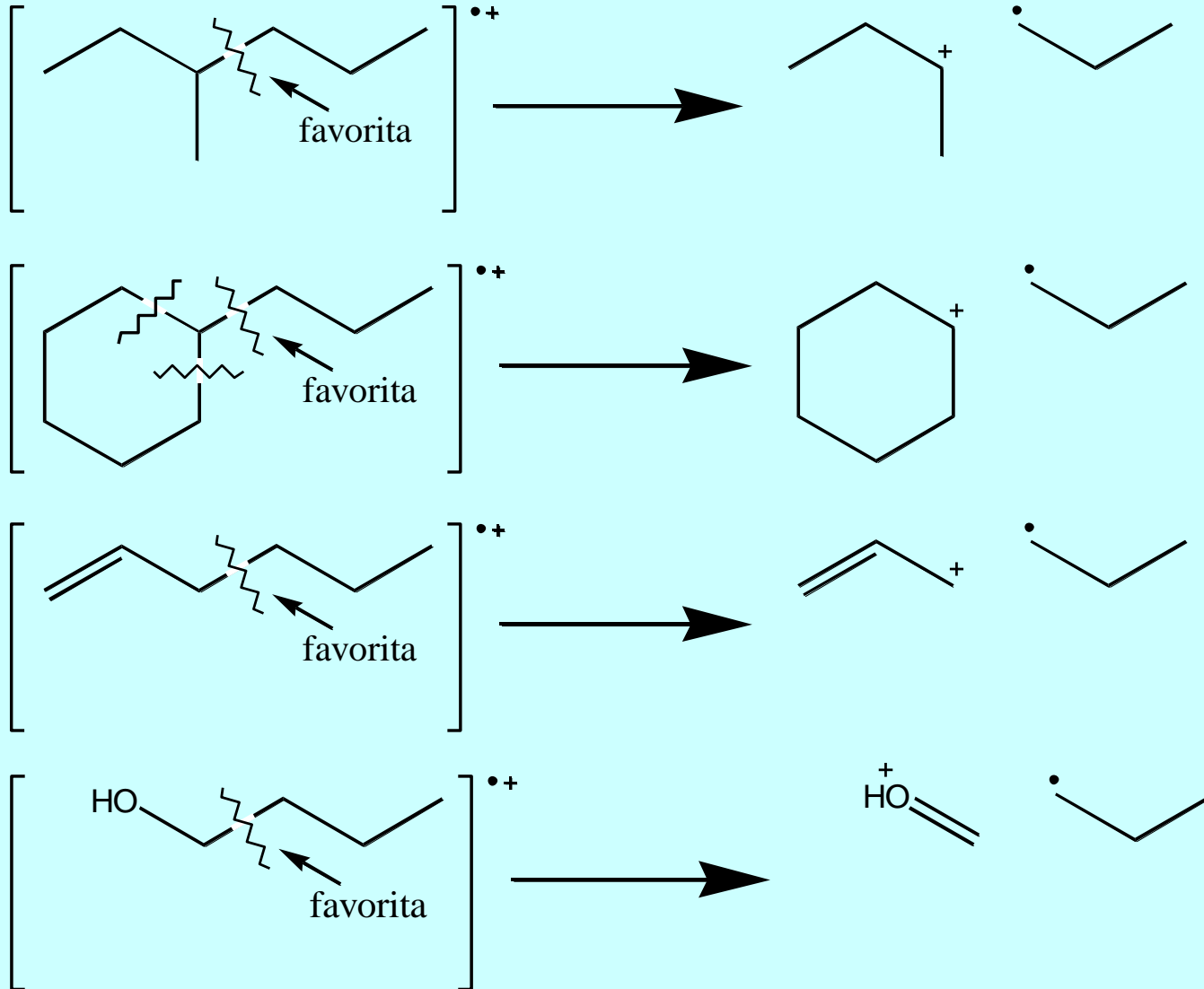


Gli ioni radicali sono generalmente molto instabili, e possono frammentare. La rottura più probabile è quella omolitica



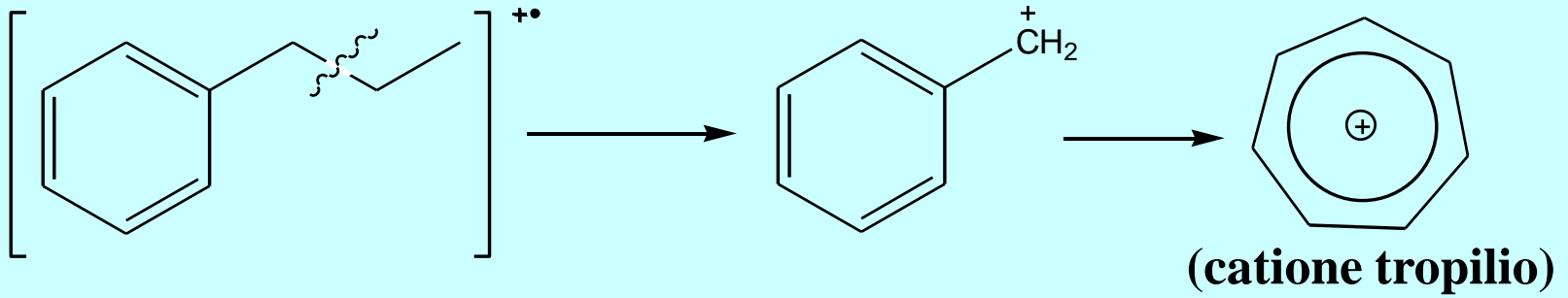
# Frammentazioni

Frammentazioni semplici favorite:  $\alpha$ -scissione con formazione di carbocationi allilici, benzilici, secondari o terziari e ioni ossonio

