



VERONICA TERMOPOLI, GIORGIO FAMIGLINI, PIERANGELA PALMA,
MAURIZIO PIERGIOVANNI, ACHILLE CAPPIELLO
LABORATORIO CROMATOGRAFIA LIQUIDA E SPETTROMETRIA DI MASSA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE PURE ED APPLICATE
VERONICA.TERMOPOLI@UNIURB.IT

LC-EI-MS: UN NUOVO APPROCCIO STRUMENTALE

In questo lavoro viene presentato un nuovo strumento, chiamato Liquid-EI (LEI), capace di interfacciare efficacemente la cromatografia liquida (LC) con la spettrometria di massa a ionizzazione elettronica (MS). L'interfaccia LEI è completamente indipendente e può essere adattata ad ogni sistema GC-MS per una rapida conversione ad LC-MS. Il suo funzionamento verrà di seguito descritto.

La cromatografia liquida ad alte prestazioni e la spettrometria di massa a ionizzazione elettronica sono due tecniche di analisi che, in linea teorica, sembrano essere incompatibili. La prima necessita di condizioni di lavoro diametralmente opposte a quelle richieste per il corretto funzionamento di uno spettrometro di massa a ionizzazione elettronica, quali: temperatura ambiente, alta pressione e campione in fase liquida. Viceversa, la spettrometria di massa a ionizzazione elettronica richiede: alta temperatura, alto vuoto ed il campione in fase gassosa. L'uso combinato delle due tecniche però, qualora possibile, sarebbe di grande aiuto in numerose applicazioni come l'analisi di molecole con peso molecolare medio-piccolo (<1000 Dalton). Un LC-MS con sorgente EI consentirebbe infatti l'acquisizione di spettri di massa altamente informativi (tipici della ionizzazione elettronica) e la simultanea determinazione di composti con diverse caratteristiche chimico-fisiche, il tutto con un unico strumento a basso costo e di facile utilizzo. La base scientifica di tale ricerca si fonda sulla certezza che la ionizzazione elettronica possa contribuire a migliorare le analisi LC-MS delle molecole organiche a basso-medio peso molecolare, facilitando la loro identificazione (per mezzo di librerie elettroniche), fornendo informazioni strutturali in caso di sostanze incognite, velocizzando le analisi LC-MS attraverso l'utilizzo di software di deconvoluzione e permettendo l'analisi quali-quantitativa degli analiti in esame. Questa cer-

tezza ha spinto il gruppo di ricerca del Prof. Cappiello a compiere numerosi sforzi per sviluppare un moderno ed efficiente sistema LC-MS basato sulla ionizzazione elettronica.

La prima interfaccia, chiamata Direct-EI [1] per enfatizzare la semplicità con cui avveniva la connessione tra il cromatografo e lo spettrometro di massa, consisteva in un capillare che entrava direttamente nella sorgente dello spettrometro di massa e dal quale fluiva la fase mobile proveniente da un nano-HPLC. Nebulizzazione e successiva vaporizzazione di solvente ed analiti, seguite immediatamente dalla loro ionizzazione, si verificavano tutte in sorgente in condizioni di alto vuoto ed alta temperatura (Fig. 1). Il Direct-EI è stato utilizzato con successo in diverse applicazioni [2-4] che hanno dimostrato come la ionizzazione elettronica può contribuire a migliorare le analisi LC-MS. I dati ottenuti hanno dimostrato che, da un punto di vista applicativo, questa tecnica si distingue da quelle a pressione atmosferica commercialmente disponibili per una minore dipendenza dalla polarità degli analiti, dalla composizione della fase mobile e dalla presenza di una matrice complessa. La possibilità di utilizzare la ionizzazione elettronica in LC consente di produrre spettri di massa riproducibili e caratteristici per un gran numero di sostanze di basso-medio peso molecolare che non possono essere analizzate mediante LC, come i pesticidi organoclorurati [5]. Inoltre, a differenza delle comuni interfacce LC-MS, l'interfaccia Direct-EI non

L'articolo è basato sul contributo presentato in occasione delle "Giornate di Chimica Analitica" dedicate alla memoria del prof. Francesco Dondi - Ferrara, 10-11 luglio 2017.



