

METODI FISICI IN CHIMICA ORGANICA

Composizione elementare e formula bruta

- analisi elementare
- grado di insaturazione
- spettrometria di massa

COME ARRIVARE ALLA FORMULA BRUTA DI UNA SOSTANZA INCOGNITA

- **Composizione elementare (analisi di C, H, N, X...)**
- **Spettrometria di massa (ione molecolare)**

Composizione elementare:

- per combustione ed analisi dei gas (CO_2 , H_2O , NO_x)
usualmente non si ricava la quantità di O
- per titolazione (X)

Si ottiene una composizione percentuale:

- %C, %H, %N, %X ma NON %O che si ricava per differenza

Esempio 1. Dal laboratorio di analisi ottengo la seguente informazione circa la composizione elementare della mia sostanza: C=70%, H=20%, N=5%, nessun alogeno. Vuol dire che O è il 5%. $[100-(70+20+5)=5]$

DEVO RICAVARE LA FORMULA BRUTA DALLA COMPOSIZIONE %

Per procedere devo conoscere il peso atomico (PA) dei singoli elementi:

•C=12,011; H=1,008; N=14,0067; O=15,999

Poiché il numero di grammoatomi di un certo elemento è uguale alla quantità in grammi dello stesso diviso il suo peso atomico allora su un ipotetico campione di 100 g della mia sostanza il **numero di grammo atomi** sarà:

%elemento/PA

Nel caso dell'esempio 1 il numero di grammoatomi di C sarà $70/12,011=5,83$

In questo modo posso ottenere il numero di grammoatomi di ciascun elemento presente in 100 g di sostanza incognita. La stessa proporzione sarà presente nella molecola.

QUESTI NUMERI DI SOLITO SARANNO FRAZIONARI E NON INTERI E, QUINDI, NON POSSONO ESSERE UTILIZZATI PER SCRIVERE LA FORMULA BRUTA

Devo quindi normalizzarli in modo da trasformarli in numeri interi in modo che a ciascun elemento sia assegnato il più piccolo dei numeri interi possibili. Devo quindi cercare il minimo moltiplicatore in grado di portarmi a questo risultato

Ad esempio nel caso banale in cui si ottenesse per un certo composto il seguente numero di grammoatomi: C=5,5, H=12 è chiaro che il minimo moltiplicatore sarà 2. Infatti $5,5 \times 2 = 11$ e $12 \times 2 = 24$ e la formula bruta minima sarà $C_{11}H_{24}$

Esempio 2. Calcolare la formula bruta minima di un composto incognito la cui analisi elementare sia: C=67,5%; H=5,0%; N=17,5%.

Devo dapprima calcolare la % di O visto che l'analisi % non da conto del 100% degli elementi.

$$\%O = 100 - (67,5+5,0+17,5) = 10,0$$

Calcolo ora il numero di grammoatomi (n) di ogni elemento presenti in 100 g di composto incognito:

$$n_C=67,5/PA_C; n_H=5/PA_H; n_N=17,5/PA_N; n_O=10/PA_O$$

sostituendo ottengo: $n_C=5,62$; $n_H=4,96$; $n_N=1,25$; $n_O=0,625$

Poiché la mia molecola dovrà avere un numero intero di atomi devo procedere alla normalizzazione. La cosa più semplice è moltiplicare per 1/0,625, in questo modo il numero di atomi di ossigeno diventa 1 (il minimo possibile).

Il risultato dell'operazione è: C=8,99; H=7,94; N=2; O=1

Poiché l'analisi elementare è un dato sperimentale affetto da errore posso senz'altro arrotondare ai numeri interi per cui la formula bruta minima è:



Esempio 3. Calcolare la formula bruta minima di un composto incognito la cui analisi elementare sia: C=53,6%; H=3,6%.

Devo dapprima calcolare la % di O visto che l'analisi % non da conto del 100% degli elementi.

$$\%O = 100 - (53,6+3,6) = 42,8$$

Calcolo ora il numero di grammoatomi (n) di ogni elemento presenti in 100 g di composto incognito:

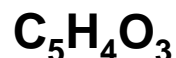
$$n_C=53,6/12,011; n_H=3,6/1,008; n_O=42,8/15,999$$

sostituendo ottengo: $n_C=4,46$; $n_H=3,57$; $n_O=2,67$

Poiché la mia molecola dovrà avere un numero intero di atomi devo procedere alla normalizzazione. Analogamente al caso precedente moltiplico per 1/2,67, in questo modo il numero di atomi di ossigeno diventa 1.

Il risultato dell'operazione è: C=1,67; H=1,34; O=1 devo ancora normalizzare! Il multiplo intero più piccolo che trasforma sia 1,67 che 1,34 in numeri interi è 3.

Eseguendo questa operazione la formula bruta minima è:



La formula bruta minima non è necessariamente la formula bruta della sostanza incognita: qualunque molecola la cui formula sia costituita da multipli interi della formula bruta minima avrà la stessa % di elementi!

La risposta definitiva viene dalla spettrometria di massa

ma nel prosieguo del corso si assumerà che la formula bruta minima coincida con quella della sostanza incognita (salvo casi particolari)

Oltre alla composizione elementare quale altra informazione si può ricavare dalla formula bruta?

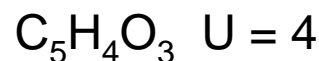
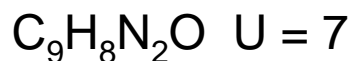
Si può ricavare un numero che rappresenta la deficienza di idrogeno (o grado di insaturazione), U , della molecola incognita.

Questo dato è importante per avere delle idee su alcune caratteristiche della molecola di cui stiamo cercando l'identità

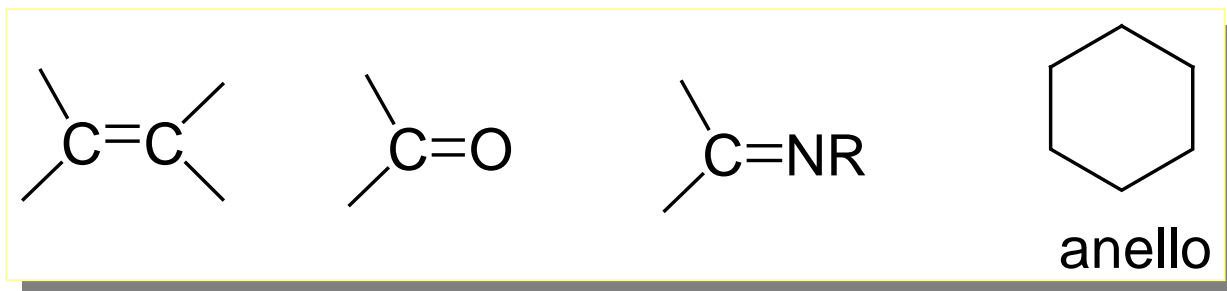
Per una molecola di formula bruta $C_cH_hN_nO_oX_x$ il grado di insaturazione è espresso dalla formula:

$$U = \frac{2(c + n) + 2 - (h + n + x)}{2}$$

Nel caso dei due composti degli esempi 2 e 3 il grado di insaturazione, U, sarà:



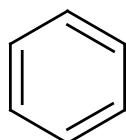
seguenti gruppi funzionali contribuiscono con 1 grado di insaturazione:



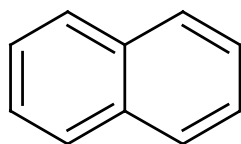
seguenti gruppi funzionali contribuiscono con 2 gradi di insaturazione:



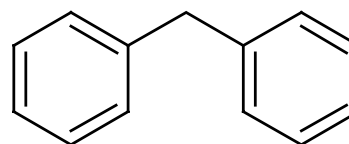
Ovviamente in una stessa molecola potranno essere presenti più gruppi funzionali. Ciascuno contribuirà al grado di insaturazione complessivo. Il grado di insaturazione di benzene, naftalene e difenilmetano è, rispettivamente di 4, 7 e 8.



