

Scheda tecnica

Requisiti della fornitura

1. Fabbisogno

Negli anni più recenti, la letteratura internazionale indica una nuova direzione delle analisi nel settore ambientale. La possibilità di poter disporre di uno spettrometro di massa ad elevata risoluzione, accoppiato a strumentazione "fast HPLC", apre al laboratorio di analisi una serie di prospettive analitiche di estremo interesse nel campo delle indagini in matrici ambientali, consentendo un nuovo e più elevato livello di routine analitica.

Nello specifico, per le esigenze del laboratorio "Analisi dei Microinquinanti Organici" dell'Istituto di Scienze Polari (ISP-CNR) presso la Sede Secondaria di Roma- Montelibretti, una strumentazione analitica fast HPLC accoppiata con un spettrometro di massa ad alta risoluzione, costituirebbe non soltanto il raggiungimento dello stato dell'arte per l'analisi quantitativa target di microinquinanti organici emergenti (quali: farmaci, antibiotici e pesticidi di nuova generazione) e normati (quali idrocarburi policiclici aromatici, composti fenolici e pesticidi) in acqua superficiale, suolo, sedimento, vegetazione e biota marino (nello specifico pesci e molluschi), ma permetterebbe in un'unica soluzione anche di poter effettuare ricerche di tipo "general untarget/unknown".

Tale approccio si basa su una tecnica di spettrometria di massa ad altissima risoluzione nota come "Fourier Transform Mass Spectrometry" (FTMS). La possibilità di identificare un composto in base alla sua "massa esatta" è complementare alla tradizionale identificazione in base allo spettro di frammentazione ed ideale per lo screening in campo ambientale, ove le tradizionali tecniche GC/MS e HPLC/MS presentano notoriamente limiti legati alla necessità di conoscere le caratteristiche di frammentazione dei composti.

Dal punto di vista dell'analisi quantitativa, gli spettrometri di massa a Triplo Quadrupolo richiedono un elevato sviluppo del metodo analitico, in quanto bisogna conoscere le molecole che si vogliono quantificare all'interno del campione. Per ogni precursore che si vuole quantificare è fondamentale infatti conoscere l'esatto tempo di ritenzione cromatografico e le transizioni figlie che si vogliono monitorare, per avere specificità quantitativa. Inoltre possono scansionare un limitato numero di molecole target, dipendente dalla velocità di acquisizione e dal numero di canali che lo spettrometro consente di utilizzare. Al contrario, l'alta risoluzione (scansionando in full scan) non presenta tale limitazione perché in un unico canale di acquisizione è in grado di rilevare l'intero intervallo di massa.

2. Requisiti tecnici richiesti

La possibilità di impiegare la strumentazione fast HPLC-HRMS, per l'identificazione di molecole in campo ambientale, richiede alcune caratteristiche strumentali che sono indispensabili per l'affidabilità del risultato e che possono essere dettagliate come segue:

