

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE .....</b>	<b>3</b>
<b>1.ORGANIZAREA MATERIEI .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Nivele de organizare a materiei .....</b>	<b>7</b>
1.1.1 Cinci nivele de organizare ale materiei.....	8
1.1.2 Organizarea unui polimer.....	11
1.1.3. Organizarea structurilor biologice .....	11
<b>1.2.Relazia proprietate-structura - tipuri de sinteze .....</b>	<b>12</b>
<b>1.3. Metode de caracterizare.....</b>	<b>15</b>
<b>1.4. Polimeri, caracteristici generale.....</b>	<b>15</b>
1.4.1 Proprietățile polimerilor.....	16
1.4.2 Polimeri cristalini .....	19
1.4.3 Polimeri amorfo- cristalini.....	20
1.4.4 Cristalinitatea și structura polimerului .....	21
1.4.5 Cristalinitatea și forțele intermoleculare .....	21
1.4.6 Reticularea .....	22
<b>1.5 Biopolimeri, polimeri biocompatibili.....</b>	<b>23</b>
<b>1.6 Polimeri: relația structură-proprietate- procesare.....</b>	<b>26</b>
<b>1.7 Referințe .....</b>	<b>29</b>
<b>2. MASE MOLECULARE.....</b>	<b>31</b>
<b>2. 1 Cromatografia de exclusiune sterică .....</b>	<b>31</b>
2.1.1 Metoda experimentală.....	32
2.1.2 Etalonarea.....	34
<b>2.2.Masa moleculară a polimerilor .....</b>	<b>36</b>
2.2.1 Masa moleculară medie numerică .....	38
2.2.2 Masa moleculară medie gravimetrică .....	39
2.2.3 Alte tipuri de valori medii.....	40
2.2.4 Funcții de distribuție pentru masele moleculare .....	40
<b>2.3 Referințe .....</b>	<b>46</b>
<b>3. SPECTROMETRIA DE MASĂ (SM) .....</b>	<b>47</b>
<b>3.1 Istoric.....</b>	<b>48</b>
<b>3.2.Dezvoltarea SM.....</b>	<b>49</b>
<b>3.3 Rolul spectrometriei de masă în tehnicile de analiză fizico-chimice .....</b>	<b>51</b>

<b>3.4 Bazele spectrometriei de masă .....</b>	<b>52</b>
<b>3.5 Metode de ionizare, separare și detecție .....</b>	<b>54</b>
3.5.1. Ionizarea moleculelor .....	54
3.5.2 Selectarea și accelerarea ionilor .....	60
3.5.3 Selectarea-detecția ionilor după timp de zbor (TOF) .....	61
3.5.4 Separarea ionilor în câmpuri magnetice .....	62
3.5.5 Separarea ionilor în câmpuri cuadrupolare, trape Penning .....	63
3.5.4 Detecția .....	64
<b>3.6 Spectrul de masă al substanțelor .....</b>	<b>65</b>
3.6.1 Spectrul de masă al elementelor .....	65
3.6.2 Spectrul de masă al compușilor organici .....	67
<b>3.7 Polimeri-spectre de masă .....</b>	<b>73</b>
3.7.1 Poliolefine .....	73
3.7.2 Polimeri acrilici .....	75
<b>3.8 Probleme și exemple .....</b>	<b>76</b>
<b>3.9 Referințe .....</b>	<b>80</b>
<b>4.SPECTROSCOPIA DE MASA CU IONI SECUNDARI (SIMS).....</b>	<b>83</b>
<b>4.1 Principiul de funcționare .....</b>	<b>84</b>
<b>4.2 Domeneniul de aplicații.....</b>	<b>87</b>
<b>4.3 SIMS cu timp de zbor, TOF-SIMS .....</b>	<b>88</b>
4.3.1 Domeniul de măsură .....	91
4.3.2 Limitele de detecție .....	92
4.3.3 Rezoluția în masă .....	92
4.3.4 Profile de adâncime obținute prin TOF-SIMS .....	93
4.3.5 Generarea de imagini .....	93
4.3.6 Spectrometrul de masă ionică cu timp de zbor .....	94
<b>4.4 Referințe .....</b>	<b>96</b>

## Introducere

Metodele de analiză fizico-structurală a materialelor constituie elementele de bază în determinarea relației dintre structură-proprietate-procesare pentru orice domeniu al științei materialelor. Ele furnizează date despre comportarea și proprietățile acestora legate de structură, natura forțelor de interacțiune, organizare structurală. Cum fiecare domeniu din știința materialelor are metode de investigare specifice ele se pot subclasifica în metode structurale, fizice și analitice comune pentru orice tip de material respectiv specifice pentru a măsura o proprietate particulară.

Diversitatea și necesitatea de a proiecta noi tipuri de materiale avansate a condus la combinații altădată nebănuite (de exemplu puncte cuantice sau nanopulberi pe suporturi de biopolimeri pentru imagistică medicală sau transport dirijat de medicamente, materiale mezocelulare, nanocompozite, nanotuburi etc.)

Toate pot fi investigate din punct de vedere al masei și distribuției moleculare (spectrometrie de masă, difuzia luminii, potențial zeta, cromatografie), al structurii (XRD, Raman, FT-IR, RMN), al compoziției ( fluorescență X, XPS, ESCA, Auger, spectroscopie de emisie) numai a aminti câteva din ele.

Diversitatea materialelor prezentată succint în capitolul 1 a impus diversificarea metodelor de investigare prin creșterea rezoluției, sensibilității și a limitelor de detecție pînă la ordine de femtomoli sau rezoluții de ordinul 1-2 angstromi pentru microscopul electronic sau de forțe atomice. Deși principiile fizice au rămas aceleași tehnologia avansată și implementarea nanotehnologiilor a impulsionat dezvoltarea de noi instrumente de investigare mai performante.

Multe din exemple și aplicații sunt din domeniul științei polimerilor avînd în vedere dezvoltarea lor explozivă și varietatea, altădată inimaginabilă, a aplicațiilor.

Analiza și caracterizarea materialelor, a stucturilor macromoleculare și supramoleculare în particular a sistemelor polimere este o subtopică de larg interes în domeniul analizelor chimice și fizice de investigare a organizării complexe a materiei. Tehnicile spectroscopice dezvoltate de fizica secolului XIX și XX au devenit metode uzuale de investigare structurală în chimia analitică, organică sau macromoleculară: spectroscopia IR, Raman, UV-Viz, Rezonanța Magnetică Nucleară (RMN). Tehnici de caracterizare tradiționale din fizica stării solide, difracția de raze X, microscopie electronică, analiza termică diferențială s-au extins spre fizico-chimia sistemelor macromoleculare contribuind la elucidarea multor aspecte structurale inclusiv decelarea structurii proteinelor sau a acizilor nucleici respectiv a ADN-ului. La tehnicile specifice de investigare a proprietăților polimerilor ce erau focalizate pe caracteristici specifice (vîsco-elasticitate, mecanice, vîscozimetrice) le-au fost adăugate unele din fizico-chimia coloizilor pentru investigarea structurii lanțurilor și a distribuției maselor moleculare: cromatografia pe gel permeabil sau de exclusiune sterică, împrăștierea la unghiuri mici a radiației X (SAXS) sau a neutronilor (SANS). De menționat dezvoltarea actuală a metodelor

de împrăștiere a luminii ( difuzia Rayleigh) a permis o dată cu introducerea surselor laser la facilitarea caracterizării distribuțiilor maselor moleculare, volumului hidrodinamic, vîscozitatea intrinsecă, potențial zeta prin noile tehnici de împrăștierea dinamică a luminii (DLS), autocorelația fasciculelor.

Poate că cel mai sugestiv exemplu de utilizare a metodelor de investigare a morfologiei și a interacțiilor la nivel molecular este microscopia de forțe atomice (AFM) care a permis topografierea interacțiilor inter și intramoleculare dintre lanțurile polimerice. AFM și microscopia de baleiaj prin efect tunel (STM) au deschis noi orizonturi atît pentru știința materialelor cît și pentru fizico-chimie: investigarea mecanismelor de reacție ( single molecular chemistry), autoasamblare, organizarea materiei de jos în sus ( metodele bottom-up), funcționalizare etc.

O enumerare a noilor tehnici de investigare a materialelor polimere este pe departe a fi exhaustivă. Pe măsură ce noi tehnici se perfecționează ele au un impact important în caracterizarea acestora. Un exemplu este spectroscopia de masă care a fost considerată ca un instrument auxiliar în caracterizarea polimerilor în special a distribuției maselor moleculare. O dată cu trecerea de la metodele de ionizare electronică, ce induceau largi fragmentări ale lanțurilor macromoleculilor, la ionizarea prin pulverizare (ESI) sau prin desorpția dintr-o matrice prin ionizare sub acțiunea unui fascicul laser (MALDI) caracterizarea macromoleculilor respectiv a polimerilor s-a dezvoltat exploziv. Este pentru prima dată cînd se pot investiga pe lîngă determinarea maselor moleculare absolute, distribuții și aspecte asupra conformațiilor sau organizării locale a sistemelor macromoleculare. Combinarea cromatografiei pe gaze, lichide sau de excluziune sterică cu spectroscopia de masă cu timp de zbor sau cu analizoare cuadrupolare, trape ionice, sectoare multipolare au devenit arsenalul comun al metodelor moderne de caracterizare.

Din acest motiv necesitatea reevaluării metodelor moderne de investigare se impune mai ales că la nivelul literaturii de specialitate se simte o lipsă a unei cărți care să pună la dispoziție un material pentru specialiști în tehnicile de caracterizare cu diferite nivele de pregătire. Cartea are ca scop să furnizeze atît materiale de referință ca o introducere în metodele moderne de caracterizare dar și ca un instrument util de formare de cercetători sau de utilizare în descifrarea structurilor și proprietăților noilor materiale avansate.

Metodele moderne de caracterizare au o evoluție dinamică nemaifiind specifice unui domeniu sau a unei specializări ele devin rapid comune științei materialelor chiar dacă s-au dezvoltat inițial pentru o caracterizare punctuală. În acest context cartea abordează problematica metodelor de investigare și caracterizare de la simplu pînă la limita de specializare pentru un domeniu specific. Aceasta va permite unui specialist într-o metodă de caracterizare să poată corela rezultatele cu alte metode. În aceeași măsură cartea furnizează materialul de bază pentru formarea de cercetători care doresc să se inițieze și perfecționeze într-o metodă specifică de analiză fizico-structurală.

Necesitatea unei cărți care să introducă pe cititor în metodele moderne de investigare a materialelor se impune întrucît literatura de specialitate le cuprinde sporadic în capitole disparate. Mai mult unele monografii tratează metodele la o

înalta ținută științifică devenind greu accesibilă pentru tinerii cercetători sau studenții de la Master. Această carte vine în sprijinul acestora dar și a cercetătorilor care doresc să combine mai multe metode în vederea investigării materialelor complexe.

Metodele descrise fac parte din categoria determinărilor maselor moleculare, compoziției, fragmentării imagistică a distribuției de mase moleculare: spectrometria de masă, cromatografia de excluziune sterică (SEC), spectrometria de masă cu timp de zbor (TOF-SM), desorpții și ionizări din matrici sub acțiunea radiației laser (TOF- MALDI)

Întrucât multe metode sunt noi iar abrevierile literaturii de specialitate sunt diverse uneori dificil de echivalat cu termeni din literatura științifică română s-a preferat menținerea abrevierilor originale acolo unde se impune. Aceasta va conduce și la o familiarizare cu terminologia internațională.

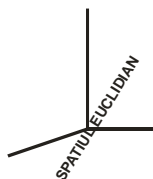


# Capitolul 1

---

## 1. Organizarea materiei

### 1.1 Nivele de organizare a materiei



Atomii sunt capabili să formeze combinații, sisteme organizate, structuri și arhitecturi: molecule, clusteri, cristale, cristale moleculare, polimeri, materia vie. Toate formele de materie, “umple spațiul Euclidian“, formînd universul material cu geometria sa într-o perfectă armonie cu forțele de interacțiune ce mențin echilibrul dinamic.

*Natura* în miliarde de ani utilizand energii primare a asamblat atomii în structuri ordonate, a creat primele structuri organizate-cristalele, primii compuși moleculari- moleculele, a asamblat moleculele în macromolecule și cristalele moleculare, a creat primele ansamble supramoleculare cu diferite nivele de organizare - proteine, ADN, ARN, enzime, etc. În decursul evoluției au apărut forme de organizare primare autoreproductibile cu capacitate de diferențiere și reproducere.

În final a generat lumea vie și pe cea mai perfectă organizare înzestrată cu inteligență, omul.

*Omul*: un mimetic al naturii a observat, copiat, a creat noi materiale și substanțe, metode de investigare asociind modele calitative și cantitative pentru descrierea acestora. Cu toate acestea nu s-a ajuns încă să se genereze forme androide deși s-au produs mari realizări în înțelegerea structurilor neuronale, inteligenței artificiale, materiale biocompatibile, ingineria țesuturilor ( domenii astăzi cunoscute ca polimeri electroactivi, mecatronică, biomimetică).

Progrese excepționale s-au realizat în sinteza materialelor avansate, ingineria genetică, proteomică, manipularea atomilor, componente și biocomponente cu capacități de autoasamblare și auto-organizare. Toate acestea sunt rodul unei diversități de instrumente, tehnici de analiză și investigare de înaltă rezoluție a materiei.

Toate acestea au loc în spațiul fizic 3D-euclidian dominat de atomi și de forțele de interacțiune fundamentale ce impun simetria și organizarea pe diferite nivele:

- Atomii - simetrie sferică impusă de natura forțelor electromagnetice;
- Moleculele- formele simple, au simetria figurilor geometrice euclidiene impusă de natura forțelor intermoleculare;
- Cristalele- sunt cele mai perfecte forme ale geometrie euclidiene- interacțiunea este guvernată de forțe electrostatice (legatura ionica) sau/și cuantice ( cristalele covalente);
- Macromoleculele- nivele de organizare induse de natura legaturii chimice și de forțele intermoleculare;

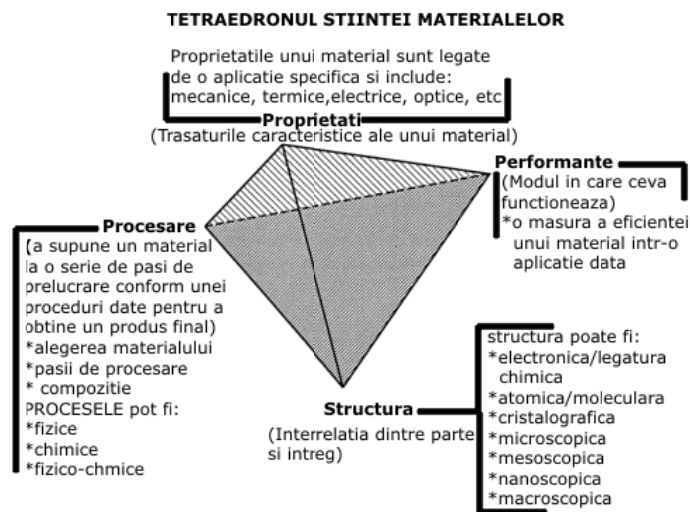
- Biomoleculele- nivele de organizare superioare;
- Materia vie- cea mai complexă organizare - în aparență fără simetrie, totuși cea mai perfectă;

În concluzie:

- Spațiul euclidian înzestrat cu câmpuri și atomi capătă simetrii din cele mai perfecte, compatibile cu geometria lui Euclid;
- Materia de la un anumit nivel de ansamblare devine autodeterminantă- se reproduce, autoasamblează este înzestrată cu inteligență;

În acest lanț trofic organizarea cea mai superioară este ființa vie respectiv omul.

Experiența acumulată în decursul evoluției civilizației de la observație, prelucrarea materiei, sinteze, până în prezent când instrumentele nanotehnologiei pot crea noi arhitecturi și structuri ale materiei nerealizate de natură, arată că omul și-a dezvoltat un model cognitiv de investigare care este sintetizat în figura 1.1, tetraedrul cunoașterii.



**Figura 1.1** - Tetraedrul științei materialelor, relația intrinsecă dintre structură-proprietate cu procesare-performanțe

### 1.1.1 Cinci nivele de organizare ale materiei

1. Structura electronică, legătura chimică: Numărul și modurile în care electronii de valență sunt “angajați” în realizarea legăturilor chimice.

*Exemplu:* Si ( $Z=14$ ) are patru electroni de valență disponibili din configurația ( $ns^2 np^2$ ) și este în măsură să se lege de alți patru orbitali ale atomilor vecini. Carbonul ( $Z=6$ ) deși are aceeași configurație a păturii electronice de valență ca și Si el este mult mai versatil în crearea de legături chimice punând în evidență trei tipuri de stări de hibridizare:  $sp^3$ - patru legături,  $sp^2$ - trei și  $sp^1$ - două legături.



2. Structura atomică/moleculară: Atomii, moleculele, monomerii, constituie “unitățile de construcție”( unitățile structurale repetabile- USR) a oricărui tip de material sau substanță.

*Exemple*: Silicea (  $\text{SiO}_2$  ) – sau “monomerul de silice”- este alcătuit dintr-un atom de Si ce este legat tetraedric de patru atomi de oxigen aflați în vârfulurile acestuia ( atomii de oxigen ei însăși sunt legați la doi atomi de Si). La fel se poate spune și despre carbura de siliciu, SiC deosebirea fiind că SiC are o serie largă de politipi, forme ale aceluși polimorf identic în organizare 2D dar diferit în aranjamentul planelor pe a treia direcție.

3. Structura cristalină (ordonată): Aranjamente periodice în spațiu (sau după anumite reguli) de atomi / molecule/ monomeri.

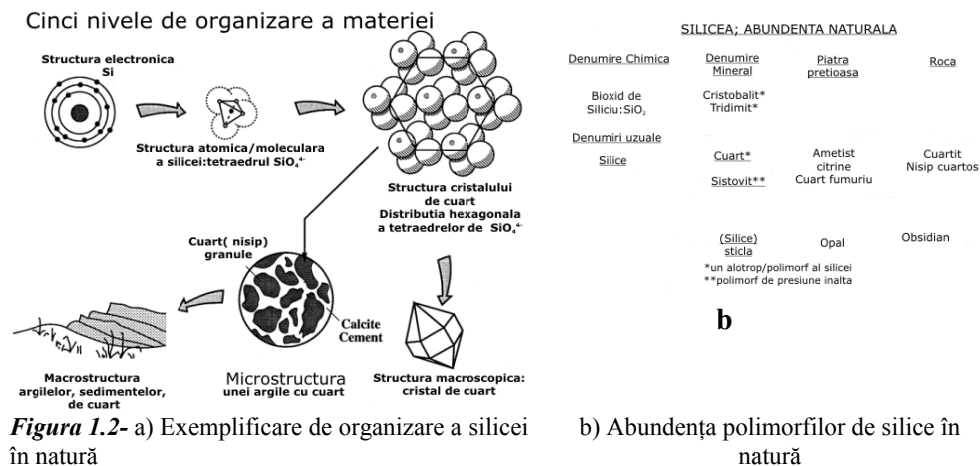
*Exemple*: Silica sau silicea este polimorfică avînd cîteva reprezentări de aranjamente periodice; tridimitul o structura hexagonală; cristobalitul, structura cubică; sticla de silice are o structură amorfă; cuarțul, structura hexagonală. Indiferent de aranjamentul spațial toți polimorfii au aceeași structură monomerică  $\text{SiO}_2$  sau mai precis compoziție chimică. Carbonul are polimorfi: diamantul, grafitul, fullerene, nanotuburi. SiC: este un reprezentant tipic cu polimorfi și politipi

4. Microstructura: Distribuția și dimensiunea USR într-un material cu un anumit aranjament spațial (Granulația, fazele, textura, defectele, etc)

*Exemple*:Microstructura unei argile constă din granule fine de cuarț într-o matrice de carbonat de calciu ( forma calcit).

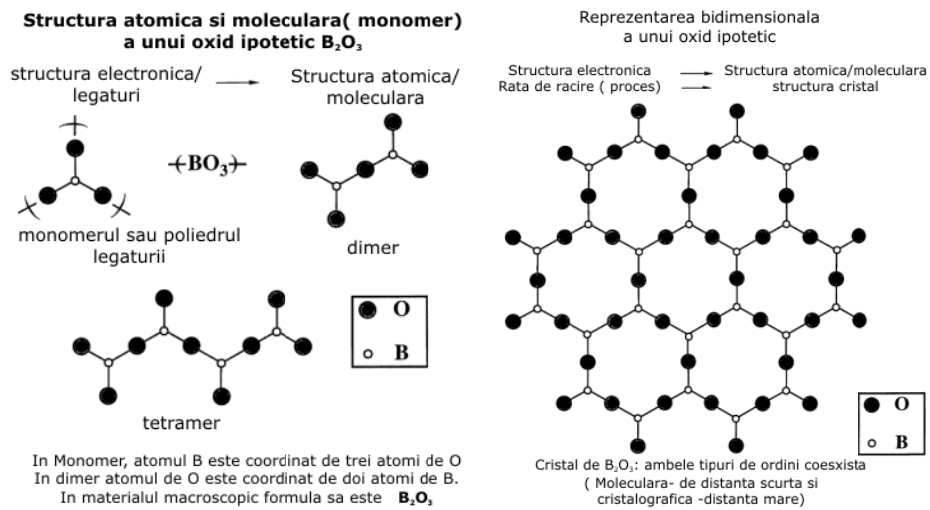
5. Macrostructura: Forma, dimensiunile, aspectul unei structuri la nivel macroscopic.

*Exemple*: un cuarț dopat devine o piatra semiprețioasă ( ametistul) cu formă, aspect și culoare bine precizate macroscopic. În figura 1.2, este reprezentat sugestiv evoluția siliceii pe cele cinci nivele de organizare.



*Silicea* și formele naturale: Cuarțul care este forma cristalină (polimorf) a siliceii (  $\text{SiO}_2$  ), poate fi clasificat fie ca o ceramică sau ca un mineral. Ea este omniprezentă datorită faptului că crusta terestră este majoritar formată din Si și

oxigen combinate în diferite forme. Silicea este un major ingredient în orice tip de sticlă, o ceramică amorfă ce a fost folosită încă de acum 5000 ani de către civilizație. Obsidianul ( sticla vulcanică) a fost un element major de comerț încă din cultura Neolitică ( Cultura Anatoliană de la Çatal Hüyük). Silicea amorfă este un exemplu de polimer anorganic, un oxid care prin procese de dimerizare conduce la formarea unei rețele bidimensionale cunoscute sub denumirea generică de sticle. Analiza mecanismelor formării sticlelor este un bun exemplu de a înțelege tranzițiile amorpho-cristaline, definiția intuitivă a temperaturilor de tranziție  $T_g$ . În acest sens se va considera un caz ipotetic de organizare a unui oxid punându-se în evidență aspectele de organizare pe diferite nivele (figura 1.3)

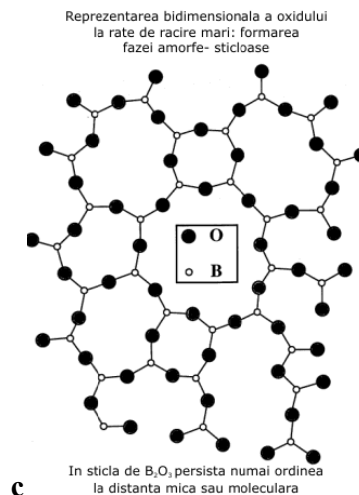


a

b

**Figura 1.3-** Etape de formare a unui oxid ipotetic, transformarea într-o structură organizată (oxid ipotetic) respectiv într-o stare amorfă, sticloasă. Se observă că analiza pe acest oxid ipotetic s-a limitat pînă la nivelul 3 de organizare interesîndu-ne numai organizarea materiei la nivel microscopic

- structura electronică
- dimerizare, formare UR,
- solidificare organizare structurală (b,c)



c

### 1.1.2 Organizarea unui polimer

Un polimer este un ansamblu de Unități structurale repetitive (USR) provenite de la moleculele (merii) ce au reacționat după o anumită reacție de polimerizare și s-au organizat în diferite arhitecturi cu anumite reguli de repetare, înlanțuire, structurare. Sugestiv figura 1.4 descrie o simplă definiție și clasificare a polimerilor. Nu întotdeauna USR-urile coincid cu moleculele ce au participat la sinteza polimerilor.

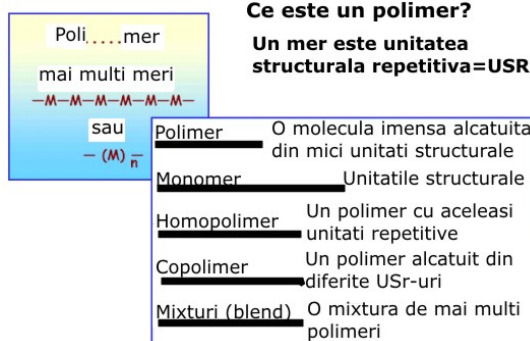


Figura 1.4- Polimer, definiție, clasificare sumară

Cît de mare poate fi un polimer este reprezentat în figura 1.5. Se poate observa imediat, pentru polietilenă, cu 400 de meri, masa moleculară  $M = 28 \times 400 = 11200$ . Într-un polimer dimensiunea lanțurilor macromoleculelor este variabilă fiind o consecință a istoriei reacției de polimerizare (întreruperea, disproporționarea, ramificarea). Orientarea macromoleculelor nu este în general preferențială dar proprietățile polimerilor sunt puternic dependente de distribuția maselor moleculare și de orientarea acestora, starea lor conformațională.

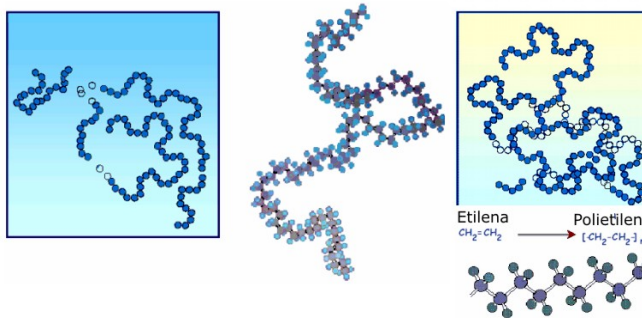


Figura 1.5- Dimensiunea unui polimer la nivel structural (nivelul 2 respectiv 3 de organizare)

Polimerii în general sunt faze amorfe unde predominantă este ordinea la mică distanță. Prin procese specifice de cristalizare orientată sau indusă ei pot avea diferite grade de cristalinitate. Rețeaua cristalină este complexă cu baze asociate formate din mai multe unități merice. În multe privințe formele cristaline ale polimerilor se aseamănă cu cristalele moleculare unde forțele Van der Waals și de dispersie sunt dominante.

### 1.1.3. Organizarea structurilor biologice

O descriere intuitivă a nivelelor de organizare a structurilor biologice (biomolecule, biopolimeri) este raportată la scopul de a descrie acele tipuri de materiale ce sunt supuse investigațiilor structurale. Nivelele de organizare ale structurilor biologice sunt în directă dependență de nivelele de organizare a materiei:

- *Primar*- atomi, molecule, ioni, cristale;

- *Secundar*: substanțe anorganice, stări de agregare, organice mic moleculare, cristale moleculare;

Materia biologică poate fi intuitiv clasificată astfel:

- Primul nivel biologic: lichidele biologice, aminoacizi, monozaharide cu greutate moleculară de 250 Daltoni.
- Al doilea nivel biologic: lipide, esterii acizilor grași, etc: 500-1000 D
- Al treilea nivel biologic (*structura primară* a lanțurilor-scheletul molecular- arhitectura moleculară): proteine, acizi nucleici, polizaharide, soluții coloidale de biopolimeri etc:  $>10^4$  D, grade de polimerizare mai mari de  $10^5$ . *Structura primară* poate asimila pe suportul său fizic o mare cantitate de informație prin numărul de microstări (conformațiile ansamblului molecular)
- Al patrulea nivel biologic (*structura secundară*): definește de regulă relațiile conformaționale dintre unitățile monomere vecine, efectele cooperative. Se disting structuri secundare “cristaline”( elicea dublă la acizii nucleici) și “ amorfe”( ghem statistic).
- Al cincilea nivel biologic (*structura terțiară*): se referă la conformația spațială globală a întregii structuri ( în cazul polimerului la întregul lanț)
- Al șaselea nivel biologic (*structura cuaternară*): Structurile active (ex proteine, enzime, anticorpii) sunt asociate cu un număr mic de polipeptide iar centrele active din structuri ce conțin ioni sau micromolecule cu sisteme conjugate în calitate de “cofactori” cu un rol esențial în recunoașterea stimulului și deschiderea sau închiderea căilor de acces spre structura “mamă” pentru procesarea informației și realizarea unui eveniment
- SUPERSTRUCTURILE: agregatele mari de biomolecule cu structuri și funcțiuni precise: cromozomi ( lanțuri de ADN), ribozomi, etc
- Celula: unitatea de bază a întregului- organ, organism, ansamblu de organe, etc

## 1.2. Relația proprietate-structură - tipuri de sinteze

Orice ansamblu de atomi configurat în diferite forme de la molecule, cristale la macromolecule, polimeri, stări de agregare au proprietăți fizice legate direct de structura și modul de aranjare în spațiul euclidian. Un ansamblu organizat după regulile proprii, formează un compus, corp sau un sistem. Un sistem este delimitat de o frontieră: suprafața de separare deasemeni cu proprietăți fizice perfect delimitate, prin care se realizează interacțiunea cu celelalte corpuri (sisteme);

Un sistem este caracterizat prin proprietăți:

- globale (macroscopice): geometrice, mecanice, termice, electrice, optice, etc
- structurale: organizarea și dispunerea “motivelor” atomice sau moleculare în aranjamente cristaline locale sau globale

- microscopice: topografie , morfologie la nivel microscopic
- nanoscopice: ansamble și structuri moleculare, organizare, autoorganizare
- la scală atomică: legătură chimică, efecte cuantice
- la scală subatomică: proprietăți nucleare ale materiei

Corelarea proprietăților macroscopice cu cele microscopice și structurale este elementul cheie în dezvoltarea modelelor, exploatarea materialelor în tehnologii, crearea de noi materiale avansate

Cîteva comentarii asupra noilor concepte de sinteză a materialelor:

- Ansamblarea atomilor în structuri și sisteme organizate este consecința *motoarelor moleculare*= reacțiile chimice programabile în secvențe bine precizate, inițiate sau frînate datorită suplimentului de energie furnizat în sistem ( sau eliberat din sistem; fluctuațiile joacă rol important)
- Ansamblul motoarelor moleculare puse să lucreze în secvențe programate= mașinării moleculare
- Procesul de sinteză cu mașinării moleculare=fabricații moleculare (molecular manufacturing)
- Ansamblul de mașinării moleculare programate = nanoboți

Într-un cuvînt am putea spune că totul este inginerie moleculară. Mașinăriile moleculare lucrează cu reacții chimice la nivel atomic și molecular unde legile micromecanicii clasice și cuantice guvernează acest univers microfizic= mecano-sinteză. Nanoboții utilizează numai mecano-sinteză; Chimistii utilizează reacțiile chimice la scară macroscopică. Sinteza *chimică* și *mecano-sinteză* au echivalențe dar lucrează la alte scări dimensionale:

- macroscopic utilizînd instrumente microscopice (incertitudinile și fluctuațiile, difuzia, agitația termică sunt dominante)
- microscopic: mecano-sinteză, este limitată numai de principiul incertitudinii poziționării moleculelor sau UR-urilor în spațiul 3D, realizarea conexiunilor interatomice sau moleculare.

În acest sens am putea defini *Nanotehnologia ca o ramură a științelor naturii ce utilizează instrumente de a ansambla atomi în structuri și șabloane autore-generabile, autoasamblabile, astăzi cunoscută sub cuvîntul generic "bottom-up"*.

Spre deosebire de metodele macroscopice unde obiectele sau materialele sunt micro/miniaturizate pentru a alcătui structuri sau obiecte ( metoda top-down)

NANOTEHNOLOGIA este ȘTIINȚA ȘI ARTA FABRICĂRII LA NIVEL MOLECULAR ( Molecular manufacturing).

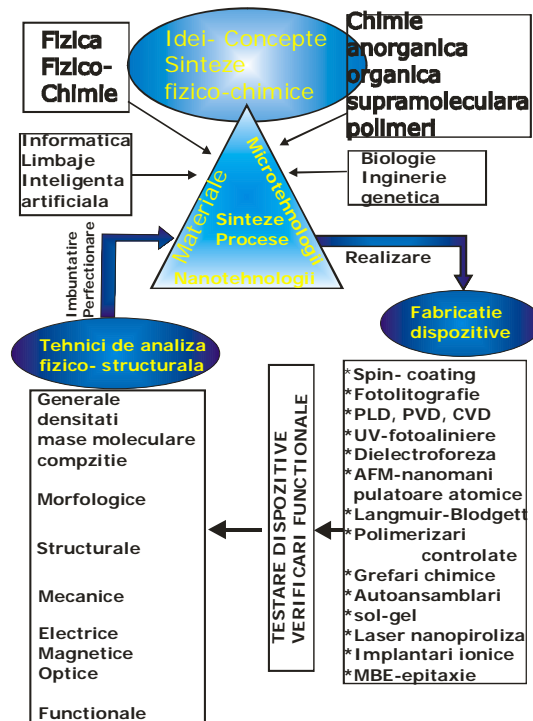
Printr-o simplă introspecție am putea să afirmăm că natura este cel mai perfect artizan al acestei tehnologii prin realizările sale

În prezent s-a ajuns la stadiul în care se poate aprecia capacitatea de a realiza practic obiecte și șabloane moleculare dacă se depășesc aceste limite [1, 2]:

- Poziționarea programată a moleculelor reactive cu o precizie de ~ 0.1 nm

- Mecanosinteza la  $> 10^6$  operații/dispozitiv/sec
- Asamblarea mecosintetică de 1kg de obiecte în mai puțin de  $10^4$  sec.
- Sisteme nanomecanice operand la  $\sim 10^9$  Hz
- Porți logice cu volum de  $\sim 10^{-8} \mu\text{m}^3$
- Porți logice cu comutație de  $\sim 0.1$  ns care să disipe energie sub  $10^{-21}$  J
- Computere ce lucrează la  $10^{16}$  operații/sec/w
- Răcirea a  $1 \text{ cm}^3$  de material cu rate de ordinul  $10^5$  W/s la 300 K
- Compresia și transferarea a  $10^{15}$  Mb/s în sisteme de calcul paralele
- Conversia mecanochimică a puterii la rate  $> 10^9$  W/m<sup>3</sup>
- Conversia puterii electromecanice la rate  $> 10^{15}$  W/m<sup>3</sup>
- Componente macroscopice cu rezistență mecanică  $> 10^{10}$  Pa
- Sisteme de producție/fabricație ce își dublează stocul în  $< 10^4$  sec

Noile concepte și limite impuse conduc la NECESITATEA DE NOI MATERIALE CU NOI PROPRIETĂȚI ȘI STRUCTURI EXOTICE unde tehnicile de investigare și caracterizare devin mai complexe cu rezoluții altădată de neimaginat. Sintetic, figura 1.6 prezintă rolul metodelor de analiză fizico-structurale în cadrul general al metodelor de sinteză și de realizare de dispozitive.



**Figura 1.6-** Interdependența dintre sinteze materiale, realizare dispozitive, metode de investigare și caracterizare

### 1.3. Metode de caracterizare

Metodele de caracterizare ale materiei și tehnicile asociate se pot clasifica fără a fi o cuprindere integrală în:

1. <i>Generale (compoziție, densitate, mase moleculare)</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Picnometrie</li><li>• Sedimentare</li><li>• Difuzia lumini</li><li>• Vîscozimetrie</li><li>• Fluorescența X, Auger, ESCA</li><li>• Emisie Spectrala Uv-Viz</li><li>• Cromatografie</li><li>• Spectrometrie de masă</li></ul>
2. <i>Morfologice, topografice</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Microscopie Optica</li><li>• Microscopie electronică de baleiaj (SEM)</li><li>• Topografie-AFM (microscopie de forțe atomice)</li><li>• Imagistica: în X, Uv, Viz, Ir, Microunde</li></ul>
3. <i>Structurale</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <u>de difracție</u>: XRD, TEM, SAED, LEED, HREED</li><li>• <u>difracție la unghiuri de incidență mici</u>: SANS, SAX</li><li>• <u>vibraționale</u>: IR, FT-IR, Raman, spectroscopie dielectrică</li><li>• <u>electronice</u>: UV-viz, XPS, ESCA, RES</li><li>• <u>nucleare</u>: RMN, Mössbauer</li><li>• <u>mixte</u>: topografice-electronice-proprietate (AFM, STM)</li></ul>
4. <i>Termo-Mecanice</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ATD, DSC, analiză termo-mecanică</li></ul>
5. <i>Electrice, Magnetice, Optice</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Conductie Electrica, Caracteristici I-V</li><li>• Efect Hall</li><li>• Constanta Dielectrica</li><li>• Polarizare</li><li>• Spectroscopie PI/EI</li><li>• Spectroscopie TOF</li><li>• Elipsometrie</li></ul>

### 1.4. Polimeri, caracteristici generale

O definiție descriptivă: Un polimer este un ansamblu de macromolecule. O macromoleculă conține mii de mici molecule ce se unesc din punct de vedere chimic și formează o moleculă gigant. În timp conceptele de macromolecule sau polimeri au devenit sinonime iar termenul de polimer este cel mai des folosit.

Polimerul: este un ansamblu de Unități Structurale Repetitive (USR) provenite de la moleculele (merii) ce au reacționat după o anumită schemă și s-au organizat în diferite arhitecturi cu anumite reguli de înlănțuire. Sugestiv figura 1.4 descrie o simplă definiție și clasificare a polimerilor. Nu întotdeauna USR coincide cu moleculele ce au participat la sinteza polimerilor.

Într-un polimer dimensiunea lanțurilor macromoleculelor este variabilă fiind o consecință a istoriei reacțiilor de polimerizare (întreruperea, disproporționarea,

ramificarea respectiv reticularea). Orientarea macromoleculor nu este în general preferențială dar proprietățile polimerilor sunt puternic dependente de distribuția maselor moleculare și de orientarea acestora, de starea lor conformațională.