=4



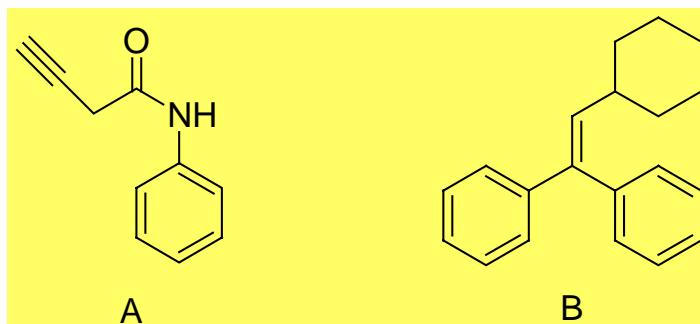
U=7



U=8

INFORMAZIONE IMPORTANTE: Se $U \geq 4$ la molecola incognita potrebbe avere un anello aromatico; se $U < 4$ ciò non è possibile

Esercizio 1. Calcolare il grado di insaturazione delle seguenti molecole:



Risposta: U di A= 7
U di B= 10

Ovviamente se avessimo calcolato U mediante la formula avremmo ottenuto lo stesso risultato.

Esercizio 2. Scrivere la formula bruta dei due composti A e B e calcolare il rispettivo valore di U mediante la formula

PRIMA DI ANALIZZARE GLI SPETTRI DI QUALUNQUE COMPOSTO INCOGNITO BISOGNA SEMPRE DETERMINARE LA SUA FORMULA BRUTA MINIMA E DA QUESTA RICAVARE IL GRADO DI INSATURAZIONE

Possiamo ora affrontare il problema della determinazione della formula bruta senza assumere che quella minima coincida con quella del composto. La tecnica che verrà usata consentirà di determinare la massa della molecola e quindi il suo peso molecolare.

SPETTROMETRIA DI MASSA

Lo spettrometro di massa è uno strumento che trasforma le molecole in ioni che analizza determinandone appunto la massa o, più correttamente, il rapporto massa su carica (m/z)

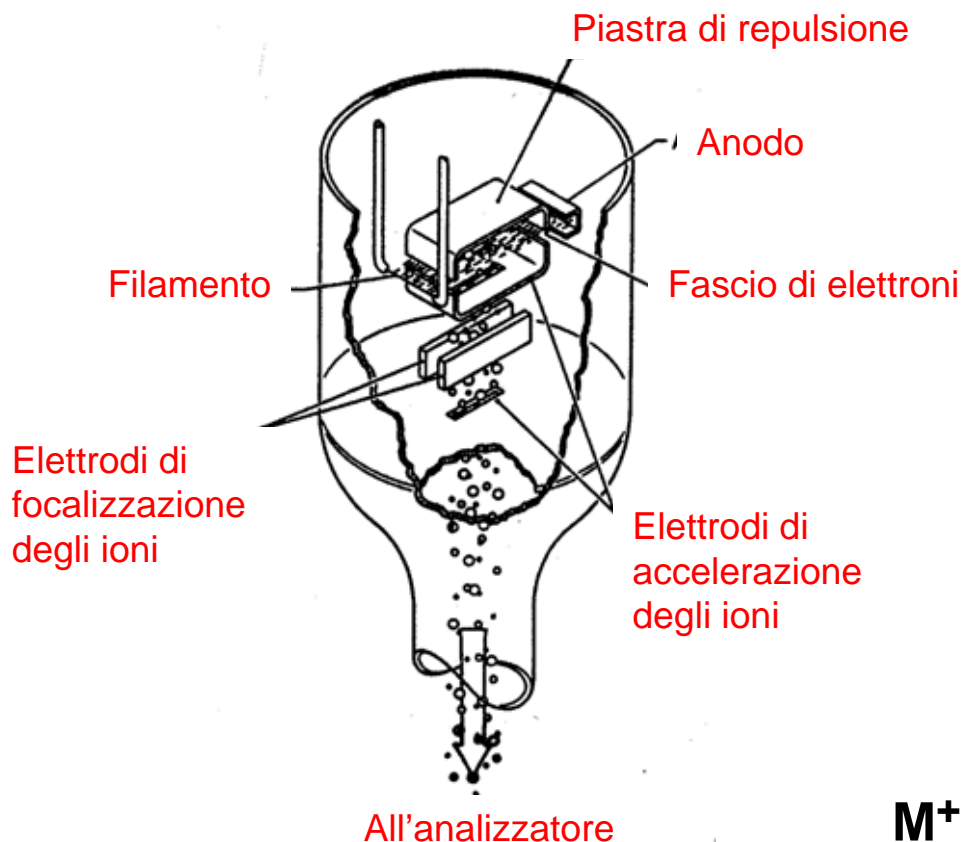
Elementi costitutivi di uno spettrometro di massa sono:

- **un sistema di ionizzazione**
- **un sistema di differenziazione degli ioni in base al valore di m/z**
- **un sistema di rilevamento degli ioni**

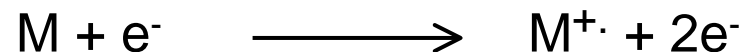
/ metodi di ionizzazione possono essere:

- ad impatto elettronico
- chimico
- per bombardamento di ioni
- elettrospray

Camera di ionizzazione



Nella camera di ionizzazione vi è un vuoto molto elevato; al suo interno si inserisce il campione da analizzare sotto forma di vapore o gas. La molecola di campione (M) viene ionizzata per impatto con il fascio di elettroni ad alta velocità:



$M^{+\cdot}$ È un radicale catione e viene chiamato **ione molecolare**

Come si vedrà in seguito, nella camera di ionizzazione possono avvenire anche altri processi. Inoltre oltre a ioni monocarichi si possono formare anche ioni con più cariche

Ionizzazione chimica

La camera di ionizzazione impiegata è molto simile a quella della ionizzazione per impatto elettronico. In questo caso però si introduce, oltre alla molecola da analizzare (M), anche un gas che fungerà da specie ionizzante una volta trasformato in un radicale catione:



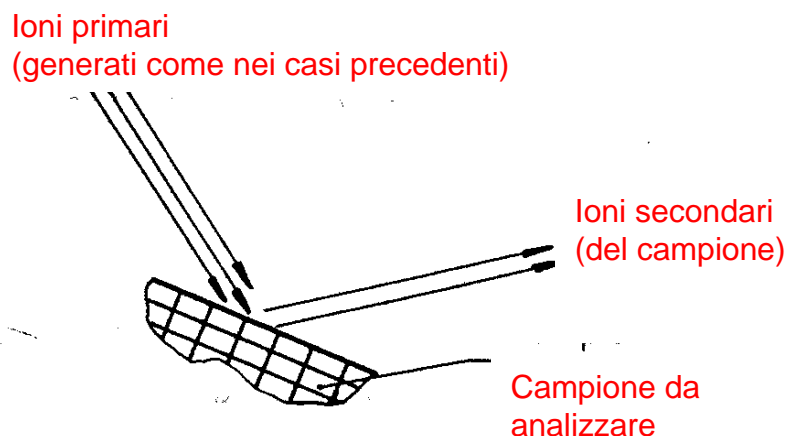
Ionizzazione ad impatto
elettronico di G



