

## Accoppiamento fra tecniche cromatografiche e spettrometria di massa

Le principali tipologie di accoppiamento fra le cromatografie GC e HPLC e la spettrometria di massa sviluppate finora sono:

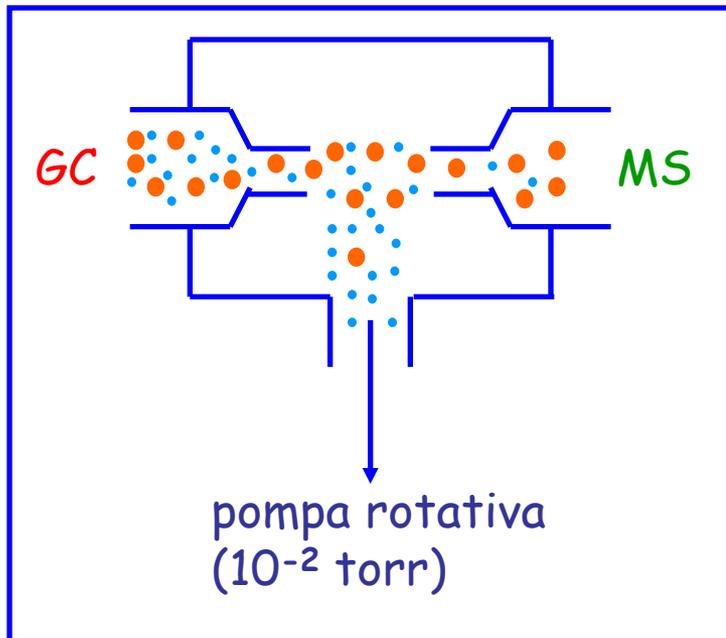
Tecnica	Tipologia di accoppiamento
GC-MS	con interfaccia (a getto, a tubo/membrana porosi)
	diretto (per GC con colonne capillari)
HPLC-MS	Particle Beam (PB)
	Ionizzazione ElectroSpray (ESI)
	Ionizzazione chimica a pressione atmosferica (APCI)

# Accoppiamento GC-MS

## ❖ Colonne impaccate

In questo caso il flusso di gas eluente dalla colonna è troppo elevato (**molte decine di mL/min**) perché lo si possa introdurre direttamente all'interno della sorgente di ionizzazione dello spettrometro di massa, che è posta sotto vuoto.

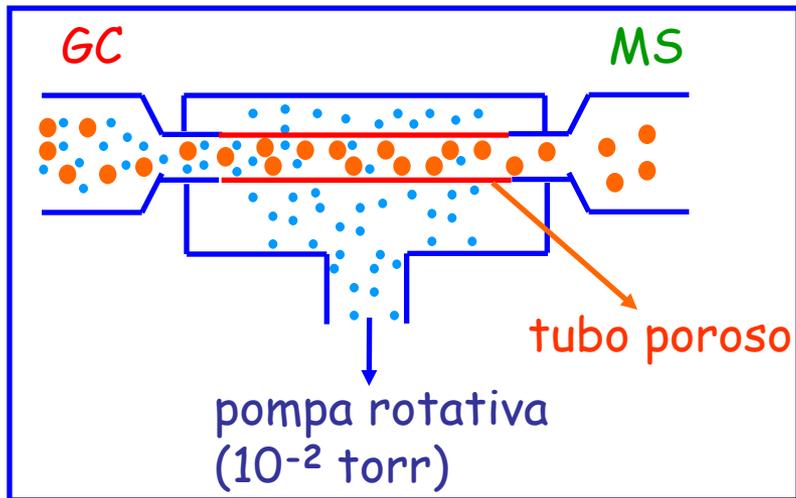
Occorre quindi inserire fra gas cromatografo e spettrometro di massa un'interfaccia che elimini preferenzialmente parte del gas di trasporto:



## Separatore a getto (Becker-Ryhage)

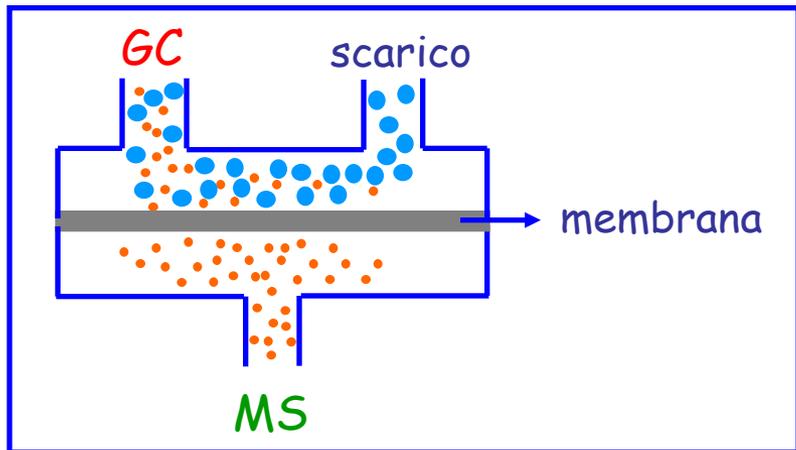
L'estremità della colonna GC termina in una camera posta sotto vuoto e si affaccia sull'ingresso dello spettrometro di massa.

Le molecole di gas di trasporto (**azzurre**), di solito più piccole di quelle di analita (**arancione**), vengono allontanate dal flusso molto più efficacemente, mediante una pompa rotativa.



## Separatore a tubo

Fra l'estremità della colonna e l'ingresso dello spettrometro MS in questo caso è posto un tubo poroso che può essere attraversato soltanto dalle molecole di gas di trasporto, più piccole, che vengono facilmente allontanate.



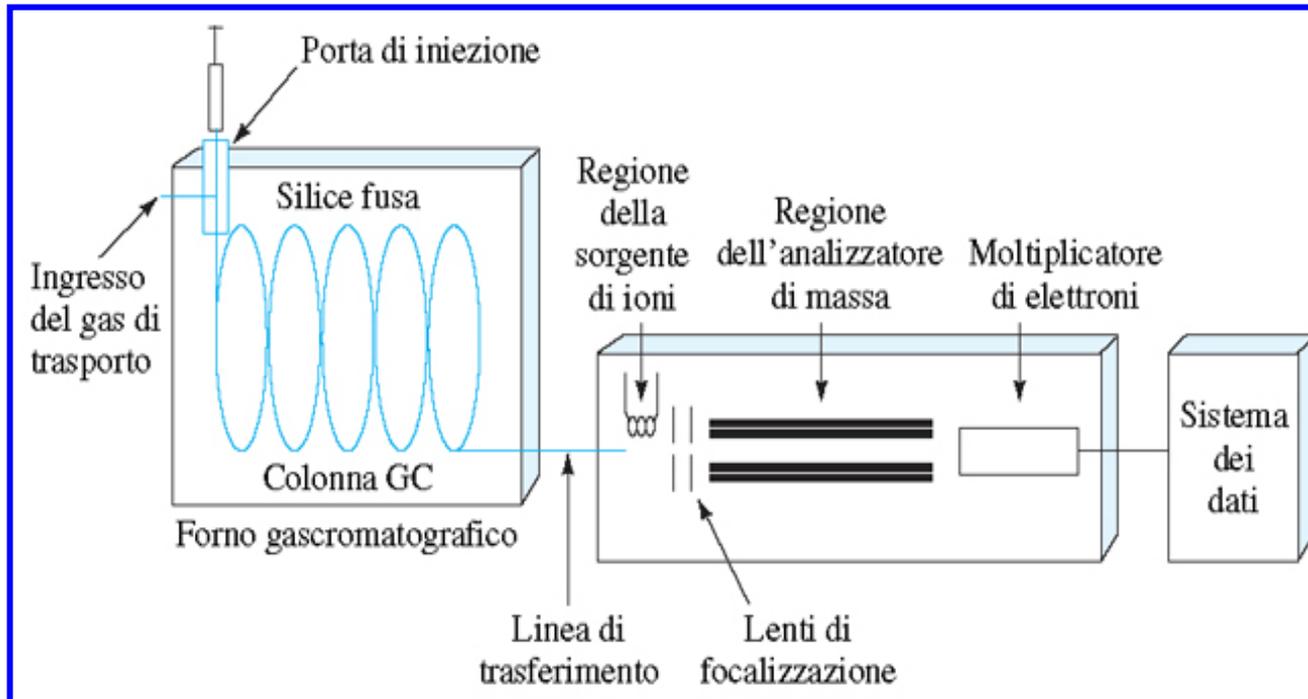
## Separatore a membrana

E' impiegato nei casi particolari in cui le molecole di gas di trasporto siano più grandi di quelle dell'analita (ad esempio nell'analisi GC di gas inorganici).

Quelle di analita riescono a passare attraverso i pori della membrana e raggiungono lo spettrometro di massa.

## ❖ Colonne capillari

In questo caso il flusso di gas eluente dalla colonna è sufficientemente piccolo (pochi mL/min) da consentire il suo ingresso diretto nella sorgente di ionizzazione (spesso si tratta di una sorgente a ionizzazione elettronica/chimica).



Oltre ai **quadrupoli** in GC-MS vengono spesso impiegati **analizzatori a trappola ionica o a tempo di volo**.

I sistemi **ToF** consentono la registrazione di spettri di massa in tempi rapidissimi.

La **linea di trasferimento (transfer line)** è di solito un tubo capillare riscaldato a temperature paragonabili a quelle del forno gas-cromatografico, in modo da evitare la ri-condensazione degli analiti prima dell'ingresso nello spettrometro.

## Modalità di analisi in GC-MS

A differenza degli altri rivelatori GC lo spettrometro di massa non fornisce un responso in modo continuo al passaggio di un analita (come accade per il FID, ad esempio).

Durante l'eluizione cromatografica esso acquisisce, con un'opportuna frequenza, spettri di massa, che vengono conservati nel computer che gestisce lo strumento.

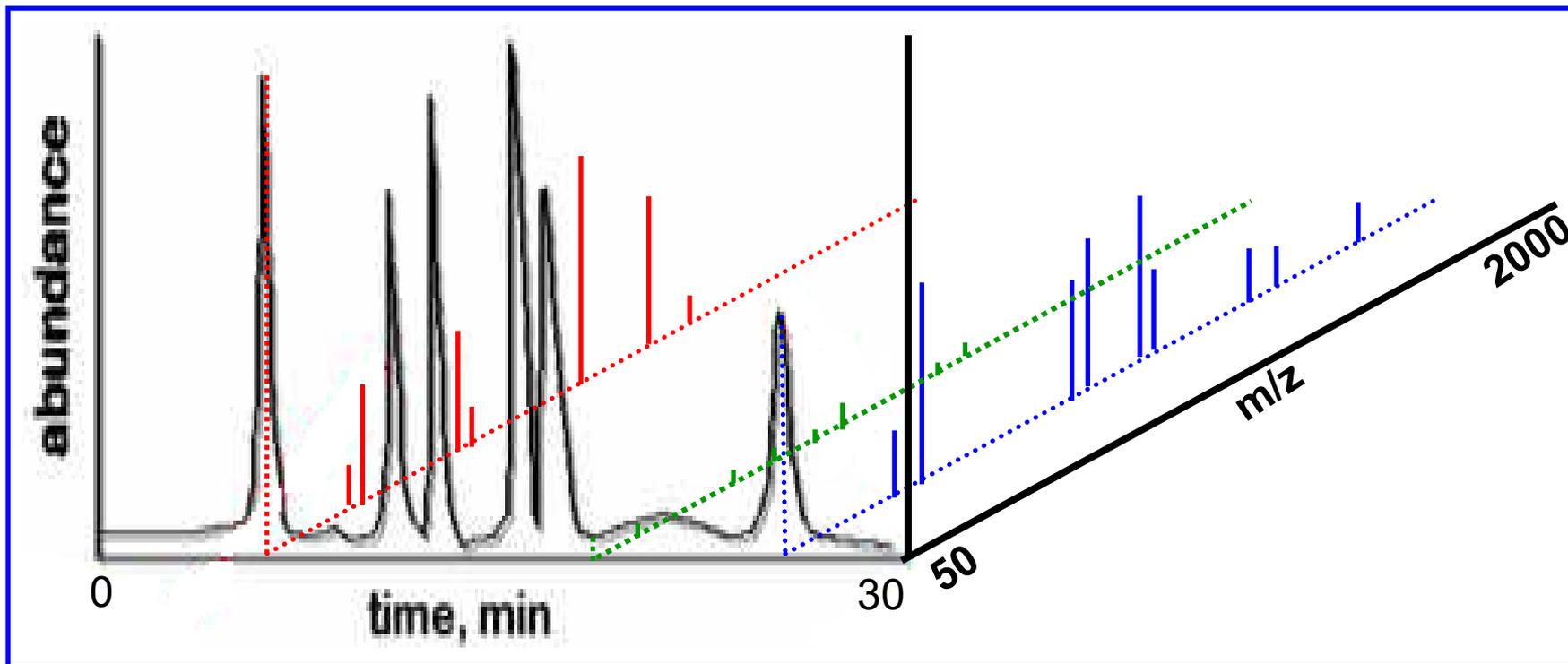
Il cromatogramma GC-MS viene successivamente ricostruito mediante un'elaborazione di tali spettri, che può avvenire secondo due modalità:

### ✓ Total Ion Current (TIC)

Si acquisisce uno spettro di massa su ampio intervallo di rapporto  $m/z$  (di solito da 50 a 2000) del gas effluente dalla colonna cromatografica.

Il computer somma le intensità dei picchi presenti nello spettro di massa ottenuto in un certo intervallo di tempo durante la corsa cromatografica.

Il dato risultante (abbondanza) viene usato come ordinata del punto corrispondente a quel tempo nel cromatogramma GC-MS.



