

CHIMICA ANALITICA II

CON LABORATORIO

(AA 2021-22)

8 C.F.U. - Laurea triennale in Chimica

❖ **TID (Thermo-Ionic Detector) o NPD (Nitrogen-Phosphorus Detector)**

Il rivelatore termoionico, comunemente indicato con le sigle TDI o TSD (dall'inglese *thermionic ionization detector* o *thermionic specific detector*) è un rivelatore specifico per composti dell'azoto, del fosforo e pochi altri usato in gascromatografia. È anche chiamato rivelatore azoto-fosforo, NPD (dall'inglese *nitrogen phosphorus detector*).

Il rivelatore termoionico sfrutta una parziale pirolisi attuata tramite bruciatore a fiamma idrogeno/aria. Viene misurata la corrente prodotta dai radicali CN• e PO•, derivanti da composti contenenti azoto e fosforo, che formano ioni CN- e PO- acquisendo elettroni da una sferetta di metallo alcalino (come il rubidio) che costituisce un catodo posto superiormente alla fiamma stessa.

Utilizza l'energia termica per ionizzare un analita ;

- *Con questo metodo, **azoto** e **fosforo** possono essere selettivamente rilevati con una sensibilità che è 10^4 volte maggiore di quella per il carbonio;*
- *Viene utilizzata una concentrazione di gas di idrogeno appena al di sotto del minimo richiesto per l'accensione;*
- *Una sferetta di rubidio o cesio, è montato sull'ugello, infiamma l'idrogeno (agendo cataliticamente) e forma un plasma freddo;*
- *L'eccitazione dei metalli alcalini produce l'emissione di elettroni, che vengono rilevati come una corrente tra un anodo e catodo nella camera.*
- *All'uscita di azoto o fosforo dalla colonna si ha una variazione della corrente.*

Bibliografia

Douglas A. Skoog, James J. Leary, Chimica analitica strumentale, Napoli, EdiSES, 1995, ISBN 88-7959-066-9

https://www.sri-instruments-europe.com/en/products/gc_detectors/tid.php

<https://srigc.com/cn/downloads/53/ThermionicDetectors0001.pdf>

https://en.wikipedia.org/wiki/Nitrogen%E2%80%93phosphorus_detector

CROMATOGRAFIA LIQUIDA

➤ Tecniche

tecnica	meccanismo principale di separazione	
<i>cromatografia di adsorbimento</i>	adsorbimento	<i>NPLC = Normal Phase LC; RPLC = Reverse Phase LC; IEC = Ion Exchange Chromatography; SEC = Size Exclusion Chromatography</i>
<i>cromatografia in fase normale, NPLC</i>	partizione/adsorbimento	
<i>cromatografia in fase inversa, RPLC</i>	partizione	
<i>cromatografia di scambio ionico, IEC</i>	ionico	
<i>cromatografia di esclusione dimensionale, SEC</i>	esclusione dimensionale	

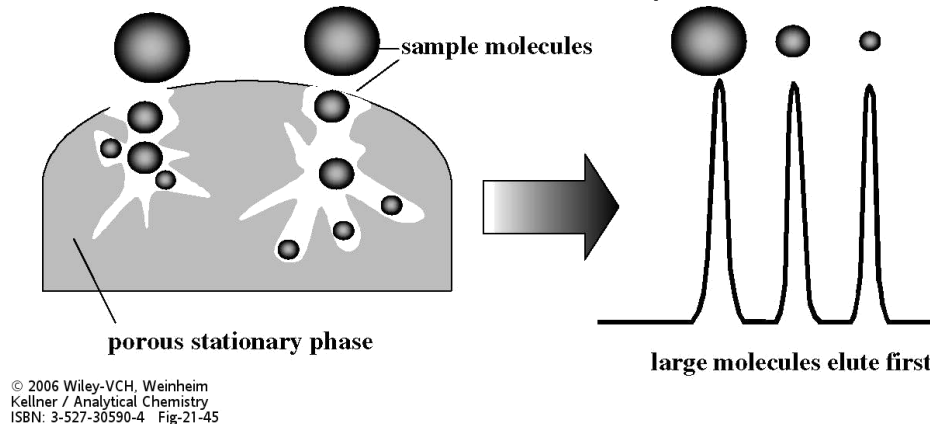
- ✓ La prima tecnica utilizzata è stata basata sull' adsorbimento, LSC (Liquid Solid Chrom.). La f.s. è un solido adsorbente di materiale polare (silice o allumina), l'eluente (o f.m.) è un solvente non polare. Serve a separare composti, isomeri o classi di composti non polari (es. idrocarburi alifatici o alcol alifatici);
- ✓ In **NPLC** e **RPLC** (che sono LLC – Liquid-Liquid Chrom.) si usano fasi stazionarie chimicamente legate ad un supporto solido e queste cromatografie si chiamano “a fasi legate” (bonded-phase chromatography), i principi della partizione sono importanti per queste tecniche;
- ✓ Oggigiorno la LC più diffusa è la RPLC in cui la fase stazionaria è meno polare del solvente (al contrario di **NPLC**), la separazione dell'analita è basata prevalentemente sulla partizione di esso tra le due fasi;
- ✓ In **IEC** (e anche in cromatografia ionica - IC, che ne è la sua moderna evoluzione ad alte prestazioni) la fase stazionaria è un supporto solido carico (positivamente o negativamente) e l'eluente è di solito una soluzione tampone;
- ✓ In **SEC** la fase stazionaria è un materiale solido poroso, con porosità finemente controllata, che non trattiene molecole grandi, le quali vengono eluite velocemente rispetto a molecole piccole che vengono trattenute negli interstizi del materiale poroso (effetto setaccio molecolare);
- ✓ Come regola raramente i meccanismi di separazione agiscono in modo isolato, ma piuttosto simultaneamente, pur con grado diverso.
- ✓ **La scelta della tecnica dipende dalla matrice del campione e dalle componenti da separare:**
 - per molecole con MM <2000 g/mol, insolubili in acqua, struttura aromatica o alifatica, NPLC o RPLC;
 - per molecole idrofile o cariche vanno bene RPLC e IEC;
 - SEC per molecole MM >2000 g/mol

Cromatografia ad esclusione dimensionale

Nella **Cromatografia ad Esclusione Dimensionale (SEC – Size Exclusion Chromatography)** la separazione delle molecole si basa sulle loro diverse dimensioni.

Tutte le molecole al di sopra di una particolare dimensione sono escluse dal gel di silice (<https://www.britannica.com/science/silica-gel>) o sferette di polimero poroso (dextran (Sephadex), agarose (Sephacrose), or polyacrylamide (Sephacryl or BioGel P)) con dimensioni di poro definite.

Molecole con MM inferiore al limite di esclusione del materiale di impaccamento sono trattenute.



- Non ci deve essere alcun tipo di interazione chimica degli analiti con la f.s.;
- La partizione delle molecole tra f.m. e f.s. si basa sulle dimensioni e in parte su forma e polarità delle molecole;
- Gli eluenti possono essere acquosi (si parla allora di *gel filtration*) o solventi organici (*gel permeation*);
- Si impiega per separare molecole di grandi dimensioni e MM, come proteine e polimeri.

➤ **Meccanismo**

- ✓ La f.s. ha pori di diverse dimensioni.
- ✓ Si possono differenziare **due estremi** nell'interazione delle molecole con la f.s. porosa:
 - a) Quelle molecole che sono *troppo grandi* per diffondere in qualsiasi poro non sono trattene affatto e quindi sono escluse dalla f.s.. Sono eluite con la f.m. e sono i primi costituenti a uscire (**esclusione totale**).
 - b) Gli analiti più piccoli possono diffondere in tutti i pori, e vengono trattiene di più (**permeazione totale**).Analiti di dimensioni intermedie possono permeare solo in alcuni dei pori, ed hanno comportamento intermedio

Si usano i **volumi di ritenzione** per descrivere la ritenzione nella SEC (dipende dal tempo di ritenzione, deducibile da cromatogramma, e dal flusso della f.m. ($V_R = F \times t_R$)).

Il **volume totale** per una colonna impaccata con gel di silice o polimero porosi si può esprimere come:

$$V_{total} = V_0 + V_p + V_{gel}$$

V_0 = il volume morto

V_p = il volume dei pori.

In gel-cromatografia il volume vuoto (V_0) corrisponde al volume teorico per il trasporto delle molecole totalmente escluse.

Il volume a disposizione di molecole che si possono muovere liberamente è $V_0 + V_p$ (volume di ritenzione massimo).

segue →

Il **volume di eluizione** V_E di una molecola che rimane per un certo tempo nella f.s. dipende da V_0 e da una frazione K (compresa tra 0 e 1) del volume dei pori:

$$V_E = V_0 + KV_p$$

$K = 0$, molecole completamente escluse

$K = 1$, molecole che possono permeare completamente nei pori

Un'esclusione parziale delle molecole fornisce K compresi tra 0 e 1

Questo approccio semplice vale solo se non c'è adsorbimento o interazioni tra analiti e superficie del gel.

Se ci sono **interazioni** si possono avere anche V_R corrispondenti a K maggiori di 1 (perchè le molecole che entrano nei pori vengono trattenute anche da "forze" chimiche).

Un riarrangiamento $V_E = V_0 + KV_p$ porta a scrivere il coefficiente di partizione K in modo più usuale

$$K = \frac{V_E - V_0}{V_p} = \frac{c_S}{c_M}$$

Si possono così estendere i fondamenti teorici della teoria cromatografica alla SEC.

Il coefficiente di partizione è un parametro essenziale per comparare vari materiali di impaccamento.

➤ **Fasi stazionarie**

- ✓ Devono essere **chimicamente inerti e meccanicamente stabili** e la distribuzione dei pori dev'essere stretta;
- ✓ La maggior parte dei materiali assorbenti è costituita da polimeri macromolecolari cross linked;
- ✓ Particelle rigide di vetro o silice possono esser anche impiegate;
- ✓ Le dimensioni delle particelle sono nell'intervallo 5-10 μm ;
- ✓ Le dimensioni dei pori variano tra i 40 e i 2500 Ångstrom;
- ✓ Effetti di adsorbimento sono un possibile svantaggio, per cui si disattiva la superficie mediante silanizzazione in caso di utilizzo di silice o vetro.

➤ **Fasi mobili**

- ✓ La scelta dipende dalla f.s. e dalla solubilità del campione.
- ✓ **Filtrazione su gel**: solventi acquosi con pH tamponato;
- ✓ **Permeazione su gel**: solventi organici non polari: tetraidrofurano, diclorometano, (toluene);
- ✓ **Si usa solo eluizione isocratica**;
- ✓ A volte si aggiungono sali inorganici per evitare interazioni ioniche tra gli analiti e la f.s..
- ✓ Nell'analisi di proteine si aggiungono modificatori organici (es. glicoli) per evitare interazioni idrofobiche con la f.s.
- ✓ La capacità delle colonne per SEC è bassa (<2% del volume totale della colonna);
- ✓ Per una **buona risoluzione** della colonna servono **flussi bassi**.

➤ **Rivelatori**

- Devono dare una risposta proporzionale alla concentrazione es. rifrattometri differenziali, detectors fotometrici nell'UV o IR;
- Un detector dedicato è il **viscosimetro a flusso** (misura la viscosità dell'eluente).

➤ **Applicazioni**

- Molecole con MM > 2000 dalton;
- La **filtrazione su gel** si usa per separare sostanze naturali ad alto peso molecolare da specie a basso peso molecolare o sali. Es. proteine separate da amminoacidi e peptidi;
- La **permeazione su gel** per separare omologhi e oligomeri (es. acidi grassi tra 100 e 350 dalton, f.s. con limite di esclusione 1000);
- Si possono impiegare per valutare masse molecolari o distribuzioni di masse molecolari (es. di polimeri sintetici);
- Le separazioni basate sulle dimensioni molecolari sono efficaci per MM con differenze di almeno il 10%.

A horizontal rectangular bar with a rainbow gradient background, transitioning from blue on the left to red on the right.

CROMATOGRAFIA MULTIDIMENSIONALE

Analisi qualitativa in cromatografia

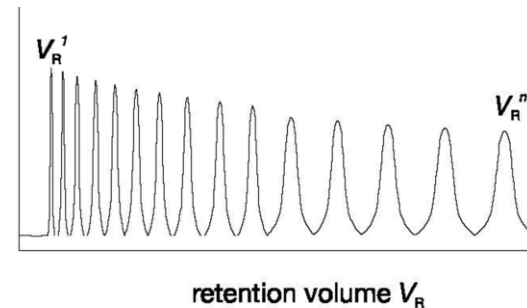
- I metodi cromatografici sono impiegabili per analisi **qualitative, quantitative** o **per scopi preparativi**.
- **L'informazione qualitativa:**
 - ✓ nei **cromatogrammi interni** risiede nella posizione della sostanza sulla f.s. (es. in TLC);
 - ✓ nei **cromatogrammi esterni** risiede nel valore del volume o tempo di ritenzione delle diverse sostanze. Sebbene la riproducibilità del tempo o del volume di ritenzione sia minore della precisione delle lunghezze d'onda in spettroscopia, comparando i dati di ritenzione con quelli di sostanze standard, può essere stabilita la presenza o assenza di una sostanza nel campione.
- **Per identificare inequivocabilmente** una sostanza si può accoppiare la separazione cromatografica con un opportuno rivelatore posto alla fine della colonna, (es. UV per HPLC, MS per GC).
- Nelle analisi qualitative di una miscela multicomponente, si deve ricordare che la **“capacità di picchi”** di una colonna è limitata. La capacità di picchi riflette il **numero di picchi che possono essere risolti** in una sequenza di picchi in un intervallo definito.
- Secondo J. Calvin Giddings (Unified Separation Science - Wiley 1991) in cromatografia di eluizione, la capacità di picco n è approssimativamente calcolabile come:

$$n = 1 + \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \ln \frac{V_R^{(n)}}{V_R^{(1)}}$$

$$n = 1 + \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \ln \frac{t_R^{(n)}}{t_R^{(1)}}$$