Ionizzazione chimica di M

Il gas G deve avere una energia di ionizzazione MAGGIORE di quella di M altrimenti non è in grado, una volta trasformato in radicale catione, di strappare un elettrone alla molecola M

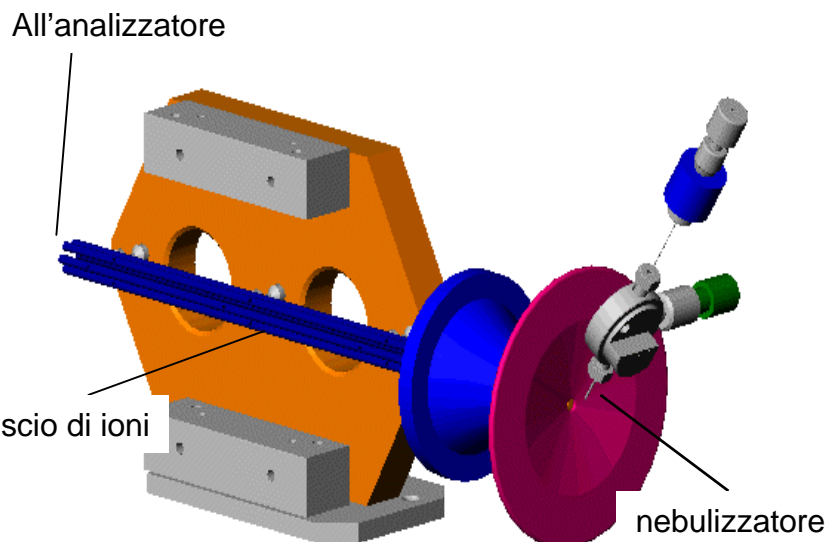
Ionizzazione per bombardamento ionico



questo tipo di ionizzazione il vantaggio rispetto alle precedenti è costituito dal fatto che il campione non deve essere trasformato in gas o vapore. Questa tecnica può essere quindi applicata anche a molecole grandi con una bassa tensione di vapore.

Con questa tecnica in genere si evitano ulteriori frammentazioni della molecola in esame, problema presente sia nella ionizzazione chimica che elettronica.

Ionizzazione elettrospray

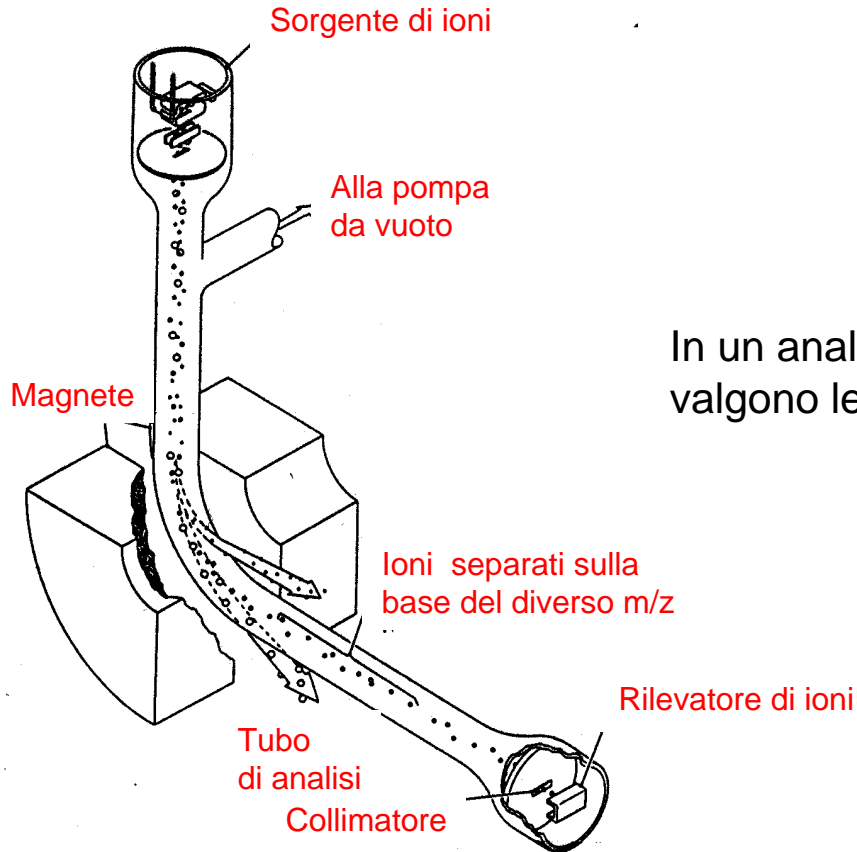


In questo caso il campione è sciolto in un solvente opportuno in presenza di piccole quantità di un acido: la molecola deve essere quindi “basica”. La soluzione viene nebulizzata (spray) passando attraverso un ugello che si trova ad un potenziale elevato. Successivamente il solvente viene in parte eliminato sotto vuoto e gli ioni della molecola da analizzare raggiungono l’analizzatore.

Vantaggi: anche in questo caso la molecola in esame non viene vaporizzata. La tecnica può quindi essere applicata anche a molecole grandi (es. proteine). Inoltre poiché si opera in soluzione si possono avere informazioni su interazioni deboli che avvengono nel solvente
ATTENZIONE: MOLTO SPESSO GLI IONI HANNO PIU' DI UNA CARICA!!

Analizzatori

Analizzatore a settore magnetico



Una volta usciti dalla camera di ionizzazione (qualunque sia il modo con il quale siano stati ionizzati) gli ioni entrano nell'analizzatore che li separa in base al loro rapporto massa su carica (m/z).

In un analizzatore a settore magnetico valgono le seguenti equazioni:

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

$$v^2 = \frac{2zV}{m}$$

$$r = \frac{mv}{zB}$$

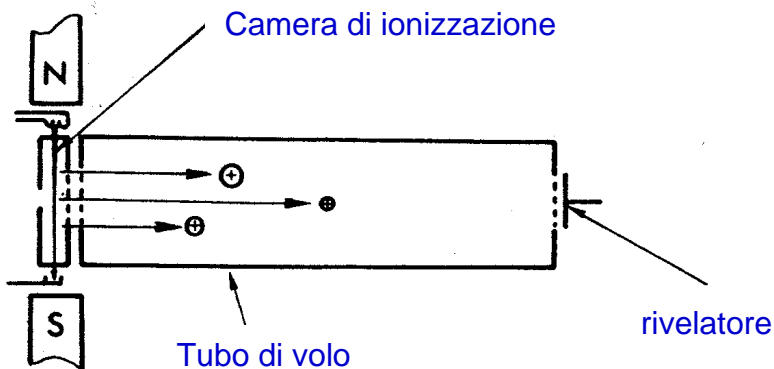
$$\frac{m}{z} = \frac{r^2 B^2}{2V}$$

Lega l'energia cinetica all'energia del campo di accelerazione

riarrangiando...