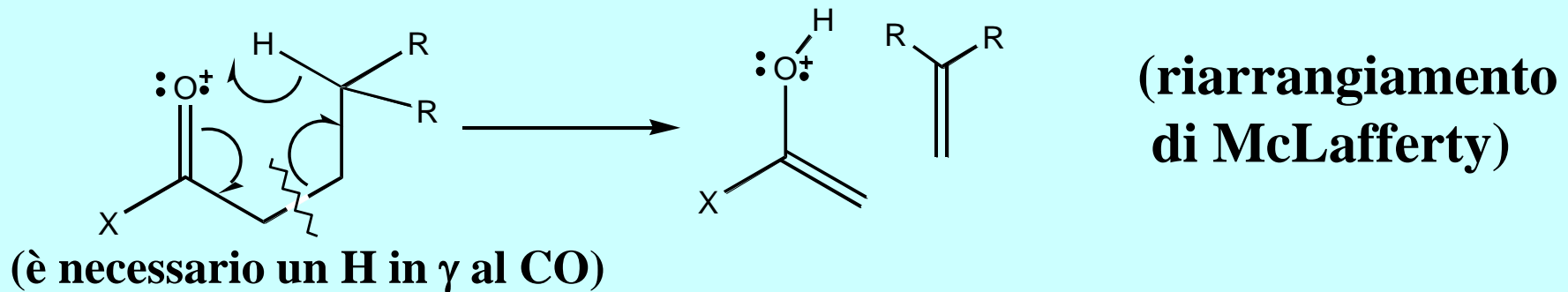
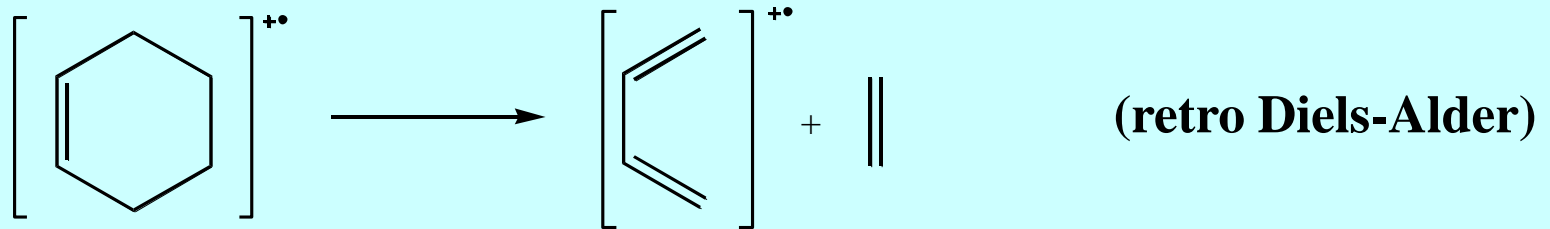


# Frammentazioni

**Frammentazioni semplici favorite (segue):**

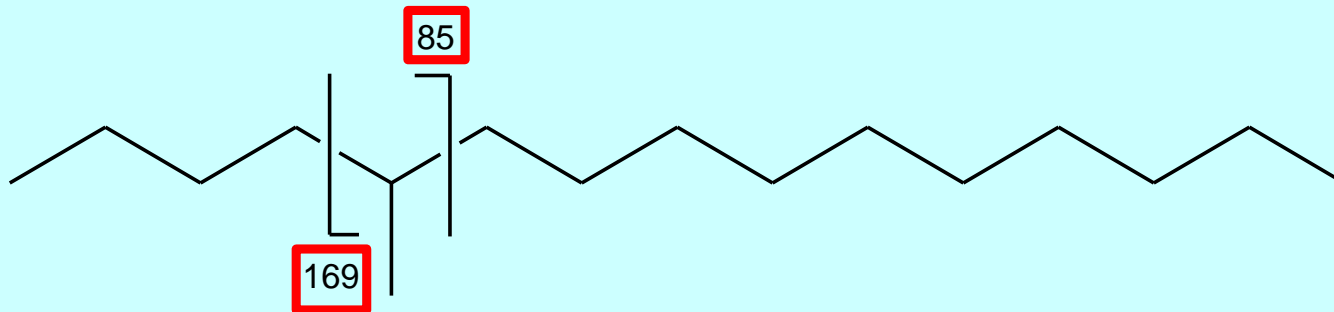
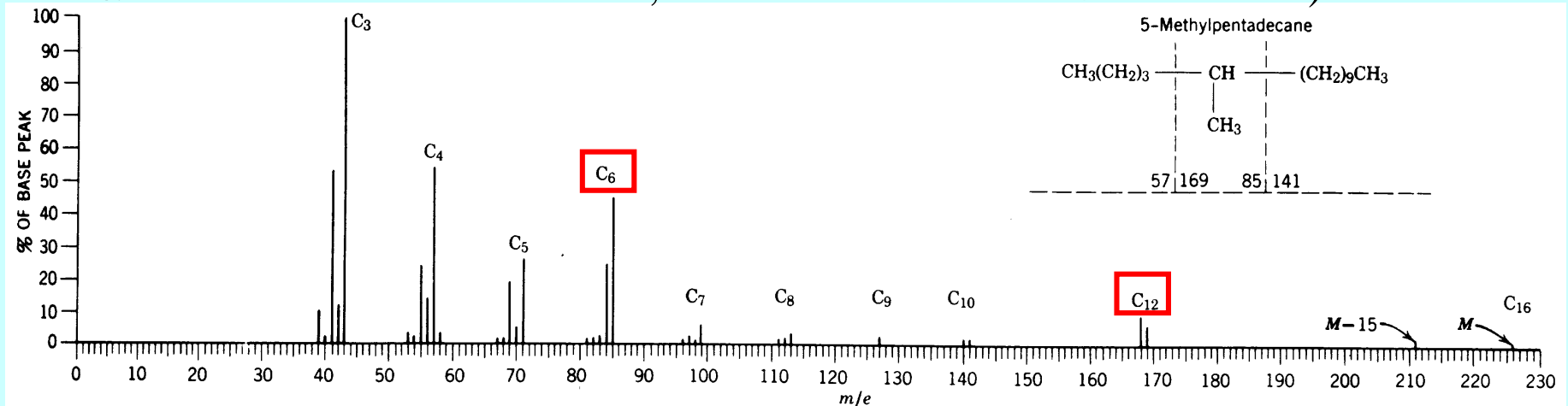


**Riarrangiamenti:**



# Alcani

- negli alcani ramificati le intensità presentano una discontinuità (la scissione in  $\alpha$  alla ramificazione è favorita, e la carica rimane sul C secondario)