Capacità di picchi n tipiche per numeri definiti di N, in GC, LC e cromatografia su gel, secondo Giddings			
Capacità di picchi n			
Numero di piatti teorici N	Gel	GC	LC
100	3	11	7
400	5	21	13
1000	7	33	20
2500	11	51	31
10000	21	101	61

detector signal



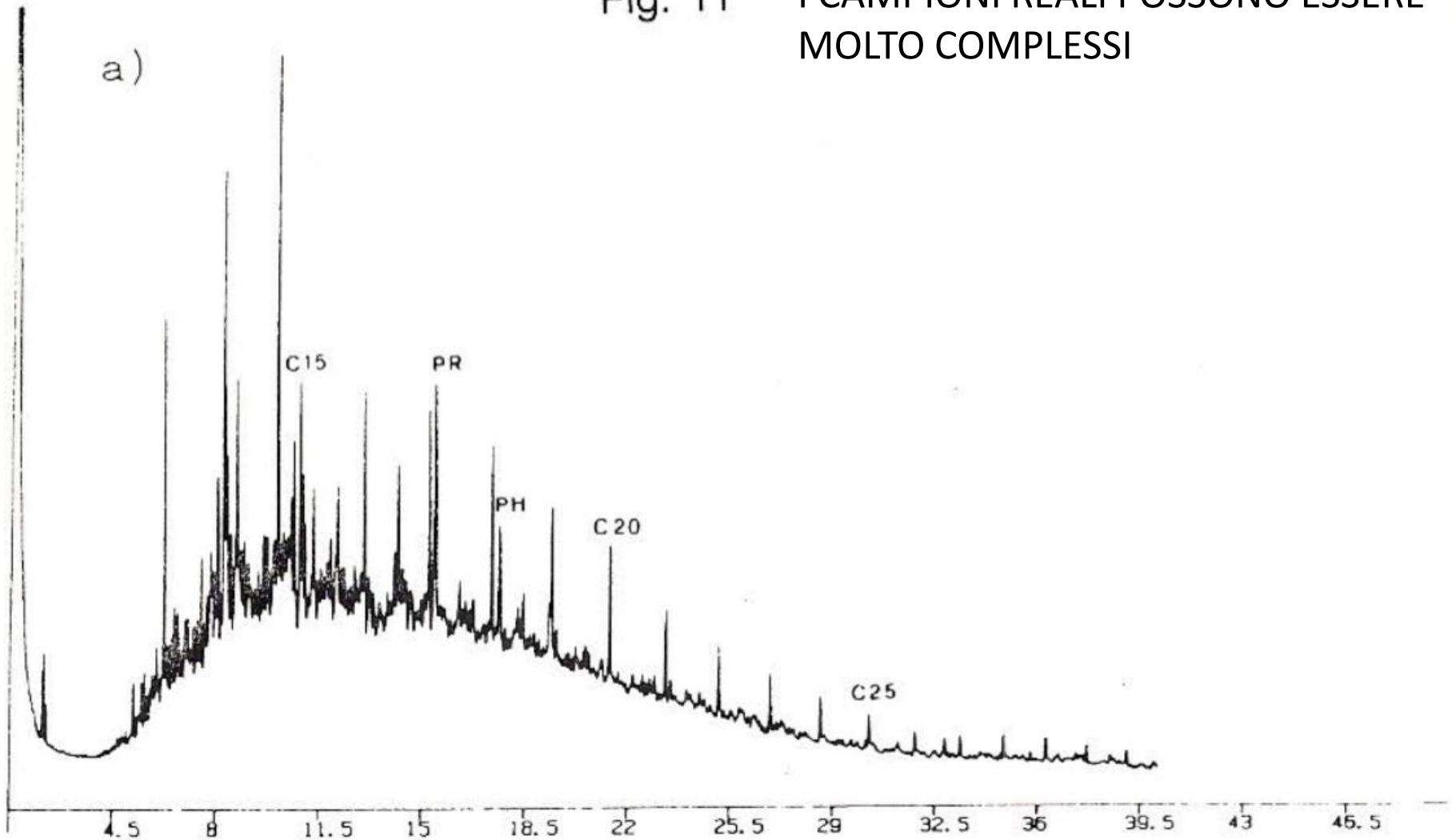
© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig.21-08

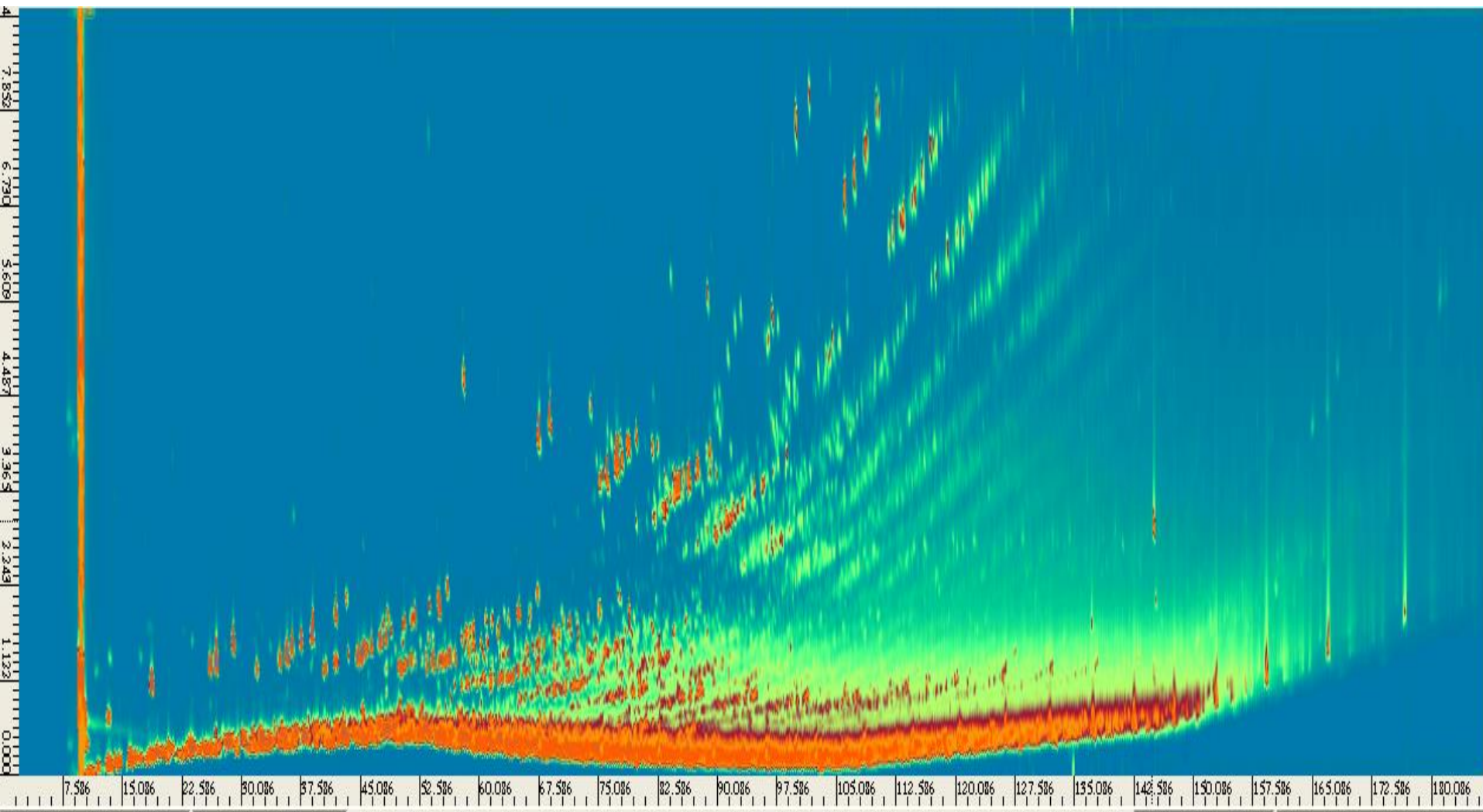
retention volume V_R

- Se il numero di costituenti il campione eccede la capacità di picchi, allora si ha sovrapposizione dei picchi sotto i quali due o più costituenti eluiscono insieme.

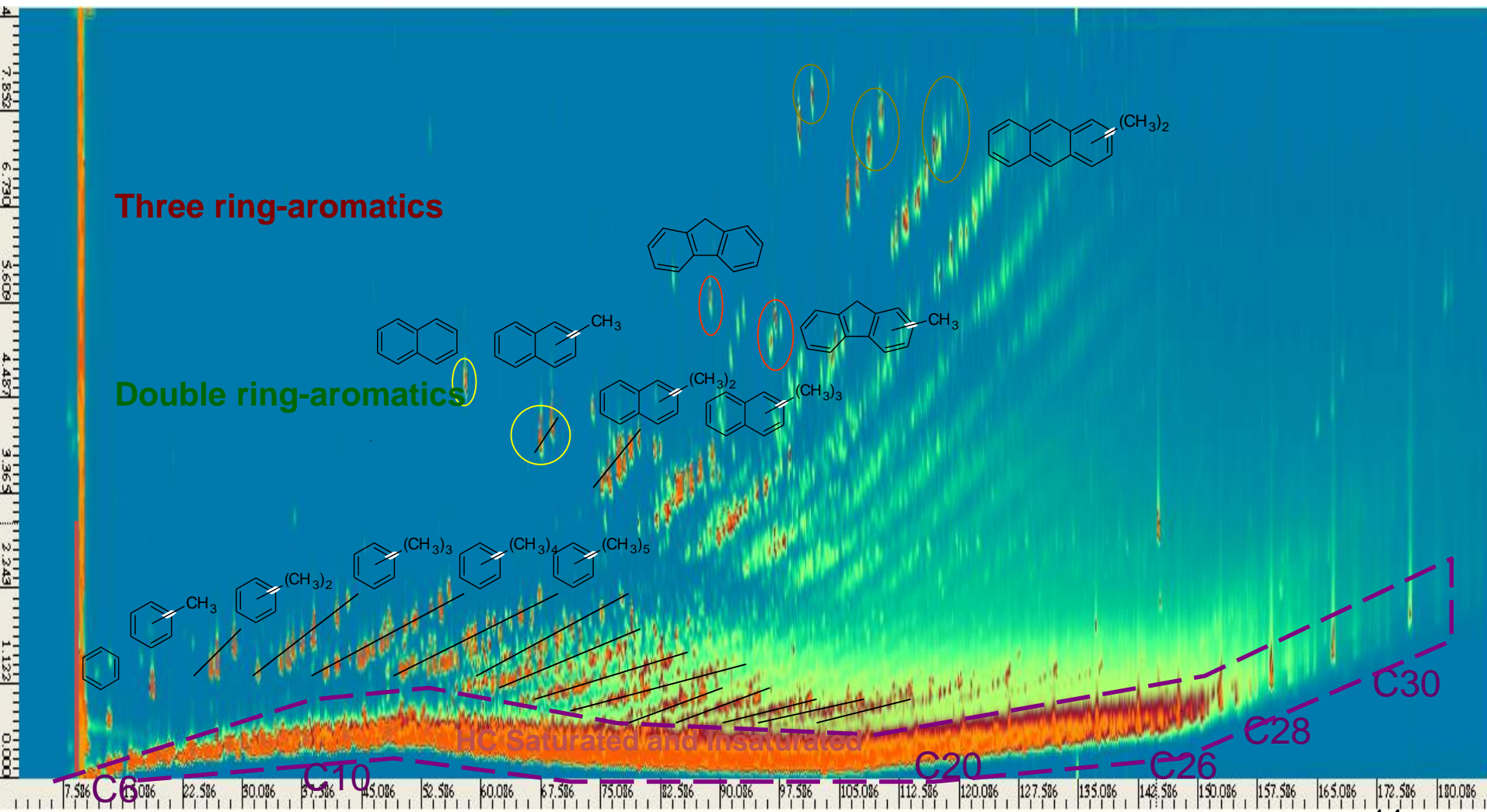
Fig. 11

I CAMPIONI REALI POSSONO ESSERE
MOLTO COMPLESSI





Idrocarburi Aromatici in Greggio leggero



Untargeted Comprehensive Two-Dimensional Liquid Chromatography Coupled with High-Resolution Mass Spectrometry Analysis of Rice Metabolome Using Multivariate Curve Resolution

Meritxell Navarro-Reig^{†‡}, Joaquim Jaumot[†], Anna Baglai[‡], Gabriel Vivó-Truyols[‡], Peter J. Schoenmakers[‡], and Romà Tauler[†] 

[†] Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Spain

[‡] Van't Hoff Institute for Molecular Science, University of Amsterdam, 1090 XH Amsterdam, The Netherlands


Anal. Chem., 2017, 89 (14), pp 7675–7683

DOI: 10.1021/acs.analchem.7b01648

Publication Date (Web): June 23, 2017

Copyright © 2017 American Chemical Society

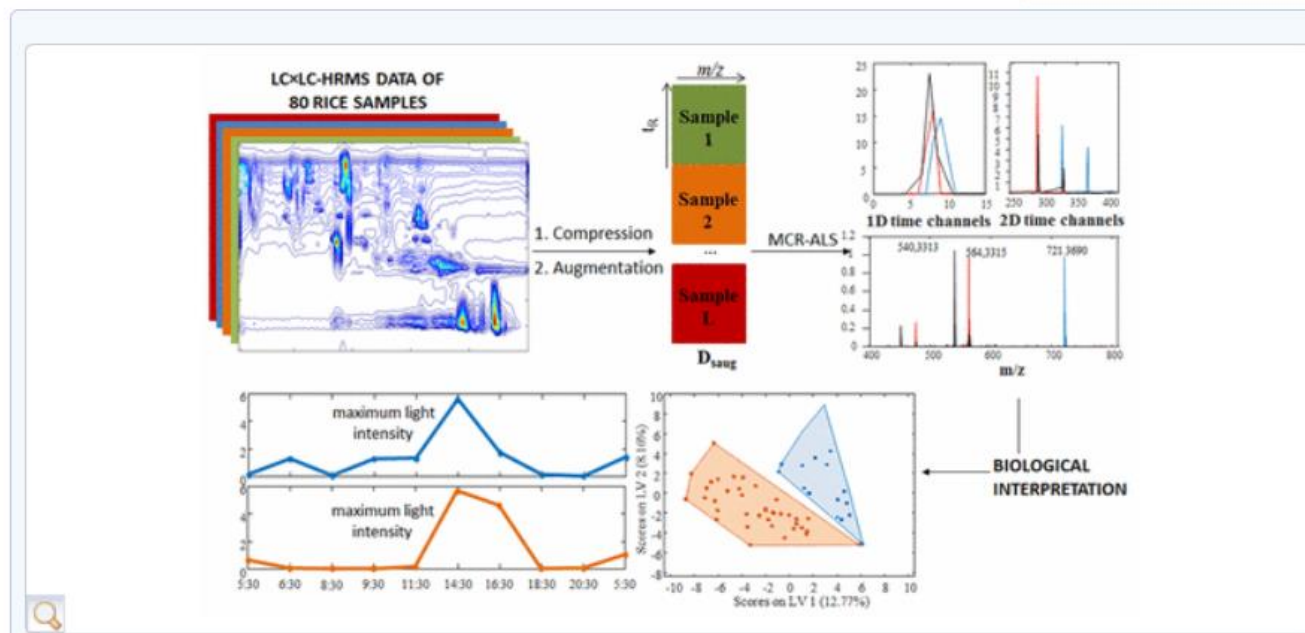
*Phone: +34934006140. E-mail: Roma.Tauler@idaea.csic.es.

 Cite this: *Anal. Chem.* 2017, 89, 14, 7675-7683

 RIS Citation 

Abstract

Jump to a section 



<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.analchem.7b01648?src=recsys>

INTRODUZIONE

- I campioni possono essere **tanto complessi** (contenere molti analiti anche chimicamente simili) che una singola separazione cromatografica non ha sufficiente efficienza separativa (capacità di picchi).
- In questo caso si può usare una **integrazione di più di una tecnica di separazione**, cioè si impiega una tecnica **multidimensionale**;
- Nelle **tecniche cromatografiche multidimensionali** si accoppiano assieme due o più meccanismi o sistemi di separazione;
- Un metodo è considerato multidimensionale quando i **meccanismi di separazione nelle diverse dimensioni sono diversi e quando gli analiti che erano separati in una dimensione rimangono separati nelle altre.**
- **Metodi più comuni:** TLC multidimensionale, LC-LC, LC-GC, GC-GC., GCxGC

VANTAGGI:

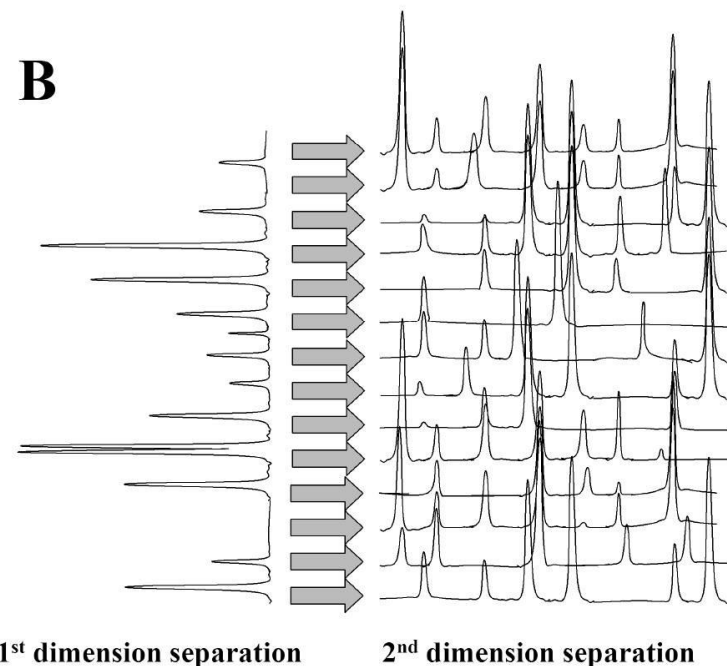
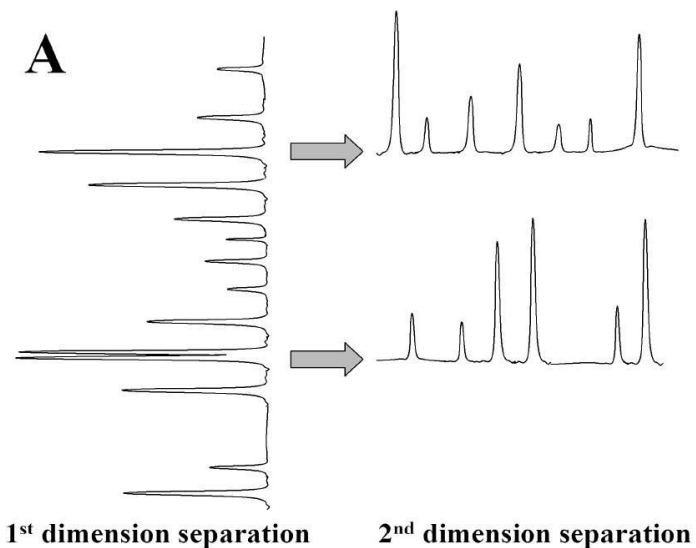
- 1) *Analisi veloce e basso consumo di solvente;*
- 2) *Parte della preparazione del campione viene ricompresa direttamente nell'analisi (lavorando in un sistema chiuso e automatizzato) dove*
- 3) *il rischio di perdita di campione e di contaminazione dello stesso è minimizzato* (ripetibilità e riproducibilità).