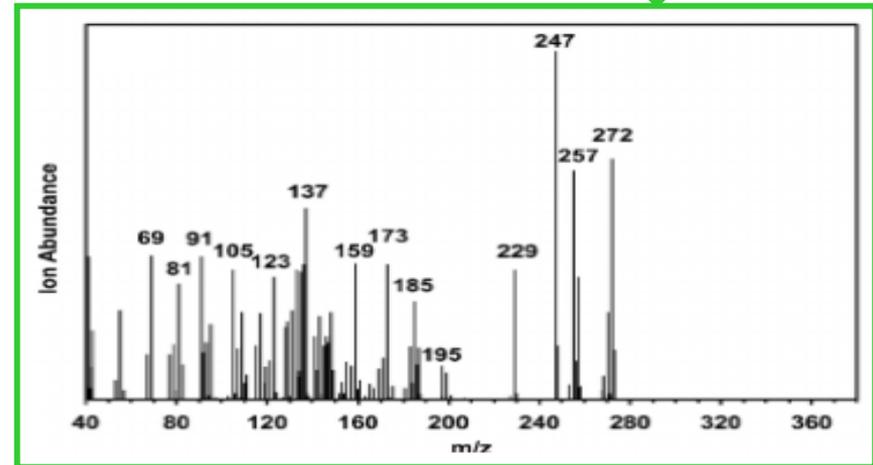
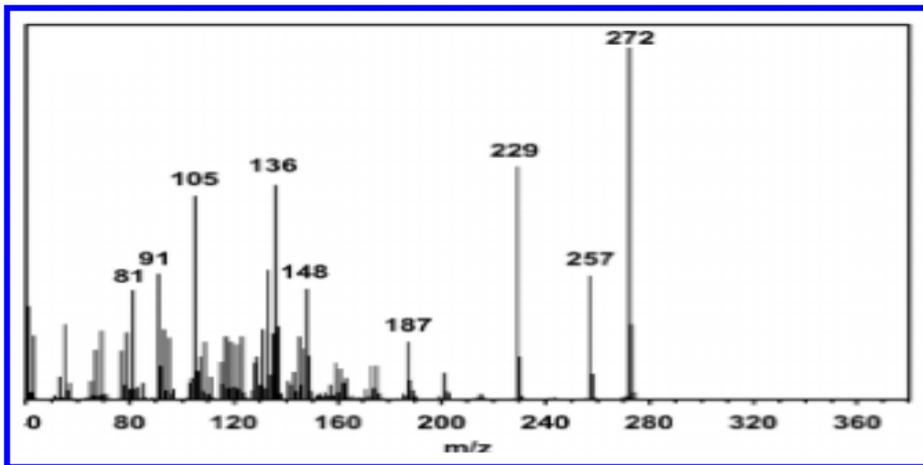
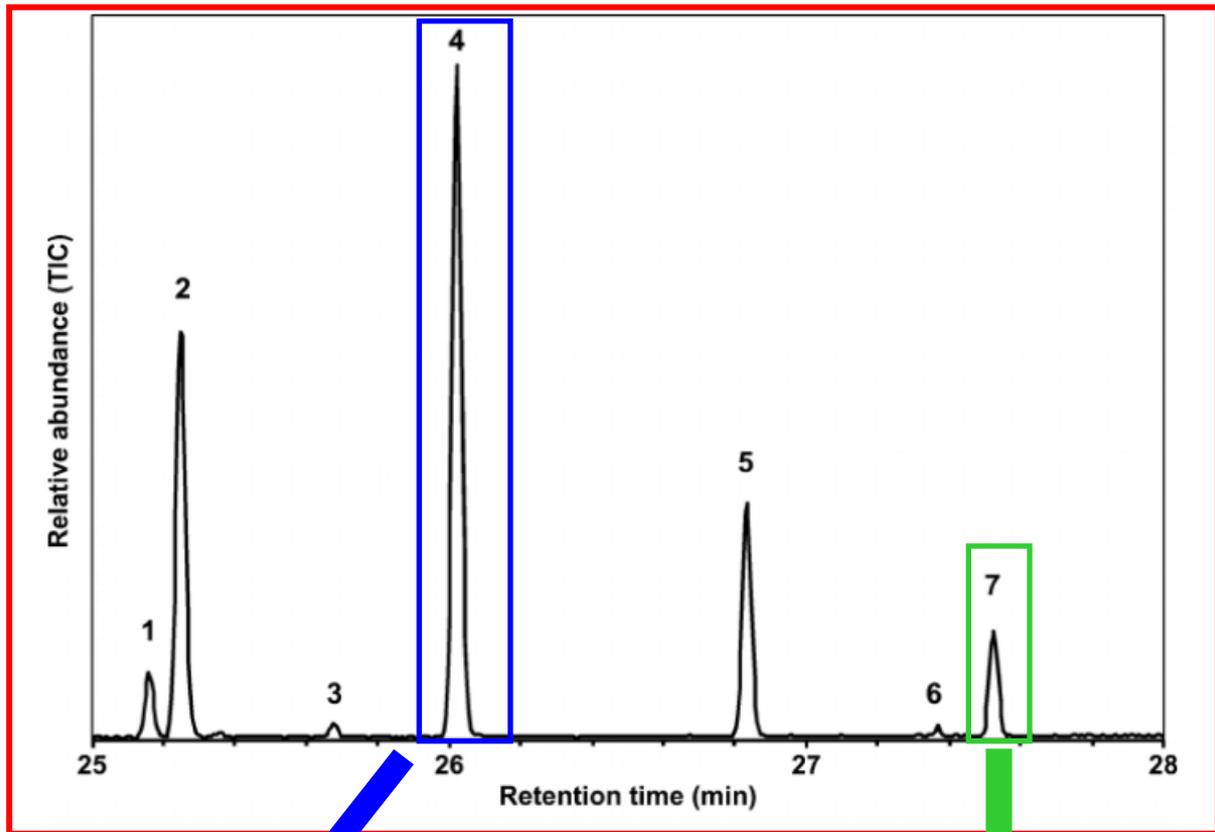
**Il dominio dei dati è di tipo tridimensionale:** ad intervalli prestabiliti di tempo di ritenzione si ottiene uno spettro di massa, tipicamente di tipo EI o CI.

In corrispondenza dei tempi di ritenzione in cui avviene l'eluizione della sola fase mobile lo spettro MS conterrà picchi poco intensi, legati ad impurezze del gas di trasporto (**spettro verde**).

**Gli spettri corrispondenti invece a picchi cromatografici (ad es. quelli in rosso e in blu) contengono spesso i frammenti, e quindi informazione utile sulla struttura molecolare, della sostanza eluita in corrispondenza di quei picchi.**

## Analisi qualitativa in GC-MS

L'ottenimento di spettri di massa sottesi ai picchi via via eluiti nel cromatogramma consente di avviare ricerche in banca dati per risalire all'identità dei composti corrispondenti:



Il confronto, in modalità automatizzata, con le centinaia di migliaia di spettri di massa conservati in opportune banche dati consente molto spesso di identificare direttamente un composto incognito:

#	S.	Name
4	A	Scan 1339 (26.715 min) of JAN21
5	A	Scan 1889 (36.437 min) of JAN25
6	A	Scan 1108 (22.633 min) of JAN26
7	A	Scan 222 (6.972 min) of DEC010
8	A	Scan 815 (17.453 min) of DEC07
9	A	Scan 741 (16.144 min) of DEC10X
10	A	Average of 38.980 to 39.086 min
11	A	Scan 1038 (21.397 min) of MAR0

(Text File) Scan 222 (6.972 min) of DEC010701007

Name: Scan 222 (6.972 min) of DEC010701007.d 9906  
 MW: N/A ID#: 625 DB: Text File  
 120 m/z Values and Intensities:

4	32	12	5	13	20
14	39	15	70	16	4
17	2	18	4	19	14
20	4	24	2	25	9
26	45	27	232	28	67
29	685	30	29	31	197
32	5	33	7	37	3

mainlib: 147198 total spectra

Scan 222 (6.972 min) of DEC0 Head to Tail MF=999 RMF=999 Ethyl heptadecylacetate

Li.	Ma.	R. Mol.	Prob.	Name
1	M	987	98.2	Ethyl hept
2	M	600	0.98	Ethyl pent
3	M	567	0.25	4,6-Nonan
4	M	554	0.16	1,1,1,5,5,6
5	M	543	0.11	Butanoic c
6	M	504	0.02	1,3-Dioxar
7	M	502	0.02	1,3-Dioxar
8	M	499	0.02	1,3-Dioxar

(mainlib) Ethyl heptadecylacetate

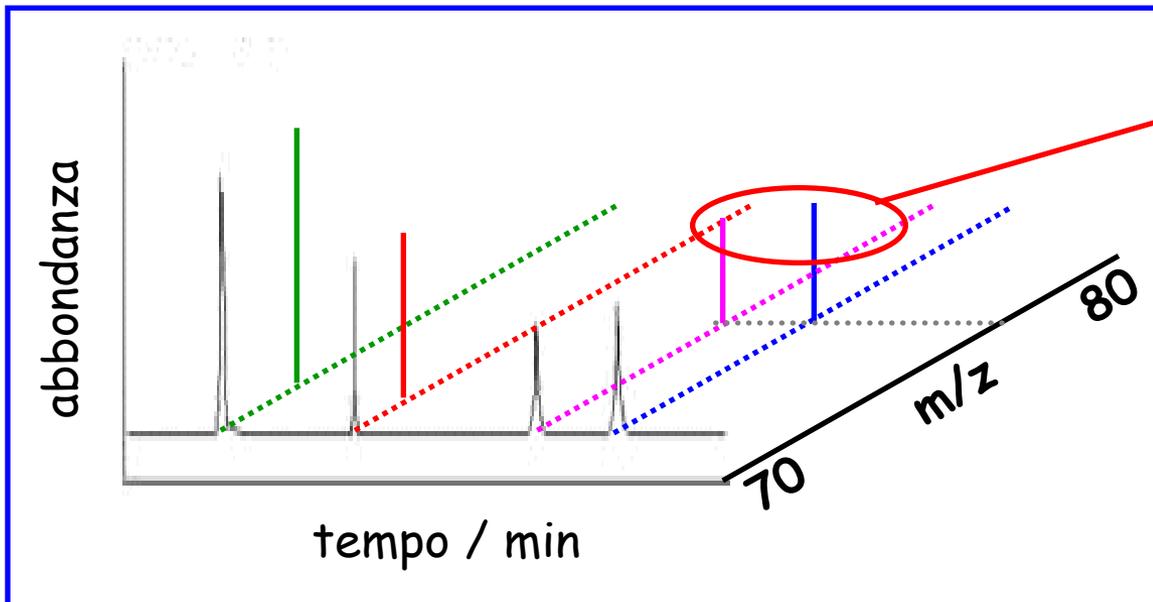
Name: Ethyl heptadecylacetate  
 Formula: C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>  
 MW: 284 CASE: 336-62-9 NIST#: 135929  
 ID#: 26564 DB: mainlib  
 Other DBs: None  
 Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 1994  
 119 m/z Values and Intensities:

12	5	13	20	14	39
15	70	16	4	17	2
18	4	19	14	20	4
24	1	25	9	26	45
27	232	28	67	29	686
30	29	31	197	32	5

## ✓ Selective Ion Monitoring (SIM)

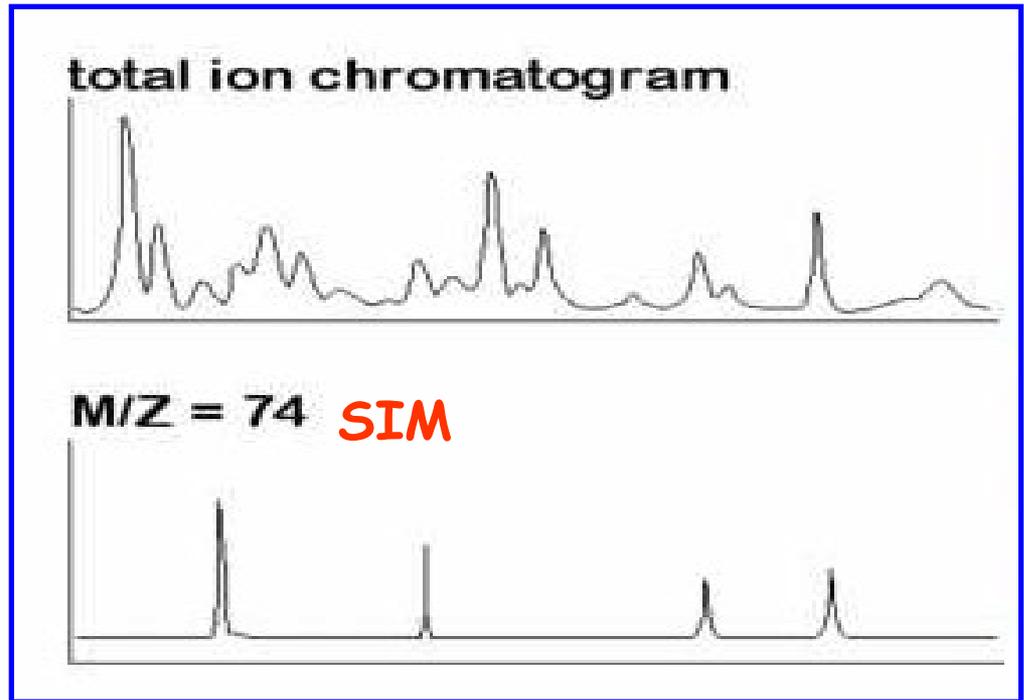
Quando si è interessati alla **ricerca di un particolare analita (o di un loro ristretto numero)** all'interno di una miscela sottoposta a separazione GC-MS è possibile impostare l'acquisizione MS soltanto in **un ristretto intervallo di rapporti  $m/z$  (di solito 10 unità al massimo)**, contenente quello dell'analita d'interesse, realizzando così un cromatogramma di tipo **SIM**.

Il cromatogramma GC-MS SIM verrà dunque costruito dal computer riportando in ordinata solo l'intensità degli ioni presenti nel piccolo intervallo di rapporti  $m/z$  esplorato:

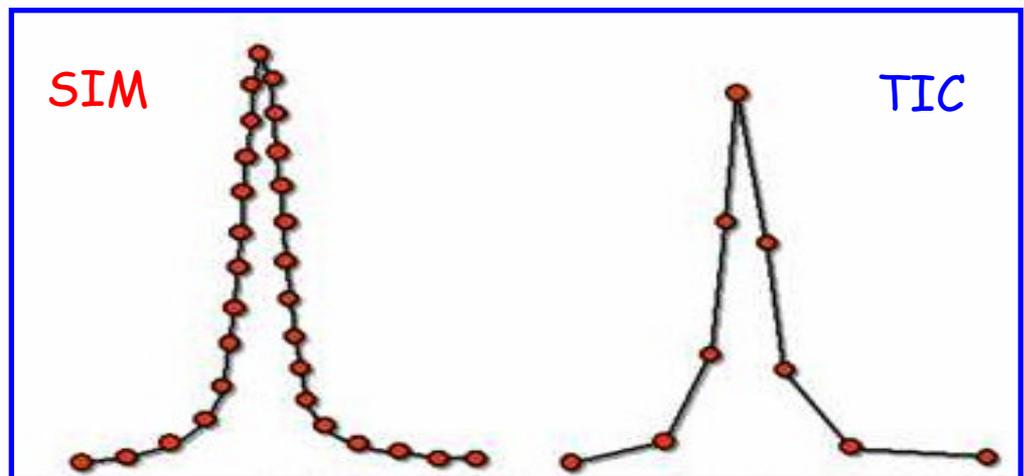


Composti isomerici/isobarici (o aventi un frammento in comune)

La modalità SIM è utile soprattutto quando si vuole cercare un particolare analita all'interno di miscele complesse, che in modalità TIC forniscono solitamente decine (o anche centinaia) di picchi diversi:

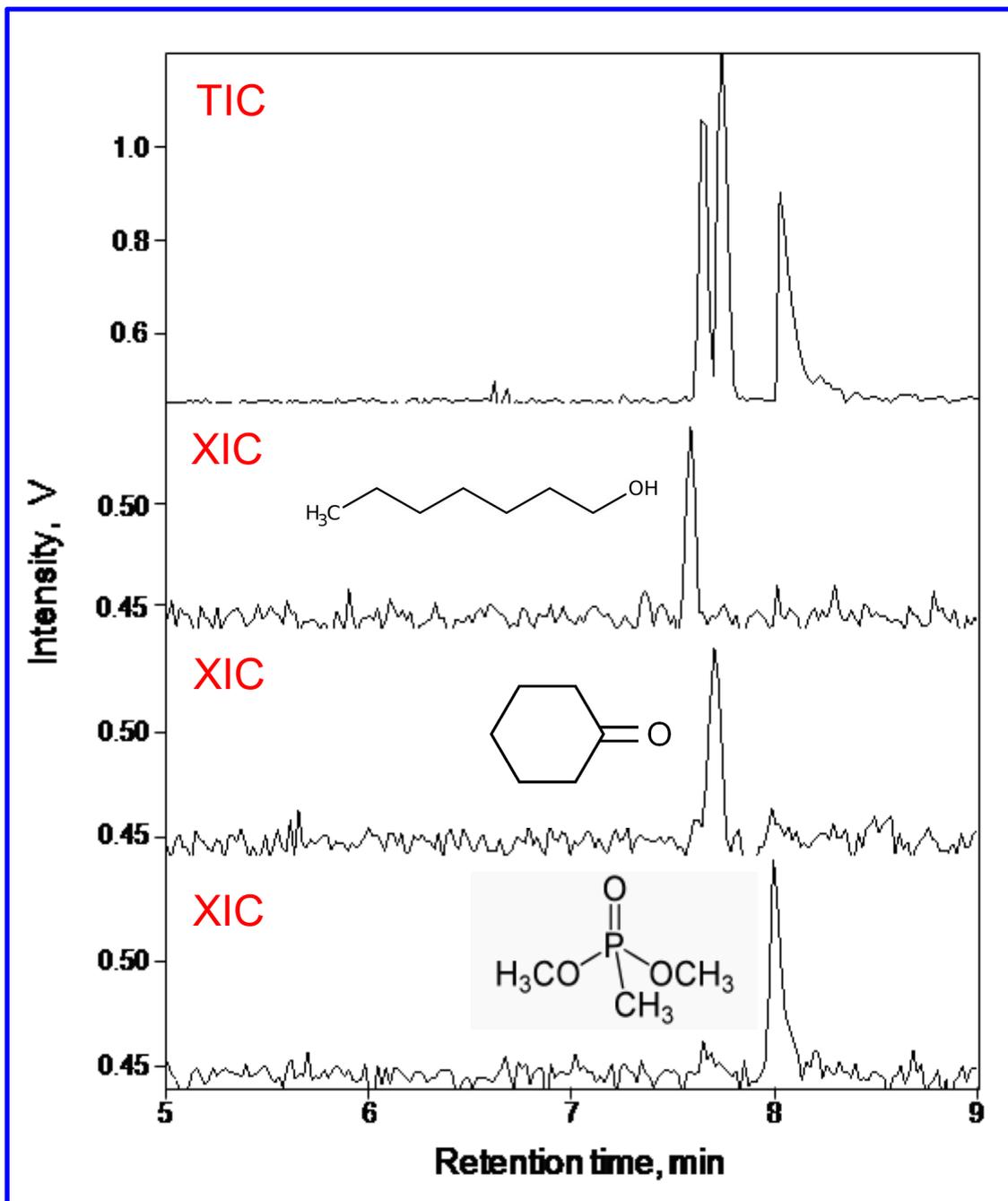


Poiché la scansione SIM è molto più breve di quella TIC è possibile ricostruire un picco cromatografico con molti più punti rispetto al caso della TIC, dunque in modo più fedele:



E' possibile costruire un cromatogramma simile ad un tracciato SIM anche a partire da un'acquisizione TIC, imponendo al computer di **estrarre dagli spettri MS totali soltanto l'intensità relativa allo ione con il rapporto m/z desiderato.**

Il tracciato ottenuto viene definito **Cromatogramma di Corrente Ionica Estratta (eXtracted Ion Current, XIC, talvolta indicato anche con l'acronimo EIC):**



## Accoppiamento HPLC-MS

HPLC-MS: la "strana coppia"

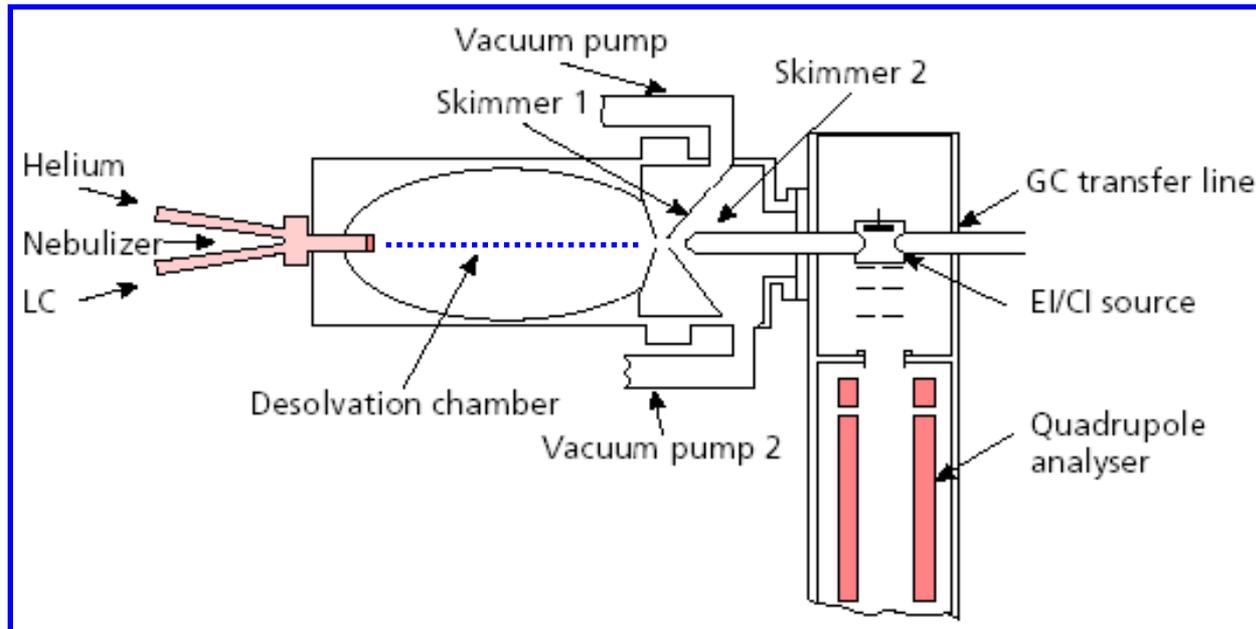
- ✓ L'HPLC è solitamente destinata all'analisi di analiti troppo poco volatili per essere separati in gas-cromatografia mentre la spettrometria di massa è applicabile direttamente soltanto ad analiti volatili
- ✓ I flussi di liquido tipicamente impiegati in HPLC (1 mL/min), se vaporizzati, corrispondono a flussi di gas dell'ordine di 1 L/min, assolutamente non gestibili dai sistemi da vuoto degli spettrometri di massa.



Si è reso necessario sviluppare interfacce in grado di trasferire in fase gassosa (aerosol) la fase mobile HPLC e gli analiti in essa disciolti e, successivamente, trasferire parte di tale fase gassosa, arricchita in analita, all'interno dello spettrometro di massa.

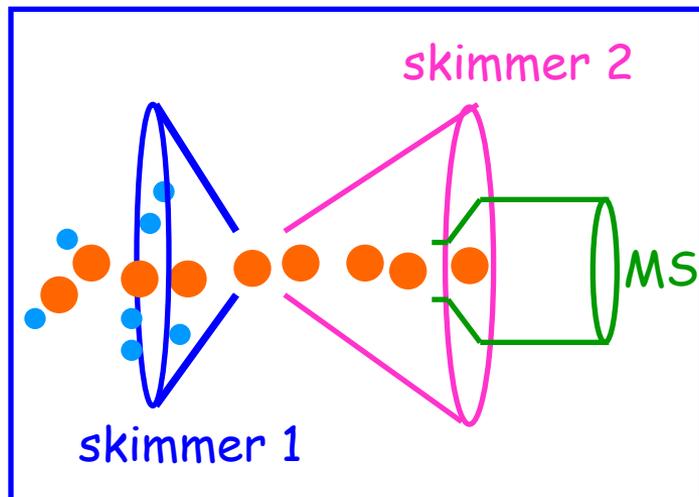
## Interfaccia Particle Beam (PB)

Anche se non è storicamente la prima sviluppata, l'interfaccia PB, introdotta nel 1984, è la prima che abbia dimostrato una discreta applicabilità pratica in HPLC-MS, come mostrato nella seguente figura, relativa ad un sistema misto LC/GC-MS:



All'interno dell'interfaccia PB l'eluente proveniente dalla colonna HPLC viene trasformato in aerosol all'interno di un **nebulizzatore**, l'aerosol viene poi desolvato in una **camera riscaldata (desolvation chamber)** e le molecole di analita in esso presenti vengono selezionate da un sistema di **skimmer** posto subito prima dell'ingresso nello spettrometro di massa.

## Principio dello skimmer



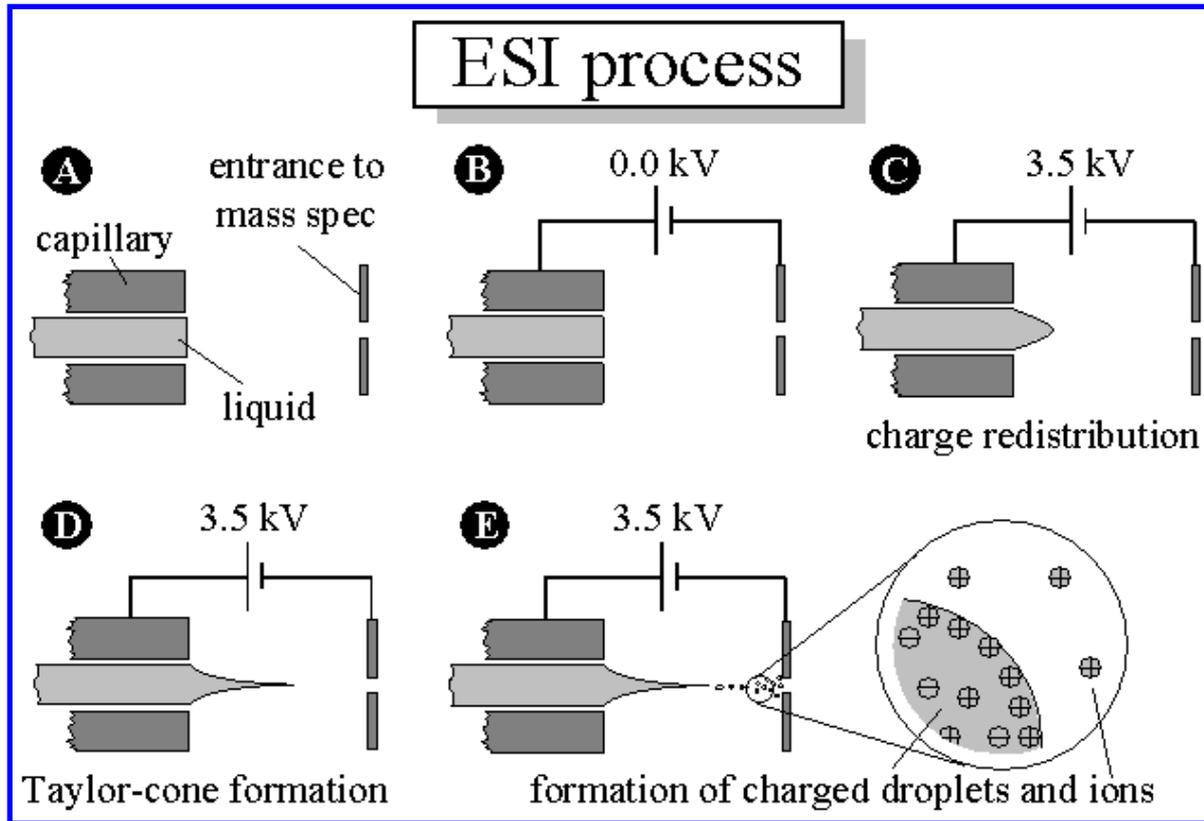
Le molecole di analita (arancione) liberate nella camera di desolvatazione tenderanno, essendo di solito più grandi (e quindi più pesanti) rispetto a quelle del solvente (azzurro), a mantenersi più vicine alla traiettoria che collega l'orifizio del nebulizzatore all'asse degli skimmer.

### Vantaggi e svantaggi dell'interfaccia PB

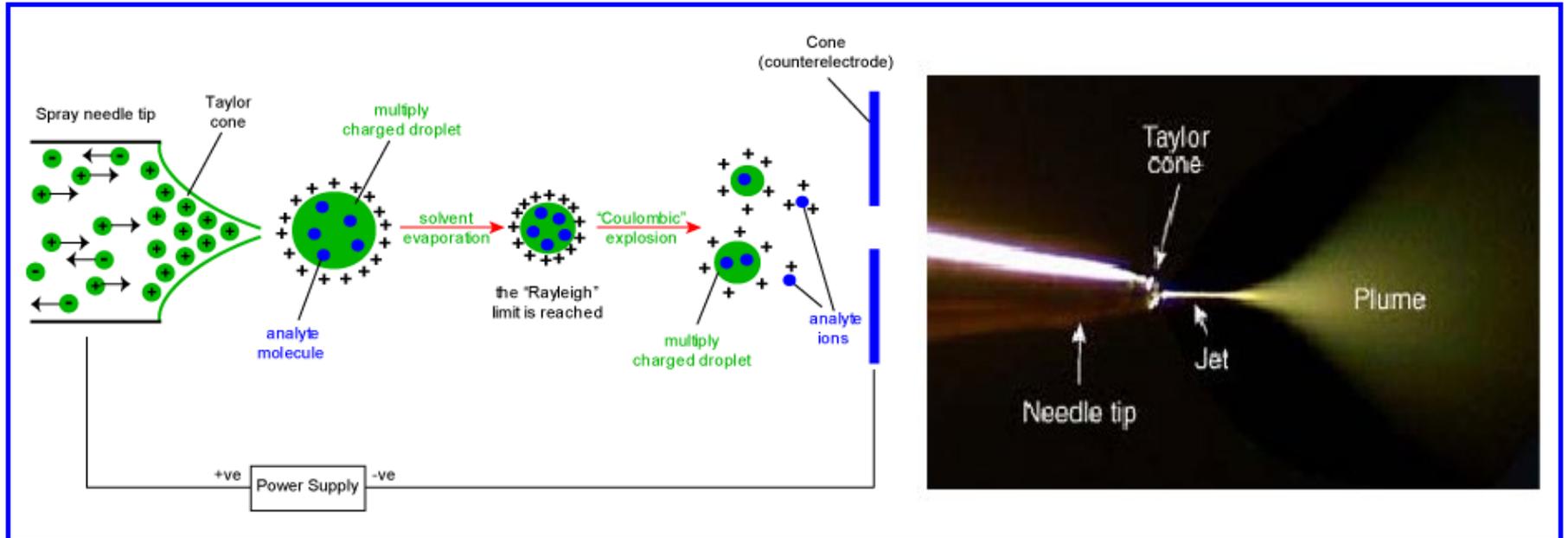
- ↑ Tipicamente è possibile ottenere **spettri MS di tipo EI o CI**, ricchi di informazioni sulla struttura molecolare
- ↑ E' compatibile con **flussi di fase mobile relativamente elevati (0.1-0.5 mL/min)** perché una cospicua porzione del solvente viene allontanata
- ↓ **La sensibilità è bassa**, perché parte dell'analita viene inevitabilmente persa attraverso gli skimmer, specialmente se è leggero
- ↓ **Non è compatibile con l'uso di tamponi non volatili** (perché creano occlusioni nei fori degli skimmer)
- ↓ **Può indurre degradazione termica negli analiti**

# Interfaccia a Ionizzazione Elettrospray (ESI)

E' attualmente **l'interfaccia di gran lunga più usata in HPLC-MS** (uno dei suoi inventori, John B. Fenn, è stato insignito del Premio Nobel per la Chimica nel 2002).



La fase mobile proveniente dalla colonna HPLC viene introdotta in un **capillare o ago metallico** posto ad un'elevata differenza di potenziale (**alcuni kV**) rispetto ad uno **schermo** provvisto di un **foro centrale**, che funge da ingresso allo spettrometro di massa.