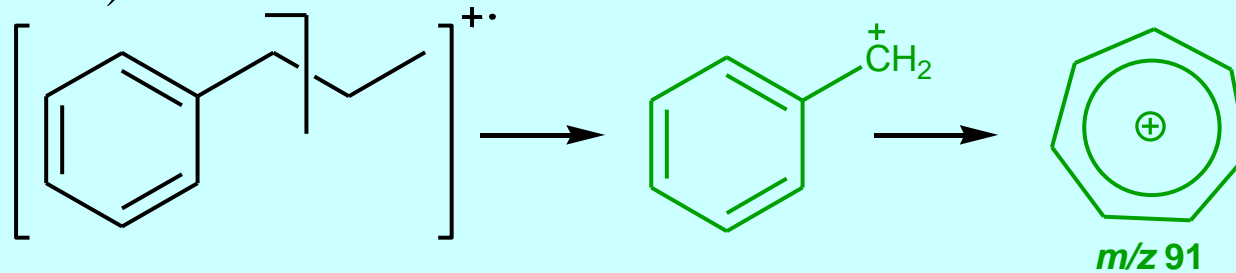


# Alcheni

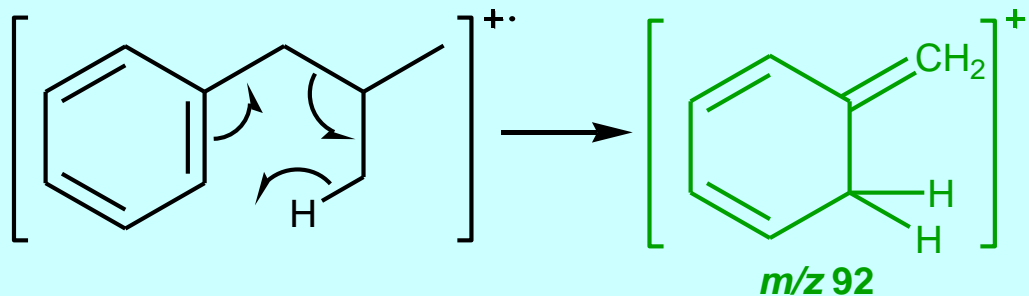
- ione molecolare è generalmente ben visibile
- facile migrazione del doppio legame: difficile localizzare la posizione del doppio legame

# Idrocarburi aromatici

- ione molecolare intenso
- alchilbenzeni: ione tropilio a  $m/z$  91 (anche  $m/z$  105, 119, ecc, se ci sono  $\alpha$ -ramificazioni)



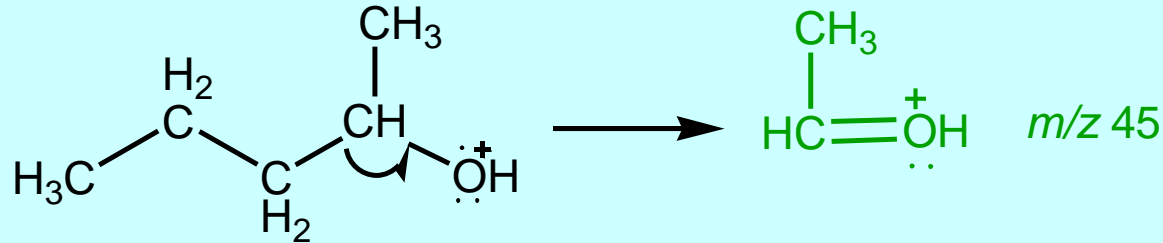
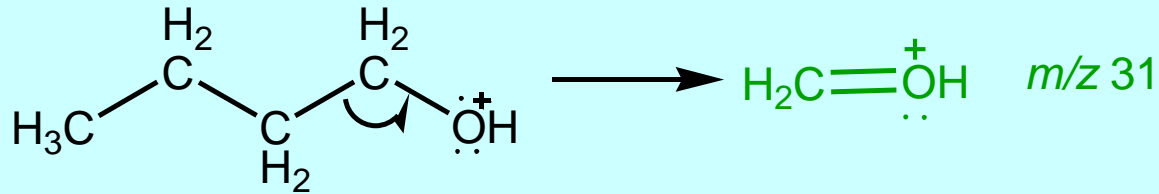
- picco a  $m/z$  92 se la catena alchilica è almeno  $\text{C}_3$  (riarrangiamento tipo McLafferty)



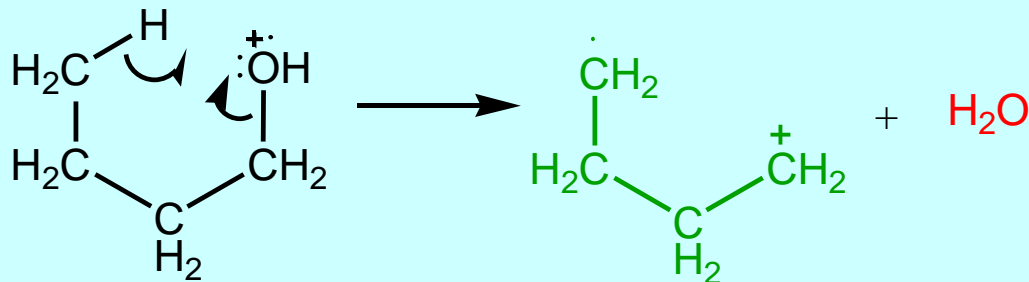
- cluster di picchi a  $m/z$  77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ ), 78 ( $\text{C}_6\text{H}_6^+$ ), e 79 ( $\text{C}_6\text{H}_7^+$ ).

# Alcoli alifatici

- ione molecolare è sempre molto debole o assente
- primari:  $m/z$  31, alcoli secondari:  $m/z$  45, 59, 73, ecc., alcoli terziari:  $m/z$  59, 73, 81, ecc. (rottura del legame in  $\alpha, \beta$  rispetto all'OH)