➤ **Tipi di tecniche multidimensionali**

Ci sono due possibili approcci all'analisi multidimensionale:

✓ **Tecnica “Heartcut”**: in cui solo una o poche frazioni della prima separazione sono raccolte e trasferite alla seconda dimensione di separazione. Si usa se interessano solo alcune componenti del campione (es. analisi di farmaci/droghe in un campione biologico);

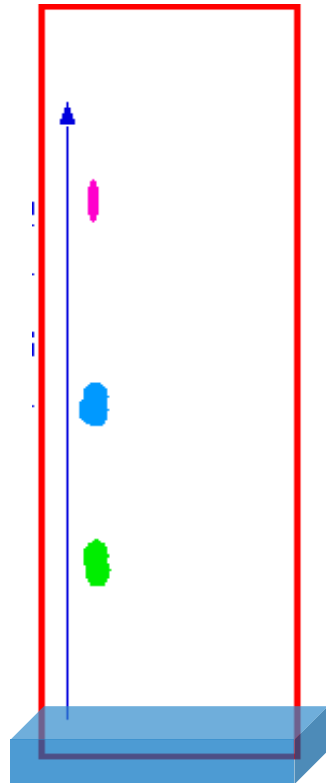
✓ **Tecnica “Comprehensive”**: in cui tutto il campione viene separato in tutte le dimensioni. Si usa se è necessario avere una informazione globale sul campione (composizione di un petrolio greggio o di un combustibile).



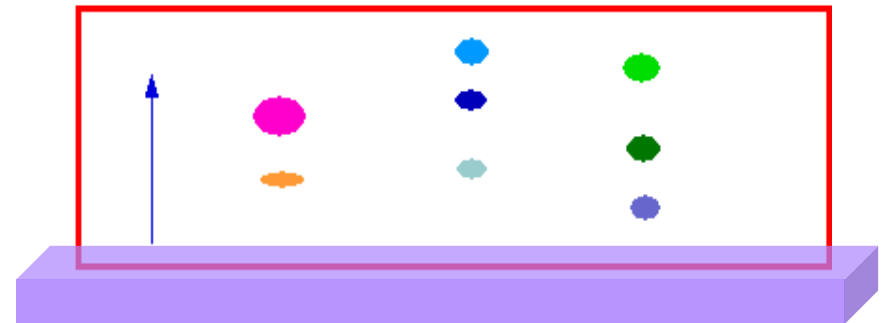
© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-54

➤ **MTLC (TLC multidimensionale)**

Consiste nello sviluppo della TLC lungo due dimensioni perpendicolari utilizzando differenti fasi mobili per ogni fase, è una **Tecnica "Comprehensive"**.



Fase 1:
sviluppo con eluente1



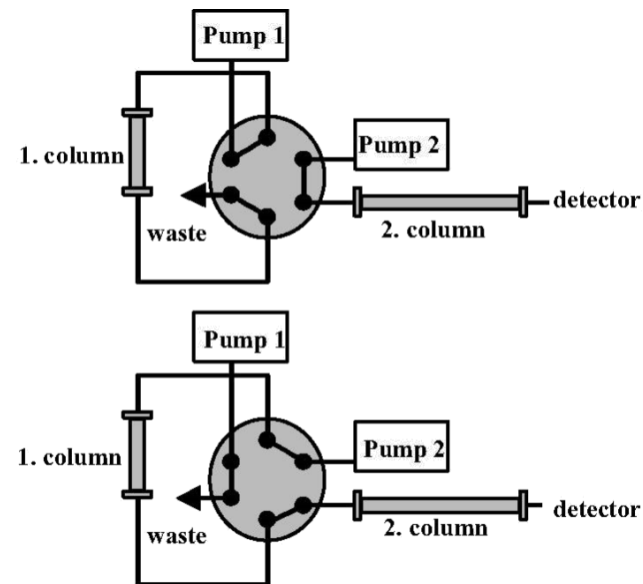
Fase 2:
sviluppo lungo direzione perpendicolare con
eluente2

➤ LC-LC

- E' forse il metodo multidimensionale più usato;
- **Applicazioni:** purificazioni e arricchimento degli analiti, miglioramento dell'efficacia di separazione e sensibilità delle analisi;
- Consiste in un normale sistema per LC in cui si connettono assieme 2 o più colonne con una valvola multiporta e il sistema ha due o più pompe indipendenti;
- L'effluente dalla 1^a colonna può essere diretto, commutando la valvola, allo scarico, al rivelatore o alla seconda colonna.
- Nella tecnica di commutazione della colonna, la tecnica è multidimensionale solo se le colonne sono impaccate con diversa fase stazionaria;
- Quindi i meccanismi di ritenzione (materiali delle colonne) devono essere diversi;
- Viene per lo più usato un approccio “**heartcut**”.

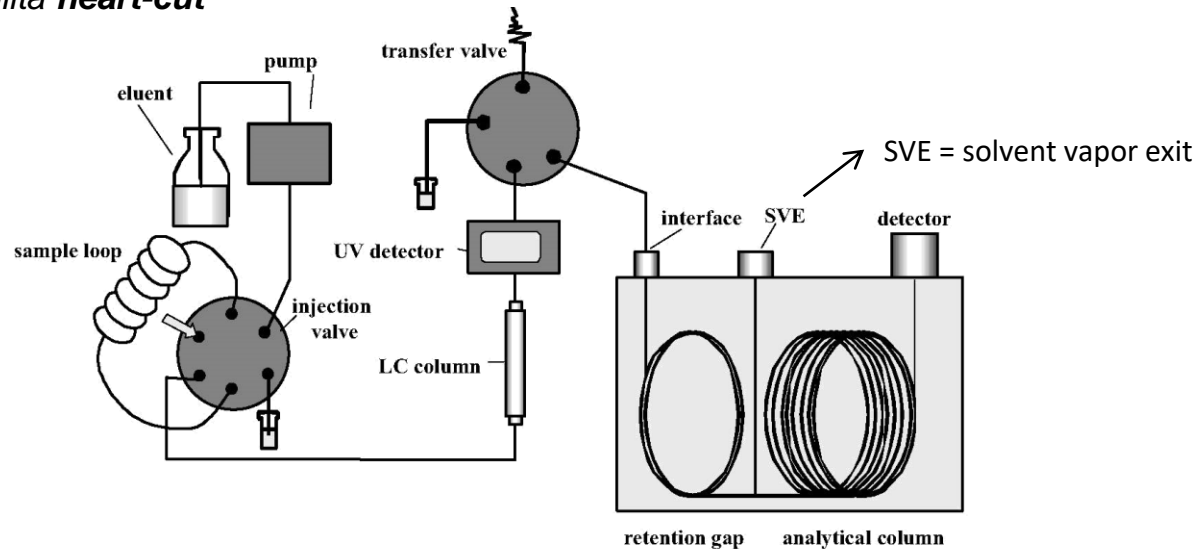
Esempio:

- 1) il campione è iniettato nella 1^a colonna. Gli analiti di interesse vengono trattenuti in colonna sulla f.s. e i composti indesiderati della matrice vengono eliminati (waste).
- 2) Gli analiti vengono trasferiti alla 2^a colonna con altro solvente per ottenere la separazione desiderata.



➤ LC-GC

- **LC:** capacità e ampio spettro di meccanismi di separazione;
- **GC:** elevata efficienza di separazione e disponibilità di metodi di rilevazione;
- **Punto di forza del LC-GC:** l'intera frazione contenente gli analiti è trasferita al GC;
- **LC può essere un buono stadio di clean up** (trasferisco alla fase analitica GC l'intero quantitativo di analita purificato in LC, avendo eliminato resto della matrice -> sensibilità alta!)
- Si trasferiscono frazioni di centinaia di microlitri; l'eluente dev'essere adatto a LC (di solito NPLC) e GC;
- Multidimensionalità in modalità **heart-cut**



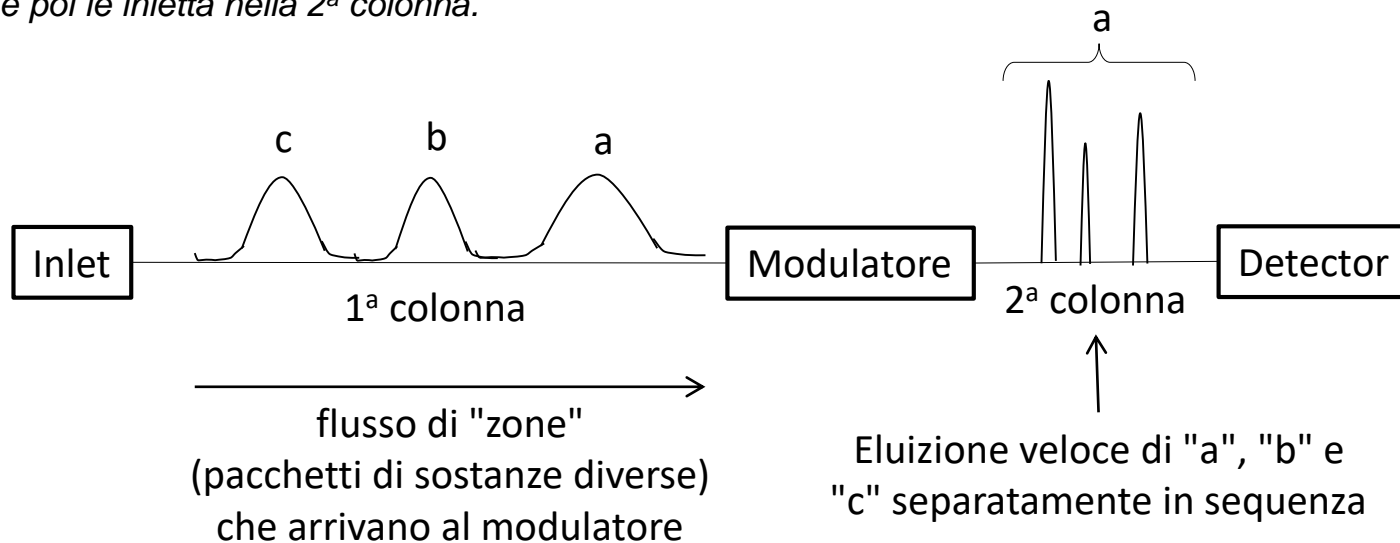
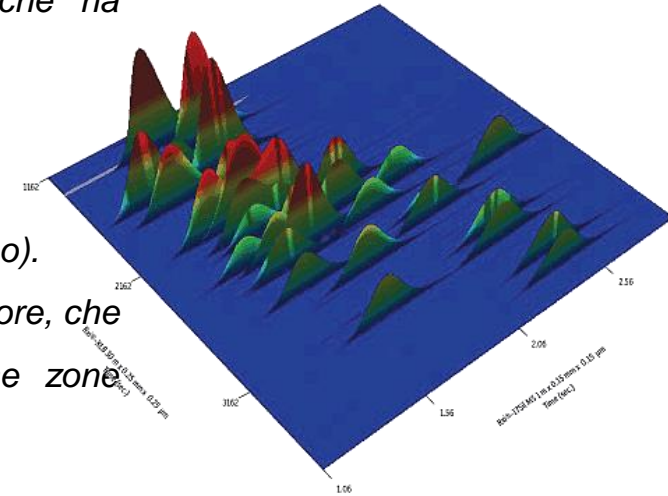
© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-56

Interfaccia on column

Una frazione di campione è spinta in una **sezione di precolonna del GC di deposito temporaneo** (“*retention gap*”), dove il solvente evapora lasciando un film liquido, da cui poi vengono rilasciati gli analiti volatili che eluiscono nella colonna analitica GC.

➤ GCxGC

- E' un approccio "**Comprehensive**" (mentre esiste anche GC-GC che ha approccio "heartcut")
- In un unico forno vengono alloggiati 2 colonne capillari;
- La prima colonna è una colonna lunga capillare;
- La seconda colonna è una "narrow bore" (0.2-4 m, 0.05-0.1 diametro interno).
- "Zone" di campione che escono dalla prima colonna entrano in un modulatore, che raccoglie porzioni piccole e separate dell'eluato e le introduce come zone compatte nella seconda colonna;
- La corsa cromatografica nella seconda colonna è veloce (3-10 secondi).
- Il **modulatore** è tipicamente una trappola fredda a 2 stadi che prima ri-focalizza le "zone" in uscita dalla 1^a colonna e poi le inietta nella 2^a colonna.