Polimerii în general sunt faze amorfe unde dominantă este ordinea la mică distanță. Prin procese specifice de cristalizare orientată sau indusă ei pot avea diferite grade de cristalinitate. Rețeaua cristalină este complexă cu baze asociate formate din mai multe unități merice. În multe privințe formele cristaline ale polimerilor se aseamănă cu cristalele moleculare unde forțele Van der Waals și de dispersie sunt dominante.

#### **1.4.1 Proprietățile polimerilor**

Polimerii, conform cu definițiile de mai sus, constituie o clasă de compuși care nu se comportă ca sistemele mic-moleculare și aceasta nu neapărat datorită dimensiunilor moleculelor ce pot atinge în cazul biopolimerilor valori “gigantice”.

Dimensiunile mari induc proprietăți unice ce sunt specifice numai polimerilor:

1. Tăria forțelor intermoleculare, contribuția lor în cadrul lanțurilor moleculare (interacții intralanț) și respectiv interacția dintre lanțuri care poate fi locală sau globală (interacții interlanț locale sau cooperative).
2. Masa moleculară și distribuția maselor moleculare într-un polimer ce definesc caracterul de polidispersie atât în proprietăți cât și în funcționalitate.
3. Cristalinitatea: indusă de gradul de ordine la mică și la mare distanță din polimer
4. Reticularea respectiv ramificarea lanțurilor macromoleculare sau reticularea dintre lanțuri este o altă proprietate definitorie ce induce variații extrem de largi în proprietățile macroscopice cum ar fi aceea de la o comportare elastică la una rigidă.

Toate aceste proprietăți determină stări diverse de agregare a polimerului.

Cum se poate intui nu există polimeri în *fază gazoasă* deoarece în macromoleculare predomină forțe intermoleculare puternice fiind necesar temperaturi mai mari de 500°C pentru a se evapora. La aceste temperaturi macromoleculare devin instabile descompunându-se eliberând substanțe mic moleculare (fenomenul se numește piroliză) sau se reduc la compuși carbonizați.

*Starea lichidă* este foarte rar întâlnită la polimeri. Polimerul prezintă aproape tot timpul o consistență solidă care cu creșterea temperaturii trece în diferite tipuri de faze apropiate pseudo-lichidelor cu vâscozitate înaltă. Din acest motiv există stări polimerice elastice și înalt elastice (rubber-like), cunoscuți ca elastomeri de tipul cauciucului sau elasto-plastice, vâscoase etc. Toate aceste stări sunt dependente de temperatura și structura polimerului, natura forțelor intermoleculare. O clasă specială este aceea a polimerilor cristale lichide a căror comportare este similară cristalelor lichide.



*Polimerii solizi* constituie clasa reprezentativă și se pot asocia prin comparație modelului “sticlelor”, structuri amorfo-cristaline. Atunci când în structura lanțului polimeric este prezentă o anumită ordonare, indusă de anumiți factori termo-mecanici sau fizici, aceștia pot cristaliza ca în cazul fibrelor ( poliketone, poliamide, poliesteri) sau a polistirenilu sindiotactic. Asamblarea și configurația macromoleculor în polimeri solizi sunt cu totul diferite față de soluțiile macromoleculare și în particular față de soluțiile diluate. În soluții și sisteme vâscoase macromoleculele au diferite grade de libertate în consecință și comportare diferită. Forma și mărimea respectiv distribuția macromoleculor după masa lor moleculară definesc proprietățile fiecărui polimer.

Soluțiile polimerice uneori și diluate sunt înalt vâscoase, dar odată cu creșterea concentrației, ele devin atât de vâscoase încât la un moment dat forțele intermoleculare se intensifică iar caracterul de lichid dispare. În acest caz comportarea este de «gel» adică o rețea de macromolecule interpenetrante ce conțin moleculele de solvent.

Diferențele dintre comportarea fizico-chimică diferită a polimerilor față de sistemele mic-moleculare pot fi rezumate astfel:

1. Gradul de organizare și împachetare, conformațiile lanțurilor macromoleculare: Marea majoritate a polimerilor sunt liniari; sunt molecule ale căror atomi se unesc pe direcții preferențiale, impuse de natura legăturilor covalente, formînd un lanț de dimensiuni foarte mari. Nu întotdeauna acest lanț este rigid și cuasiliniar. O simplă estimare a energiei interne a lanțului arată că există o serie de minime locale mai mult sau mai puțin echidistante. Între punctele de minim segmentele de lanț sunt “rigide” formînd așa numitele segmente (adesea confundate cu *USR* dar în cazuri excepționale). În punctele de minim ale energiei potențiale segmentele capătă diferite grade de libertate de la rotații frînate pînă la rotații libere în jurul axelor locale proprii (segmente Kuhn). Aceasta le dă un caracter de mobilitate ce conduce la flexibilitatea polimerului prin luarea unor configurații extrem de diferite. Aceste configurații corespund unei energii globale minime a stării de echilibru a unei macromolecule determinînd *conformația sa*. Cu cît gradul de libertate a segmentelor este mai mare cu atît lanțul macromolecular se răsucește (contorsionează) și se îndoie formînd un ghem complicat cu caracter de distribuție statistică a segmentelor (modelul ghemului statistic). Lanțurile au tendința de a se răsuci unele în jurul celorlalte astfel încît macromoleculele dintr-un polimer vor forma global un ghem gigant cu un înalt grad de dezordine. Pe măsură ce polimerul este încălzit energia cinetică a lanțurilor crește, depășind forțele de interacțiune de tip Van der Waals, conducînd la o creștere a mobilității acestora. Aproape toți polimerii prezintă o temperatură de tranziție vitrosă (glass transition) interpretată ca temperatura pentru care componenta cinetică este egală cu energia potențială. Peste această temperatură macromoleculele au o mobilitate specifică ce

crește pe măsură ce ating temperatura de topire. Mobilitatea lanțurilor este similară cu modelul “spaghetelor turnate în farfurie”-alunecarea reciprocă a spaghetelor este echivalentă cu mobilitatea lanțurilor macromoleculare, prin urmare o comportare cuasiliberă. În stare solidă, “ghemul” de macromolecule acționează mai mult ca un sistem cuasielastice dezordonat (prin asociere ca un ghem de sfoară alcătuit din resorturi cuplate cu mase sferice). În fază solidă lanțurile sunt atât de contorsionate și reciproc răsucite unul în altul încât este foarte dificil să fie disociate sau dezmembrate. Aceasta este motivul pentru care polimerii sunt atât de rigizi sau plastici (masele plastice, compozitele, etc) sau în opoziție extrem de elastici (elastomerii).

2. Acțiunea cooperativă a forțelor inter- și intra- moleculare: Toate moleculele atât cele mici cât și polimerii interacționează între ele prin forțe de tip electrostatic. Anumite molecule se apropie unele de altele mai mult decât celelalte datorită naturii forțelor de interacție și a intensității acestora. Moleculele polare se apropie mai mult decât cele nepolare. De exemplu, apa și metanul au mase moleculare apropiate. Masa metanului este 16 iar a apei 18. Metanul este gaz la temperatura camerei în timp ce apa este lichidă. Aceasta este impusă de natura legăturilor puternic polare din apă, datorate unui moment de dipol mare, în timp ce metanul este nepolar, forțele de interacțiune având caracterul forțelor de tip London (de dispersie). Aceste forțe moleculare afectează polimerii la fel ca în cazul moleculelor mici. În cazul polimerilor aceste forțe conlucrează în variate aspecte conducând la efecte cooperative cumulative. Cu cât molecula este mai mare cu atât forțele intermoleculare sunt mai mari datorită creșterii gradului de cooperare dintre unitățile macromoleculare. Chiar dacă sunt implicate doar forțe slabe de tipul Van der Waals, ele pot fi foarte puternice în legarea lanțurilor polimerice. Din această cauză polimerii pot fi foarte rigizi sau extrem de elastici depășind adeseori caracteristicile oțelurilor superaliate. Polietilena de exemplu este nepolară, dar forțele Van der Waals implicate prin efecte cooperative fac din ea un material atât de puternic fiind folosit la confecționarea vestelor antiglonț.
3. Dinamica lanțurilor moleculare, gradele de libertate, mișcarea la diferite scale: Macromoleculele au o mobilitate mult mai mică decât moleculele mici pentru o temperatură dată. Un grup de molecule mici se poate deplasa mai rapid și haotic când nu sunt legate între ele ( agitația termică normală). Odată ce se leagă între ele într-un lanț macromolecular dispar multe din gradele de libertate de translație și mișcarea lor încetinește. În acest context dinamica lanțurilor polimerice este diferită la scală microscopică. De exemplu, la dizolvarea unui polimer într-un solvent soluția va fi mult mai vâscoasă decât solventul pur sau soluția cu aceiași conținut de monomeri. Măsurând

această schimbare în termeni de vîscozitate se poate estima masa moleculară a polimerului.

#### 1.4.2 Polimeri cristalini

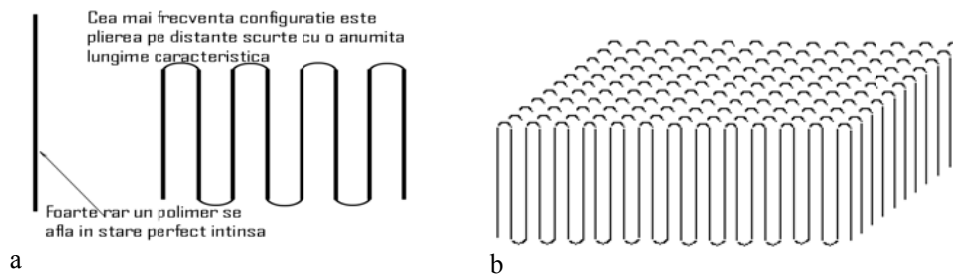
Cristalul este orice obiect în care moleculele sau motivele atomice ce alcătuiesc baza unei rețele sunt aranjate într-o periodicitate specifică. Translația oricărui motiv cu perioada rețelei conduce la noi locuri echivalente cu cel inițial.

Orice cristal este caracterizat prin ordine pe distanțe foarte mari.

Exemple: gheața este un cristal. În gheață toate moleculele de apă sunt aranjate într-o formă specifică cu o periodicitate bine definită. Cristalul de sare, NaCl, este un exemplu clasic. Paharele de cristal nu sunt cristale, ele sunt din sticlă ce este un solid amorf în care moleculele nu au o anumită ordine sau aranjare (un exemplu tipic este prezentat în figura 1.3)

Cînd polimerul este aranjat într-o ordine dată și respectă anumite condiții de periodicitate impuse de grupul translațiilor se spune că polimerul este cristalin.

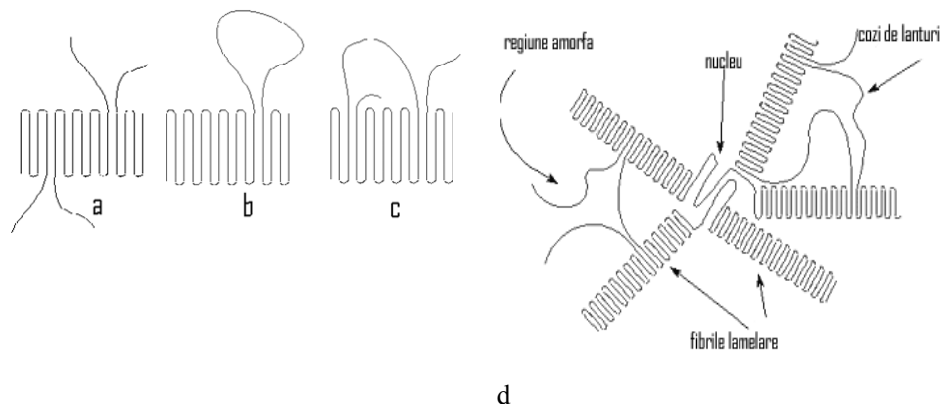
Cînd ordinea la distanță dispare lanțurile polimerice formează un ghem statistic și *polimerul este amorf*. Polimerii în general preferă să se alinieze într-un fel de ansambluri pliate care pot fi prin comparație asimilate unui aranjament de “scînduri într-un depozit” (figura 1.7)



**Figura 1.7** – a) Model de pliere a lanțurilor polimerice pe segmente cu lungimi caracteristice; b) Plierea unui polimer cu formarea de stive 3D, lamele

Foarte puțini sunt polimerii care prezintă astfel de caracteristici reprezentanți fiind polietilena liniară cu mase moleculare foarte mari și aramidele (Kevlar, Nomex). Cei mai mulți polimeri se pot “întinde” pe distanțe scurte înainte de a se plia sau să își alinieze reciproc lanțurile.

Pentru polietilenă, lungimea lanțului întins înainte de a se plia este de aproximativ 100 angstromi. Polimerii pot forma stive de astfel de lanțuri pliate (lamele), figura 1.7b. De regulă lanțurile nu aparțin integral unui singur cristalit. O parte a lanțului este inclus într-o regiune organizată în lamele iar restul într-un alt domeniu de lamele sau rămîne liber. Cînd se întamplă acest lucru polimerul formează domenii lamelare ordonate conectate cu domenii amorfе (figura 1.8 a,b,c): lamela nu mai este ordonată ci devine dezordonată cu părți din lanțuri libere.



**Figura 1.8** a). Lanțuri cu părți participante în lamele iar altele în domeniile amorfe, b). lanțuri care participă alternant cu părți în lamele și domeniile amorfe întorcându-se la lamela următoare c). lanțuri cu participare aleatorie la lamele și domenii amorfe (switchboard model) d) Model de sferulită

### 1.4.3 Polimeri amorfo- cristalini

Majoritatea polimerilor nu sunt cristalini. Lanțurile sau o parte din ele care nu sunt plasate în cristalite nu prezintă nici o ordine în aranjarea lor fiind în stare amorfă. În consecință un polimer are două componente: o parte cristalină și una amorfă. Partea cristalină este conținută în zona lamelară iar partea amorfă în afara ei. În figura 1.8 d se pun în evidență cele două componente aranjate în domenii distincte formând entități specifice polimerilor numite *sferulite*[3,4]. Se observă că lamelele se organizează în structuri fibrilare (fibrile lamelare) ce se dezvoltă radial pornind dintr-un nucleu central. Un eșantion de câteva grame de polimer cristalin conține miliarde de sferulite. În zonele dintre lamelele cristaline sunt regiuni în care lanțurile polimerice nu au nici o ordine. Aceste regiuni dezordonate sunt zonele amorfe mai sus amintite. Așa cum se poate vedea din Figura 1.8 d un lanț polimeric poate fi parțial în formă lamelară cristalină respectiv în formă amorfă.

Unele lanțuri pornesc dintr-o astfel de lamelă, traversează o zonă amorfă după care se unește cu altă lamelă.

Aceste lanțuri se numesc “mole-  
cule” de legătură (tie molecules).

Deci polimerii nu sunt complet cristalini. Cristalinitatea conferă polimerului rigiditate dar îl face și casant.

Un polimer complet cristalin ar fi prea casant pentru a fi utilizat ca plastic. Zonele amorfe conferă polimerului rezistența și tenacitatea respectiv abilitatea de a se deforma fără a se rupe.

În cazul fibrelor polimerice se preferă polimeri cu grad de cristalinitate mare urmărindu-se caracterul de proprietate unidirecțională. Polimerii au regiuni mixte: amorfe și cristaline, dar unii sunt înalt cristalini iar alții înalt amorfi. În tabela 1.1

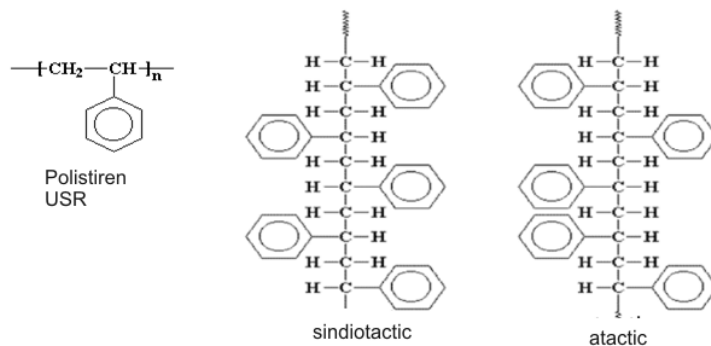
**Tabela 1.1**

<u>Polimeri înalt cristalini</u>	<u>Polimeri înalt amorfi</u>
Polipropilena	Poli(metil metacrilat)
Polistiren sindiotactic	Polistiren atactic
Nailon	Policarbonat
Aramide:Kevlar , Nomex	Polisopren
Poliketone	Polibutadien

sunt prezentați polimeri care sunt în cazuri extreme. Aceste două extreme se datorează structurii polimerului și a forțelor intermoleculare.

#### 1.4.4 Cristalinitatea și structura polimerului

Structura polimerului influențează cristalinitatea acestuia. Dacă este regulat și ordonat, acesta se va împacheta în cristale mai ușor. Un exemplu este polistirenul sintetizat în două tipuri: sindiotactic (cristalin) și atactic (amorf), figura 1.9.



**Figura 1.9-** Forme înalt cristaline (sindiotactice) respectiv amorfe (atactice) ale polistirenului. Numai formele sindiotactice pot fi împachetate în structuri cristaline

Polistirenul sindiotactic este ordonat, cu grupări fenil ce alternează de o parte și de alta a lanțului favorizând pliarea în cristal. Polistirenul atactic nu prezintă o astfel de ordine, grupările fenil fiind aleator distribuite, lanțurile nu se pot plia iar polimerul atactic este amorf.

Alți polimeri atactici ca poli metil metacrilatul și policlorura de vinil sunt de asemenea amorfi. Polimerii stereoregulari ca polipropilena și politetrafluoretilena izotactice sunt cristaline.

Polietilena este un alt exemplu: ea poate fi cristalină sau amorfă.

Polietilena liniară este aproape 100% cristalină iar cea ramificată este amorfă (figura 1.10)

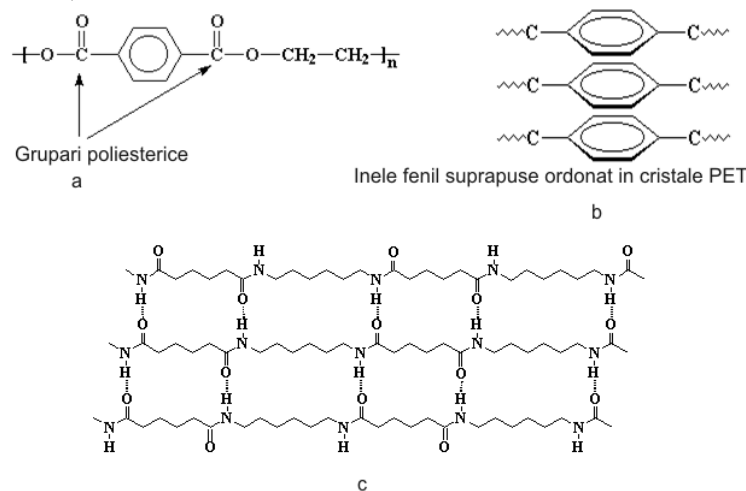


**Figura 1.10** - Forme liniară și ramificată a polietilenei

#### 1.4.5 Cristalinitatea și forțele intermoleculare

Forțele intermoleculare au rol determinant pentru ca un polimer să formeze cristale. Un exemplu tipic este polietilenetereftalatul, PET și nailonul (6,6). În figura 1.11 sunt date două exemple tipice a rolului grupărilor carbonil în poliesteri respectiv în poliamide. Se observă că grupările amidice polare și carbonilice din lanțul de bază la nailon 6.6 sunt puternic atrase unele față de altele. Acestea formează legături puternice de hidrogen care mențin cristalitele unite (figura 1.11c).

Poliesterii sunt un alt exemplu. În polietilentereftalat grupările esterice polare induc formarea de cristale cu legături puternice. Mai mult, grupările aromatice preferă să se suprapună ordonat formînd cristale cu legături foarte tari (figura 1.11 a, b).



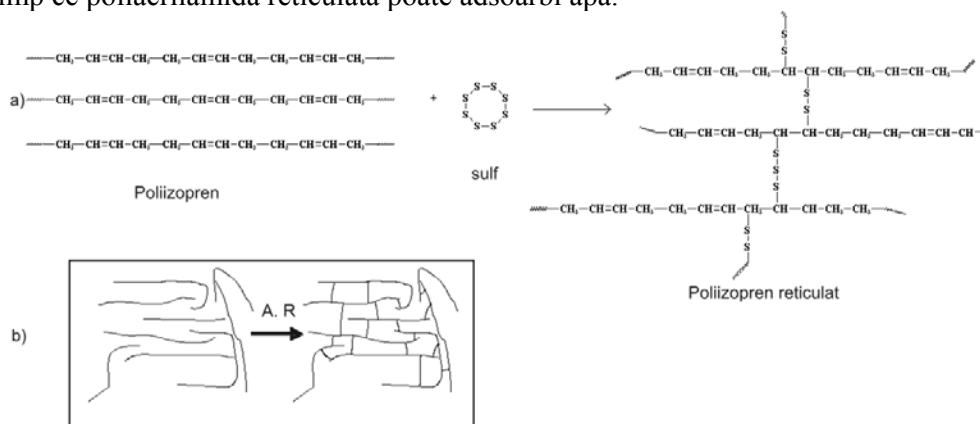
**Figura 1.11**-Rolul forțelor intermoleculare la formarea structurilor cristaline în polimeri.a),b) grupările carbonil din poliesteri induc orientarea reciprocă a fenililor în structuri suprapuse c) grupările carbonil și amidice din nailon 6,6 formează punți hidroxil cu orientare uniaxială a cristalelor producînd fibre de înaltă rezistență mecanică

#### 1.4.6 Reticularea

Reticularea polimerilor își are originea în vulcanizarea cauciucului natural, latexul sau astăzi cunoscut ca poliizoprenul. De reticulare este legat numele inventatorului Charles Goodyear care a încălzit accidental latexul natural cu sulf și oxid de plumb. Rezultatul fiind o masă casantă cu proprietăți diferite de latex. Diferite concentrații de sulf a condus la variații largi în proprietăți de la elastic la rigid. Goodyear a denumit acest proces, vulcanizare. Ca fenomen sulfurul, de altfel un polimer anorganic, a format punți de legătură între lanțurile macromoleculilor de poliizopren conducînd la reticularea acestora. În figura 1.12 a, este descris mecanismul de reticulare a poliizoprenului utilizînd ca agent sulfurul. Se observă că sulfurul romboedral se descompune în 2-3 meri (rareori 4 molecule pe lanț) care reacționează cu atomii de carbon din legăturile duble ale poliizoprenului. Rețeaua formată din reticularea macromoleculilor are proprietăți cu totul diferite față de polimerul inițial. Similar cu poliizoprenul alți elastomeri (polibutadiena, poliizobutilena, policloroprenul) pot fi reticulați formînd o clasă aparte aceea a cauciucurilor sintetice .

Cauciucul nu este singurul care poate fi reticulat. Plasticele sunt de asemenea făcute mai puternice, rigide și procesabile prin reticulare. Polimerii sunt de regulă topiși sau presați la cald cu adaosuri de agenți de reticulare înainte de a fi reticulați. Un polimer odată ce a fost reticulat la temperaturi înalte nu mai poate

fi modelat. Materialele pentru care reticularea are loc la temperaturi relativ medii (100-300<sup>0</sup>C) se numesc plastice de termoformare (thermosets). Acestea sunt complet diferite față de termoplastice care nu sunt reticulate fiind modelate prin topire, injecție sau presare la cald. Primul thermoset sau plastic termoformat prin reticulare a fost ebonita (poliizopren reticulat cu sulf la concentrații mari). Alte exemple sunt rășinile epoxidice, policarbonații etc. Materialele reticulate sunt în general insolubile în solvenți deoarece toate lanțurile polimerului sunt legate covalent. Dar ei pot adsorbi solvenți. În situația în care un material reticulat absoarbe o cantitate apreciabilă de solvent obținem un gel. Un astfel de gel este gelatina iar cel sintetic este poliacrilamida. Poliacrilamida este solubilă în apă în timp ce poliacrilamida reticulată poate adsorbi apa.



**Figura 1.12-** Reticularea polimerilor, a) reticularea poliizoprenului cu sulf, vulcanizarea b) orice proces de reticulare implică un agent reticulant (AR) care leagă macromoleculele între ele formînd o rețea cu proprietăți specifice. Noua rețea este similară cu o moleculă gigant.

## 1.5 Biopolimeri, polimeri biocompatibili

*Biomaterialele* reprezintă în accepțiunea cea mai generală materialele destinate să fie în contact cu țesuturile vii sau cu fluidele biologice cu scopul de a trata, modifica forme sau de a înlocui orice țesut, organ sau funcție a organismului.

În interacțiunea dintre materiale și sistemele biologice este dinamică și complexă. Ea implică atât răspunsul sistemului viu la aceste materiale (*biocompatibilitate*, *bioactivitate*) cât și răspunsul materialului la sistemul viu (*biodegradabilitate*).

Un biomaterial trebuie să aibă calități esențiale. O dată implantat în organism, acesta trebuie să fie (exceptînd cazurile cînd biodegradabilitatea este cerută pentru aplicații specifice) rezistent mecanic (abraziune și la rupere), rezistent la coroziune (disoluție biochimică și coroziune bioelectrochimică). În alte cazuri trebuie să răspundă la stimuli bioelectrochimici.

Alegerea unui material biocompatibil se bazează pe cunoașterea factorilor caracteristici din punct de vedere toxicologic: factori chimici, factori electrici, proprietățile suprafeței, factori geometrici, interacțiuni mecanice țesut-biomaterial.

Mai mult, biomaterialul și eventualii produși de degradare trebuie să nu fie:

- responsabili de reacții inflamatorii;
- susceptibili de generare de reacții alergice;
- toxici;
- mutagenici;
- carcinogenici.

Biomaterialele trebuie să fie recunoscute și acceptate de celulele vii, să ajute în procesul natural de recuperare. Ținând cont de aceste condiții, numărul de posibile metale, compozite ceramice și polimeri este limitat drastic.

Știința biomaterialelor se canalizează pe trei direcții de cercetare [5]:

1. Producerea de înlocuitori sintetici pentru țesuturile biologice utilizând matricile extracelulare artificiale capabile să modeleze comportarea celulară;
2. Sintetizarea de materiale folosind matrici extracelulare artificiale pentru aplicații biologice și medicale specifice, de exemplu materiale care își memorează forma în funcție de temperatură;
3. Dezvoltarea de concepte noi de design pentru aplicații *in vitro* (ex.: diagnosticarea în care un număr mare de acizi nucleici și proteine sunt prezente într-un format care permite extragerea rapidă a informației legate de comportarea genelor și funcția proteinei).

În continuare sunt prezentate câteva elemente specifice, proprietăți și clasificări ale biopolimerilor și proteinelor.

Un *biopolimer* este prin definiție o macromoleculă care se formează prin asocierea de molecule mai mici într-un sistem biologic sau organism viu. În cazul biopolimerilor USR pot fi: zaharidele, aminoacizii, acizii nucleici.

Biopolimerii pot fi clasificați în funcție de structura chimică în opt mari categorii [6]:

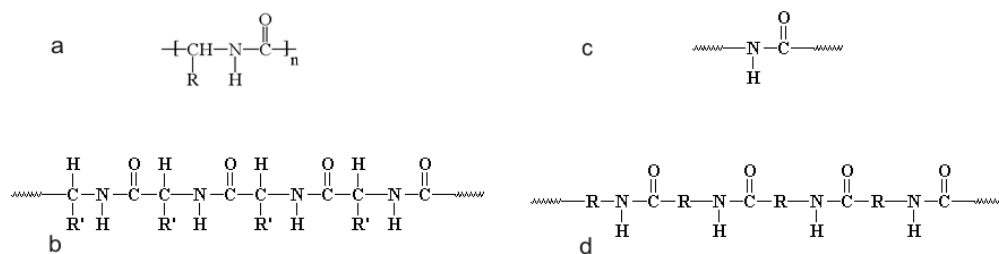
1. acizi nucleici ( acizii ribonucleici și acizii dezoxiribonucleici);
2. poliamide (proteinele și aminoacizii);
3. polizaharide ( celuloza, amidonul, pullulanul, xantanul);
4. polioxoeșteri organici (acizii polihidroxicarboxilici, acidul polimalic, cutinul);
5. politioeșteri;
6. polieșteri anorganici cu polifosfat;
7. poliizopren (Gutta Percha sau cauciucul natural);
8. polifenoli (acidul humic, ligninul).

Biopolimerii sunt implicați într-o varietate largă de aplicații biomedicale precum cedarea controlată de medicamente, ingineria tisulară, modificări celulare, reconstrucție de țesut, producerea de organe artificiale și alte funcțiuni inteligente.

Polizaharidele și polielectrolitii solubili (acizii poliacrilici și metacrilici), sunt utilizați ca aditivi în formula medicamentelor, agenți de suspensie sau de dezintegrare a tabletelor (ex.: pullulanul).

O clasă importantă de biopolimeri o constituie *proteinele* a căror structură este prezentată schematic în figura 1.13



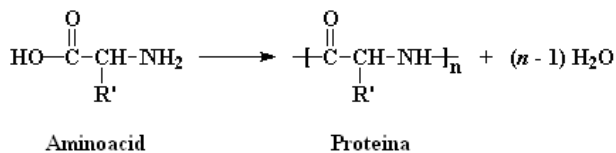


**Figura 1.13-** Structura proteinelor și a poliamidelor: a) USR la proteine b) Macromoleculă de proteină c) USR amidă d) Macromoleculă de poliamidă

Din figură se observă similitudinea dintre proteine și poliamide. O proteină este o poliamidă naturală. Aceasta este un polimer ce conține gruparea amidică în lanțul principal. Comparând cele două USR din figura 1.13 a și c se constată că sunt construite pe gruparea amidică fie că este o proteină (b) fie că este o poliamidă sintetică (d).

În cazul proteinelor, gruparea R poziționată între grupările amidice este atomul de carbon cu două grupări pendante (Fig. 1.13 a, b). Unul din cei doi pendanți este întotdeauna un atom de hidrogen, iar cealaltă legătură pendentă poate fi orice radical chimic – în figură este notat cu R'. În poliamide radicalii sau alte grupări sunt conținute în lanț sau sunt parte din USR.

În organism, aceste proteine sunt formate din monomeri numiți *aminoacizi* așa cum se observă figura 1.14:



**Figura 1.14** Formarea proteinelor din reacția de policondensare a aminoacizilor

Fiecare aminoacid are o grupare R' specifică. De asemenea, fiecare proteină conține o secvență specifică de aminoacizi diferiți. În acest fel, există o secvență diferită de grupări pendante R' în lanțul principal. Această secvență determină proprietățile proteinei. În Tabelul 1.2 sunt reprezentate structura chimică și denumirea celor 20 aminoacizi cunoscuți.

De exemplu, *colagenul* (o proteină structurală) conține o secvență de aminoacizi caracteristică: Gly-X-Y, în care X și Y pot fi orice pereche de aminoacizi din Tabelul 1.2. Aceasta secvență conferă posibilitatea de a împacheta ușor cele trei subunități și facilitează formarea de structuri helix.

Un alt exemplu îl constituie proteinele adezive secretate de o scoică *Mytilus edulis* ce conțin o secvență de aminoacizi Ala-Lys-Pro-Ser-Tyr-HPro-HPro-Thr-DOPA-Lys (unde HPro= Hydroxyproline) [7].

$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ (\text{CH}_2)_3 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{C}=\text{NH}_2 \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Arginina (Arg / R)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Glutamina (Gln / Q)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$ <p>Fenilalanina (Phe / F)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Tirozina (Tyr / Y)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{array}$ <p>Triptofan (Trp, W)</p>
$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ (\text{CH}_2)_4 \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Lizina (Lys / L)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{H} \end{array}$ <p>Glicina (Gly / G)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Alanina (Ala / A)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2 \end{array}$ <p>Histidina (His / H)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Serina (Ser / S)</p>
$\begin{array}{c} \text{H}_2 \\   \\ \text{H}_2\text{C} \diagdown \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \quad   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} \quad \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \end{array}$ <p>Prolina (Pro / P)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$ <p>Acid Glutamic (Glu / E)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$ <p>Acid aspartic (Asp / D)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Treonina (Thr / T)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$ <p>Cisteina (Cys / C)</p>
$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Metionina (Met / M)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH} \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Leucina (Leu / L)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Aspargin (Asn / N)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{HC} - \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Isoleucina (Ile / I)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ \cdot \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O}^- \end{array} \\   \\ \text{CH} \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Valina (Val / V)</p>

Tabel 1.2 Denumirea și structura celor 20 aminoacizi cunoscuți[8 ]

## 1.6 Polimeri: relația structură-proprietate-procesare

Compoziția unei molecule este definită de natura atomilor și tipul legăturii iar acestea definesc descrierea aranjamentului spațial a oricărei arhitecturi moleculare sau cristaline. Configurația grupărilor chimice caracterizează starea chimică a unui polimer. Multitudinea configurațiilor pentru o energie dată a macromoleculii reprezintă starea conformațională ea fiind rezultatul rotațiilor în jurul legăturilor  $\sigma$  a diferitelor grupări laterale fără a se produce ruperea legăturilor chimice. Ruperea sau interconvertirea legăturilor chimice modifică proprietățile chimice deci implicit și a celor fizice. Modificările conformaționale conduc însă numai la modificări în proprietăți fizice respectiv structurale. Lanțurile polimerice fiind alcătuite din secvențe de unități chimice repetabile acestea pot fi aranjate atât regulat cât și aleatoriu. Microstructura chimică a polimerului este definită de aranjamentul intern al diferitelor secvențe de unități chimice în lanț.

Microstructura chimică este o consecință a tipului de proces de polimerizare. Procesarea ulterioară respectiv funcționalizarea cu noi compuși conduc la structuri supramoleculare funcție de proprietatea fizică ce se dorește a fi obținută.

Modelarea moleculară combinată cu experimentele de sinteză și procesare respectiv de măsurare sunt elementele cheie în înțelegerea fenomenelor care guvernează comportarea polimerilor.

Importanța relației structură–proprietate-capacitate de procesare poate fi exemplificată astfel:

- Formarea de structuri topologice complexe: polimeri funcționali, copolimeri, rețele, polimeri superamificați. Aplicații- aliaje polimere, materiale superadsorbante, protecția mediului, alierea a polimerilor cu nanoparticule.
- Microstructura chimică: bloc-copolimeri, polimeri cristale lichide. Aplicații- materiale cu proprietăți mecanice dependente de direcție, nanocompozite cu matrice polimeră, materiale biodegradabile, rețele interpenetrabile, separări de faze.
- Masă moleculară, distribuția maselor moleculare, polidispersitate, tacticitate, cristalinitate: plastice cu rezistență mecanică la oboseală, proprietăți de anizotropie optică, electrică, puncte de topire și stabilitate termică ridicată.

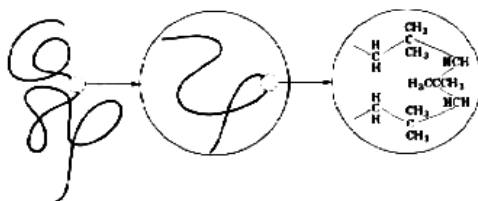
În general când se intenționează procesarea unui material relația dintre structură și proprietăți este determinantă iar metodele de caracterizare analitică asociate vor furniza datele necesare unei prelucrări optime.

Plasticele sunt sisteme morfologice complexe fiind compuse din multiple faze și aditivi a căror proprietăți sunt dependente de polidispersia maselor moleculare, cristalinitate, orientare, tacticitate. O abordare a caracterizării acestora prin tehnici analitice pentru a înțelege relația dintre structură-compoziție chimică-proprietate este complexă. De exemplu necesitatea caracterizării polietilenei în filme pentru pungile de plastic necesită controlul orientării moleculare. Câteva tehnici de investigare sunt angajate numai pentru această proprietate: difracția de raze X cu construcția de figurilor polare, FT-IR, Raman, RMN respectiv birefrigența optică. Fiecare dintre aceste tehnici dau valori diferite pentru funcția de orientare iar o corelare cu necesitatea de a obține filme cu proprietăți mecanice orientate conduce la interpretări dificile. Similar valorile gradului de cristalinitate a filmelor de polietilenă determinate prin XRD și calorimetrie diferențială de baleiaj sau IR sunt diferite. Acestea arată că multe din tehnicile utilizate în analiza sistemelor polimere trebuie să fie pe deplin înțelese pentru a fi utilizate în limitele lor de aplicabilitate.

#### Nivele de structură și tehnicile analitice

Descrierea analitică a unui material complex este puternic dependentă de scala dimensională la care observația este realizată. De exemplu un polimer semicristalin cum este polietilena are compoziția și structura chimică la fel ca și parafinele. Aceste unități chimice conduc din punct de vedere spectroscopic la aceeași spectrogramă IR ce nu face distincție dintre masele moleculare mari din polietilenă sau mici din parafine. Similar structura cristalină care de regulă în polimeri este de simetrie joasă mimează aceeași structură “văzută” în analogii moleculari de masă mică ca în parafine.

Structura monomerului combinată cu aranjamentul topologic al monomerilor în lanțul polimeric conduce la forme de ghem statistic printr-o împachetare aleatorie [9]. Acest aranjament topologic este datorat forțelor slabe de interacțiune reciprocă a USR-urilor dintre lanțuri. Anumite proprietăți vibraționale și mecanice pot fi observate spectroscopic dar nu distinctiv. Aspectele topologice de aranjament a monomerilor în lanț, forma de ghem statistic ce se evidențiază la scală coloidală, persistența lanțului (liniaritatea locală) sau tacticitatea sunt decelate de tehnici RMN.



**Figura 1.15** Reprezentare schematică a relației dintre ordinea pe distanțe mari (long-range) și locală (short-range) într-o moleculă flexibilă de polimer (poliizobutilenă)

În polietilenă sau poliizobutilenă (figura 1.15) structura locală a lanțului este suficient de regulată de a conduce la faze cristaline. Întrepătrunderea dintre lanțuri, ramificarea și prezența de grupuri terminale diferite previn cristalizarea completă a polimerului. Materialele polimerice predispușe la a forma faze cristaline sunt întotdeauna descrise prin modele multifazice adică semicristaline care include coexistența fazelor cristaline cu cele amorfe. Coeficienți de transport și împachetarea lanțurilor conduc la cristalite nanoscopice care sunt cel mai bine vizualizate prin microscopie electronică de transmisie sau de forțe atomice iar structural prin SAXS și într-o anumită măsură prin spectrometrie Raman (modurile acustice longitudinale). Cristalitele fibrilare conduc la scală coloidală sau optică de observare a structurilor: sferulitele, structuri centro simetrice radial orientate ce prezintă birefrigență.