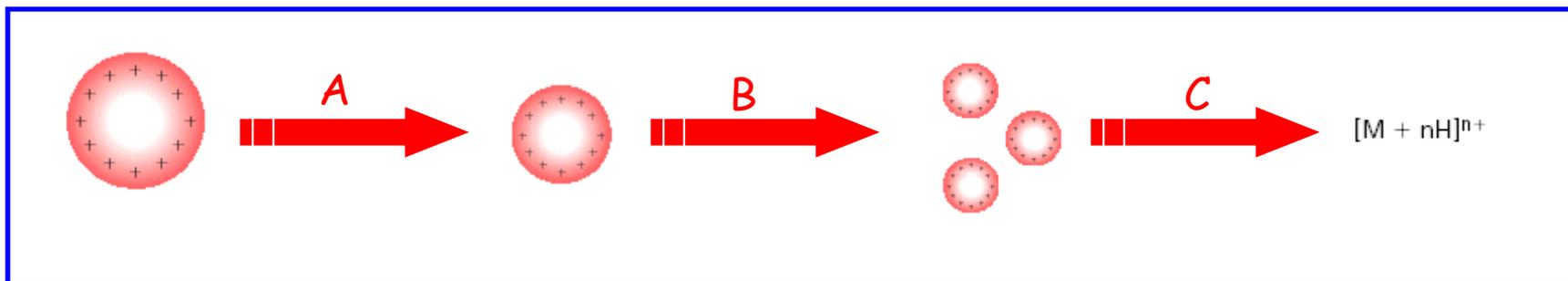
In ESI l'analita è spesso già presente come ione (positivo o negativo) nella fase mobile HPLC, grazie all'azione di acidi/basi aggiunti ad essa.

Nel caso sia carico positivamente il suo controione negativo si scarica sulle pareti del capillare di spray, mentre l'accumulo di cariche positive fa assumere alla soluzione in uscita una caratteristica forma a cono (cono di Taylor), dovuta alla repulsione elettrostatica fra loro.

Quando la repulsione vince la coesione garantita dalla tensione superficiale della fase mobile dal vertice del cono di Taylor si staccano prima filamenti di liquido e poi, da questi, gocce cariche di dimensioni relativamente grandi.

Il processo che porta alla formazione di singoli ioni dell'analita, eventualmente solvatati, a partire dalle gocce può avvenire secondo due meccanismi:

### Fissione coulombiana



- Le gocce più grandi si restringono per evaporazione del solvente
- La concentrazione delle cariche positive in un volume inferiore fa aumentare la repulsione fino a superare la tensione superficiale (la carica supera il cosiddetto limite di Rayleigh): la goccia esplode in gocce più piccole
- Il processo prosegue a catena fino ad arrivare al singolo ione, che può anche essere dotato di più cariche positive  $[M + nH]^{n+}$ .

### Limite di Rayleigh

$$q_{RY} = 8\pi(\epsilon_0\gamma R^3)^{0.5}$$

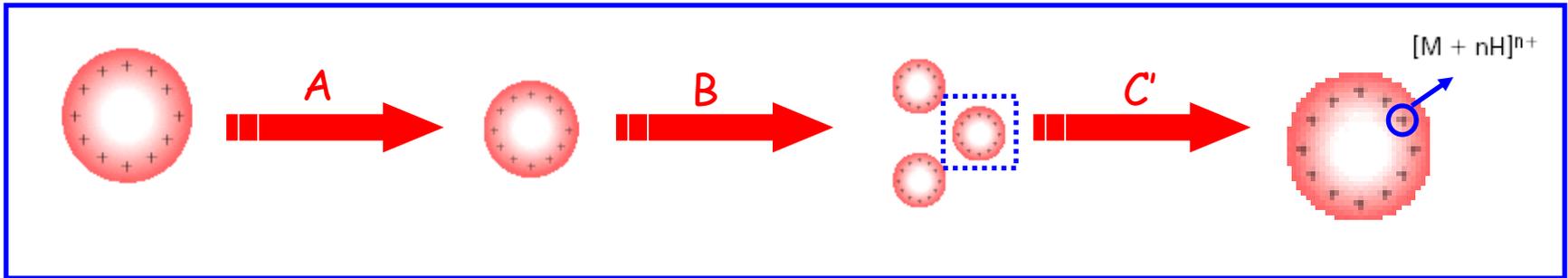
$q_{RY}$  carica-limite

$\epsilon_0$  permittività del vuoto

$\gamma$  tensione superficiale del solvente

$R$  raggio della goccia

## Evaporazione ionica (Modello di Iribarne-Thompson)

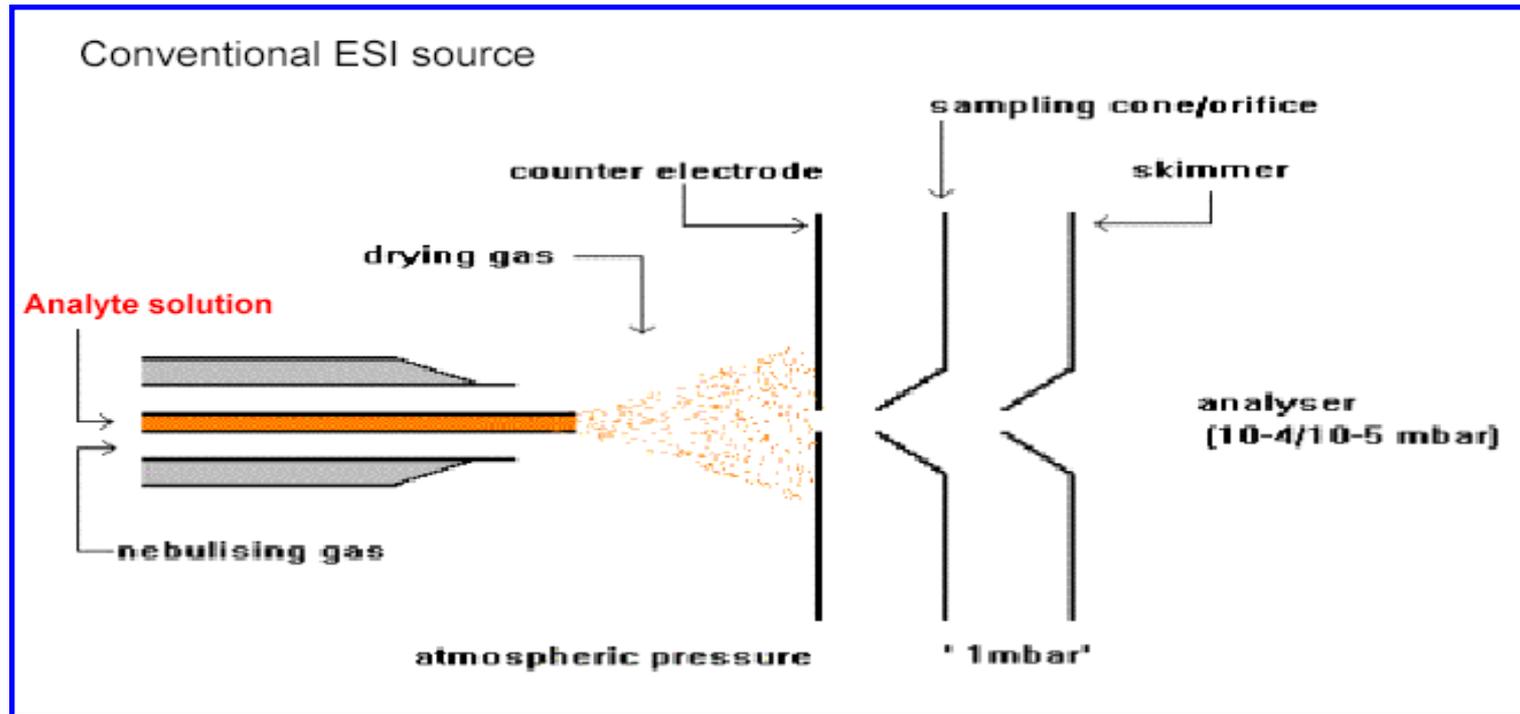


Rispetto al meccanismo precedente, in questo caso uno ione può essere espulso dalla superficie di una goccia prima che questa si riduca ulteriormente (C'), a causa della repulsione elettrostatica da parte degli ioni ad esso adiacenti.

I due meccanismi descritti si verificano spesso in modo complementare, sebbene l'evaporazione ionica sia favorita nel caso di analiti leggeri; entrambi implicano comunque un livello molto basso di frammentazione.

L'ESI è quindi considerata una tecnica di ionizzazione "soft": negli spettri ESI-MS lo ione principale è nella quasi totalità dei casi lo ione molecolare mono(de)protonato o multi(de)protonato, detto quindi "ione pseudo-(o quasi-) molecolare".

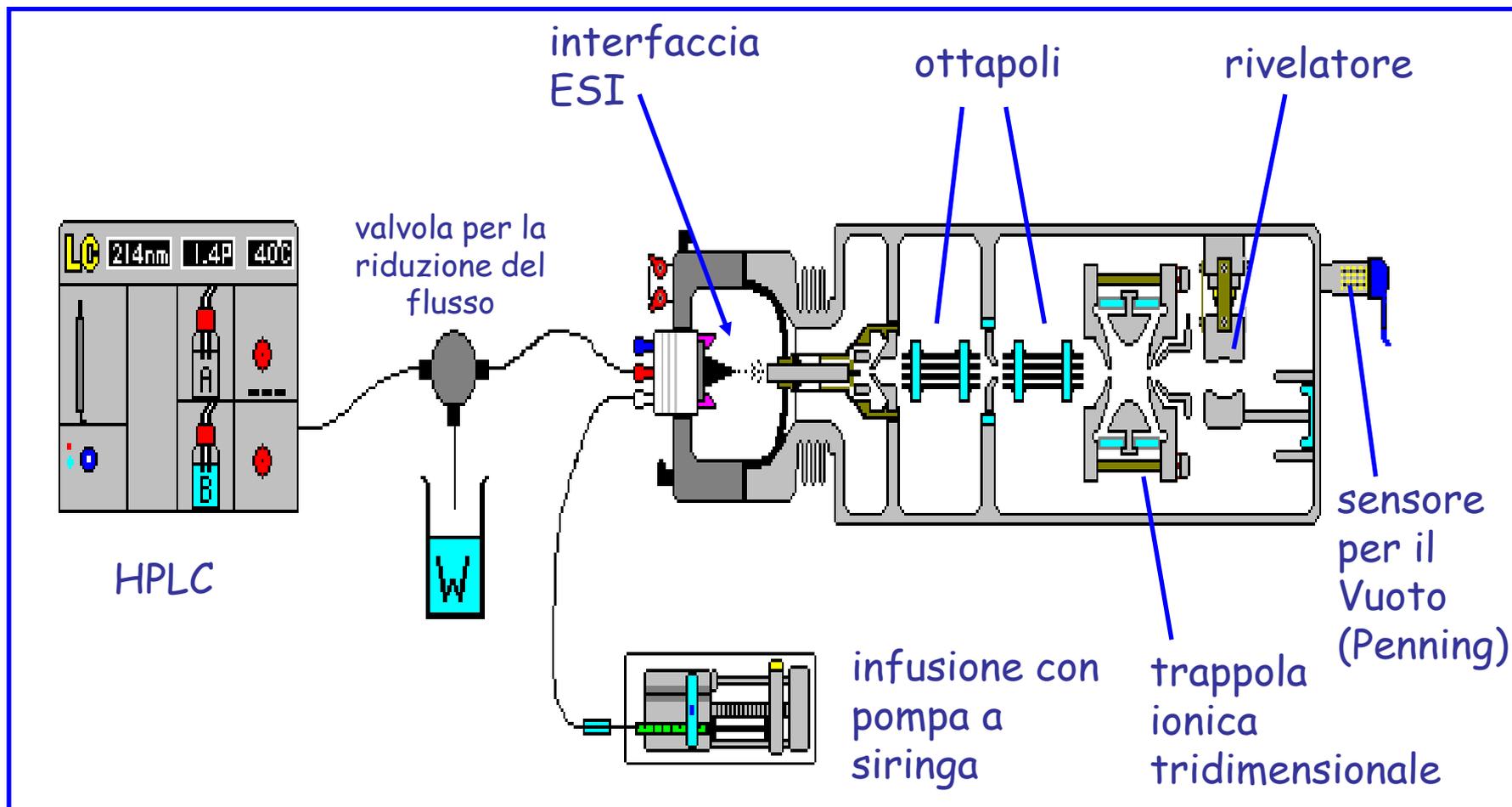
## Assistenza pneumatica nel processo ESI



Nella maggior parte delle interfacce ESI un **flusso di gas inerte (azoto) principale (nebulising)** ed eventualmente uno **ausiliario (drying)** vengono impiegati per facilitare l'evaporazione del solvente dalle goccioline, nonché per direzionare l'aerosol verso il foro d'ingresso dello spettrometro di massa.

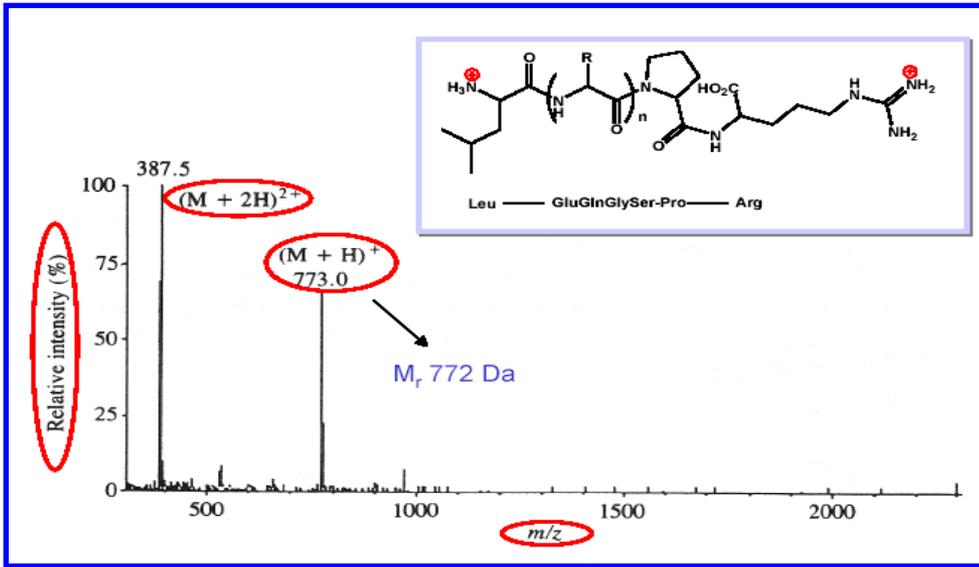
Inizialmente l'interfaccia ESI assistita pneumaticamente fu definita ***Ion-Spray***, tuttavia questo termine è ormai in disuso.

## Un esempio di spettrometro HPLC-ESI-MS



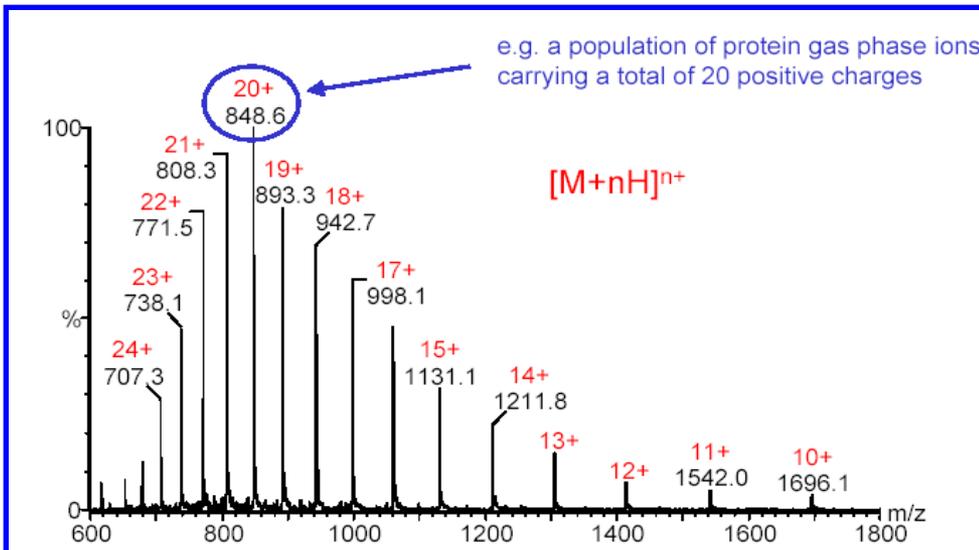
Schema dello spettrometro di massa ad interfaccia ESI e con analizzatore di massa a trappola ionica quadrupolare LCQ (Thermo).

