UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE

TECNICHE PTR-MS E SIFT-MS PER UN'ANALISI RAPIDA DEI VOC

Relatore: Prof. Luca Cappellin

Laureanda: Eva Biscione

2033696

Anno Accademico 2024/2025

Sommario

Introduzione.....5

CAPITOLO 1: Tecniche PTR-MS e SIFT-MS: dall'origine allo sviluppo.....5

CAPITOLO 2. Principi di funzionamento delle due tecniche a confronto.....8

2.1 Strumentazione PTR-MS.....8

2.2 Strumentazione SIFT-MS.....10

2.3 Meccanismo di funzionamento SIFT.....12

2.4 Meccanismo SIFT-MS.....13

2.5 Meccanismo PTR-MS.....13

2.6 Confronto delle due tecniche.....14

CAPITOLO 3: Applicazioni delle tecniche PTR-MS e SIFT-MS.....15

3.1 Applicazioni tradizionali: scienze dell'atmosfera.....15

3.2 Applicazioni innovative: settore alimentare, artistico e farmaceutico.....16

CAPITOLO 4. Ultime evoluzioni: switchable reagent ions e il reattore AIM.....19

Conclusioni.....21

Bibliografia.....22

INTRODUZIONE

I composti organici volatili (VOC) rappresentano una vasta classe di sostanze chimiche, essi sono formati da carbonio, ossigeno, idrogeno ma anche altri elementi come azoto, zolfo e gli alogeni. La loro caratteristica principale è la bassa temperatura di ebollizione e quindi presentano un'elevata tendenza all'evaporazione. La loro presenza determina numerose implicazioni relative sia alla salute umana sia alla salute ambientale. Inoltre, presentano un'importanza crescente in numerosi settori: quali quello alimentare; medico, nella diagnosi di malattie; artistico, nella conservazione dei beni culturali.

È diventato di interesse sempre maggiore determinarne la presenza e tradizionalmente il metodo che veniva utilizzato era la tecnica di gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS). Questa tecnica consente un'analisi precisa, quantitativa, sensibile e ad alta risoluzione; l'unico requisito è che i campioni da analizzare siano volatili e non termolabili, ossia, che non si decompongano per riscaldamento. Il problema principale della GC-MS è l'analisi prolungata dei campioni e per questo motivo è stato necessario sviluppare delle tecniche di spettrometria di massa che consentano le misurazioni in tempo reale, tra cui la spettrometria di massa a reazione di trasferimento protonico (PTR-MS) e la spettrometria di massa a tubo di flusso con ioni selezionati (SIFT-MS)[3]. In questo modo otteniamo il vantaggio di un'analisi diretta, rapida e sensibile, senza che sia necessario il pretrattamento del campione, riducendo così il rischio di alterazioni, rendendoli strumenti di grande interesse per lo studio e il monitoraggio dei VOC in diversi contesti applicativi.

CAPITOLO 1: Tecniche PTR-MS e SIFT-MS: dall'origine allo sviluppo

Entrambe queste tecniche devono la loro origine alla necessità di ottenere l'analisi dei composti organici volatili in tempo reale. Infatti, le tecniche di separazione cromatografiche tradizionalmente utilizzate richiedevano lunghe fasi di preparazione del campione. Durante il pretrattamento esiste la possibilità di perdere quantità di analita, inoltre, i sistemi di ionizzazione utilizzati frammentano le molecole in diverse parti, il che potrebbe renderne difficile l'identificazione. Quindi bisognava trovare una soluzione a questi problemi e intorno agli anni 90' un gruppo di ricerca guidato da Werner Lindinger sviluppò proprio la tecnica PTR-MS. Nel 1995 sulla rivista "Interational Journal of Mass Spectrometry and Ion Process" venne pubblicato l'articolo "Proton transfer reaction mass spectrometry: on-line trace gas analysis at ppb level" che illustrava proprio questa soluzione innovativa.

La tecnica PTR-MS è stata sviluppata quindi presso l'Università Leopold-Franzens di Innsbruck (Austria) e il suo funzionamento utilizza il trasferimento di protoni al fine di

ionizzare i composti organici volatili, che in seguito sono analizzati attraverso la spettrometria di massa. La particolarità di questa tecnica è il fatto che utilizzando ioni molto puri come gli ioni idronio, i VOC vengono ionizzati senza che avvenga una frammentazione della molecola, permettendo un'analisi più semplice e accurata. L'innovazione principale oltre all'analisi in tempo reale dei composti organici volatili è il miglioramento della sensibilità di misura, rendendo possibile la misurazione di gas in tracce [2 3].

La PTR-MS presentava alcuni ostacoli: l'uso esclusivo di ioni idronio che limitava l'analisi di alcuni composti, e le difficoltà nella determinazione di composti con masse simili. Quindi nel 1996 venne introdotta, grazie a un'équipe di chimici britannici presso l'Università di Birmingham, una tecnica alternativa di analisi spettrometrica, ossia la tecnica di spettrometria di massa a flusso di ioni selezionati (SIFT-MS). Infatti, i chimici David Smith e Patrik Spanel pubblicarono nella rivista "Rapid Communications in Mass Spectrometry" l'articolo "The novel selected-ion flow tube approach to trace gas analysis of air and breath" dove appunto veniva introdotto l'uso della SIFT-MS per l'analisi dei VOC in tempo reale. La particolarità di questa tecnica è l'utilizzo di ioni selezionati, come ad esempio H_3O^+, NO^+ e O_2^+, che reagiscono con i composti organici volatili presenti nei campioni d'aria. Infatti, diventa una degna alternativa alla PTR-MS, perché proprio a causa dei diversi tipi di ioni reagenti possiede una maggiore selettività riguardo all'identificazione dei VOC.