O trăsătură de interes specific în operațiile de procesare a polimerilor cum ar fi acelea de termocentrifugare, de pulverizare sau de tragere din topitură este determinată de orientarea lanțurilor moleculare sau a cristalitelor lamelare inducând proprietăți mecanice anizotrope. Orientarea sferulitelor și componenta amorfă a acestor materiale bifazice este influențată de mobilitatea locală a lanțurilor polimerice și a coeficienților de transport ce induc o gamă largă de variații în probă asociate cu polidispersitatea distribuției maselor moleculare.

Toate sistemele polimerice prezintă caracteristici de polidispersie în proprietăți datorită: 1) abilitatea limitată a metodelor de sinteză de a produce structuri monodisperse și structuri chimice perfecte 2) dominanța fenomenelor cinetice în procesarea materialelor de masă moleculară mare. Pentru studii aprofundate asupra comportării, sintezei și proprietățile precum și diferite modele dezvolt-

tate pentru înțelegerea fenomenelor și structurii polimerilor se pot consulta monografiile [10, 11-18].

## 1.7 Referințe

---

1. K.Eric Drexler, *Nanosystems: Molecular Machinery, Manufacturing, and Computation*, 1992, ed J. Willey&Sons, 1992, versiunea 2006 (www.e-drexler.com)
2. R.P.Feynman, *Plenty of Room at the Bottom*, Dec 1959, www.its.caltech.edu /~feynman/
3. S. R. Sandler, W. Karo, J.-A. Bonesteel, E. M. Pearce, *Polymer Synthesis and Characterization Academic Press, San Diego, 1998*
4. George Odian, *Principles of Polymerization, 3rd ed.*, John Wiley & Sons, New York, 1991
5. R. Langer, D.A. Tirrel, *Designing Materials for Biology and Medicine*, Nature 428, 487-492, (2004).
6. A. Steinbuechel: *Biopolymers* (John Wiley-VCH, Weinheim 2003).
7. M. Yu, T.J. Deming, *Synthetic Polypeptide Mimics of Marine Adhesives*, Macromolecules 1998, 31, 4739-4745
8. en.wikipedia.org/aminoacids
9. J. D. Ferry, *Viscoelastic Properties of Polymers*, Wiley ,p. 3, 1980
10. Mc Paul C. Painter and Michael M. Coleman *Fundamentals of Polymer Science. An Introductory text*, Techriomic Publishing Company, Inc., Lancaster, PA, 1994.
11. F.A. Bovey and F.H. Winslow (Eds.), *Macromolecules. An Introduction to Polymer Science*, Acad. Press, New York, 1979
12. I Alexander Yu. Grosberg and Alexei R. Khokhlov *Giant Molecules: Here, There and Everywhere*, Acad. Press, San Diego, 1997
13. John W. Nicholson, *The Chemistry of Polymers*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1991
14. Stephen L Rosen, *Fundamental Principles of Polymeric Materials* , Series: SPE Monographs, John Wiley & Sons, New York, 1982
15. Paul J. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, Ithaca, 1953
16. Malcolm P. Stevens, *Polymer Chemistry: An Introduction* , 2nd Ed., Oxford University Press, New York, 1990
17. Herbert Morawetz, *Macromolecules in Solution*, 2nd Ed., Wiley-Interscience, New York, 1975
18. Hiromi Yamakawa, *Modem Theory of Polymer Solutions*, Harper & Row, New York, 1971



# Capitolul 2

---

## 2. Mase moleculare

### 2. 1 Cromatografia de excluziune sterică

Cromatografia de excludere sterică (SEC) are ca principiu de bază transportul particulelor și separarea acestora după dimensiunea lor mai exact după volumul lor hidrodinamic. Se utilizează de regulă la determinarea distribuției maselor moleculare a macromoleculilor sau a complexelor moleculare cum sunt proteinele. Când o soluție apoasă este folosită de a transporta o probă printr-o coloană de separare tehnica este cunoscută sub denumirea de filtrare cromatografică pe gel (GPF). Termenul de cromatografie pe gel permeabil (GPC) este utilizat atunci când faza mobilă este un solvent organic. Aplicația principală a GPF este în fracționarea proteinelor și a polimerilor solubili în apă în timp ce GPC este utilizată în analiza distribuției maselor moleculare a polimerilor solubili în solvenți organici. Fiecare tehnică nu trebuie confundată cu electroforeza pe gel unde moleculele sunt transportate de un câmp electric prin faza staționară funcție de sarcina electrică.

SEC este pe larg folosită pentru purificarea și analiza polimerilor sintetici și biologici ca de exemplu proteine, poliyaharide, acizi nucleici. De regulă ca fază staționară se utilizează geluri de poliacrilamidă, dextran sau agaroză pentru separarea biopolimerilor, transportul realizându-se la presiuni mici. Pentru polimeri sintetici tipici sunt silica sau polistirenul reticulat iar transportul se realizează la presiuni medii sau mari.

Avantajele metodei SEC sunt că pot fi utilizate diverse soluții fără a interfera cu procesele de filtrare sau separare păstrându-se astfel activitatea biologică sau proprietățile intrinseci ale polimerilor sintetici și biologici. SEC se combină cu alte metode sau tehnici ce urmăresc alte caracteristici cum ar fi SM, determinarea potențialului zeta, afinitate etc.

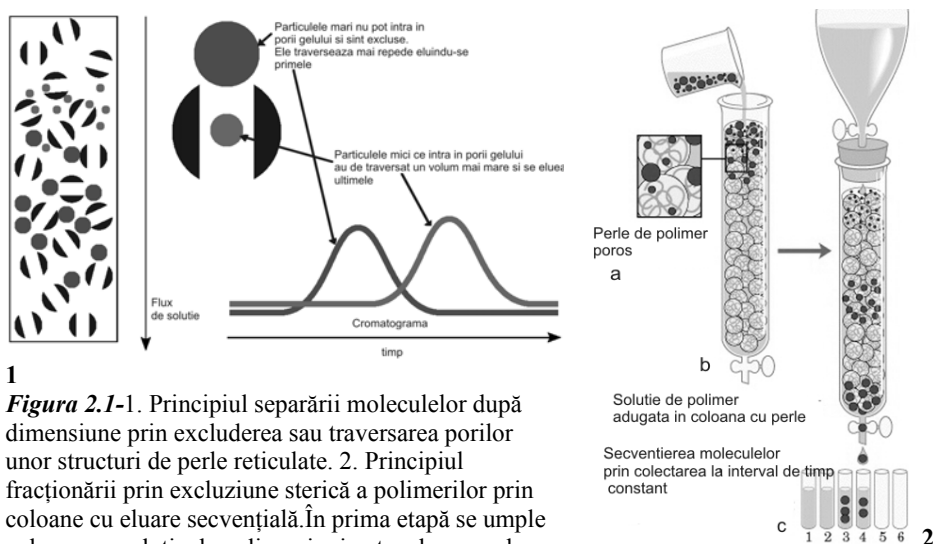
Tehnica a fost inventată de Grant Henry Lathe și Colin Ruthven [1]. Ulterior Porath și Flodin au introdus gelurile de dextran reticulat care gonflat în apă este capabil să separe proteine [2]. Acest gel este astăzi comercializat sub denumirea de Sephadex și utilizat extensiv în separarea biopolimerilor. Ulterior s-au elaborat alte geluri pentru fracționarea dimensională- agaroză, poliacrilamida, polistirenul reticulat, silica activată. O trecere comprehensivă a dezvoltării metodelor cromatografice este prezentată în lucrarea [3]. SEC s-a dezvoltat rapid în ultimele decade datorită realizării de faze staționare din polistiren reticulat a căror dimensiune este sub 10 microni conducând la reducerea drastică a înălțimii coloanelor cromatografice și a numărului de platouri de secvențiere per unitate de lungime. SEC este un capitol particular al cromatografiei pe gel introdusă de

Moore [4] pentru a descrie separarea polimerilor din solvenți organici în coloane împachetate cu perle de polistiren reticulat liofilizat.

### 2.1.1 Metoda experimentală

În SEC particulele de diferite dimensiuni sunt eluate (filtrate) prin faza staționară la diferite rate. Aceasta conduce la separarea particulelor din soluție după dimensiunea lor. Ideal se presupune că toate particulele de aceeași dimensiune vor fi eluate simultan. Aparatul constă dintr-un tub umplut cu perle de polimer sau material poros proiectat astfel încât să aibă pori de diferite dimensiuni.

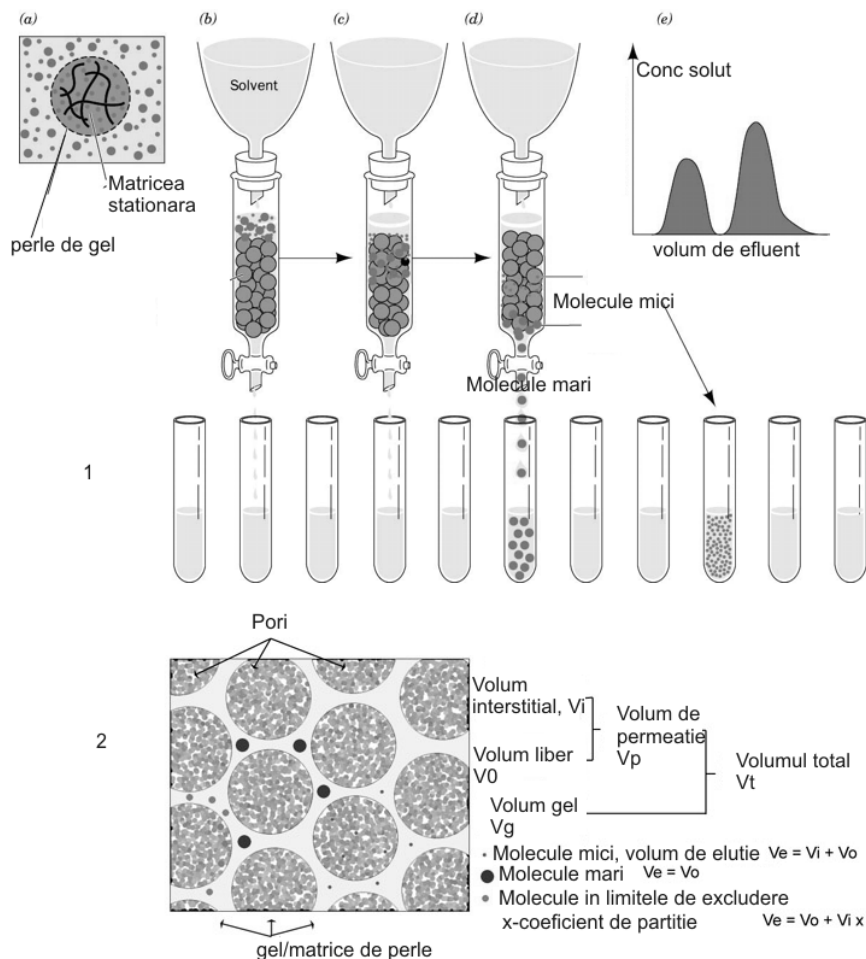
Porii pot fi superficiali sau sunt canale submicronice în particulele fazei staționare. Soluția ce conține macromoleculele traversează perlele fazei solide, ea pătrunde prin pori simultan cu macromolecule care au dimensiuni mai mici sau comparabile cu aceștia. Macromoleculele cu dimensiuni mai mari nu pot intra prin pori sau staționa pe suprafața perlelor prin urmare vor curge în jurul perlelor și se vor elua mai repede. Soluția se eluează pe măsură ce este colectată la ieșirea din coloana cromatografică. Soluția filtrată, colectată la capătul terminal al coloanei se numește eluat. **Volumul liber** include solventul cu toate particulele mari ce nu intră în porii perlelor fazei staționare iar **volumul solventului** este cunoscut sub denumirea de volumul coloanei. În figura 2.1-1 este prezentat modelul fizic de separare a moleculelor după dimensiune. Se observă că drumul parcurs de moleculele ce au dimensiuni comparabile cu al porilor au drumul de parcurgere mai lung iar în timp se vor elua mai lent. Distribuțiile de mase vor fi mai largi sau mai înguste funcție de dispersia dimensională a porilor. În figura 2.1-2.a-c este prezentată schema de principiu a fracționării polimerilor utilizând metoda exclu-ziunii sterice.



1  
**Figura 2.1-1.** Principiul separării moleculelor după dimensiune prin excluderea sau traversarea porilor unor structuri de perle reticulate. 2. Principiul fracționării prin excluziune sterică a polimerilor prin coloane cu eluare secvențială. În prima etapă se umple coloana cu soluția de polimer iar în etapele secundare se eluează cu același volum de solvent pentru eluarea fracțiilor cu dimensiunea mai mică



În figura 2.2-1 este detaliată metoda de secvențiere a maselor moleculare prin SEC. În fiecare etapă se adaugă constant aceeași cantitate volumetrică de eluent (c,d) fiind colectate cantități egale în eprubete. Un detector de concentrație (refractometric, UV, IR funcție de natura solventului și a polimerului) măsoară concentrația soluțiilor eluate. Cromatogramele se trasează fie în funcție de volumul eluat sau logaritmul acestuia.



**Figura 2.2-1** Secvențierea masei moleculare a unui polimer prin eluarea continuă sau în trepte cu volume fixe de solvent. Fiecare eprubetă conține o concentrație de molecule cu o masă moleculară dată. 2 Volumele participante la excluderea sterică a solutului.

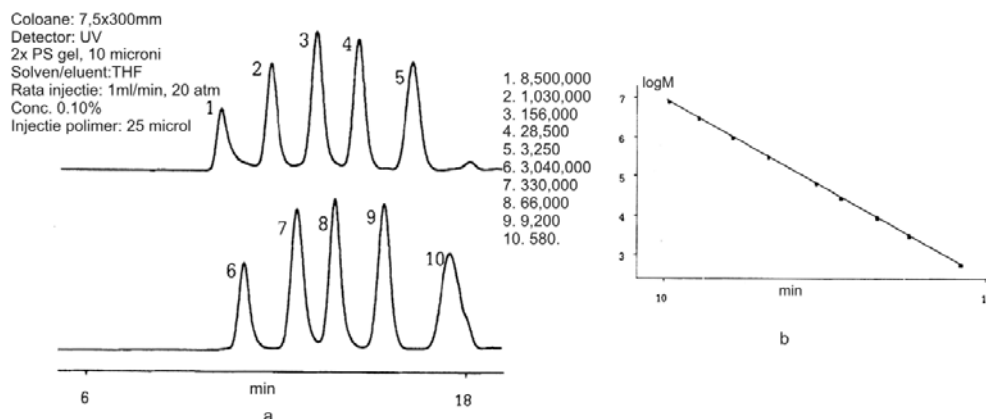
În figura 2.2-2 sunt prezentate tipurile de volume participante la excluderea sterică respectiv la transportul prin coloană. Volumul interstițial,  $V_i$ , reprezintă contribuția porilor din perle,  $V_0$ , volumul liber dintre perle,  $V_g$ , volumul ocupat de

de perlele gelului. Volumul de permeație  $V_p = V_i + V_0$ . Moleculele mici inclusiv ale solventului traversează un volum de eluție  $V_e = V_i + V_0 = V_p$ . Moleculele mari traversează volumul  $V_e = V_0$  iar cele intermediare  $V_e = xV_i + V_0$  unde  $x$  este coeficientul de partiție. Acesta este cel mai simplu model geometric al excluziunii sterice fără a se lua în considerație interacțiile și natura porilor respectiv a spațiilor interstițiale. De notat că modelul descrie curgerea liberă a eluentului. Experimental eluentul se injectează sub presiune de 1-50 atm.

### 2.1.2 Etalonarea

În cazul perlelor poroase de sticlă dimensiunea porilor poate fi măsurată prin metoda intruziunii mercurului în coloană. Pori cu diametrul de 10-250nm sunt suficienți pentru a separa fracții cu masa moleculară de ordinul  $10^3$ - $10^7$ . În cazul perlelor de polimer reticulat (cel mai uzual fiind polistirenul) se estimează volumul de retenție,  $V_r$ : volumul de solvent elutriat din momentul introducerii în coloană și momentul de timp când apare în efluent. Măsurătorile se realizează la temperatură și rate de injecție constante.

Procedura de calibrare constă în injecția de mixturi de polistiren cu mase moleculare standard dizolvate în THF într-o serie de coloane împachetate cu perle de polistiren reticulat (perle de 10 micrometri diametru). Coloanele au diametrul interior standard de 7,5 mm și lungime de 300 mm. Presiunea de injecție este de 20 atm la o rată de 1ml/min (figura 2.3). Detectorul UV determină variația în timp a transportului de molecule spre efluent.



**Figura 2.3-** a. Etalonarea coloanelor cromatografice cu polistiren standard; b. Curba de etalonare a coloanelor cromatografice pentru un set de perle de 10 micrometri PS reticulat

Masa moleculară și distribuția obținută este dependentă de reproductibilitatea ratei de pompare a solventului pentru a o precizie bună de eluției în timp.

O dată curbele de etalonare stabilite se pot determina distribuția maselor moleculare ale altor polimeri. Dacă se completează cromatograful cu un viscosimetru se pot evalua parametrii intrinseci cum ar fi viscozitatea sau masa medie numerică a moleculelor.

Combinăția SEC-spectrometru de masă cu ESI sau MALDI –TOF permite determinări de mare precizie a conformațiilor macromoleculare.

Studii extensive și aplicații diverse se pot găsi în cărți și articole de referință [5-8,9].

Rezoluția în SEC este un factor determinant mai ales atunci când se dorește separarea proteinelor. Rezoluția este definită ca distanța medie dintre ele și este raportul dintre diferența a două volume de eluție pentru două picuri adiacente:

$$R = \frac{V_{r1} - V_{r2}}{(W_1 + W_2)/2}$$

unde  $V_r$  sunt volumele de eluție ale două picuri adiacente iar  $W$  reprezintă lărgimea lor [10]

SEC este pe larg aplicată în multiple procese de separare a proteinelor și a altor biopolimeri de larg interes științific și tehnologic. Gelurile utilizate sunt de tipul dextranilor reticulați sau agaroze. În figura 2.4 sunt prezentate cele mai importante geluri și originea preparării lor considerînd a fi un instrument util pentru informarea generală dar și pentru eventuale aplicații la granița dintre polimerii sintetici și biopolimeri

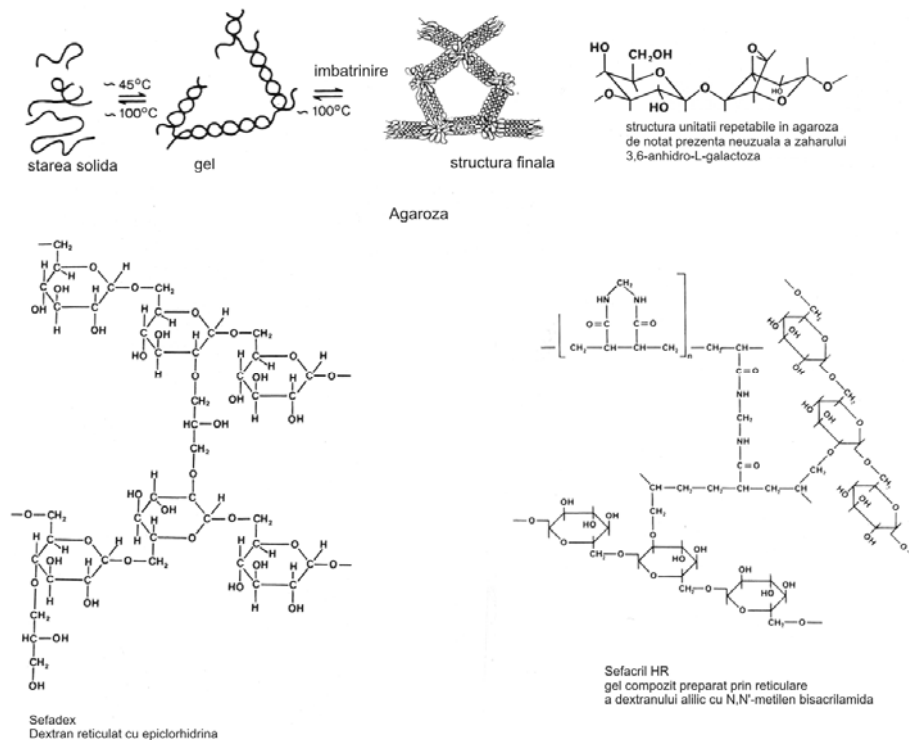


Figura 2.4- Geluri pe bază de agaroză și dextran utilizați în fracționarea biopolimerilor

**Tabela 2.1-** Caracteristicile de separare a gelurilor pe bază de dextran

Tipul de Gel	Dimensiune perle, microni	Domeniul de fractionare proteine globulare	Domeniul de fractionare dextransi	Factor gonflare ml/g
Sephadex G-10	40 – 120	– 700	– 700	2 – 3
Sephadex G-15	40 – 120	– 1 500	– 1 500	2.5 – 3.5
Sephadex G-25 Coarse	100 – 300	1 000 – 5 000	100 – 5 000	4 – 6
Sephadex G-25 Medium	50 – 150	1 000 – 5 000	100 – 5 000	4 – 6
Sephadex G-25 Fine	20 – 80	1 000 – 5 000	100 – 5 000	4 – 6
Sephadex G-25 Superfine	10 – 40	1 000 – 5 000	100 – 5 000	4 – 6
Sephadex G-50 Coarse	100 – 300	1 500 – 30 000	500 – 10 000	9 – 11
Sephadex G-50 Medium	50 – 150	1 500 – 30 000	500 – 10 000	9 – 11
Sephadex G-50 Fine	20 – 80	1 500 – 30 000	500 – 10 000	9 – 11
Sephadex G-50 Superfine	10 – 40	1 500 – 30 000	500 – 10 000	9 – 11
Sephadex G-75	40 – 120	3 000 – 80 000	1 000 – 50 000	12 – 15
Sephadex G-75 Superfine	10 – 40	3 000 – 70 000	1 000 – 50 000	12 – 15
Sephadex G-100	40 – 120	4 000 – 150 000	1 000 – 100 000	15 – 20
Sephadex G-100 Superfine	10 – 40	4 000 – 100 000	1 000 – 100 000	15 – 20
Sephadex G-150	40 – 120	5 000 – 300 000	1 000 – 150 000	20 – 30
Sephadex G-150 Superfine	10 – 40	5 000 – 150 000	1 000 – 150 000	18 – 22
Sephadex G-200	40 – 120	5 000 – 600 000	1 000 – 200 000	30 – 40
Sephadex G-200 Superfine	10 – 40	5 000 – 250 000	1 000 – 150 000	20 – 25

## 2.2.Masa moleculară a polimerilor

Toți polimerii sintetici și o parte din biopolimeri sunt mixturi de macromolecule cu mase moleculare diferite. Unii polimeri comerciali, polietilena, polietilenoxidul și dimetil siliconii, au distribuții de mase moleculare continui variind de la monomer sau dimer pînă la molecule cu mase de ordinul  $10^6$ .

Metodele de fracționare, distilare respectiv de purificare și extracție sunt limitate la mase moleculare de ordinul 2000. Peste această valoare compușii sunt considerați a fi din clasa polimerilor sau simplu compuși macromoleculari. Sub această valoare de regulă se folosește termenul de oligomer iar metoda de determinare este specifică spectroscopiei de masă. Masa moleculară și greutatea moleculară sunt doi termeni utilizați în literatura de specialitate cu aceeași semnificație. Cel mai important pentru polimeri care îi fac diferiți de alte materiale este masa și distribuția maselor moleculare ce sunt definitorii în comportarea și proprietățile lor fizico-chimice. Distribuția maselor moleculare se determină prin metode specifice: cromatografie, difuzia luminii, centrifugale, vîscozimetrie [11-12]

Metodele moderne de spectrometrie de masă și cromatografie de exclusiune sterică aduc contribuții asupra detaliului compusului macromolecular.

Pentru materialele polimere masa moleculară sau dimensiunea moleculară joacă un rol determinant în proprietățile polimerilor în volum și în soluție ( tabela 2.2). Proprietățile guvernează procesarea polimerilor și performanțele acestora,

interacțiunile reciproce sau cu moleculele vecine. Prin comparație cu moleculele mici care au o masă moleculară discretă și bine definită cei mai mulți polimeri sintetici sunt compuși cu mii de lanțuri cu mase moleculare diferite ce definesc o distribuție de mase moleculare (DMM) caracteristică. Forma și lărgimea acesteia este dependentă de mecanismele de polimerizare, cinetică, condiții de sinteză. Polimerii naturali (ligninele, uleiurile naturale, grăsimile, acizi humici, cauciucul natural, celulozele, polizaharidele) au DMM caracteristice funcție de sursa de proveniență și de metoda de izolare sau filtrare. Acizii nucleici și proteinele au o structură moleculară definită în consecință o masă moleculară unică. Masa moleculară a polimerilor sau greutatea moleculară determină multe din proprietățile fizice. Exemple care să pună în evidență această dependență sunt multiple. Cel mai simplu exemplu este dependența rezistenței mecanice,  $S$  de masa moleculară. Cu cât masa moleculară este mai mare cu atât  $S$  crește spre o valoare limită (figura 2.5, tabela 2.2):

$$S = S_{\infty} - \frac{A}{M}$$

unde  $A$  este o constantă iar  $M$  masa moleculară. Multe dintre proprietăți au o comportare similară. Spre deosebire de compușii mic moleculari unde masa lor este constantă polimerii având o distribuție de mase în consecință și proprietățile vor funcții de valorile medii ale maselor moleculare:

$$S = S_{\infty} - \frac{A}{\overline{F(M)}}$$

Dependența proprietăților fizice este funcție de modelul și metodele de aproximație introduse dar întotdeauna va fi exprimată prin mase moleculare medii și aceasta depinde de tipul de DMM. De notat că proprietățile fizice ale polimerilor fiind dependente de DMM iar aceasta este o consecință a procesului de polimerizare atunci pot fi „proiectate” materiale polimere cu proprietăți date.

De exemplu o polietilenă pentru vestele antiglonț sau cu rezistența mare la șoc mecanic necesită lanțuri de lungime foarte mare și o DMM cu o lărgime mică. În opoziție pentru filme de polietilenă necesare pungilor de plastic DMM este largă cu un indice de polidispersie mare pentru a satisface condiția de prelucrare prin injecție-trefilare-calandrare. DMM este instrumentul pentru chimia polimerilor ce acomodează un specific de reacții, fizica polimerilor unde se elaborează diferite modele de a descrie proprietățile fizice și pentru fizico-chimia experimentală unde prin SM, SEC/GPC, fracționare se obțin informații despre distribuții. Fiind dată importanța ei în acest capitol sunt considerate câteva metode de a deduce DMM respectiv de a calcula mediile maselor moleculare.

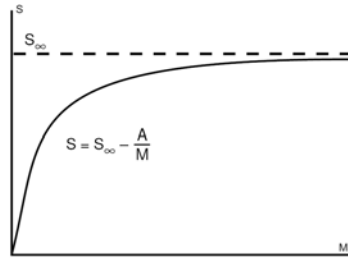


Figura 2.5 – Dependența rezistenței mecanice a polimerilor de masa moleculară

**Tabela 2.2** Proprietăți fizice dependente de DMM

Procesabilitate	Temperatura de tranziție vitroasă
Viscozitatea soluției	Duritate
Viscozitatea topiturii	Rezistență la curgere
Rezistența mecanică	rezistență la șoc, impact mecanic
Fragilitatea-rigiditatea mecanică	relaxare mecanică
Rezistența la oboseală (flexiune)	rezistența la fractură
Capacitatea de tragere în fire	compresibilitate
Permeabilitate la gaze	uzură

### 2.2.1 Masa moleculară medie numerică

Cînd proprietățile polimerului sunt coligative adică nu sunt dependente de dimensiunea particulelor (temperatura de fierbere, scăderea punctului de solidificare, presiunea osmotică etc). Pentru aceste proprietăți cea mai relevantă este masa medie numerică,  $\overline{M}_n$ . Funcția de distribuție a maselor moleculare nu este continuă de  $M$ , mai curînd discretă așa cum s-a observat din spectrele de masă.

Dacă notăm cu  $M_i$  masa moleculară a unui număr  $N_i$  de macromolecule rezultate prin fracționare atunci masa totală va fi:

$$\text{Masa totală} = \sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i \quad 2.1$$

iar numărul total:

$$\text{Numărul total} = \sum_{i=1}^{\infty} N_i \quad 2.2$$

Prin urmare masa medie numerică este definită astfel:

$$\overline{M}_n = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i} \quad 2.3$$

Se observă că  $N_i / \sum N_i$ , reprezintă fracția numerică  $X_i$  (fracția molară) a polimerului cu masa moleculară  $M_i$ . Atunci masa numerică medie se exprimă simplu în termeni de fracții molare:

$$\overline{M}_n = \sum_{i=1}^{\infty} X_i M_i \quad 2.4$$

În experimentele de laborator de regulă se evaluează sau măsoară greutatea moleculară,  $w_i$  și nu direct  $M_i$ . Dacă notăm concentrația unei specii de polimer  $i$  (în masă per volum) atunci:

$$c_i = \frac{N_i M_i}{V} \quad 2.5$$

atunci masa medie numerică poate fi exprimată în termeni de concentrații prin:

$$\overline{M}_n = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} c_i}{\sum_{i=1}^{\infty} \frac{c_i}{M_i}} = \frac{1}{\sum_{i=1}^{\infty} \frac{w_i}{M_i}}; \quad (\sum_{i=1}^{\infty} c_i = 1) \quad 2.6$$

unde  $w_i$  reprezintă fracția greutăților moleculare a polimerului,  $i$ :  $w_i = \frac{N_i M_i}{\sum N_i M_i}$

### 2.2.2 Masa moleculară medie gravimetrică

Considerăm o proprietate a polimerului care depinde de dimensiunea sau masa fiecărei macromolecule și nu de numărul lor. Pentru astfel de proprietăți funcția de partiție discretă este definită de fracția gravimetrică  $w_i = \frac{N_i M_i}{\sum N_i M_i}$  iar valoarea medie a masei gravimetrice este:

$$\overline{M}_w = \sum_{i=1}^{\infty} w_i M_i = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} \quad 2.7$$

Comparînd această expresie cu aceea a masei medii numerice (2.3) în termeni de fracții se observă că ultima este ponderată cu masa fiecărei specii.

Aparent aceasta nu ar avea nici o semnificație însă dacă luăm un simplu exemplu vom constata diferențele interpretării. Să presupunem că se lasă să cadă 1000 bile cu diametre diferite. Atunci avem conform cu tabelul 2.3 următoarele situații de calcul a diametrului mediu:

**Tabela 2.3**

Număr bile $N_i$	Diametrul $D_i$ (u.a)	lungime $N_i D_i$	arie ( $\times 1/\pi$ )	volum ( $\times 6/\pi$ )
900	1	900	900	900
50	5	250	1250	6250
50	25	1250	31250	781250
$\sum N_i = 1000$		$\sum N_i D_i = 2400$	$\sum N_i D_i^2 = 33400$	$\sum N_i D_i^3 = 788400$
<p>Diametrul mediu ponderat după lungime (1 dimensiune): <math>\overline{D}_l = \frac{\sum N_i D_i}{\sum N_i} = 2.4</math></p> <p>Diametrul mediu ponderat după arie (2 dimensiuni): <math>\overline{D}_A = \frac{\sum N_i D_i^2}{\sum N_i D_i} = 13.9</math></p> <p>Diametrul mediu ponderat după volum (3 dimensiuni): <math>\overline{D}_V = \frac{\sum N_i D_i^3}{\sum N_i D_i^2} = 23.6</math></p>				

Exemplul ipotetic arată că diametrul mediu ponderat după diferite dimensiuni are valori diferite. Fiecare are semnificația specifică: diametrul mediu de a acoperi cu bile, ce prezintă polidispersie, o lungime dată respectiv o secțiune dată sau un volum dat din cilindrul respectiv.

### 2.2.3 Alte tipuri de valori medii

Pentru a obține  $\overline{M}_w$  din  $\overline{M}_n$  s-a înlocuit  $N_i$  cu  $N_i M_i$ . Se poate generaliza acest proces prin înlocuirea lui  $N_i$  cu  $N_i M_i^k$  pentru a obține alte tipuri de medii ale maselor moleculare notate cu  $\overline{M}_k$ :

$$\overline{M}_k = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^{k+1}}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^k} \quad 2.8$$

Astfel pentru  $\overline{M}_0 = \overline{M}_n$  și  $\overline{M}_1 = \overline{M}_w$ . Alte forme de  $\overline{M}_k$  apar în experimente specifice de difuzia luminii respectiv de separare prin centrifugare  $\overline{M}_2 = \overline{M}_z$  și  $\overline{M}_3 = \overline{M}_{z+1}$ . De notat că mediile maselor moleculare deduse din măsurători viscozimetrice nu au aceeași comportare ea fiind definită:

$$\overline{M}_v = \left( \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^{1+a}}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} \right)^{1/a} \quad 2.9$$

unde  $a$  este o constantă care depinde de perechea solvent-polimer utilizată în măsurătorile de viscozimetrie [11-14]. Pentru orice distribuție de mase moleculare diferitele medii se ordonează astfel (figura 2.6):

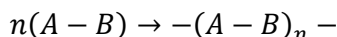
$$\overline{M}_n \leq \overline{M}_v \leq \overline{M}_w \leq \overline{M}_z \leq \overline{M}_{z+1} \leq \overline{M}_4 \leq \dots \quad 2.10$$

Egalitățile păstrându-se pentru polimeri monodisperși adică atunci când toate moleculele au aceeași masă moleculară. Pentru sisteme polidisperse mediile maselor moleculare se vor ordona ca în relația (2.10). Ultimele 2 momente sunt mai rar utilizate în caracterizarea polimerilor.

Raportul dintre  $\overline{M}_w$  și  $\overline{M}_n$  se numește indice de polidispersie (PDI)

### 2.2.4 Funcții de distribuție pentru masele moleculare

Toți polimerii rezultați din reacțiile de polimerizare au mase moleculare diferite prin urmare vor conduce la diferite tipuri de distribuții dependente de condițiile și tipul de reacții de polimerizare. Un exemplu clasic este polimerizarea de condensare a monomerilor bifuncționali. Dacă cei doi monomeri reacționează se formează o grupare A-B iar reacția de polimerizare decurge după o schemă simplificată:



De exemplu dacă A este un acid de tip carboxilic (-COOH) iar B un alcool (-OH) sau o amină (-NH<sub>2</sub>) polimerul va fi un poliester respectiv o poliamidă.

Flory [11,13,14] a considerat polimerizarea prin policondensare și folosind argumente statistice a calculat distribuția cea mai probabilă a maselor moleculare.

În cazul celor doi monomeri A și B se pot determina fracțiile de monomeri ce au reacționat prin titrare a grupărilor funcționale (titrare acid/bază). Prin urmare se poate defini,  $p$ , ca fracția de grupe funcționale de tip A care au reacționat la un stadiu dat de polimerizare. Deoarece A reacționează numai cu B atunci  $p$  are aceeași semnificație pentru ambii reactanți. Probabilitatea ca un B să nu fi reacționat este  $(1-p)$ . Astfel probabilitatea ca o moleculă aleasă aleatoriu să fie monomer este:

$$P(i = 1) = 1 - p \quad 2.11$$



Probabilitatea ca o moleculă selectată aleator să fie un dimer este egală cu produsul probabilităților independente ca primul grup să fi reacționat ( $p$ ) iar al doilea să fie nereacționat ( $1-p$ ):

$$P(i = 2) = p(1 - p) \quad 2.12$$

Continuând prin inducție probabilitatea ca o moleculă arbitrar selectată cu gradul de polimerizare,  $i$ , va fi:

$$P(i) = p^{i-1}(1 - p) \quad 2.13$$

Termenul  $p^{i-1}$  este pentru mixtura de  $i-1$  grupe funcționale reacționate din lanț și  $1-p$  este termenul pentru grupul funcțional terminal nereacționat. Dacă  $N$  sunt moleculele din mixtura de polimerizare atunci numărul de lanțuri polimere de lungime  $i$  va fi:

$$N_i = Np^{i-1}(1 - p) \quad 2.14$$

$N$  este legat de numărul inițial de monomeri  $N_0$  prin  $N = N_0(1 - p)$ . Această relație conduce prin înlocuire la determinarea numărului de molecule cu lungimea lanțului  $i$ :

$$N_i = N_0p^{i-1}(1 - p)^2 \quad 2.15$$

relație ce descrie complet distribuția macromoleculor în polimer. Este cunoscută ca distribuția cea mai probabilă sau distribuția Flory. Virtual toți polimerii de condensare indiferent de ruta reacției de policondensare se vor termina cu o distribuție de tip Flory. În figura 2.6a sunt prezentate câteva exemple de funcții de distribuție pentru diferite valori ale probabilității  $p$ . Acest tip de descreștere monotonă nu este comun pentru a ilustra funcțiile de distribuție. O reprezentare mult mai familiară este exprimarea prin fracțiilor masice sau a distribuțiilor după masa moleculară. Frația masică este definită:

$$w_i = \frac{iM_0N_i}{M_0N_0} = \frac{iN_i}{N_0} = ip^{i-1}(1 - p)^2 \quad 2.16$$

unde  $M_0$  este masa moleculară a monomerului, mai exact este masa moleculară a unităților repetabile,  $iM_0$  este masa moleculară a polimerului de lungime  $i$ ,  $N_0M_0$  este masa moleculară totală a polimerului la terminarea procesului de polimerizare. În figura 4.2b este prezentată distribuția masică pentru câteva valori ale parametrului  $p$ .

Având funcțiile de distribuție complet determinate se pot calcula valorile medii numerice respectiv masice. Pentru  $\overline{M}_n$  avem două metode de evaluare.