SLIDES DI APPROFONDIMENTO SU GC MULTIDIMENSIONALI

Vedi anche

<https://www.researchgate.net/publication/266797043> Advances in Comprehensive Two-dimensional Gas ChromatographyGCxGC

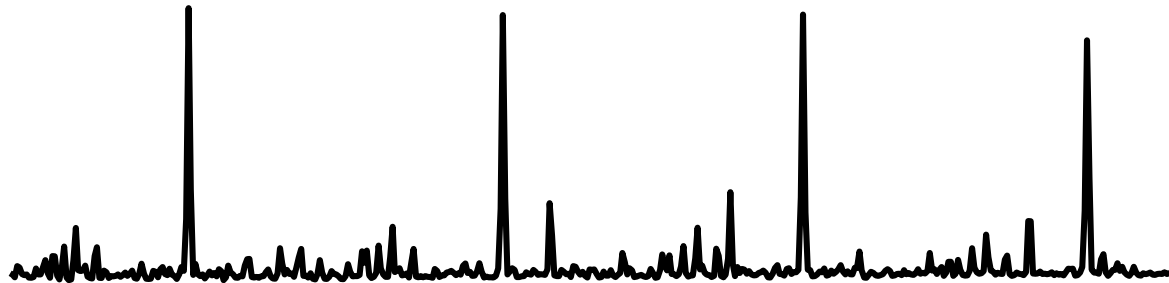
E

<https://www.agilent.com/en/products/gas-chromatography/gc-gc-ms-technologies/capillary-flow-technology/gc-x-gc>

Dalla 1D-GC verso 2D-GC

1D-chromatography

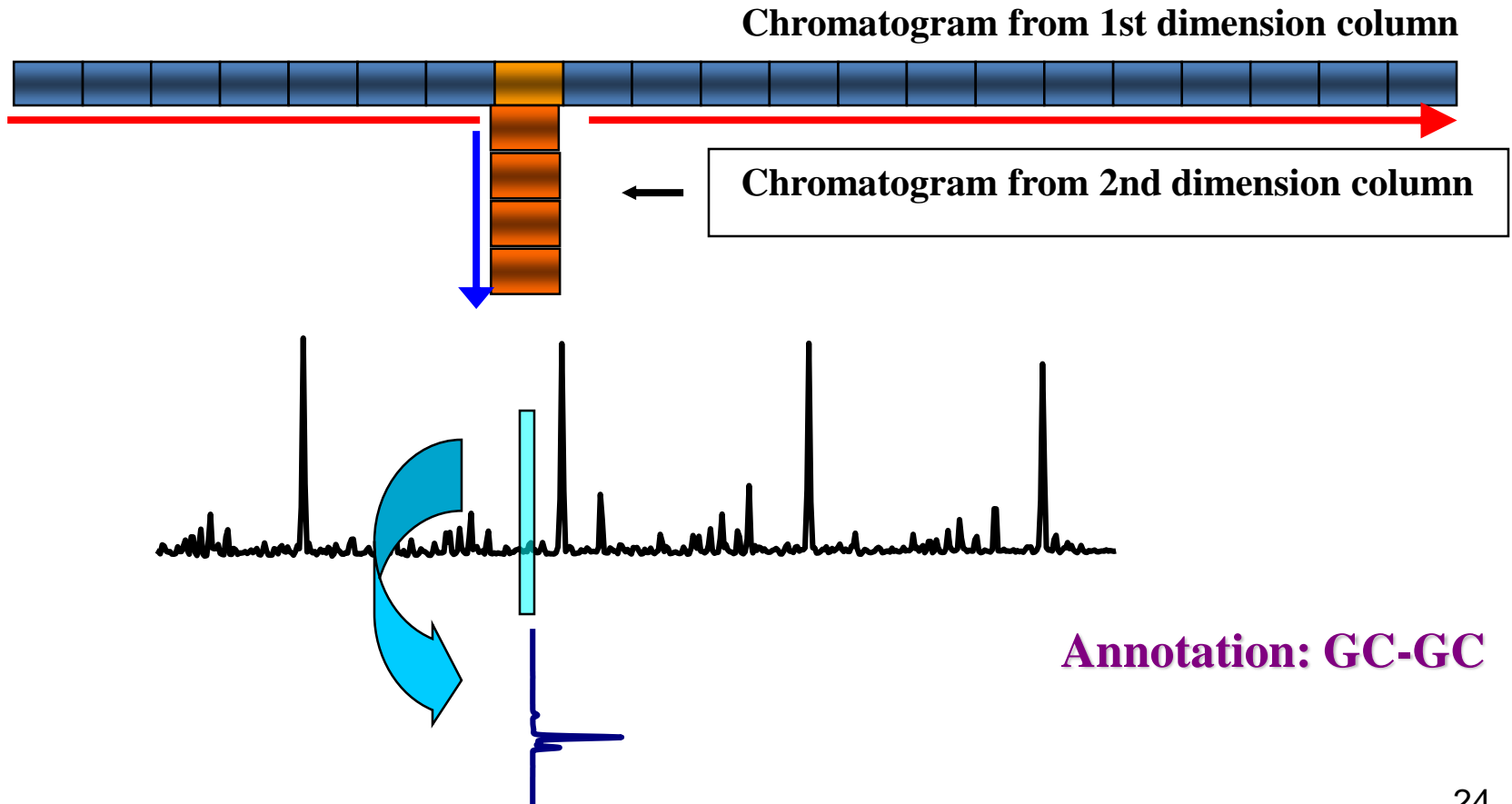
Cromatogramma da una singola dimensione cromatografica

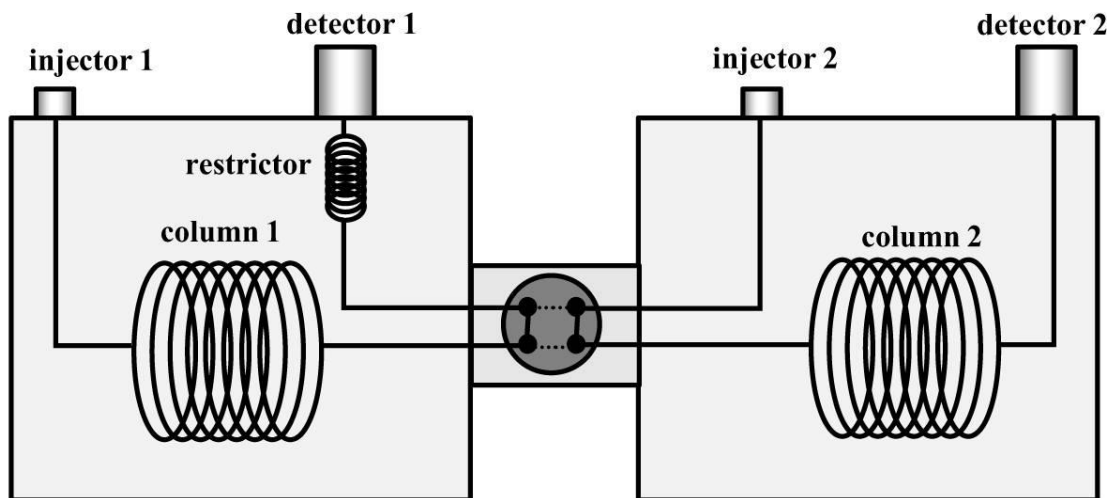


Dimensionalità= "criterio" della selettività

Heart-cut 2D-chromatography

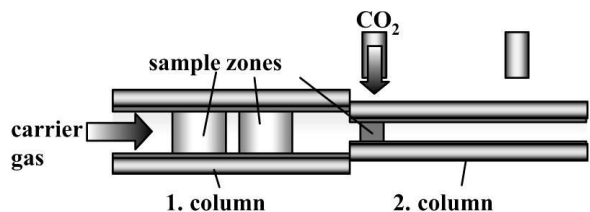
Una o più frazioni della miscela sono soggette a due step consecutivi di separazione



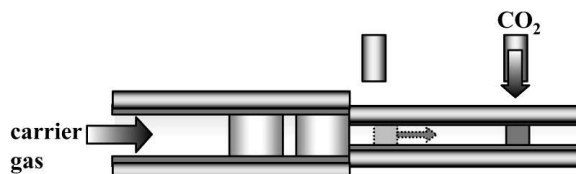


«Heart cut»

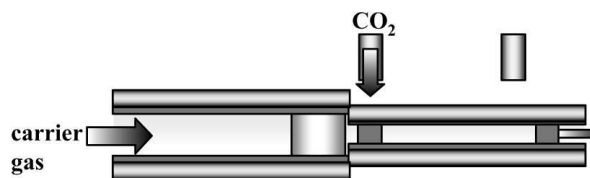
© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-58



3-8 s
trapping of sample zone to cold trap 1



1-2 s
release of the sample zone from trap 1, trapping it to trap 2



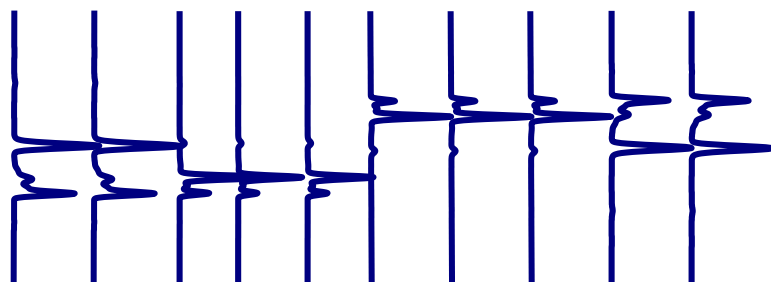
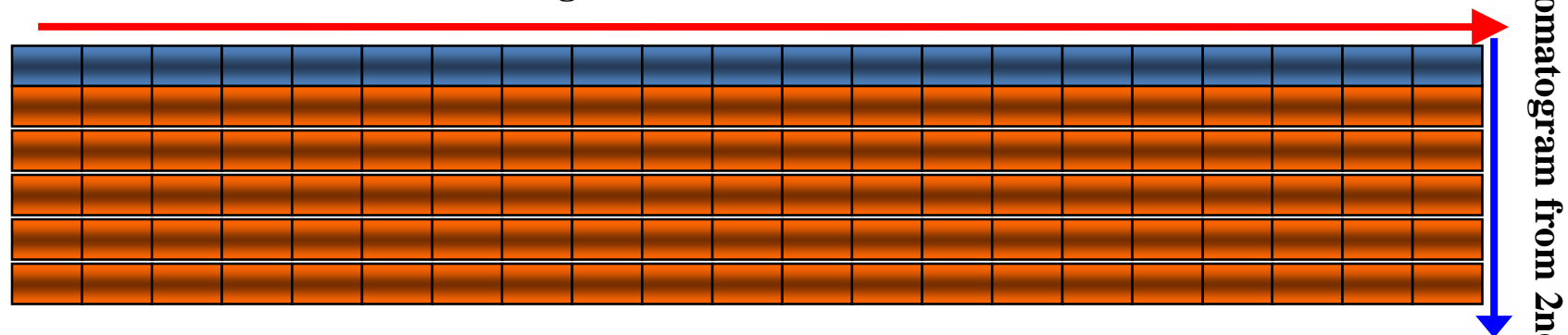
3-8 s
trapping of the next sample zone, release and analysis of the sample zone from trap 2

«2D comprehensive»

© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-59

Comprehensive 2D-gas chromatography

Chromatogram from 1st dimension column



Annotation: GCXGC

Tanti e ripetuti heartcuts possono essere analizzati nella seconda colonna. Ogni componente della miscela è soggetta a tutte le fasi della separazione

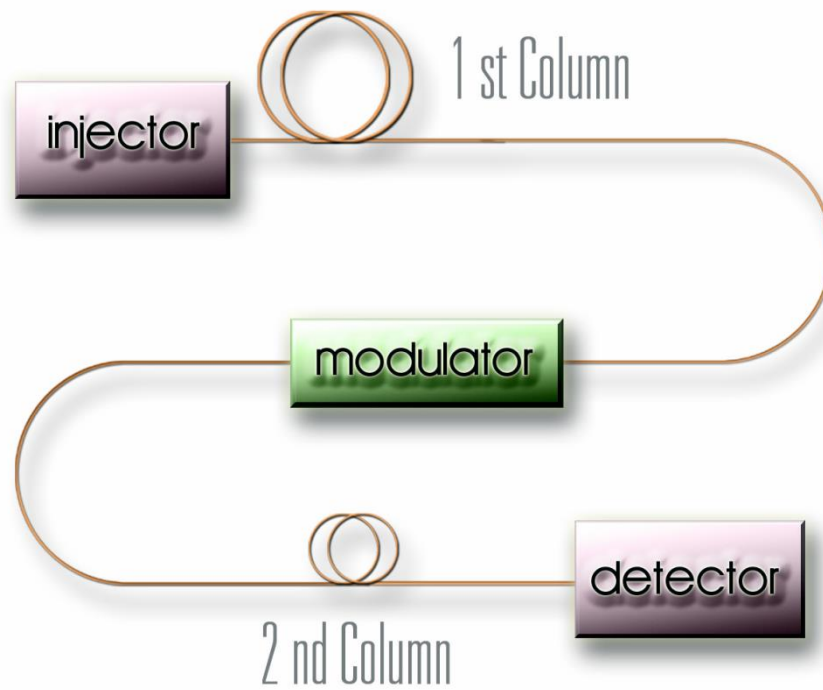


Ortogonalità



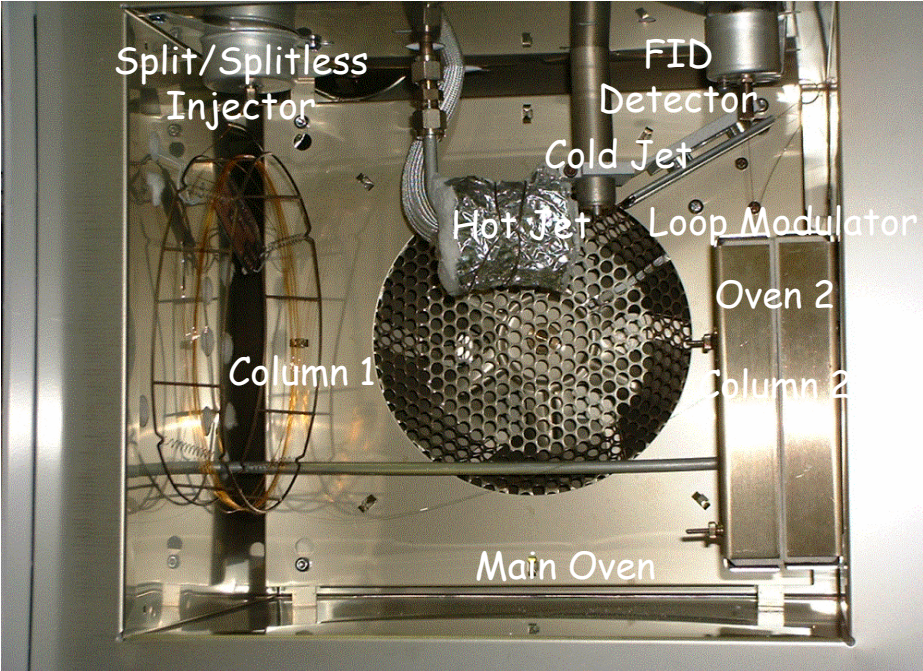
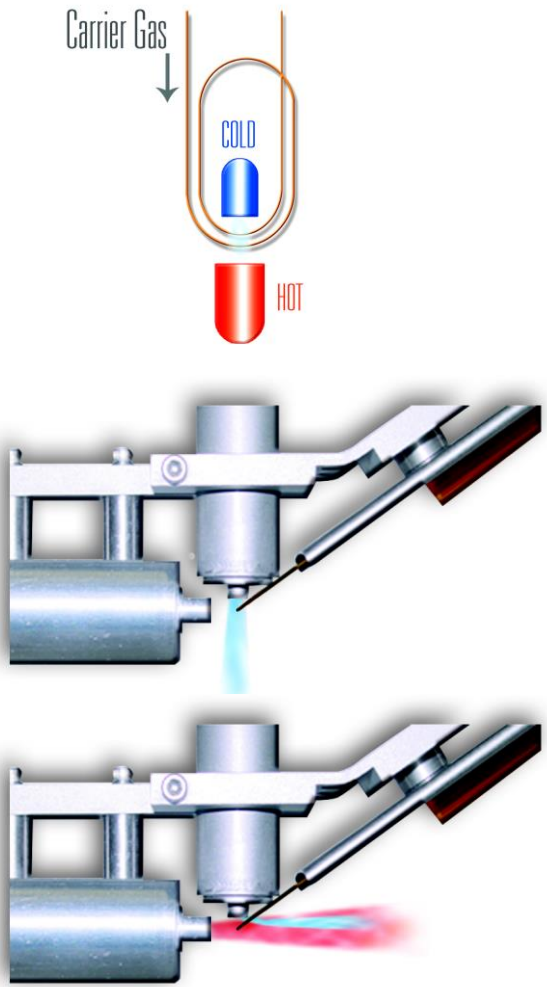
Comprensività