è soggetta ad effetto matrice, data la ionizzazione di tipo fisico su cui si basa [6]. Partendo da questi risultati, il nostro gruppo di ricerca si è focalizzato sui punti deboli dell'interfaccia, quali: occlusione occasionale del capillare di nebulizzazione, impossibilità di superare i 350 °C di temperatura in sorgente, difficoltà nel riposizionare correttamente il capillare nelle operazioni di ordinaria manutenzione, per cercare di sviluppare un'interfaccia che potesse superare questi limiti. Il risultato è stato lo sviluppo di un nuovo prototipo, chiamato LEI (Liquid Electron Ionization), che

ha rappresentato una vera e propria rivoluzione. La nuova interfaccia, a differenza del Direct-EI dove la conversione da fase liquida a fase gassosa del soluto dipendeva quasi interamente dalla posizione del capillare e dalla geometria della sorgente, porta i processi di nebulizzazione e vaporizzazione fuori dalla zona di alto vuoto della sorgente dello spettrometro di massa con il risultato di essere completamente indipendente dal resto della strumentazione. Questa caratteristica permette al LEI di adattarsi a qualsiasi sistema GC-MS, per una veloce conversione in LC-MS. Inoltre, con alcuni accorgimenti può essere utilizzata con qualsiasi sistema HPLC. Le pompe a nano flussi e flussi capillari possono essere collegate direttamente, mentre l'HPLC convenzionale richiede l'uso di uno splitter a due vie per ridurre il flusso ad un valore compatibile con il vuoto presente in sorgente, normalmente compreso tra 0,5 e 1 µL/min.

Le ottime prestazioni che la nuova interfaccia ha già dimostrato sono dovute in parte alla differente conversione della fase liquida in fase gassosa che prima avveniva in sorgente in alto vuoto ed ora in una specifica zona dell'interfaccia esterna alla sorgente dello spettrometro, chiamata "camera di vaporizza-

zione" (VMC), progettata per dividere appunto gli ambienti a diversa pressione: il sistema HPLC (zona a pressione ambiente) e la sorgente di ionizzazione (zona a bassissima pressione). Nella VMC, grazie alla sua lunghezza ed al suo diametro molto ridotto, esiste un gradiente di vuoto tale da mantenere la zona di vaporizzazione poco al di sotto della pressione atmosferica, consentendo che la conversione liquido-gas avvenga praticamente a pressione atmosferica. Il passaggio di stato viene completamente assicurato e l'adsorbimento degli analiti sulla superficie della VMC ridotto al minimo per la presenza di uno specifico rivestimento in silice, definito liner, posizionato lungo tutta la VMC. Un secondo capillare di silice di diametro inferiore, definito inlet, penetra nella prima porzione del liner e vi rilascia l'eluato proveniente dall'HPLC. Un gas inerte (He) viene fatto fluire nella VMC a supporto del gradiente di vuoto per un migliore e più rapido trasferimento della fase gassosa nella sorgente dello spettrometro di massa (Fig. 2).