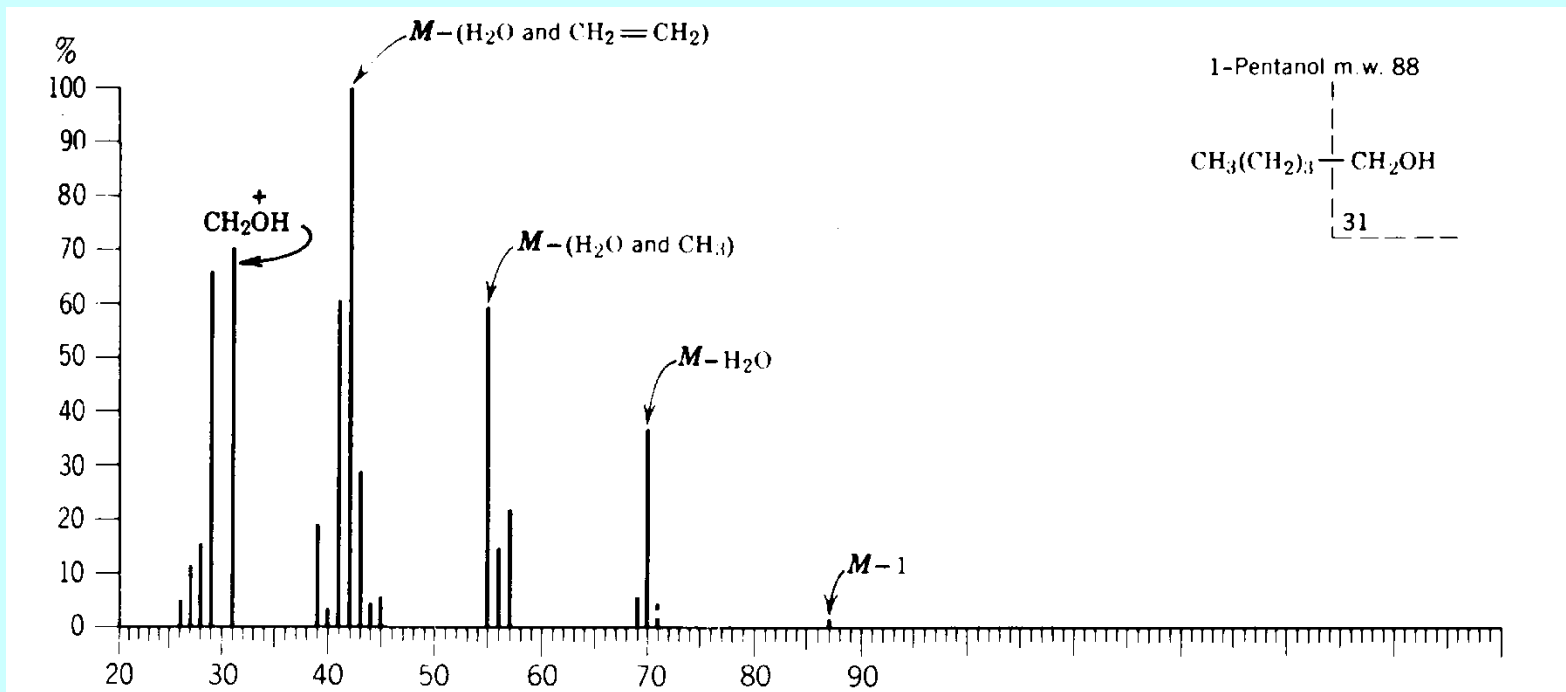
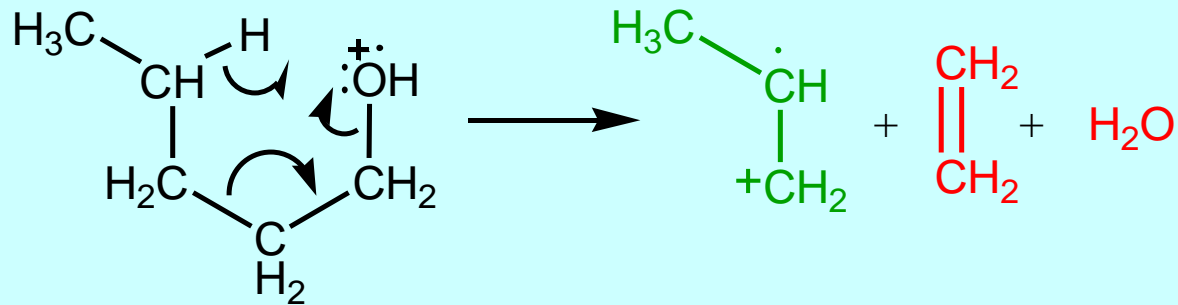


- ione  $M-1$ , e anche ioni  $M-2$  e  $M-3$
- importante picco  $M-18$  (perdita di acqua)

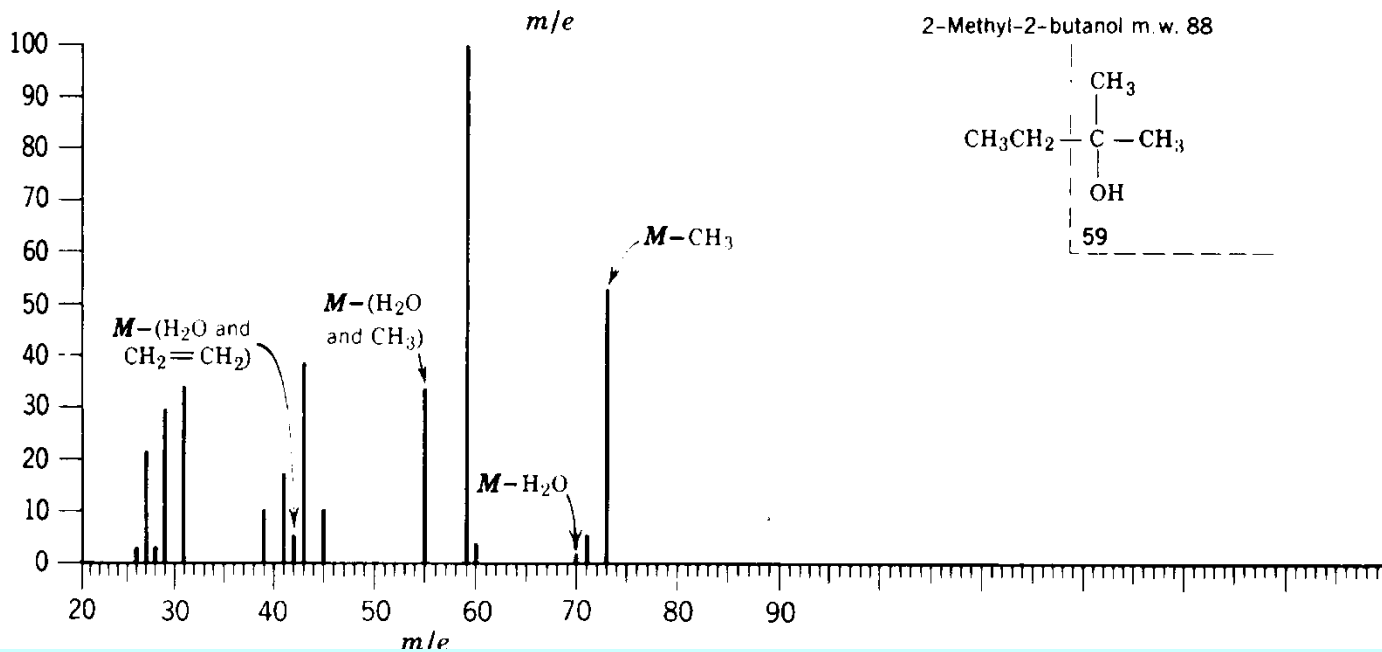
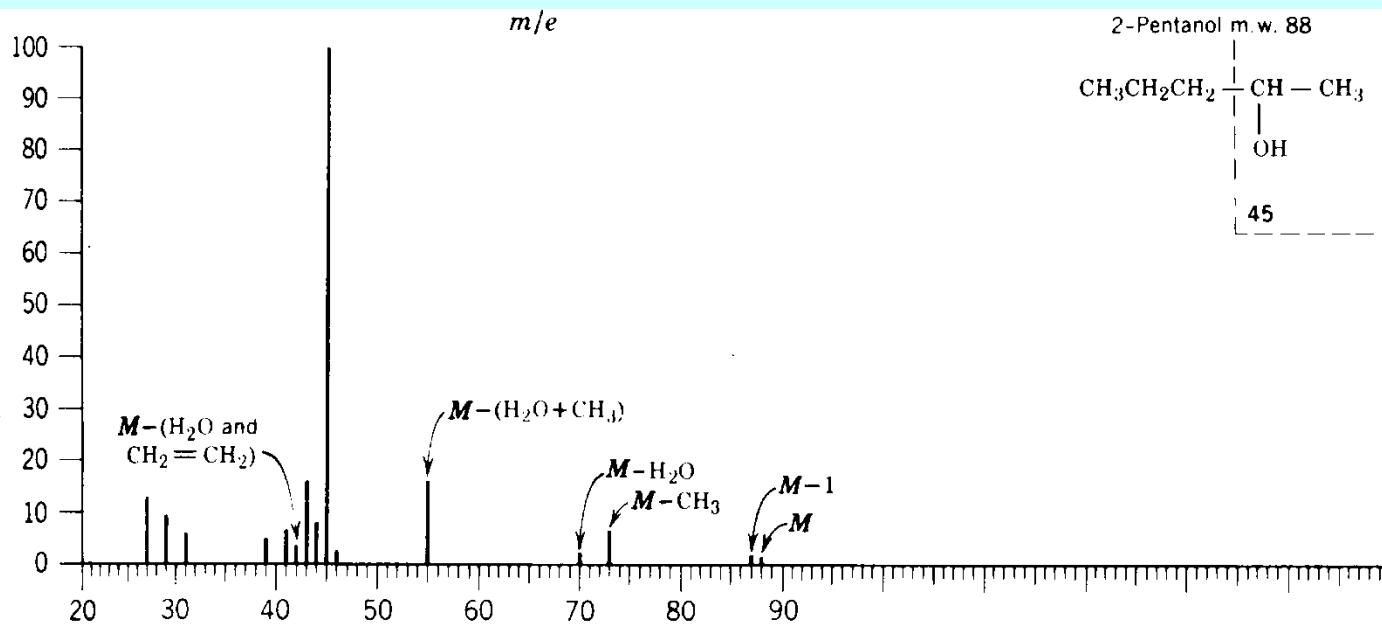


