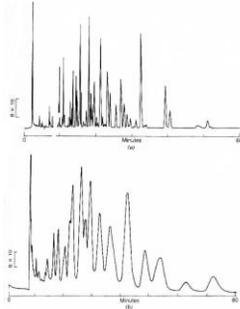


Colonne per gascromatografia

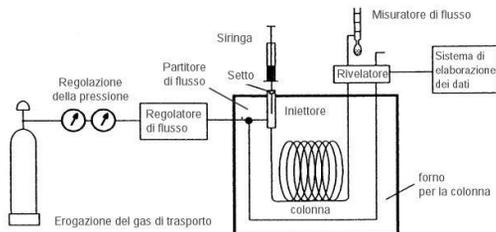
- Colonne impaccate
 - contengono un supporto solido inerte, finemente suddiviso (comunemente basato su terra di diatomee), ricoperto di fase stazionaria liquida
- Colonne capillari
 - WCOT (Wall Coated Open Tubular), strato sottile di fase liquida (1 μm) depositato sulla superficie
 - SCOT (Support Coated Open Tubular), strato poroso creato sulle pareti della colonna per trattamento o deposizione chimica
 - PLOT (Porous Layer Open Tubular), strato poroso polimerico o inorganico che funge da fase stazionaria per una cromatografia di adsorbimento

Confronto tra colonne impaccate e capillari



Le colonne capillari possono essere lunghe fino a 100 m e hanno quindi un numero di piatti teorici enormemente più elevato rispetto alle colonne impaccate. Questa differenza è esemplificata nella figura a lato (in alto separazione con colonna capillare, in basso la stessa separazione con colonna impaccata)

Schema di un GC



Caratteristiche di un rivelatore ideale:

- Sensibilità adeguata al problema
- Buona stabilità e riproducibilità
- Risposta lineare al soluto, possibilmente per parecchi ordini di grandezza
- Tempi di risposta rapidi
- Risposta verso tutti i soluti, oppure risposta selettiva verso una o più classi di soluti

Scelta del rivelatore

La selezione è basata su:

- natura chimica degli analiti
- potenziali interferenze
- limite di rivelabilità richiesto
- disponibilità e/o costo

Rivelatori per GC

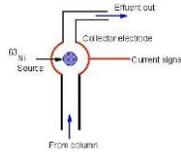
- a conducibilità termica (TCD)
- a ionizzazione di fiamma (FID)
- a cattura di elettroni (ECD)
- a conducibilità elettrolitica (ELCD)
- amperometrico per lo zolfo (ASD)
- termoionico (TID o NPD)
- fotometrico a fiamma (FPD)
- a fotoionizzazione (PID)
- ad emissione atomica (AED)
- a chemiluminescenza
- spettrometria di massa (MS)

Uno dei punti di forza della tecnica GC è la grande varietà dei rivelatori disponibili. Alcuni sono aspecifici e quindi di uso generale (TCD, FID), altri sono invece molto specifici (AED, ASD). Quelli universalmente accettati sono TCD ed FID, ma è sempre più diffuso l'impiego del rivelatore a spettrometria di massa

Un aspetto da considerare nella scelta del rivelatore è verificare se è distruttivo o no: nel secondo caso può essere interessante mettere in serie più rivelatori (es. TCD e MS)

Rivelatore a cattura di elettroni (ECD)

- misura la diminuzione di corrente dovuta alla cattura di elettroni da parte di analiti all'uscita della colonna
- è sensibile soprattutto a composti con gruppi funzionali elettrofili (alogeni, perossidi, nitrogruppi, ecc.)
- la sorgente di elettroni è un beta-emettitore come ^3H o ^{63}Ni



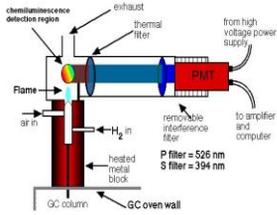
Il gas all'ingresso viene ionizzato da raggi beta. Gli elettroni che si formano sono attratti da un anodo che produce una corrente stazionaria. Quando gli analiti con elevata affinità elettronica entrano nel rivelatore catturano elettroni.

Il rivelatore risponde variando la frequenza per mantenere la corrente costante.