Prima metodă constă în evaluarea directă a sumei pentru masa moleculară medie:

$$\overline{M}_n = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} iM_0N_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i} = M_0(1 - p) \sum_{i=1}^{\infty} ip^{i-1} \quad 2.17$$

Suma se calculează prin metoda derivării după parametrul  $p$ :

$$\sum_{i=1}^{\infty} ip^{i-1} = \frac{d}{dp} \sum_{i=1}^{\infty} p^i = \frac{d}{dp} \frac{p}{1-p} = \frac{1}{(1-p)^2} \quad 2.18$$

care multiplicată cu  $M_0(1-p)$  conduce la:

$$\overline{M}_n = \frac{M_0}{1-p} \quad 2.19$$

O alternativă mult mai simplă este din conservarea masei: masa totală a polimerului este  $M_0N_0$  iar numărul total de polimeri  $N_0(1-p)$ . Astfel

$$\bar{M}_n = \frac{\text{Masa totală de macromolecule}}{\text{Numărul total de macromolecule}} = \frac{M_0 N_0}{N_0(1-p)} = \frac{M_0}{1-p}$$

Masa moleculară medie gravimetrică,  $\bar{M}_w$  calculată din distribuția cea mai probabilă se obține din mediere pe fracțiile gravimetrice:

$$\bar{M}_w = \sum_{i=1}^{\infty} w_i i M_0 = M_0 (1-p)^2 \sum_{i=1}^{\infty} i^2 p^{i-1}$$

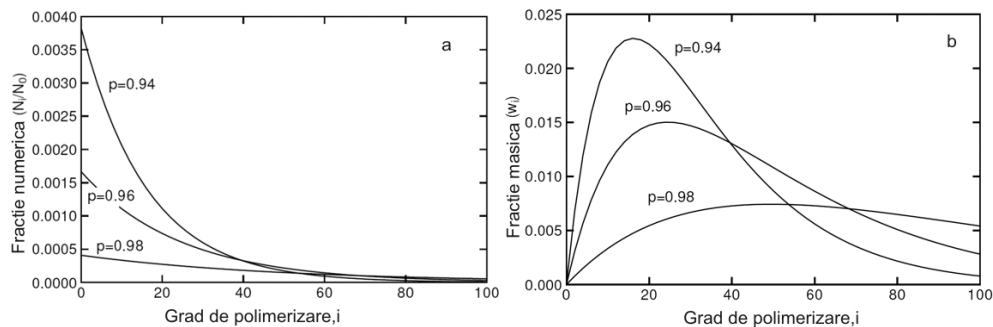
Aplicînd același procedeu de derivare de două ori asupra seriei din 2.18. se obține:

$$\bar{M}_w = M_0 \frac{1+p}{1-p} \quad 2.20$$

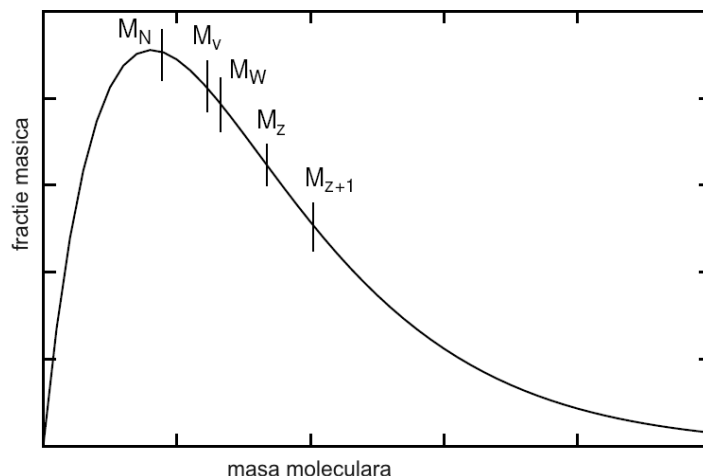
Combinînd relațiile 2.19 și 2.20 ale maselor medii numerice și gravimetrice se obține indicele de polidispersie:

$$PDI = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} = 1 + p \quad 2.21$$

Cum reacția de polimerizare se apropie de etapa finală p se apropie de valoarea 1 iar PDI devine 2. Acesta este coeficientul de variație a distribuției celei mai probabile ce poate atinge 100%. Cu cît este mai mare variația PDI cu atît este mai largă distribuția de mase moleculare. Pentru valori ale lui p=1, funcția de distribuție devine o dreaptă iar valorile medii devin infinit de mari



**Figura 2.6-** Funcția de distribuție cea mai probabilă reprezentă prin fracții numerice(a) respectiv masice(b). Frațiile numerice respectiv masice sunt reprezentate în funcție de gradul de polimerizare. Cele trei curbe sunt pentru trei valori ale parametrului p.



**Figura 2.7**-Reprezentare grafică a distribuției moleculare și ordinea dispunerii diferitelor medii, relația 2.10

Distribuțiile Flory sunt un caz ideal de caracterizare a unui proces de polimerizare. În realitate pentru orice secvență de timp din procesul de polimerizare nu se obțin macromolecule cu același grad de polimerizare. Există posibilitatea ca monomerii A și B să reacționeze formînd inițial dimeri A-A, B-B respectiv A-B iar reacția de policondensare să continue după tipul -(A-A-B-B-...)-sau alte combinații conducînd spre blocpolimeri sau bloccopolimeri. Analiza este mai complexă însă metodele de abordare sunt similare.

Legătura dintre PDI și lărgimea DMM poate fi direct descrisă din abaterea pătratică medie sau varianța distribuției:

$$\sigma^2 = \overline{M^2} - \overline{M}^2$$

$$\sigma^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2 - \left( \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i \right)^2 = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2 \sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i \sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} - (\overline{M}_n)^2$$

care exprimată în termeni de  $\overline{M}_n$  și  $\overline{M}_w$

$$\sigma^2 = \overline{M}_n \overline{M}_w - (\overline{M}_n)^2 = (\overline{M}_n)^2 \left( \frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n} - 1 \right) \quad 2.22$$

sau deviația standard

$$\sigma = \overline{M}_n \sqrt{\frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n} - 1} = \overline{M}_n \sqrt{PDI - 1}$$

Coeficientul de variație (C.V) este raportul dintre abaterea standard și valoarea medie numerică a masei. Prin urmare

$$C.V = \frac{\sigma}{\overline{M}_n} = \sqrt{\frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n} - 1} \quad 2.23$$

Dacă PDI este unitar atunci sistemul este monodispers

### 2.2.5 Exemple și probleme

- O masă de polimer este alcătuit dintr-o mixtură de trei tipuri de polietilenă granulară A,B,C. Cît din fiecare lot trebuie luat pentru a alcătui o șarjă de 50Kg cu masă moleculară medie gravimetrică de 250.000 și indice de polidispersie PDI=3.65

Lot	$M_w$	PDI
A	500.000	2,50
B	250.000	2,00
C	125.000	2,50

Rezolvare:

$$M_w = \sum w_i (M_w)_i = 500.000w_A + 250.000w_B + 125.000(1 - w_A - w_B) \\ = 250.000 \rightarrow w_A = 0,333 - 0,333w_B$$

$$\frac{1}{M_n} = \sum \frac{w_i}{(M_w)_i} = \sum \frac{w_i}{\left(\frac{M_w}{PDI}\right)_i} = \frac{w_A}{200} + \frac{w_B}{125} + \frac{1 - w_A - w_B}{50} = \frac{1}{68,5}$$

Rezolvînd ultimele două ecuații se obțin ponderile celor trei componenți:  $w_A=0,058$ ;  $w_B=0,314$ ;  $w_C=0,628$ .

- Presupunem că avem un sistem polidispers de polimeri. Fie  $N_{i,j}$  numărul de polimeri de tipul j cu grad de polimerizare i și masa  $M_{i,j}$ . Să se calculeze masele medii numerică și gravimetrică.

Fiind un sistem polidispers valorile medii necesită sumarea pe ambii indici:

$$\overline{M_n} = \frac{\sum_{j=1}^n \sum_{i=1}^i N_{i,j} M_{i,j}}{\sum_{j=1}^n \sum_{i=1}^i N_{i,j}}, \quad \overline{M_w} = \frac{\sum_{j=1}^n \sum_{i=1}^i N_{i,j} M_{i,j}^2}{\sum_{j=1}^n \sum_{i=1}^i N_{i,j} M_{i,j}}$$

Presupunem că pentru fiecare component, j, sunt cunoscute masele moleculare medii,  $\overline{M_{n,j}}$  și  $\overline{M_{w,j}}$  și propoțiile masice  $w_j$  pentru fiecare component se obține:

$$\overline{M_w} = \frac{w_1 \overline{M_{w1}} + w_2 \overline{M_{w2}} + w_3 \overline{M_{w3}} \dots + w_n \overline{M_{wn}}}{w_1 + w_2 + \dots + w_n}$$

respectiv,

$$\overline{M_n} = \frac{w_1 + w_2 + \dots + w_n}{\frac{w_1}{\overline{M_{n1}}} + \frac{w_2}{\overline{M_{n2}}} + \frac{w_3}{\overline{M_{n3}}} \dots + \frac{w_n}{\overline{M_{nn}}}}$$

- Stearatul de calciu ( $\text{Ca}(\text{OOC}(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3)_2$ , masa moleculară= 607) este folosit ca lubrefiant în procesarea policlorurii de vinil (PVC). O probă de polimer pur cu PDI=2.8 este modificat cu 3% procente masice prin adăugarea de stearat de calciu. Mixtura are  $\overline{M_n} = 15,000$  g/mol.

- Care este  $\overline{M_n}$  a PVC ului? (se va folosi rezultatul din problema precedentă)

- b) Care este  $\overline{M}_w$  a mixturii?
  - c) Care este efectul stearatului de Ca asupra maselor moleculare deduse din difuzia luminii respectiv din presiunea osmotică? ( difuzia luminii măsoară  $\overline{M}_w$  iar presiunea osmotică  $\overline{M}_n$  )
  - d) Care este cea mai mare valoare posibilă pentru  $\overline{M}_n$  , pentru un polimer conținând 3% în greutate stearat de Ca.
1. Se consideră distribuția cea mai probabilă a maselor moleculare:
    - a) Să se deducă o expresie pentru probabilitatea P(M) ca un polimer aleator selectat să fie de masă M. Să se exprime rezultatul în termeni de M și nu de gradul de polimerizare i.
    - b) Care masă moleculară corespunde probabilității maxime
    - c) Să se deducă o expresie pentru w(M), fracția unui polimer care are masa M.
  2. Să se calculeze procentul conversiei grupelor funcționale necesar de a obține un poliester cu masa medie numerică de 24.000 g/mol din monomerul HO(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>COOH
  3. O poliamidă s-a preparat din hexameten diamină (9.22 g, masa moleculară 116) și acid adipic ( 13.2 g, masa moleculară 166) la 280<sup>0</sup>C. Analiza produsului de reacție a arătat că el conține 2.6x10<sup>-3</sup> moli de grupări carboxilice. Să se determine  $\overline{M}_n$  și  $\overline{M}_w$  presupunând că distribuția este cea mai probabilă.

## 2.3 Referințe

---

- 1 G.H Lathe, C.R Ruthven, *The separation of substances and estimation of their relative molecular sizes by the use of columns of starch in water*. Biochem. J. 62(4): 665-674, 1956
- 2 J. Porath, P Flodin, *Gel filtration: A method for desalting and group separation*. Nature 183(4676): 1657-1659, 1959; P. Flodin, *Dextran Gels and Their Applications in Gel Filtration*. Uppsala, Sweden: Pharmacia, 1962
- 3 M. Eisenstein, *A look back, adventures in the matrix*. Nature Methods 3(5): 410, 2006
- 4 J. C. Moore. *J. Polymer Sci. A2* ,835, 1964
5. S. S. Cutie, and S. J. Martin. *Size-Exclusion Chromatography of Cross-Linked Superabsorbent Polymers*, Journal of Applied Polymer Science, Vol. 55, 605-609 ,1995
6. S. S. Cutie, P. B. Smith, R E. Reim, A. T. Graham. *Analysis and Characterization of Superabsorbent Polymers*, In Modern Superabsorbent Polymer Technology. Edited by F. L. Buchholz and A. T. Graham. John Wiley & Sons, Inc. (1998)
7. D. M. Meunier. "*Molecular Weight Determinations*" in Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. Edited by F. Settle, Prentice Hall PTR. 1997
8. Jack Cazes. "*Gel Permeation/Size Exclusion Chromatography*". In a Century of Separation Science. Edited by H. I. Issaq. Marcel Dekker, Inc. 2002
9. C.F. Poole , *The Essence of Chromatography*, Elsevier, 925pp, 2003
10. Chi-san Wu, *Column Handbook for Size Exclusion Chromatography*, Elsevier, 637pp, 1999
- 11.L. M Constantinescu, C. Berlic, V. Barna, *Fizico-chimia polimerilor, aplicații*, Ed U.B, 2006
- 12.L.M. Constantinescu, C. Berlic, *Structura polimerilor, metode de studiu*, Ed UB, pp194, 2003.
- 13.P. J. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University, New York, 1953.
14. F. Rodriguez, C.Cohen, C.K Ober, L.A Archer, *Principles of Polymer Systems*, 5th Ed, 760pp, Taylor &Francis Pub, 2003

# Capitolul 3

## 3. Spectrometria de masă (SM)

Pentru a pune în evidență importanța acestei metode de analiză vom începe cu un eveniment important al anului 2002: Academia de Științe din Suedia a acordat Premiul Nobel pentru următoarea tematică: *"for the development of methods for identification and structure analyses of biological macromolecules"*, pentru **John B. Fenn**, Virginia Commonwealth University, Richmond, USA, și **Koichi Tanaka** Shimadzu Corp., Kyoto, Japan, *"for their development of soft desorption ionisation methods for mass spectrometric analyses of biological macromolecules"* respectiv lui **Kurt Wüthrich** Swiss Federal Institute of Technology (ETH), Zürich, Switzerland and The Scripps Research Institute, La Jolla, USA *"for his development of nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining the three-dimensional structure of biological macromolecules in solution"*.

Premiile Nobel au fost acordate pentru Metodele Analitice revoluționare de investigarea biomoleculelor, în particular pentru proteine și polimeri. Posibilitatea analizei în detaliu a proteinelor a condus la o adâncă înțelegere a proceselor vieții.

Cercetătorii pot acum simplu și rapid să releve într-o probă diferite categorii de proteine. Ei pot deasemenea să releve reprezentarea tridimensională de cum arată moleculele într-o soluție și pot să determine funcționalitatea lor atât în celule cât și singulare.

*Macromoleculele biologice sunt actorii principali în alcătuirea vieții fie că exprimă prosperitatea diversității sau în amenințarea unei boli. Pentru înțelegerea biologiei și medicinei la nivel molecular, prin prisma instrumentelor fizico-chimiei, unde identitatea, caracteristicile funcționale, arhitecturile structurale și interacțiile dintre biomolecule sunt bazele vieții, avem nevoie de a vizualiza activitatea și influența reciprocă a moleculelor mari cum ar fi de exemplu proteinele. A studia sau a analiza macro și biomoleculele trebuiau dezvoltate principiile separării și determinării caracteristicile lor individuale. Iată de ce RMN și SM au devenit subiectul premiilor Nobel.*

Metodele au revoluționat dezvoltarea de noi medicamente promițând noi aplicații pentru alte domenii ale fizico-chimiei. Cele mai importante domenii care așteaptă mult de la aceste tehnici revoluționare se referă la controlul alimentelor, diagnoza timpurie în cancerule de plămâni și de prostată, biocompatibilitatea materialelor.



John B. Fenn (1917) ; Koichi Tanaka(1959)

Spectrometria de masă este un instrument analitic foarte important folosit practic în laboratoarele fizico –chimiei din toată lumea iar în prezent devine din ce în ce mai folosită în nanomateriale și nanotehnologie. Anterior numai molecule mici au putut fi identificate dar John B. Fenn și Koichi Tanaka au dezvoltat metode care o fac posibilă analizei macromoleculilor și biopolimerilor respectiv a macromoleculilor biologice.

În metoda pe care John B. Fenn a publicat-o în 1988, “electrospray ionisation (ESI)”, sunt formate particule încărcate electric din soluții ce conțin proteine care se confinează atunci când apa se evaporă. Masa lor se măsoară prin trecerea lor într-un analizor de timp de zbor pentru o distanță cunoscută. Koichi Tanaka introduce o tehnică diferită în ceea ce privește eliberarea proteinelor și transferul lor într-un circuit de analiză: desorbția proteinelor dintr-o matrice sub influența unei radiații laser cu fluență mică (soft laser desorption, SLD).

### **3.1 Istoric**

#### Ipoteza lui Prout asupra masei atomice

William Prout în 1815 a observat că masa atomică măsurată a clorului este un multiplu întreg raportat la cea a hidrogenului [1]. Ipoteza lui Prout că orice atom are masa un multiplu întreg raportat la H a influențat anii 1820. Ulterior Jakob Berzelius (1828) și Edward Turner (1832) prin măsurători mai exacte au contrazis această ipoteză [2].

#### Radiațiile canal

Julius Plücker, la mijlocul sec XIX a investigat emisia luminii din tuburile de descărcare și influența câmpului magnetic asupra descărcării luminescente. Ulterior în 1869, Johann Wilhelm Hittorf a studiat în tuburile de descărcare energia radiațiilor emise în spațiul catodic. Aceste radiații produceau fluorescență când ciocneau pereții de sticlă a tubului de descărcare. Razele canal, sau razele anodice au fost observate de Eugen Goldstein în 1886 care a perforat catodul descărcării luminescente. El a observat că razele catodice traversau catodul perforat întorcându-se spre anod.

#### Spectrograful de masă

Wilhelm Wien a observat că radiația catodică este deflectată sub acțiunea unui câmp magnetic iar în 1899 a construit un dispozitiv cu câmpuri electrice și magnetice paralele care separă radiația pozitivă funcție de raportul sarcină/masă ( $q/m$ ). Wien a observat că raportul  $q/m$  depinde de natura gazului de descărcare. Ulterior J.J Thomson a îmbunătățit experimentul lui Wien prin reducerea presiunii ducând la apariția primului spectrograf de masă.

#### Spectrometrul de masă

Procesele care au condus la versiunea modernă a spectrometrului de masă au fost dezvoltate de Arthur Jeffrey Dempster și F. W. Aston în 1918 respectiv 1919. Dempster a dezvoltat primul spectrograf de masă modern care era de 100 de ori mai precis decât versiunile anterioare, a elaborat teoria de bază și a proiectat un spectrometru de masă care este și astăzi luat ca principiu de bază. În 1935 a descoperit izotopul uraniului,  $^{235}\text{U}$  [3].



Ashton cunoscut prin studiile sale asupra descărcărilor în gaze, spațiului întunecat Crookes ( astăzi spațiul Ashton [4]) a proiectat o variantă îmbunătățită a spectrometrului de masă studiind peste 212 izotopi (1919). Pentru contribuțiile sale a primit Premiul Nobel în chimie, 1921.

#### Introducerea trapelor ionice

Hans Dehmet și Wolfgang Paul au introdus tehnica trapelor ionice în 1950 și 1960. O trapă ionică este o combinație de câmpuri electrice și magnetice pentru capturarea de ioni într-o regiune a unui tub vidat. Cele mai comune trape sunt Penning și Paul ( trape ionice cuadrupolare sau orbitrap). În 1989 cei doi fizicieni primesc Premiul Nobel pentru dezvoltarea tehnicilor trapelor ionice

#### Ionizarea prin pulverizare, desorbție laser, desorbție-ionizare laser din matrici suport

Ionizarea prin pulverizare (electrospray ionization, ESI) este o tehnică introdusă pentru spectrometria de masă în scopul de a produce macromolecule încărcate electric (ionomeri) fără a li se altera structura și compoziția chimică sau a se fragmenta datorită ionizării. Este o tehnică dezvoltată pentru analiza biomoleculilor respectiv a macromoleculilor biologice [5, 6]. John Bennett Fenn în 2002 a primit Premiul Nobel pentru tehnica ESI

Desorbția Laser (Soft Laser Desorption, SLD) a fost dezvoltată de Koichi Tanaka în 1987. Termenul SLD nu a fost larg folosit de comunitatea științifică în spectrometria de masă care în cele mai multe cazuri folosesc ionizarea laser cu desorbția materiei de studiat dintr-o matrice ( Matrix Assisted Laser Desorption Ionization, MALDI). Tanaka a utilizat o mixtură de nanoparticule de Co în glicerină pentru desorbție-ionizare sub acțiunea radiației laser de 337 nm (laser cu azot). El a pus în evidență ionizarea slabă a proteinelor [7].

MALDI este o tehnică pusă în evidență de Michael Karas, Doris Bachmann, and Franz Hillenkamp în 1985 dar raportată în 1988 [8]. MALDI este o metodă de desorbție- ionizare a biomoleculilor din matrice solidă raportat la SLD unde Tanaka a utilizat o matrice lichidă. În experimentele MALDI, Karas și Hillenkamp a utilizat radiația laser Nd:YAG, de 266 nm. Tehnica modernă MALDI se utilizează pe scară largă în analiza proteinelor și a biomoleculilor [9]

### **3.2.Dezvoltarea SM**

Abilitatea de a separa moleculele funcție de de masă, dimensiune și sarcină a fost prima dată descrisă în 1912 de J.J. Thomson și a fost exprimată ca raportul de masă/sarcină măsurat în unități Thomson (Th).Toate spectrometrele de masă indiferent de avansul lor tehnologic au principii fundamentale identice și se bazează pe cele germinate de către Sir J.J Thomson, în laboratorul Cavendish al Universității Cambridge, ce a condus cercetările asupra descoperirii electronului în 1897. Prin cercetările sale a dus la primul spectrometru de masă în timp ce măsura efectul câmpului magnetic asupra ionilor generați de către gazele reziduale din tuburile catodice. Thomson nota la acea vreme că ionii se deplasează pe traiectorii parabolice proporționale cu raportul masei specifice  $m/z$ . Pentru aceste experimente ce a deschis fizicii noi direcții Thomson a primit în 1906 Premiul

Nobel: "in recognition of the great merits of his theoretical and experimental investigations on the conduction of electricity by gasses."

În 1946, William E. Stephens, introduce conceptul analizorului de timp de zbor (time of flight, TOF), concept ce permite analiza ionilor prin măsurarea vitezei acestora pe traiectoria spre colector (detector).

Perioada 1930 – 1970 a fost cea a unor mari realizări pentru spectrometria de masă. La sfârșitul primului război mondial prin lucrările lui Francis W. Aston și Arthur J. Dempster s-au adus contribuții importante în îmbunătățirea rezoluției spectrometrelor de masă o dată cu dezvoltarea tehnicii vidului și a electronicii. Alfred Neir încorporează aceste realizări în construcția și designul noii generații de spectrometre reducându-le considerabil masa.

O intensă activitatea în dezvoltarea SM a fost depusă pentru o perfecționare continuă a instrumentelor în scopul analizării moleculelor cu mase moleculare din ce în ce mai mari. Acest deziderat avea să fie atins abia în anii 70 când s-a înțeles că în procesul de analiză trebuie o preprocesare a substanțelor: prepararea de molecule încărcate electric într-o fază gazoasă urmat de separarea fizică a ionilor/macroionilor în vid.

Pentru biomolecule provocarea era de a găsi o procedură viabilă pentru prepararea de probe. Procesul prin care se dovedea abilitatea de a face biomoleculele să părăsească faza lichidă sau solidă și de a se deplasa printr-o fază gazoasă a condus la ingenioase combinații de alegere a materialelor, energiei, dimensiunii, structurii și nu în ultimul rând a mediului chimic.

Introducerea principiilor și a SM spre echiparea bioștiințelor în studierea identității, structurii, caracteristicilor funcționale a moleculelor gigant a dat o puternică dezvoltare acestui domeniu al fizicii experimentale.

Istoria a jucat și aici un rol ca în cele mai multe științe interdisciplinare. Cercetătorii și ingineria tehnologică s-au concentrat pe ideea că este strict necesar să se volatilizeze mai întâi molecula și apoi să o ionizeze. În plus energia necesară volatilizării moleculei era de regulă dată de o sursă termică însă aceasta conducea la modificări chimice, efecte secundare în decursul procesului de încălzire-volatilizare. Dezvoltările experimentale erau marginale în raport cu pasul necesar de a fi capabili de a analiza molecule gigant intacte.

O noutate majoră descrisă de M.S.B. Munson și F.H. Field în 1966 [10] era de a folosi ionizarea chimică (chemical ionisation, CI). Pentru prima dată a fost posibil de a ioniza macro și biomolecule termolabile. Un gaz reactant, abundent în ioni formați printr-o descărcare electrică, ionizează moleculele volatilizate.

Desorpția cu plasma (PD- plasma desorption), introdusă în 1976 [11], folosește ioni de energie mare pentru a desorbi și ioniza molecule. Tehnica a cunoscut un oarecare succes dar niciodată nu a prezentat o credibilitate în determinarea maselor moleculare mai mari de 10 kDa.

Dacă luăm pentru comparare masele moleculare a substanțelor comune se evidențiază imediat limitele PD-SM: mii de Dalton (Da) pentru hormonul insulină (5734 Da), sute de mii de Da pentru proteinele comune și de 5 milioane Da pentru complexe enzimatică gigant.

FAB- (fast atom bombardement), bombardamentul cu atomi rapizi. A cunoscut o limitare în dezvoltare întrucât distruge moleculele mici. M. Barber et al. [12] au descris realizarea de experimente de FAB care permitea o acoperire cu medii nevolatile realizandu-se astfel o protecție chimică și termică. Moleculele polare, termic labile, își păstrau integritatea în procesul de ionizare. Această lucrare a arătat că atomii (respectiv ionii) de Ar, Cs, Xe accelerați ar putea fi folosiți la determinarea masei de mici biomolecule (adică mase moleculare < 10 kDa) combinată cu determinarea structurii prin fragmentare. Această tehnică, apropiată ca principiu cu spectroscopia de masă cu ioni secundari ce utilizează matrici lichide (LSIMS- liquid matrix secondary ion mass spectroscopy) nu rezolvă problema atingerii maselor moleculare mari dar a avut un impact major asupra succesorilor ulterioare.

Un alt tip de analizor, în dotarea actuală a spectrometrelor, a fost dezvoltat în anul **1950 de Wolfgang Paul**: *analizorul cuadrupolar*. Analizorul cuadrupolar este capabil să separe ionii într-un câmp electric alternativ crescând astfel utilitatea spectrometrelor. O alta inovație adusă de Paul este aceea de *trapă ionică cuadrupolară*; dispozitiv specific proiectat cu funcțiunea de a “trapa” ionii și respectiv de a-i măsura. Prima trapă ionică a devenit comercial disponibilă în 1983 iar în prezent trapele cuadrupolare sunt cel mai larg folosite în analizoarele de masă. Pentru contribuțiile sale Paul a primit Premiul Nobel în 1989 în fizică.

Provocarea lansată în anii 1980 era de a găsi o cale de a analiza compuși cu masă moleculară gigant prin SM și de a face din ea un puternic instrument detector în tehnicile de separare din fază lichidă sau solidă

Introducerea metodelor ESI și desorbția cu fascicul laser (SLD- soft laser desorption) a întrunit cerințele mai sus enunțate. Explozia aplicațiilor rezultată din folosirea ESI și SLD poate fi exemplificată prin aceea că este așa de moderată încât și virușii pot fi conservați, rămân viabili, după procesarea ESI [13]. Metoda SLD a permis de a încărca electric, ioniza, locații singulare de pe structura unei molecule gigant. Aceste două metode practic au revoluționat multe domenii ale analizelor fizico-structurală în combinație cu SM.

### 3.3 Rolul spectrometriei de masă în tehnicile de analiză fizico-chimice

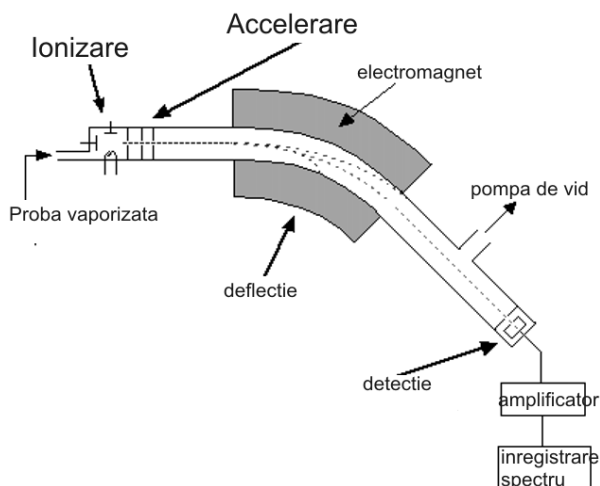
Analiza spectrală de masă implică transformarea unui analit M într-un set de ioni în fază gazoasă și măsurarea acestora în funcție de raportul masă/sarcină ( $m/z$ ) [14]. Metoda de ionizare impune tipurile de ioni moleculari sau cuasimoleculari și fragmentele acestora. Ionii moleculari sunt în general radicali cationici ( $M^{+*}$ ) formați prin eliminarea unui electron sau anionici ( $M^{-*}$ ) formați prin adăugarea de electroni, utilizați ocazional pentru probe electronegative. Ionii cuasimoleculari pot fi pozitivi sau negativi și se formează prin adăugarea sau substrația de ioni ca exemple comune fiind  $[M+H]^+$ ,  $[M-H]^-$ ,  $[M+Na]^+$ ,  $[M+Cl]^-$ . Metodele de ionizare „slabe” generează predominant ioni moleculari sau cuasimoleculari în timp ce metodele de ionizare „tari” generează numai ioni și fragmente ionizate.

Spectrometrele de masă separă ionii generați și măsoară abundența lor vs  $m/z$ . Mixturile sau alte sisteme complexe lichide sunt separate prin cromatografie

de gaz (GC) sau pe lichide (LC) iar spectrometrul de masă reprezintă sistemul de detecție și măsură a produșilor, compoziției pentru fiecare componentă individuală facilitându-se astfel caracterizarea probei. În prezent GC-MS și LC-MS au o largă răspândire în laboratoarele analitice și de caracterizare. Valoarea exactă  $m/z$  a ionilor moleculari sau cuasimoleculari relevă compoziția elementară a probei. Dacă ionii moleculari sunt instabili și se descompun complet rezultatul fragmentării dă o distribuție specifică și poate fi utilizată ca o “amprentă” în programele de identificare a compoziției și structurii substanțelor. Fragmentele ionice furnizează informații importante despre structura primară (conectivitatea sau secvența iar în cazul polimerilor, unitatea structurală repetitivă). Spectrometria de masă a câștigat constant o largă utilizare în analiza polimerilor datorită *sensibilității* ( $<10^{-15}$  mol sunt suficienți pentru analiză), *selectivitate* (componente minore pot fi analizate în cadrul unei mixturi), *specificitate* (masa exactă și fragmentarea specifică este caracteristică pentru fiecare substanță), și viteză (achiziție rapidă de date și prelucrare în secunde) [15]

### 3.4 Bazele spectrometriei de masă

Spectrometria de masă este în prezent tehnica experimentală care lucrează cu cele mai mici unități de măsură ale masei- atomi, molecule, radicali, fragmente moleculare. Instrumentul de bază este alcătuit din următoarele componente principale: 1.sursa de ionizare respectiv dispozitiv de injecție a substanței de analiză 2.analizorul de masă, sistemul de vid 3. detectorul ionic (figura 3.1)



**Figura 3.1**-Schema de principiu și modul de funcționare a SM. Ionii rezultați sunt accelerați și separați prin deflexie într-un câmp magnetic

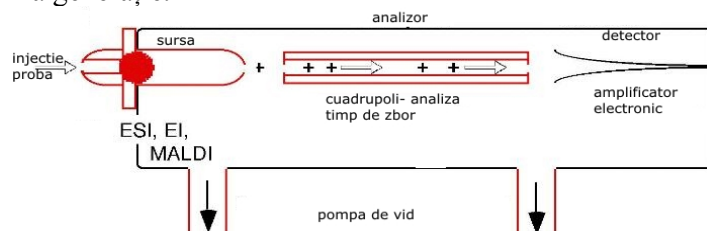
Combinând aceste componente într-un singur sistem- spectrometrul de masă- se poate determina prin ionizare și separare masa moleculară a ionilor prin măsurarea raportului specific masă/sarcină= $m/z$  (sau  $m/q$ )

Ionii sunt generați într-o sursă de ionizare prin inducerea sau pierderea unei sacini electrice. O dată ionii formați în faza gazoasă ei sunt electrostatic direcționați într-un analizor de masă, separați după masa lor și în final detectați. Rezultatul ionizării, separării ionilor și a detecției după masa lor specifică va conduce la un spectru de masă ce furnizează date extrem de precise asupra maselor moleculare respectiv informații structurale atunci când este cuplat cu un RMN.

Spectrometrele de masă au devenit pivotul unei largi game de aplicații în analiza substanțelor organice, anorganice, nanomateriale, impurități; datări geologice, testarea medicamentelor, identificarea drogurilor; monitorizarea proceselor din industria petrolieră, analiza suprafețelor, identificarea compozițiilor unor compuși exotici, etc.

Recent spectrometria de masă, perfecționându-se continuu datorită noilor tehnici din micro și nanotehnologie, a condus la dezvoltări și aplicații de neimaginat acum un deceniu: aplicații în biologia moleculară, virusologie, analiza proteinelor, gene, cromozomi, ADN; identificarea compoziției și structurii unei largi clase de polimeri.

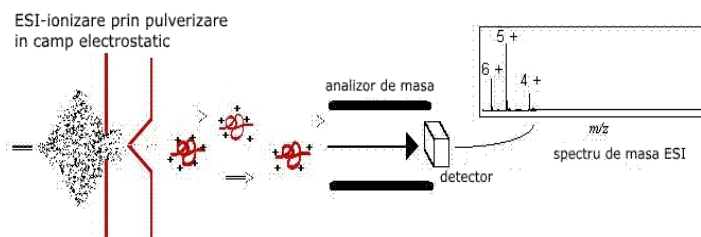
În figura. 3.2 este prezentată schema de principiu a unui spectrometru de masă de ultima generație.



**Figura 3.2-** Spectrometru de masă complex cu posibilități de injecție și analiză multiplă. Sursa de ionizare și injecția probei se realizează prin module interschimbabile la un singur analizor (multipolar, trape ionice, timp de zbor). Adaptat după en.wikipedia.org și [16]

Această generație de SM este rezultatul celor două metode dezvoltate în anii 1980: ESI și MALDI.

ESI reprezintă o metodă de generare de structuri nanometrice încărcate electric care ulterior sunt transportate de un gaz sau evaporate către analizor. Conceptul și metoda ESI a fost prima dată in-

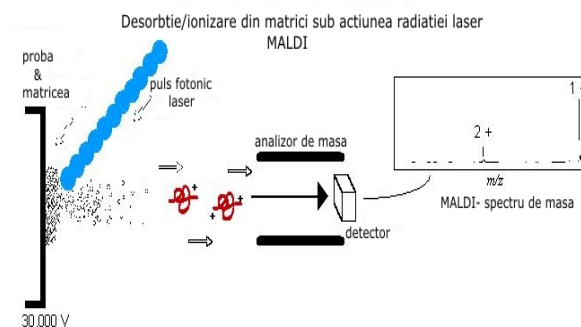


**Figura 3.3-** Spectrometru de masă cu injecția probei prin metoda ESI. Electrizarea și extragerea moleculelor din proba de analizat se realizează în câmpuri electrostatice intense create de un condensator cu geometrie specifică

trodusa de Malcolm Dole în 1966. Prin încorporarea tehnologiilor dezvoltate până la acea vreme John Fenn, 1980, aplică această metodă la analiza biomoleculelor, biopolimerilor (fig 3.3)

MALDI, a fost dezvoltată de Tanaka și colaboratorii săi (Japonia), de Franz Hillenkamp și Michael Karas ambii din Germania. MALDI utilizează radiația laser pentru desorbția moleculelor dintr-o matrice lichidă sau solidă conținând substanțe puternic absorbante în spectrul UV (fig 3.4).

Afât ESI și MALDI au permis dezvoltarea unor aplicații sofisticate ale spectroscopiei de masă în domenii din biologie și medicină. Tendința actuală în spectrometria de masă este de a caracteriza și de a decela structuri macromoleculare gigant, arhitecturi moleculare, supramoleculare complexe, specifice chimiei și biologiei.



**Figura 3.4-** MALDI, procese de ionizare multifotonică cu desorbție în câmp electrostatic prin repulsia moleculelor încărcate prin absorbție multifotonică sau UV

### 3.5 Metode de ionizare, separare și detecție

#### 3.5.1. Ionizarea moleculelor

Ionizarea materiei supuse analizei se poate realiza prin ciocnirea electronilor sau a unor specii de ioni cu moleculele din proba supusă analizei, prin absorbții multifotonice, etc. În general SM separă ioni pozitivi dar generațiile actuale permit separări de ambele tipuri de sarcini.

În prezent există trei metode principale de a prepara ioni în fază gazoasă:

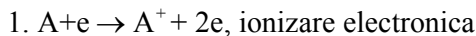
4. Materiale volatile care sunt în general ionizate prin interacția vaporilor cu electroni, ioni sau câmpuri electrice intense. Metoda se aplică la compuși moleculari de masă mică respectiv la oligomeri sau în conjuncție cu metodele de degradare (în principal piroliza).
5. Câmpuri electrice intense pot ioniza materiale nevolatile. În plus ionii de la compuși nevolatili și termic labili pot fi desorbiti într-o fază gazoasă prin bombardament cu atomi/ioni rapizi sau cu radiație laser prin încălzire rapidă.
6. Soluții lichide de analit pot fi direct convertite în ioni în fază gazoasă prin tehnici de pulverizare.

Ultimele două metode se utilizează pentru analiza polimerilor, biomoleculelor fiind cuasinedestructive.

Ionizarea se realizează prin mai multe tehnici: Ciocnirea electronica(EI), ionizare în câmpuri intense (FI), fotoionizare (PI), ionizare chimică (CI), FAB, ESI, MALDI, SLD, ionizare prin strimeri ( scînteie), atașare ionică [17]

### 3.5.1.1 Ionizarea electronică, termoelectronică

Cînd un gaz este supus la o energie mai mare decît cea de ionizare un electron este expulzat formîndu-se un ion. Schema de principiu a ionizării electronice (EI) este prezentată în figura 3.5. Două tipuri de procese pot avea loc funcție de energia electronilor incidenti:



reacții specifice ciocnirilor electronilor cu atomii sau moleculele evaporate din probă. Selectarea de ioni pozitivi și compensarea de sarcină se observă imediat din geometria sursei de ionizare unde electrodul pozitiv joacă un dublu rol: de accelerare a ionilor moleculari pozitivi respectiv de compensare de sarcină.