# Applicazioni bioanalitiche dell'ESI-MS: analisi di peptidi e proteine



Spettro ESI-MS di un peptide:

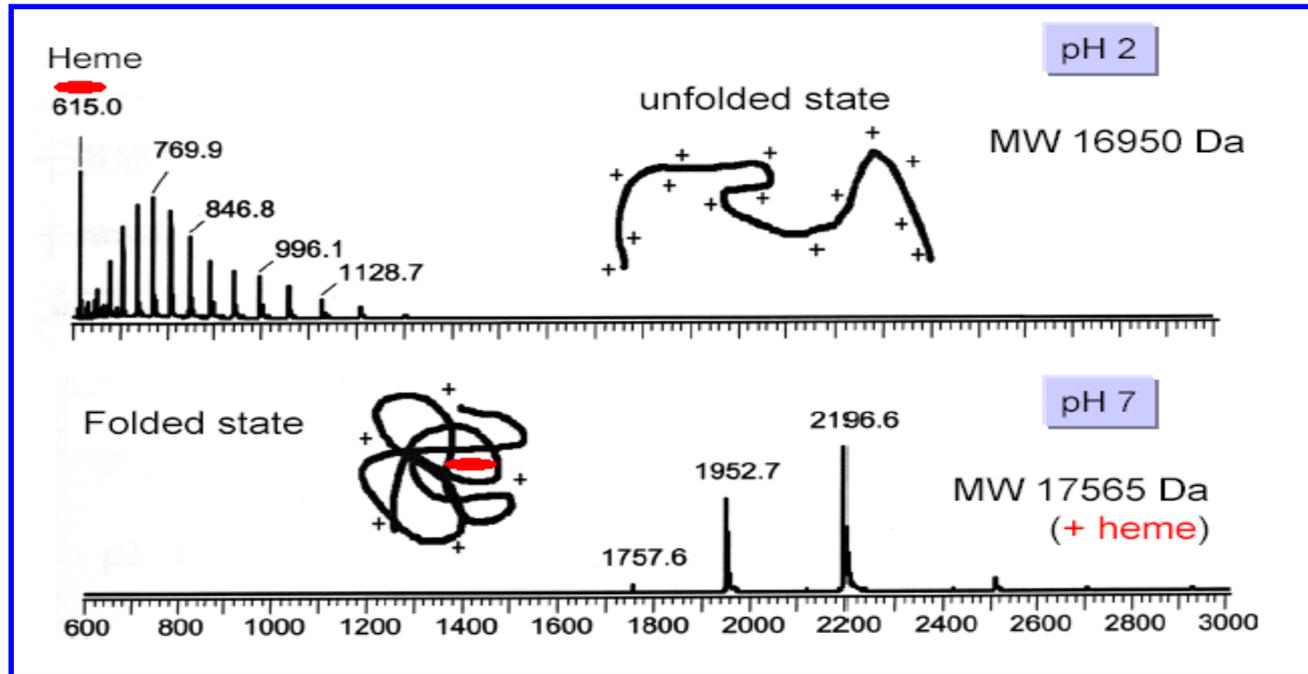
si noti la presenza sia dello **ione molecolare monoprotonato** (rapporto  $m/z = (M+1)/1 = 773.0$ ) sia di **quello bi-protonato**, con rapporto  $m/z = (M+2)/2 = 387.0$  (si noti che in figura spicca nel pattern l'isotopologo  $M+1$ , il cui rapporto  $m/z$  è pari a 387.5).



Spettro ESI-MS di una proteina:

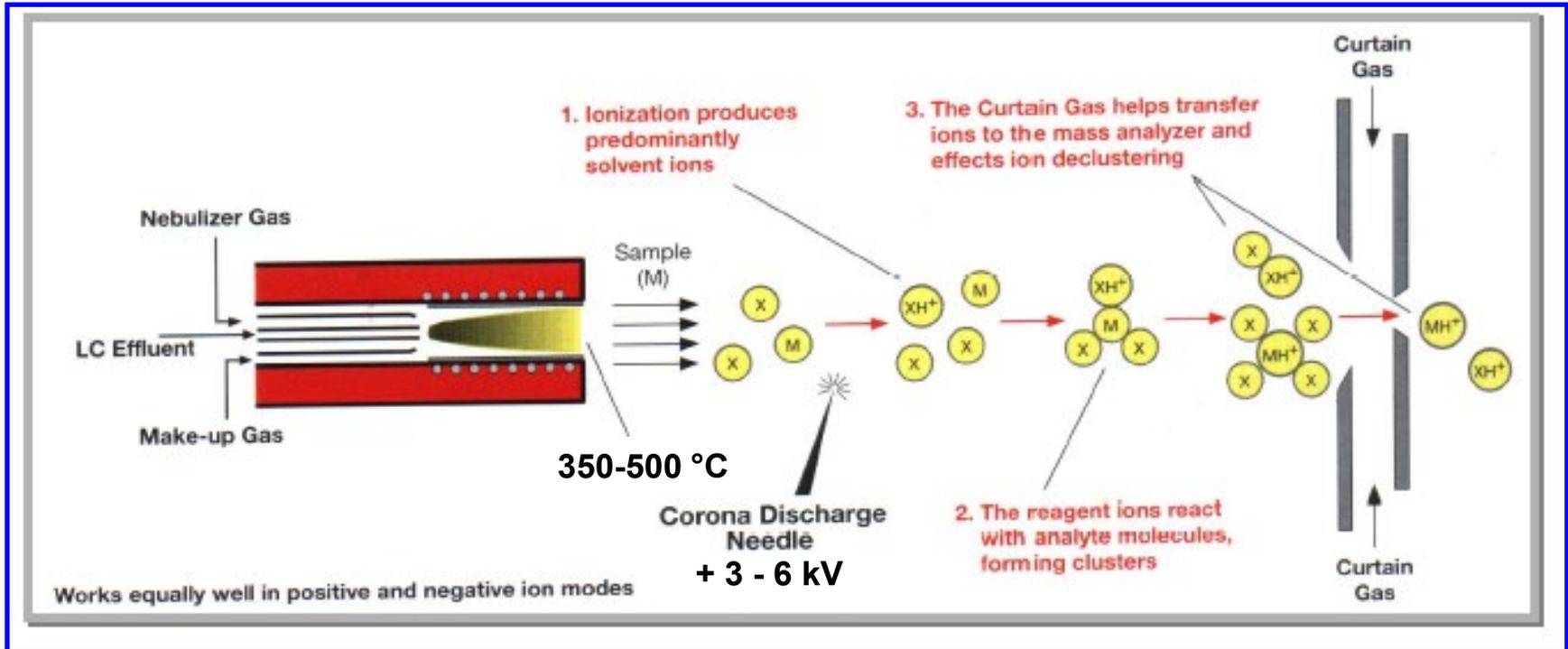
si nota una **distribuzione di ioni di carica via via crescente** (e quindi rapporto  $m/z$  decrescente).

Un esempio speciale dell'effetto del pH sugli spettri ESI-MS: **spettro della mioglobina di cuore di cavallo.**



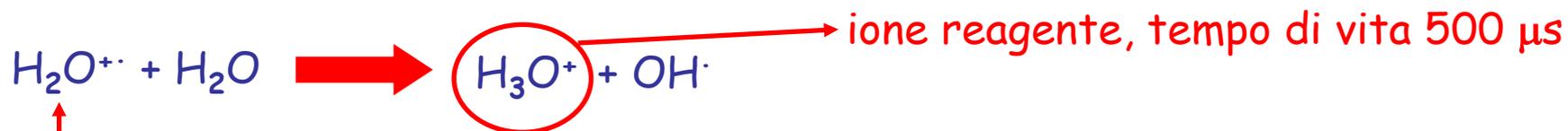
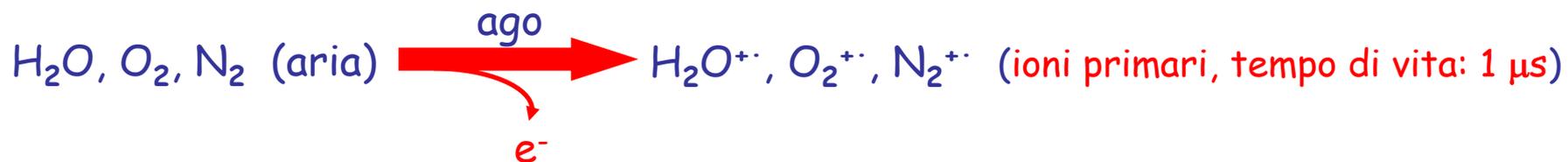
- ❖ In condizioni di **elevata acidità (pH 2)** la molecola della mioglobina, normalmente "raggomitolata" intorno al gruppo eme, si "srotola" venendo protonata in modo esteso, per cui i rapporti m/z dei picchi osservati sono bassi (z è alto) e si nota anche il **picco del gruppo eme libero**.
- ❖ A **pH 7** la molecola rimane nella conformazione originaria per cui solo poche cariche positive possono essere introdotte, inoltre l'eme non viene liberato (il suo picco è assente nello spettro).

# Interfaccia per la Ionizzazione Chimica a Pressione Atmosferica (APCI)

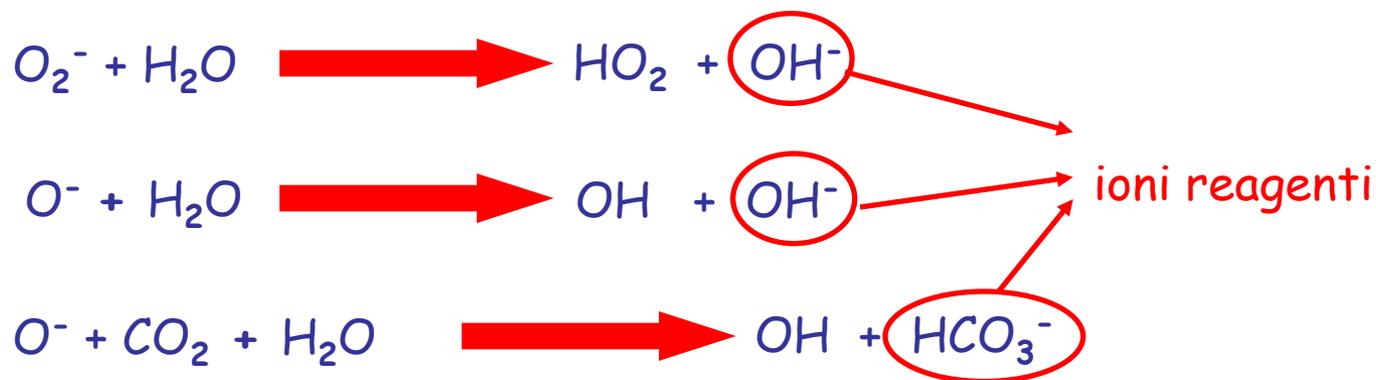
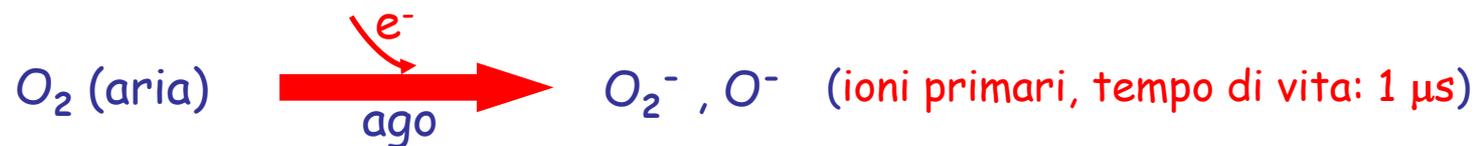


Il capillare dell'ESI è sostituito da un **nebulizzatore riscaldato**. La ionizzazione dell'analita (M) avviene in questo caso solitamente per cessione (o cattura) di protoni da parte di uno **ione reagente (XH<sup>+</sup>)** generato dalla scarica a corona creata all'estremità di un ago mantenuto ad una **tensione elevata (alcuni kV)**, positiva o negativa a seconda del segno degli ioni che si vogliono generare).

## Formazione degli ioni reagenti nella modalità APCI-positiva



## Formazione degli ioni reagenti nella modalità APCI-negativa



## Confronto fra ESI e APCI

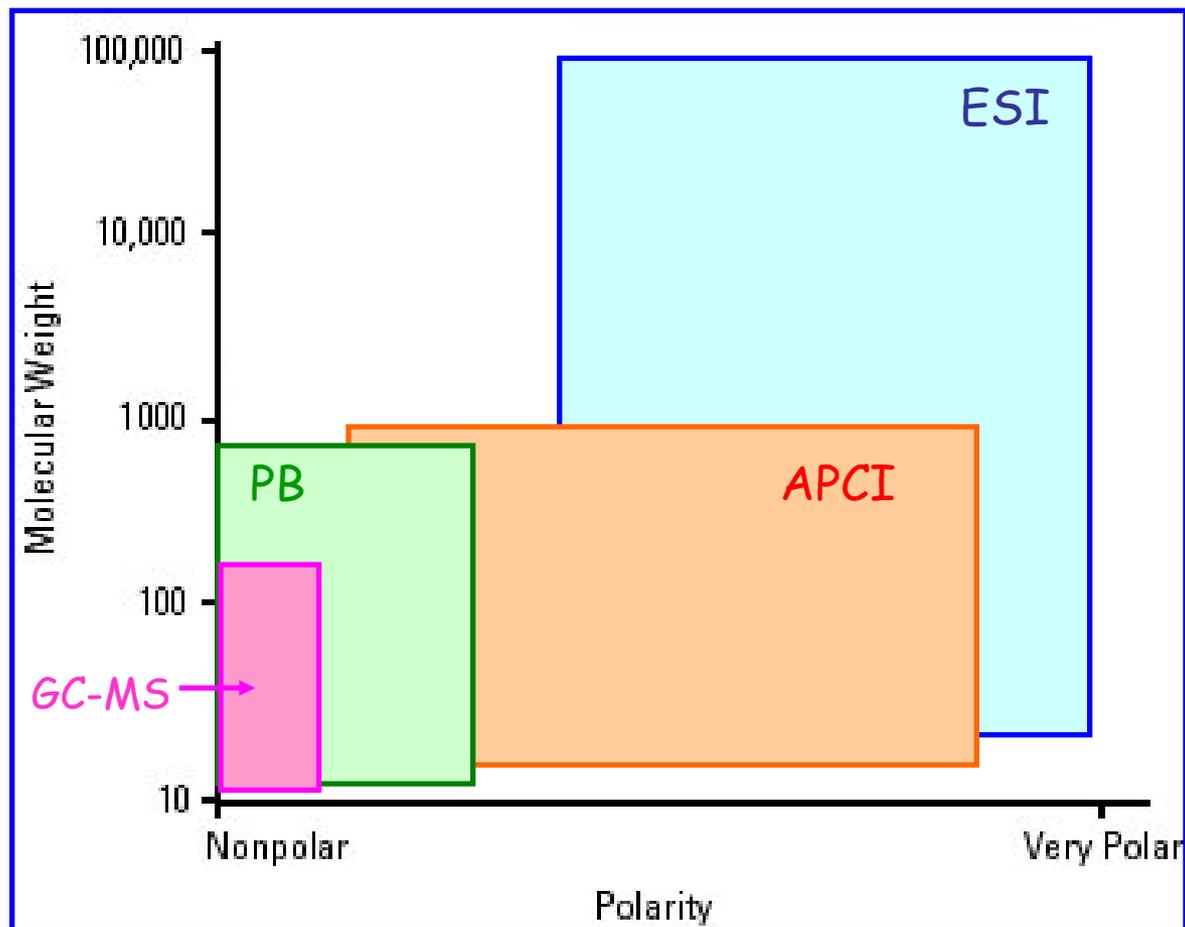
### ESI

- ✓ è adatta ad **analiti polari/molto polari**, che spesso subiscono protonazione/deprotonazione già nella fase mobile;
- ✓ è compatibile con **l'HPLC di ripartizione in fase inversa** ma non diretta, perché i solventi apolari di quest'ultima sono inadatti;
- ✓ tollera flussi fino a **0.2-0.3 mL/min**;
- ✓ ha un **limite di rapporti m/z esplorabili** piuttosto elevato, fino a **100000** (compatibilmente con l'analizzatore impiegato)