- la sensibilità è ottima per gli idrocarburi clorurati
- è un sistema non distruttivo

Rivelatore fotometrico a fiamma

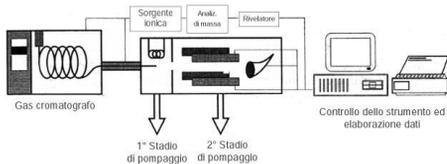
- è specifico per composti contenenti zolfo e fosforo
- si misura l'emissione ottica a 394 nm per S e 526 nm per P
- è un sistema distruttivo



Quando l'eluato passa attraverso una fiamma ad aria-H₂ gli ioni eccitati emettono radiazioni caratteristiche. L'emissione del fosforo e dello zolfo possono essere isolate con un filtro interferenziale a banda stretta e rivelate con un fotomoltiplicatore.

Rivelatore a spettrometria di massa

- accoppiamento ormai più che consolidato e di straordinaria potenza
- è l'unico rivelatore che fornisce informazioni strutturali
- è un sistema distruttivo



Rivelatori HPLC controllano in continuo una caratteristica dell'eluato della colonna in una cella a flusso connessa all'uscita della colonna

Si distinguono in:

- ✦ Rivelatori 'bulk property' (**rivelatori delle proprietà dell'eluato**)
 - sensibili a proprietà specifiche dell'insieme soluto-solvente. Il segnale è proporzionale al prodotto del flusso per la concentrazione del soluto. Sono anche detti "flow sensitive"
- ✦ Rivelatori 'solute property' (**rivelatori delle proprietà del soluto**)
 - sensibili a proprietà specifiche del soluto. Il segnale è proporzionale alla concentrazione del soluto "solute sensitive"

Rivelatore	LOD (ng)	Selettività	Utilizzabile in gradiente?
Assorbimento UV	0.1-1	selettivo	SI
Indice di rifrazione	100-1000	generale	NO
Fluorescenza	0.001-0.01	selettivo	SI
Elettrochimico	0.01-1	selettivo	NO
Conduttimetrico	0.5-1	selettivo	NO
Assorbimento IR	1000	selettivo	SI
Spettrometro di massa	0.0001-1	generale	SI

Rivelatore	Caratteristiche
Assorbanza (UV/Vis)	Il più comune rivelatore per composti che assorbono in UV/Vis. Buona sensibilità (ng)
Diode array	Aiuta identificazione dell'analita attraverso dati spettrali
Fluorescenza (Fl)	Rivelatore specifico con grande sensibilità (pg)
Indice rifrazione (RI)	Universale, usato per composti senza cromoforo Polimeri, zuccheri, trigliceridi, acidi organici
Spettr. di massa (MS)	Eccellente sensibilità (fg) e specificità, definitiva identificazione di analiti
Elettrochimico	Per composti elettroattivi
Conducibilità	Per composti ionici
Radioattività	Specifico per composti marcati

Rivelatori fotometrici e spettrofotometrici

• Rivelatori HPLC più comuni

• Rispondono alla presenza di specie assorbenti nell'UV/visibile in un intervallo 190-700nm

• Risposta lineare in accordo con la legge di Lambert-Beer

$$A = \epsilon bc$$

Assorbanza \rightarrow $A = \epsilon bc$ \leftarrow Concentrazione del campione (M)
 ↑
 Cammino ottico (cm)
 ↓
 Assorbidità molare o coefficiente di estinzione ($M^{-1} cm^{-1}$)

- non sensibili alla temperatura
- non sensibili al flusso
- ampio intervallo di linearità
- buona sensibilità

Gruppi cromofori

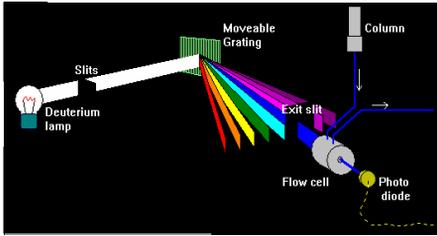
Cromoforo	Formula	λ_{max} (nm)	ϵ
aldeide	-CHO	210	1.500
amino	-NH ₂	195	2.800
azo	-N=N-	285-400	3-25
bromuro	-Br	208	300
carbossile	-COOH	200-210	50-70
chetone	-C=O	195	1.000
disolfuro	-S-S-	194	5.500
estere	-COOR	205	50
etere	-O-	185	1.000
etilene	-C=C-	190	6.000
fenile	-C ₆ H ₅	202, 255	
naftile		220, 275	
nitrate	-ONO ₂	270	12
nitrite	-ONO	220-230	1.000-2.000
nitrile	-C=N	160	-
nitro	-NO ₂	210	forte