Metoda descrisă se numește ionizare electronică sau termo-electronică cu detalii în orice monografie despre fizica plasmei [18]. EI se realizează la presiuni de  $10^{-5}$  torr iar energia cinetică a electronilor este de ordinul 70 eV [19, 20]. Ciocnirile dintre electroni pot fi elastice respectiv inelastice (cazul 1) sau de captură (cazul 2). Randamentele de ionizare sunt de 0.01% iar ionii moleculari rezultați au o largă distribuție de energii interne facilitînd descompunerea în alți ioni și fragmente radicalice.

Energia minimă de ionizare pentru cele mai multe molecule organice nu depășește 10eV (1eV = 96 kJ/mol). Electronii incidenti nu transferă integral energia cinetică spre moleculă, procesele de ciocnire sunt complexe necesitînd o abordare separată.

Cele mai multe spectrometre de masă utilizează fascicule de electroni cu energii de maxim 70 eV cu o distribuție specifică dependentă de geometriei camerei de ionizare. Energia disponibilă este utilizată pentru procesele premergătoare ionizării finale deoarece:

- În compușii organici multe dintre legăturile chimice sunt de ordinul 200-500 kJ/mol ( 2-5 eV per legătură)
- Multe dintre procesele electronice apar la energii mai mari de 25eV (electronii de valență implicați în legaturile chimice)
- Ratele de descompunere a compușilor organici în fragmente depind de energia înmagazinată de ionul molecular rezultat din ciocnirea cu electronii. A genera produși măsurabili este necesar ca reacțiile secundare să apară pe scala de timp specifică spectrometrului care este de regulă 1- 100 microsecunde.
- A realiza reacții rapide pe această scală de timp necesită energii în exces de ordinul 15-20 eV față de energia potențială disponibilă în sistem.

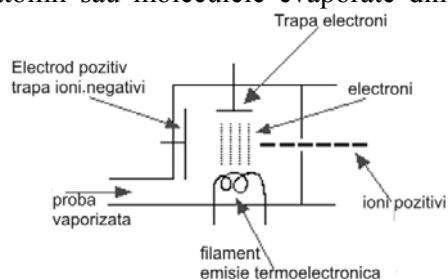


Figura 3.5-Ionizarea termoelectronică

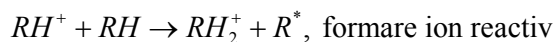
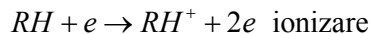
- Rata de formare a ionilor este dependentă de energia incidentă a electronilor. O mare parte din energie se consumă în procese secundare de fragmentare respectiv de ionizări secundare.

Luînd în considerare toate aceste procese secundare pentru a observa producții de descompunere un fascicul de electroni trebuie să aibă cel puțin 20eV.

Optimum a fost stabilit la 70 eV pentru a se obține un randament rezonabil de ionizare -descompunere-fragmentare.

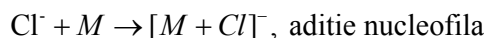
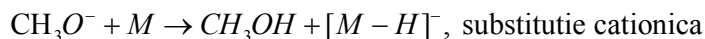
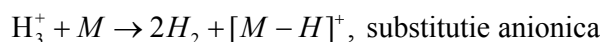
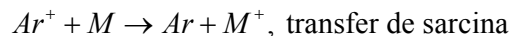
### 3.5.1.2 Ionizarea chimică (CI)

Ionizarea chimică are loc prin reacții ion-moleculă cu reactivi ionici formați din gaze reactive [21]. Sursele de ioni pentru CI sunt similare ca în EI dar operează la presiuni relativ mari (0.1-2 torr). Cel mai comun proces în CI este reacția de transfer de proton. Proba împreună cu un exces de gaz reactant (aproximativ 1000/1), alcătuit din compuși de tipul R-H, sunt introduse simultan în sursa de ionizare. Moleculele reactante sunt ionizate prin ciocniri electronice care ulterior reacționează cu alte molecule formînd ioni reactivi  $RH_2^+$ , protonînd proba:



Agenții reactivi tipici pentru protonare sunt:  $CH_5^+$ ,  $(CH_3)_3C^+$ ,  $NH_4^+$ .

Transferul de protoni are loc cu o eficiență de aproape 100% iar efectul este exoterm adică afinitatea protonilor la M este mai mare decît la RH. Exotermicitatea se reflectă în energia internă a ionului  $MH^+$  care poate fi controlată prin alegerea tipului de gaz ce conține molecule RH. Cînd diferența de afinitate este mică, cazul reacțiilor cu afinitate protonică mare ( de exemplu  $NH_3$ ) energia internă a ionului  $MH^+$  este mică iar fragmentările au probabilitate mică de a avea loc. În contrast cînd diferențele de afinitate sunt mari o fracție apreciabilă de  $MH^+$  suportă fragmentare. Reacții endoterme de transfer de protoni de regulă nu se observă, în astfel de cazuri are loc adiție electrofilă [22]. În cazul în care presiunea este mai mare de 2 torr ionii  $RH_2^+$  sunt termalizați ( se diminuează efectul reacțiilor endoterme) asigurîndu-se astfel că M sunt ionizați prin reacții chimice și nu prin ionizare electronică. Exemple tipice de ionizare cu diferite specii generate de gazul reactiv prin ciocniri electronice:



Funcție de natura analitului pot fi utilizate alte reacții decît transferul de protoni sau adiția electrofilă pentru a produce ioni moleculari sau cuasimoleculari.



Reacțiile de mai sus exemplifică diferite alternative cu ioni specifici care sunt în particular eficiente pentru anumiți analiți. În general ionizarea chimică negativă este mai puțin utilizată.

CI este frecvent utilizată în analiza produșilor de degradare pirolitică sau fotolitică cu sau fără separare cromatografică. O variantă, numită desorpție prin ionizare chimică (DCI) este aplicată polimerilor de masă moleculară mică. În DCI proba nu este vaporizată, ea este transferată în sursa de CI și încălzită rapid în interiorul ei. Încălzirea rapidă îmbunătățește rata de evaporare vs descompunere. O dată proba evaporată ea este imediat ionizată de ionii reactanți [ 23].

#### 3.5.1.3 Ionizarea în câmpuri electrice intense (FI)

În FI moleculele de analit intră în contact cu suprafața unui virf ascuțit de metal încărcată la un potențial pozitiv ( de ordinul  $10^7$  V/cm). Sub influența câmpurilor electrice intense electronii de valență din M tunelează suprafața anodului formând  $M^+$ ,  $[M+H]^+$  sau pentru analiți polari prin abstracție de hidrogen în vecinătatea anodului. Ionii moleculari via FI au energie internă mică, în consecință fragmentarea este puțin probabilă.

#### 3.5.1.4 Desorpție în câmpuri electrice intense (FD)

FD și FI au același mecanism de ionizare. În FD proba nu este vaporizată, este direct depozitată pe suprafața unui emiter încărcat în câmpuri electrice intense. În aceste condiții ionii formați se desorb fără a mai fi necesar a fi încălziți. Săruri metalice pot fi adăugate pentru a îmbunătăți desorpția. FD conduce la ioni moleculari slab excitați facilitând astfel analize de compoziție de mare acuratețe. FD a fost aplicată cu succes la polimeri cu mase moleculare de 10,000 Da [24]. Metoda este larg utilizată pentru polimerii hidrocarbonici fără grupări funcționale ce sunt dificil de ionizat prin alte metode.

#### 3.5.1.5 Emisie de ioni secundari (SIMS)

Această metodă este tradițional folosită la analiza elementară a suprafețelor.

Materialele organice sunt depozitate în film subțire pe suprafața unui metal cu sau fără adaosuri de săruri. Filmele sunt bombardate cu ioni primari de Cs sau Ag care produc ioni secundari. Aceștia pot fi  $M^+$ ,  $M^-$ ,  $[M+Ag]^+$  ( dacă suprafața este Ag) sau  $[M+alcali]^+$ .

#### 3.5.1.6 FAB, LSIMS

Bombardamentul cu atomi rapizi (FAB)[25] respectiv spectrometria de masă cu emisie secundară din lichide (LSIMS) sunt identice din punct de vedere conceptual. Probele sunt mixate cu lichide vâscoase de volatilitate scăzută ( glicerină, tioglicerină, alcool 3-nitrobenzolic, dietanolamina). Picături din aceste mixturi sunt supuse unui bombardament ionic cu energii de ordinul keV (LSIMS) sau atomic (FAB) producându-se în probă ioni caracteristici din matrice și analit. Ionii de analit sunt de tipul  $[M+H]^+$ ,  $[M-H]^-$  sau atașarea de ioni la M. Se presupune că ionii se formează deasupra sau la interfața lichid-gaz. Ionii formați în volumul picăturii se pot desorbi direct în faza gazoasă.

### 3.5.1.7 MALDI (Desorpția laser prin ionizare dintr- o matrice suport a analitului)

Desorpția laser prin ionizare dintr- o matrice suport a analitului ( Matrix assisted laser desorption ionization) este una dintre cele mai promițătoare metode de desorpție a macromoleculelor sintetice și biologice [26, 27]. Polimerul este dizolvat într-un solvent convenabil ales și mixat cu o soluție a unei matrici într-un raport de 1:100-1:50.000. Agenți auxiliari de ionizare (săruri de ioni metalici) pot fi adăugați. O picătură de ordinul 1-2  $\mu$ l de mixtură este depusă pe suprafața țintei (figura 3.4) care se solidifică fie prin evaporare fie prin înghețare. Ținta este iradiată de un fasciul laser pulsat UV (  $N_2$ , 237nm) sau IR (  $CO_2$ , 10,6 $\mu$ m). Prin iradiere matricea ce conține analitul se ionizează conducând la reacții de protonare, deprotonare sau ionul metalic se atașează moleculei. Macroionii formați se desorb pentru fi transferați în analizorul de masă [28, 29]. MALDI este cea mai sensibilă metodă de desorpție-ionizare a probelor ce pot avea concentrații de ordinul picomoli atingând limita de femtomoli. Ionii moleculari rezultați pot atinge mase de ordinul 50000 Da iar ioni cu sarcini multiple sunt coproduși în abundență mare. O diluție mare conduce la formarea de clusteri de analit ceea ce complică atribuirea maselor moleculare. Matricile utilizate în MALDI sunt de regulă compuși organici. În MALDI-UV matricile cele mai utilizate sunt: acid 2,5-dihidroxibenzoic (DHB), acid HABA, 2-4-hidroxifenilazobenzoic, acizi cianocinamici.

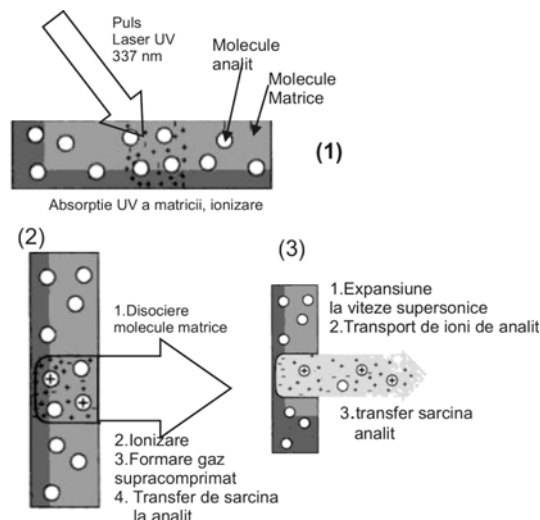
#### Mecanismul desorpție-ionizare.

Macromoleculele nu sunt direct energizate prin iradiere; radiația laser este adsorbită de matrice ce distruge local structura evaporând-o. Formarea locală de vapori într-o structură solidă creează un gaz supracomprimat în care au loc reacții de transfer de sarcină cu moleculele de analit ( în principal transfer de  $H^+$  sau ioni de metal) [28].

Expansiunea gazului transportă ionii de analit spre suprafață în fază gazoasă cu posibile alte reacții de ionizare. Ciocnirile cu alte molecule ale matricii din interiorul gazului („ plasma matricii”) disipă cea mai mare parte din energia internă a ionilor de analit (figura 3.6)

MALDI este în prezent metoda de ionizare utilizată frecvent pentru analiza compoziției, grupărilor terminale și a distribuției maselor moleculare pentru polimerii sintetici, biopolimeri. Din metoda MALDI a derivat o nouă metodă de procesare a polimerilor/ biopolimerilor de transport și acoperire a diferitelor substraturi sau de medicamente respectiv funcționalizare: MAPLE- evaporare laser pulsată din matrici solide sau lichide [30].

Metoda MAPLE este pe larg utilizată în laboratoarele din Institutul Național de Fizica Laserilor Plasma și Radiații la studiul transferurilor de biopolimeri și a administrării dirijate a medicamentelor ( Contract CEEEX- Administrarea dirijată a medicamentelor prin metoda MAPLE) în cooperare cu Institutul P.Poni Iași și Universitatea din București – C.C 3Nano-SAE [31].



**Figura 3.6**-Etapile și mecanismele ionizării-desorptiei ionilor moleculari dintr-o matrice solidă sub acțiunea radiației laser

### 3.5.1.8 ESI Ionizarea prin electropulverizare

Ionizarea prin electropulverizare este o metodă ce aparține tehnicilor de ionizare prin pulverizare. Prima metodă dezvoltată a fost de pulverizare termică (TSP) – o soluție ce conține analitul și un electrolit auxiliar (de regulă acetat de amoniu) este trecută printr-un capilar încălzit și pompată în camera de analiză (1-10 torr). Un fascicul supersonic de picături încărcate iese din cameră care prin evaporarea rapidă a solventului eliberează ioni moleculari pentru analiza raportului  $m/z$  [32]. ESI este similară (figura 2.3) cu TSP diferența fiind că se aplică un câmp electric intens pe capilar iar pulverizarea are loc la presiune atmosferică. Tipic diferența de potențial dintre capilar și contraelectrod (situat la 3-30mm) este de 3-6kV. Pulverizarea în aceste condiții produce picături puternic electrizate a căror sarcină este dependentă de natura polarizării [33-34]

#### Principiul de formare a picăturilor ionizate

ESI este o tehnică din clasa ionizărilor la presiune atmosferică (API) ce permite electrizarea și ionizarea moleculelor polare cu mase moleculare de la 100 Da la  $10^6$  Da și a fost dezvoltată de J. Fenn (1984), [35]. Proba este dizolvată într-un solvent polar volatil și pompată printr-un capilar de oțel (75-150 micrometri) la rate de 1  $\mu$ l/min- 1ml/min. Un potențial de 3-4kV este aplicat între capilar și contraelectrod situat în camera de ionizare a spectrometrului (figura 3.7). În consecință proba este dispersată formând un aerosol încărcat cu sarcini electrice care este nebulizat de un gaz inert introdus coaxial. Accelerarea evaporării solventului se realizează prin încălzirea gazului inert.

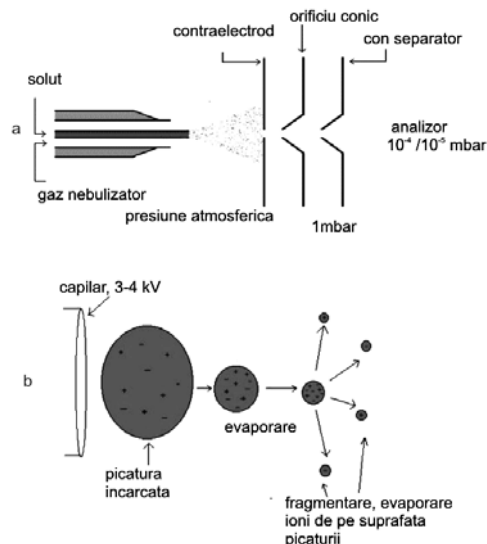
*Metoda standard (ESI)* constă în injecția de fluid prin capilar, formarea de picături cu trecerea lor într-o cameră intermediară vidată care de aici este transferată printr-o apertură în SM.

*Procesul de ionizare prin electropulverizare nanometrică (NSI)* [36] este versiunea ESI cu injecție de fluid la rate de 1-10 pmol/microl. Proba este dizolvată într-un solvent convenabil ales la concentrații de ordinul pmol și transferată într-o seringă miniaturizată. Potențialele de electrizare/ ionizare ( 700-2000V) sunt aplicate pe acul aurit al seringii, pulverizarea avînd loc instantaneu la debite de ordinul 30-1000 nl/min. NSI se aplică în general pentru analiza proteinelor, secvențierea aminoacizilor.

ESI și NSI sunt tehnici analitice foarte sensibile însă sensibilitatea este afectată de prezența aditivilor și a componentelor din soluțiile tampon (buffer) ce trebuie eliminate în stadii intermediare înainte de injecția în SM.

În ionizarea pozitivă se adaugă urme de acid formic pentru protonarea moleculelor iar în cea negativă se adugă urme de amoniac sau amine volatile pentru deprotonare. Proteinele și peptidele de regulă se analizează prin ionizare pozitivă, zaharidele și ologonucleotidele se analizează prin ionizare negativă.

În toate cazurile necesită calibrarea SM la specificul aplicației utilizînd probe standard.

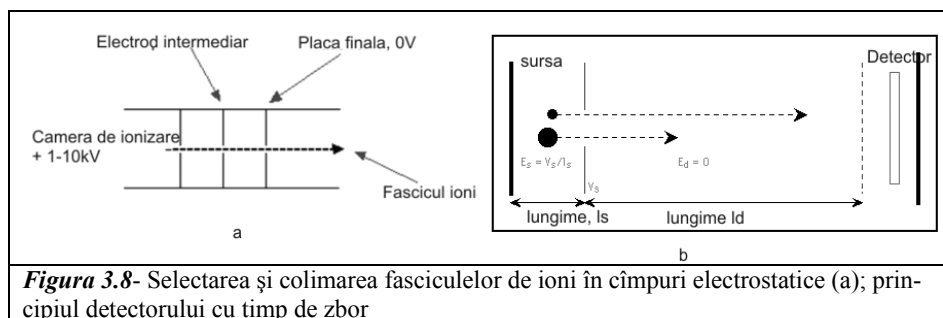


**Figura 3.7**-ESI, formarea picăturilor încărcate prin electropulverizare în prezența unui gaz pulverizator (a). Între capilar și contraelectrod es aplică un potențial de ordinul 3-4kV. Evaporarea crește densitatea de sarcină pe picătură ceea ce conduce la fragmentarea acesteia (forțele de repulsie electrostatice devin mai mari deit tensiunea superficială), (b).

### 3.5.2 Selectarea și accelerarea ionilor

Ionii produși în camera de ionizare sunt accelerați de un set de electrozi cu fante centrale ce permit atingerea unor viteze proporționale cu sarcina specifică. De notat că diametrul fantelor și potențialele de accelerare sunt un factor esențial în evaluarea rezoluției și performanțelor SM.

În prezent această metodă se folosește numai în spectrometrele de masă pentru separări izotopice sau pentru determinări de molecule cu mase moleculare de ordinul 10-100 Da.



**Figura 3.8-** Selectarea și colimarea fasciculelor de ioni în câmpuri electrostatice (a); principiul detectorului cu timp de zbor

### 3.5.3 Selectarea-deteția ionilor după timp de zbor (TOF)

Este o metodă larg folosită în spectrometria de masă în care ionii sunt accelerați în câmpuri electrice de intensitate cunoscută. Rezultatul accelerării sunt ioni cu aceeași energie cinetică, viteza lor depinzând numai de raportul masă/sarcină. Principiul TOF este similar cu cel descris în figura 3.8, condensatorul cu grilele de accelerare fiind prevăzut cu un detector de timp. Citeva configurații s-au impus în spectrometrele de masă: extracție prin timp de întârziere, reflectronTOF, extracție pe grile separatoare, accelerare ortogonală.

Principiul metodelor este același. Sub acțiunea unui câmp electric paralel cu particula, creat de o diferență de potențial (U), energia cinetică  $E_{cin}=E_{pot}$ . Cunoscând distanța de parcurs (d) a particulei se poate estima timpul de tranzit între placile condensatorului:

$$t = \frac{d}{\sqrt{2U}} \sqrt{\frac{m}{q}} \quad 3.1a$$

Timpii de zbor a particulelor sunt măsurați prin detectori convertori digitali de timp (SAW- unde acustice de suprafață). Cea mai buna acuratețe este obținută atunci când fasciculul de ioni este injectat perpendicular pe intrarea în detector (TOF-ortogonal).

Presupunând că un ion tipic de proteină cu sarcina +1 și masă 1000Da intră în detector iar  $U=15kV$  potențialul aplicat pe o distanță de 1,5m, timpul de zbor va fi de:

$$t = \frac{1.5m}{\sqrt{2 \cdot (15000V)}} \sqrt{\frac{(1000Da)(1.672621 \times 10^{-27} Kg)}{1.62 \times 10^{-19} C}} = 2.792 \times 10^{-5} s$$

adică 27.92 microsecunde. O proteină cu masa de 4000Da va ajunge la aprox 56 microsecunde. Un detector de timp cu precizie  $10^{-9}$  sec va fi suficient pentru determinări de mare precizie [ 37, 38,39,40].

Un element cheie al sistemelor SIMS moderne, de ultima generație, este analizorul de timp de zbor folosit pentru a detecta ionii secundari. Ionii sunt extrași din materialul eșantion și accelerați în analizorul de timp de zbor cu aceeași energie (dar viteze diferite). În reprezentarea din Fig.3.8b ionii sunt generați în zona sursei (zona s) fiind folosită orice metodă de ionizare. Un potențial ( $V_s$  – potențialul de extracție) este aplicat transversal pe sursă pentru a extrage și accelera ioni de la sursă în zona de zbor a instrumentului, în care câmpul  $E_d=0$ .

În cazul ideal, toți ionii generați în zona sursei vor părăsi sursa în același moment de timp cu aceeași energie cinetică deoarece aceștia au fost accelerați la aceeași diferență de potențial. În acest caz timpul de zbor al ionilor generați va depinde numai de masă și de sarcina ionilor produși. Neglijând timpul de extracție, formula de bază în analiza prin spectroscopia de masă ionică cu timp de zbor este dată de ecuația:

$$\frac{m_i}{Z_i} = 2eEl_s \left( \frac{t_i}{l_d} \right)^2 \quad 3.1b$$

unde:  $m_i$  – reprezintă masa speciei chimice care este investigată, identificarea făcându-se printr-o tehnică de extracție;  $Z_i$  este sarcina ionului;  $E$  –câmpul electric de extracție;  $t_s$  –timpul de zbor al ionului;  $l_s$  –lungimea sursei;  $l_d$  –lungimea regiunii de zbor în care câmpul este nul ( $E_d=0$ ).

Diferențele de viteză indică faptul că ionii mai ușori străbat analizorul mai rapid decât ionii mai grei, realizându-se astfel separarea ionilor după masa lor.

Cînd ionii secundari ating detectorul masa lor este determinată din timpul de zbor sau durata de traversare a analizorului.

### 3.5.4 Separarea ionilor în câmpuri magnetice

Ionii sunt deviați de un câmp magnetic funcție de masa și sarcina acestora.

Deviația depinde de:

- Masa ionilor. Ionii ‘ușori’ vor fi deviați mai mult în raport cu cei grei.
- Sarcina ionilor. Ionii cu sarcina pozitivă dublă vor fi deviați mai mult în raport cu aceia ce au o sarcină unitară

Acești doi factori sunt combinați în raportul masă/ sarcină ( $m/z$ ).

De exemplu un ion de masă 28 și sarcină +1 au  $m/z=28$ . Un ion cu masa 56 și sarcină +2 va avea același raport al sarcinii specifice, 28. În figura 2.9 ionii A sunt cel mai mult deviați deoarece au raportul  $m/z$  cel mai mic iar cei de tip C cel mai puțin deoarece au raportul cel mai mare. Aceasta face diferența dintre cantitatea de sarcină și masa atomilor. În gene-

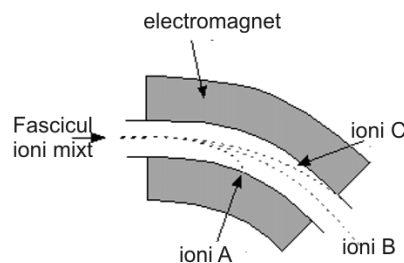


Figura 3.9- Deflexia ionilor în câmpuri magnetice create de sectoare de electromagneți.

ral cei mai mulți ioni au sarcină +1 prin urmare ei vor fi deviați proporțional cu masa lor.

Deviația unui ion de sarcină  $q$  și masă  $M$  cu viteza  $V$  în câmp magnetic,  $B$ , pentru un sector circular de rază  $R$  și lungime  $l$  este dată de relația:

$$\phi = \frac{lB}{\sqrt{2}} \sqrt{\frac{M}{qV}} \quad 3.2$$

**Rezoluția** spectrometrelor de masă:

$$R = \frac{M}{\Delta M} \quad 3.3$$

unde  $M$  este masa ionului detectat și  $\Delta M$  este cea mai mică diferență care poate fi pusă în evidență atunci când se măsoară masa  $M$ . Rezoluția spectrometrelor de masă variază în limite largi, de la câteva unități pentru aparatele cu joasă rezoluție, la  $10^6$  pentru cele de înaltă și foarte înaltă rezoluție. Aparatele uzuale, produse în serie, se înscriu de obicei în clasa aparatelor de rezoluție medie  $R=100 - 500$  și a celor de rezoluție înalte  $R=1000 - 20000$ .

Pentru sectorul circular din figura 3.9 rezoluția este dependentă de deviația în câmp mai precis este  $\frac{1}{2}$  din rezoluția deviației.

**Luminozitatea** aparatului reprezintă fracția din ionii produși de sursă, cu un  $m/q$  dat, care ajung pe detector. Cu cât un spectrometru de masă este mai luminos, cu atât sensibilitatea lui în domeniu pentru determinarea abundențelor izotopice va fi mai mare. Pentru unele spectrometre de masă aceste sensibilități pot fi foarte ridicate până la  $10^{-8}$  părți dintr-un amestec de ioni.

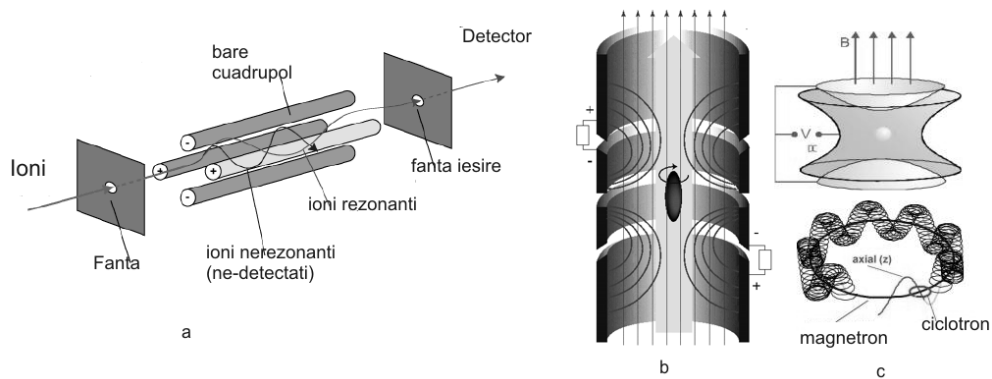
Detecția ionilor  $A$  și  $C$  care au fost deflecați spre pereți se realizează printr-o variație continuă a câmpului magnetic de la valori mici la câmpuri intense. În acest mod se pot produce analize pentru un spectru larg de ioni.

Spectrometrele se calibrează după masa câtorva atomi cunoscuți dar în special după masa  $^{12}\text{C}$ .

### 3.5.5 Separarea ionilor în câmpuri cuadrupolare, trape Penning

Analizorul de masă cuadrupolar constă din patru bare circulare sau hiperbolice egal distanțate (figura 3.10). Fiecare din barele paralele sunt electric încărcate la un potențial constant  $U$  de aceeași valoare dar alternant în polaritate. Distribuția liniilor de câmp permite ca orice particulă încărcată ce intră în spațiul dintre cuadrupoli să fie menținută în lungul generatoarei cuadrupolului. Peste potențialul constant se suprapune un câmp de radiofrecvență de forma  $V\cos\omega t$  astfel fiecare bară este supusă la potențiale  $\pm[U + V\cos\omega t]$ . Ionii accelerați în lungul axei vor efectua o mișcare periodică funcție de schimbarea polarității barelor. Funcție de  $m/z$  și de raportul  $U/V$  ionii vor fi trapați prin spațiul cuadrupolului sau se vor neutraliza pe una din bare. (figura 3.10a,c)

În trapele ionice de tip Penning (figura 3.10b) ionii sunt separați prin deplasarea lor în câmp electric simultan cu menținerea într-un spațiu definit sub acțiunea unui câmp magnetic [41]



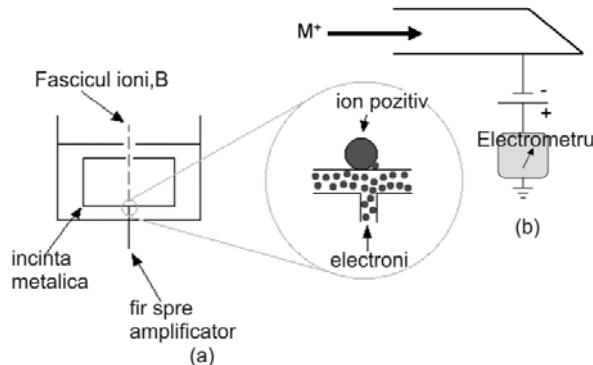
**Figura 3.10-** Trape Paul cuadrupolare (a) Trape Penning axiale(b), Trape Paul geometrie hiperbolică uniaxială (c)

### 3.5.4 Detecția

#### Cușca Faraday

Cel mai simplu detector de sarcini este cușca Faraday[42]. Când ionii ciocnesc pereții metalici sarcina lor este neutralizată de către electroni (figura 3.11 ).

Un curent de electroni este detectat în firul metalic care poate fi amplificat și înregistrat. Cușca Faraday este o incintă din metal proiectată să captureze sarcinile electrice în vid.



**Figura 3.11-**Principiul de funcționare a detectorului cu cușcă Faraday (a) respectiv a electrometrului ca detector de sarcini, (b)

Numărul de ioni sau electroni se determină prin măsurarea curentului pe un electrometru sau alt dispozitiv ce reprezintă numărul de sarcini neutralizate pe placa metalică (fig 3.10 b). Pentru ionii cu o singură sarcină se estimează numărul acestora direct din curentul măsurat:



$$\frac{\text{Numar ioni}, N}{t} = \frac{I}{e} \quad 3.4$$

unde N este numărul de ioni observați la timpul t (sec), I curentul în amperi iar e , sarcina elementară ( $1.60 \times 10^{-19}$  C). Astfel un curent de 1nA corespunde la aproximativ  $6 \times 10^9$  ioni ce lovesc cușca Faraday. Similar, cușca Faraday poate lucra ca un detector de electroni. Ea nu este sensibilă la curenți de ordinul pA sau echivalent la fascicule de ioni slabe ducând la sensibilități scăzute pentru izotopi. Din acest motiv ele s-au înlocuit cu multiplicatori electronici construiți pe principiul emisie secundară și multiplicat pe dinode.

### Multiplicatoare de electroni.

MCP- multiplicatoare planare multicanal (figura 3.12). Plăcile colectoare cu microcanale sunt acoperite cu straturi de fosfor (emisie de fotoni) sau de PbO pentru emisie secundară de electroni. La diferențe de potențial de ordinul 500V electronii secundari emiși se multiplică în avalanșă pe fiecare placă succesivă. Unghiul de deschidere al anodului și numărul de plăci conduc la sensibilități de ordinul  $10^6$  electroni per ion incident [43, 44]

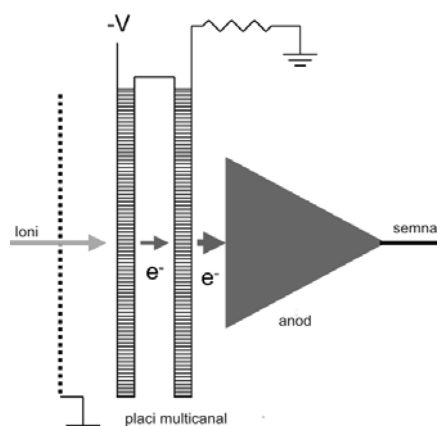


Figura 3.12- MCP, electronii generați de ioni se multiplică prin emisii secundare pe catodii din microcanalele plăcilor aflate la potențiale diferite

## 3.6 Spectrul de masă al substanțelor

### 3.6.1 Spectrul de masă al elementelor

Spectrogramele în general descriu abundența relativă a ionilor (curentul măsurat) funcție de raportul m/z. Ea arată sub forma unor distribuții de linii de diferite înălțimi. Pentru exemplificare este prezentat în figura 3.13 o spectrogramă de masă pentru Molibden.

Diagrama descrie distribuția după raportul m/z a abundenței izotopilor de Mo. Izotopul cel mai stabil este 98 ce prezintă concentrația cea mai mare. Presupunând că toți ionii au sarcină +1 atunci cei 7 izotopi au masele 92, 94, 95, 96, 97, 98, 100.

De notat dacă existau ioni cu sarcină +2 atunci în diagramă apăreau linii la  $98/2 = 49$  dar cu înălțimea mult mai mică.

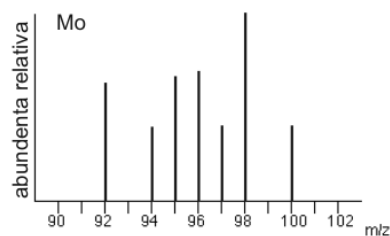


Figura 3.13- Spectrograma de masă a Molibdenului

## Spectrul de masă al elementelor monoatomice

### **Spectrul de masa al borului**

Cele 2 picuri corespund la doi izotopi a borului cu masele relative la  $^{12}\text{C}$  de 10 și 11.

Abundența relativă a celor doi izotopi se poate estima din raportul celor două picuri. Astfel  $^{11}\text{B}$  este 100/23 ori mai abundent față de  $^{10}\text{B}$ .

### Calculul masei relative

Presupunând că în total avem 123 atomi de B masa totală va fi de  $100 \times 11 + 23 \times 10 = 1330$  unități raportat la  $1/12$  din masa  $^{12}\text{C}$ . Masa atomică medie va fi de  $1330/123 = 10.8$ .

### **Spectrul de masă al zirconului**

Cele cinci picuri arată că există cinci izotopi cu masele 90, 91, 92, 94, 96 pe scala  $^{12}\text{C}$ . Abundența izotopilor se citește direct din figura 3.15.

Masa totală a celor 100 atomi va fi de:  $(51.5 \times 90) + (11.2 \times 91) + (17.1 \times 92) + (17.4 \times 94) + (2.8 \times 96) = 9131.8$  iar masa medie de  $9131.8 / 100 = 91.3$  care este masa atomică relativă a zirconului

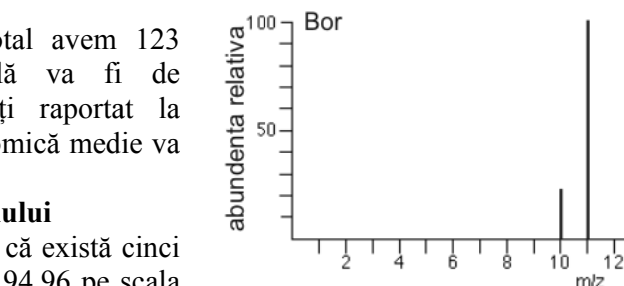


Figura 3.14-Spectrul de masă a izotopilor de bor

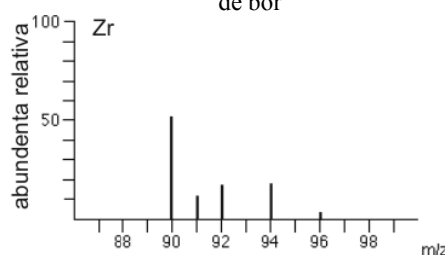


Figura 3.15 Zirconium, abundența izotopică

Izotop	%
Zr-90	51.5
Zr-91	11.2
Zr-92	17.1
Zr-94	17.4
Zr-96	2.8

### **Spectrul de masă al clorului**

Clorul este un exemplu tipic cu doi atomi identici per moleculă. Clorul are 2 izotopi  $^{35}\text{Cl}$  și  $^{37}\text{Cl}$ , în proporție de 3 atomi de  $^{35}\text{Cl}$  la 1 atom de  $^{37}\text{Cl}$ . În cazul clorului ionizat în camera SM are loc ionizarea moleculei la un ion molecular  $\text{Cl}_2^+$  care nu este stabil descompunându-se după reacția de fragmentare:



În această situație avem două tipuri de sacini ce vor fi separate de SM  $\text{Cl}_2^+$  și  $\text{Cl}^+$ . Cum în ioni sunt prezenți ambii izotopi pe diagrama spectrului de masă va trebui să identificăm următoarele cazuri posibile pentru ionul molecular de  $\text{Cl}_2^+$ ,  $35+35=70$ ,  $35+37=72$  respectiv  $37+37=74$  pe lângă liniile de 35 și 37 ale celor doi izotopi.

Înălțimile relative sunt în raport de 9:6:1. Ce nu se poate determina sunt înălțimile relative ale liniilor 35/37 comparativ cu liniile 70/72/74. Aceasta depinde de ponderile fragmentărilor moleculare ale ionului de  $\text{Cl}_2^+$  ce conțin ambii izotopi în proporții necunoscute.