# Alcoli alifatici

- anche  $M-H_2O$ -alchene e  $M-H_2O$ -alchene-alchene.

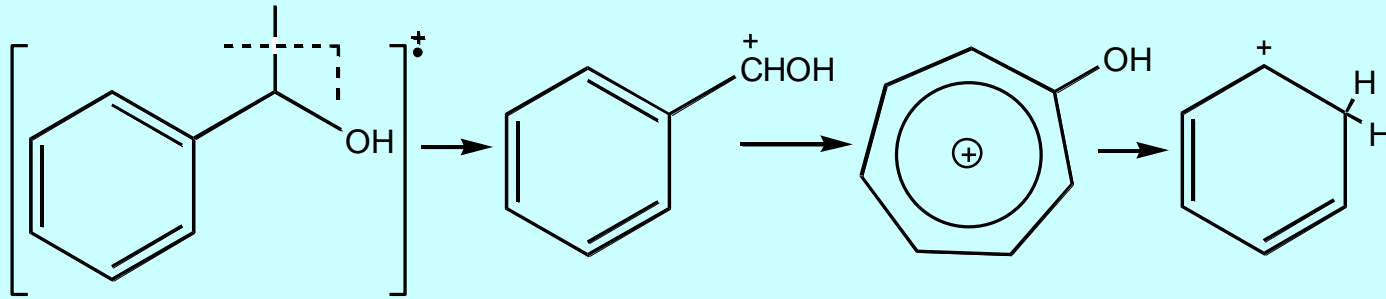


# Alcoli alifatici



# Alcoli benzilici

- tipico picco a  $m/z$  107, ione idrossitropilio, che poi perde CO ( $m/z$  79).

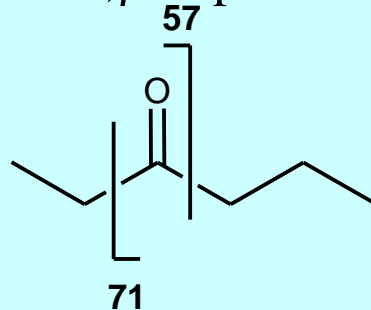


# Fenoli

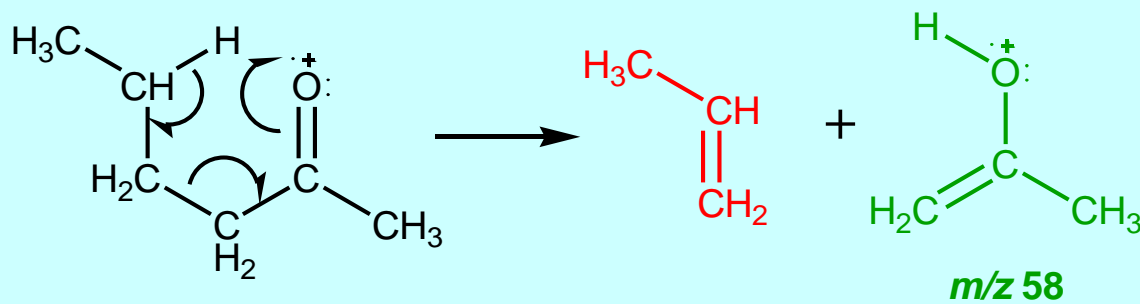
- Perdita di CO e poi H per dare picchi a M-28 e M-29.

# Chetoni

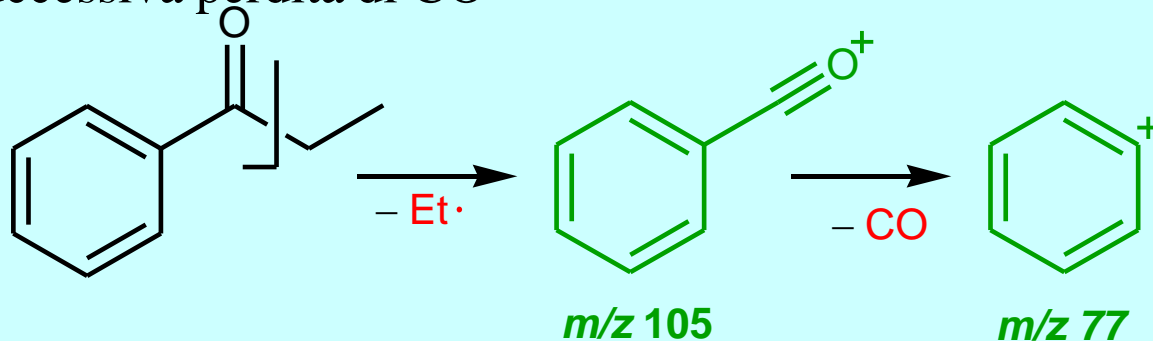
- frammentazione C-CO (rottura del legame  $\alpha,\beta$  rispetto ad un ossigeno)  $m/z$  57, 71, 85, ecc: uguali a quelli degli alcani!).