Scelta della lunghezza d'onda

La λ del rivelatore va scelta in base ad alcune considerazioni:

- massimizzare sensibilità e specificità
- il solvente della fase mobile può causare shifts in λ_{max} (2-5 nm)
 - controllare l'assorbance degli analiti nella fase mobile
- i solventi per fase mobile hanno cutoff nell'UV
- operando sotto la λ_{cutoff} può:
 - ridurre la sensibilità
 - introdurre rumore sulla linea di base

Rivelatori spettrofotometrici



Il rivelatore UV a lunghezza d'onda variabile è sicuramente quello maggiormente utilizzato in HPLC. La luce UV proveniente dalla lampada a D₂ e scissa nelle sue componenti attraverso un monocromatore a gradini. L'intensità della luce trasmessa è misurata attraverso un fotodiode ed è proporzionale alla concentrazione dell'analita

Rivelatori spettrofotometrici

Caratteristiche:

- Monocromatore a reticolo
- Sorgente continua: lampada a deuterio per la regione UV e lampada al tungsteno-alogeno per la regione del visibile
- Ottiche a doppio raggio
- Elettroniche stabili con bassi livelli di rumore
- Possono essere programmati per selezionare una serie di lunghezze d'onda ottimali per la rivelazione
- Possibilità di registrare uno spettro UV completo relativo ad un picco di soluto a flusso fermo
- Capacità rapida di scansione delle λ per permettere la registrazione di uno spettro completo in una frazione di secondo senza fermare il flusso

Vantaggi:

- Versatilità: possibilità di selezionare lunghezze d'onda da 190 a 800 nm.
- Elevata sensibilità: potendo scegliere la lunghezza d'onda ottimale (max assorbanza) per un analita.
- Selettività: quando si hanno sovrapposizioni di picchi si può variare la λ in modo tale da minimizzare l'assorbimento degli interferenti.
- Possibilità di utilizzare gradiente di eluizione, scegliendo una λ alla quale la miscela solvente non assorbe.

Rivelatori fotometrici e spettrofotometrici

Fotometri

Più sensibili, più economici e più robusti degli spettrofotometri

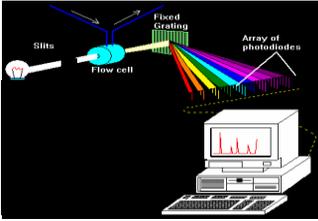
Risultano adatti a lavori di routine qualora sia sufficiente la rivelazione a 254nm o ad altre lunghezze d'onda fisse

Spettrofotometri

Permettono di "accordarsi" rispetto alle lunghezze d'onda più adatte a cui lavorare sia per massimizzare la sensibilità rispetto ad un particolare soluto sia per evitare la risposta di rispetto ad altri.

Con tali strumenti è possibile effettuare misurazioni fino a 190nm, pertanto si possono rivelare composti poco assorbenti o specie saturate.

Rivelatori a serie di diodi



Il rivelatore UV a λ diode array è quello che attualmente viene sempre più utilizzato in HPLC. La luce UV proveniente dalla lampada a D_2 passa attraverso una cella a flusso prima che venga scissa nelle sue componenti attraverso un monocromatore a gradini. L'intensità della luce trasmessa ad ogni λ è misurata simultaneamente attraverso un array di alcune centinaia di fotodiodi. Un pc può processare, registrare e mostrare gli spettri in continuo durante l'analisi. Inoltre si possono registrare i cromatogrammi a ciascuna λ .

Vantaggi e svantaggi

Permette la registrazione in tempo reale di spettri UV o UV/visibile completi per tutti i componenti al momento dell'eluizione dalla colonna

Presenta gli stessi vantaggi in termini di versatilità, sensibilità e selettività del rivelatore a λ variabile.

Formendo anche gli spettri degli analiti, permette di effettuare anche il riconoscimento dei composti analizzati.