Ogni particella carica in movimento in un campo magnetico entra in una traiettoria curva di raggio r

Analizzatore a tempo di volo



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

$$v = \frac{d}{t}$$

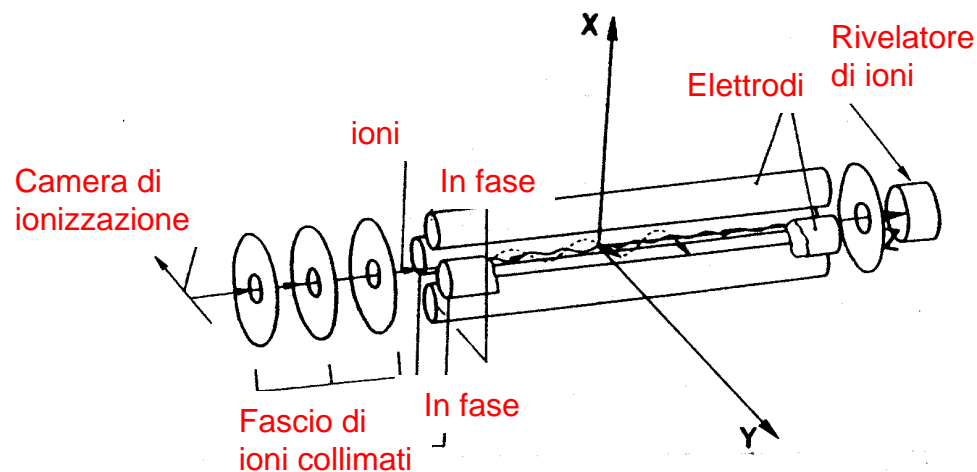
$$\frac{m}{z} = \frac{t^2 2V}{d^2}$$

(vedi analizzatore precedente)

La velocità è data dalla distanza(d) sul tempo (t)

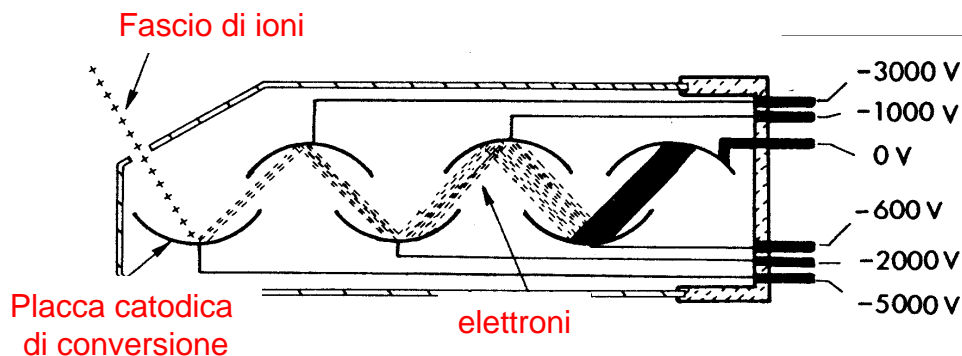
Nell'analizzatore quadrupolare il fascio di ioni entra in un campo generato da 4 barre (elettrodi) la cui polarità è invertita a coppie alterne. Il fascio di ioni procede con una traiettoria a spirale il cui raggio dipende da m/z e dalla frequenza con cui viene invertita la polarità degli elettrodi. Per una certa frequenza solo gli ioni con un preciso valore di m/z raggiungono l'analizzatore.

Analizzatore quadrupolare



Rilevatore di ioni

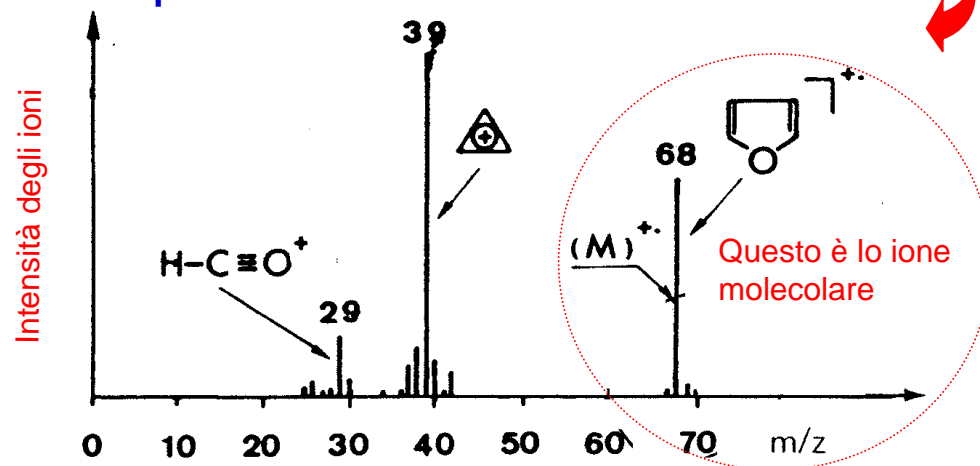
Consente di trasformare gli ioni che escono dall'analizzatore in una corrente elettrica così da poter costruire un grafico che riporta l'intensità degli ioni in funzione del rapporto m/z . Tale grafico ci dice qual'è il numero e la massa (divisa per la carica) degli ioni che si sono formati nella camera di ionizzazione



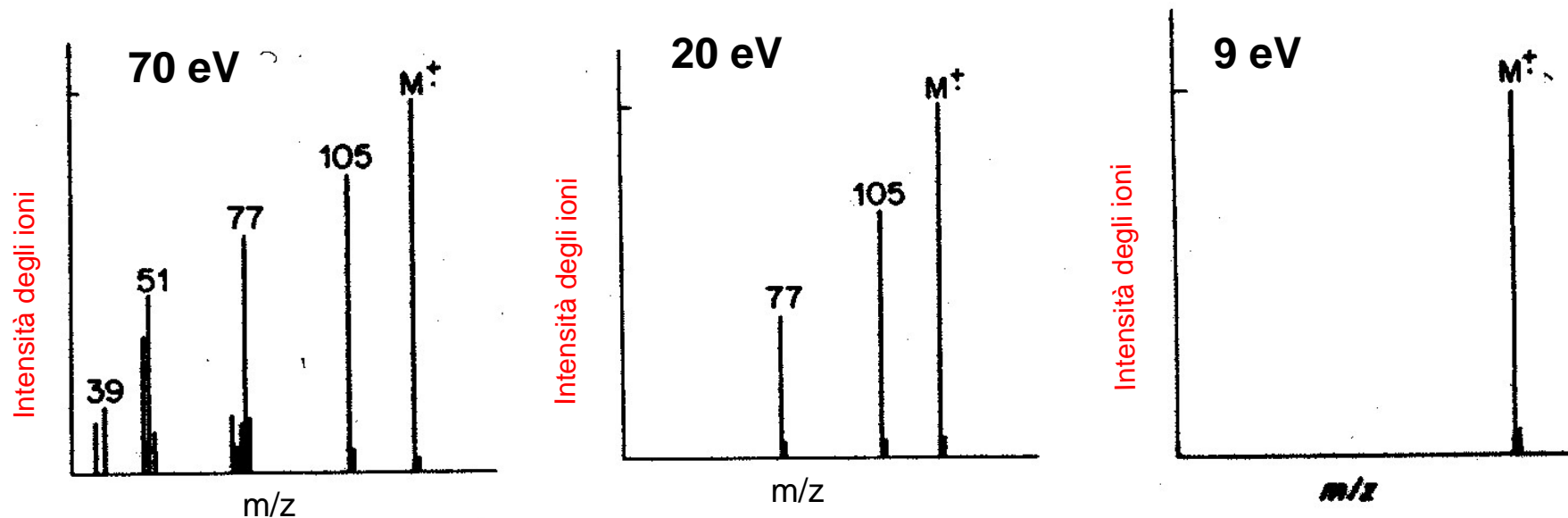
Questo grafico si chiama **spettro di massa**. Si può osservare che oltre al segnale dello ione molecolare vi sono anche altri segnali dovuti ad altri ioni: si tratta di frammenti della molecola che si generano nella camera di ionizzazione. Questo fatto dipende dal tipo di ionizzazione che si è impiegata nell'esperimento e verrà discusso più avanti