- riarrangiamento di McLafferty:  $m/z$  58 (metilchetoni), o 72 (etilchetoni), o 86, o 100, ecc.).

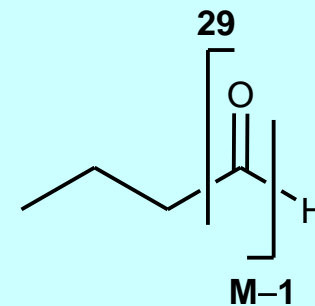


- chetoni aromatici: frammentazione molto favorita C-CO con perdita del radicale alchilico, e successiva perdita di CO

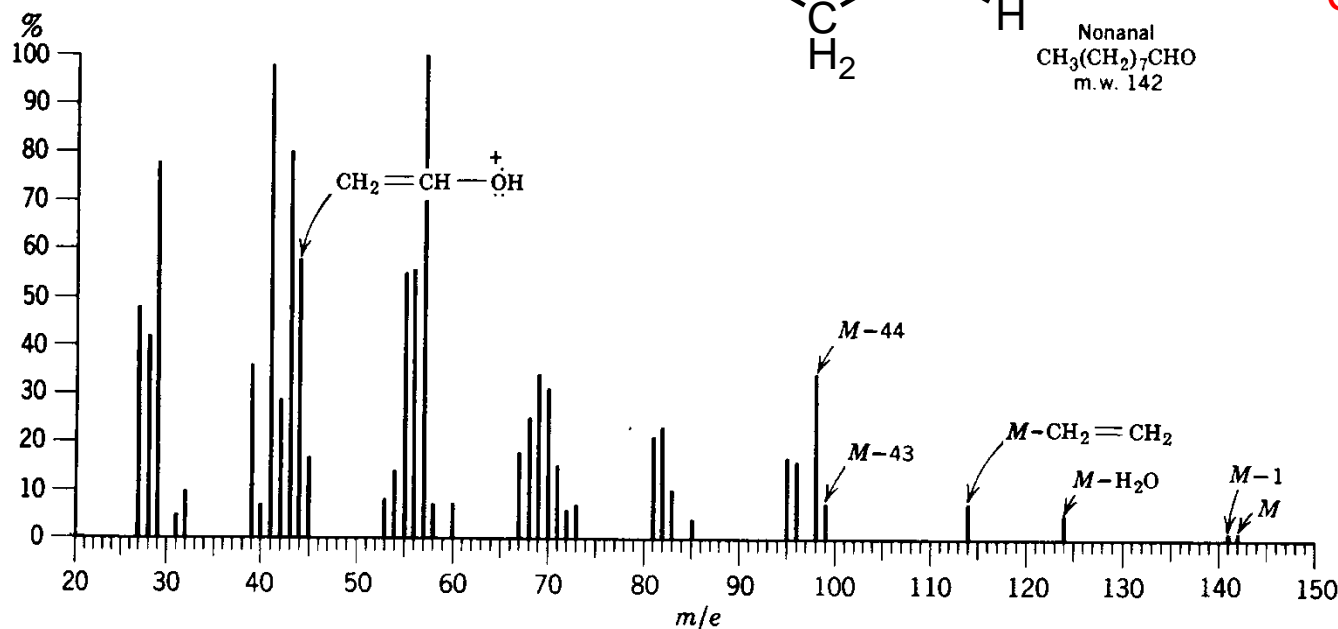
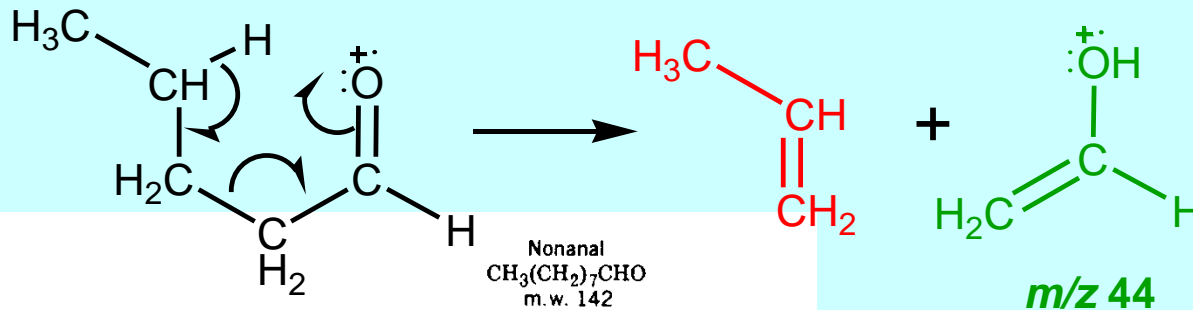


# Aldeidi

- picco ad  $M-1$  (piuttosto caratteristico), picco a  $m/z$  29 ( $\text{CHO}^+$ ).

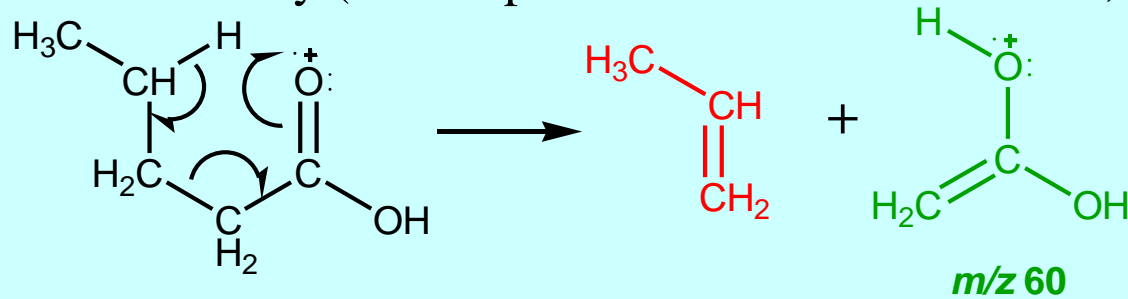


- picco ad  $M-1$  (piuttosto caratteristico), picco a  $m/z$  29 ( $\text{CHO}^+$ ).
- altri picchi caratteristici sono  $M-18$  (perdita i acqua),  $M-28$ ,  $M-43$  e  $M-44$ .
- riarrangiamento di McLafferty ( $m/z$  44, se non c'è ramificazione in  $\alpha$ )