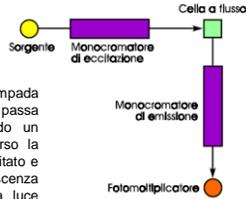
Svantaggio: è più costoso rispetto al rivelatore a λ variabile.

Rivelatore spettrofotometrico IR

- sensibilità tipica: 1 ppm
- applicabilità limitata dall'assorbanza della fase mobile nel range spettrale infrarosso

Rivelatore a fluorescenza

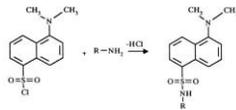
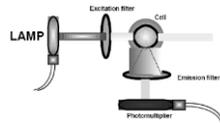
Un composto fluorescente assorbe un fotone (es., transizione elettronica $\pi - \pi^*$) ed emette un altro fotone a lunghezza d'onda maggiore



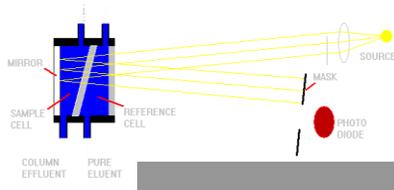
La luce UV proveniente da una lampada (filtrata alla opportuna λ) o da un laser, passa attraverso la cella a flusso. Quando un campione fluorescente passa attraverso la cella, assorbe la radiazione, viene eccitato e quindi emetterà la radiazione di fluorescenza ad una maggiore λ . L'intensità della luce emessa viene misurata attraverso un fotomoltiplicatore posto a 90° rispetto al fascio incidente.

Rivelatore a fluorescenza

- sensibilità 1000 volte superiore rispetto all'assorbimento UV-visibile
- sensibilità tipica: 0.01 ppb
- limitato alla rivelazione di composti fluorescenti, ma è possibile la derivattizzazione
- è un sistema non distruttivo (tranne che con derivattizzazione)

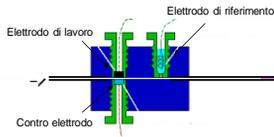


Rivelatore a indice di rifrazione



Il rivelatore a indice di rifrazione misura la differenza nell'indice di rifrazione tra la cella del campione e una cella di riferimento che generalmente contiene soltanto l'eluente. Si utilizza un fascio di luce collimato e filtrato per rimuovere la luce IR che riscalderebbe il campione. Quando l'eluente contenente l'analita entra nella cella del campione, il raggio viene deflesso e inviato al fotodiodo producendo un segnale in uscita differente rispetto a quello prodotto dal solo eluente.

Rivelatore elettrochimico amperometrico



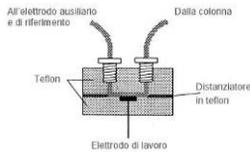
Questo rivelatore permette l'analisi di composti elettroattivi che possono essere cioè ossidati o ridotti. Ad esempio possono essere elettrochimicamente ossidati fenoli, ammine, mercaptani, perossidi, purine e alcuni eterocicli. Mentre possono essere elettrochimicamente ridotti aldeidi, chetoni e nitrocomposti.

Un potenziale costante viene mantenuto tra l'elettrodo di lavoro e l'elettrodo di riferimento e la corrente, prodotta dalla reazione di ossidazione o riduzione dell'analita, è misurata tra l'elettrodo di lavoro e il contro elettrodo ed è proporzionale alla concentrazione di analita nel campione. Per soluti ossidabili si utilizzano elettrodi in Cu o glassy carbon, mentre per specie riducibili si utilizzano in genere elettrodi di Hg.

Poiché sono necessari eluenti conduttivi, questo tipo di rivelatori è utilizzato nelle separazioni a fase inversa impiegando solventi acquosi o polari contenenti elettroliti disciolti, generalmente dei tamponi.