Schema di un Gascromatografo Comprensivo Bidimensionale

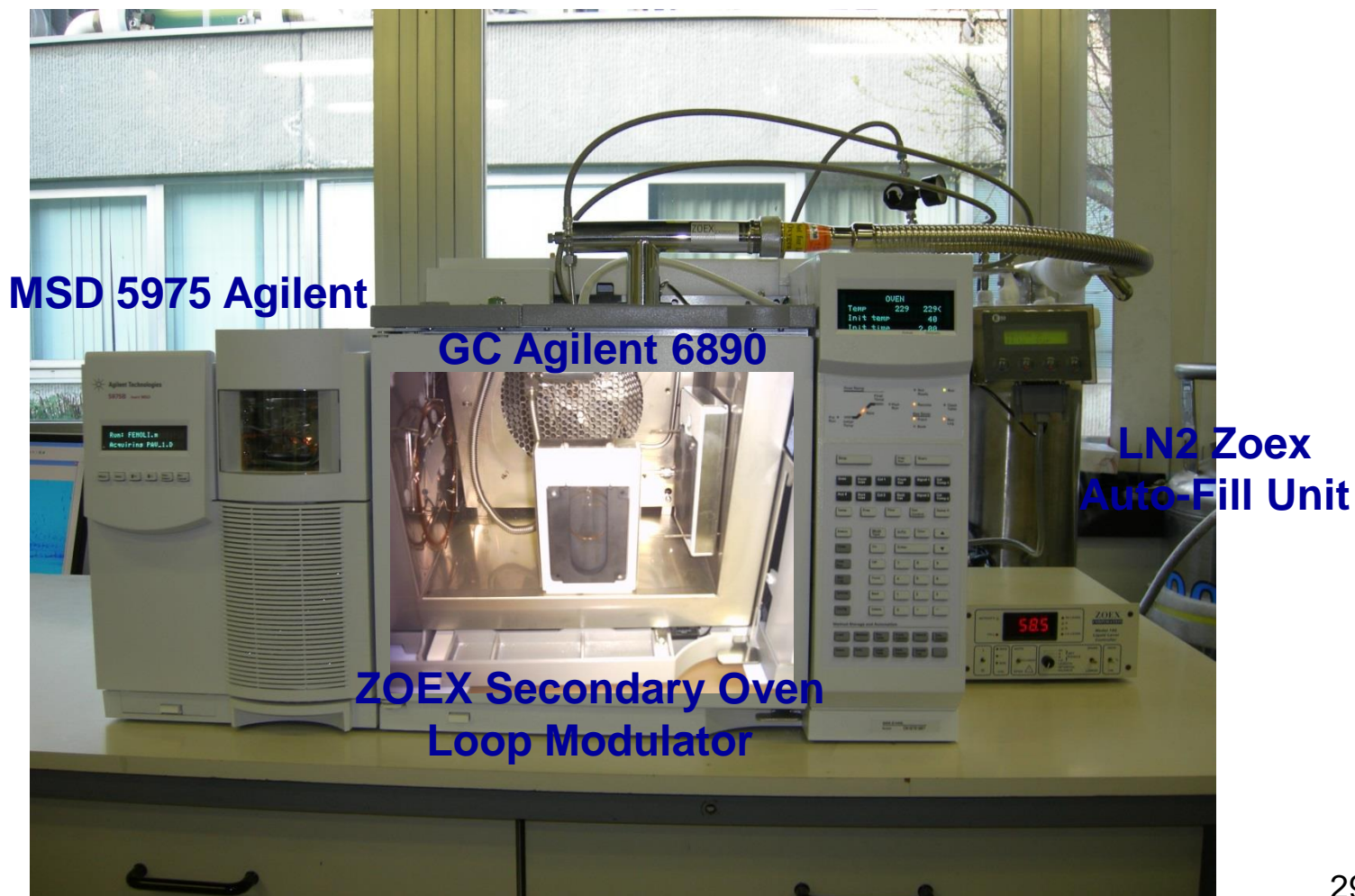


Modulatore Termico

all'interno del forno del
GC Agilent 7890

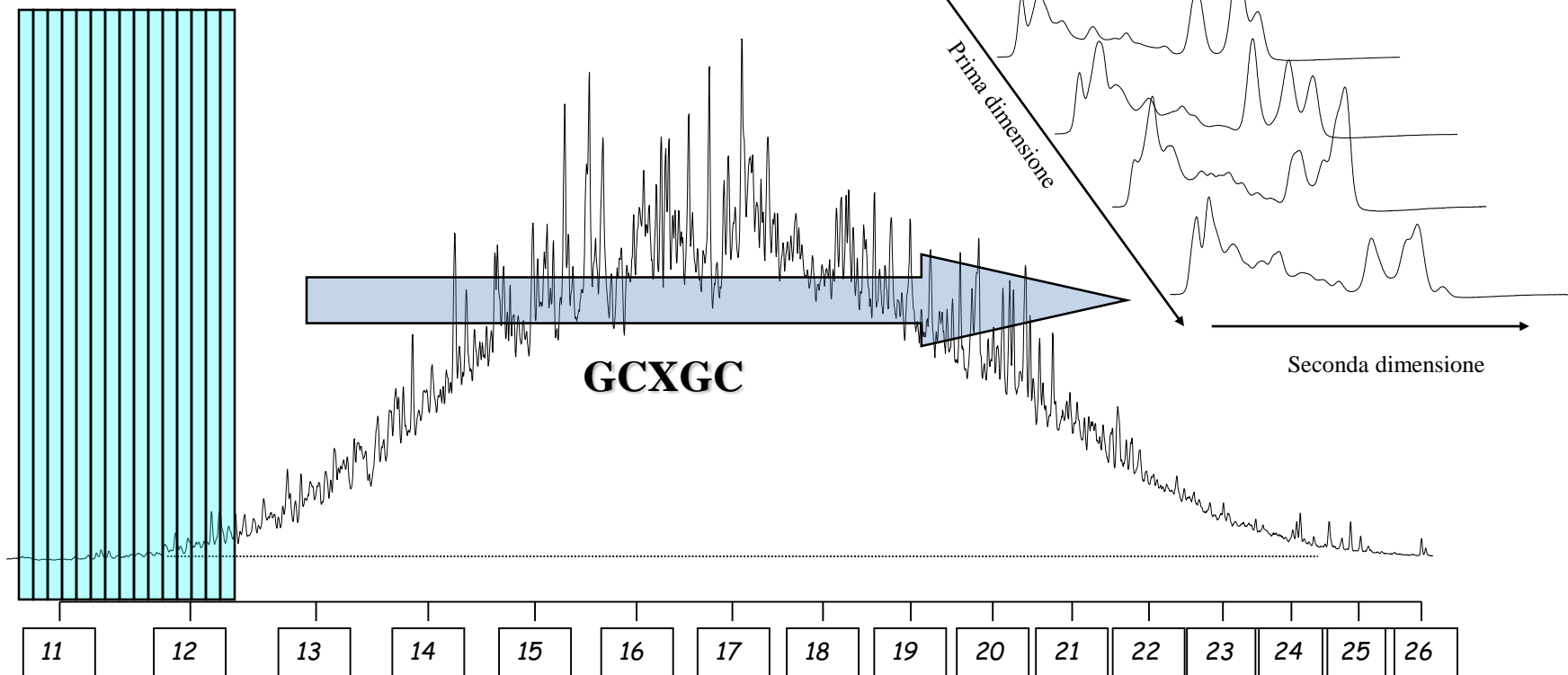


Sistema SRA GCxGC-qMSD installato presso il centro di ricerche ENI di San Donato Milanese



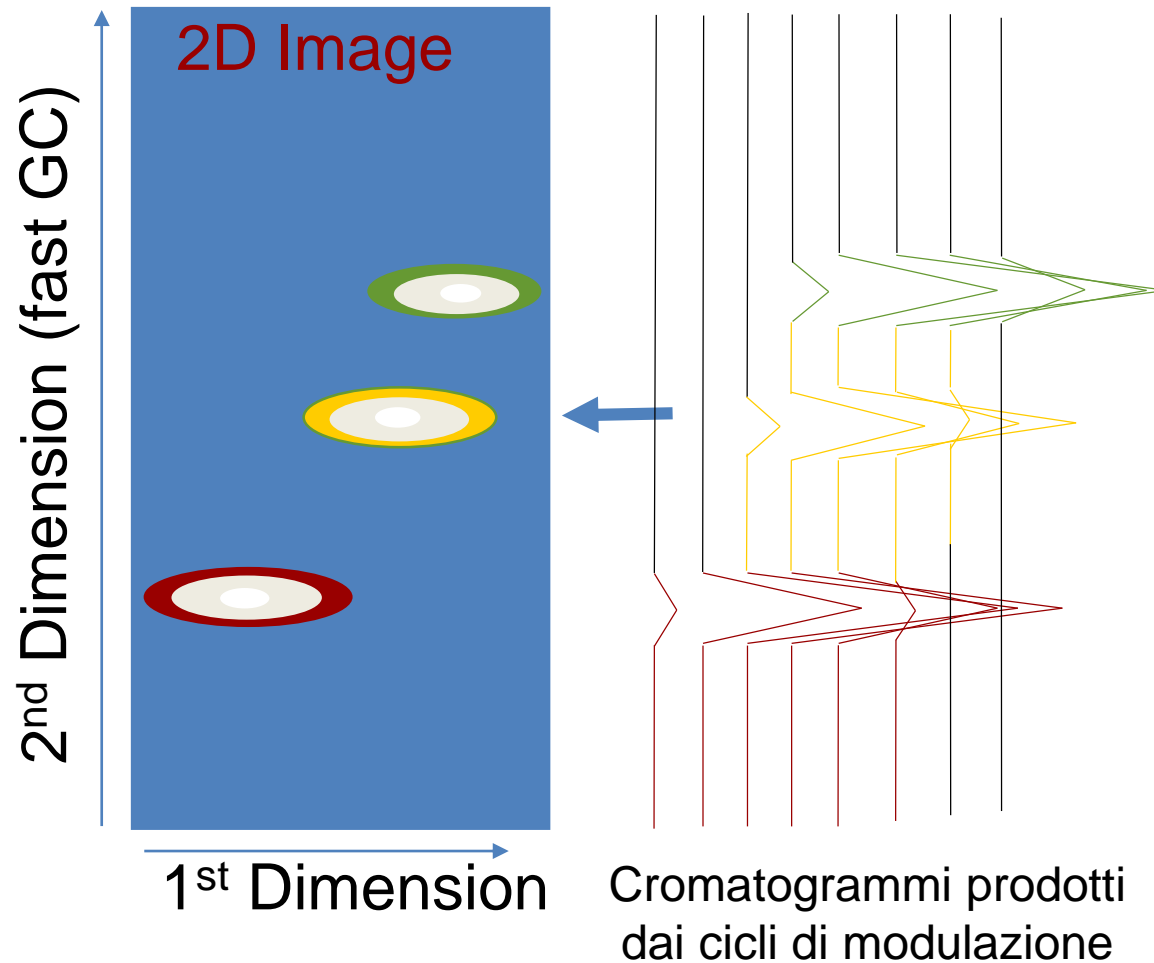
Miscela complessa non risolta

Cromatogramma 1D-GC

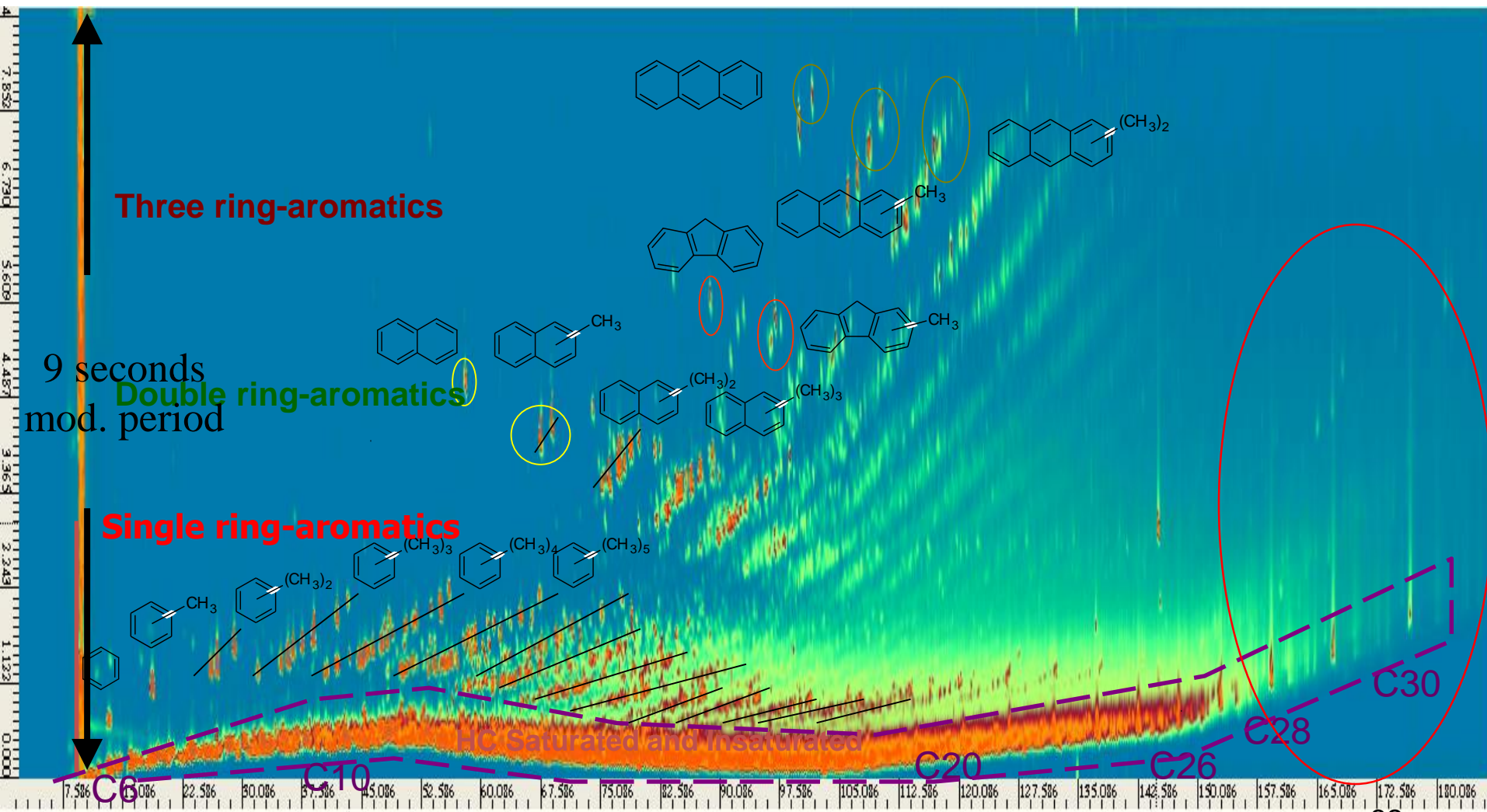


Numero atomi di Carbonio

Costruzione dell'immagine GCXGC

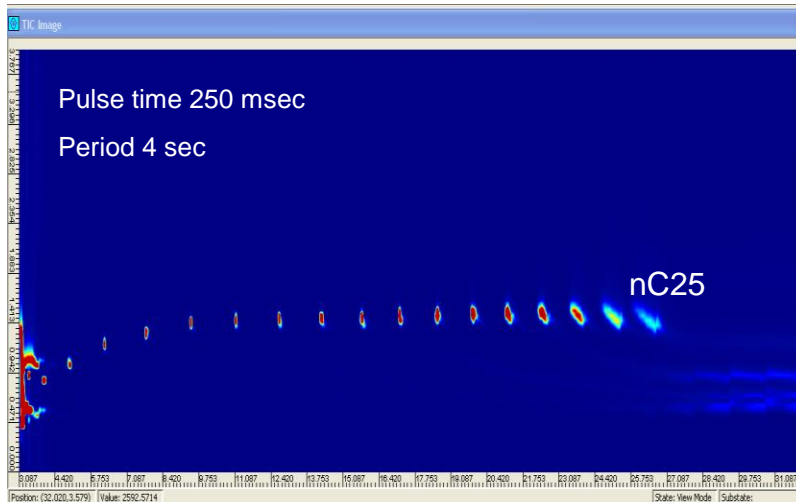
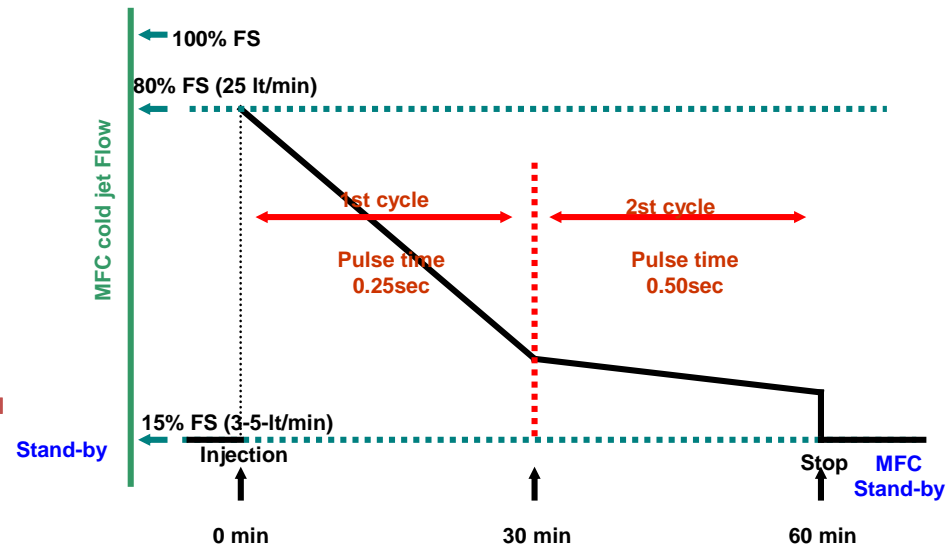