In realtà il metodo SIFT era già stato sviluppato vent'anni prima (1976) dallo stesso David Smith e Nigel Adams che, infatti**,** pubblicarono un articolo dal titolo " Selected ion flow tube (SIFT); a technique for studying ion-neutral reactions" nella rivista scientifica "International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physique" nel 1976. La tecnica a tubo a flusso di ioni selezionati (SIFT) inizialmente era utilizzata per studiare la cinetica delle reazioni tra ioni e molecole nella fase gassosa. Il suo principio di funzionamento si basa in primo luogo su una generazione degli ioni reagenti: si utilizza un gas ionizzabile come ad esempio argon, azoto o vapore acqueo, che viene bombardato da elettroni ad alta energia in una sorgente di ionizzazione, in questo modo vediamo la generazione di ioni positivi. In secondo luogo, gli ioni positivi generati passano attraverso un filtro in massa, in questo modo si riesce a fare una selezione degli ioni che andranno in seguito a reagire. Successivamente gli ioni precedentemente selezionati vengono introdotti in un tubo di flusso all'interno del quale troviamo un gas neutro tenuto a pressione ridotta, e in questo luogo abbiamo la reazione con le molecole neutre. Vengono analizzate le velocità con le quali gli ioni interagiscono con le molecole e in questo modo è consentita la misura delle costanti di velocità. Questa tecnica prese soprattutto piede nello studio delle scienze atmosferiche per lo studio delle reazioni che avvengono nelle nubi interstellari, ma successivamente è stata adattata nella SIFT-MS[7 8].

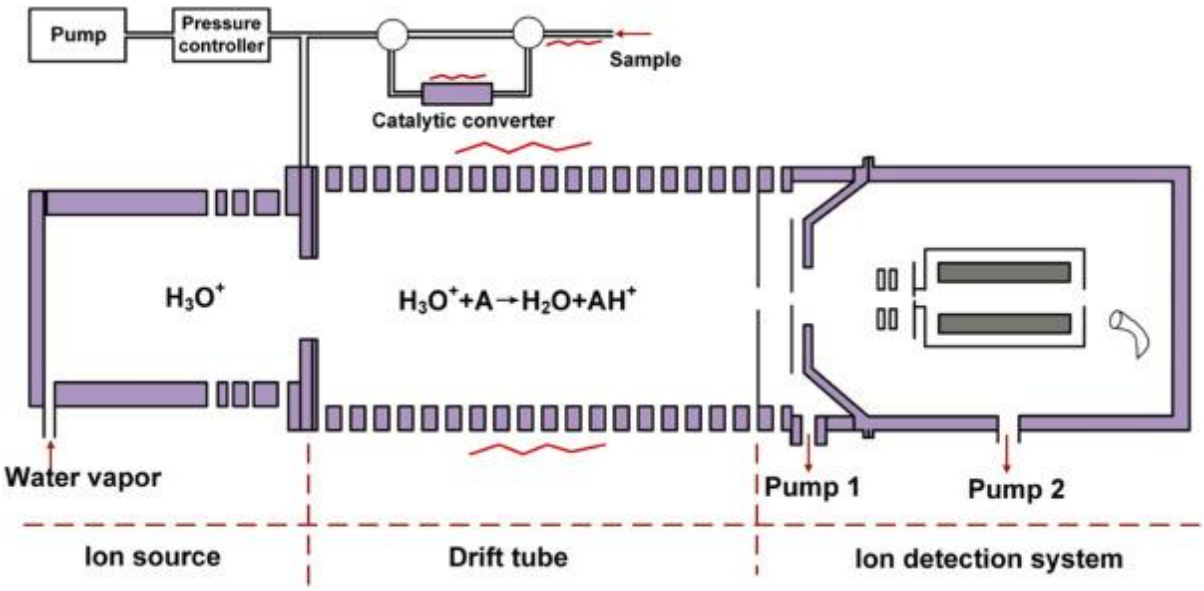
Entrambe le tecniche sono ancora in fase di perfezionamento, infatti, si cerca di renderle più efficaci e specifiche. Per la PTR-MS si è cercato di ottimizzare il processo, rendendolo più sensibile e selettivo, introducendo sorgenti ad alta intensità e reattori a bassa pressione. Mentre per la SIFT-MS abbiamo visto il passaggio all'utilizzo o di un doppio reattore o di un reattore a microonde.

L'ottimizzazione migliore si è prodotta nell'introduzione di analizzatori di massa più sofisticati, inizialmente veniva utilizzato un analizzatore quadrupolare, che tramite quattro elettrodi che generano una corrente continua si occupa della selezione degli ioni in base al rapporto massa/carica. É comunque un analizzatore efficace, ma presenta sia dei limiti nell'analisi delle molecole pesanti sia per quanto riguarda la rapidità delle reazioni. Per questo motivo è stato necessaria la ricerca di nuovi sistemi di analizzatori, infatti, ne sono stati sviluppati due: il PTR-IT-MS, che a differenza del quadrupolare sfrutta una sorta di trappola ionica per l'analisi; e il PTR-TOF-MS, che utilizza una tecnologia denominata Time-of-Flight (TOF), che si occupa delle misurazioni del tempo di volo degli ioni. Il primo dei due sistemi non è ancora entrato in commercio, infatti, anche se è in grado di rendere più rapida l'analisi di uno spettro completo, non disponiamo ancora di strumenti affidabili per la sua costruzione a causa delle soglie di rilevamento elevate[2].

Questi continui sviluppi rendono queste tecniche sempre più utilizzate, ampliando così il loro impiego in moltissimi settori dalla medicina fino al settore alimentare, ma la ricerca non è ancora terminata perché si cerca ancora di ottimizzarne le prestazioni.

CAPITOLO 2. Principi di funzionamento delle due tecniche a confronto

2.1 Strumentazione PTR-MS



L'immagine rappresenta il disegno di una struttura di un sistema PTR-MS, si osserva che è formato da tre sezioni principali: la sorgente ionica, il tubo di deriva e il sistema di rivelazione ionica.

La componente iniziale è la sorgente di ioni, una camera all'interno della quale è inserito un gas neutro di trasporto come aria o argon, inoltre, attraverso una pompa viene mantenuto un ambiente di bassa pressione (1-10 mbar). Al suo interno viene generato un campo elettrico tramite l'utilizzo di elettrodi che generano il cosiddetto effetto corona, in cui una corrente scorre tra un conduttore ad alta tensione e il fluido neutro. Esso avviene quando il gradiente di potenziale è sufficientemente elevato da causare la ionizzazione del fluido, ma non abbastanza da provocare la creazione di un arco elettrico. In questo modo tramite la scarica di corrente viene a formarsi un plasma, che reagisce con il vapore acqueo introdotto all'interno della camera andando a formare gli ioni idronio H_3O^+. Successivamente suddetti ioni vengono immessi all'interno del tubo di deriva, caratterizzato da una struttura formata da anelli di acciaio inossidabile ciascuno collegato a un potenziale elettrico diverso, in modo tale da creare un campo elettrico continuo che percorre l'intera lunghezza. Inoltre, è molto importante che all'interno del tubo sia mantenuto il vuoto e l'isolamento elettrico; quindi, tra i vari anelli sono inseriti dei distanziatori di politetrafluoroetilene.