Questa configurazione ha ridotto al minimo gli episodi di occlusione dell'inlet, riducendo notevolmente il tempo di residenza degli analiti nella zona ad alta temperatura e promuovendo così una loro im-

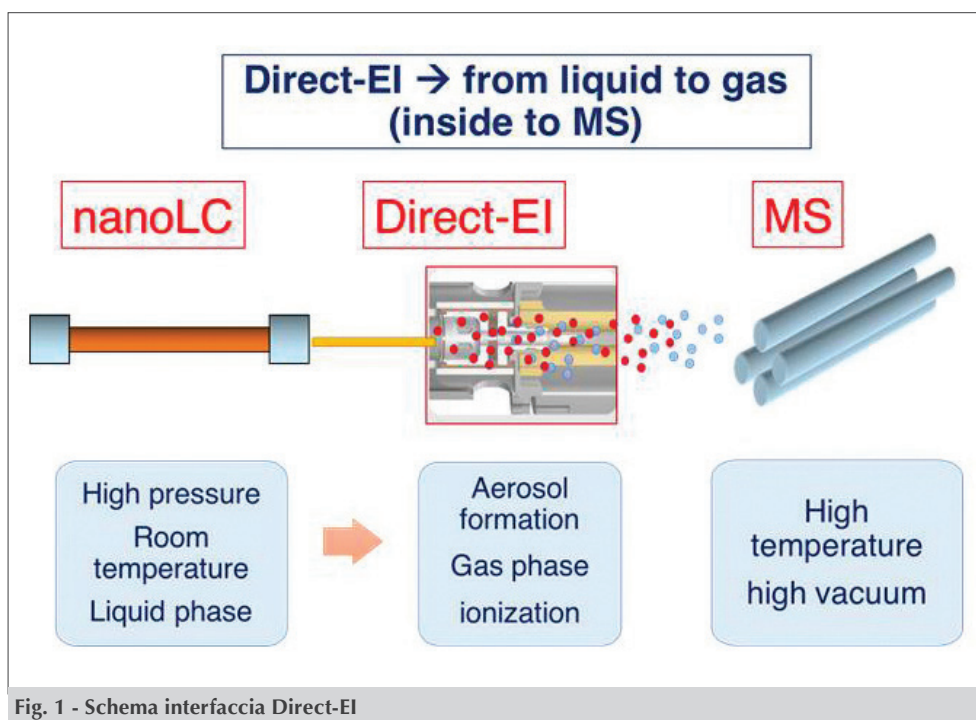


Fig. 1 - Schema interfaccia Direct-EI

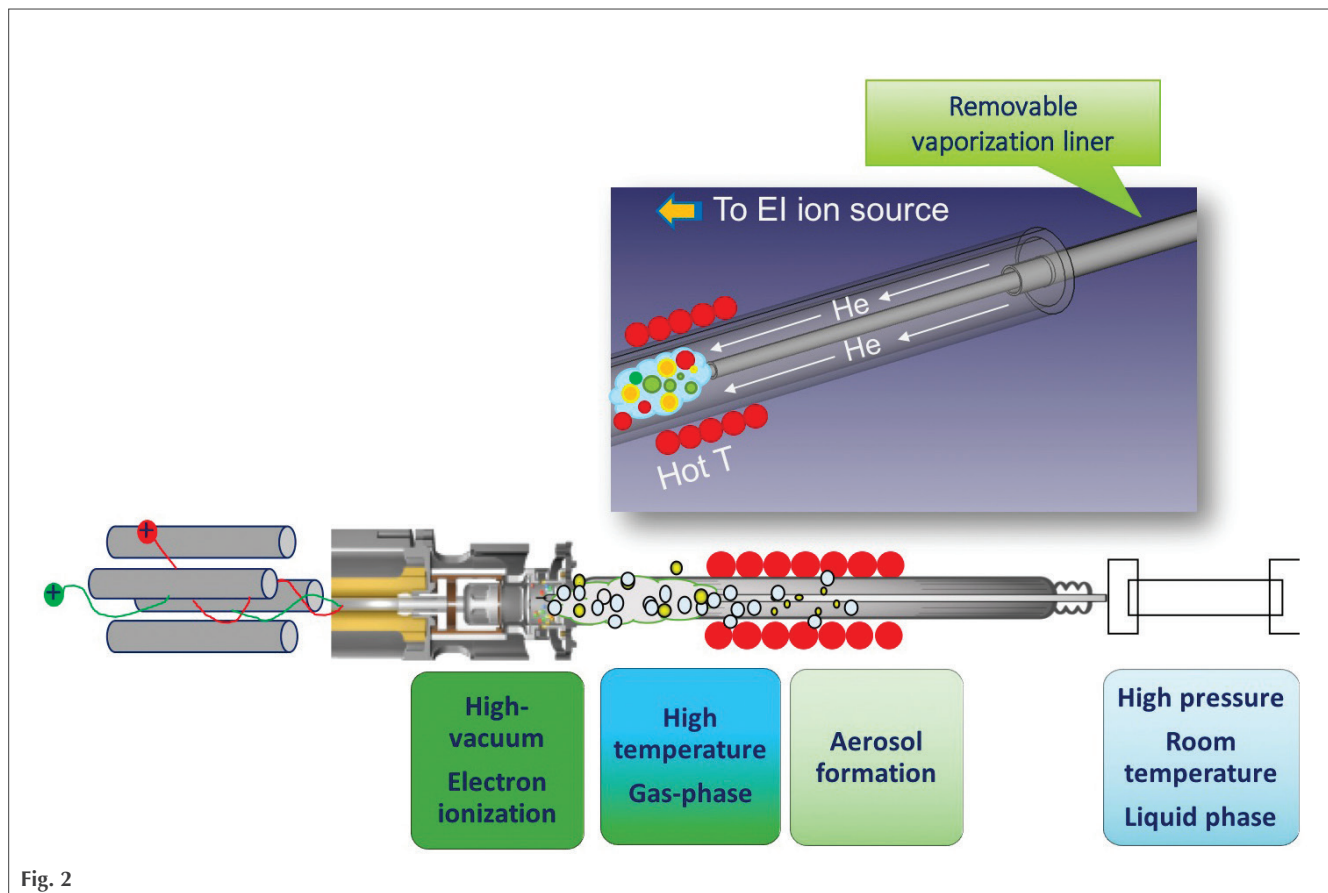


Fig. 2

mediata conversione in fase gassosa senza il rischio di degradazione termica. Il LEI è attualmente in fase di valutazione sia dal punto di vista strumentale che delle possibili applicazioni, i risultati ottenuti sono stati oggetto di recente pubblicazione [7]. La commercializzazione di una tale interfaccia permetterebbe di disporre di un ulteriore valido mezzo per la determinazione e l'analisi di numerose sostanze in vari campi di applicazione. Una freccia in più all'arco degli analisti!

BIBLIOGRAFIA

- [1] A. Cappiello, G. Famiglini *et al.*, *Anal. Chem.*, 2007, **79**(14), 5364. <https://pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/ac070468l>
- [2] H. Truffelli, G. Famiglini *et al.*, *Anal. and Bioanal. Chemistry*, 2011, **400**(9), 2933.
- [3] A. Cappiello, B. Tirillini *et al.*, *Phytochem. Analysis*, 2012, **23**(3), 191.
- [4] A. Cappiello, G. Famiglini *et al.*, *Anal. Chem.*,

2011, **83**(22), 8537.

- [5] G. Famiglini, P. Palma *et al.*, *Anal. Chem.*, 2009, **81**(17), 7373.
- [6] A. Cappiello, G. Famiglini *et al.*, *Anal. Chem.*, 2008, **80**(23), 9343.
- [7] V. Termopoli, G. Famiglini *et al.*, *Anal. Chem.*, 2017, **89**(3), 2049. <https://pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/acs.analchem.6b04646>

LC-EI-MS: a New Instrumental Approach

A new interface, called Liquid-EI (LEI), able to couple liquid chromatography (LC) and electron ionization mass spectrometry (MS), is presented. LEI is completely independent from the rest of the instrumentation and can be adapted to any gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) system, as an add-on for a rapid LC-MS conversion. Proof of concept of the interface is here described.