### APCI

- ✓ è adatta ad **analiti mediamente/poco polari**, la cui protonazione/deprotonazione avviene soprattutto in fase gassosa;
- ✓ è compatibile con **l'HPLC di ripartizione in fase diretta** e, moderatamente, con quella in fase inversa;
- ✓ tollera flussi fino a **1-2 mL/min**;
- ✓ ha un **limite relativamente basso di rapporti m/z esplorabili** (fino a 1000) perché non è in grado di caricare in modo multiplo le molecole di analita

# Confronto fra i campi di applicabilità delle principali tecniche di cromatografia-spettrometria di massa

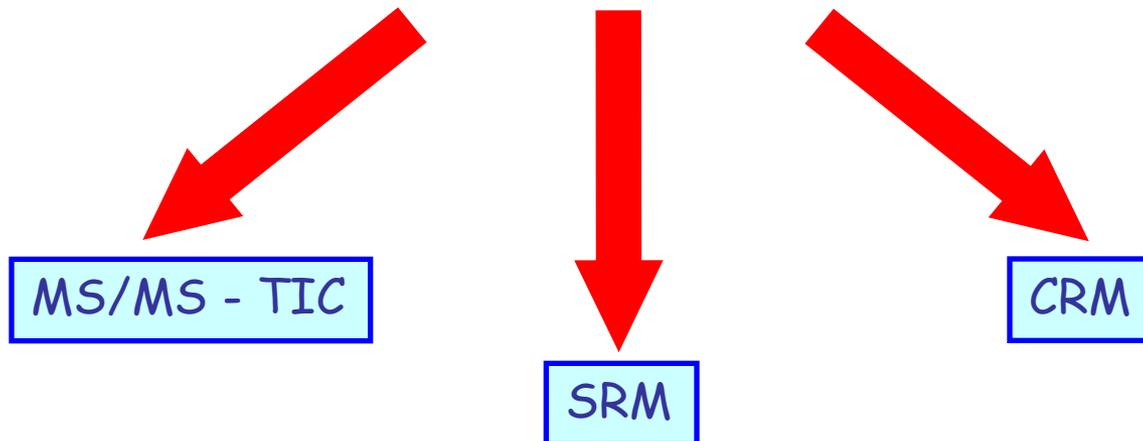


## Modalità di analisi in HPLC-MS

Le modalità TIC e SIM descritte per la tecnica GC-MS possono essere realizzate in modo del tutto analogo in HPLC-MS.

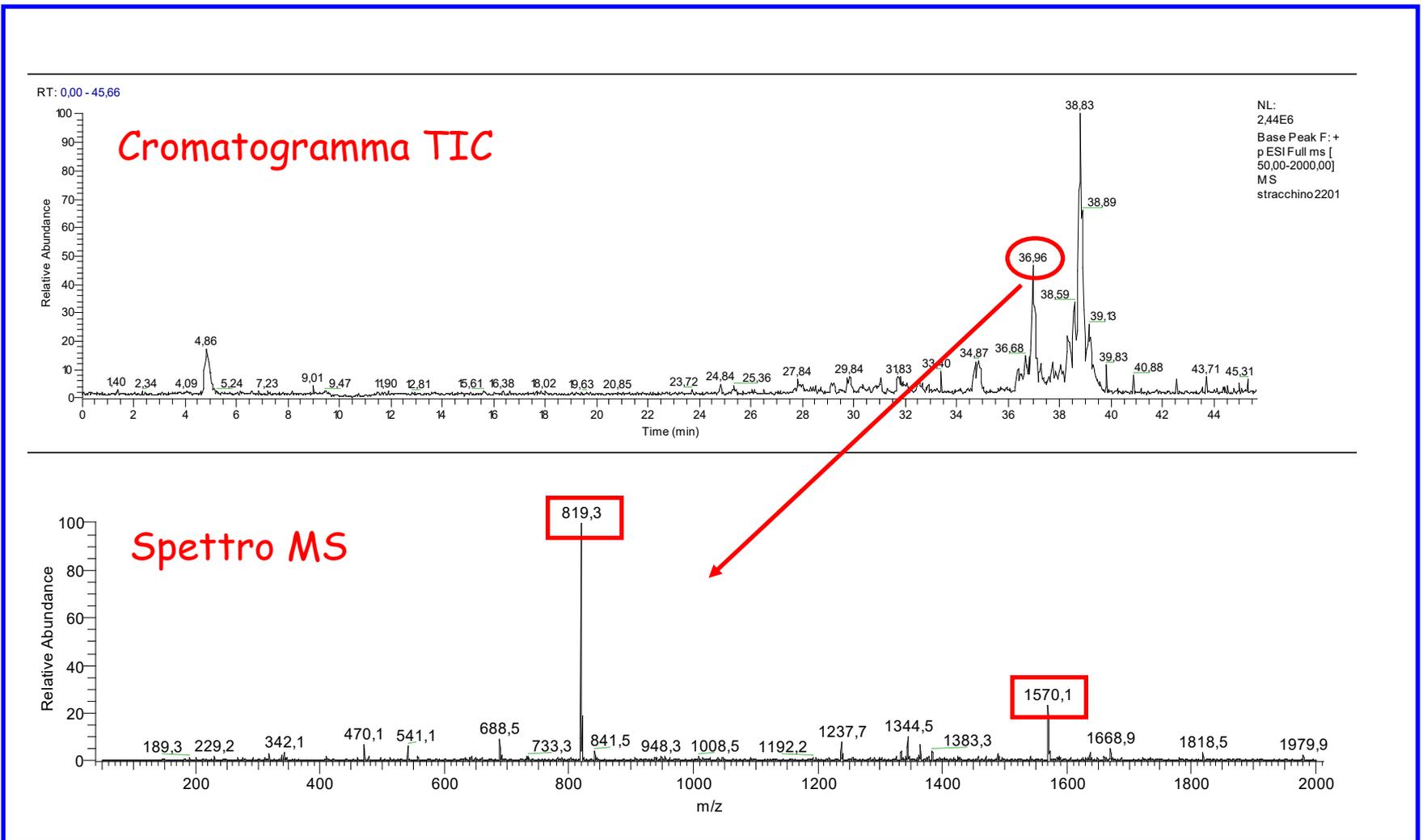
Tuttavia, gli spettri HPLC-MS forniscono generalmente un numero molto inferiore di informazioni sulla struttura (e quindi sull'identità) degli analiti, essendo la frammentazione in sorgente (ESI o APCI) pressoché assente.

Si accoppiano dunque al cromatografo liquido spettrometri di massa tandem (MS/MS) o sequenziale (MS<sup>n</sup>), che consentono almeno tre tipologie di acquisizione dei dati.

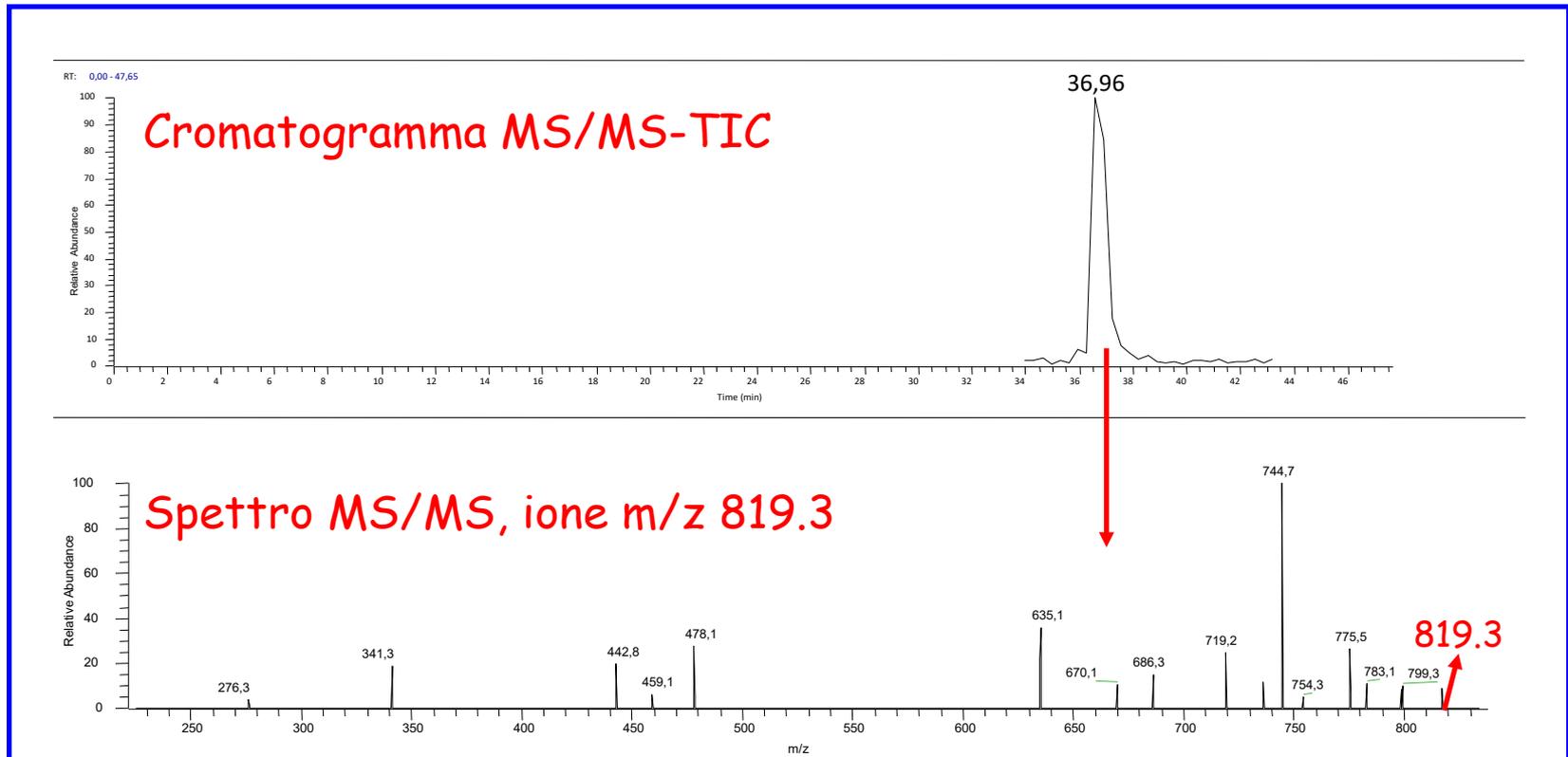


# MS/MS - TIC

- ✓ Si registra uno spettro MS in modalità TIC, evidenziando i pesi molecolari degli analiti eluiti sotto i vari picchi del cromatogramma:



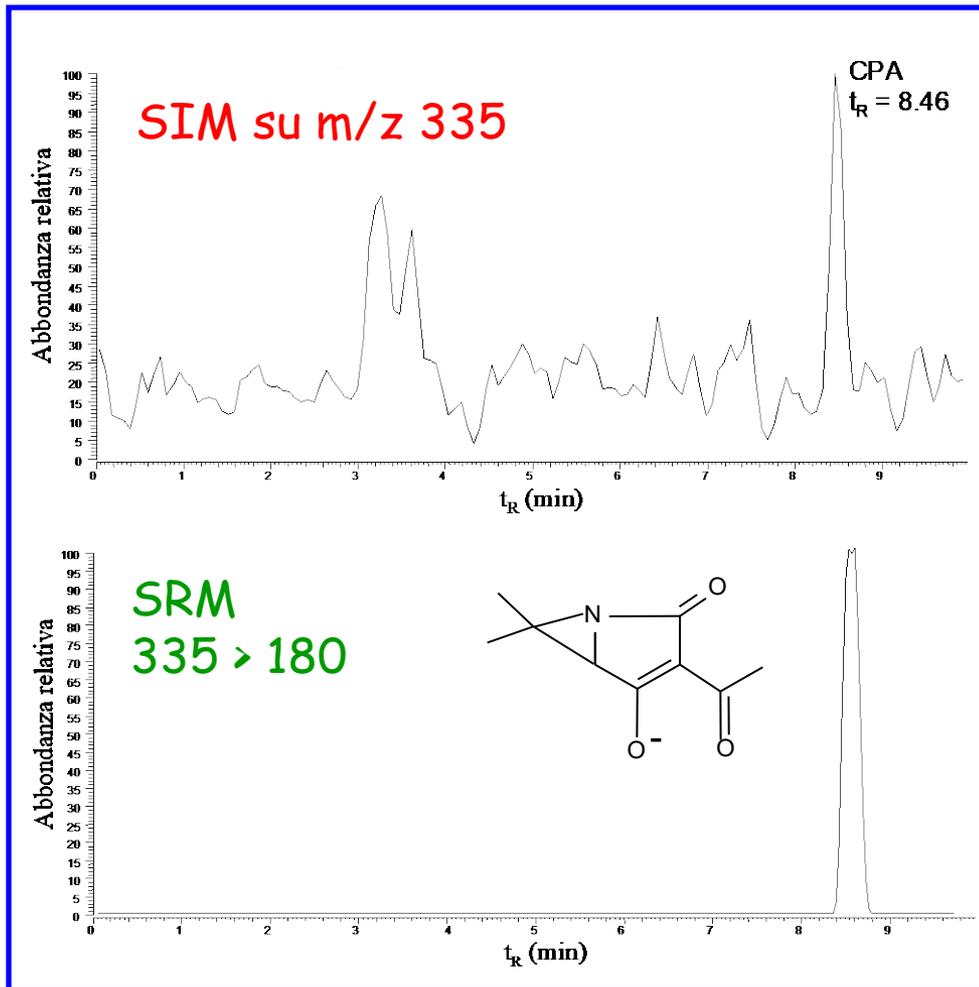
- ✓ si effettua una nuova corsa cromatografica impostando l'isolamento di uno degli ioni d'interesse (ad esempio in trappola ionica) e la sua successiva frammentazione: il cromatogramma viene ricostruito dalla corrente ionica totale relativa agli spettri MS/MS acquisiti:



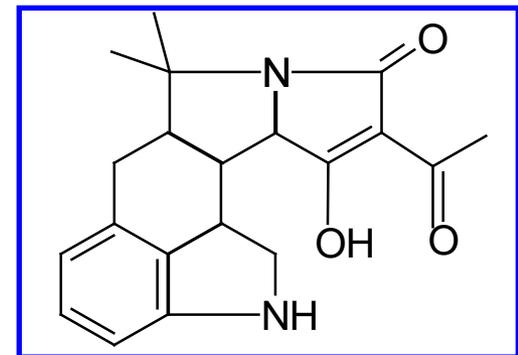
L'informazione sui frammenti osservati negli spettri MS/MS può consentire di fare ipotesi sulla struttura dell'analita d'interesse (esistono delle banche dati anche per gli spettri ESI-MS/MS, sebbene più limitate di quelle relative agli spettri EI-MS).