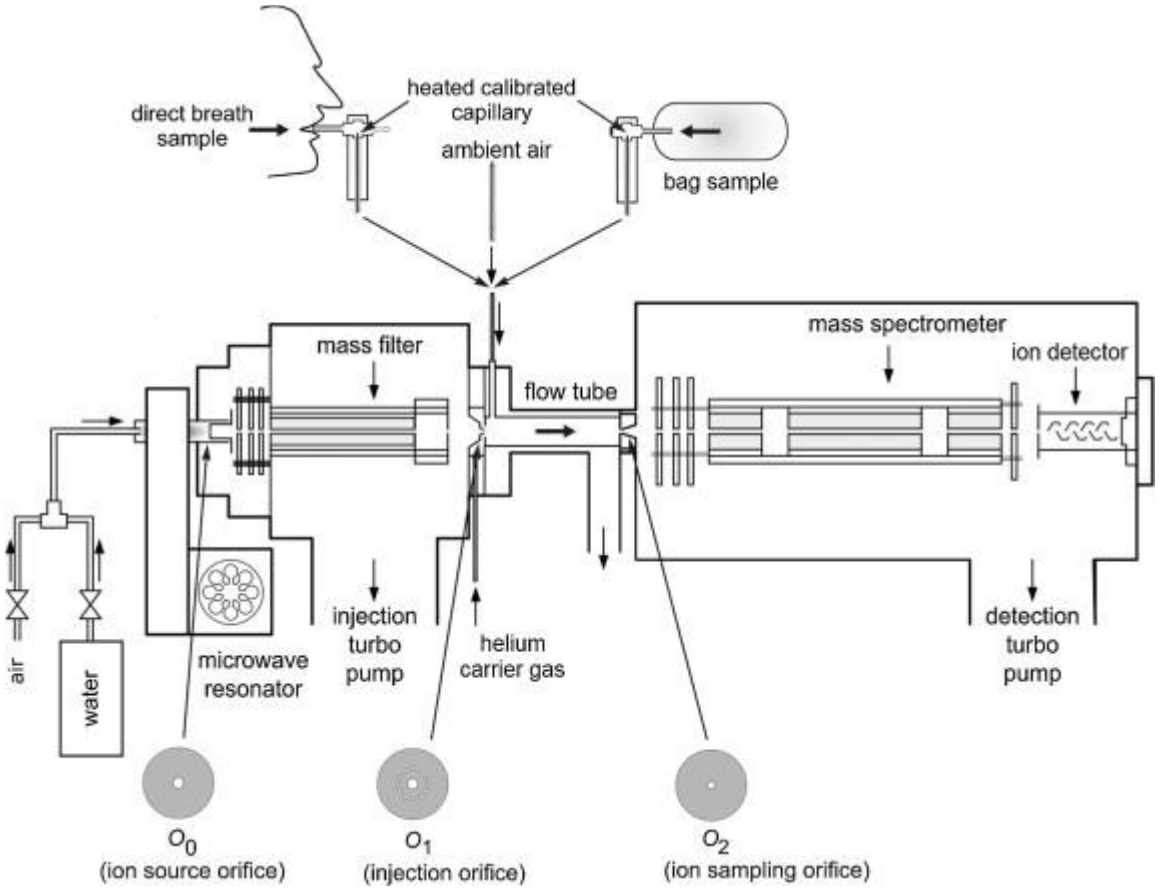
A causa della presenza del campo elettrico gli ioni appena generati andranno a scontrarsi e a reagire con i VOC che si andranno a protonare. Affinché la protonazione avvenga senza

frammentazioni indesiderate viene regolato il rapporto campo elettrico/ pressione al fine di controllare l'energia degli ioni reagenti[2 3].

Successivamente vengono inviati a un analizzatore di massa che li separa secondo il rapporto massa/carica (m/z). Dopo questa separazione gli ioni vengono inviati a un rilevatore che registra i picchi del segnale in base al rapporto m/z producendo successivamente uno spettro di massa che ne identifica i composti presenti, inoltre, se ne identificano anche le concentrazioni presenti attraverso l'analisi della cinetica della reazione. Inizialmente lo spettrometro di massa utilizzato era quello quadrupolare, il cui funzionamento verrà spiegato in seguito nel paragrafo 2.2, ma ha una sensibilità ridotta a causa della loro bassa efficienza per i composti ad alto peso molecolare. Quindi sono stati sviluppati degli analizzatori di massa alternativi: il PTR-IT-MS e il PTR-TOF-MS. Il primo dei due ha la particolarità di utilizzare una trappola ionica, all'interno della quale avviene la dissociazione indotta da collisione, così da semplificare la separazione di ioni con masse uguali. Il problema di questo analizzatore è che ha un'elevata soglia di rilevamento e questo ne rende difficile la produzione industriale, infatti, non è ancora disponibile in commercio. Il secondo, invece, utilizza la tecnologia Time-of - Flight (tempo di volo) che determina la massa degli ioni in base al tempo di volo, si basa sul principio per cui gli ioni vengono accelerati da un campo elettrico fino a raggiungere la stessa energia cinetica, ma la velocità che li caratterizza varia in base alla loro massa. Viene misurato il tempo di volo e conoscendo la distanza si possono calcolare la loro velocità e quindi il rapporto massa /carica. La particolarità di questo strumento è che ha una risoluzione molto elevata, lo spettro di massa viene acquisito nella sua totalità in tempo reale e ha una sensibilità elevata anche per ioni pesanti[2].

2.2 Strumentazione SIFT-MS

Per produrre uno strumento di analisi SIFT-MS avremmo bisogno innanzitutto di un generatore di ioni reagenti, di un tubo di flusso e infine di un rilevatore.