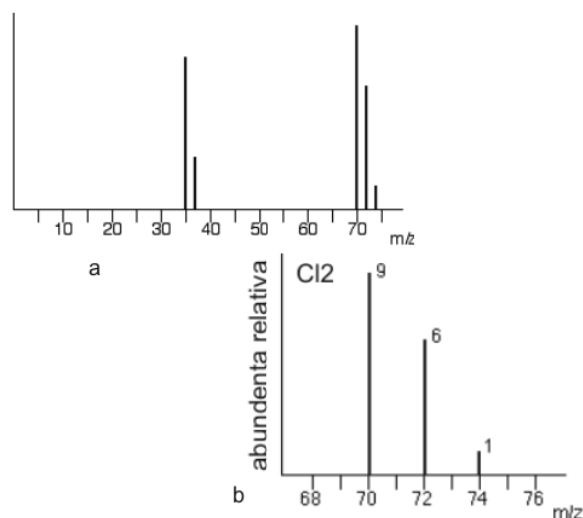


Figura 3.16-a) Spectrograma Cl<sub>2</sub>, b) Detaliu al fragmentării Cl<sub>2</sub>

### 3.6.2 Spectrul de masă al compușilor organici

În această secțiune ne vom ocupa de modul de fragmentare a moleculelor organice, mecanismele de fragmentare pentru câteva substanțe organice comune în vederea înțelegerii metodelor de interpretare.

#### 3.6.2.1 Originea fragmentării, formarea ionilor moleculari

Când o substanță organică vaporizată trece în camera de ionizare datorită ciocnirilor cu electronii se formează ioni moleculari pozitivi notați cu M<sup>+</sup> sau M<sup>+•</sup> pentru a pune în evidență existența unui electron neîmperecheat (radical ionic).

Fragmentarea are loc datorită faptului că ionii moleculari nu sunt stabili și se rup în fragmente moleculare mai mici. Cel mai simplu caz este când fragmentele rezultate sunt un ion și un radical liber (un atom sau un grup de atomi care conțin un electron neîmperecheat) :



Radicalul liber nu va produce o linie pe spectrul de masă acesta fiind eliminat de sistemul de vidare. Ionul X<sup>+</sup> va fi deflectat de analizor producând o linie pe diagramă. Toate tipurile și modurile de fragmentare vor fi surprinse ca un fenomen global pe diagrama spectrului de masă. Pentru exemplificare este prezentat pentanul ca un studiu de caz [45].

Se observă ca spectrograma este diferită față de cea a elementelor unde fiecare linie corespundea unui izotop. În cazul compușilor organici fiecare linie reprezintă un fragment diferit produs când ionul molecular s-a fragmentat.

Linia ionului molecular și linia de bază.

**Pentanul**-Cel mai greu ion ce a trecut prin analizorul de masă îi corespunde linia de m/z=72 sau linia *ionului molecular*. Cea mai înaltă linie la m/z=43 este numită

linie de bază. Acestea de regulă i se asociază într-o scală arbitrară valoarea de 100 iar cellalte linii se raportează la linia de bază.

Fiecărei linii îi corespunde un canal de fragmentare a ionului molecular. De exemplu linia  $m/z=57$  nu poate să fie atribuită unui ion molecular cu 5 atomi de carbon deoarece  $5 \times 12 = 60$ . Dar un ion molecular cu 4 atomi de carbon și 9 de hidrogen ar conduce la un ion molecular  $C_4H_9^+ = [CH_3CH_2CH_2CH_2]^+$  care provine din reacția de fragmentare:

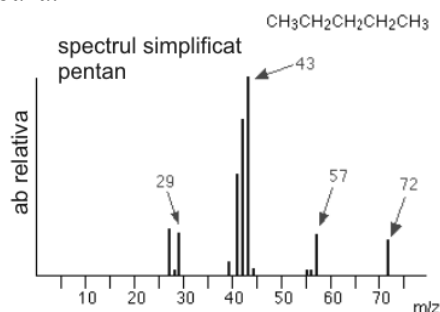
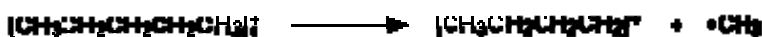


Figura 3.17- Spectrul de masă al pentanului (au fost omise liniile cu înălțimea sub 2%)



unde radicalul metilic s-a eliminat prin sistemul de vidare a spectrometrului.

Linia  $m/z=43$  poate fi analizată în același mod: Ionul identificat este alcătuit din 3 atomi de carbon și 7 hidrogeni iar reacția de fragmentare a ionului molecular este:



radicalul etilenic fiind la rindul său eliminat din sistem.

Linia  $m/z=29$  corespunde tipic unui ion etilic,  $[CH_3CH_2]^+$ :



Celelalte linii asociate celor principale sunt mai greu de analizat și rezolvat deoarece masele moleculare sunt cu pierderi de 1 sau 2 atomi de hidrogen.

### Pentanona

Un alt caz interesant este cel al pentanonei (pentan-3-ona).

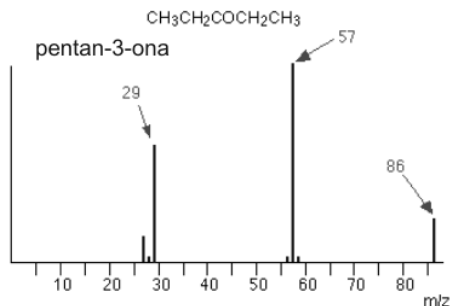
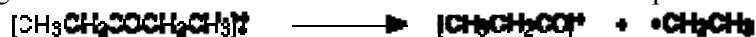


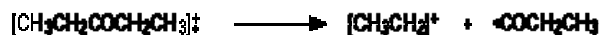
Figura 3.18-Spectrul de masă al pentanonei

Spectrul de masă pentru 3-penta-nonă are linia ionului molecular situată la 86 iar linia de bază la 57.

Fragmentarea ionului molecular va conduce la o cale de tipul:



Fragmentul ionic rezultă din ruperea egal probabilă la grupul CO. Linia cu  $m/z = 29$  corespunde fragmentării ionului molecular după schema:



Comparând cele două moduri de fragmentare se constată că 3-penta-nona se fragmentează în ioni și radicali etilici respectiv cetonic

### 3.6.2.2 Înălțimea liniilor , stabilitatea ionilor

Ionii este cu atât mai stabili cu cât este mai probabil de a se forma. În corelație cu înălțimea liniei ionul cel mai stabil are linia cea mai înaltă. Vom considera câteva exemple pe carbocationi (ionii de carboniu).

#### Carbocationii

Carbocationii în ordinea stabilității: primari < secundari < terciari, adică carbocationii primari sunt mai puțin stabili ca cei secundari care la rândul lor sunt mai puțin stabili în raport cu cei terciari. Pe baza acestor considerente căile de fragmentare sunt acelea care vor conduce la carbocationi terciari care sunt cei mai stabili. Un exemplu tipic în SM este fragmentarea 2-metil butanului. Fiind un izomer al pentanului (izomerii sunt molecule cu aceeași formulă moleculară dar cu aranjamente spațiale ale atomilor diferite) ar trebui ca spectrul acestuia să fie similar cu cel din figura 3.19 cu linii suplimentare. Interpretarea este însă diferită. Linia de bază cu  $m/z=43$  este rezultatul fragmentării ionului molecular după schema:

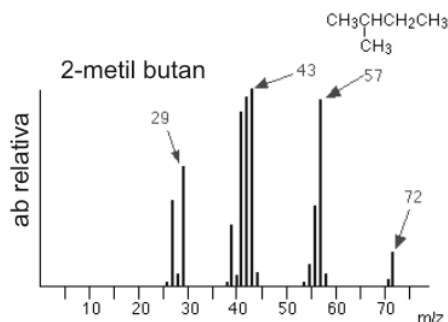
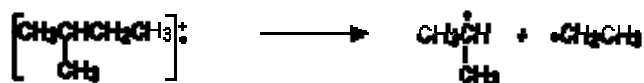
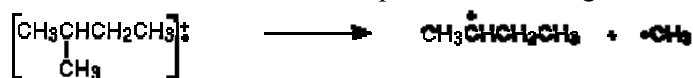


Figura 3.19- 2-metilbutan



Ionul format este un carbocation secundar- are două grupări alchilice atașate la carbonul cu sarcină pozitivă- ceea ce demonstrează că este mult mai stabil.

Linia de la  $m/z=57$  este mult mai înaltă în raport cu cea a pentanului. Din nou un carbocation secundar este format după schema de fragmentare:



De notat că fragmentarea are loc pe legăturile cele mai slabe din structură. Prin urmare fragmentarea s-a produs pe gruparea metil din poziția 2 și nu pe cea din lanțul principal.

#### Ionii acil $[\text{RCO}]^+$

Ionii cu sarcini pozitive pe gruparea carbonil  $\text{C}=\text{O}$  sunt relativ stabili. Pentru a exemplifica aceasta vom considera cazul spectrului de masă a unor ketone, 3-pentanona din figura 3.18. Se observă că la  $m/z=57$ , corespunde liniei ionului  $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}]^+$ . Există o gamă variată de alte exemple ce demonstrează extrastabilitatea ionilor pozitivi.

### 3.6.2.3 Spectrometria de masă în identificarea compușilor

Utilizând spectrele de masă ale substanțelor se poate distinge tipul lor de structură în cazul în care au aceeași formulă chimică. Să presupunem că avem 2-pentanona ( $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) respectiv 3-pentanona ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_3$ ).

Fiecare din ele se fragmentează producând ioni cu sarcini pozitive pe grupa-rea CO.

În cazul 2-pentanonei avem 2 ioni diferiți:

- $[\text{CH}_3\text{CO}]^+$
- $[\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3]^+$

ce vor da linii intense la  $m/z=43$  respectiv 71. 3-pentanona produce prin fragmentare un singur tip de ion:  $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}]^+$ , ce corespunde la  $m/z=57$ . Spectrele celor 2 compuși:

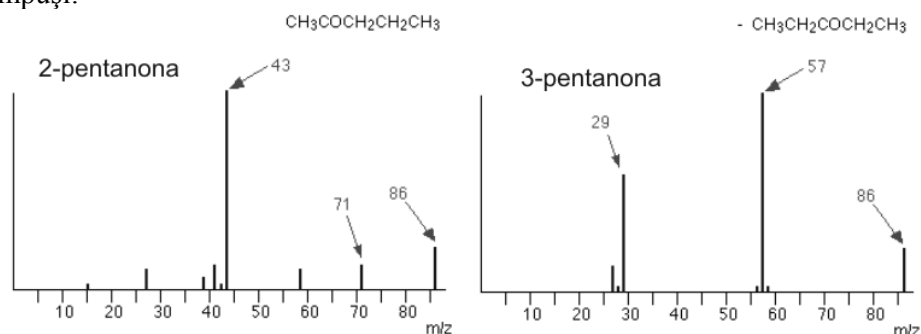


Figura 3.20- Spectrul de masă a pentanonei

arată clar diferențele dintre cei doi compuși liniile 43, 57 și 71 vor da pe deplin diferența dintre ele: liniile 43 și 71 lipsesc în 3-pentanona iar 57 lipsește în 2-pentanona. De notat că există o linie la  $m/z=58$  de înălțime mică în 2-pentanona însă aceasta este datorată rearanjamentelor moleculare.

#### **Determinarea masei moleculare din linia ionului molecular ( $M^+$ )**

Masa moleculară a unui compus poate fi determinată din analiza liniei ionului molecular rezultat din ionizarea acestuia sub acțiunea ciocnirilor electronice din camera de ionizare. Ionul molecular este fie de tipul  $M^+$  sau  $M^{+*}$  adică un ion molecular cu un electron neîmperecheat (o jumătate din electronii inițiali au fost eliminați în procesul de ionizare). Masa ionului molecular reprezintă masa moleculară a moleculei. De exemplu masa pentanului este 72 ca și cea a ionului său molecular (figura 3.17), presupunând că sarcina este unitară iar prezența izotopilor ( $^{13}\text{C}$ ) generează o linie adiacentă) linia  $M+1$  adiacentă cu înălțime mult mai mică.

Pentru a obține valoarea masei moleculare cu precizie este necesar a se cunoaște cu acuratețe valorile maselor atomice ale izotopilor identificate cu spectrometre de masă de înaltă rezoluție:

	Izotop	Masa numerică	Masa reală
	$^1\text{H}$	1	1.0078
	$^{12}\text{C}$	12	12.0000
	$^{14}\text{N}$	14	14.0031
	$^{16}\text{O}$	16	15.9949

Exemple:

Compus	formula chimica	Masa moleculara	Masa moleculară cu precizie de 4 zecimale
etilena	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	26	24+2x1.0078=26.0156
propena	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	44	36+8x1.0078=44.0624
etanal	CH <sub>3</sub> CHO	44	44.0261

### 3.6.2.4 Rolul izotopilor, linia M+1

Linia M+1 poate fi utilizată la estimarea numărului de atomi de carbon dintr-un compus. Ea se găsește în spectru la poziția (m+1)/z de înălțime mică (figura 3.21).

M+1 este datorată prezenței izotopilor, în particular <sup>13</sup>C (<sup>14</sup>C- este radioactiv). Ponderea sau abundența de Carbon-13 este de 1.11% din toți atomii de carbon. De exemplu CH<sub>4</sub> ar conține la fiecare 100 de molecule una cu izotop carbon-13. Prin urmare pe lângă linia principală de [<sup>12</sup>CH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> la m/z= 16 vom găsi o linie adiacentă de [<sup>13</sup>CH<sub>4</sub>] cu m/z=17 cu un raport al înălțimilor de 99/1. Linia M+1 este utilizată la estimarea ponderii izotopilor într-un compus. De exemplu un compus cu 2 atomi de carbon are 1/100 probabilitatea de a conține <sup>13</sup>C pentru 2 situații imaginare

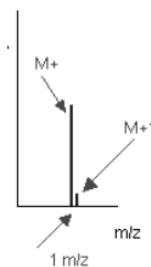


Figura 3.21



Prin urmare probabilitatea este 2/100 de găsi carbonul 13 în compus iar raportul înălțimilor liniilor ar fi de 98/2. Pentru alți compuși cu 2 izotopi se poate considera și linia M+2. În cazul carbonului ponderea lui <sup>13</sup>C este de 1 la 10000 iar <sup>14</sup>C are o pondere nesemnificativă

### 3.6.2.5 Utilizarea înălțimilor liniilor la predicția numărului de atomi de carbon

*Număr mic de atomi de carbon:* dacă se măsoară înălțimea liniei M+1 ca procent din înălțimea liniei M aceasta da numărul de atomi de carbon în compus. De exemplu pentru un compus cu doi atomi de carbon înălțimea liniei M+1 este de 2% din înălțimea liniei M a ionului molecular. Similar pentru un compus cu 3 atomi de carbon vom avea 3% din M pentru linia M+1. În cazul moleculelor cu număr mare de atomi proporția de <sup>13</sup>C nu mai poate fi considerată de 1% , iar raportul de 2/98 trebuie considerat la 1.11% valoarea reală a procentului de izotopi existent în natură. Astfel pentru un compus cu 5 carboni în compoziție va avea 5.55 (5x1.11) molecule ce vor conține 1 izotop <sup>13</sup>C la fiecare 94.45 ce conțin numai atomi de <sup>12</sup>C. Raportul înălțimilor celor 2 linii 5.55/94.45 conduce la un procent de 5.9% ceea ce ar arăta că în compus sunt 6 atomi de carbon ceea ce pentru molecule mari este un rezultat eronat.

### 3.6.2.6 Linia M+2 din spectrul de masă

Aceste linii sunt prezente în spectrele de masă a compușilor ce conțin clor sau brom. Deasemeni pot fi prezente linii M+4 în compuși cu 2 atomi de clor.

*Efectul clorului și a bromului asupra spectrului de masă*

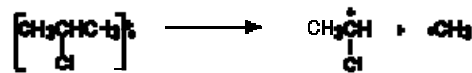
#### Compuși cu un atom de clor:

Clorul are doi izotopi cu abundențe de 75,8% ( $^{35}\text{Cl}$ ) respectiv 24% ( $^{37}\text{Cl}$ ).

Ionul molecular M și M+2 fiecare conține unul din cei doi izotopi:  $^{35}\text{Cl}$  și  $^{37}\text{Cl}$ . Pe figura 3.22 ei le corespund rapoartelor m/z de 78 respectiv 80 iar înălțimea liniilor este în raport de 3:1.

Prin urmare în spectrograma liniile separate prin 2 unități m/z și cu raportul 3:1 în înălțime duce la informația existenței unui atom de clor în structură.

De notat că liniile de la 63 și 65 corespunde fragmentării ionului molecular de 78 și 80 după schema:



#### Compuși cu doi atomi de Cl

Un exemplu tipic este diclorețanul, figura 3.23

Liniile în regiunea ionului molecular (la m/z de 98, 100 și 102) provin de la combinațiile izotopilor de clor. Carbonii și hidrogenii contribuie cu 28 iar clorul contribuie la masa cu 35 respectiv 37. Ionul molecular poate avea masele 98(28+35+35), 100 (28+35+37) sau 102(28+37+37). Ponderile celor doi izotopi sunt de 9:6:1 în cele trei linii cu distanța de 2 unități m/z între ele.

#### Compuși cu brom:

Bromul are doi izotopi  $^{79}\text{Br}$  și  $^{81}\text{Br}$ , cu un raport de abundență de aproximativ 1:1 (50.5:49.5). Prin urmare compușii cu 1 atom de brom vor avea 2 linii în regiunea ionului molecular depinzând de tipul de izotop (figura 3.24).

Diferența față de clor este ca înălțimea liniilor este aproximativ egală. Prin urmare un compus molecular cu înălțimile liniilor ionului molecular M și M+2, egale și separate cu 2m/z unități are în compoziție brom

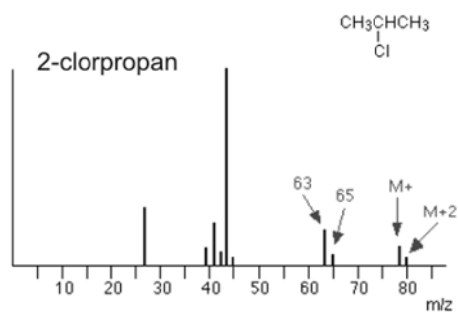


Figura 3.22- Rolul izotopilor în determinarea formulelor chimice

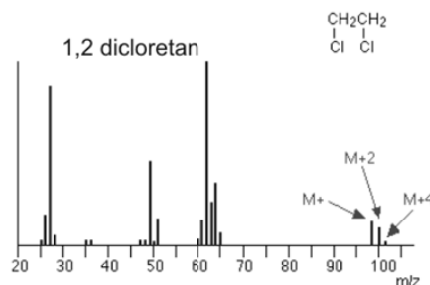


Figura 3.23-Rolul clorului și al izotopilor



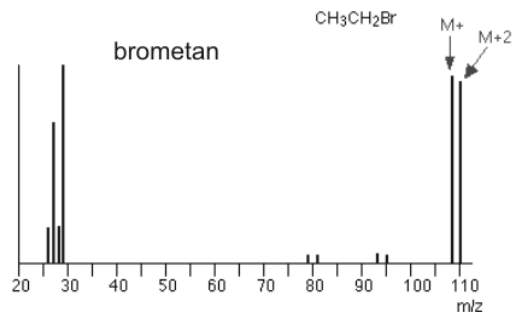


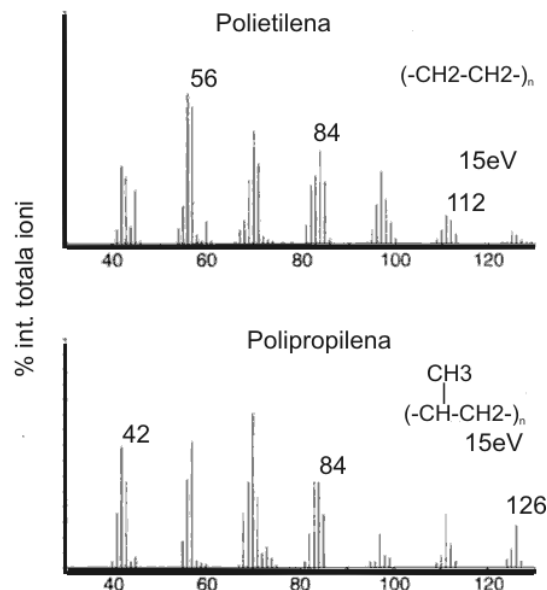
Figura 3.24-Rolul izotopilor de Brom

### 3.7 Polimeri-spectre de masă

#### 3.7.1 Poliolefine

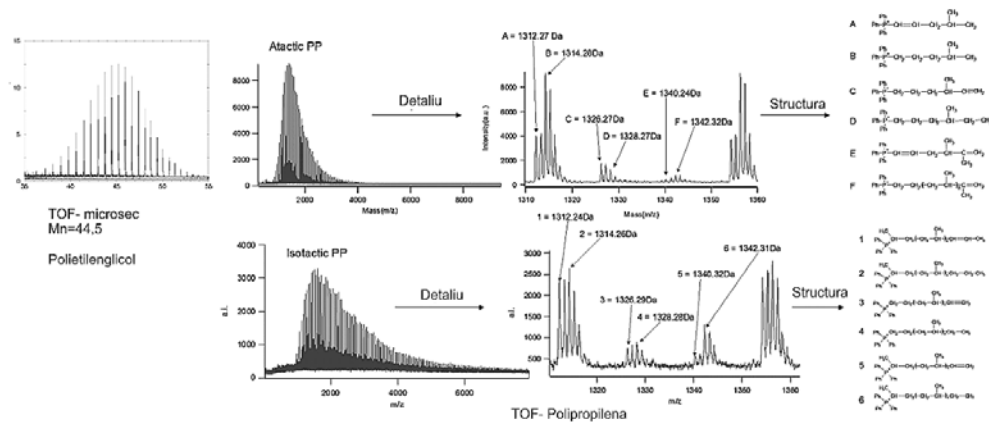
##### Polietilena, polipropilena

Din spectrograma de masă (figura 3.25) se observă că ionul molecular cu masa cea mai mare este la 112 pentru polietilenă ce ar corespunde unui radical cationic cu  $n=4$  ( $C_8 H_{16}$ )<sup>+</sup> iar pentru propilena  $n=3$  ( $C_9 H_{18}$ )<sup>+</sup>. Rezultatul arată că sub ionizare electronică de energie mică are loc o fragmentare a celor două poliolefine la mase moleculare de ordinul  $10^2$ . La energii de ionizare mai mari aceste fragmente vor fi și mai mici. Se pot evalua mecanismele de fragmentare și ionizare însă nu se poate evalua masa moleculară cu metoda EI-SM. Pentru determinarea masei moleculare metoda MALDI-TOF este cea mai eficientă însă se ridică alte inconveniente: poli-olefinele sunt dificil de a fi ionizate. Crearea de polimeri olefinici ionizați este un pas critic în analiza MALDI. De regulă se utilizează modificarea chimică a grupelor terminale (brominarea) în vederea cationizării polietilenei. Matricea și polimerul modificat se dizolvă separat în xilen sau toluen la concentrații de 1mg/ml respectiv 50 mg/ml. Raportul polimer/matrice este 1:1. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu acelea din cromatografie pe gaz sau lichidă [46]. Recent a fost introdusă o nouă metodă în SM a poliolefinelor saturate prin care un cation organic este legat covalent la grupările vinilice terminale pentru a produce ionizarea necesară generării de macromolecule intacte în fază gazoasă prin metoda MALDI. În figura 3.26 sunt prezentate spectrogramele pentru două tipuri de polipropilenă, atactică respectiv sindiotactică funcționalizate cu grupări terminale din compuși fenilici ușor ionizabili. Această metodă elimină dependența eficienței de ionizare în fază gazoasă obținându-se astfel o rezoluție și sensibilitate mare. Figura 3.26 reprezintă pentru prima dată studiul cantitativ al spectrului de masă pentru o poliolefină și rezolvarea structurii acestora în detaliu. Mai mult distribuția numerică absolută legată de mecanismele de reacție și structura moleculară poate fi evaluată în detaliu.



**Figura 2.25-** Spectrul de masă pentru polietilenă și polipropilenă rezultat din ionizarea electronică a produșilor de piroliză ( Agilent GC-MS, UASMV București)

Pentru exemplificare este prezentat cazul oligomerilor de polietilen glicol unde masa medie numerică poate fi estimată direct din distribuția spectrului de masă. Prin modificarea chimică a grupărilor terminale se poat determina natura polimerului, gradul de ramificare resopectiv gradul și canalele de reacție a fragmentării macroionilor.



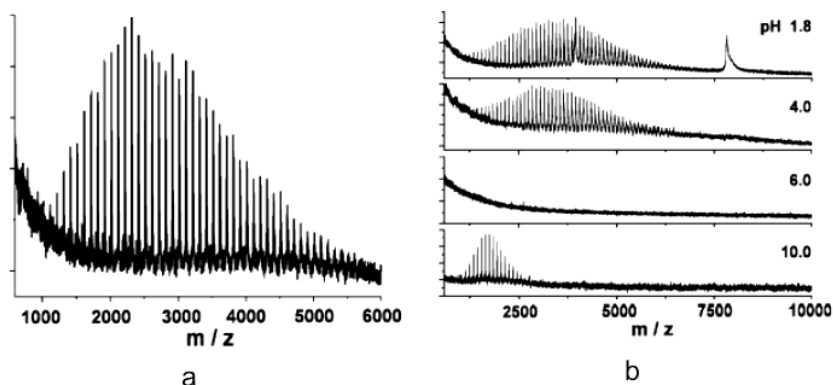
**Figura 3.26-** Spectre de masă cu metoda MALDI-TOF: 1. Polietilen glicol, punerea în evidență a posibilităților de determinare a momentelor distribuției maselor 2. Modificarea chimică a grupărilor terminale a PP atactice și sindiotactice, rezolvarea distribuției de mase respectiv a structurii ( prof. W.Wallace, Polymer Div, Mat Science and Eng. Materials, National Institute Science and Technology, NIST, SUA)

### 3.7.2 Polimeri acrilici

Polimerii sintetici și naturali se evaluau tradițional d.p.d. v al distribuției maselor moleculare prin cromatografie pe gel (GPC) sau prin difuzia luminii. Cu MALDI-TOF se pot determina inclusiv structura respectiv momentele distribuției maselor moleculare. Perfecționarea continuă a metodei MALDI a condus la spectre de masă de înaltă rezoluție ce permit determinări directe de distribuții și structură. Un exemplu este cazul polimerilor acrilici, în particular polimetilmetacrilatul (PMMA).

Polimerii acrilici se ionizează ușor în fază gazoasă via ioni de metal alcalini.

Spectrul din figura 3.27 a descrie distribuția de mase a PMMA cationizat cu sodiu. De notat că spectrul de masă depinde de condițiile matriciei și a pH ului pentru a obține un rezultat bun. Figura 3.27 b descrie spectrul de masă pentru PMMA unde matricea are diferite valori ale pH-ului raportat la figura 3.27 a pentru un pH neutru. Rolul pH ului matriciei este determinant, efectele lui asupra spectrului de masă fiind dependent de natura matriciei. Figura 3.27b arată efectele matriciei a acidului 2,5 dihidroxibenzoic (DHB) asupra spectrului de masă a PMMA. Matricea a fost titrată cu soluție de hidroxid de potasiu pentru a stabili valori de pH predefinite. Proba de analit conține o mixtură de PMMA și proteină alfa-cobratoxin de la veninul cobrei *N.n Siamensis*. Funcțiile matriciei sunt cel mai bine reprezentate atunci când pH este cel intrinsec (figura 3.27a) unde ambii polimeri sunt observați la un semnal intens. Cu creșterea pH abilitatea proteinei de a se ioniza scade. Cu scăderea pH-ului, în regiunea unde valorile se schimbă rapid nu se observă nici un semnal de la analit. Cu un pH bazic semnalul polimerului este caracteristic iar proteina nu este ionizată și desorbită din matrice. Acest exemplu de a decela dintre doi compuși funcție de pH ul matriciei este elocvent pentru optimizarea performanțelor matriciei [47]



**Figura 3.27-** a ) PMMA spectru de masă în matrice de DHB, pH acid b) PMMA și o proteină, rolul pHului matriciei în rezolvarea spectrului de masă ( adaptare după baza de date NIST)

### Masa moleculară

Masa moleculară (M) a unei substanțe este masa unei molecule din aceeași substanță raportată la unitatea atomică de masă, u.a.m, egală cu 1/12 din masa atomului de carbon  $C_{12}$ . Aceasta este distinctă față de masa moleculară relativă a unei molecule care este raportul dintre masa moleculei la 1/12 din masa carbonului 12 și este un număr adimensional notat cu  $M_r$ .

Un Dalton (Da)- este 1/12 din masa nucleidului de  $^{12}C$  sau în unități de masă internaționale este  $1,6605655 \times 10^{-27}$ . Utilizat cu precădere în fizica nucleară a fost pe larg introdus în literatura biochimică facilitând exprimarea maselor moleculare ale biopolimerilor [48]

Molul se referă la masa echivalentă a unei substanțe egală cu masa numerică a moleculei. Pentru substanțe atomice termenul este de masă atomică ( 1 atom gram de  $^{12}C=12$  grame sau de Oxigen atomic este de 16 grame). Un mol de hidrogen este 2 grame sau de oxigen 32 grame, un mol de glucoză este 180 g.

Detalii asupra terminologiei utilizării acestor termeni se găsesc în normele și recomandările IUPAC (*Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units*, 1979, Pergamon, Oxford) [49]

### 3.8 Probleme și exemple

1. Un gaz conține numai elementele din următoarea listă:

$^1H$	1.0078
$^{12}C$	12.0000
$^{14}N$	14.0031
$^{16}O$	15.9949

Linia ionului molecular a gazului este  $m/z = 28.0312$  determinată cu un SM de înaltă rezoluție. Identificați tipul de gaz

Din combinația dintre atomi se observă că pot fi 3 tipuri de gaze cu masa aproximativ 28:  $N_2$ , CO și  $C_2H_4$ . Calculînd cu acuratețe:

$N_2$	28.0062
CO	27.9949
$C_2H_4$	28.0312

iar răspunsul este:  $C_2H_4$ .

2. Spectrometrul Thomson

J.J Thomson a fost primul care a inventat spectrograful și metoda de determinare a maselor unor izotopi. Dispozitivul utilizat de J.J. Thomson pentru determinarea maselor atomice este schițat în fig. 3.28a. Un balon, prevăzut cu doi electrozi, are loc o descarcare electrică. Sarcinile rezultate din descărcarea în spațiul anod (A), catod (C, un canal îngust) trec prin două plăci plan-paralele conductoare PP' pe care se aplică un câmp electric uniform, iar cu un electromagnet NS se obține un câmp de inducție B constantă. Vectorul B este paralel pe vec-

torul câmp electric. Fasciculul de ioni, colimat prin catodul C traversează cele două câmpuri, suprapuse ajung pe un ecran fluorescent (D) sau placa detectoare.

Cele două câmpuri fiind paralele, forțele care acționează asupra ionilor ( $F_e=qE$  și  $F_L=q(v \times B)$ ) sunt orientate după două axe perpendiculare între ele.

Ca urmare, ionii de sarcină specifică  $q/m$ , cu viteze inițiale  $v$  diferite, vor ajunge pe ecranul D distribuindu-se pe un arc de parabolă cu vârful în originea axelor de coordonate, punct de pe ecran în care ajunge fasciculul în lipsa câmpurilor. Dacă fasciculul de ioni conține mai mulți izotopi, ionii respectivi având aceeași sarcină, pe placa detectoare apare câte o parabolă pentru fiecare izotop.

Ansamblul de parabole constituie un *spectru de masă*. Să se demonstreze că într-un set de câmpuri perpendiculare E-B traiectoria este o parabolă și să se estimeze rezoluția funcție de parametrii experimentali (distanța ecran condensator de accelerare)

**Notă:** Aceasta metodă permite obținerea unor parabole foarte fine, separate printr-un interval destul de mare. Sensibilitatea metodei este însă mică, deoarece se lucrează cu fascicule paralele, ceea ce reduce mult intensitatea urmelor. Cu toate acestea, metoda parabolilor a dat rezultate foarte importante. Cu metoda parabolilor Thomson identifică pentru prima dată izotopii de He.

### 3. Spectrometrul de masă Aston

Primul spectrograf de masa perfecționat mult în comparație cu metoda parabolilor a lui Thomson, a fost construit de F.W. Aston (1919) și utilizat sistematic la studiul izotopilor diferitelor elemente. Acest dispozitiv focalizează ioni care au practic aceeași direcție dar viteze diferite. Pentru deviația fasciculului de ioni se folosesc un câmp electric și unul magnetic, reciproc perpendiculare.

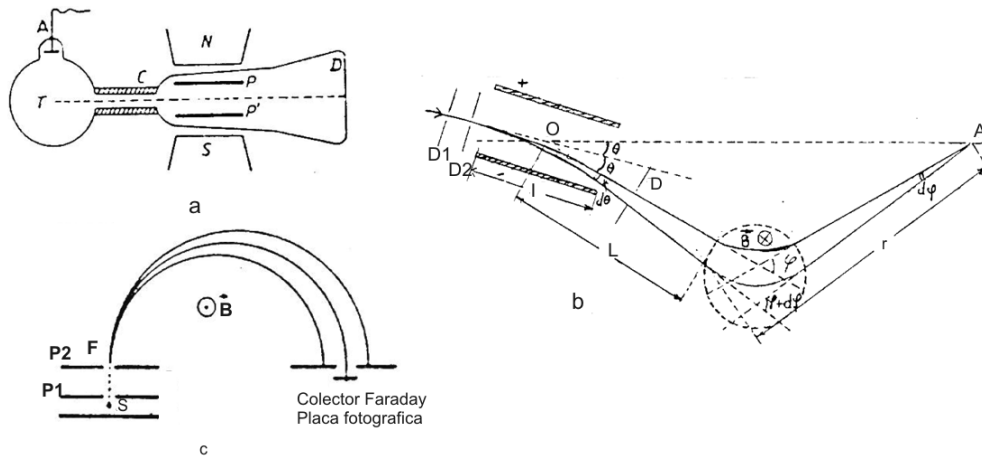
Deviațiile sunt în același plan, dar de sens opus. În anumite condiții, deviațiile se compensează astfel încât ionii de aceeași sarcină specifică și de viteze diferite, deși sunt deviați diferit, sunt focalizați în același punct, pe detector. Schema de principiu a spectrografului Aston este prezentată în fig. 3.28b. Ionii pozitivi sunt trecuți printr-un sistem de fante ( $D_1$ ,  $D_2$  etc.) obținându-se astfel un fascicul paralel colimat cuasiparalel. Direcția vitezei ionilor fiind definită, este suficientă o focalizare a vitezelor.

Dacă notăm cu  $U$  diferența de potențial de accelerare a ionilor de masă  $M$  și cu viteza  $v$  în sistemul deflector, avem o deviație  $\theta = lE/2U$ .

Pentru a limita abaterea unghiului  $\theta$  se interpune o fantă  $D$  cu o deschidere foarte mică. Fasciculul de ioni de masă  $M$  și viteză  $v_1$  ce iese prin fanta  $D$  sunt deviați în sectorul magnetic cu unghiul  $\phi$  dat de expresia 2.2.

Ionii cu aceeași sarcină specifică  $q/M$  dar cu  $v_2 > v_1$  vor fi deviați cu un unghi mai mare,  $\theta + d\theta$ , iar în câmpul magnetic vor descrie un arc de cerc cu o rază mai mică  $R_2 = Mv_2/qB$ . Pentru a se întâlni în același punct  $A$  la o distanță  $r$  este necesar ca deviația de unghi  $\theta$  pe lungimea  $L+r$  să fie egală cu deviația de unghi  $\phi$  la distanța  $r$ :

$$(L+r)d\theta = r d\phi$$



**Figura 3.28-** Tipuri de spectrometre de masă a) Spectrometrul Thomson b) Spectrometrul Aston c) Spectrometrul Dempster

Cele două deviații pot fi exprimate direct din:

$$\frac{d\theta}{\theta} = -2 \frac{dv}{v}; \quad \frac{d\varphi}{\varphi} = -\frac{dv}{v} \rightarrow d\varphi = \frac{\varphi}{2} \frac{d\theta}{\theta}$$

care înlocuite în relația anterioară se obține:

$$(\varphi - 2\theta)r = 2L\theta$$

Pentru unghiuri mici ale celor două deviații se obține:

$$r \sin(\varphi - 2\theta) = L \sin 2\theta$$

care reprezintă ecuația unei drepte ce trece prin O fiind paralelă cu direcția  $\varphi=2\theta$ .

Dreapta face unghiul  $\theta$  cu direcția inițială a fasciculului de ioni și unește punctul A în care sunt focalizați ionii cu punctul O, punctul de deviație a particulelor în condensatorul de deviație electrostatică. Fasciculul de ioni analizat este format din mai multe grupuri cu  $q/M$  diferit atunci fiecare grup va fi focalizat într-un punct, situat pe placa detectoare, de coordonate  $(r, \varphi)$  legate prin ecuația dreptei. Dacă fanta D prin care trec ionii este dreptunghiulară, se va obține pe placa fotografică un șir de linii (*spectrul de masă*), fiecare corespunzând unui izotop. Luminozitatea și rezoluția spectrului de masă depinde de deschiderea fantei D.

#### 4. Spectrometrul Dempster sau spectrometrul cu sector magnetic.

Este cel mai simplu ca principiu de funcționare. Ionii accelerați sunt introduși în spațiul unui sector magnetic și deviați sub acțiunea forței Lorentz pe sectoare semicirculare de raze diferite (figura 2.28c). Estimați rezoluția funcție de parametrii spectrometrului (distanța sursă-placa fotografică, viteza de accelerare), arătați că rezoluția este dependentă de precizia măsurării distanțelor pe placa fotografică ( $D/\Delta D$ ).

5. O tabletă de sare (NaCl) se evaporă în camera de ionizare a unui EI-SM. Ionizarea clorurii de sodiu conduce la formarea de ioni  $\text{Na}^+$  și  $\text{Cl}^-$ . Pe spectrogramă

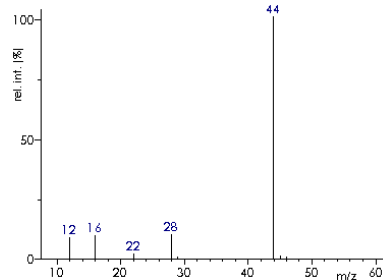
apar următoarele linii la  $m/z$  : 23u, 35u (75%) și 37u (25%). Într-un alt tip de spectrometru EI-SM apar numai liniile 35u (75%) și 37u (25%).

Arătați că:

- Primul tip de spectrometru permite separarea ambelor tipuri de sarcini, sectorul de separare fiind liniar.
- Sodiul este monoizotopic
- Abundența izotopilor de Cl este în raport de 1/3.