Idrocarburi Aromatici in Greggio leggero

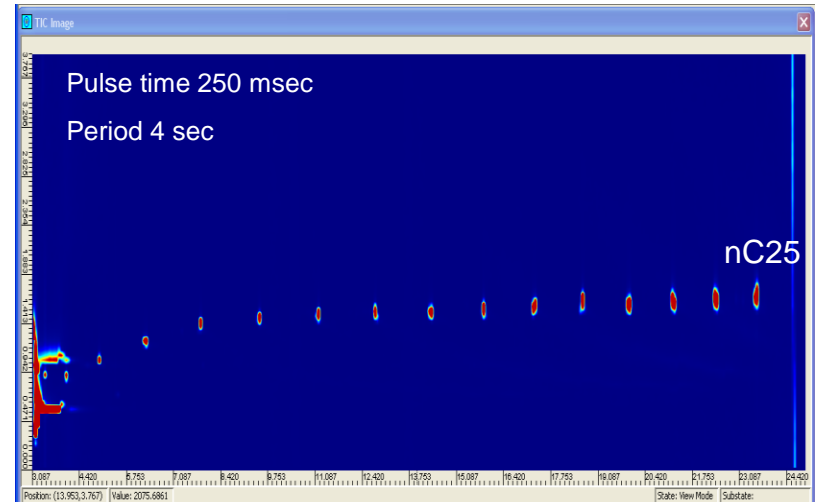


SRA OPTIMODE

- **VANTAGGI**
- CONDIZIONI RIPRODUCIBILI DEL FLUSSO DEL COLD JET
- RIDUZIONE DEI CONSUMI DI AZOTO GAS E LIQUIDO
- PREVIENE BREAKTHROUGHT DEI COMPONENTI PIU' LEGGERI
- CONSENTE UNA VELOCE MOBILIZZAZIONE DEL MATERIALE FOCALIZZATO
- NESSUN CONTRIBUTO DEL MODULATORE AL NUMERO DELLE MODULAZIONI
- IDEALE PER CAMPIONI CON UN AMPIO RANGE DI VOLATILITA'

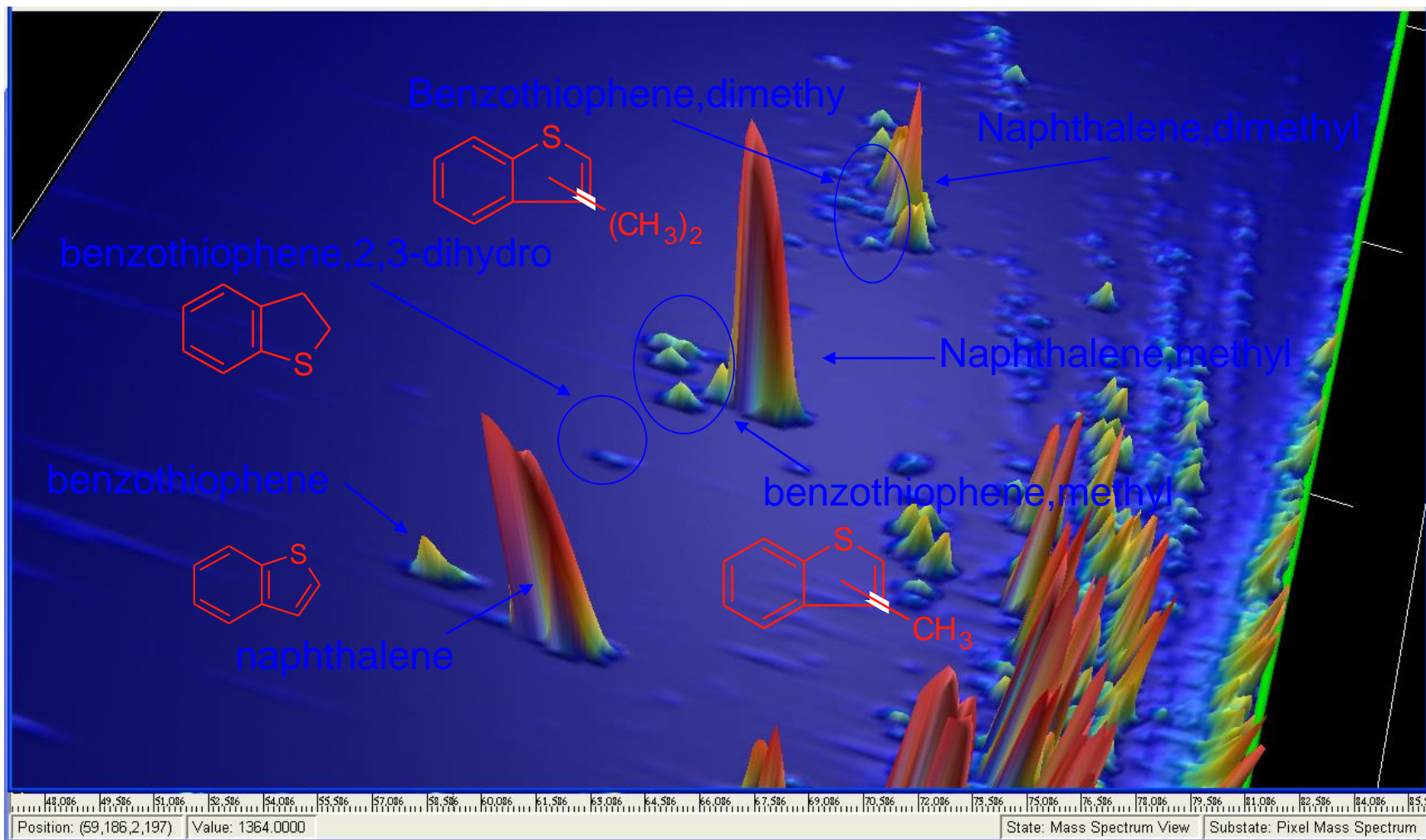


Standard Cold Flow 20 l/min

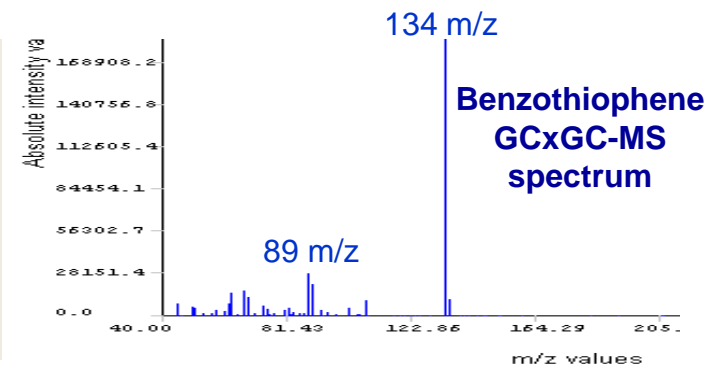
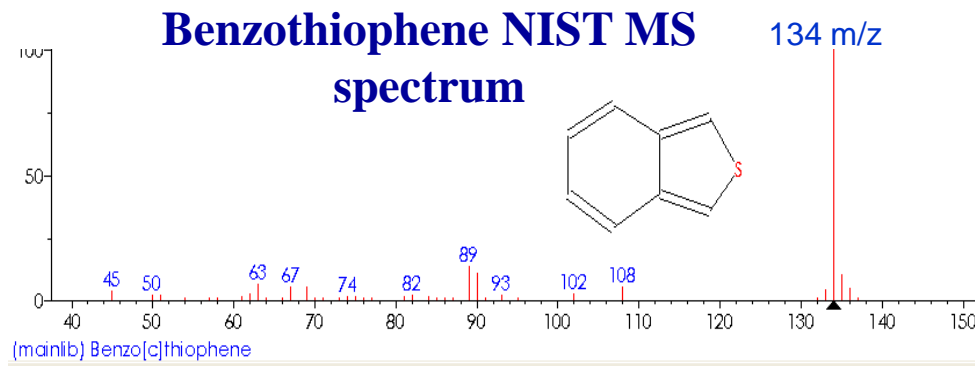
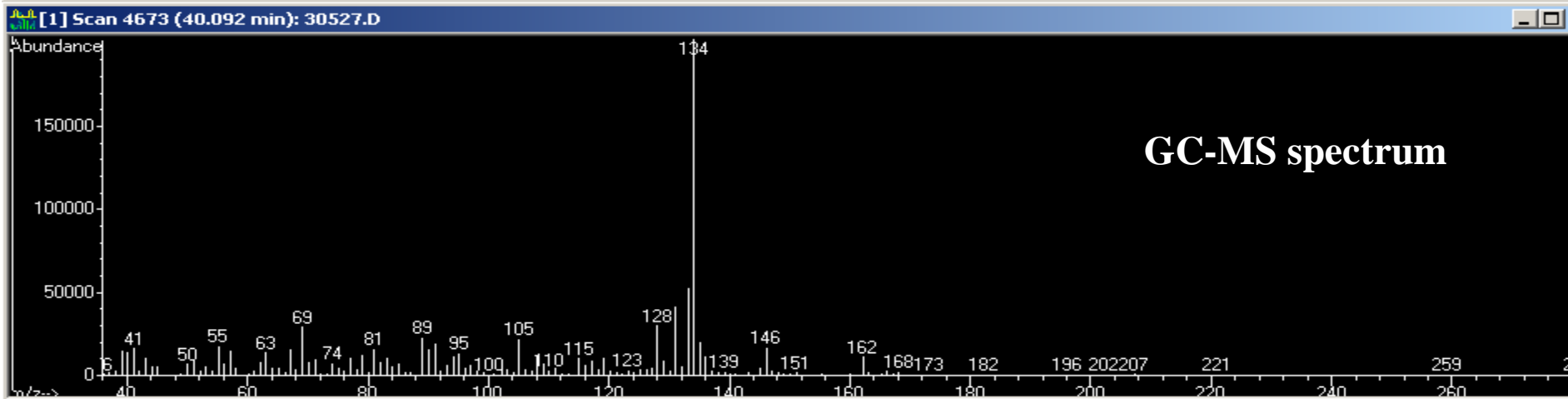


Optimode Cold Flow da 20 l/min a 3 l/min

Vista-3D Benzotiofeni in intermedio di benzina prima della desolforazione Modulatore Termico e Rivelatore di Massa Quadrupolare

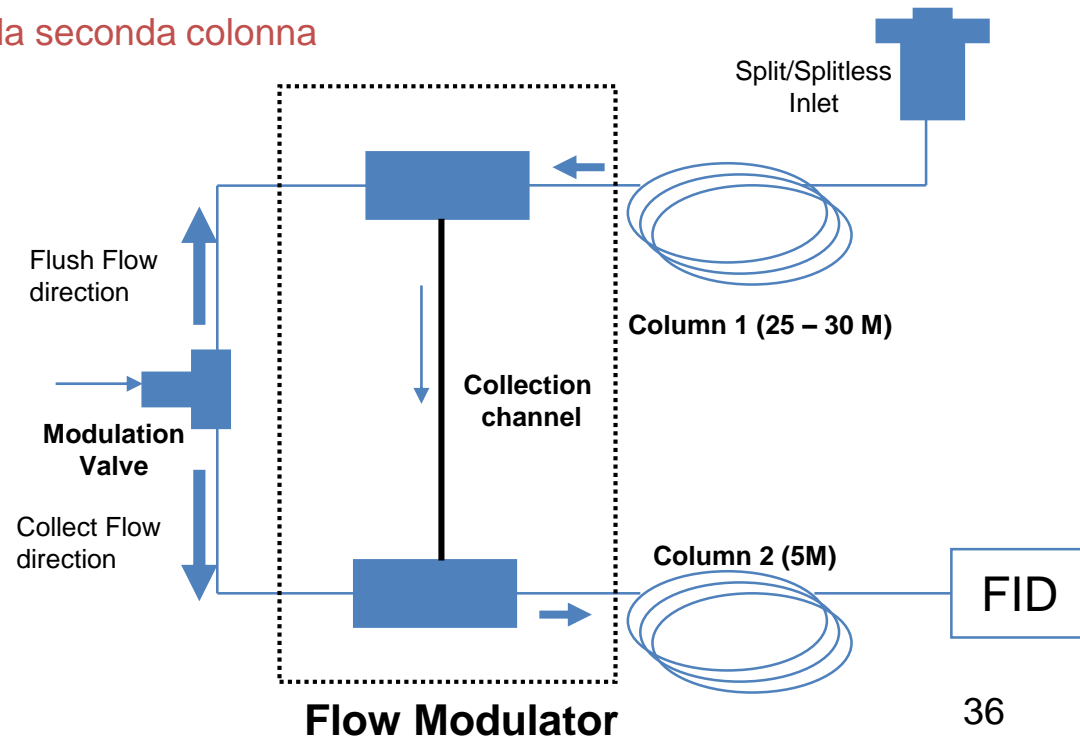
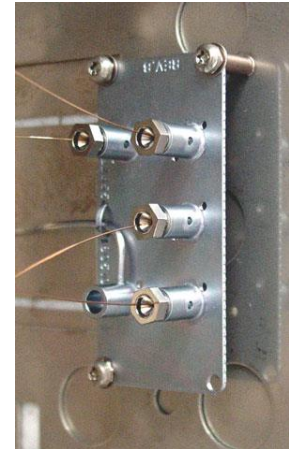


Benzothiophene GC-MS

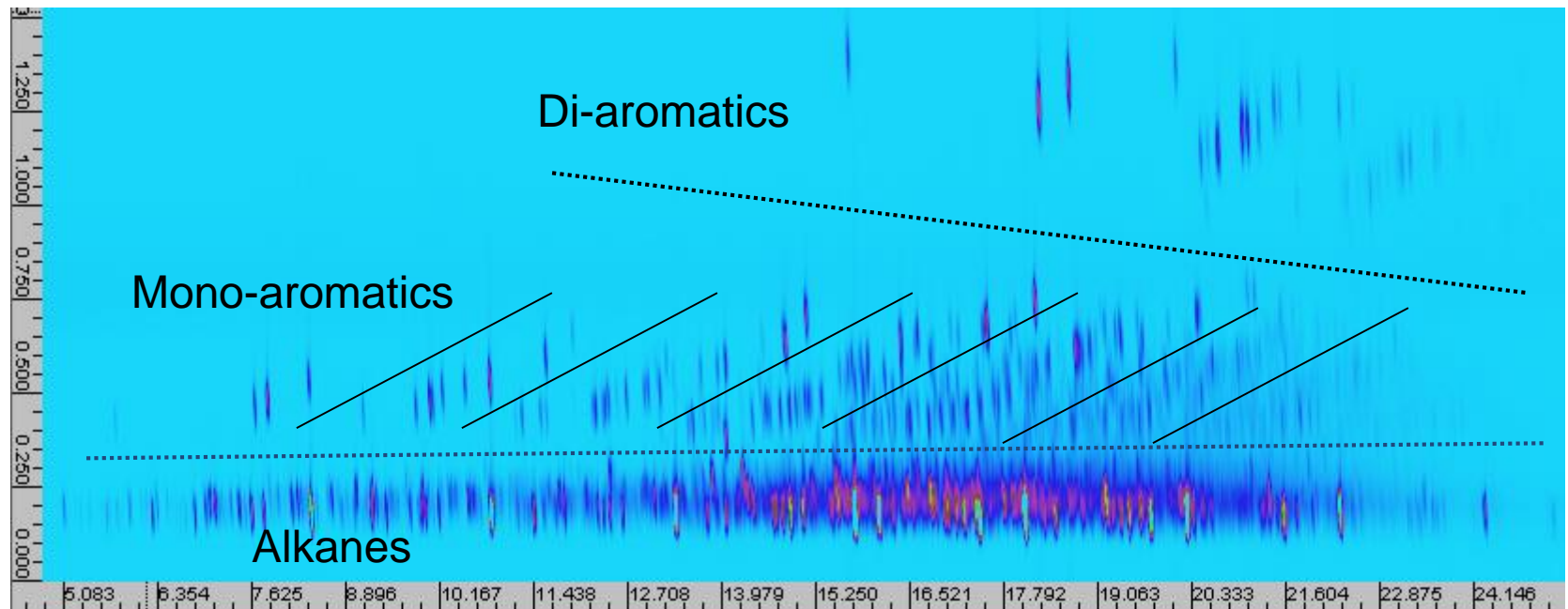


Agilent GCXGC Flow Modulator

- Il modulatore a flusso differenziale è costruito con Capillary Flow Technology
- Il GC 7890 consente il controllo accurato delle pressioni e degli eventi a tempo
- Non usa fluidi criogenici, adatto per gas e bassobollenti
- Necessita di un elevato flusso nella seconda colonna