Questo grafico si chiama **spettro di massa**. Si può osservare che oltre al segnale dello ione molecolare vi sono anche altri segnali dovuti ad altri ioni: si tratta di frammenti della molecola che si generano nella camera di ionizzazione. Questo fatto dipende dal tipo di ionizzazione che si è impiegata nell'esperimento e verrà discusso più avanti

Spettro di massa del Furano



Ad esempio nella ionizzazione per impatto elettronico lo spettro di massa si trasforma in questo modo mano a mano che diminuisce l'energia del fascio di elettroni con i quali abbiamo bombardato la nostra sostanza:

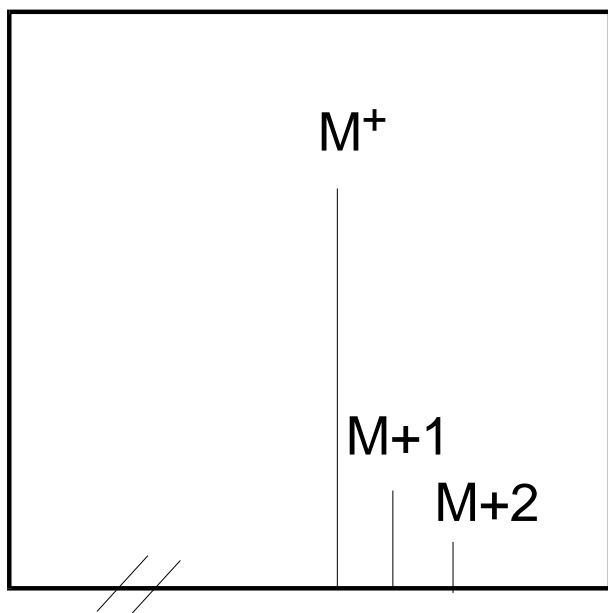


Se lo spettro viene registrato con una energia di 5 eV non si vede alcun segnale: perché?

Quando l'energia del fascio di elettroni diventa molto bassa si vede solo lo ione molecolare mentre ad energie più alte si vedono altri ioni. Per ora noi confineremo la nostra attenzione solo alla zona dello ione molecolare perché è lì che possiamo ricavare informazioni sulla massa della nostra molecola e sulla sua formula bruta.

La zona dello ione molecolare nello spettro di massa ($z=1$)

Se osserviamo attentamente la zona dello ione molecolare scopriamo che oltre al segnale di M^+ vi sono altri segnali a **valori di m/z più elevati**. Di solito si vedono due segnali a valori di **$m/z = M+1$ e $M+2$** (cioè di una e due unità di massa superiori al segnale dello ione molecolare).



Gli ioni $M+1$ e $M+2$ non sono dovuti a frammenti ma alla composizione isotopica degli elementi di cui è costituita la nostra sostanza M . *L'intensità relativa* di $M+1$ e $M+2$ rispetto a M^+ **non dipende dalle condizioni nelle quali è stato registrato lo spettro di massa **ma solo dalla composizione elementare della sostanza in esame.****

Composizione isotopica degli elementi e massa degli isotopi

Ogni **elemento** è caratterizzato da un preciso numero di protoni.

A parità del numero di protoni vi possono essere però numeri diversi di neutroni: atomi caratterizzati dallo stesso numero di protoni ma da un numero diverso di neutroni sono chiamati **isotopi**.

Poiché il peso (più correttamente la massa) di un atomo è sostanzialmente dovuto alla somma dei neutroni e dei protoni, isotopi diversi hanno pesi (masse) diversi.

Ogni elemento è presente sotto forma di un numero diverso di isotopi i quali sono pure presenti in abbondanza (cioè percentuale relativa) diversa.

Prendiamo in esame, ad esempio, l'elemento H:

- Numero atomico (numero di protoni) = 1
- Isotopi presenti in natura: ^1H , ^2H , ^3H (prozio, deuterio e trizio) caratterizzati da un numero di neutroni uguali a 0, 1 e 2 rispettivamente. La loro massa sarà 1, 2 e 3. Un grammoatomo di H è costituito dal 99,984% di ^1H e dal 0,016% di ^2H (D). ^3H è radioattivo e decade molto velocemente. Di conseguenza al peso atomico di H contribuiranno, ciascuno nella sua percentuale relativa sia ^1H che ^2H cosicché il peso atomico è 1,008.

Composizione isotopica degli elementi H, C, N, O ... e Cl, Br

Elemento	Isotopi (% relativa all'isotopo più abbondante)	Massa esatta
H	^1H (100)	1,00783
	^2H (0.016)	2,01410
C	^{12}C (100)	12,000 standard
	^{13}C (1,08)	13,0034
N	^{14}N (100)	14,0031
	^{15}N (0,38)	15,0001
O	^{16}O (100)	15,9949
	^{17}O (0,04)	16,9991
	^{18}O (0,2)	17,9992

In generale l'isotopo più abbondante è anche quello meno pesante; inoltre l'abbondanza relativa degli isotopi a M+1 e M+2 è molto bassa.

Ci sono però delle eccezioni costituite da Cl e Br

Isotopo	% relativa	Massa esatta
^{35}Cl	100	34,969
^{37}Cl	32,5	36,966
^{79}Br	100	78,918
^{81}Br	98	80,916

Composizione isotopica delle molecole

La presenza di isotopi diversi per ogni elemento si riflette anche sulle molecole. Questo fatto determina la presenza degli ioni M+1 e M+2 nello spettro di massa.

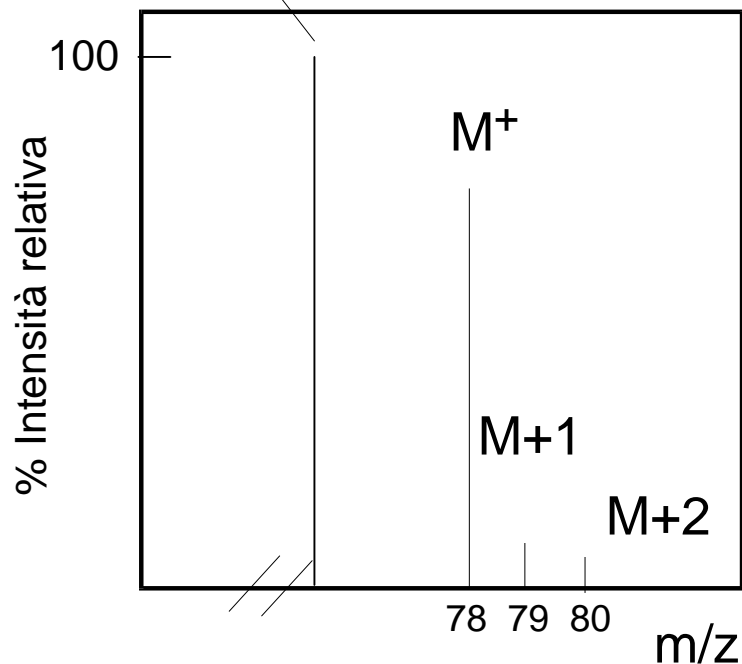
*Ad esempio prendiamo una molecola di benzene.
Essa sarà composta da:*

In uno spettrometro di massa a bassa risoluzione* troverò i rispettivi ioni ai seguenti valori di m/z:

$^{12}\text{C}_6^1\text{H}_6$ contribuisce a M+	78
$^{12}\text{C}_5^{13}\text{C}^1\text{H}_6$, $^{12}\text{C}_6^1\text{H}_5^2\text{H}$ contribuiscono a M+1	79
$^{12}\text{C}_5^{13}\text{C}^1\text{H}_5^2\text{H}$, $^{12}\text{C}_4^{13}\text{C}_2^1\text{H}_6$, $^{12}\text{C}_6^1\text{H}_4^2\text{H}_2$ contribuiscono a M+2	80