#### 6. Întrebări și probleme

1. Care este principiul de bază a spectrometriei de masă?
2. Care sunt componentele de bază ale unui spectrometru de masă?
3. Ce semnificație are raportul  $m/z$  sau  $m/q$ ?
4. Cum este definit un spectru de masă?
5. Atribuiți următorii termeni la un spectru de masă obținut prin ionizare electronică (EI): linia( picul de bază), ionul molecular, fragmentele ionului molecular. Identificați compusul molecular.



6. Care este unitatea pentru masa atomică?. Calculați masa moleculară a unei molecule simple în unități de kilograme
7. Care este domeniul de presiuni la care funcționează un spectrometru de masă
8. Definiți termenul de izotop. Definiți numărul de masă. Cum se notează numărul de masă a unui izotop?
9. Definiți abundența izotopică.

#### 7. Studiu de caz.

Recent în [50], este prezentat un studiu extensiv asupra distribuției maselelor moleculare ale polietilenei de înaltă densitate prin metoda ESI-MALDI –TOF. Explicați necesitatea introducerii fullerenelor ( $C_{60}$ ) ca agent de excitație pentru radiația laser UV. De ce energia laser de ionizare /desorpție depinde de raportul  $c_p/c_v$  al polietilenei?

### 3.9 Referințe

---

1. William Prout, *On the relation between the specific gravities of bodies in their gaseous state and the weights of their atoms*. Annals of Philosophy, 6: 321–330, 1815; William Prout *Correction of a mistake in the essay on the relation between the specific gravities of bodies in their gaseous state and the weights of their atoms*. Annals of Philosophy, 7: 111–13, 1816
  2. Siegfried Robert , *The Chemical Basis for Prout's Hypothesis*. Journal of Chemical Education 33: 263 – 266,1956
  3. Dempster, A. J. *A New Method of Positive Ray Analysis*, Phys. Rev. 11 (4): 316 – 325, 1918
  4. Francis William Aston, *The Distribution of Electric Force in the Crookes Dark Space*, Proceedings of the Royal Society of London. Series A 84 (573): 526-535, 1911
  5. Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M.,*Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules*, Science 246: 64-71, 1989
  6. Kebarle P , *A brief overview of the present status of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry*, Journal of mass spectrometry : JMS 35 (7): 804-17, 2000
  7. Tanaka, Koichi; Hiroaki Waki, Yutaka Ido, Satoshi Akita, Yoshikazu Yoshida, Tamio Yoshida, T. Matsuo ,*Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry*. Rapid Communications in Mass Spectrometry 2 (8): 151-153, 1988
  8. Karas, M.; Bachmann, D.; Hillenkamp, F. *Influence of the Wavelength in High-Irradiance Ultraviolet Laser Desorption Mass Spectrometry of Organic Molecules*,. Anal. Chem. 57: 2935-9., 1985
  9. Beavis RC, Chait BT. "Matrix-assisted laser-desorption mass spectrometry using 355 nm radiation". *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 3 (12): 436-9,1989.  
Beavis RC, Chait BT , "Cinnamic acid derivatives as matrices for ultraviolet laser desorption mass spectrometry of proteins". *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 3 (12): 432-5, 1989  
Strupat K, Karas M, Hillenkamp F (1991). "2,5-Dihydroxybenzoic acid: a new matrix for laser desorption-ionization mass spectrometry.". *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 72 (111): 89-102, 1991  
Poon TC, *Opportunities and limitations of SELDI-TOF-MS in biomedical research: practical advices*". Expert review of proteomics 4 (1): 51-65, 2007
  10. Munson, M.S.B. and Field, F.H. *Chemical ionisation mass spectrometry. I. General introduction*. J. Am. Chem. Soc., vol 88, 2621,1966
  11. MacFarlane, R.D. and Torgerson, D.F. *Californium-252 plasma desorption mass spectroscopy*. Science 191, 920-925, 1976
  12. Barber, M., Bordoli, R.S., Sedgwick, R.D. and Tyler, A.N *Fast atom bombardment of solids (FAB): a new ion source for mass spectrometry*. J. Chem. Soc. Chem. Commun 325-327,1981
  13. Bothner, B., Dong, X.F., Bibbs, L., Johnson, J.E. and Siuzdak, G. *Evidence of viral capsid dynamics using limited proteolysis and mass spectrometry*. J. Biol. Chem. 273 673-676, 1998
  14. Johnstone, R. A. W. and Malcolm, E. R., *Muss Spectrometry for Chemists and Biochemists*, 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1996.
-



- 
- 15 Hoffmann, E. de, Charette, J., and Stroobant, V, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, Wiley, Chichester, 1996
  - 16 H Creel , *Prospects for the Analysis of High Molar Mass Polymers Using MALDI Mass Spectrometry*, *Trends in Polym. Sci*, Elsevier vol 1(11), 336-342, 1993
  17. A. P. Bruins , *Mass spectrometry with ion sources operating at atmospheric pressure*. *Mass Spectrometry Reviews* 10 (1): 53-77, 1991
  18. E.Bădărău, I.Ioviț Popescu, *Gaze ionizate* vol I, II, Ed. tehnica, 1965
  19. McLafferty, F. W. and Turecek, F, *Interpretation of Mass Spectra*, 4th ed. University Science Books, Mill Valley, CA, 1993.
  20. J. R Chapman, *Practical Organic Mass Spectrometry*, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, 1993.
  21. A. G. Harrison, *Chemical Ionization Mass Spectrometry*, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 1992
  - 22 J. R Chapman, *Practical Organic Mass Spectrometry*, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, 1993.
  23. G. D Daves, *Mass spectrometry of involatile and thermally unstable molecules*. *Acc. Chem. Res.*, 12, 359,1979
  24. Matsuo, T., Matsuda, H., and Katakuse, I., *Use of field desorption spectra of polystyrene and polypropylene glycol as mass references up to mass 10 000*, *Anal. Chem.*, 51, 1329,1979
  - 25 J. T Watson, Fast atom bombardment, in *Biological Mass Spectrometry-Present and Future*, in Matsuo, T., Caprioli, R. M., Gross, M. L., and Seyama, Y, Eds., John Wiley & Sons, Chichester, 1994, p. 23.
  26. F. Hillenkamp, M Karas, R. C Beavis, B. T Chait, *Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers*. *Anal. Chem.*, 63, 1193A, 1991.
  27. H. J Rader, W.Schrepp, *MALDI-TOF mass spectrometry in the analysis of synthetic polymers*, *Acta Polymer.*, 49, 272,1998.
  28. G. Siuzdak, *Mass Spectrometry for Biotechnology*, Academic Press, San Diego, CA, 1996
  29. Cotter, R. J., *Time-of-flight mass spectrometry*, ACS Professional Reference Books. Washington, DC, 1997.
  30. R.A. McGill, R. Chung, D.B. Chrisey, P.C. Dorsey, P. Matthews, A. Pique, T.E. Mlsna, J.I. Stepnowski,. *Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* IEEE Trans 45 (5), (1998) 1370-1380.
  31. R. Cristescu, D. Mihaiescu, I. Stamatina, G. Socol, I.N. Mihailescu, D.B. Chrisey, *Deposition of Biopolymer Thin Films by Matrix Assisted Pulsed Laser Evaporation*, *Appl. Phys. A - Mater. Sci. & Process.* Vol 79 (4-6), 1023-1026, 2004
  - 32 Blakley, C. R. and Vestal, M. L, *Thermospray interface for liquid chromatography/mass spectrometry*. *Anal. Chem.*, 55, 750,1983
  33. C. M Whitehouse, R. N.Dreyer, M Yamashita and J. B Fenn., *Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers*. *Anal. Chem.*, 57,675, 1985
  34. R. D Smith, J. A Loo, C C Edmonds, C Barinaga and H. R Udseth, *New developments in biochemical mass spectrometry: electrospray ionization*, *Anal. Chem.*, 62, 882, 1990.
  35. J. Fenn, *J. Phys. Chem.*, 88, 4451, 1984
  36. M. Wilm, M. Mann, *Anal. Chem.*, 68, 1996
-

- 
37. W. C Wiley, MacLaren, I. H., *Time-of-Flight Spectrometer with Improved Resolution* Rev. Sci. Instr.,26, 1150,1955
  38. R. S Brown, J. J Lennon,. *Mass resolution improvement by incorporation of pulsed ion extraction in a matrix-assisted laser desorption/ionization linear time-of-flight mass spectrometer*. Anal. Chem. 67, 1998,1995
  39. B. A Mamyrin, V. I Karataev,D. V Shmik, V. A. Zagulin, *The mass-reflectron, a new nonmagnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution* Sov. Phys. JETP, , 37, 45, 1973
  40. Guilhaus M, Selby D, Mlynski V, *Orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry*. Mass spectrometry reviews 19 (2): 65-107, 2000
  41. P. H Dawson, *Quadrupole Mass Spectrometry and its Applications*, Elsevier, Amsterdam, 1974
  42. K. L Brown, G. W. Tautfest, *Faraday-Cup Monitors for High-Energy Electron Beams*, Review of Scientific Instruments 27 (9): 696-702, 1956
  43. Joseph Wiza, *Microchannel plate detectors*, Nuclear Instruments and Methods 162: 587 to 601, 1979
  44. P. Richards, J Lees, *Functional proteomics using microchannel plate detectors*, Proteomics 2 (3): 256–61, 2002
  45. Spectral Data Base System for Organic Compounds (SDBS) at the National Institute of Materials and Chemical Research in Japan
  46. Lin-Gibson, S., Brunner, L., Vanderhart, D. L., Bauer, B. J., Fanconi, B. M., Guttman, C. M., and Wallace, W. E., *Optimizing the Covalent Cationization Method for the Mass Spectrometry of Polyolefins*, Macromolecules; 35(18): 7149-7156, 2002
  47. D. Dogruel, R.W. Nelson, P.Williams, *Rapid. Commun. Mass Spectrom.*, 10, 801-804, 1996
  48. LT.Edsall, *Nature (Lond.)* **228**, 888-889 (1970); M. A. Paul, *Nature (Lond.)* **229**, 142-143 (1971).
  49. *Pure Appl. Chem.* **51**, 1-41 (1979).
  - 50 W.E. Wallace , W.R. Blair, *Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of covalently cationized polyethylene as a function of sample temperature*, International Journal of Mass Spectrometry 263, 82–87, 2007

# Capitolul 4

---

## 4. Spectroscopia de masa cu ioni secundari (SIMS)

Bombardamentul suprafeței unei probe cu un fascicul de ioni primar urmat de spectroscopia de masă a ionilor secundari emiși constituie SIMS. Astăzi, SIMS este larg utilizată pentru analiza urmelor elementelor în materiale solide, în special a semiconductorilor și filmelor subțiri.

SIMS este printre puținele metode de a produce ioni în probele solide fără o vaporizare prealabilă. Fascicolul SIMS primar poate fi focalizat la mai puțin de 1  $\mu\text{m}$  în diametru. Pentru microanaliza și măsurarea distribuției elementelor este necesar controlul locului de incidență de pe suprafața probei a fascicolului primar.

În experimentele SIMS suprafața fiind bombardată cu fascicule de ioni sau atomi accelerați transferul de energie spre atomii de pe suprafața țintei aceștia suferă o serie de procese: emisie de fragmente, rearanjarea atomilor de pe suprafață. Raportul  $m/z$  al cationilor sau anionilor poate fi măsurat, iar spectrul este dat de intensitatea semnalului proporțional cu cantitatea fiecărei specii.

Spectrul în principal descrie structura suprafeței în aceeași măsură ca și la spectrometrele de masă convenționale cu deosebirea că era necesar injecția speciilor, ionizarea și analiza lor ulterioară.

Analiza spectrului de masă a ionilor secundari emiși este funcție de adâncimea de pătrundere a atomilor din fascicolul primar.

Atunci când rata de pulverizare este extrem de mică, analiza poate fi efectuată în timpul consumării a mai puțin de o zecime din stratul atomic. Acest mod de împrăștiere lentă este numit SIMS static. **Modul static** implică energii mici ale fluxurilor de ioni incidenti (aprox 1KeV) respectiv densități mici ( $<1 \text{ nA/cm}^2$ ). Corodarea este foarte lentă (necesită 1 oră pentru a îndepărta un prim strat). Suprafața rămâne în general intactă iar datele sunt relativ ușor corelabile și interpretabile în rezolvarea unor probleme implicând ceramici, sticle, polimeri, materiale biopolimere.

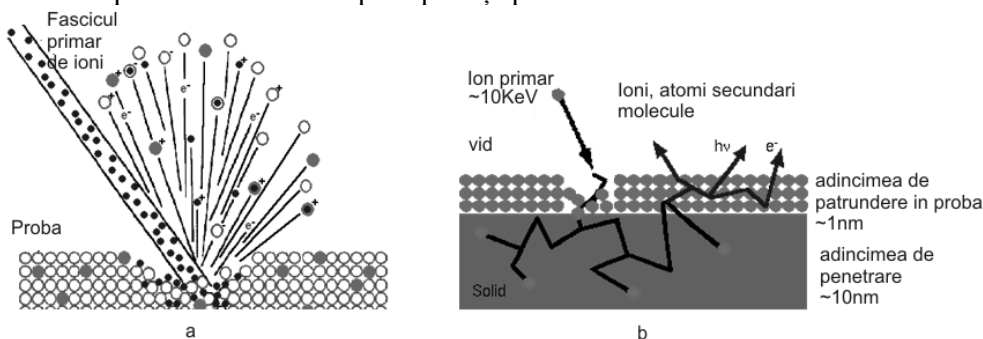
**Modul dinamic** presupune un bombardament rapid al suprafeței cu ioni din ce în ce mai energici (1-30KeV) pentru o investigare de adâncime a suprafeței. Se poate particulariza pe una sau mai multe specii prezente în probă și atunci se ridică profilul concentrației. Modul dinamic presupune fluxuri incidente mari ce implică o rapidă deteriorare a suprafeței din această cauză tehnica este folosită la ridicarea profilului de adâncime a suprafeței.

**Modul de scanare**- fasciculul baleiază proba pentru a ridica harta distribuției speciilor atomice. Rezoluția de scanare tipică a acestor instrumente este de 1 micron

#### 4.1 Principiul de funcționare

Experimentele se realizează în vid ultraînalt. Ionii primari sunt accelerați la energii de ordinul 100 eV-30KeV și focalizați înainte de a fi separați energetic prin trecerea lor printr-o zonă de câmp magnetic normal pe fasciculul ionic. Ionii selectați după energie și masă trec printr-o fantă de colimare spre țintă (figura 4.1a). Ionii secundari emiși din probă sunt accelerați de un câmp electric situat înaintea filtrului cuadrupolar de masă. O dată separați după masă, ionii sunt reflectați electrostatic spre detector. Poziția detectorului nefiind pe aceeași axă previne semnalele parazite provenite de la atomii neutrii sau fotoni secundari (reflectat în fondul suplimentar în semnalul analizat)

Transferul de energie a ionilor primari spre atomii de pe suprafața țintei are loc datorită reacțiilor în lanț a ciocnirilor biparticulă. Acest proces este mai mult sau mai puțin distructiv asupra naturii rețelei cristaline inducând defecte, implantări ionice în straturile superficiale, atomi îndepărtați de pe suprafață. În figura 4.1b sunt reprezentate tipurile de procese ce au loc la ciocnirea ionilor din fasciculul primar cu atomii de pe suprafața probei.



**Figura 4.1-a)** Principiul de emisie a ionilor secundari sub incidența unui fascicul de ioni, **b)** Modelul ciocnirilor în cascadă, biparticulă

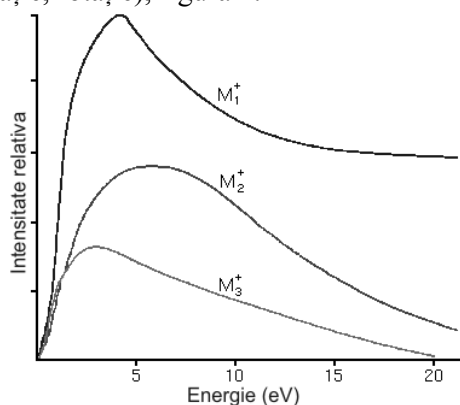
Fasciculul primar ionic poate fi de  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{O}$ ,  $\text{Ar}^+$ ,  $\text{Ga}^+$  cu energii 1-30KeV, adâncimea de penetrare fiind de 1-10nm. Rata de pulverizare variază între 0.5-5nm/s depinzând de intensitatea fasciculului primar, tipul de material, orientarea cristalului. Randamentul, definit ca numărul de atomi extrași din probă la numărul de ioni incidenti este 5-15.

Modelul ciocnirilor în cascadă este cel mai potrivit pentru a descrie procesele ce au loc la ciocnirea dintre ionii incidenti și atomii de pe suprafața probei (figura 4.1b). Ionii incidenti cedează energie prin multiple ciocniri biparticulă spre atomii țintă. Atomii de pe suprafață sunt pulverizați spre exterior sau continuă prin alte ciocniri să inducă în adâncimea țintei noi procese de ionizare dislocând noi atomi din rețea. Adâncimea de penetrare nu depășește 10nm.

În suprafața probei se produce astfel o mixtură de ioni, atomi, fotoni, electroni ce se desorb sub vid înalt constituind astfel materialul pulverizat.

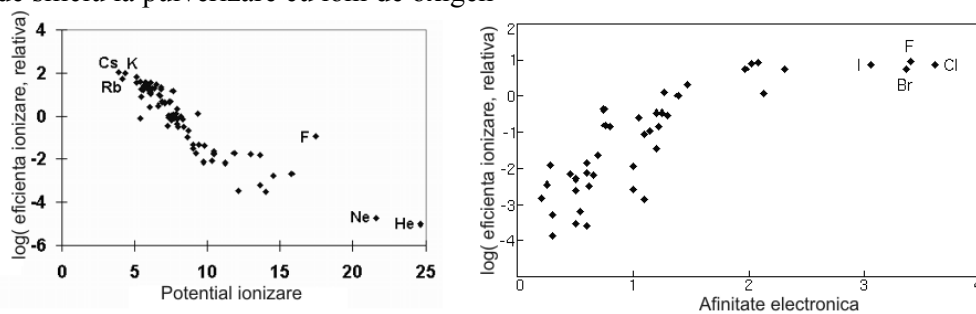
Deasemeni în suprafața probei se induc cratera, imperfecțiunile rețelei (dislocații, defecte multiple), reorganizări locale de atomi. După bombardamentul

cu ioni suprafața probei are o rugozitate tipică alcătuită din motive specifice: adâncituri, creste, conuri, aglomerări de conuri. Procesul de pulverizare produce ioni secundari cu un spectru larg de energii cinetice de translație distincte pentru ionii atomici respectiv moleculari. Ionii moleculari au o distribuție de energie cinetică mai mică și relativ îngustă deoarece o mare parte din energie se distribuie pe gradele interne (vibrație, rotație), figura 4.2



**Figura 4.2-** Distribuția după energie a componentelor emisie secundare de ioni. Ionii moleculari au o componentă din energia cinetică înmagazinată în gradele de libertate interne

Eficiența SIM, adică fracția de atomi pulverizați care devin ionizați, este dependentă de tipul elementelor și variază cu ordine de mărime. Eficiența de ionizare este dependentă de potențialul de ionizare pentru ioni pozitivi și de afinitate pentru ionii negativi. În figura 4.3 sunt prezentate două grafice pentru eficiența de ionizare relativă funcție de potențialul de ionizare respectiv afinitatea electronică a elementelor. Eficiența de ionizare este raportată la siliciu în matrice de siliciu la pulverizare cu ioni de oxigen



**Figura 4.3-** Eficiența de ionizare funcție de potențialul de ionizare respectiv afinitatea elementelor

Corelația dintre potențialul de ionizare și randamentul ionilor secundari nu este perfectă. Variațiile depind de natura matricii respectiv a elementelor. De exemplu oxigenul în probă crește randamentul de ionizare însă fluorul prezintă o

anomalie avînd un randament mare în toate probele. Neonul și heliul sunt în afara tendinței de corelație.

Aceeași comportare o prezintă și corelația dintre eficiența de ionizare relativă funcție de afinitate ( ca referință s-a luat siliciul pulverizat cu ioni de cesiu). În acest caz halidele I, Br, F, Cl se abat de la corelație.

Există o serie de factori care influențează eficiența ionizării dar cele mai importante sunt legate de oxigen care crește rata de formare de ioni pozitivi iar cesiul pentru ionii negativi. Efectul bombardamentului cu ioni de oxigen se datorează formării de oxizi care prin ruperea legăturilor se formează ioni pozitivi iar oxigen datorită afinității electronice mari favorizează captura de electroni.

Analiza cantitativă în SIMS utilizează factorii de sensibilitate relativă definiți astfel:

$$\frac{I_R}{C_R} = RSF_E \times \frac{I_E}{C_E} \quad 4.1$$

unde  $RSF_E$  este factorul de sensivitate relativă a elementului,  $I_E$ , intensitatea ionilor secundari a elementului,  $I_R$ , intensitatea ionilor secundari a elementului de referință ( matricea sau substratul de analizat);  $C_E, C_R$  sunt concentrațiile elementului E respectiv a matricii sau elementului de referință R. Dacă R este majoritar reprezentînd matricea, M atunci concentrația elementului E va fi:

$$C_E = RSF_E \times \frac{I_E}{I_M} C_M \quad 4.2$$

În analiza de urme se poate presupune că  $C_M$  este constantă iar factorul de sensivitate relativă poate fi redefinit ca  $RSF = RSF_E C_M$ , factor de sensivitate a elementului raportat la o matrice dată. În acest caz concentrația elementului analizat în urmele din matrice se exprimă mult mai convenabil:

$$C_E = RSF \times \frac{I_E}{I_M} \quad 4.3$$

unde  $RSF$  și  $C_E$  au aceleași unități de măsură.

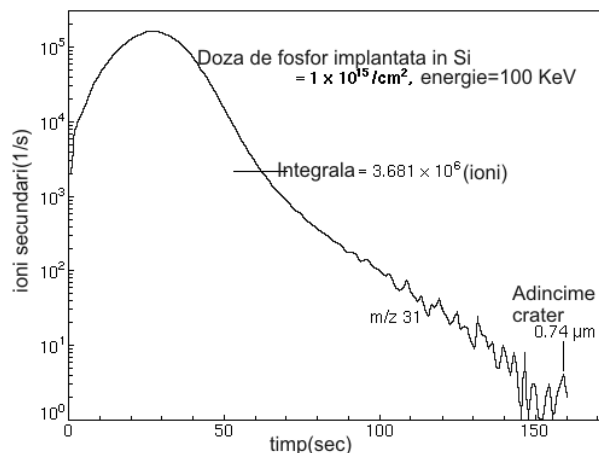
Este simplu de observat că măsurătorile în SIMS necesită o etalonare cu materiale și doze cunoscute pentru evaluarea factorului  $RSF$ . Deoarece randamentul ionic este dependent de elementul –analit speciile pulverizate trebuie analizate separat pentru a fi măsurat  $RSF$ .

Implantarea ionică reprezintă standarde optime pentru calibrările din SIMS. În principiu este posibilă orice tip de implantare ionică într-o matrice dată. Implantarea ionică se realizează la energii de 50-300KeV pe adîncimi de 0.2 microni. Integrarea curentului de implantare pe perioada dată se obține doza de material implantat ( excluderea curentului de electroni secundari din curentul total este principala corecție de fond).

Un exemplu tipic este implantarea fosforului în siliciu (figura 4.4)

La o doză de  $10^{15}$  ioni de fosfor implantat ionii secundari de fosfor emiși pe intervalul de timp 150 sec pînă la formarea craterelor este de  $3,68 \times 10^6$ . Din măsurători de profilometrie adîncimea craterului și din doza de implantare rezultă concentrația de implantare

$$C_I = \frac{\text{doza}}{\text{adîncime crater}} = 1.35 \times 10^{19} \text{atom/cm}^3$$



**Figura 4.4-** Emisia de ioni secundari de fosfor pentru o doză dată de implantare ionică în siliciu

Curentul de implantare a incluziunilor de fosfor în matrice s-a măsurat la valoarea  $I_M = 2.18 \times 10^8 /s$  iar curentul de ioni secundari  $I_i = 2.69 \times 10^4 /s$ . Cu aceste date se calculează RSF:

$$RSF = C_I \frac{I_M}{I_i} = 1.09 \times 10^{23} \quad 4.4$$

ce este în bună concordanță cu datele din literatură fiind de  $1.07 \times 10^{23}$ , [1]

Profilul de adâncime este important mai ales în evaluarea cantitativă a rezultatelor experimentale.

Monitorizînd rata ionilor secundari a elementelor selectate ca funcție de timp se obține profilul de adâncime. De exemplu pentru măsurarea fosforului în matricea siliciului proba a fost pregătită prin implantare cu fosfor iar analiza utilizează ioni primari de  $Cs^+$ . La convertirea axei timpului în adâncime, analistul SIMS utilizează un profilometru pentru măsurarea profilului adâncimii craterului de mai sus,  $0.74 \mu m$ . Adâncimea totală a craterului împărțită la timpul total de împrăștiere furnizează rata medie de împrăștiere. Factorul de sensibilitate relativ (RSFs) convertește axa verticală din ioni numărați în concentrație.

#### 4.2 Domeniul de aplicații

- Identificarea tuturor elementelor (inclusiv hidrogen);
- Detectarea speciilor de concentrație joasă la limita ppb;
- Structura moleculară a suprafeței (din analiza datelor);
- observarea de fragmente moleculare cu masă mare;
- Profilarea suprafeței pînă la 1 micron adâncime;
- Observarea straturilor superficiale;
- Rezoluție spațială mare ( $< 1$  micron);

Avantajele metodei statice SIMS în caracterizarea suprafeței:

- Analiză cantitativă (cu seturi de probe limitate)

- Investigarea polimerilor, a suprafețelor polimere și organice (cristale moleculare)
- Date utile pentru pulberi, fibre etc
- Măsurătorile sunt puternic localizate la arii de  $\sim 20 \text{ \AA}$ ;
- Cuplat cu alte metode de analiză dă informații suplimentare/ complementare asupra detaliilor de suprafață și a compoziției chimice.
- Interpretarea și definirea unei compoziții chimice este directă ( un exemplu este acela al analizei PMMA, unde fragmentele esterice și USR sunt direct identificate)

Studiile SIMS pe filme organice groase prezintă probleme speciale. Filmele depuse pe substraturi de Au sau Ag prezintă corelații rezonabile dintre fragmentele pulverizate și structura primară. Oricum matricea de înglobare a probei este extrem de importantă întrucât apar fenomene de cationizare. Suportul metalic reduce mult fenomenele de încărcare electrostatică. Un control îmbunătățit al fascicolului ionic primar cuplat cu o neutralizare de sarcină corespunzătoare face acum din SIMS- metoda statică un bun instrument în investigarea polimerilor [2]

Recent spectrometria de masă, perfecționandu-se continuu datorită noilor tehnici din nanotehnologie, a condus la dezvoltări cu multiple aplicații în imaginabile acum un deceniu:

- Aplicații în biologia moleculară;
- Virusologie;
- Analiza proteinelor, gene, cromozomi, ADN;
- Identificarea compoziției și structurii unei largi clase de polimeri;
- Testarea medicamentelor, identificarea drogurilor;
- Analiza suprafețelor;
- Datări geologice ;
- Monitorizarea proceselor din industria petrolieră

#### 4.3 SIMS cu timp de zbor, TOF-SIMS

Caracteristicile intrinseci ale unui analizor TOF conduc la obținerea unor spectre având domeniul masei practic nelimitat, obținut relativ ușor în câteva microsecunde.

Spectroscopia de masă ionică cu timp de zbor (TOF –SIMS) utilizează un fascicul principal, pulsant pentru a absorbi și ioniza specii ionice de la suprafața probei. Ioni secundari rezultați sunt accelerați într-un spectrometru de masă, unde sunt analizați din punct de vedere al masei prin măsurarea timpului lor de zbor de la suprafața probei până la detector. O imagine este generată prin baleajul fin al unui fascicul de focalizare mare pe direcția perpendiculară pe probă. Spectrul de masă și imaginea ionilor secundari sunt astfel utilizate pentru a determina compoziția și distribuția constituenților suprafeței probei. TOF –SIMS oferă posibilitatea caracterizării compoziției chimice, crearea de imagini pentru determinarea distribuției speciilor chimice și profile de nivel pentru caracterizarea filmelor subțiri.



În spectroscopia de masă TOF-SIMS și în modul de creare de imagine 2D, sunt analizate numai nivelele atomice exterioare (1-2 nivele) ale probei. Diminuarea materialului sursei este cauzată de coliziuni în cascadă care sunt inițiate de impactul ionilor primari asupra suprafeței. Ioni secundari emisi sunt extrași într-un analizor TOF prin aplicare unui potențial între suprafața probei și analizorul de masă. Spectrele de masă TOF-SIMS sunt generate utilizând o sursă de ioni care poate funcționa în regim pulsant (pulsuri foarte scurte mai mici de 1 ns) sau continuu. Ionii secundari generați astfel traversează analizorul TOF cu viteze diferite, depinzând de masă și de sarcina acestora. Pentru fiecare puls primar de ionii, un spectru complet de masă se obține prin măsurarea timpului de zbor necesar ionilor pentru a străbate distanța dintre sursă și detector urmată de o simplă conversie timp – masă.

Numai un procent redus din fragmentele emise sunt ioni pozitivi sau negativi. Masa acestor ioni secundari este analizată în SIMS. În modelele statice ale SIMS cu timp de zbor fasciculul ionic principal este menținut la o fluență foarte scăzută (în general mai mică de  $10^{12}$  ioni/cm<sup>2</sup>) astfel încât nu sunt emiși ioni secundari din regiunea afectată anterior de un alt ion primar, rezultând emisia unor fragmente moleculare de materie organică sau biologică. Structura și compoziția acestor fragmente este legată direct de structura moleculară a suprafeței de pe care au fost emise. Astfel, analiza tipului și a cantității de ioni secundari emiși de un esanțion în condiții statice SIMS furnizează informație despre structura moleculară a suprafețelor materialelor organice și biologice. Atunci când această metodă este folosită împreună cu alte tehnici de suprafață, ca de exemplu spectroscopia electronică pentru analize chimice, (ESCA), se poate obține o cunoaștere detaliată a structurii și compoziției suprafețelor.

Combinarea dintre analizorul de timp de zbor și procedeul static SIMS produce o tehnică puternică de analiză a suprafețelor. Caracteristicile acestei tehnici în analiza materiei organice și biologice sunt prezentate mai jos.

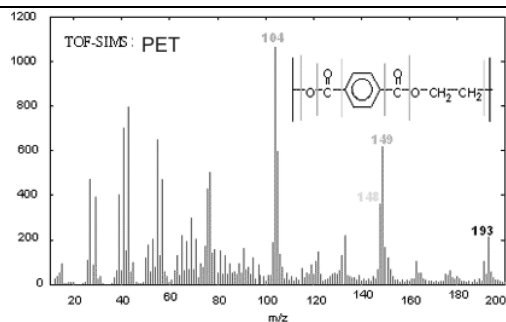


Figura 4.5-Polietilentereftalat (PET)- Ionul molecular (193), tipuri de fragmentări.

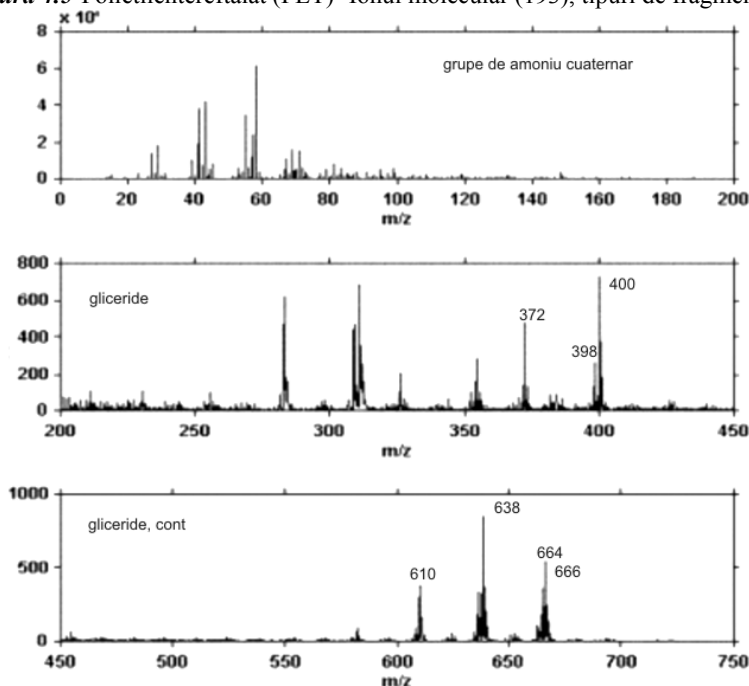
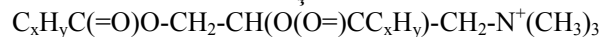


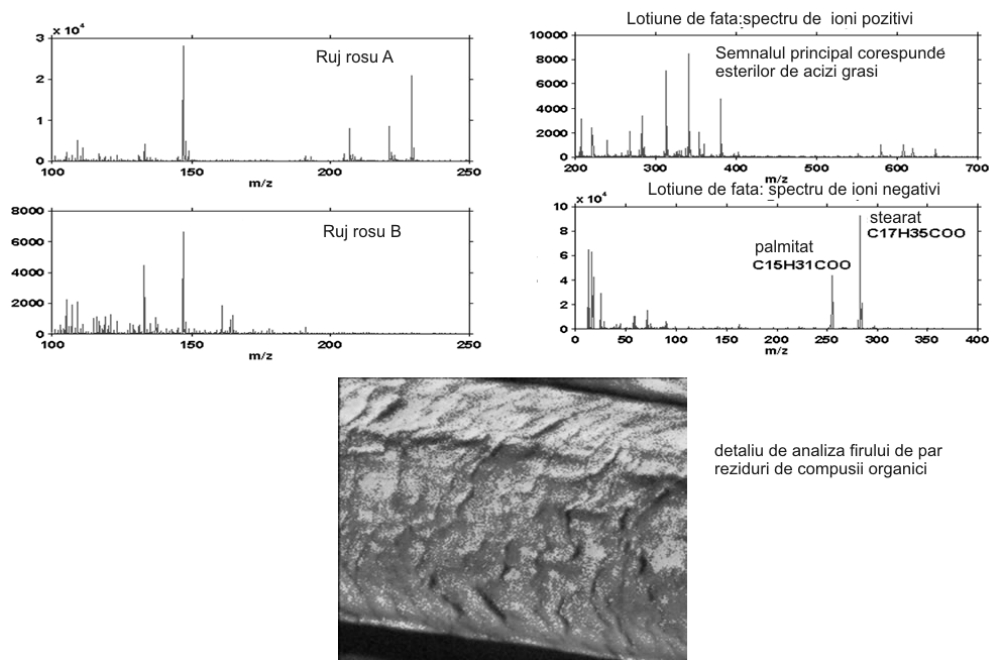
Figura 4.6-Analiza compoziției hîrtiei igienice, șervețele: scopul analizei este de a identifica tratamentul suprafeței a tipurilor de hîrtie și tratamentul lor cu diferiți aditivi, cuantificarea nivelului de C, O, N, Ca, Si, Cl. Se disting clar compuși cu amoniu cuaternar și diferite tipuri de gliceride a căror compoziție arată un conținut de atomi în număr impar. O interpretare detaliată a spectrului utilizînd librării de date, reguli de fragmentare și analiza de detali conduce la identificarea de aditivi ca mixturi de esteri mono și dibazici cu structuri :



și



unde x este o combinație de C15 (palmitat) și C17 (stearat), compuși folosiți ca agenți de lubrifiere respectiv de înmuiere. Cel mai interesant caz este studiul capacității de adsorbție, preluare de urme, indus de aditivul poliaminoamide (PAAE). TOF-SIMS identifică prin analiză de imagine rolul grupărilor CN<sup>-</sup> din PAAE prin monitorizarea C<sub>2</sub>H<sup>-</sup> din cian la adeziune pe fibra celulozică.



**Figura 4.7**-Exemple de aplicații în identificarea compozițiilor produselor cosmetice, loțiunilor sau a urmelor de compuși organici de pe firele de păr. Alți compuși ca etilceluloza sau lactozele utilizate în chimia drogurilor pot fi identificați cu mare precizie



**Figura 4.8**-Aplicațiile în medicină TOF-SIMS devine un instrument de identificare a liniilor de celule cu comportare anormală (benign sau malign). Bombardarea suprafeței celulelor cu ioni din clasa fullerenilor (C60) permite analiza materialelor biologice. În figură este prezentată imaginea chimică a unei celule tumorale de prostată și analiza chimică a componentelor principale. Este pusă în evidență concentrația mare de fosfolipide. O astfel de analiză poate constitui un punct de plecare spre noi biomarkeri și agenți terapeutici [3]

#### 4.3.1 Domeniul de măsură

Teoretic, domeniul de masă al unui analizor TOF este nelimitat. În plus, la fluență scăzută a fasciului principal rezultă emisia de ioni moleculari intacti și de fragmente ionice de masă moleculară mare. În practică numai ionii cu masă sub 2,000 Daltons au fost observați, probabil datorită interacțiilor intermoleculare ale atomilor din probă care inhibă ejectarea de fragmente moleculare intacte și de dimensiuni mari. Pot fi generați ioni cu mase de ordinul 10,000 D. Depunerea de probe sub forma unui singur strat subțire pe un substrat metalic susține desorbția ionilor de dimensiuni mari și crește stabilitatea lor prin cationizarea metalului. În

acest mod au putut fi caracterizați polimeri sintetici, permițând în același timp evaluarea distribuției masei moleculare a unui lanț oligomer intact.

În plus fragmente moleculare mari și mici au fost generate prin tehnica TOF SIMS. Aceste fragmente ionice sunt importante pentru analiza structurală a materialului. De exemplu, fragmentele indicatoare corespunzând aminoacizilor pot fi identificate din analiza moleculelor de proteină.