## SRM (Selective Reaction Monitoring)

In questo caso si parte già dall'informazione sulla frammentazione di un particolare ione. L'acquisizione è di tipo MS/MS ma viene limitata all'intervallo di rapporti  $m/z$  che contiene uno specifico frammento di quello ione.



Confronto fra i cromatogrammi SIM ed SRM ottenuti per un estratto di latte contaminato dalla micotossina nota come acido ciclopiazonico (CPA):

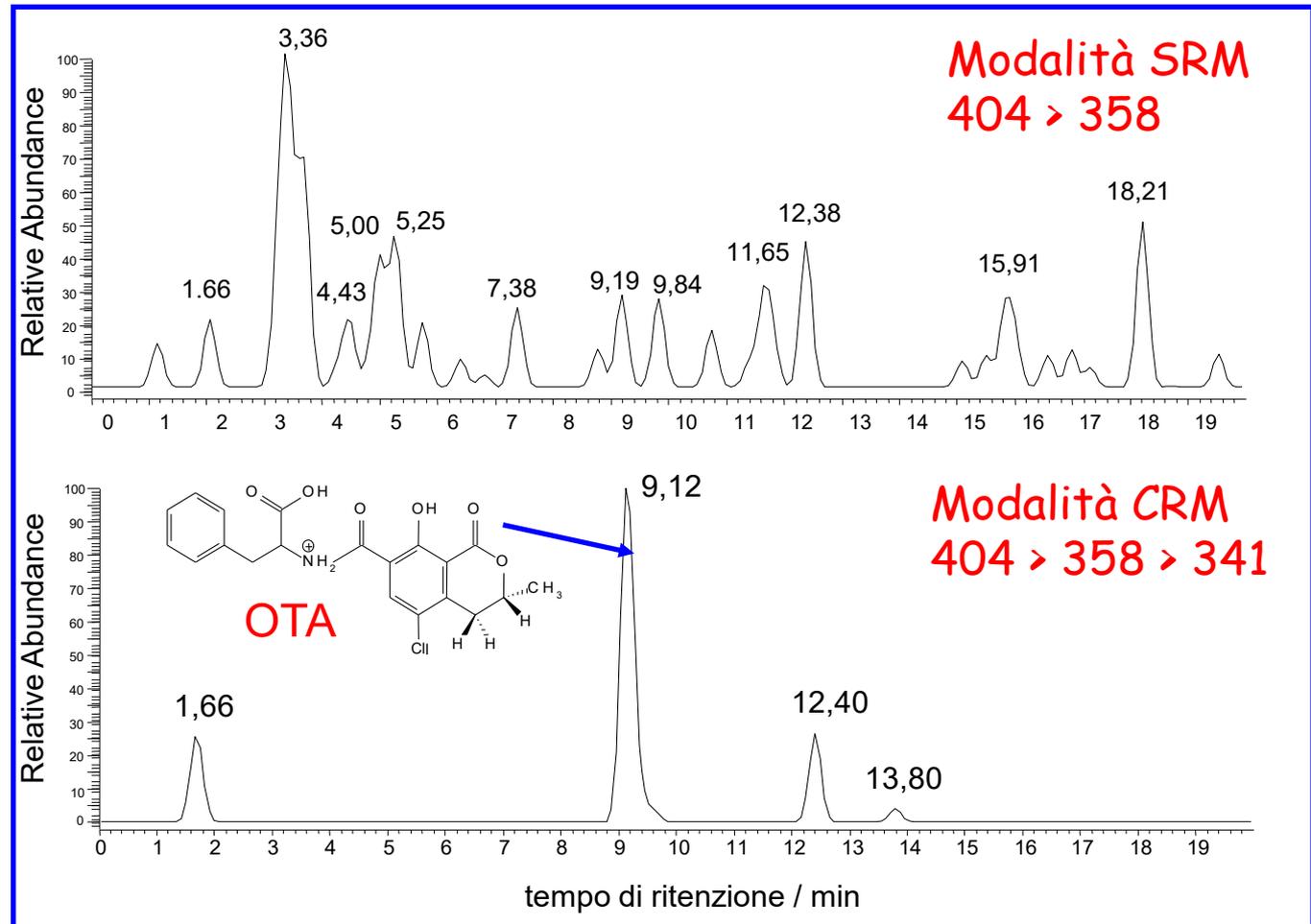


180 è la massa nominale del frammento evidenziato in figura.

La modalità SRM può consentire anche di visualizzare in modo separato specie isomeriche parzialmente co-eluenti purché i corrispondenti spettri MS/MS differiscano per almeno un frammento.

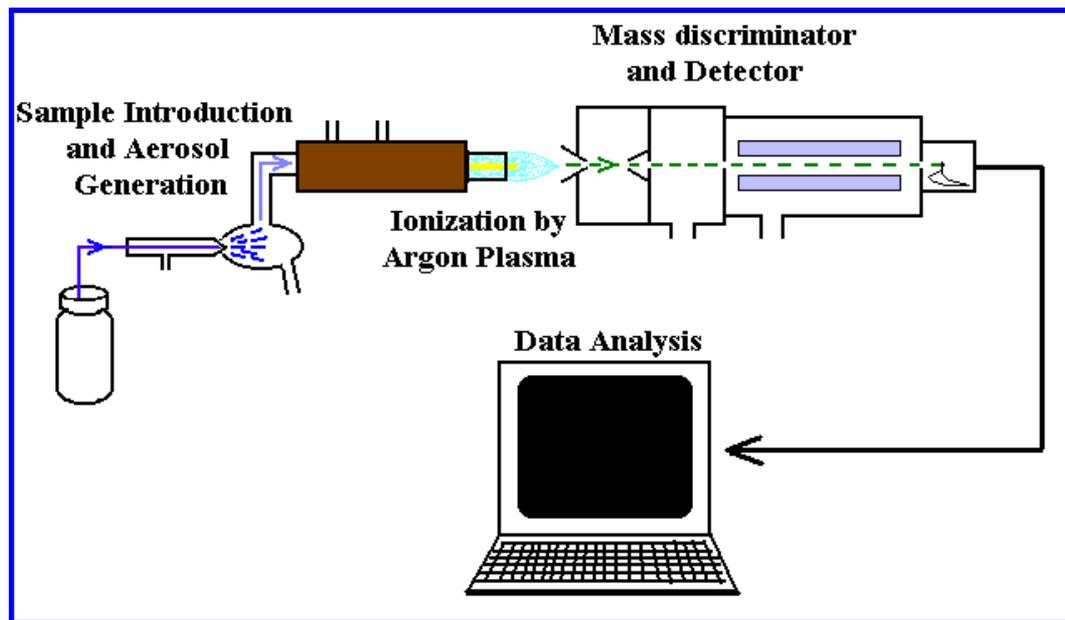
CRM (Consecutive Reaction Monitoring)

È una modalità analoga all'SRM ma ottenuta con un'acquisizione MS di tipo sequenziale ( $MS^n$ , con  $n > 2$ ), utile quando la SRM non è sufficiente, come nel caso della micotossina nota come ocratossina A (OTA) in un campione di carne.



# Accoppiamento fra Plasma Induttivamente Accoppiato e Spettrometria di Massa (ICP-MS)

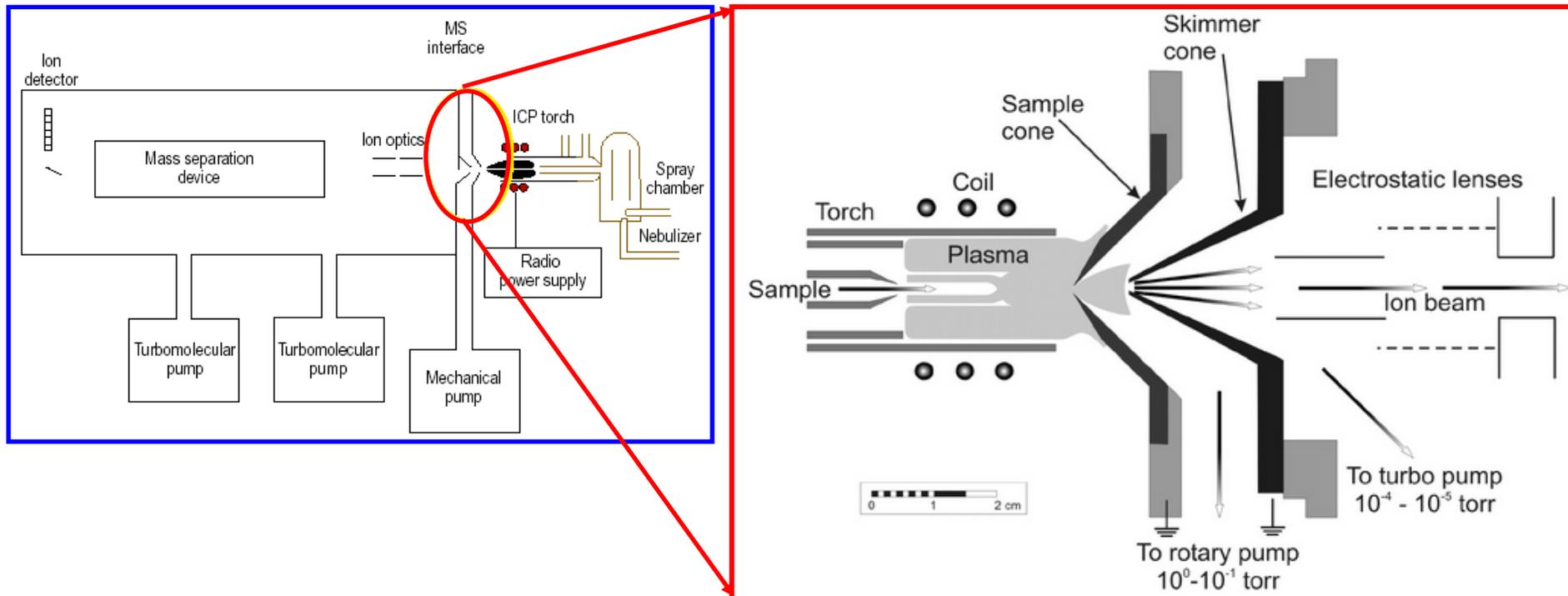
Sviluppata alla fine degli anni '80, l'ICP-MS è attualmente la tecnica più sensibile esistente per l'analisi elementare in ultra-tracce (concentrazioni anche inferiori alle ppt, parti per trilione, ossia ng/L).



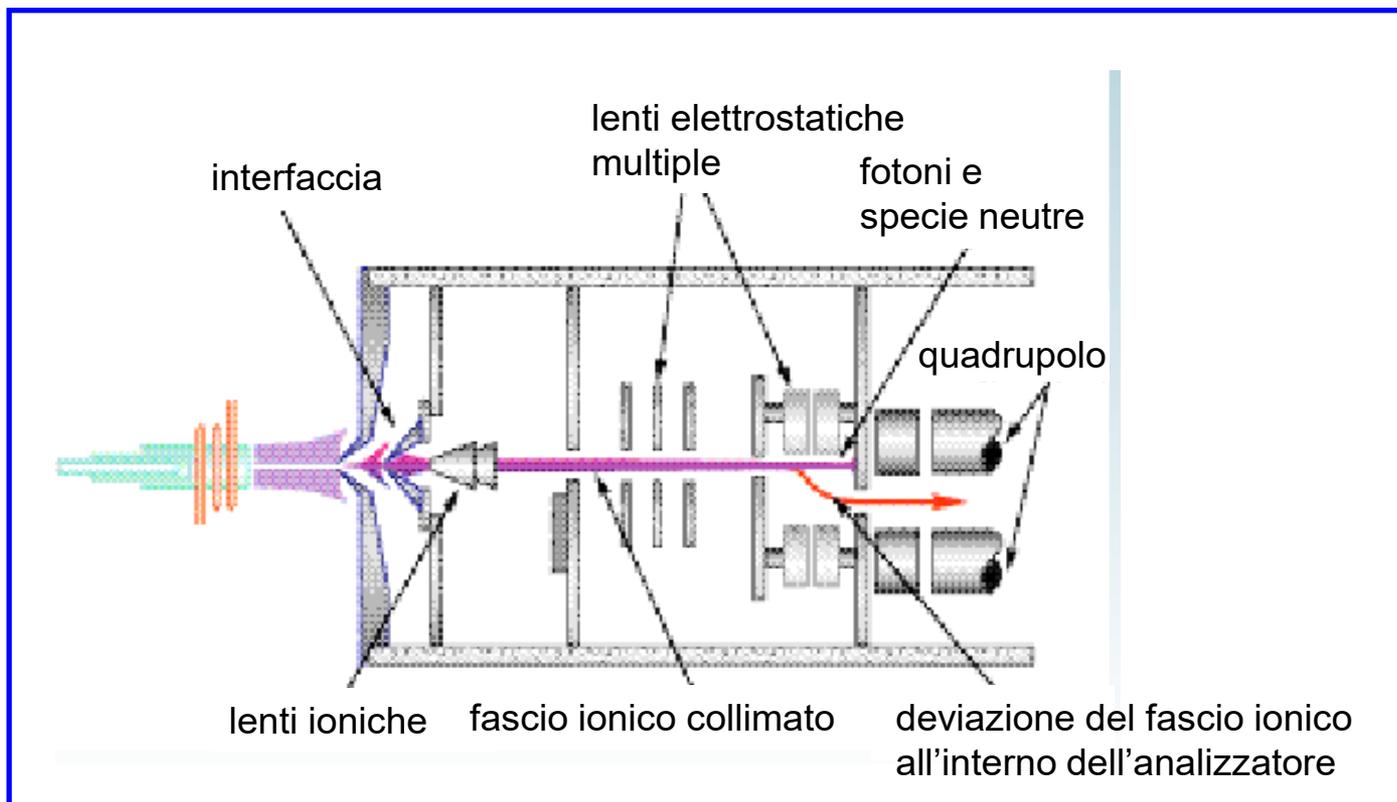
Gli ioni generati a partire dal campione nella torcia ICP vengono trasmessi attraverso un'interfaccia opportuna all'interno di uno spettrometro di massa (in figura dotato di un analizzatore a quadrupolo).

# Interfaccia fra ICP e MS

L'interfaccia fra ICP ed MS deve consentire il passaggio dalla pressione atmosferica, a cui lavora la torcia ICP, all'ultra-alto vuoto ( $10^{-6}$  torr) dello spettrometro di massa, attraverso uno stadio di vuoto intermedio:

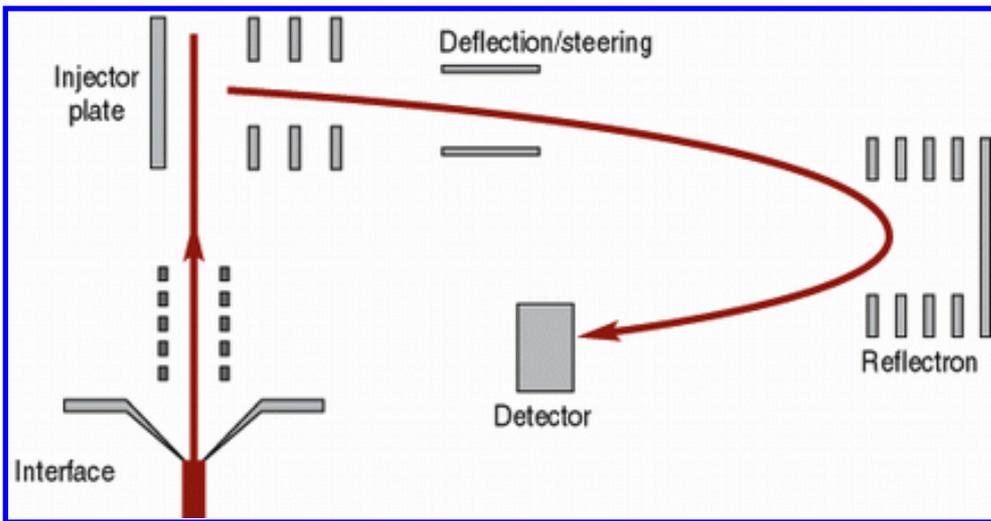


Il cono di campionamento (*sample*) ha un orifizio più largo (diametro 0.8-1.2 mm) di quello del cono *skimmer* (diametro 0.4-0.8 mm) ed il loro alloggiamento è raffreddato da una serpentina ad acqua.