L'immagine rappresenta proprio la struttura di uno SIFT-MS, partendo da sinistra si può osservare in primo luogo la presenza di due canali attraverso i quali vengono introdotti aria e acqua. Successivamente possiamo osservare un risonatore a microonde, una struttura metallica solitamente in acciaio inossidabile oppure rame, materiali resistenti alla corrosione e con una conducibilità termica elevata. All'interno di questa camera chiusa, riempita o dal vuoto o da un dielettrico, troviamo una sorgente che crea un'onda elettromagnetica nella cavità. Le onde in questione rimbalzano sulle pareti della camera, che funziona come una cassa di risonanza, generando interferenze che creano un campo elettromagnetico stazionario

In questo modo assistiamo alla generazione di un plasma, poiché una scarica elettrica applicata a un gas che si trova a bassa pressione provoca la formazione di elettroni detti caldi, circondati da particelle dette fredde. In particolare, per gli ioni positivi si usa una sorgente a una pressione

di circa 400 torr mentre per quelli negativi a circa 800 torr, perché l'attacco degli elettroni è più difficile.[8]
Utilizzando questo metodo per la produzione di ioni reagenti si elimina l'impiego di elettrodi, inoltre, il plasma è un sistema molto stabile, il che rende le misure maggiormente riproducibili. Proseguendo nell'immagine incontriamo il primo orifizio della sorgente ionica (O_0), che permette il passaggio degli ioni reagenti, ossia H_3O^+, NO^+ e O_2^+ dal plasma al tubo di flusso. Prima di arrivare al tubo però gli ioni devono passare attraverso un filtro di massa, situato in una camera a vuoto all'interno della quale troviamo una pressione molto bassa per prevenire le collisioni tra ioni. Il filtro è composto da quattro elettrodi metallici cilindrici disposti in una configurazione quadrupolare, ai quali viene applicata una tensione continua, che genera un campo elettrico statico, e una tensione alternata che produce un campo oscillante. In questo modo gli ioni che provano ad attraversare il filtro di massa troveranno delle deviazioni nella traiettoria inizialmente percorsa, ad eccezione di coloro che hanno un rapporto massa/carica ben definito. A separare il filtro di massa e il tubo di flusso si trova un orifizio di iniezione (O_1, di tipo Venturi), che si occupa di controllare l'entrata degli ioni. Una volta oltrepassato l'O_1 gli ioni giungono finalmente nel tubo di flusso, riempito con un gas inerte e puro (elio o azoto), che agisce come gas vettore a una pressione di circa 1 torr. Ha la funzione di ridurre l'energia degli ioni reagenti prima della reazione con le molecole neutre. La lunghezza del tubo oscilla tra i 30 e i 100 centimetri e le pareti interne sono realizzate in acciaio inossidabile, materiale compatibile con i gas ad alta purezza, la cui superficie liscia riduce l'adsorbimento dei composti analizzati e con un'alta resistenza alla corrosione. Inoltre, può essere rivestito di vetro di quarzo o PTFE al fine di rendere minime le reazioni indesiderate. Mentre gli elementi che fungono da connettori tra i vari componenti sono realizzati in ceramica o PTFE perché entrambi i materiali sono isolanti elettrici così da evitare le interferenze. Una volta che il campione viene inserito nel tubo attraverso un capillare, in pochi millisecondi reagisce con gli ioni reagenti e i prodotti di ionizzazione passano attraverso l'ultimo orifizio (O_2), ossia quello di campionamento degli ioni. Gli ioni giungono finalmente allo spettrometro di massa, dove vengono separati in base al rapporto m/z e ne vengono misurate le concentrazioni. Infine, si trova il rivelatore ionico grazie al quale otteniamo uno spettro di massa, che permette di misurare la composizione del campione tramite le concentrazioni di ioni presenti[7 8].

2.3 Meccanismo di funzionamento SIFT

Prima di introdurre i meccanismi di funzionamento della SIFT-MS e della PTR-MS è necessario fare una panoramica della tecnica che le antecedeva ossia la tecnica SIFT.

Venne usata per studiare la cinematica delle reazioni ioniche in fase gassosa e grazie ad essa sono state misurate le costanti di velocità di un'ampia serie di composti. All'interno di un tubo si inserisce un gas che viene ionizzato e tramite un filtro in massa a quadrupolo si seleziona uno ione in particolare tra H_3O^+, NO^+ e O_2^+, che poi andrà nel tubo di flusso a incontrare il gas campione. Conoscendo i dati caratteristici del tubo e del gas vettore, è possibile calcolare la velocità di quest'ultimo (v_g)

$$v_g = \frac{\Phi_g \, 4 \, T_g}{\rho_g \, \pi \, d_t^2 \, 273 \, K} \tag{1}$$

Dove Φ_g, ρ_g, T_g sono rispettivamente la portata, la densità e la temperatura (in Kelvin) del gas vettore e d_t è il diametro del tubo.

Gli ioni all'interno del tubo di flusso viaggiano con una velocità caratteristica direttamente misurabile, sperimentalmente si ottiene che il rapporto$\left(\frac{v_i}{v_g}\right)$=1.5. Prima di determinare il coefficiente di velocità è necessario conoscere la densità numerica delle molecole di gas reagente nel gas vettore e si utilizza una formula che mette in relazione la densità e la temperatura del gas inerte, le portate di entrambi i gas Φ_g e Φ_r e la costante di Boltzmann k_b

$$[A] = A \frac{\Phi_r}{\Phi_g + \Phi_r} \frac{\rho_g}{k_b \, T_g} \tag{2}$$

Tramite l'utilizzo delle leggi cinetiche integrate a termini correttivi che tengono conto sia della diffusione degli ioni alla parete del tubo che delle perdite dovute alla reazione, si sono determinate le concentrazioni di ioni idronio durante il corso della reazione.

$$[H_3O^+] = [H_3O^+]_0 \, e^{-k[A]\frac{l+\varepsilon}{v_i}} \tag{3}$$

Dove k è la costante di velocità, l è la lunghezza del tubo e ε la correzione associata alla porta di ingresso.

Successivamente si ottiene il valore della costante di velocità che procedendo in questo modo è calcolabile per ogni reazione tra ione e molecola. Esistono alcuni casi in cui la misurazione delle portate dei vari gas è difficile e inoltre a causa dell'assorbimento delle pareti del reagente non è sempre facile conoscerne esattamente la concentrazione. Per superare il problema dopo diversi esperimenti (nel 1975 Bohme e nel 1996 Bouchoux, Salpin e Leblanc) hanno dimostrato come le reazioni di trasferimento protonico esotermiche avvengano alla velocità cinetica del gas, che è calcolabile una volta conosciuti polarizzabilità e momenti di dipolo delle molecole reagenti. Per calcolare le costanti cinetiche delle reazioni che invece degli ioni idronio usano gli ioni NO^+ e O_2^+, si inietta nel sistema una miscela di tutti e tre e se ne misurano le velocità di scomparsa durante l'ingresso del gas reagente. In questo modo si utilizza una costante di velocità nota a livello teorico (H_3O^+) per determinare sperimentalmente quella degli altri due

ioni. È stato quindi creato un database che raccoglie i coefficienti di velocità di reazioni ioniche.[7]