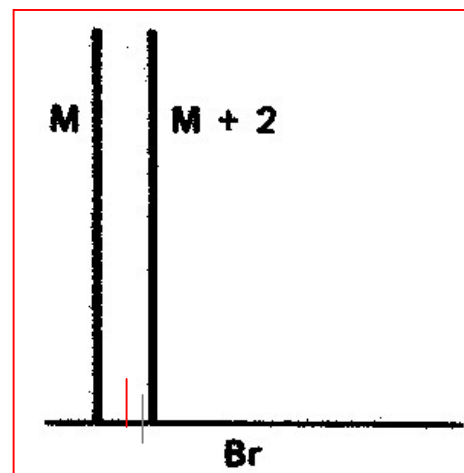
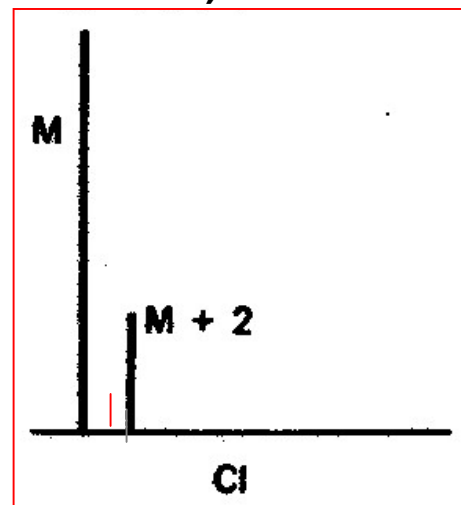
***Uno spettrometro di massa a bassa risoluzione è uno strumento che permette di misurare le masse intere degli ioni (masse nominali); uno spettrometro di massa ad alta risoluzione permette di misurare invece le masse degli ioni fino alla quarta cifra decimale**

Picco base: è il segnale più intenso dello spettro al quale si attribuisce l'intensità relativa del 100%



Nel caso del benzene si vedranno questi segnali nella zona dello ione molecolare: **i segnali di M+1 e M+2 sono poco intensi.**

Nel caso in cui nella molecola siano presenti un atomo di Cl o uno di Br i segnali degli ioni M+2 saranno molto più intensi (rispettivamente circa il 33% e il 100% di M+)



L'intensità relativa (rispetto a quella dello ione molecolare) dei segnali degli ioni M+1 e M+2 permette di determinare la formula bruta di una molecola M.

Tale intensità dipende infatti dalla composizione isotopica dei singoli elementi di cui è costituita la molecola.

L'intensità relativa degli ioni M+1 e M+2 (rispetto allo ione molecolare M) può ovviamente essere calcolata se si conosce la formula bruta utilizzando i valori di abbondanza relativa delle tabelle di p. 21. Così ogni atomo di carbonio contribuirà all'1% circa di M+1 mentre ogni atomo di azoto di solo lo 0,38% e così via.

In generale: (trascurando il contributo dovuto alla presenza contemporanea di due isotopi più pesanti)

$$\%M+1 \text{ (rispetto a } M^+) = \%^2\text{H} \times n_{\text{H}} + \%^{13}\text{C} \times n_{\text{C}} + \%^{15}\text{N} \times n_{\text{N}} + \%^{17}\text{O} \times n_{\text{O}}$$

$$\%M+2 \text{ (rispetto a } M^+) = \%^{18}\text{O} \times n_{\text{O}} \text{ (trascurando gli altri elementi i cui isotopi di due unità di massa più pesanti sono percentualmente poco importanti)}$$

Le intensità relative degli ioni $M+1$ e $M+2$ sono state tabulate per una serie di formule brute in funzione della massa nominale dello ione molecolare

Dallo spettro di massa si possono ricavare le intensità relative (rispetto a $M+$) degli ioni $M+1$ e $M+2$ e da queste tabelle posso poi ricavare la formula bruta della sostanza incognita. Bisogna ricordare che in uno spettro di massa le intensità relative dei segnali sono riferite al picco base che non necessariamente è lo ione molecolare (vedi a p. 23). **In questo caso bisogna normalizzare le % di $M+1$ e $M+2$ a quella di $M+$.**

Esempio 4. Un composto incognito ha $M+$ a $m/z=100$. Il suo spettro di massa presenta i seguenti segnali: m/z 48 (100%, picco base); m/z 100 (50%, ione molecolare, $M+$); m/z 101 (3,4%, $M+1$); m/z 102 (0,2%, $M+2$). Voglio trovare la formula bruta.

(segue esempio 4)

Per prima cosa devo normalizzare le % di M+1 e M+2 fatta pari al 100% quella di M+:

%M+1 normalizzata = %M+1/%M+=6,8%; %M+2 normalizzata = %M+2/%M+=0,4%;

Alla massa nominale di 100 trovo questa tabella:

Formula	% M+1	% M+2	Formula	% M+1	% M+2
$C_4H_8N_2O$	5,25	0,31	$C_5H_{12}N_2$	6,36	0,17
$C_5H_8O_2$	5,61	0,53	$C_6H_{12}O$	6,72	0,39

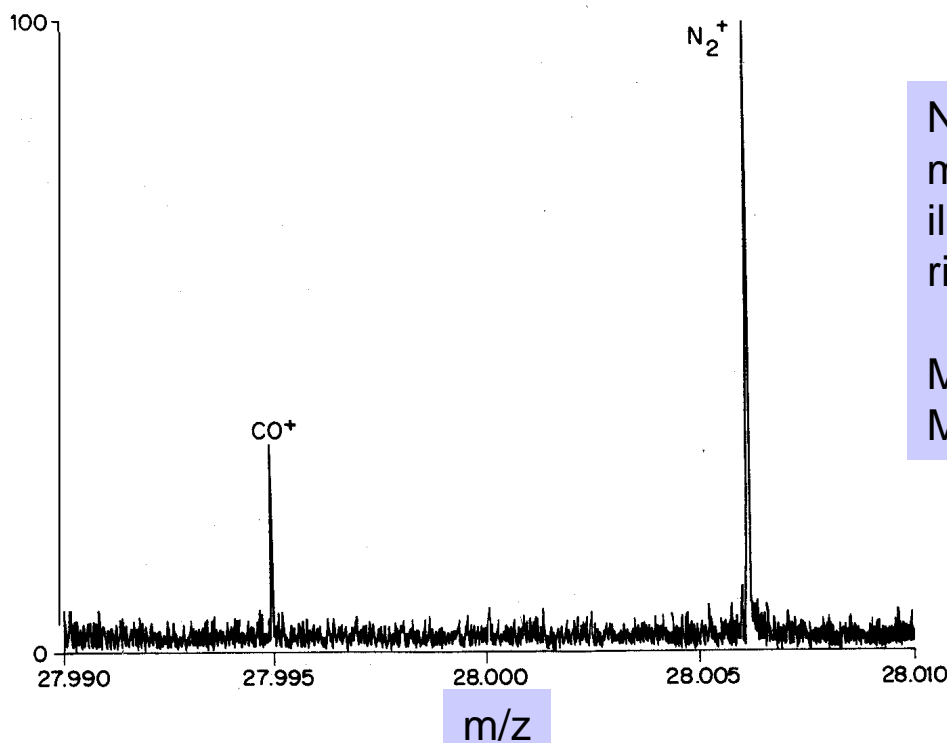


I valori di % sperimentali più vicini a quelli di Tabella sono per un composto di formula bruta $C_6H_{12}O$ che è quindi la formula bruta del composto incognito