Rivelatore elettrochimico amperometrico

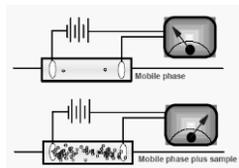
- basata sulla misura della corrente risultante da un'elettrolisi (ossidazione o riduzione) di molecole di analita alla superficie di un elettrodo
- il più sensibile tra i rivelatori per LC (fino a femtomoli per alcune applicazioni => dopamina)
- utilizzabile per tutte le sostanze elettroattive nel range di potenziale dell'elettrodo di lavoro impiegato



- possibile avvelenamento degli elettrodi
- utilizzo non semplice
- è un sistema parzialmente distruttivo

Rivelatore elettrochimico: conducimetria

- basato sulla misura della corrente elettrica trasportata da ioni disciolti in un campo elettrico
- utile per sostanze ioniche o ionizzabili
- rivelatore più comune in cromatografia ionica
- sensibilità inferiore rispetto al rivelatore amperometrico
- utilizzo molto semplice
- è un sistema non distruttivo



I rivelatori più comuni sono a ionizzazione di fiamma, a conducibilità termica, termionici e quelli a spettrometria di Massa!

Table 20.2

Detector	Application	Sensitivity Range	Linearity	Remarks
	General, responds to all substances	Fair, 5-100 ng, 10 ppm-100%	Good, except thermistors at higher temperatures	Sensitive to temperature and flow changes; concentration sensitive
	All organic substances; some oxygenated products respond poorly. Good for hydrocarbons	Very good, 10-100 pg, 10 ppb-99%	Excellent, up to 10 ⁶	Requires very stable gas flow; response for water is 10 ³ -10 ⁴ times weaker than for hydrocarbons; mass-sensitive
Flame photometric	Sulfur compounds (305 nm), phosphorus compounds (526 nm)	Very good, 10 pg S, 1 pg P	Excellent	
Flame thermionic	All nitrogen- and phosphorus-containing substances	Excellent, 0.1-10 pg, 100 ppt-0.1%	Excellent	Needs recasting of sodium salts on screen; mass sensitive
Rubidium silicate	Specific for nitrogen- and phosphorus-containing substances	Excellent	Excellent	Mass sensitive
Neel	All organic substances; with ultrapure He carrier gas, also for inorganic and permanent gases	Very good, 0.1-100 ng, 0.1-100 ppm	Good	Very sensitive to impurities and water; needs very pure carrier gas; concentration sensitive
Argon ionization (β-ray)	All organic substances; with ultrapure He carrier gas, also for inorganic and permanent gases	Very good, 0.1-100 ng, 0.1-100 ppm	Good	Very sensitive to impurities and water; needs very pure carrier gas; concentration sensitive
Electron capture	All substances that have affinity to capture electrons; no response for aliphatic and alicyclic hydrocarbons	Excellent for halogen-containing substance, 0.05-1 pg, 50 ppt-1 ppm	Poor	Very sensitive to impurities and temperature changes; quantitative analysis complicated; concentration sensitive
Mass spectrometry	Nearly all substances. Depends on ionization method	Excellent	Excellent	Can provide structural and molecular weight information



Le condizioni cromatografiche rappresentano sempre un compromesso tra tempo di analisi, risoluzione e sensibilità

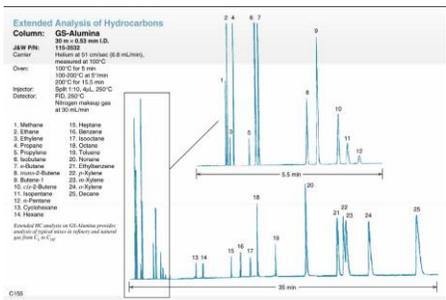


Fig. 20.6. Analisi con temperatura programmata

L'uso di standard interni è comune in GC. Questi migliorano l'analisi minimizzando variazioni tra diversi strumenti, nella preparazione dei campioni e nella iniezione del campione. Per calcolare la concentrazione delle specie si usa il rapporto tra i picchi analita/standard interno.

Peak	Area	Height	Width	Retention Time	Concentration
1	10000	100	1.0	1.0	1.0
2	20000	200	1.0	2.0	2.0
3	30000	300	1.0	3.0	3.0
4	40000	400	1.0	4.0	4.0
5	50000	500	1.0	5.0	5.0
6	60000	600	1.0	6.0	6.0
7	70000	700	1.0	7.0	7.0
8	80000	800	1.0	8.0	8.0
9	90000	900	1.0	9.0	9.0
10	100000	1000	1.0	10.0	10.0
11	110000	1100	1.0	11.0	11.0
12	120000	1200	1.0	12.0	12.0
13	130000	1300	1.0	13.0	13.0
14	140000	1400	1.0	14.0	14.0
15	150000	1500	1.0	15.0	15.0
16	160000	1600	1.0	16.0	16.0
17	170000	1700	1.0	17.0	17.0
18	180000	1800	1.0	18.0	18.0
19	190000	1900	1.0	19.0	19.0
20	200000	2000	1.0	20.0	20.0
21	210000	2100	1.0	21.0	21.0
22	220000	2200	1.0	22.0	22.0
23	230000	2300	1.0	23.0	23.0
24	240000	2400	1.0	24.0	24.0
25	250000	2500	1.0	25.0	25.0