2.4 Meccanismo SIFT-MS

Il meccanismo SIFT-MS utilizza proprio il database di costanti cinetiche misurate con l'utilizzo dello SIFT per produrre un'analisi quantitativa in tempo reale di VOC nei campioni da analizzare. Infatti, una volta inserita una miscela di gas all'interno del tubo di flusso, andrà a reagire con gli ioni precursori formando nuovi ioni. Le velocità con cui avvengono queste reazioni sono dipendenti dalle costanti di velocità, che sono già note. Durante il corso della reazione di trasferimento la velocità di conteggio degli ioni reagenti ovviamente andrà a ridursi mentre quella di quelli prodotti aumenta. In presenza di una miscela lo SIFT-MS è in grado di distinguerne i vari componenti poiché la reazione tra ione e molecola genera dei prodotti specifici. La cinetica della reazione viene descritta da equazioni differenziali che ne esprimono la variazione di concentrazione nel tempo sia degli ioni precursori sia di quelli prodotti. Inoltre, la concentrazione di gas da campionare è proporzionale alla somma delle intensità del segnale di tutti gli ioni prodotti. Ci sono due aspetti che potrebbero alterare l'accuratezza delle analisi: la diffusione differenziale degli ioni nel tubo, che è presente quando si analizzano ioni con m/z molto diversa rispetto ai precursori; la discriminazione di massa. I due effetti si bilanciano, infatti, il primo aumenta la velocità di conteggio per gli ioni più pesanti mentre il secondo la diminuisce (per analisi più accurate esistono software che correggono questi fenomeni)[7 8]. Lo strumento SIFT-MS è in grado quindi di fornire una quantificazione in tempo reale della concentrazione dei VOC tramite la misura delle velocità di conteggio degli ioni precursori e prodotti.

2.5 Meccanismo PTR-MS

Lo strumento PTR-MS utilizza solamente ioni H_3O^+ estremamente puri, essi sono prodotti tramite la ionizzazione di vapore acqueo. Gli ioni reagenti una volta inseriti nel tubo di deriva viaggiano acquistando energia dovuta al campo elettrico presente, una volta raggiunta la fine incontrano uno spettrometro di massa che li campiona. Affinché avvenga la reazione di trasferimento protonico tra H_3O^+ e VOC (B):

$$B + AH^+ \rightleftarrows BH^+ + A \qquad (4)$$

È necessario che la reazione sia energicamente favorita, ossia quando l'affinità protonica dell'acqua sia inferiore a quella della molecola. La quantificazione degli ioni si basa

direttamente sull'intensità dei segnali degli ioni prodotti e la concentrazione di un VOC è determinata dall'equazione:

$$[VOC] = \frac{I_{VOCH^+}}{I_{H_3O^+}} \cdot k_{eff} \cdot t \quad (5)$$

Dove la concentrazione di un generico VOC è direttamente proporzionale sia al rapporto tra l'intensità dello ione prodotto e dello ione idronio, sia al tempo di reazione sia alla costante di efficienza della reazione k_{eff} [2].

2.6 Confronto delle due tecniche

Entrambe le tecniche utilizzano la reazione tra ione precedentemente generato e il composto neutro VOC. Nel PTR-MS vengono utilizzati esclusivamente ioni idronio mentre nello SIFT-MS si utilizzano più ioni precursori. A causa dell'assenza del filtro di massa è possibile immettere all'interno del tubo di reazione una quantità di ioni maggiore rispetto a quella dello SIFT-MS. Inoltre, la perdita diffusiva dovuta all'elio come gas tampone è ridotta con l'uso dell'aria. Per questo motivo la velocità di conteggio degli ioni idronio è maggiore e ne deriva che anche la sensibilità analitica è più elevata rispetto a quella dello SIFT-MS. Infatti, i limiti di rilevamento (LOD) possono variare dalle parti per trilione fino a valori più piccoli delle parti per miliardo. Mentre nella tecnica SIFT-MS il filtro quadrupolare rallenta gli ioni precursori e causa una sensibilità minore dello strumento ma una maggiore precisione di quantificazione degli ioni. Per quest'ultima tecnica vengono utilizzate cinetiche di reazioni ben definite, così da garantire una quantificazione più accurata. Mentre per la PTR-MS la cinetica delle reazioni non è ben definita e può essere sensibile alla densità del gas tampone e al campo elettrico. Le costanti k di reazioni vengono stimate dai valori canonici, ma non sono accurati e per questo motivo è un metodo meno accurato. Inoltre, data l'elevata velocità collisionale è possibile andare incontro a reazioni di frammentazioni indesiderate e quindi a identificazioni di composti errati. Mentre questo problema per lo SIFT-MS è ridotto perché le energie termiche ioniche sono inferiori. Inoltre, l'uso di ioni reagenti differenti causa una capacità di separazione di ioni isobarici (ioni con la stessa massa), cosa che non è possibile con il PTR-MS[8].

In conclusione, le due tecniche utilizzano entrambe un analizzatore ionico per determinare la composizione di un campione da analizzare, ma le loro caratteristiche differenti ne causa l'applicazione in settori diversi. Il PTR-MS che è caratterizzato da una maggiore sensibilità è utilizzato per analizzare i composti presenti nell'aria negli studi ambientali. Mentre lo SIFT-MS è maggiormente adatto ad applicazioni dove è richiesta una quantificazione precisa; quindi, come vedremo in seguito nel paragrafo 3.2 nel settore alimentare e medico. Fondamentalmente

però non esistono reali vantaggi nell'uso di una tecnica rispetto all'altra, poiché per entrambe è possibile realizzare una calibrazione con uno standard esterno.