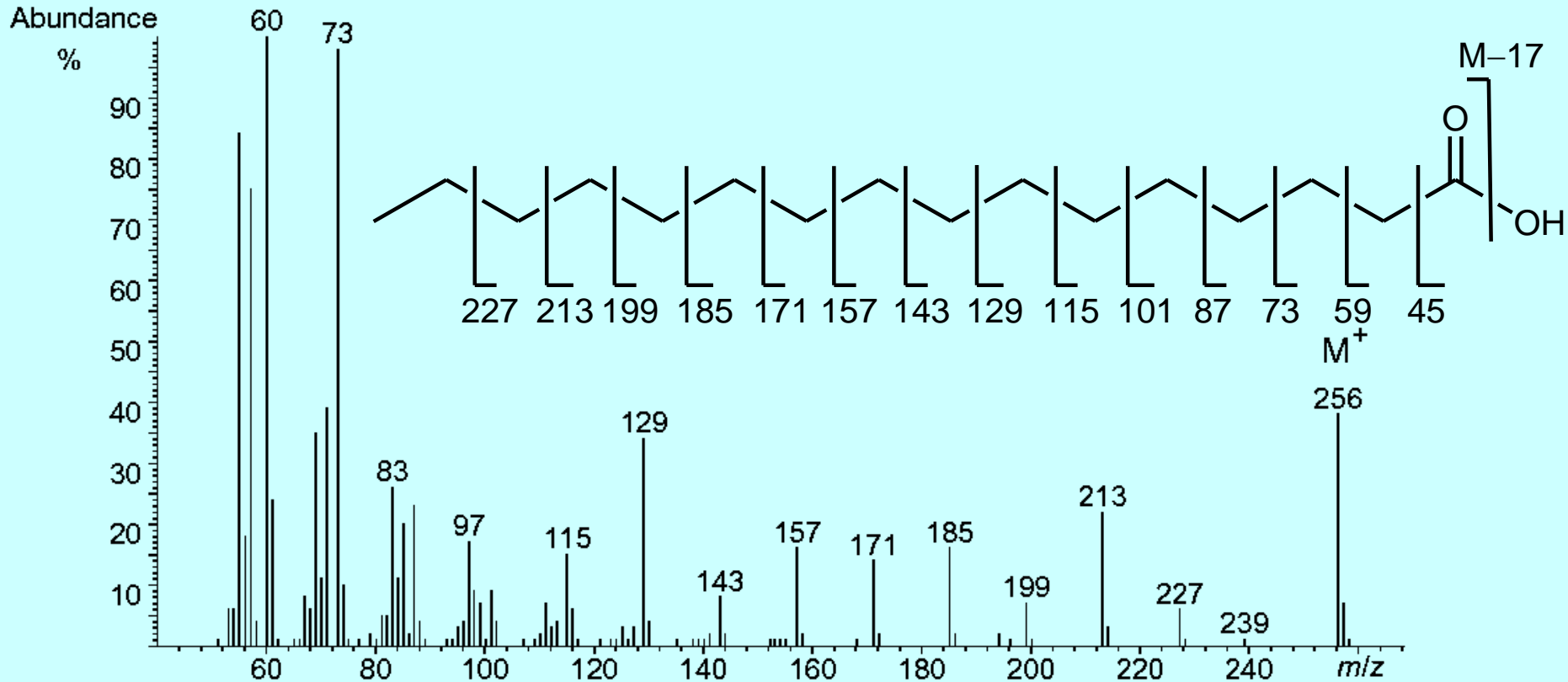


# Acidi carbossilici

- riarrangiamento di McLafferty ( $m/z$  60 per acidi non ramificati in  $\alpha$ , spesso il picco base).

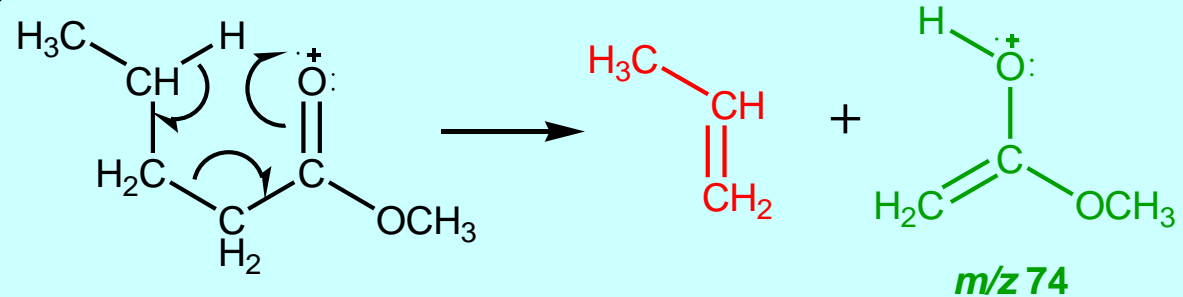


- rotture delle catene alchiliche ( $C_nH_{2n-1}O_2^+$ , cioè a  $m/z$  45, 59, 73, ecc.).