autocampionatore

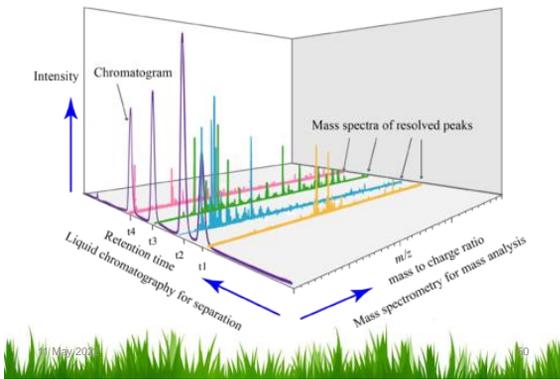


Strumento GC-MS da banco



La sorgente di ionizzazione converte molecole neutre in ioni che vengono separate secondo il loro rapporto m/z. Ogni molecola si frammenta (carica) in ioni caratteristici in base alla sorgente.

CROMATOGRAMMA HPLC (o GC



May 2003

Le sorgenti a impatto elettronico sono ad elevata energia e frammentano le molecole in modo così intenso che a volte manca lo ione molecolare. Da informazioni sulla struttura della molecola.
Le sorgenti a ionizzazione chimica sono a energia inferiore, lo ione molecolare è sempre dominante.

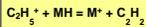
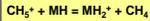
Table 20.3

Comparison of Ionization Methods*

Ionization Method	Typical Analytes	Sample Introduction	Mass Range	Method Highlights
Electron impact (EI)	Relatively small volatile	GC or liquid-solid probe	To 1000 daltons	Hard method. Versatile, provides structure information
Chemical ionization (CI)	Relatively small, volatile	GC or liquid-solid probe	To 1000 daltons	Soft method. Molecular ion peak [M + H] ⁺
Electrospray (ESI)	Peptides, proteins, nonvolatile	Liquid chromatography or syringe	To 200,000 daltons	Soft method, ions often multiply charged
Matrix-assisted laser desorption (MALDI)	Peptides, proteins, nucleotides	Sample mixed in solid matrix	To 500,000 daltons	Soft method, very high mass

*From Web page of Professor Vicki Wysocki, University of Arizona. Reproduced by permission.

Nella ionizzazione chimica un gas reagisce con l'analita attraverso trasferimento di protoni o idruri e da una frammentazione limitata, lo ione molecolare è sempre dominante. Ad esempio il metano produce CH_5^+ e C_2H_5^+ che reagisce così:



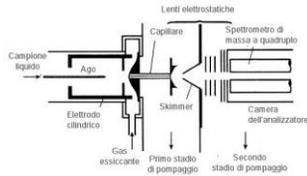
La frammentazione da luogo a ioni M-H o M+H

Table 20.5

Chemical Ionization Characteristics of Different CI Reagents

Reagent	Adducts Produced	Uses/Limitations
Methane	M-H^+ , M-CH_3^+	Most organic compounds. Adducts not always abundant. Extreme fragmentation.
Isobutane	M-H^+ , $\text{M-C}_4\text{H}_9^+$	Less universal. Adducts more abundant. Some fragmentation.
Ammonia	M-H^+ (basic compounds) M-NH_4^+ (polar compounds)	Polar and basic compounds. Others not ionized. Virtually no fragmentation.