- 1) Il sistema cromatografico deve essere del tipo "Fast LC", operante a pressione di esercizio fino ad almeno 700 bar: questa caratteristica permette di ottenere separazioni cromatografiche veloci anche nell'analisi di matrici complesse, garantendo quindi un elevato "throughput" analitico.
- 2) Intervallo di massa: l'intervallo di massa analizzabile dallo strumento deve essere compreso tra **40 e 3000 m/z**, questo per permettere l'analisi e lo studio di piccole/medie molecole organiche.
- 3) Trappola Orbitale: l'analizzatore a trappola orbitale dello spettrometro di massa deve essere di ultima tecnologia e stabile alle variazioni di temperatura dell'ambiente. L'accuratezza di massa deve essere garantita senza la necessità di continue calibrazioni in linea, così come richiesto da strumenti ad analizzatore TOF.
- 4) Risoluzione: la risoluzione di massa dello strumento deve essere superiore a **100.000 FWHM** per un valore di $m/z = 200$. Questa caratteristica è molto importante nello studio di piccole molecole ($m/z < 1000$). Infatti, una tale risoluzione permette di ottenere l'esatto profilo isotopico delle molecole di interesse, con una elevata precisione in termini di intensità dei vari isotopi. Questo aspetto, assieme ad un'elevata accuratezza di massa, rende lo spettrometro FTMS lo strumento ideale per le applicazioni di interesse nella caratterizzazione di composti incogniti.
- 5) Lo strumento ha la capacità di acquisire spettri SIM (Single Ion Monitoring) in modalità **Multiplexing con 20 ioni precursori per ciclo di acquisizione**: Tale caratteristica consente allo strumento di ridurre la durata del ciclo di acquisizione completo (Duty Cycle) e pertanto di aumentare il numero di misurazioni all'interno del picco cromatografico in modalità SIM, per una maggiore accuratezza nell'analisi di tipo target-quantitativa.
- 6) Lo strumento FTMS a trappola orbitale di ultima generazione è in grado di abbinare elevate velocità di scansione in modalità MS (22 Hz) mantenendo una elevatissima risoluzione nella selezione dei precursori in MS, senza compromessi della sensibilità strumentale. Duty cycle molto veloci consentono di poter ottenere un numero elevato di data point per picco senza compromettere il potere risolutivo dello strumento: requisito fondamentale per analisi di screening target e un-target.
- 7) Bassa interferenza nelle procedure strumentali: l'analizzatore a trappola orbitale garantisce una elevata stabilità e accuratezza nella rilevazione delle masse grazie alla robustezza dell'analizzatore e alla sua elevata resistenza alle interferenze ambientali esterne.

- 8) Lo sviluppo del metodo in alta risoluzione è minimo, in quanto lo spettrometro è in grado di operare in modalità di acquisizione Full Scan MS e quindi permette l'acquisizione di una vasta gamma di molecole su l'intero intervallo di massa analitico. Questo consente allo spettrometro in alta risoluzione di poter garantire non solo analisi di conferma ma anche l'eventuale screening di sostanze incognite nel campione analizzato.

Inoltre, come prospettiva di implementazione della tecnologia, lo strumento da acquisire dovrebbe poter essere interfacciato (e controllato in ogni specifica funzione) con sistemi di cromatografia ionica "Dionex". Nell'esigenza di eseguire determinazioni su campioni polari, dove i livelli di concentrazioni di tali contaminanti è spesso a livello di sub traccia, tale possibilità di interfacciamento presenta degli indiscutibili vantaggi rispetto al sistema LC-MS tradizionale, ovvero:

- Possibilità di determinare in una singola corsa cromatografica una serie ampia di pesticidi polari e non solamente AMPA (acido amino-metil-fosfonico), Glifosato e Glufosinato (Acido Fosfonico, Idrazide Maleica, Fosetil Al, clorato, Perclorato).
- Iniezione diretta del campione senza alcuna necessità di derivatizzazione (l'approccio LC-MS classico prevede in alcuni casi una derivatizzazione mediante 9-fluorenylmethyl cloroformiato - FMOC).
- Risoluzione dei problemi cromatografici tipici dell'analisi di sostanze polari in cromatografia tradizionale (es. stabilità dei tempi di ritenzione con utilizzo di colonne Hypercarb).
- Possibilità di lavorare con 2 detectors in serie (Conduttimetro e Spettrometro di massa) il che permette di determinare nella stessa corsa oltre ai pesticidi anche i comuni anioni utilizzando il conduttimetro come in un classico IC (cromatografo a scambio ionico).
- Possibilità di determinare pesticidi cationici con una linea dedicata che può essere alternata a quella degli anioni in totale automazione (Diquat, Paraquat, Mepiquat...)
- Analisi degli acidi aloacetici.