Agilent Flow Modulator : Analisa GCXGC di Kerosene



Modulation

1.40 second collect

0.11 second inject

Column 1: HP-5MS 30m x 0.25mm x 0.25um

Column 2: INNOWAX 5m x 0.25mm x 0.15um

Oven rate: 8 °C/min

BPX5 5% Phenyl Polysilphenylene-siloxane

High temperature

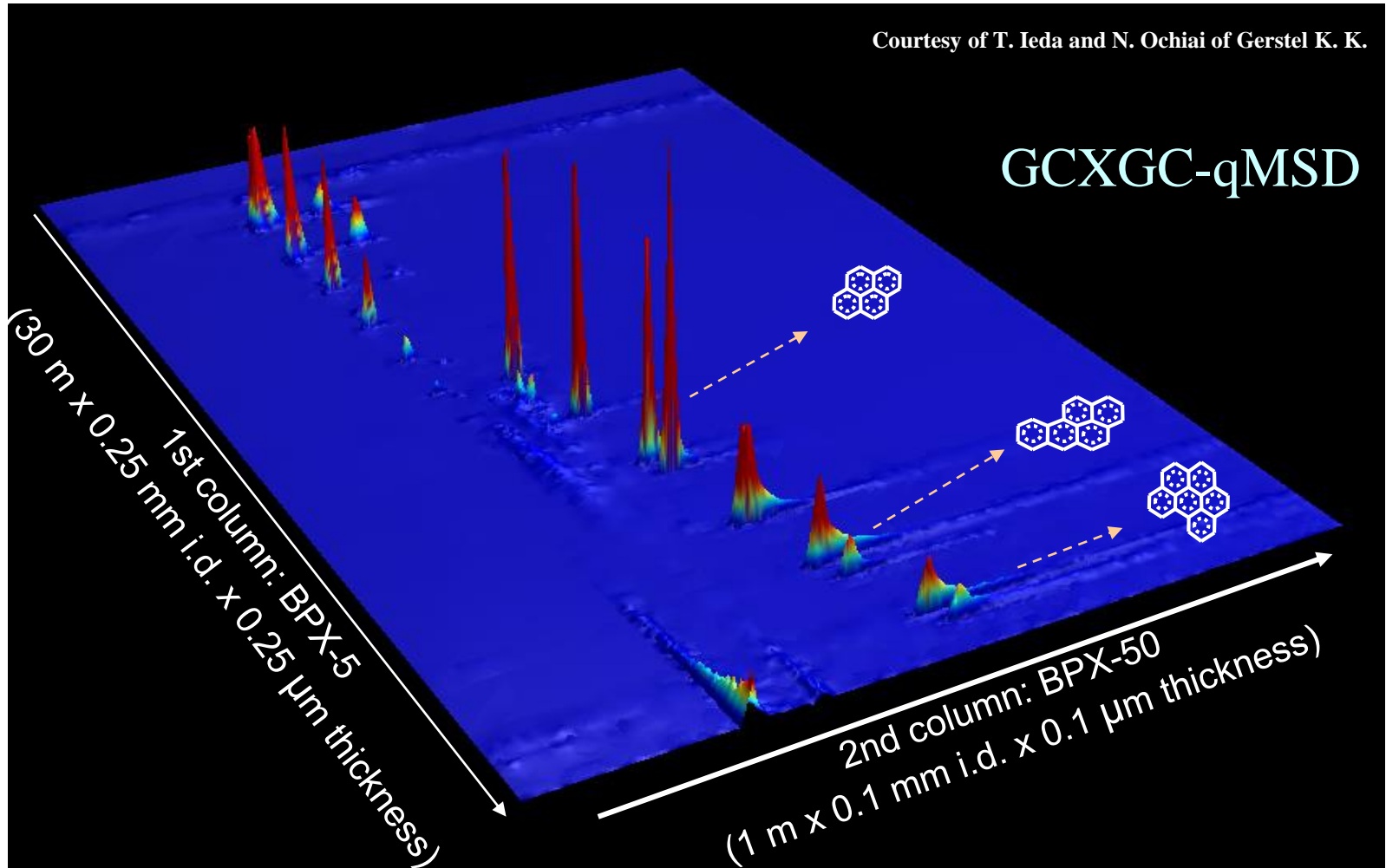
General Purpose GC column - suitable for over 80% of all routine analyses performed by gas chromatography

Very Low Bleed - ideal for trace analysis

Non-Polar

Extremely inert **Modulatore Termico GC x GC – Qms of PAHs STD (100 pg each) in 3D plot**

2nd column: BPX-50 (1.0 m x 0.1 mm i.d. x 0.1 μm thickness)



1st column: BPX-5 (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm thickness)

BPX50

You are here:

[GC Columns](#) > [BPX50](#)

50% Phenyl Polysilphenylene-siloxane

- Mid polarity
- Inert
- Low bleed
- High temperature
- Ideal for a range of EPA methods and pharmaceutical applications

Application Areas: EPA methods 604, 608, 8060, 8081, triazines/herbicides, drug screening, steroids and a variety of pharmaceutical applications

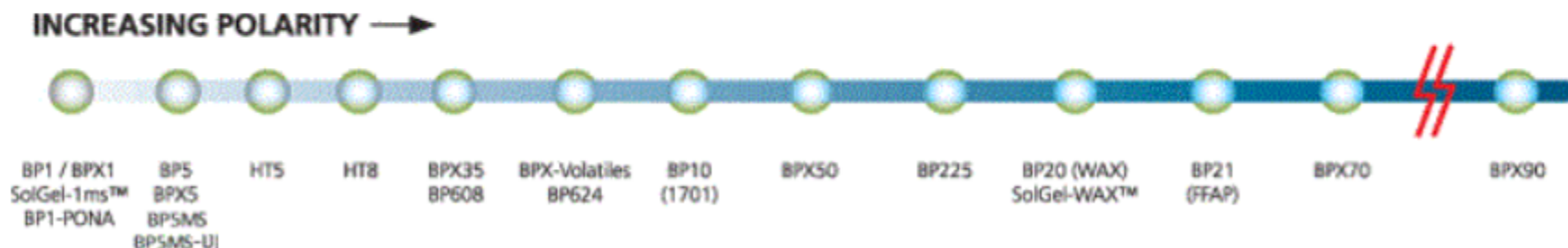
Operating Temperature:

0.1-1 μ m film thickness

80°C to 330/350°C

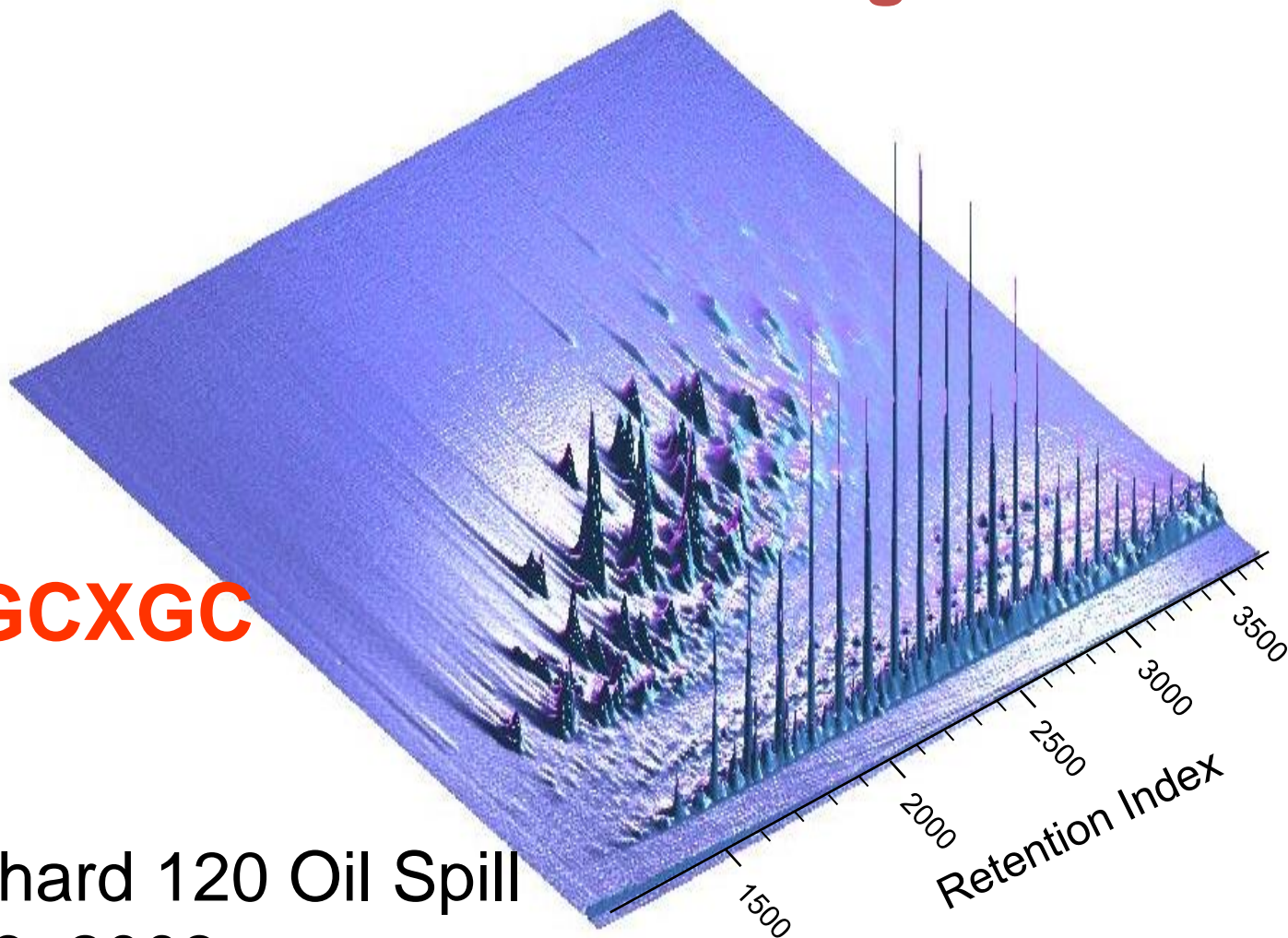
Suitable Replacement for: OV-17, SP-2250, DB-17, DB-17ms, DB-17ht, Rtx-50, SPB-50, HP-50+, HP-17

To search for peer reviewed literature featuring BPX50 columns, [click here](#).



Applicazione di GCxGC ad indagini ambientali

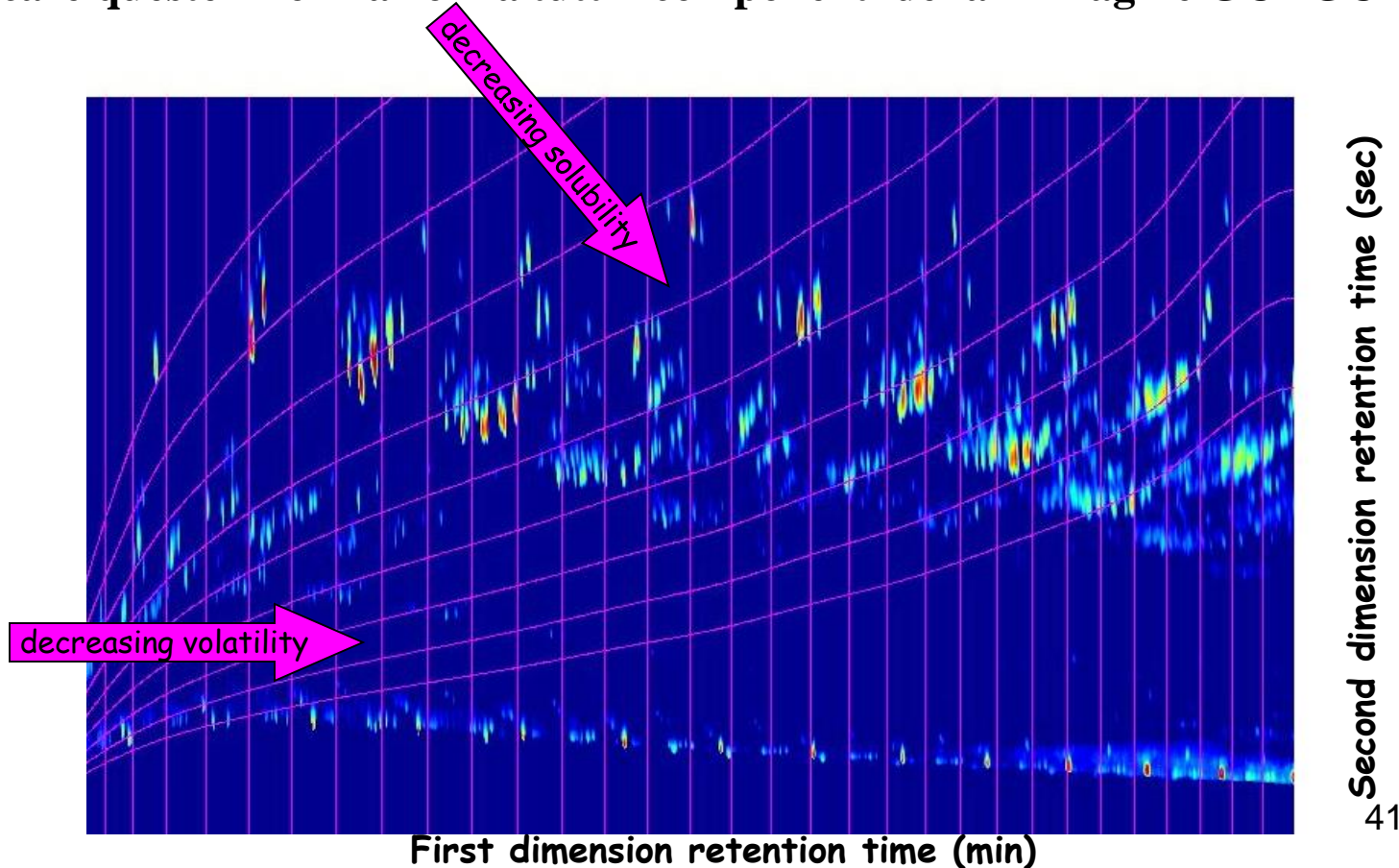
3D-GCXGC



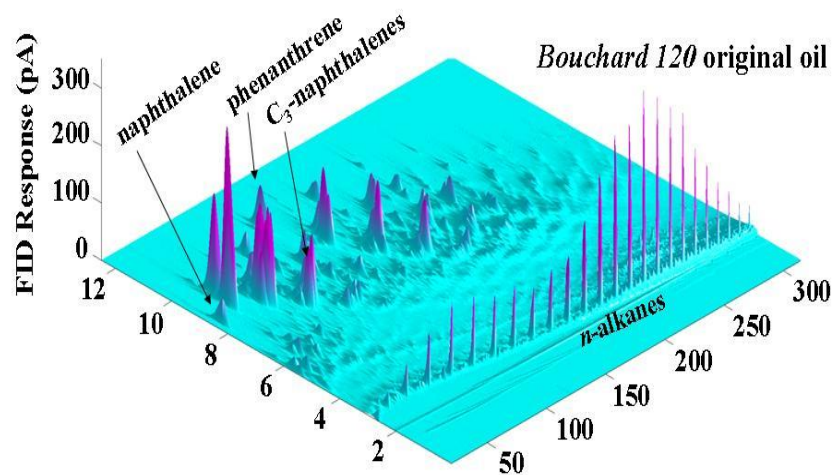
Bouchard 120 Oil Spill
May 9, 2003

Proprietà fisiche da un cromatogramma GCXGC

Usare i tempi della prima e della seconda dimensione per stimare la pressione di vapore (volatilità degli idrocarburi) e la solubilità in acqua
Applicare queste informazioni a tutti i componenti della immagine GCXGC