#### **4.3.2 Limitele de detecție**

Analizorul TOF este capabil de o înaltă sensibilitate, cu limita de detectare în domeniul de masa unu la un miliard datorită înaltei transmisii și detecției paralele a tuturor maselor. Spre comparație, analizoarele tradiționale (sector, quadropole) au o transmisie mult mai joasă și astfel se pierde informație prețioasă din moment ce aceste analizoare necesită metode de baleiaj pentru a detecta ionii cu mase moleculare diferite. Sensibilitate înaltă a metodei TOF-SIMS este importantă pentru caracterizarea monostraturi autoasamblate și a filmelor Langmuire-Blodgett, la fel ca și pentru analiza urmelor din filmele organice.

#### **4.3.3 Rezoluția în masă**

O altă caracteristică a analizorului TOF este rezoluția înaltă în masă, adesea peste 10.000 ( $m/\Delta m$ ). Înalta rezoluție permite atribuirea precisă a picurilor în sisteme complexe datorită posibilității de a distinge speciile chiar dacă acestea diferă doar prin câteva miliunități de masă. De exemplu, identificarea acidului glutamic și a aminoacidului lizină (ambele producând fragmente cu o valoare nominală a raportului  $m/z$  de 84) într-un film pe care a fost depusă o proteină este posibilă cu TOF-SIMS. Mai mult decât atât, în domeniul de mase mari (câteva mii de unități atomice de masă), spectrele de înaltă rezoluție obținute pentru un lanț polimeric intact care a cationizat pe un substrat de argint poate fi utilizat pentru a examina distribuția izotopică a atomilor de C, H și Ag din ionii emiși de acea sursă.

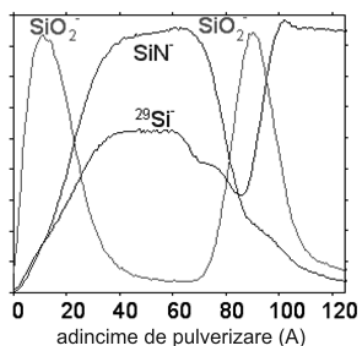
Adâncimea de eșantionare în condiții statice SIMS este în domeniul 10 -20 Å, deoarece numai particulele aflate în regiunea exterioară a țintei au suficientă energie pentru a învinge energia de legătură a suprafeței și a părăsi proba. Pentru comparație, adâncimea de eșantionare pentru ESCA, este semnificativ mai mare (în domeniul 20-100 Å, depinzând de probă și de condițiile de analiză). Cele două tehnici sunt des utilizate în combinație pentru a obține o înțelegere mai detaliată a compoziției suprafeței materialului și cum variază aceasta cu adâncimea în probă.

Un proiect de cercetare de la NESAC/BIO ([www.nb.engr.washington.edu/](http://www.nb.engr.washington.edu/)) utilizează sensibilitatea mare a metodei statice SIMS pentru a studia moleculele proteinelor absorbite. Multe proteine de interes mare au dimensiuni cuprinse între 40-100 Å, ceea ce depășește adâncimea de eșantionare a metodei statice SIMS. De aceea, forma și poziționarea proteinei relativ la volumul esantionat prin tehnica statică de analiză SIMS este de presupus că are un efect direct asupra ionilor generați. De exemplu, raportul dintre semnalele (datele experimentale) corepunzătoare aminoacidului hidrofobic și semnalele aminoacidului hidrofilic

detectate în experimentul cu SIMS static este de așteptat să furnizeze o extindere a înțelegerii proprietăților moleculelor proteinelor absorbite.

#### 4.3.4 Profile de adâncime obținute prin TOF-SIMS

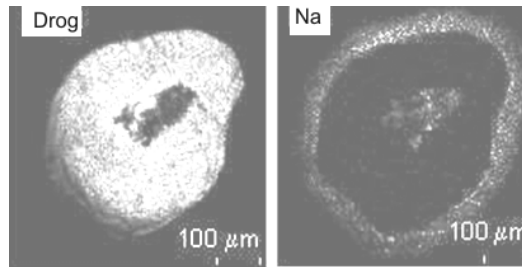
Metoda TOF-SIMS este capabilă să determine profilul adâncimii prin pulverizarea la suprafață. Un tun de ioni este utilizat în mod continuu pentru pulverizare, în timp ce același tun de ioni sau un al doilea este folosit în mod pulsant pentru achiziția datelor. Profilul adâncimii obținut prin TOF-SIMS permite monitorizarea simultană și cu rezoluție de masă mare a tuturor speciilor de interes. Figura 4.9 arată un profil de adâncime TOF-SIMS pentru un strat subțire de oxid colectat în modul de funcționare cu două fascicule (dual) utilizând un fascicul ionic de Ga de 15 keV pentru analiza spectrală și un fascicul ionic de Cs de 1 keV pentru pulverizare.



**Figura 4.9-** Determinarea compoziției și a profilului de dopare a siliciului prin analiza profilului de adâncime cu TOF-SIMS

#### 4.3.5 Generarea de imagini

Cu metoda TOF SIMS se poate genera o hartă chimică bidimensională a suprafeței probei studiate ce este generată prin colectarea spectrului de masă pentru fiecare pixel (de regulă pe format 256 x 256) când fasciculul primar de ioni este baleat după direcția perpendiculară pe suprafața probei. Acest fascicul principal de focalizare înaltă (circa un micron în diametru), de intensitate mare este baleat după o direcție perpendiculară pe suprafața probei, iar ionii secundari sunt colectați în puncte specifice. Rezoluția laterală înaltă este favorabilă pentru caracterizarea distribuției și localizării moleculelor organice de dimensiuni mari de la suprafața metalului. Tehnica a fost de asemenea utilizată pentru crearea de imagini pentru filme organice texturate și pentru compoziția suprafeței fibrelor. În figura 4.10 este prezentat un exemplu de astfel de imagine obținută pentru un element respectiv pentru o moleculă (ion molecular).



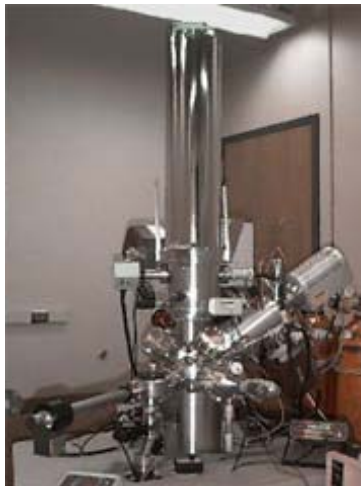
**Figura 4.10**-Imagine a compoziției chimice a unui drog identificat cu metoda baleierii fasciculului incident al spectrometrului TOF-SIMS

#### 4.3.6 Spectrometrul de masă ionică cu timp de zbor

Modelul 7200 TOF SIMS utilizat la NESAC/BIO (National ESCA and Surface Analysis Center for Biomedical Problems, SUA) are următoarele caracteristici (prin amabilitatea prof David G. Castner):

- O sursă de  $\text{Cs}^+$  care operează în mod pulsat sau continuu. Lărgimea pulsului poate varia de la 0.15 pînă la 100 ns la o frecvență de 5000 Hz. Energia fascicolului poate varia de la 0 pînă la 12.5 keV. Dimensiunea spotului poate focalizată sub  $2\mu\text{m}$  pentru imagini spațiale.
- Un accelerator de electroni, pulsat, de joasă energie pentru neutralizarea sarcinilor esantioanelor izolatoare.
- Un analizor de masă de tip timp de zbor în două trepte extrage ionii secundari de la sursă utilizînd un potențial de 3 keV. O lentilă de focalizare a ionilor secundari, localizată între intrarea analizorului și zona de drift este setată la 1 keV, pentru o unghi mare de acceptare. Un sistem independent de grile de accelerare
- O pereche de plăci stivuie de tip "chevron" (multiplicator multicanal planar) sunt folosite pentru a detecta ionii secundari după post-accelerare la o diferență de potențial de 15 kV. Semnalele sunt detectate utilizînd un timer cu convertor digital (TDC) cu o rezoluție temporală de 156 ps.
- Un dispozitiv de înaltă precizie – o platformă XYZ-Theta –este utilizată pentru poziționarea probei de analizat.
- Camera principală de analiză a sistemului este vidată de pompe turbomoleculare pentru a obține o presiune de bază de ordinul  $1.10^{-10}$  torr.
- Achiziția datelor și instrumentul de control sunt controlate utilizînd programul PHI COMPASS pe o stație de lucru Sun. Acest soft de analiză a datelor SIMS este disponibil atît pentru stație de lucru Sun cît si pentru PC Pentium.
- Temperatură variabilă în trepte simple este utilizată curent, sistemul fiind proiectat pentru ambele camere, camera de introducere și cea de

analiză a dispozitivului SIMS astfel încât structura suprafeței probei hidratate poate fi studiată utilizând metodele de înghețare hidratată.



*Figura 4.11*-Spectrometru TOF-SIMS

#### Caracteristici

- adâncimea de eșantionare este de 10-20 Å.
- se obține spectrul de masă a zonei de la suprafața probei.
- cererea de imagini cu o rezoluție spațială de ordinul micronilor.
- rezoluție înaltă în masă ( $m/\Delta m$  of 10,000)
- detectarea ionilor pozitivi și negativi cu mase mai mari de circa 10,000 D
- sensibilitate analitică extrem de înaltă.

#### 4.4 Referințe

---

- 1 R.G. Wilson, *Int. J. Mass Spectrometry. Ion Proc.*, **143**, 43, 1995
- 2 A. Benninghoven, F. G. Rüdener, and H. W. Werner *Secondary Ion Mass Spectrometry: Basic Concepts, Instrumental Aspects, Applications, and Trends*, Ed, Wiley, New York, pp1227 . 1987
3. S. Fletcher, N. P. Lockyer and J. C. Vickerman *C 60, Buckminsterfullerene - Its Impact on Biological ToF-SIMS Analysis*, Surface and Interface Analysis (Special Issue on Biological Analysis) 38, 1393-1400, 2006

##### Referințe generale TOF-SIMS: tehnici și aplicații, pentru studii aprofundate

1. A Benninghoven, *Chemical Analysis of Inorganic and Organic Surfaces and Thin Films by Static Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS)*, Angewandte Chemie International (in English), vol 33 #10, 1023-1043. 1994,
- 2.L VanVaec, A Adriaens.and , R.Gijbels, *Static Secondary Ion Mass Spectrometry: (S-SIMS) Part 1. Methodology and Structural Interpretation*, Mass Spectrometry Reviews, v. 18, p. 1-47. 1999
3. A.,Adriaens, L., VanVaec, and F., Adams, *Static Secondary Ion Mass Spectrometry (S-SIMS) Part 2: Material Science Applications*, Mass Spectrometry Reviews, v. 18, p. 48-81. 1999
4. *ToF-SIMS: Surface Analysis by Mass Spectrometry*, Eds John C. Vickerman and David Briggs, IMPublications, ISBN 1-901019-03-9, UK, pp 623,2001
5. *The Static SIMS Library version 4*, Eds by John C. Vickerman, David Briggs and Alex Henderson, IMPublications, ISBN 0-9537848-6-X, 2007

##### Referințe pe specificul materialelor

1. Mathez, E. A., and Mogk, D. W., *Characterization of carbon compounds on a pyroxene surface from a gabbro xenolith in basalt by time-of-flight secondary ion mass spectrometry*, Amer. Min., v. 83, p. 918-924. 1998
2. Mogk, D. W., and Mathez, E. A., *Carbonaceous films in midcrustal rocks from the KTB borehole, Germany, as characterized by Time-of-Flight*, Geochemistry, Geophysics, Geosystems (G3), Amer. Geophys. Union, November 13, 2000 (e-publication).
3. Toporski, J., and Steele, A., *Characterization of purified biomarker compounds using time of flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS)*, Organic Chemistry, v.35,7. 2004
4. V. S Smentkowski, and S. G Ostrowski, "Time of flight secondary ion mass spectrometry: A powerful high throughput screening tool." Rev Sci Instrum 78 (7):072215, 2007.
5. R. N. Sodhi, "Time-of-flight secondary ion mass spectrometry (TOF-SIMS): versatility in chemical and imaging surface analysis." Analyst 129 (6): 483-7. 2004.
6. Sjoval, P., Lausmaa, J. and Johansson, B. (2004). "Mass spectrometric imaging of lipids in brain tissue." Anal Chem 76 (15): 4271-8., 2004



Spectroscopia EXAFS (*Extended X-ray Absorption Fine Structure*) consta din analiza oscilatiilor sistematice ale spectrului de absorbtie a radiatiei X, la energii superioare limitei de absorbtie. Informatia extrasa descrie aranjamentul atomic local în jurul speciei absorbante: numarul atomilor învecinati si natura lor chimica, distantele interatomice, gradul de dezordine structurala.

Metoda EXAFS s-a extins puternic îndeosebi dupa anii '80, odata cu dezvoltarea facilitatilor de utilizare a radiatiei de sincrotron. În prezent, metoda este aplicata în domenii din cele mai diverse, ca: studiul semiconductorilor si al materialelor complexe (sisteme multi-componente), cataliza, biochimie, studiul materialelor la presiuni înalte (cu posibilitatea descrierii în timpi reali a tranzitiilor de faza), geologie etc. În conditii de incidenta razanta a radiatiei, metoda este utilizata în studiul suprafetelor (mecanisme de adsorbție si chemosorbție, procese de corodare/oxidare etc.).

În raport cu tehnicile traditionale de difractie de raze X, avantajele metodei EXAFS sunt: (i) specificitatea atomica, constînd din descrierea separata a structurii locale în jurul fiecărei specii atomice; (ii) sensibilitatea ridicata, permițînd abordarea sistemelor de dilutie înalta (ex. metale fin dispersate în matrici usoare); (iii) aplicabilitatea metodei, cu acelasi formalism matematic, la studiul materialelor cristaline si amorse, indiferent de gradul de ordonare structurala la distanta.

### **Facilitati**

În INCDFM exista o experienta îndelungata în utilizarea spectroscopiilor EXAFS/XANES. Cele doua metode au fost aplicate în studiul unei varietati largi de materiale: metalo-fullerene, aliaje cvasi-cristaline (icosaedrale) Al-Cu-Fe si Al-Mn-RE (RE = pamînturi rare), aliaje si compusi intermetalici, catalizatori metalici etc. Datele primare de absorbtie au fost achizitionate la surse de radiatie sincrotron, prin aplicatii de timpi de utilizare sau în cadrul unor Conventii de cooperare (*Beijing Synchrotron Radiation Facility*). Analiza datelor a fost efectuata în INCDFM, cu programe de calcul de concepie proprie.

## Descrierea metodei

Atenuarea prin absorbtie fotoelectrică a radiatiei X este descrisa de legea  $I_t = I_0 \exp(-\mu(E)t)$ , unde  $I_0$  si  $I_t$  sunt intensitatile fasciculului incident si respectiv transmis,  $t$  este grosimea stratului absorbant, iar  $\mu(E)$  este coeficientul liniar de absorbtie, depinzînd de energia  $E$  a fotonilor X si de natura materialului absorbant. În general, coeficientul de absorbtie variaza monoton cu energia radiatiei incidente. Aceasta comportare este întreputa în vecinatatea energiilor de legatura  $E_b$  ale electronilor de pe paturi atomice adînci (K, L, M,...), unde coeficientul  $\mu(E)$  manifesta un salt, corespunzînd cresterii absorbtiei prin efect fotoelectric. Discontinuitatile respective reprezinta limitele de absorbtie, denumite K, L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, ..., în functie de patura atomica pe care a avut loc fotoabsorbția ( $1s_{1/2}$ ,  $2s_{1/2}$ ,  $2p_{1/2}$ ,  $2p_{3/2}$ , ...).

La energii superioare limitei, spectrul de absorbtie manifesta doua regiuni distincte: structura fina a limitei sau XANES (*X-ray Absorption Near-Edge Structure*), pe un interval de 10-15 eV deasupra limitei, si structura extinsa a limitei sau EXAFS (*Extended X-ray Absorption Fine Structure*), dincolo de 30-50 eV deasupra limitei, pîna la 800-1000 eV.

Intervalul de energii XANES corespunde tranzițiilor fotoelectronilor, de pe patura atomica pe care a avut loc fotoabsorbția, pe stările neocupate, deasupra nivelului Fermi, și având simetria permisă de regulile de tranziție dipolară ( $\Delta l = \pm 1$ ;  $\Delta j = 0, \pm 1$ ). Intervalul respectiv reflectă astfel densitatea de stări electronice, putând fi corelat cu starea chimică a atomilor absorbanti.

În domeniul EXAFS, fotoelectronii extrasi au energii suficient de mari ( $E - E_0 > 50$  eV), pentru a fi tratați în aproximația electronilor liberi. Fotoelectronii ‘calatoresc’ în jurul atomului absorbant/emitor și se împrăstie elastic pe atomii învecinați (Fig.1). Cu o anumită probabilitate, ei sunt împrăstiați înapoi, spre atomul absorbant central. Starea finală a fotoelectronului este descrisă de suprapunerea dintre unda primară, ‘calatoare’ spre atomii vecini, și undele secundare, împrăstiate pe aceștia din urmă. Interferența undei primare cu undele retroîmprăstiate modulează starea finală, având ca efect un sistem de maxime și minime în spectrul de absorbție (Fig.1 a), care definește structura extinsă a limitei (EXAFS). Oscilațiile EXAFS reflectă aranjamentul structural în jurul atomului absorbant: amplitudinea oscilațiilor este corelată cu numărul atomilor vecini, iar frecvențele EXAFS – cu distanțele interatomice (atom absorbant – vecin împrăstietor).

În intervalul EXAFS, spectrul de absorbție  $\mu(E)$  este dat de suma a două componente: una monotona ( $\mu_0(E)$ ), corespunzând absorbției pe atomul izolat (fără nici o învecinare structurală), și o componentă oscilatorie  $\mu_1(E)$ , descriind efectul EXAFS. Funcția de modelare (funcția EXAFS), definită prin raportul celor două componente, conține informația structurală.

Dependența funcției EXAFS de vectorul de undă al fotoelectronilor ( $k = [(2m/\hbar^2)(E - E_0)]^{1/2}$ , unde  $E = \hbar\omega$  este energia fotonilor,  $E_0$  = energia limitei, iar  $E - E_0$  = energia cinetică a fotoelectronilor) este descrisă prin suma:

$$\chi(k) = - \sum_j \frac{N_j}{k R_j^2} F_j(k) e^{-2k^2 \sigma_j^2} e^{-2R_j/\lambda(k)} \sin(2kR_j + \varphi_j(k)) \quad (1)$$

luată peste paturile de coordonare ale atomului absorbant.  $N_j$  este numărul de atomi pe suprafața paturii  $j$  de coordonare (vecinii de ordin  $j$ ), situați la distanța  $R_j$  de atomul absorbant, iar  $\sigma_j^2$  este fluctuația patrată medie a distanțelor  $R_j$  în jurul unei valori medii (prin efecte de dezordine topologică/termică).  $F_j(k)$  este amplitudinea de retroîmprăstiere a electronilor pe vecinii de ordin  $j$ , iar  $\varphi_j(k)$  este defazajul funcției de undă a fotoelectronilor în procesul de retroîmprăstiere.  $l(k)$  este drumul liber mediu al electronilor între ciocnirile inelastice, ca o măsură a parcursului fotoelectronilor în jurul atomului absorbant. Factorul  $\exp(-2R_j/l(k))$  descrie pierderile de amplitudine EXAFS prin ciocniri inelastice și atenuarea contribuțiilor la EXAFS din partea paturilor superioare de coordonare (la distanțe  $R_j$  relativ mari). Acest factor determină în mare parte caracterul local al informației EXAFS, restrîns la învecinarea imediată a atomului absorbant (primele 3-4 paturi de coordonare). Factorul  $\exp(-2s_j^2 k^2)$ , de tip Debye-Waller, este de asemenea un factor de diminuare a amplitudinilor EXAFS și măsoară gradul de dezordine a structurii locale.

Principiul metodei EXAFS constă din extragerea parametrilor structurali  $N_j$ ,  $R_j$ ,  $\sigma_j^2$ , prin fitarea neliniară a sumei (1), în condiții de cunoaștere prealabilă a funcțiilor  $F_j(k)$ ,  $\varphi_j(k)$  și  $l(k)$ .

---

## Analiza datelor

Etapele principale ale analizei EXAFS sunt exemplificate în Fig.1, pentru spectrul de absorbție al unei folii Ni, măsurat la limita Ni K ( $E_0 = 8333$  eV). Ele constau din:

● *Extragerea fondului de absorbție* corespunzând absorbției pe electronii mai slab legați decât Ni  $1s_{1/2}$ . Fondul respectiv (Fig.1a, linia roșie) a fost determinat prin fitarea polinomială a spectrului la energii  $E < E_0$  și extrapolarea fitului rezultat în domeniul  $E > E_0$ . Spectrul obținut după extragerea fondului (Fig.1b) descrie fotoabsorbția *doar* pe electronii Ni  $1s_{1/2}$ .

● *Calculul funcției EXAFS* din raportul celor două componente ale spectrului în domeniul EXAFS: componenta oscilatorie,  $\mu(E) - \mu_0(E)$ , și componenta monotona (absorbția pe atomul izolat)  $\mu_0(E)$ . Absorbția atomică  $\mu_0(E)$  a fost aproximată prin fitarea spectrului experimental  $\mu(E)$ , în intervalul EXAFS, cu funcții spline (Fig.1b, linia roșie). Funcția  $\chi(E)$ , calculată din raportul  $[\mu(E) - \mu_0(E)]/\mu_0(E)$ , a fost reprezentată în Fig.1c, în raport cu vectorul de undă  $k$  al fotoelectronului.

● *Transformarea Fourier a funcției EXAFS*. Funcția  $k^3\chi(k)$  a fost transformată Fourier în raport cu distanța  $R$  măsurată de la atomul absorbant Ni, în intervalul  $k=1,8-13,0 \text{ \AA}^{-1}$ , unde semnalul EXAFS domina peste zgomotul statistic al spectrului. Modulul transformatei Fourier (Fig.1d) este o cvasi-distributie radială atomică, cu maximele corespunzând paturilor de coordinație ale atomilor Ni. Distanțele interatomice  $R_j$  din structura *cfc* a metalului au fost indicate prin linii verticale, împreună cu numerele corespunzătoare de coordinație (numărul atomilor vecini la distanța  $R_j$ ). Abaterea sistematică a maximelor radiale în raport cu pozițiile  $R_j$  este un efect al defazajelor  $j(k)$  în expresia funcției EXAFS (1).

În principiu, suma (1) poate fi fitată cu un număr arbitrar de mare de termeni, reprezentând contribuțiile diferitelor paturi de coordinație la EXAFS. Întrucât, însă, fiecare patură contribuie cu trei parametri variabili ( $N_j$ ,  $R_j$ ,  $s_j$ ) în procesul de fitare, fitul funcției EXAFS cu mai multe paturi de coordinație ridică nerezonabil numărul parametrilor de fitare, putând conduce la instabilități de calcul sau ambiguități în interpretarea rezultatelor. În consecință, se preferă izolarea succesivă a câte unui termen în suma (1), și fitarea sa separată cu patură corespunzătoare de coordinație. Procedeele au fost exemplificate în Fig.2d, pentru prima patură de coordinație (vecinii cei mai apropiați) a atomilor Ni. Primul maxim radial a fost izolat printr-o funcție-fereastră de tip Hanning și retransformat Fourier în spațiul  $k$  (filtrare Fourier). Rezultatul obținut (Fig.2c, linia roșie) reprezintă contribuția primei paturi de coordinație la EXAFS ( $\chi_1(k)$ ), filtrată din spectrul experimental  $\chi(k)$ .

● *Fitul neliniar* al spectrului  $\chi_1(k)$ , având ca rezultat parametrii structurali ai primei paturi de coordinație: numărul celor mai apropiați vecini ( $N_1$ ), distanța până la aceștia ( $R_1$ ) și gradul de dezordine structurală ( $s_1$ ). Funcțiile  $F_1(k)$ ,  $j_1(k)$  și  $l(k)$  (asa-numite standarde EXAFS) au fost calculate în prealabil, folosind subrutine specializate (codul FEFF, Univ. Washington).

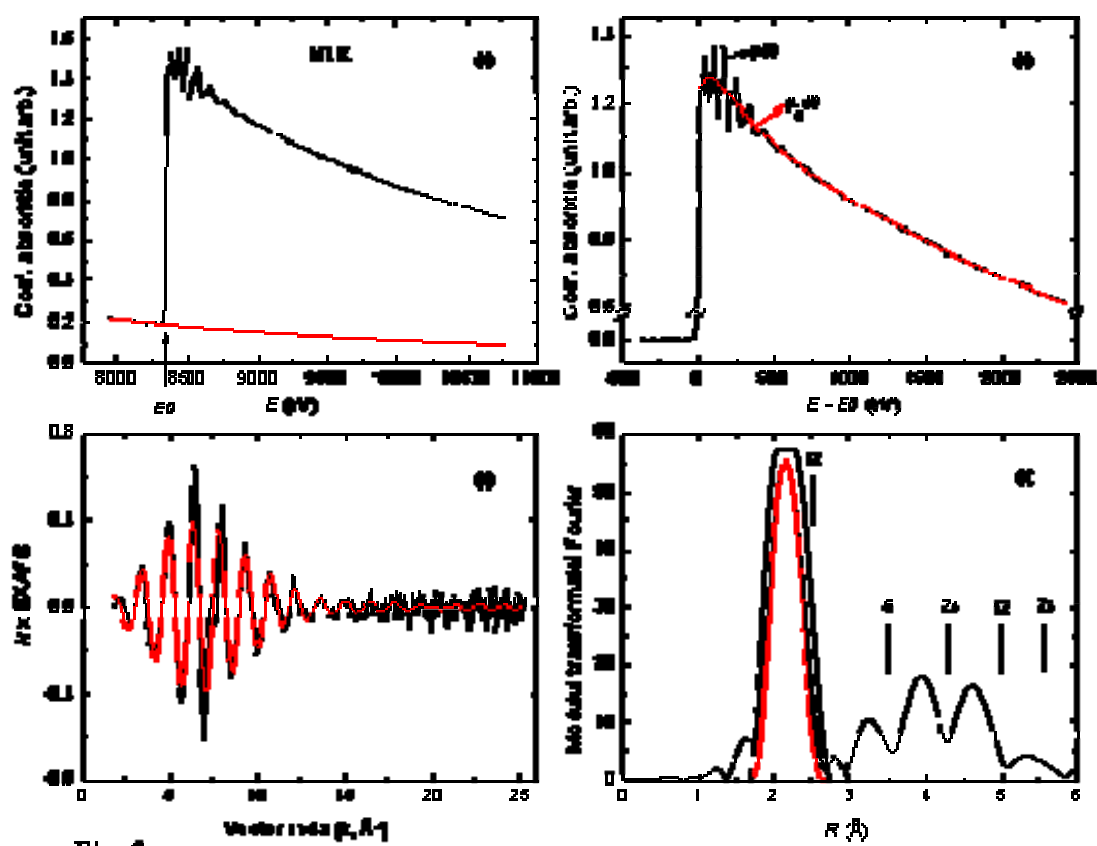


Fig. 2

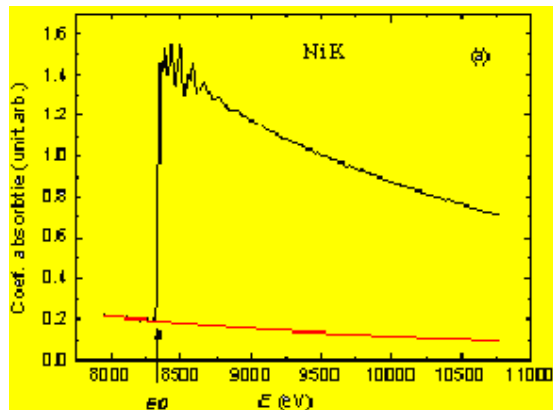


Figura 1a

### Spectroscopia EXAFS

*Extended X-ray Absorption Fine Structure)*

- Spectroscopia EXAFS (*Extended X-ray Absorption Fine Structure*) consta din analiza oscilatiilor sistematice ale spectrului de absorbtie a radiatiei X, la energii superioare limitei de absorbtie.

**Informatia extrasa descrie aranjamentul atomic local în jurul speciei absorbante: numarul atomilor învecinati si natura lor chimica, distantele interatomice, gradul de dezordine structurala**

**Metoda EXAFS s-a extins puternic odata cu dezvoltarea facilitatilor de utilizare a radiatiei de sincrotron**

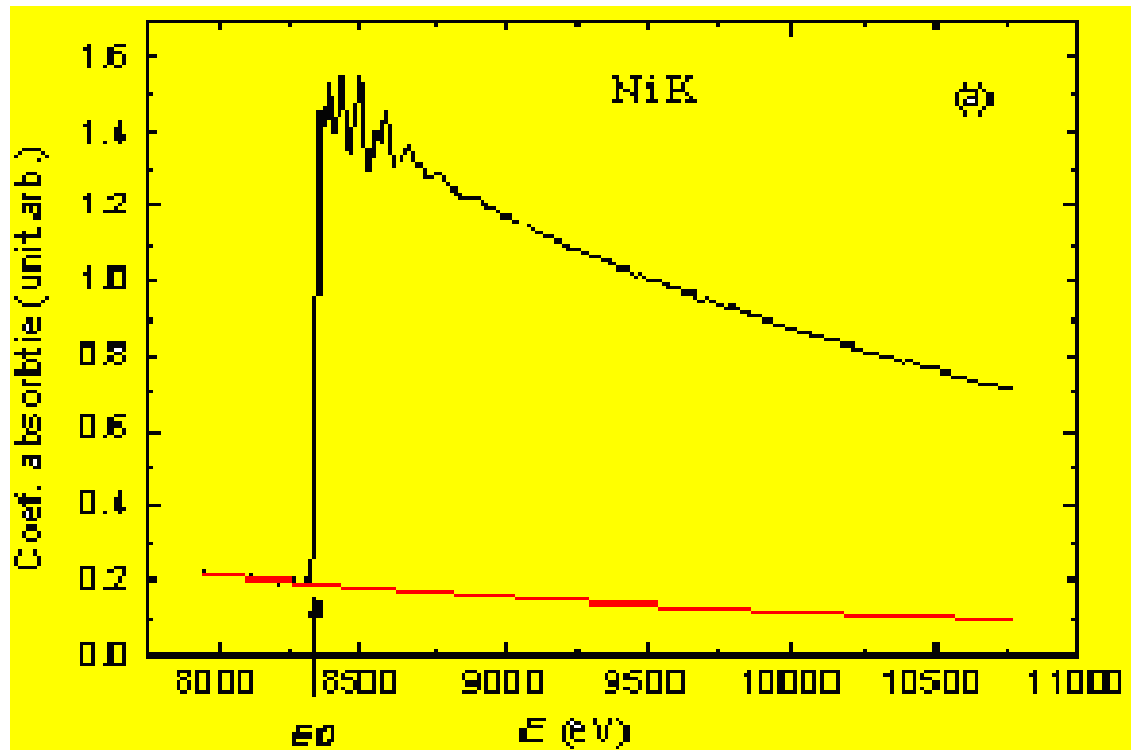
În raport cu tehnicile traditionale de difracție de raze X, avantajele metodei EXAFS sunt:

- (i) specificitatea atomica, constînd din descrierea separata a structurii locale în jurul fiecarei specii atomice;
  - b (ii) sensibilitatea ridicata, permitînd abordarea sistemelor de dilutie înalta (ex. metale fin dispersate în matrici usoare);
  - b (iii) aplicabilitatea metodei, cu acelasi formalism matematic, la studiul materialelor cristaline si amorf, indiferent de gradul de ordonare structurala la distanta.

### Descrierea metodei

- b Atenuarea prin absorbție fotoelectrică a radiației X este descrisă de legea  $I_t = I_0 \cdot \exp(-\mu(E)t)$ , unde  $I_0$  și  $I_t$  sunt intensitățile fasciculului incident și respectiv transmis,  $t$  este grosimea stratului absorbant, iar  $\mu(E)$  este coeficientul liniar de absorbție, depinzând de energia  $E$  a fotonilor X și de natura materialului absorbant. În general, coeficientul de absorbție variază monoton cu energia radiației incidente.
- b La energii superioare limitei, spectrul de absorbție manifestă două regiuni distincte: structura fină a limitei sau XANES (*X-ray Absorption Near-Edge Structure*), pe un interval de 10-15 eV deasupra limitei, și structura extinsă a limitei sau EXAFS (*Extended X-ray Absorption Fine Structure*), dincolo de 30-50 eV deasupra limitei, până la 800-1000 eV.
- b **În domeniul EXAFS, fotoelectronii extrasi au energii suficient de mari ( $E - E_0 > 50$  eV), pentru a fi tratați în aproximația electronilor liberi. Fotoelectronii ‘calatoresc’ în jurul atomului absorbant-emitor și se împrăstie elastic pe atomii învecinați. Cu o anumită probabilitate, ei sunt împrăstiați înapoi, spre atomul absorbant central. Starea finală a fotoelectronului este descrisă de suprapunerea dintre unda primară, ‘calatoare’ spre atomii vecini, și undele secundare, împrăstiate pe aceștia din urmă.**

**Interferența undei primare cu undele retroîmprăstiate modulează starea finală, având ca efect un sistem de maxime și minime în spectrul de absorbție (Fig.1a), care definește structura extinsă a limitei (EXAFS)**

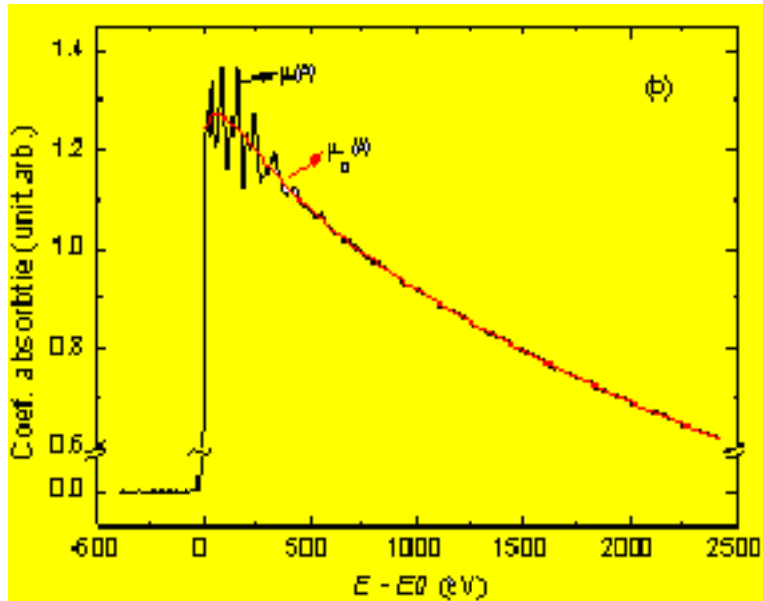


Dependenta functiei EXAFS de vectorul de unda al fotoelectronilor ( $k = [(2m/h^2)(E-E_0)]^{1/2}$ , unde  $E$  este energia fotonilor,  $E_0$  = energia limitei, iar  $E-E_0$  = energia cinetica a fotoelectronilor) este descrisa prin suma:

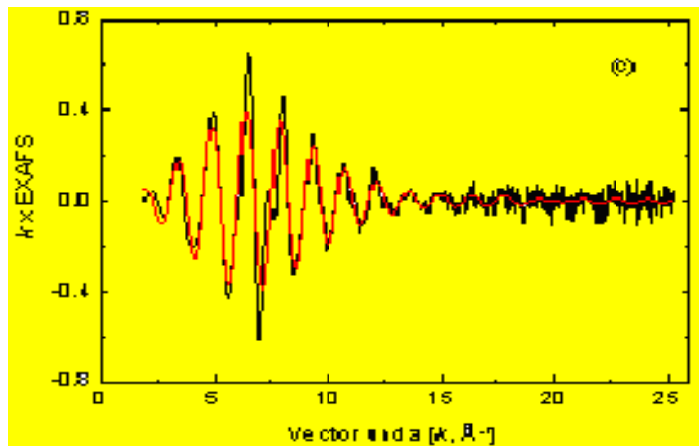
$$\chi(k) = - \sum_j \frac{N_j}{kR_j^2} F_j(k) e^{-2k^2\sigma_j^2} e^{-2R_j/\lambda(k)} \sin(2kR_j + \varphi_j(k))$$

#### Analiza datelor

*Extragerea fondului de absorbtie* corespunzînd absorbtiei pe electronii mai slab legati decît Ni 1s $\frac{1}{2}$ . Fondul respectiv (Fig.1a, linia rosie) a fost determinat prin fitarea polinomiala a spectrului la energii  $E < E_0$  si extrapolarea fitului rezultat în domeniul  $E > E_0$ . Spectrul obtinut dupa extragerea fondului (Fig.1b) descrie fotoabsorbția *doar* pe electronii Ni 1s



b *Calculul funcției EXAFS din raportul celor două componente ale spectrului în domeniul EXAFS: componenta oscilatorie,  $\mu(E) - \mu_0(E)$ , și componenta monotona (absorbția pe atomul izolat)  $\mu_0(E)$ . Absorbția atomică  $\mu_0(E)$  a fost aproximată prin fitarea spectrului experimental  $\mu(E)$ , în intervalul EXAFS, cu funcții spline (Fig.1b, linia roșie). Funcția  $(E)$ , calculată din raportul  $[\mu(E) - \mu_0(E)]/\mu_0(E)$ , a fost reprezentată în Fig.1c, în raport cu vectorul de undă  $k$  al fotoelectronului.*





- b Procedul a fost exemplificat în Fig.1d, pentru prima patura de coordinație (vecinii cei mai apropiați) a atomilor Ni. Primul maxim radial a fost izolat printr-o funcție-fereastră de tip Hanning și retransformat Fourier în spațiul  $k$  (filtrare Fourier). Rezultatul obținut (Fig.1c, linia roșie) reprezintă contribuția primei paturi de coordinație la EXAFS ( $I(k)$ ), filtrată din spectrul experimental ( $k$ ).
- b *Fitul neliniar* al spectrului  $I(k)$ , având ca rezultat parametrii structurali ai primei paturi de coordinație: numărul celor mai apropiați vecini ( $Nl$ ), distanța pînă la aceștia ( $Rl$ ) și gradul de dezordine structurală ( $s$   $l$ ). Funcțiile  $F1(k)$ ,  $j$   $I(k)$  și  $l$  ( $k$ ) (asa-numitele standarde EXAFS) au fost calculate în prealabil, folosind subrutine specializate (codul FEFF, Univ. Washington).