PER POTER RICAVARE LA FORMULA BRUTA DI UN COMPOSTO INCOGNITO UTILIZZANDO UNO SPETTROMETRO DI MASSA A BASSA RISOLUZIONE SI DEVONO CONOSCERE LE % DI INTENSITA' RELATIVA DEGLI IONI M+1 E M+2

SE INVECE SI HA A DISPOSIZIONE UNO SPETTROMETRO DI MASSA AD ALTA RISOLUZIONE SI PUO' DETERMINARE LA MASSA ESATTA DELLA MOLECOLA E DA QUESTA RICAVARE POI LA FORMULA BRUTA

Infatti, a parità di massa nominale, molecole che abbiano una composizione elementare diversa (e quindi diversa formula bruta) avranno massa esatta diversa



N₂ e CO hanno la stessa massa nominale (28) ma il loro spettro ad alta risoluzione rivela due masse esatte diverse:

Massa esatta di N₂ = 28,0062
Massa esatta di CO = 27,9949

UNA VOLTA DETERMINATA LA MASSA ESATTA DI UNA MOLECOLA INCOGNITA CON UNO SPETTROMETRO DI MASSA AD ALTA RISOLUZIONE BASTA CONSULTARE LE TABELLE PER OTTENERE IL VALORE DELLA FORMULA BRUTA

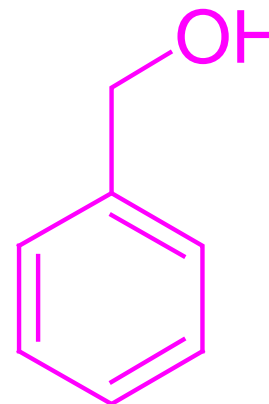
In questo caso non ci interessano le intensità relative di M+1 e M+2 ma esclusivamente M+. Di conseguenza nel calcolare le masse esatte considero esclusivamente gli isotopi più abbondanti che sono anche quelli che hanno massa inferiore

Le masse esatte degli isotopi degli elementi sono riportate nella Tabella di p. 21.

Le masse esatte degli isotopi non sono numeri interi anche se il riferimento è costituito da ^{12}C perché parte della massa delle particelle nucleari viene consumata per “assemblare le particelle nucleari” nel nucleo stesso

NON SI DEVE CONFONDERE MASSA ESATTA CON PESO MOLECOLARE
La massa esatta si riferisce ad una molecola composta dagli isotopi più leggeri di ciascun elemento. Il peso molecolare è il peso di una grammomole di composto costituito da una miscela di isotopi di ciascun elemento

Esempio: alcol benzilico



Formula bruta: C₇H₈O

Peso molecolare: 108,14 (7x12,011 + 8x 1,008 + 15,999)

E' una grammomole di sostanza composta da molecole contenenti tutti gli isotopi nella percentuale presente in natura)

Massa esatta: 108,0575 (7x12 + 8x1,0078 + 15,9949)

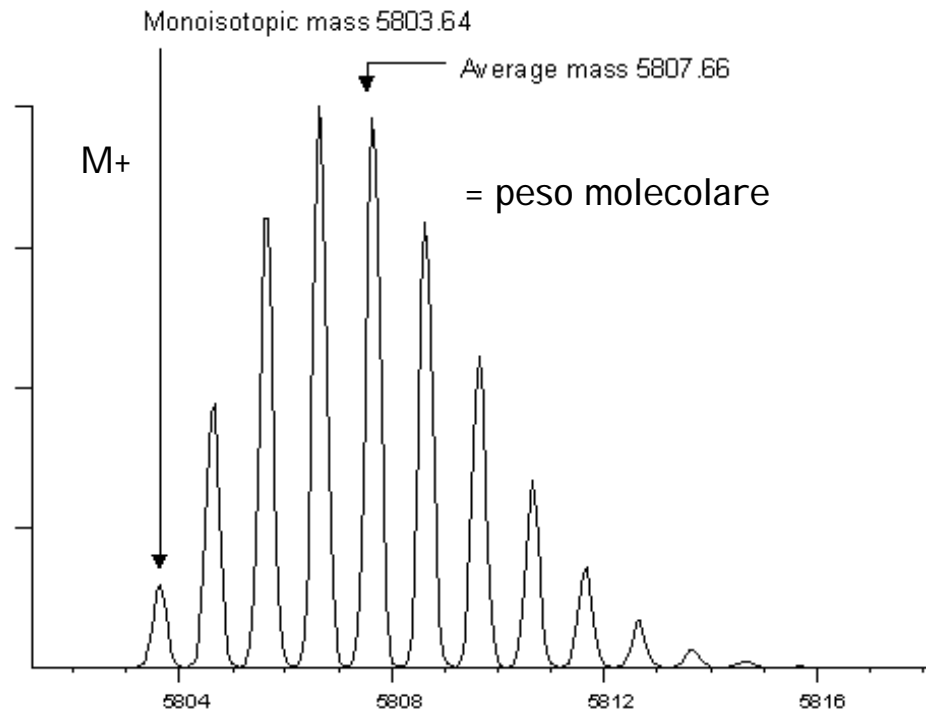
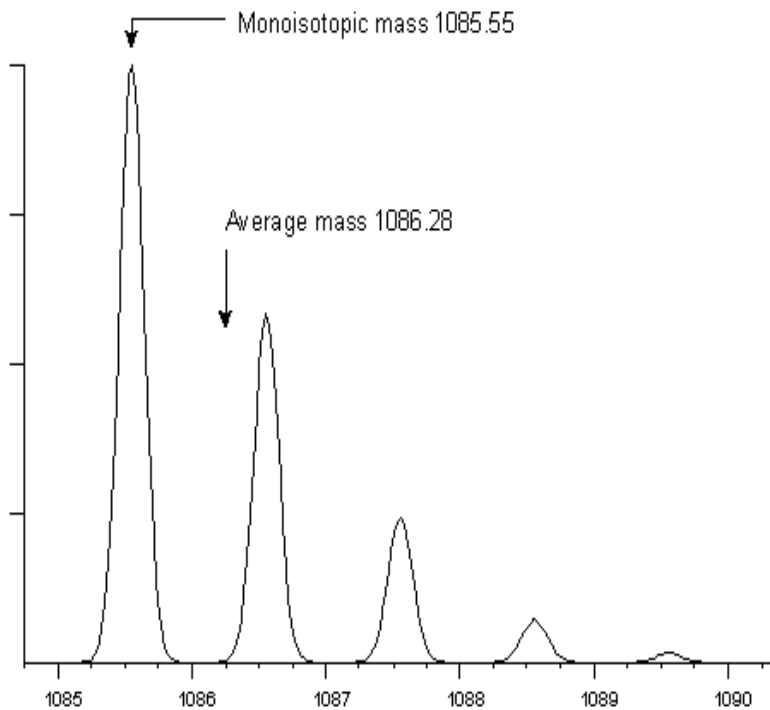
(Si riferisce esclusivamente alla molecola con la seguente composizione isotopica ¹²C₇¹H₈¹⁶O)

Per il calcolo della formula bruta dalla massa esatta vai a:

<http://www.chemcalc.org/MFFinder.html>

L'ANALISI ACCURATA DELLA ZONA DELLO IONE MOLECOLARE E' MOLTO UTILE IN MOLECOLE RELATIVAMENTE GRANDI

"IL CLUSTER ISOTOPICO" CI DA UNA INDICAZIONE ESATTA DELLA MASSA MOLECOLARE MA PUO' ESSERE MOLTO COMPLESSO: M^+ può non essere più il segnale più intenso



E se il valore di z è diverso da 1? Dove sarà lo ione molecolare?