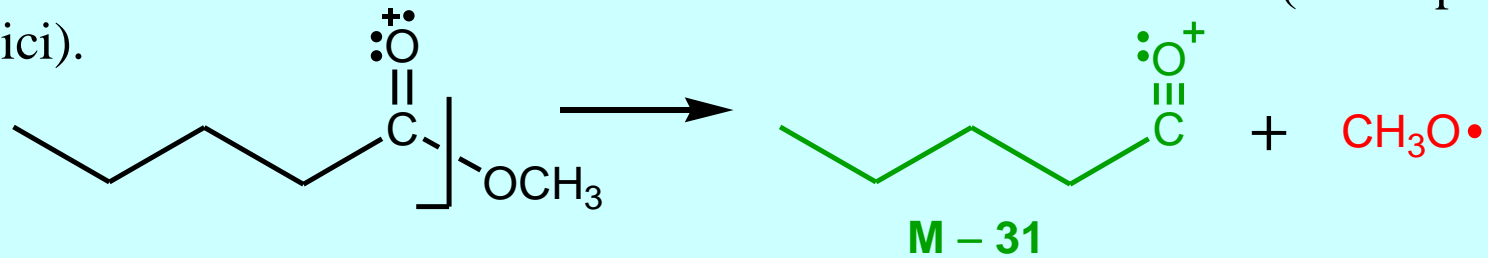


# Esteri (parte acilica dominante, p.e. esteri metilici)

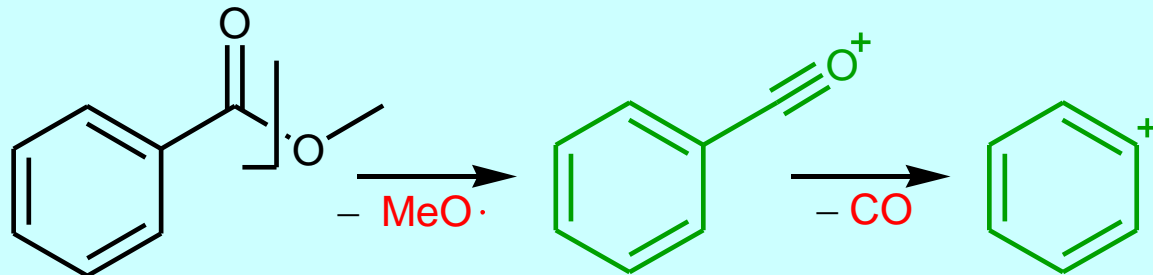
- ione molecolare è sempre visibile
- riarrangiamento di McLafferty ( $m/z$  74 per esteri metilici non ramificati in  $\alpha$ , spesso il picco base).

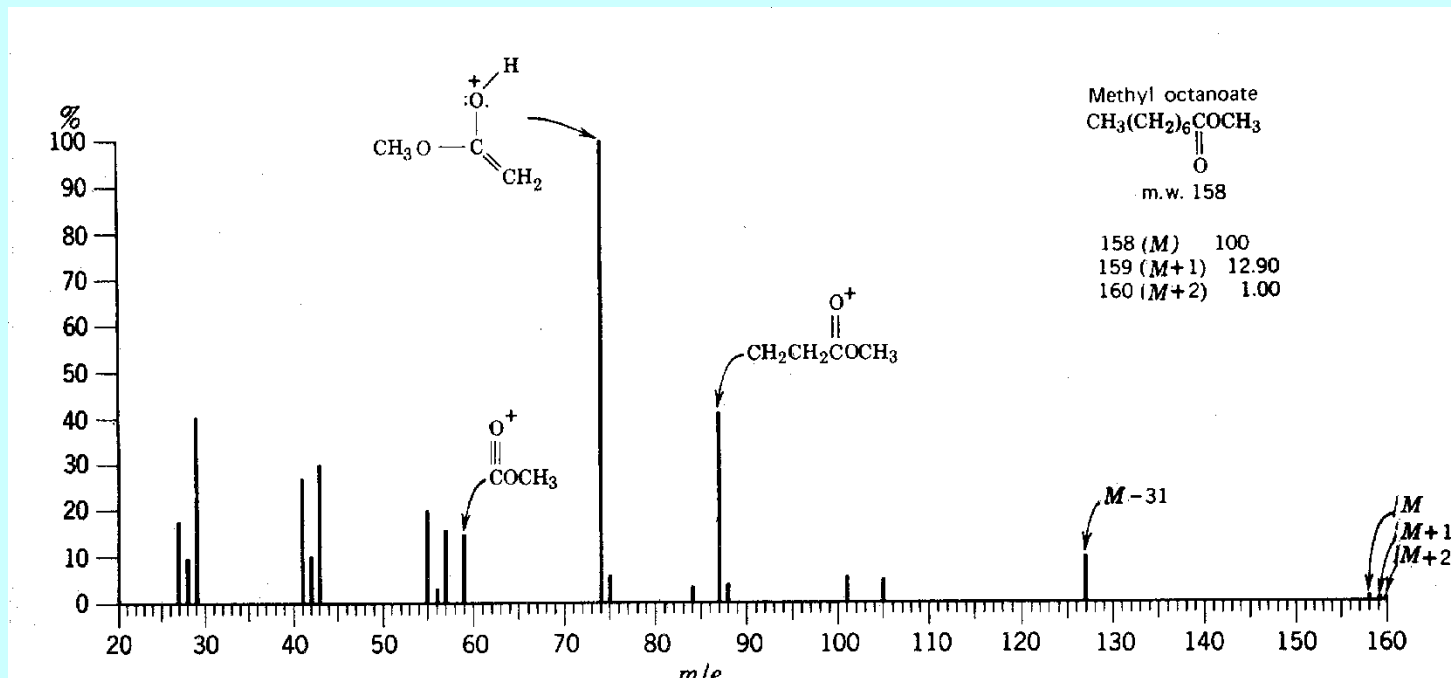


- normali ioni alchilici  $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}^+$  e a ioni  $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}\text{O}_2^+$ .
- perdita del radicale alcossido  $\text{RO}\cdot$  e formazione dello ione acilio ( $M-31$  per esteri metilici).



- esteri aromatici: frammentazione molto favorita  $\text{C}-\text{CO}$  con perdita del radicale alcossido  $\text{RO}\cdot$ , e successiva perdita di  $\text{CO}$



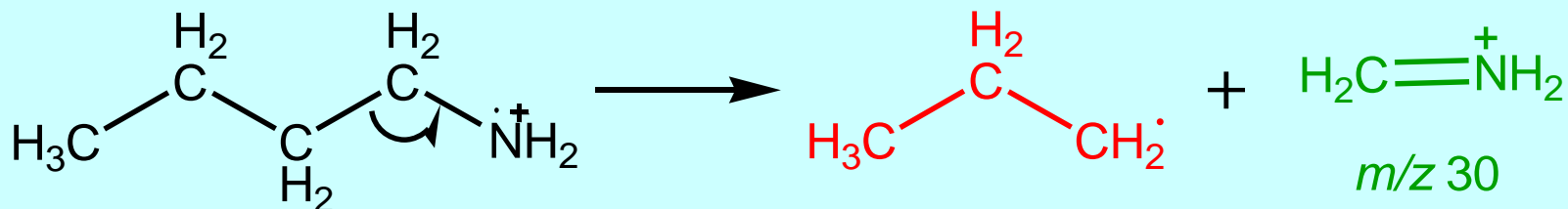


## Esteri (parte alcolica dominante, p.e. acetati)

- ione molecolare debole o assente
- frammentazione simile ai relativi alcoli: perdita di acido acetico (M-60) in acetati

# Ammine

- ione molecolare è a massa dispari (regola dell'azoto)
- ione molecolare è comunque debole, e a volte assente
- la frammentazione ricorda quella degli alcoli
- rottura del legame  $\alpha,\beta$  all'N (picco a  $m/z$  30,  $\text{CH}_2=\text{NH}_2^+$ , per ammine primarie non ramificate in  $\alpha$ )



- in ammine secondarie o ramificate  $m/z$  44, 58, 72, ecc.
- oltre ai frammenti alchilici, frammenti con la carica dal lato del gruppo amminico  $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}\text{N}^+$  ( $m/z$  44, 58, 72, ecc).