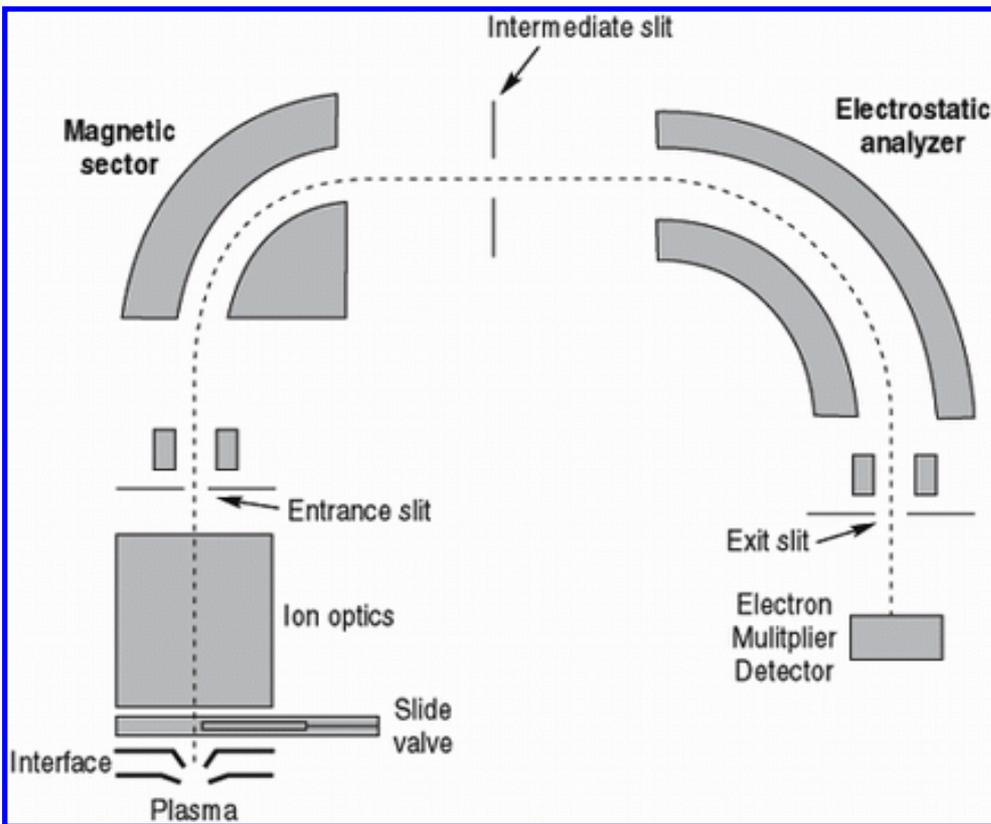


Dopo aver attraversato anche il cono skimmer gli ioni derivanti dall'ICP vengono attratti da una serie di **lenti elettrostatiche** all'interno dello spettrometro di massa e guidati da altre lenti all'ingresso dell'analizzatore a quadrupolo.

Quest'ultimo si trova di solito fuori asse rispetto agli skimmer, in modo che **specie neutre e fotoni** provenienti dall'ICP (non deviabili con campi elettrici) non entrino nell'analizzatore.

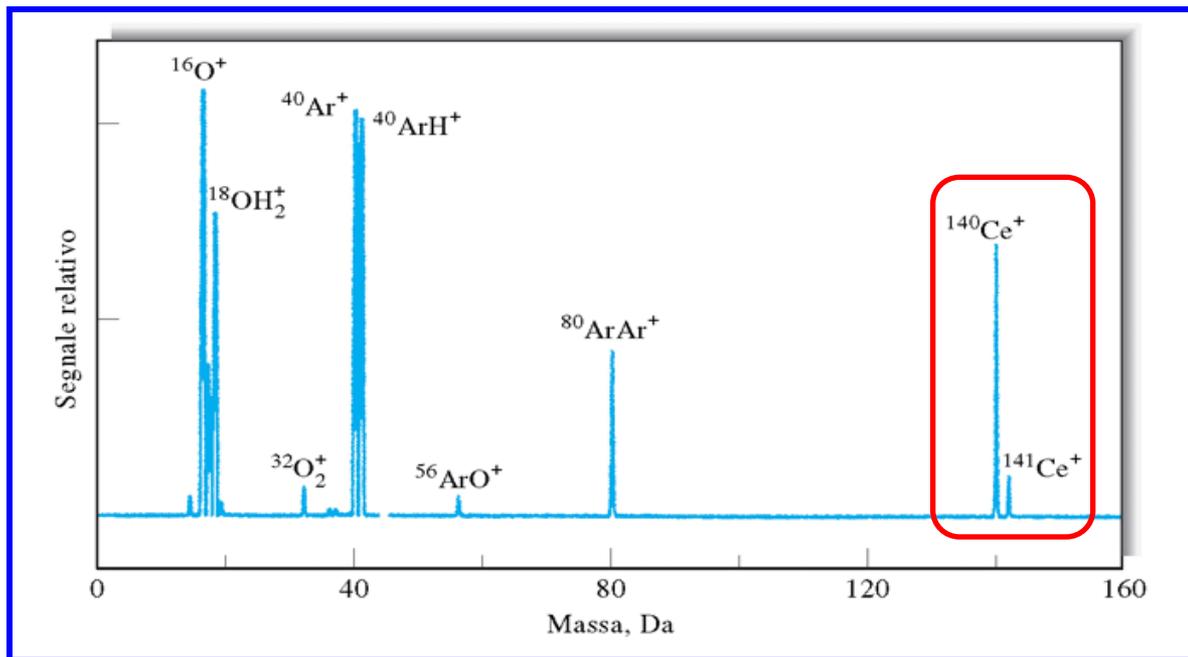


Al posto del quadrupolo si può utilizzare un **analizzatore a tempo di volo**, aumentando così l'intervallo di rapporti  $m/z$  esplorabile, oppure un **analizzatore a doppia focalizzazione**, che ha una risoluzione molto maggiore.



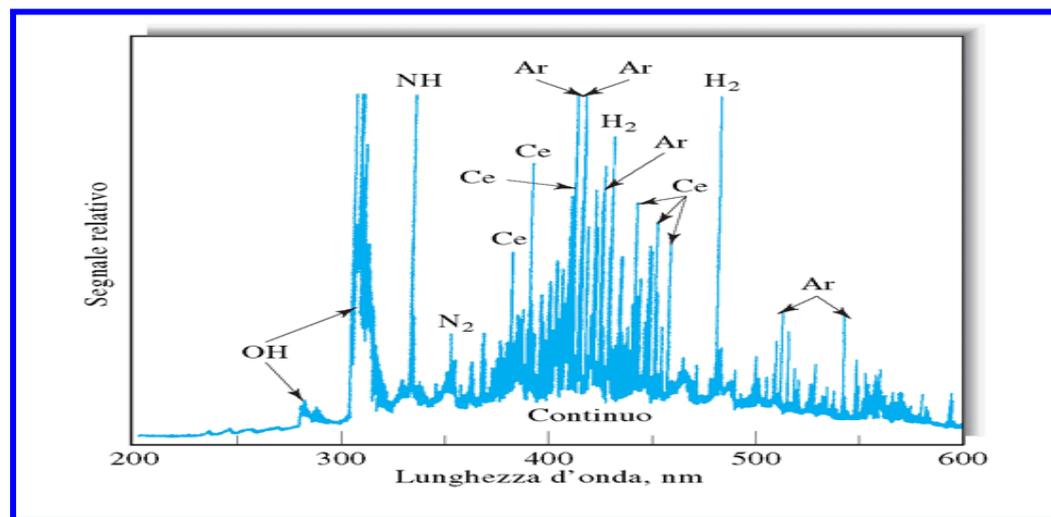
Il costo di un ICP-MS con analizzatore di massa a doppia focalizzazione è però molto elevato (può raggiungere il milione di euro).

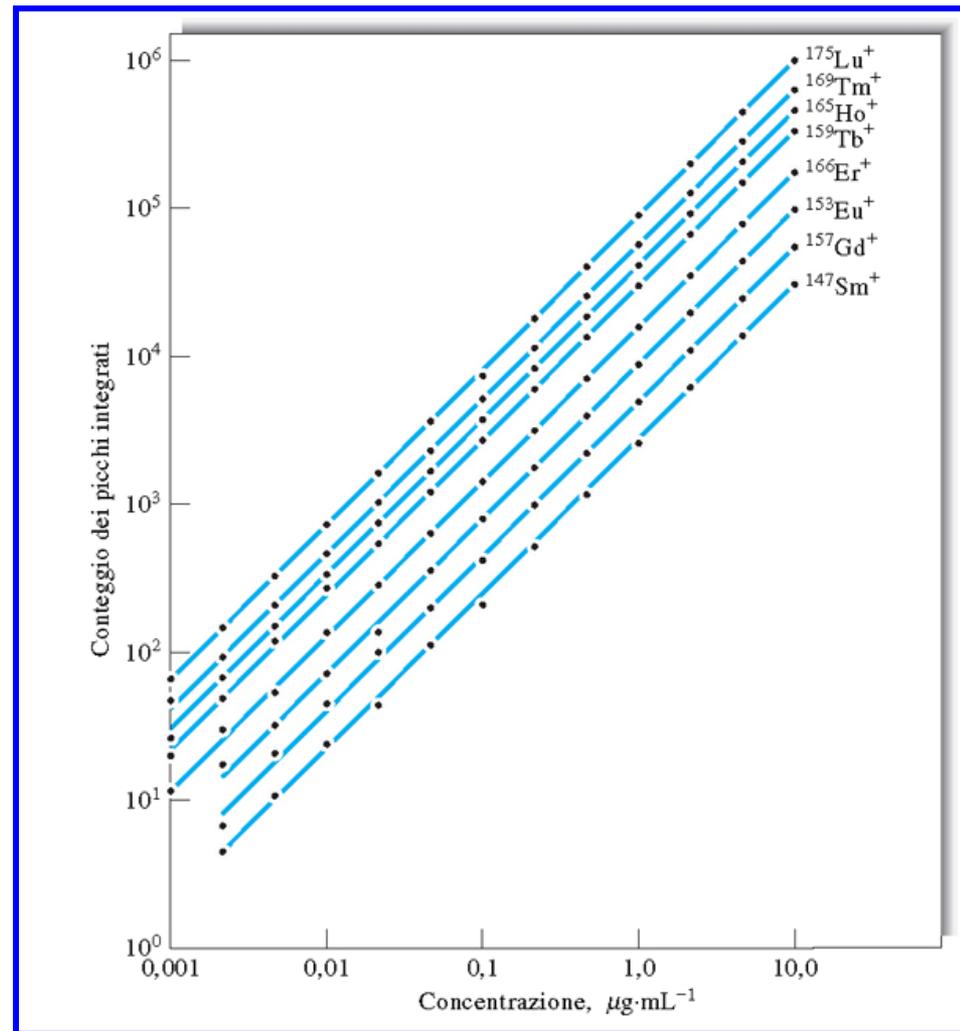
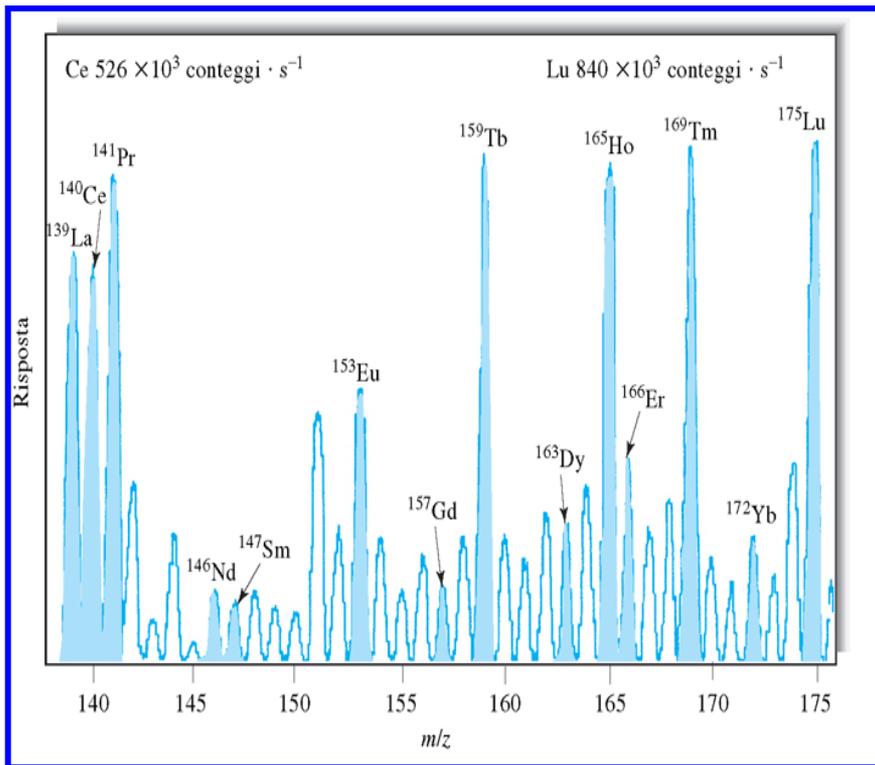
## Esempi di spettri ICP-MS



Gli spettri ICP-MS evidenziano chiaramente i rapporti isotopici elementari per gli ioni generati nel plasma.

Rispetto ad uno spettro ICP-OES l'interferenza dovuta all'argon è decisamente inferiore.





La tecnica ICP-MS è particolarmente sensibile nei confronti degli **elementi della serie f della Tavola Periodica**, con intervalli di linearità comprendenti almeno 4-5 ordini di grandezza.

# Limiti di rivelabilità in ICP-MS

Detection Limits Range (ng/L) at Low Resolution																	
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac															
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	

1 ng/L = 1 ppt

In molti casi (soprattutto per gli elementi transuranici), la sensibilità può addirittura essere migliore di 0.01 ppt!

## Esempi di applicazioni delle tecniche MS

1. Chiarimento della struttura di molecole organiche e biologiche
2. Determinazione della massa molecolare di peptidi, proteine e oligonucleotidi
3. Identificazione di componenti in cromatogrammi su strato sottile e su carta
4. Determinazione delle sequenze di amminoacidi in un campione di polipeptidi e proteine
5. Rivelazione e identificazione di specie separate per cromatografia ed elettroforesi capillare
6. Identificazione dei farmaci da abuso e dei metaboliti dei farmaci da abuso nel sangue, nell'urina e nella saliva
7. Monitoraggio dei gas respiratori del paziente durante gli interventi chirurgici
8. Valutazione della presenza di farmaci nel sangue di cavalli di razza e atleti olimpici
9. Datazione dei campioni archeologici
10. Analisi delle particelle di aerosol
11. Determinazione dei residui di pesticidi negli alimenti
12. Monitoraggio delle specie organiche volatili nelle forniture idriche