Rivelatore a spettrometria di massa



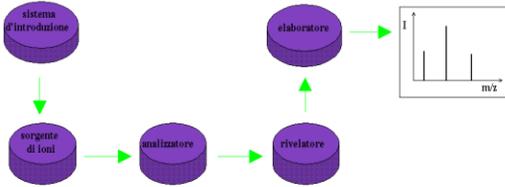
- il detector finale: sensibile, selettivo e universale, può permettere la caratterizzazione chimica del campione
- possibilità di discriminare analiti coeluiti in modalità SIM

- sensibilità tipica: 0.1 ppb
- limitato dall'interfaccia e dalla necessità di rimuovere il solvente dal campione
- gli analiti devono essere ionizzabili

Rivelatore a spettrometria di massa

La spettrometria di massa è una tecnica analitica in grado di ionizzare atomi e/o molecole e quindi di separarli e rivelarli come ioni gassosi in base al rapporto massa/carica (m/z). Il suo impiego consente di identificare composti incogniti (organici, inorganici e biomolecole), di ottenere informazioni strutturali e, mediante l'accoppiamento con altre tecniche analitiche quali la gascromatografia e la cromatografia liquida, di effettuare un'analisi quantitativa di analiti in miscele complesse. La spettrometria di massa si basa sulla ionizzazione di una molecola per assorbimento di energia (elettrica, termica, meccanica ed elettromagnetica).

Diagramma a blocchi di un generico spettrometro di massa.



Il campione, immesso nello spettrometro dal dispositivo d'introduzione viene ionizzato nella sorgente dando luogo ad un fascio di ioni positivi o negativi che vengono separati dall'analizzatore di massa in funzione al rapporto m/z e rivelati da un detector che trasforma il fascio ionico in un segnale elettrico; quest'ultimo viene registrato ed elaborato da un computer in uno spettro di massa

Gli analizzatori

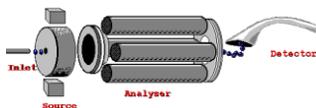
Negli spettrometri di massa la funzione degli analizzatori è quella di separare gli ioni in base al rapporto carica/massa.

Sulla base della dipendenza dal tempo di uno o più parametri del sistema analizzatore sono stati suddivisi in due gruppi:

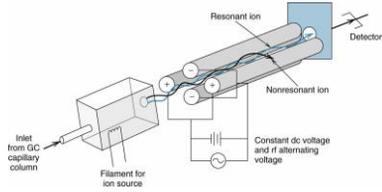
1. **analizzatori statici:**
 - *settori magnetici* a semplice o doppia focalizzazione; (originariamente i campi elettrici e magnetici venivano mantenuti costanti rispetto al tempo). Sono noti anche come analizzatori di quantità di moto.
2. **analizzatori dinamici:** a loro volta possono essere suddivisi in diversi sottogruppi:
 - analizzatori a stabilità di percorso (*quadrupolo*)
 - analizzatori a tempo di volo (*TOF=Time Of Flight*)
 - analizzatori a trappola ionica (ion trap e FT-ICR= Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance)

Caratteristiche del quadrupolo

- semplicità e la compattezza
- elevata velocità di scansione
- elevata sensibilità
- sufficiente risoluzione
- possibilità di effettuare rapide inversioni di polarità degli elettrodi



Analizzatore più utilizzato per GC-MS.
 Una differenza di potenziale (U) diretta e una differenza di potenziale oscillante a radiofrequenze ($V \cos \omega t$) vengono applicate alle 4 barre parallele. (ω = frequenza, t = tempo).
 Due poli sono positivi ($U + V \cos \omega t$) e due negativi [$-(U + V \cos \omega t)$]. Il potenziale applicato determina la traiettoria degli ioni. Solo quelli con rapporto m/z particolare raggiungono il rivelatore.



spettrometro di massa a quadrupolo.

I picchi vengono normalizzati assegnando il valore massimo al picco più frequente (picco base).
 Nell'esempio il picco base corrisponde a CH_3OH^+ ($m/z = 31$), $m/z = 32$ è il picco molecolare e c'è un piccolo picco a $m/z=33$ corrispondente allo ione molecolare per l'isotopo ^{13}C (abbondanza relativa = 1.1%).
 Le tabelle di abbondanza relativa sono usate per assegnare i vari picchi