Questa situazione si può incontrare nella ionizzazione per impatto elettronico se vengono estratti due e^- (evento raro) oppure nella ionizzazione elettrospray quando ad esempio la molecola sia multiprotonata (evento frequente).

In questi casi dove troverò lo ione molecolare?

CASO A: estrazione di due e^- ; $z=2$ se la massa della molecola è M allora lo ione molecolare sarà a $m/z=M/2$ (se M è dispari m/z non sarà un numero intero).

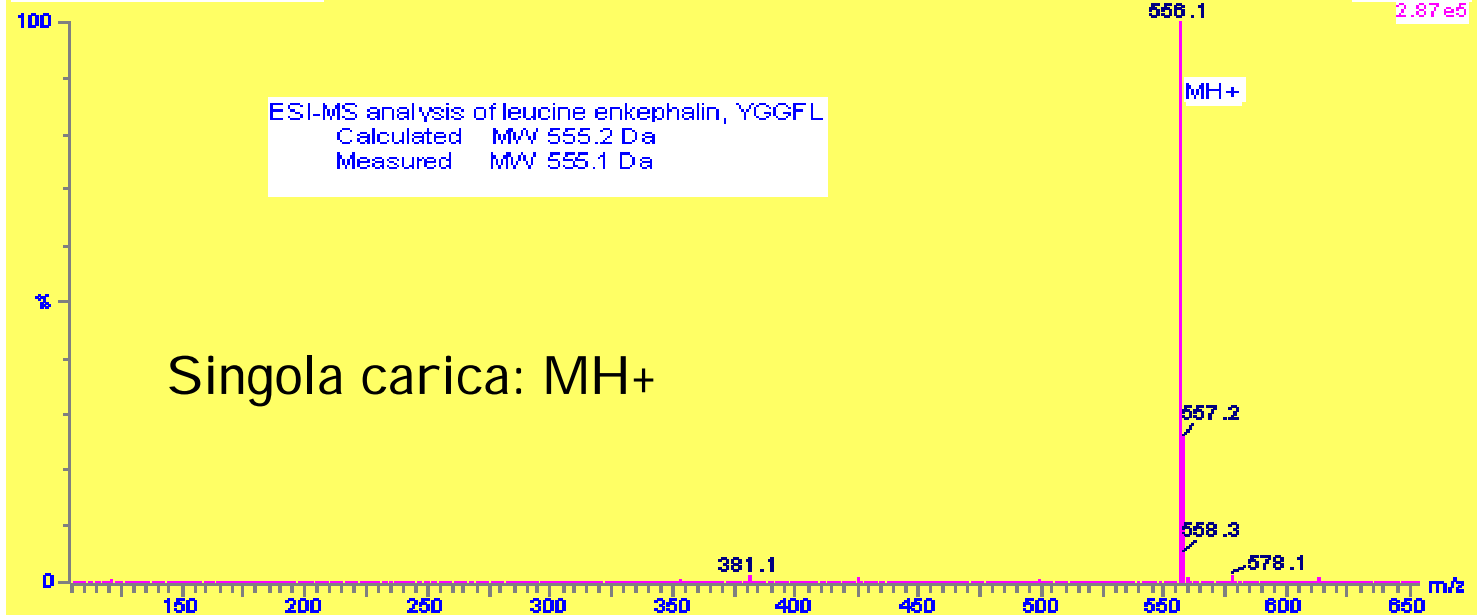
CASO B: tripla protonazione; $z=3$ se la massa della molecola è M allora lo ione molecolare sarà a $m/z=(M+3)/3$ (m/z potrebbe non essere un numero intero).

TEST01 32 (1.879) Cm (3:34)

Scan ES+
2.87e5

ESI-MS analysis of leucine enkephalin, YGGFL
Calculated MW 555.2 Da
Measured MW 555.1 Da

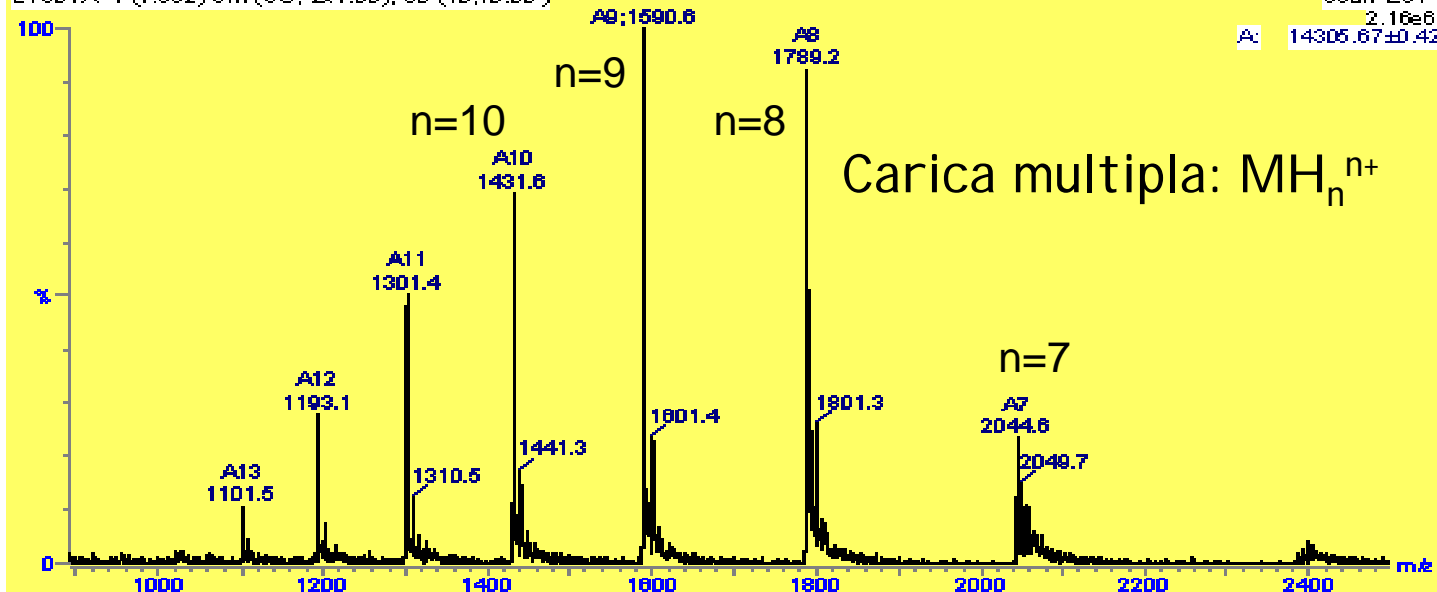
Singola carica: MH+



LYS01A 1 (1.392) Sm (SG, 2x1.00); Sb (10,10.00)

Scan ES+
2.16e6
A: 14305.67±0.42

Carica multipla: MH_nⁿ⁺



COME FACCIAMO A CALCOLARE LA MASSA DELLA MOLECOLA INCOGNITA QUANDO $z \neq 1$ E LA MOLECOLA HA zH^+ ?

$$M = (\text{valore di } m/z \text{ dello ione molecolare} \times z) - z$$

Esempio: il mio composto presenta il segnale dello ione molecolare a $m/z = 25$; poichè $M+1$ cade a $m/z = 25,25$ capisco che $z=4$.

Allora:

$$M = (25 \times 4) - 4 = 96$$

Se avessi registrato lo spettro di massa della stessa molecola per ionizzazione elettronica (un solo elettrone strappato alla molecola, quindi $z=1$) lo ione molecolare si sarebbe trovato a $m/z=96$!