CAPITOLO 3: Applicazioni delle tecniche PTR-MS e SIFT-MS

3.1 Applicazioni tradizionali: scienze dell'atmosfera

La capacità di analisi in tempo reale dei composti organici volatili rende le tecniche PTR-MS e SIFT-MS degne di nota nell'applicazione nelle scienze dell'atmosfera, soprattutto riguardo allo studio della qualità dell'aria e nei processi chimici atmosferici.
Il fatto che non è richiesto un pretrattamento del campione rende possibile un'analisi diretta dell'aria senza un'anticipata raccolta di campioni che potrebbe alterarne i risultati. Inoltre, rende il campionamento più economico perché non ne è richiesto il trasporto, ma soprattutto essi possono essere installati su aerei o droni al fine di produrre studi atmosferici su larga scala anche in regioni remote.
Nell'atmosfera si trovano un numero molto elevato di VOC, essi vengono emessi da numerose fonti sia naturali che industriali. Nelle aree più inquinate è possibile trovare fino al 80% di composti organici all'interno delle particelle di aerosol. I VOC primari che sono stati analizzati nell'aria sono composti prevalentemente da zuccheri, idrocarburi policiclici aromatici oppure acidi organici. Ma successivamente sono stati scoperti anche una serie di VOC secondari più specifici come l'acido 2,3-diidrossi-4-pentenoico o l'acido 3-metilbutano-1,2,3-tricarbossilico. Nella troposfera i VOC reagiscono sia con radicali idrossilici e nitrato ma anche con l'ozono (O_3), quest' ultimo è anche direttamente prodotto dalla reazione con NO e NO_2 in presenza di luce. L' O_3 reagisce con gli alcheni formando un intermedio chiamato ozonuro, che si decompone rapidamente generando prodotti altamente reattivi tra cui i radicali biradicalici (radicali Criegee), che possono reagire con il vapore acqueo formando acidi organici. Inoltre, è possibile la formazione di aerosol organici secondari (SOA) dovuti alla condensazione dei prodotti ossidati in fase gassosa. Questi prodotti tendono ad aggregarsi formando un particolato che impatta sulla salute e sul clima, infatti, alcuni SOA sono in grado di assorbire la luce contribuendo al riscaldamento globale, mentre l'ozono, gas serra, riesce a trattenere il calore nell'atmosfera.
Esistono, infatti, delle normative ambientali che stabiliscono i valori limite della presenza di ozono, ossidi di azoto, particolato fine (PM2.5) e VOC. Infatti, l'inquinamento dell'aria è uno delle principali cause di modifiche nel clima e dei danni all'ecosistema e all'uomo.

Quindi l'utilizzo di campionatori PTR o SIFT-MS è necessario per monitorare la qualità dell'aria affinché gli inquinanti non superino i valori limite imposti dalla legge. Ad esempio, i limiti giornalieri dell'Unione Europea sono per l'ozono di 180 $\frac{\mu g}{m^3}$, mentre per il particolato fine (PM2.5) fine è di 50 $\frac{\mu g}{m^3}$. Mentre per i VOC esistono dei limiti sono per quanto riguarda il benzene 5 $\frac{\mu g}{m^3}$(annuale) e il toluene che è 150 $\frac{\mu g}{m^3}$ (giornaliero).

Esistono svariati studi che hanno impiegato il PTR-MS nelle scienze dell'atmosfera, solo per citare un esempio, nel 2013 venne utilizzato il sistema PTR-TOF-MS 8000 per analizzare la variazione giornaliere di VOC in India, in particolare nella città metropolitana di Ahmedabad. Durante l'analisi ci sono state variazioni significative delle condizioni metereologiche, soprattutto a livello della velocità del vento e dell'umidità. Questo ha dimostrato che durante il periodo notturno (traffico minore) e quando il vento è a velocità elevate ci sono concentrazioni minori di VOC. Durante le analisi è emerso che i composti a concentrazioni più elevate sono benzene, toluene, acetone ed etanolo principalmente prodotti a causa di reazioni di combustione. La grande importanza del loro monitoraggio è dovuta dal fatto che alcuni di questi composti, come bifenili policlorurati e IPA, possono anche causare effetti cancerogeni o mutageni per l'uomo. Inoltre, con questo esperimento hanno rilevato che molti VOC sono precursori dei SOA[6]. Da questo studio sono iniziati ad aumentare i controlli riguardo l'inquinamento atmosferico nelle aree urbane, soprattutto dovute alla combustione dei gas di scarico e delle biomasse.

3.2 Applicazioni innovative: settore alimentare, artistico e farmaceutico.

Le tecniche di analisi PTR-MS e SIFT-MS trovano la loro applicazione innovativa in diversi settori al di fuori delle classiche analisi atmosferiche. È proprio la capacità di identificare e quantificare in tempo reale i VOC senza la necessità di pretrattamento del campione a renderli così versatili.

Se prendiamo ad esempio il settore alimentare è possibile monitorare la freschezza e la qualità degli alimenti, ma soprattutto ha un forte impatto a livello industriale. Già nel 1994 sono stati prodotti degli studi con la tecnologia GC-MS che osservavano come molti alimenti emettessero VOC. Nel 1999 Spanel e Smith hanno condotto degli studi direttamente con la tecnica SIFT-MS sull'analisi degli aromi alimentari. Fondamentalmente hanno fatto reagire alcuni dei composti aromatici principali, ossia trans-2-esanale, cist-3-esanale, limonene, benzaldeide e vanillina sia con ioni idronio che ioni NO^+. Durante lo studio si è potuto evincere che la reazione con i semplici ioni idronio non permette la distinzione tra i vari isomeri degli esanali, mentre con utilizzo di NO^+, che forma prodotti più complessi, è possibile la distinzione. Grazie

alle identificazioni degli aromi alimentari è possibile determinare la freschezza e l'autenticità dei prodotti. Attraverso le analisi spettrometriche è possibile determinare anche le variazioni di VOC durante la lavorazione diretta degli alimenti, infatti, è stato condotto uno studio che analizzava i composti organici volatili prodotti dopo aver schiacciato uno spicchio d'aglio. Inizialmente si osserva un aumento di concentrazione del disolfuro di diallile e del 1,3-ditiano, quest'ultimo progressivamente diminuisce perché si converte nel suo ossido (disolfuro di diallile). A livello industriale, invece, è stato utilizzato lo SIFT-MS nel settore di produzione della birra, analizzando i VOC emessi durante la fermentazione del lievito. Era il 2003 quando il chimico Smith ha studiato i composti organici volatili, osservando che durante il processo di fermentazione venivano emessi in concentrazioni significative etanolo e acetaldeide. Monitorando le concentrazioni dei due gas si può ottimizzare la produzione della birra rendendo il processo industriale molto più preciso e riproducibile. Il controllo della qualità ha subito un effettivo miglioramento perché i produttori possono rilevare i difetti in tempo reale, prima che abbia ripercussioni nel prodotto finale[7].