3. Strumenti individuati e costi attesi

Un'accurata ed estesa indagine effettuata utilizzando i principali motori di ricerca, le riviste specializzate e la documentazione disponibile on-line presso i produttori e i distributori, ha permesso di identificare lo spettrometro di massa ad alta risoluzione (HRMS) "Exploris 120" basato su trappola orbitale FTMS (Orbitrap), accoppiato a sistema HPLC "Vanquish Core", come il solo prodotto capace di soddisfare le esigenze tecniche richieste. Thermo Fisher Scientific è produttrice esclusiva dello spettrometro di massa a tecnologia ibrida "Exploris 120" e dei relativi sistemi cromatografici sopra menzionati. Il sistema in oggetto, basato su spettrometro di massa a trappola orbitale "Exploris120" è un'apparecchiatura di estrema sensibilità e risoluzione, utile in tutti gli ambiti di controllo e ricerca in cui si deve identificare, quantificare e confermare

la più ampia gamma di sostanze in un ampio spettro di peso molecolare e in matrici di qualsiasi tipo. La sensibilità dello strumento consente di utilizzare una limitata quantità di campione, mentre l'accuratezza di massa alla quarta cifra decimale propria dell'Orbitrap, consente all'operatore di affrontare al meglio la sfida dell'eventuale identificazione di una sostanza incognita in matrici diverse, quali acque pulite o sporche.

Di seguito sono riportate le caratteristiche di unicità di cui il sistema è dotato.

- Spettrometro di Massa a Trasformata di Fourier (FTMS) funzionante in base ad un nuovo concetto brevettato da Thermo Fisher, che non utilizza campi magnetici (generati da magneti a superconduzione con conseguenti sistemi criogenici), radiofrequenze o misura di tempi di volo (TOF) per separare gli ioni di diverso valore di massa/carica come negli spettrometri attualmente in commercio, ma utilizza un campo elettrostatico applicato ad un elettrodo centrale intorno al quale ruotano in modo radiale ed assiale gli ioni stessi.

- La determinazione del rapporto massa su carica (m/z) degli ioni avviene misurando nel tempo la corrente generata dal movimento assiale degli ioni medesimi.

- La Trasformata di Fourier viene utilizzata per convertire il segnale acquisito nel tempo in quello delle diverse frequenze ed intensità che lo compongono da cui viene calcolata la massa e la quantità degli ioni.

La risoluzione dello spettro di massa ottenuto dipende dalla durata del tempo di osservazione senza perdita di intensità del segnale al suo aumentare.

- Lo spettrometro di massa **Exploris 120** è in grado di garantire una Risoluzione massima di: **120.000 misurata a m/z 200.**

- Lo strumento ha la capacità di acquisire spettri SIM (Single Ion Monitoring) in modalità **Multiplexing con 20 ioni precursori per ciclo di acquisizione**: Tale caratteristica consente allo strumento di ridurre la durata del ciclo di acquisizione completo (Duty Cycle) e pertanto di aumentare il numero di misurazioni all'interno del picco cromatografico in modalità SIM, per una maggiore accuratezza nell'analisi di tipo target-quantitativa.

- Polarity Switching: **Un ciclo completo * in 0,7 s ad una risoluzione di 60.000 (@200 m/z)**

(*una scansione in modalità ioni positivi e una scansione in modalità ioni negativi)

- La tecnologia Orbitrap è protetta dai seguenti brevetti:

Orbitrap Patent Number US 6,872,938 B2;

Orbitrap Patent Number US2013/0264473 A1;

Inoltre, lo Spettrometro di Massa possiede le seguenti caratteristiche uniche aggiuntive proprie della serie Exploris:

- Possibilità di frammentazione: HCD (Higher Energy Collision Dissociation) nella cella quadrupolare dell'Orbitrap con generazione di uno spettro di frammentazione;

- Possibilità di isolamento dello ione precursore in alta risoluzione:

HRI con isolamento pari a 0.4 amu;

Data Dependent Scan™;

- Possibilità di acquisire in contemporanea spettri MS-Full Scan e MS/MS.

Infine gli spettrometri di massa a filtro quadrupolare accoppiati ad un sistema FT-MS basati sulla nuova tecnologia Orbitrap e denominati Exploris sono commercializzati unicamente ed esclusivamente da Thermofisher Scientific S.p.a Italia su tutto il territorio nazionale e non vi sono altri rivenditori autorizzati a praticare sconti sul prezzo di listino.

Il costo massimo atteso per l'acquisizione della fornitura, compreso di training, garanzia full risk di 24 mesi, trasporto e l'installazione è di € 247.900,00 IVA esclusa.

Roma, 12/02/2020