Indagine Ambientale: riversamento in mare di crude oil



Naftalene

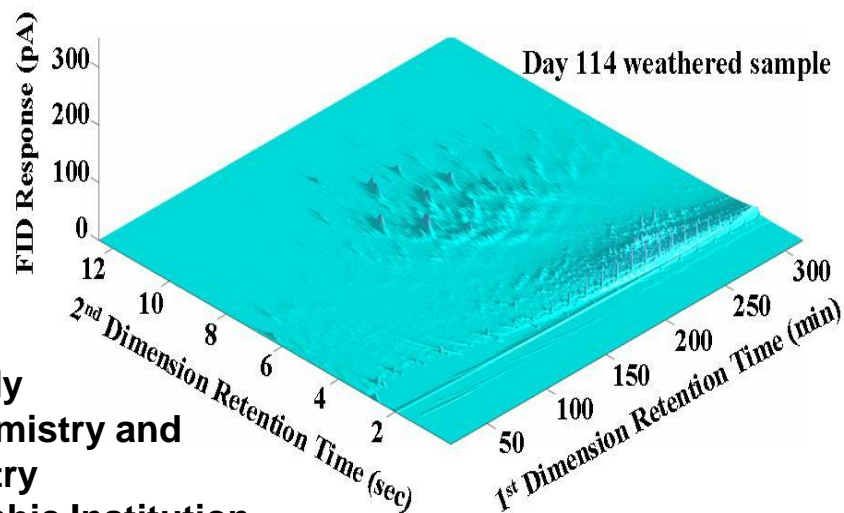
51% in aria 49% in acqua

Fenantrene

31% in aria – 69% in H₂O

C3-Naftaleni

80% in aria - 20% in acqua

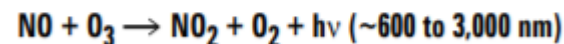
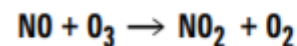
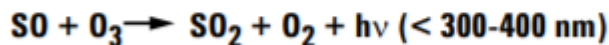


Chris Reddy
Dept. of Marine Chemistry and
Geochemistry
Woods Hole Oceanographic Institution,
Woods Hole, MA

GC X GC: conclusioni

- **Alta Risoluzione, Elevata “peak capacity”**
- **Analisi per fingerprint, per gruppi o per componenti target**
- **Semplice interpretazione (i picchi sono organizzati con logica)**
- **Sensibilità (guadagno nel rapporto segnale/rumore)**
- **Identificazione affidabile con Fast-qMSD e spettri “puliti”**
- **Grande flessibilità, numerose applicazioni**
- **Rivelatori FID, SCD, NCD (chemiluminescenza del S e del N), AED, qMSD Fast Scan**
- **Modulatori Termici – usa fluidi criogenici – tutti i rivelatori fast citati**
- **Modulatori a Flusso Differenziale – più economici**

Sulfur compound (analyte) → SO + H₂O + other products



ELETTROFORESI

INTRODUZIONE

- ❑ L'elettroforesi è una **alternativa** alle separazioni cromatografiche;
- ❑ Permette di separare **composti ionici** mediante migrazione indotta da un campo elettrico;
- ❑ Tipicamente le biomolecole vengono analizzate mediante **gel elettroforesi**;
- ❑ L'**elettroforesi capillare** invece viene utilizzata per separare ioni inorganici ed organici a MM non elevata.

➤ Meccanismo

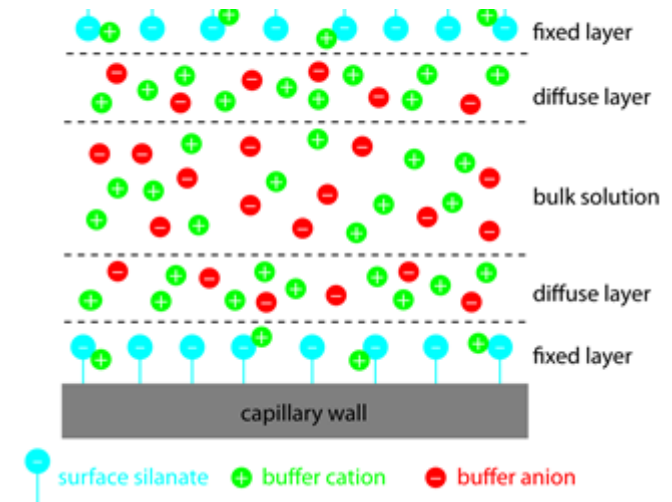
- In un campo elettrico gli ioni migrano in dipendenza delle loro dimensioni e della loro carica;
- I **cationi** vengono attratti dal polo negativo (**catodo**) e gli **anioni** dal polo positivo (**anodo**);
- La migrazione è soggetta ad un equilibrio di due forze: la **forza di accelerazione causata dal campo elettrico** e **una forza ritardante di frizione** (dovuta alla viscosità del mezzo);
- All'equilibrio, quando le due forze si eguagliano, la **velocità costante di migrazione (o velocità elettroforetica)**:

- è direttamente proporzionale al n° di cariche dello ione;
- è direttamente proporzionale all'intensità del campo elettrico applicato;
- è inversamente proporzionale alle dimensioni dello ione;
- è inversamente proporzionale alla viscosità del mezzo

La **mobilità di uno ione** si può definire indipendentemente dal campo elettrico applicato, ed è dir. prop. al n° di cariche dello ione e è inv. prop. e alle dimensioni dello ione e alla viscosità del mezzo.

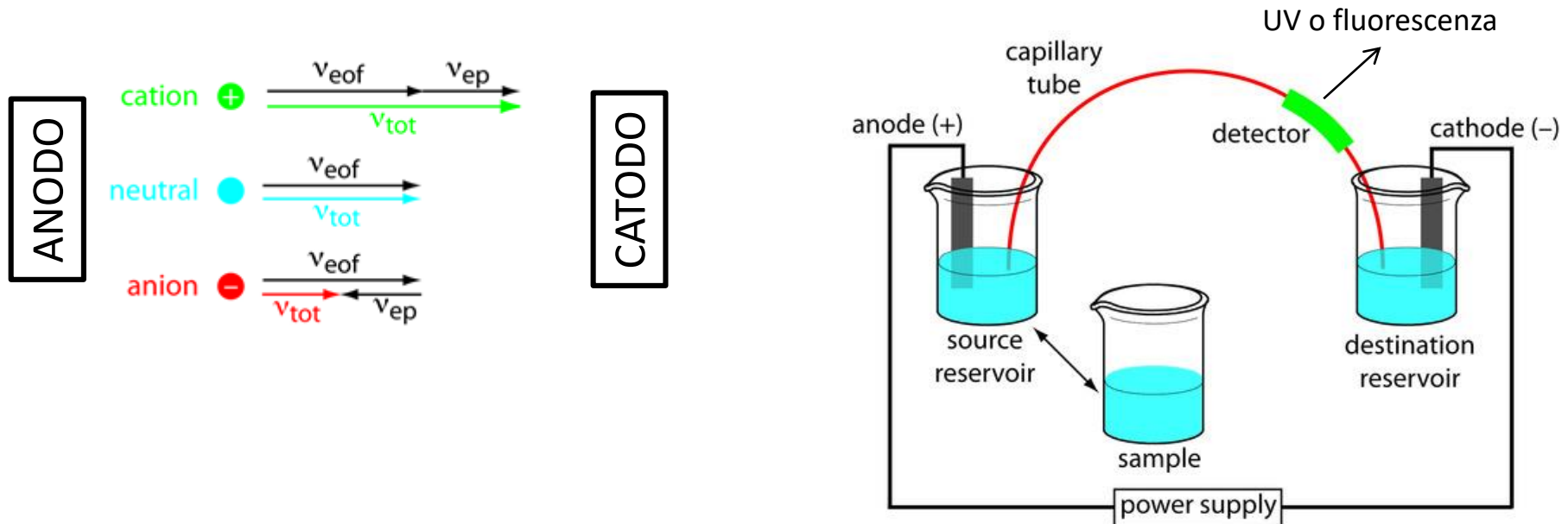
➤ Flusso elettro-osmotico (EOF – Electroosmotic Flow)

- Questo effetto è tipico dell'elettroforesi;
- Dipende dalle interazioni degli elettroliti (presenti nella soluzione tampone che viene utilizzata) con i materiali dell'apparecchiatura, cioè vetro e quarzo principalmente;
- Le superfici in silice contengono un grande numero di gruppi silanolo (-Si-OH);
- A pH superiori a 2-3 i gruppi silanolo vengono deprotonati generando una superficie contenente molte cariche negative;
- I cationi presenti nella soluzione tampone migrano verso le superfici cariche negativamente e "mascherano" una parte delle cariche;
- La rimanente parte delle cariche attrae altri cationi che si "addensano" in uno strato (**diffuse layer**) in prossimità della superficie di silice;
- I cationi contenuti nel "diffuse layer" migrano verso il catodo e "trascinano" con sé tutta la soluzione acquosa poiché sono in essa solvatati (gli anioni migrano verso l'anodo, ma nel "diffuse layer" ce ne sono di meno, quindi si ha un flusso netto verso il catodo);
- Questo fenomeno è detto **flusso elettro-osmotico**



➤ Elettroforesi capillare

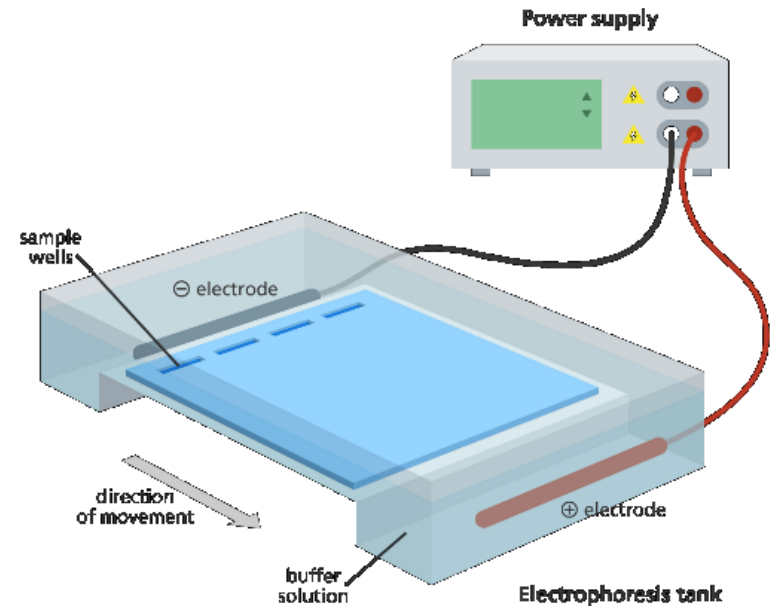
- In elettroforesi capillare grazie al flusso elettro-osmotico è possibile rilevare gli analiti ad una estremità del capillare;
- La velocità totale di un soluto in questa tecnica è dovuta alla velocità di migrazione (o elettroforetica) v_{ep} e alla velocità elettro-osmotica v_{eof} ;
- Queste velocità hanno direzioni diverse a seconda della natura della sostanza, quindi possono sommarsi o sottrarsi come segue:



Esempio di applicazione: separazione di frammenti di DNA

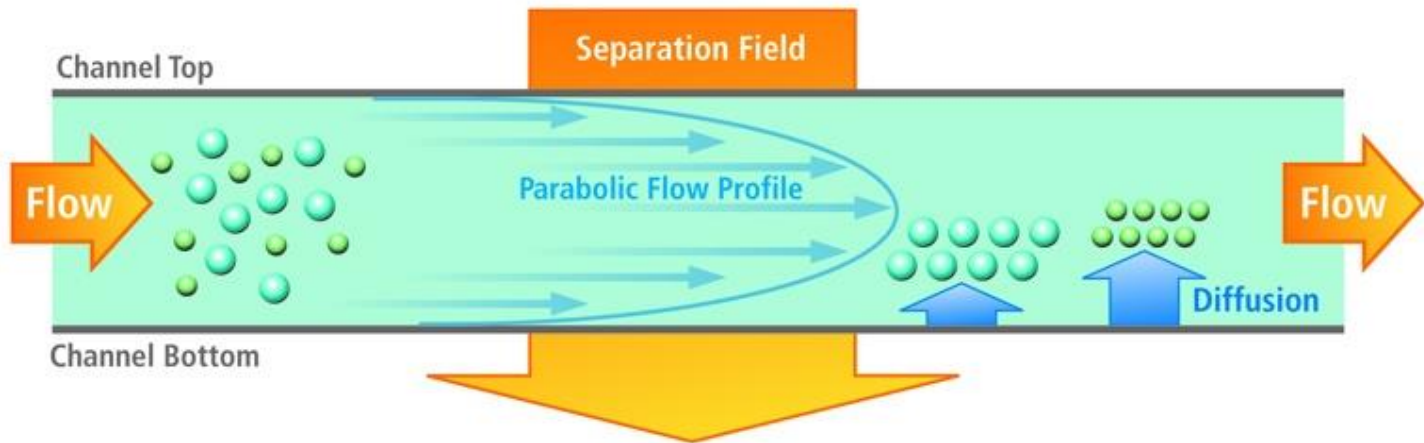
➤ Gel elettroforesi

- *In gel elettroforesi il flusso elettro-osmotico altera il processo di separazione (presenza di aree più diluite, interferenze nel percorso degli anioni) ed è più propriamente definito come elettroendo-osmosi;*
- *In questa tecnica un gel originato dal polisaccaride agarosio o dal poliacrilamide sintetica viene versato su una superficie di vetro o di materiale inerte;*
- *In questa tecnica un gel originato dal polisaccaride agarosio o dal poliacrilamide sintetica viene versato su una superficie di vetro o di materiale inerte;*
- *Il campione viene alloggiato in una serie di pozzetti (wells) nel gel ad una estremità poi viene applicato un campo elettrico;*
- *Gli analiti separati possono essere rivelati ad es. applicando una soluzione di AgNO_3 (Ag^+ viene ridotto dalle proteine) o degli agenti coloranti che reagiscono selettivamente con gli analiti.*



Esempio di applicazione: separazione di biomacromolecole (es. proteine)

Il frazionamento in campo-flusso, abbreviato **FFF (Field-Flow Fractionation)**, è una tecnica di separazione in cui un campo (gravitazionale, gradiente termico, elettrico, magnetico etc,) viene applicato ad una sospensione fluida o soluzione pompata attraverso un canale stretto e lungo, perpendicolare alla direzione di flusso, al fine di provocare la separazione delle particelle presenti nel fluido, dipendente dal loro differenti "mobilità" sotto la forza esercitata dal campo.



Il meccanismo di separazione nasce da differenze di mobilità per la particella sotto le forze del campo, in equilibrio con le forze di diffusione