Le tecnologie di analisi spettrometriche innovative possono essere utilizzate anche nell'industria medica, infatti, è possibile individuare alcune malattie tramite l'analisi del respiro o del volatiloma urinario. Tramite l'analisi delle urine si può verificare lo stato di salute delle persone, i metodi tradizionali sono solitamente molto lunghi e possono anche non essere attendibili. Tramite degli esperimenti che mettevano a confronto l'analisi dell'urina di pazienti sani con quella di pazienti con il cancro alla prostata e alla vescica sono riusciti a riscontare dei biomarcatori, che identificano la presenza di tumori o infezioni. Ad esempio, si riscontrano concentrazioni elevate di formaldeide nei pazienti con cancro alla vescica, ma anche acetone, acidi grassi volatili e composti aromatici che possono derivare dal metabolismo delle cellule tumorali. In particolare, la presenza di formaldeide è del tutto assente nei pazienti sani e per questo motivo è possibile utilizzarla come biomarcatore precoce del cancro evitando biopsie invasive.

Mentre per quanto riguarda direttamente le infezioni all'interno del tratto urinario, esse sono causate da batteri come gli Escherichia coli, che hanno la capacità di trasformare i nitrati presenti nelle urine in nitriti e ossidi di azoto. Quindi i biomarcatori rilevati sono appunto gli ossidi e i biossidi di azoto, ma anche l'ammoniaca che è prodotta dal metabolismo del batterio, mentre per infezioni più gravi si è riscontata la presenza di H_2S. Per analizzare le urine si raccoglie inizialmente il campione in un contenitore sterile che viene vaporizzato e fatto reagire all'interno di uno SIFT-MS con l'utilizzo dello ione precursore O_2^+. In questo modo non è necessario aspettare uno o due giorni per ottenere i risultati, dato che il campione viene analizzato subito si riducono le possibilità di contaminazione dovuta a una mal conservazione.

Oltre all'analisi delle urine è possibile studiare il respiro per osservare la presenza di tumori polmonari. I sintomi di questi tumori spesso non sono molto evidenti ai primi stadi, ma una particolarità è che il corpo inizia a produrre in concentrazioni maggiori determinati VOC. Tramite alcuni studi che hanno analizzato con la tecnica SIFT-MS il respiro di soggetti sani e soggetti affetti da tumori si sono identificati i principali biomarcatori. Nei pazienti oncologici si è riscontrata una effettiva presenza di acetaldeide, che è rilasciata dalle cellule tumorali polmonari (SK-MES, CALU-1). Esse sono in grado di produrre fino a 10^6 molecole di acetaldeide al minuto, rendendolo il biomarcatore ideale.
L'accuratezza di analisi è all'incirca del 90%, inoltre, i valori delle concentrazioni variano a seconda dello stadio del tumore, ma sono rilevabili anche quando sono basse.
Ma anche le insufficienze renali sono riscontrabili con tecniche di spettrometria che analizzano il respiro umano. Quando i reni non riescono a funzionare correttamente emerge un aumento di ammoniaca e acetone del respiro dei pazienti, infatti, l'insufficienza renale causa un accumulo di sostanze tossiche nel sangue. Un biomarcatore per vedere l'efficacia della dialisi è l'isoprene, infatti, prima del trattamento medico si riscontrano concentrazioni elevate a causa delle disfunzioni metaboliche dovute alle malattie renali. In questo modo è possibile monitorare la malattia in modo sicuro e non invasivo. Le applicazioni mediche sono quindi molto interessanti perché consentono un'analisi molto rapida di specifici tumori o infezioni[7].
L'utilizzo delle tecniche spettrometriche si sta espandendo sempre di più e assistiamo alla sua applicazione anche in ambito artistico. Le opere specialmente quelle molto antiche rilasciano VOC a causa dell'invecchiamento dei materiali, per analizzarli si utilizza la SIFT-MS, che con la sua tecnica non invasiva non rischia di rovinarle. Diventa molto importante lo studio dei pigmenti quando si vuole determinare l'autenticità di un'opera. Trova le sue applicazioni anche nel restauro, infatti, si possono valutare i solventi o i pigmenti da utilizzare per rinnovare opere che si sono rovinate[4].

CAPITOLO 4. Ultime evoluzioni: switchable reagent ions e il reattore AIM

Entrambe le tecniche sono in continua evoluzione e negli ultimi anni sono stati introdotti gli switchable reagent ions (SRI) e il reattore AIM. In questo modo la precisione della separazione dei composti, la sensibilità e la quantificazione sono stati migliorati. Il primo dei due viene applicato al PTR-MS e serve per eliminare il problema del mono ione reagente, causando l'aumento di selettività e di capacità di separazione di ioni con la stessa massa. Attraverso il SRI è possibile utilizzare, oltre agli ioni idronio, gli ioni NO^+, O_2^+ e Kr^+. La ionizzazione è prodotta tramite reazioni di trasferimento di carica (CTR), il meccanismo di funzionamento si

basa sul fatto che uno ione ad alta energia di ionizzazione (IE) interagisc con una molecola neutra. Affinché avvenga la reazione di trasferimento di carica è necessario che l'IE della molecola neutra sia inferiore a quella dello ione. Quindi a differenza della tecnologia PTR, il trasferimento di carica avviene senza aggiunta di protoni. In questo modo il metodo di analisi diventa più universale, poiché oltre ai VOC è possibile analizzare anche alcuni gas inorganici come CO, CO_2, NO_x o il metano. É grazie all'introduzione dello ione di cripton che, avendo energie di ionizzazione molto elevate, riesce ad aumentare il numero di molecole che sono rilevabili. La sorgente a catodo cavo, inoltre, mantiene l'alta purezza degli ioni reagenti, per questo motivo non serve un filtro in massa e in questo modo la selettività dello strumento viene notevolmente migliorata[9].