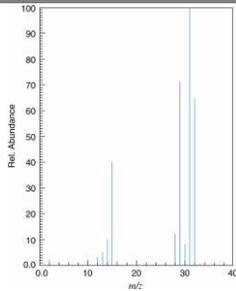


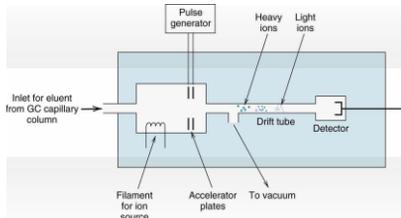
Table 20.4
 Relative Abundances and Exact Masses of Some Common Elements.*

Element	Isotope	Mass	Relative Abundance (%)
Hydrogen	^1H	1.007825	100.0
	^2H	2.014102	0.015
Carbon	^{12}C	12.000000	100.0
	^{13}C	13.003355	1.07
Nitrogen	^{14}N	14.003074	100.0
	^{15}N	15.000109	0.369
Oxygen	^{16}O	15.994915	100.0
	^{17}O	16.999132	0.038
Sulfur	^{32}S	31.972071	100.0
	^{34}S	33.967867	4.522
Chlorine	^{35}Cl	34.968852	100.0
	^{37}Cl	36.965903	31.96
Bromine	^{79}Br	78.918338	100.0
	^{81}Br	80.916291	97.28

*The most abundant isotope is assigned an abundance of 100%, and the others are listed relative to it.

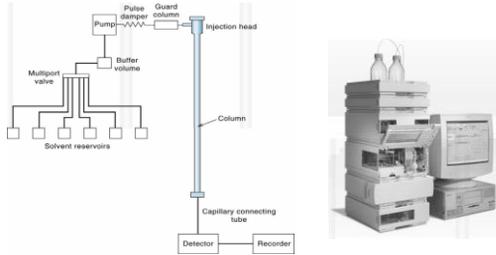
Spettro di massa EI del metanolo

L'analizzatore a tempo di volo (TOF) è adatto per molecole grandi, gli ioni vengono accelerati ed entrano nel tubo con energia cinetica identica.
 Ioni con m/z diversi raggiungono il rivelatore a tempi differenti.



Spettrometro di massa a tempo di volo

Componenti per cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC)



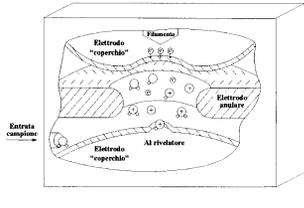
Vengono usate colonne impaccate con piccole particelle, in grado di operare a pressioni 1000-3000 psi
 I contenitori per i solventi possono contenere solventi a diversa polarità per effettuare eluizioni in gradiente
 Una pre-colonna è presente per trattenere composti ad elevato adsorbimento che non sarebbero eluiti e materiale particolato.
 I rivelatori classici sono ad indici di rifrazione, UV, DAD, a fluorescenza e voltammetrici o MS

Analizzatori a trappola ionica

Una trappola ionica è un dispositivo in cui ioni gassosi possono essere trattenuti nel suo interno per prolungati periodi di tempo mediante l'applicazione di campi elettrici e/o magnetici.

- Sono state studiate diversi tipi di trappole, ma quelle più comuni sono due:
1. trappola ionica quadrupolare (più semplice)
 2. trappola ionica a risonanza di ciclotrone (più complessa)

E' simile al quadrupolo, ma in esso il filtro a quadrupolo e' sferico e trattiene tutti gli ioni che vengono rilasciati progressivamente verso il rivelatore variando il campo elettrico.





Journal of Chromatography A, 799 (1998) 81-101

JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A

Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection

Lilla Jantzen^a, Pia Knudsen, Torben Leth
 Danish Veterinary and Food Administration, Møgelkøjevej 59, DK-2800 Solrød, Denmark
 Received 23 July 1997; received in revised form 7 October 1997; accepted 17 October 1997

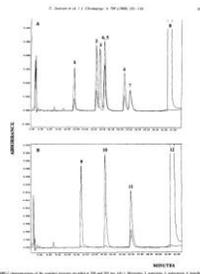
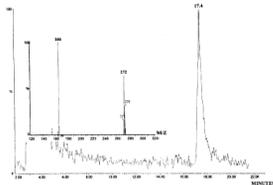


Fig. 3. HPLC-MS analysis of a hydrolyzed orange sample. Ion chromatogram of m/z 317 and mass spectrum at m/z 314 are identified as compared to compound with chemical structure.