Il reattore AIM (mobilità ionica artificiale), invece, rappresenta un'evoluzione per entrambe le tecniche migliorando l'efficacia della separazione ionica attraverso la mobilità ionica. Il metodo di funzionamento del rettore si basa appunto sull'utilizzo della mobilità ionica per separare gli ioni in base alla velocità di spostamento all'interno di un campo elettrico. Fondamentalmente viene sfruttato il meccanismo di ionizzazione per andare a formare dei complessi ionici transitori tra ione reagente e la molecola da analizzare. La stabilità degli ioni prodotti viene migliorata e in questo modo la frammentazione degli ioni è ridotta. Inizialmente vengono generati gli ioni reagenti, sia positivi che negativi, in una sorgente a bassa pressione, che si legano temporaneamente alla molecola stabilizzando lo ione. Una volta giunto nel reattore il complesso ionico si dissocia e così è possibile analizzarlo con lo spettro di massa. Una delle ultime evoluzioni di questa tecnica è il reattore Vocus AIM che opera a pressioni tra i 20 e i 500 mbar, così le condizioni di ionizzazione sono maggiormente controllate. Per questo motivo è permesso l'utilizzo di una gran varietà di ioni reagenti così da avere una maggior selettività e sensibilità. Uno dei problemi principali delle altre tecniche era l'umidità che causava la formazione di composti ionici alternativi che compromettevano l'accuratezza dell'analisi. Nel Vocus AIM è stato introdotto un sistema basato su dopanti chimici che minimizzano l'effetto dell'umidità. Le frammentazioni indesiderate sono ridotte e si raggiungono limiti dell'ordine di 0.1-5 ppt. L'utilizzo di questo nuovo reattore presenta molte migliorie nell'ambito della misura dei composti organici nell'aria. Infatti, viene migliorata la sensibilità e la selettività della misura ma vengono anche ridotti gli effetti di umidità[5].

Un'altra innovazione è la produzione di una nuova sorgente ionica che permette di analizzare in maniera più efficacie l'alta troposfera o bassa stratosfera. La sorgente di ioni si basa sulla ionizzazione da vuoto ultravioletto (VUV) e il suo principio di funzionamento si basa sull'utilizzo di una lampada a krypton che emette nell'ultravioletto. Attraverso questa lampada si producono ioni positivi e ioni negativi che permettono di aumentare il numero di specie di

composti chimici analizzabili. Le pressioni in cui opera sono molto basse e in questo modo le reazioni secondarie vengono rese marginali. La sorgente è in grado di generare anche ioni più pesanti come gli ioni benzene o gli ioni ammonio, così da permettere l'analisi anche di gas atmosferici complessi[1]. Tutte queste innovazioni nel campo di analisi spettrometriche rendono queste tecnologie molto più selettive e precise, consentendo l'analisi di molti composti in varie situazioni.

Conclusioni

L'evoluzione delle tecniche di spettrometria di massa ha permesso di migliorare significativamente l'analisi dei composti organici volatili. Le tecniche PTR-MS e SIFT-MS hanno fornito strumenti molto importanti sia per il monitoraggio ambientale, sia per l'analisi dell'aria che per applicazioni in campo alimentare e medico. Entrambe le tecniche originariamente presentano alcune limitazioni, rendendone necessario un continuo sviluppo per migliorarne sensibilità, selettività e precisione.

Si sono introdotte numerose innovazioni come gli Switchable Reagent Ions (SRI) e il reattore AIM che rappresentano un importante evoluzione nella spettrometria di massa a ionizzazione chimica (CI-MS). Fondamentalmente lo scopo delle innovazioni era quello di produrre in primo luogo sempre più ioni reagenti in modo da migliorarne la selettività e la discriminazione tra ioni aventi la stessa massa. In secondo luogo, quello di diminuire le reazioni secondarie dovute a frammentazione ionica, così da migliorare la quantificazione dei composti analizzati. Dopo questi progressi le tecniche di CI-MS sono diventati strumenti sempre più affidabili per applicazioni scientifiche, industriali e mediche, permettendo analisi più accurate e versatili. É però necessario il continuo sviluppo di nuovi metodi in aggiunta all'integrazione con strumenti di spettrometria ad alta risoluzione per superare le attuali limitazioni e migliorare ulteriormente l'accuratezza delle misurazioni.

In conclusione, le innovazioni presentate dimostrano il potenziale della spettrometria di massa nel fornire soluzioni avanzate per la caratterizzazione di composti chimici complessi. Inoltre, è evidente che l'evoluzione di queste tecniche può aprire nuove prospettive di ricerca, contribuendo al progresso in numerosi settori.

Bibliografia

1. Breitenlechner, M., Novak, G. A., Neuman, J. A., Rollins, A. W., & Veres, P. R. (2021). *A Versatile Vacuum Ultraviolet Ion Source for Reduced Pressure Bipolar Chemical Ionization Mass Spectrometry*. https://doi.org/10.5194/amt-2021-330

2. Li, Y. (2024). Advancing green analytical solutions: A review of proton transfer reaction mass spectrometry in atmospheric aerosol research. *Green Analytical Chemistry*, *11*, 100175. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.greeac.2024.100175

3. Majchrzak, T., Wojnowski, W., Lubinska-Szczygeł, M., Różańska, A., Namieśnik, J., & Dymerski, T. (2018). PTR-MS and GC-MS as complementary techniques for analysis of volatiles: A tutorial review. *Analytica Chimica Acta*, *1035*, 1–13. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.056

4. Price, D. J., Day, D. A., Pagonis, D., Stark, H., Handschy, A. v, Algrim, L. B., Miller, S. L., de Gouw, J. A., Ziemann, P. J., & Jimenez, J. L. (2021). Sources of Gas-Phase Species in an Art Museum from Comprehensive Real-Time Measurements. *ACS Earth and Space Chemistry*, *5*(9), 2252–2267. https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.1c00229

5. Riva, M., Pospisilova, V., Frege, C., Perrier, S., Bansal, P., Jorga, S., Sturm, P., Thornton, J. A., Rohner, U., & Lopez-Hilfiker, F. (2024). Evaluation of a reduced-pressure chemical ion reactor utilizing adduct ionization for the detection of gaseous organic and inorganic species. *Atmospheric Measurement Techniques*, *17*(19), 5887–5901. https://doi.org/10.5194/amt-17-5887-2024

6. Sahu, L. K., & Saxena, P. (2015). High time and mass resolved PTR-TOF-MS measurements of VOCs at an urban site of India during winter: Role of anthropogenic, biomass burning, biogenic and photochemical sources. *Atmospheric Research*, *164–165*, 84–94. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2015.04.021

7. Smith, D., & Španěl, P. (2005). Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) for on-line trace gas analysis. *Mass Spectrometry Reviews*, *24*(5), 661–700. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mas.20033

8. Smith, D., & Španěl, P. (2011). Direct, rapid quantitative analyses of BVOCs using SIFT-MS and PTR-MS obviating sample collection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *30*(7), 945–959. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.05.001

9. Sulzer, P., Edtbauer, A., Hartungen, E., Jürschik, S., Jordan, A., Hanel, G., Feil, S., Jaksch, S., Märk, L., & Märk, T. D. (2012). From conventional proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) to universal trace gas analysis. *International Journal of Mass Spectrometry*, *321–322*, 66–70. https://doi.org/10.1016/j.ijms.2012.05.003