

CHIMICA ANALITICA II

CON LABORATORIO

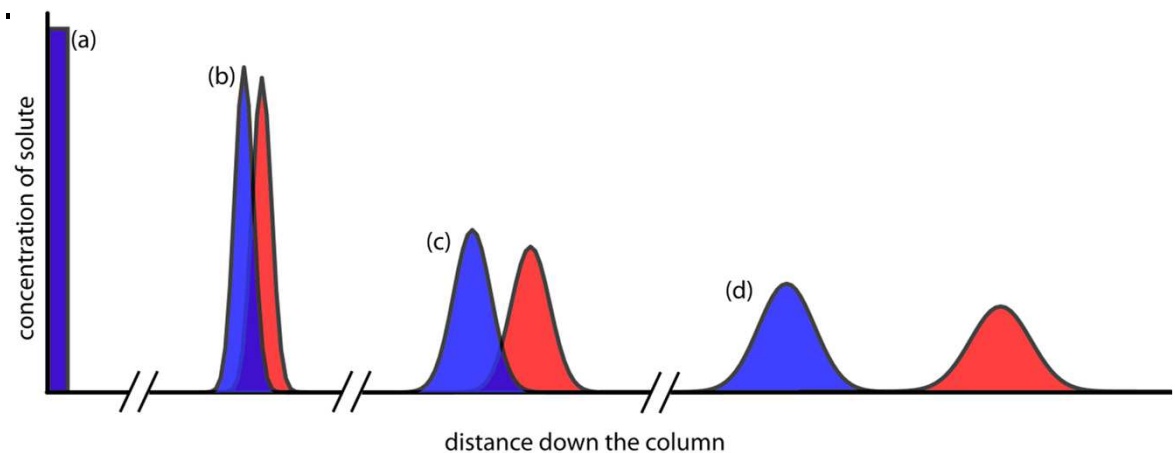
(AA 2016-17)

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

Teoria della cromatografia

- Esaminiamo l'effetto di allargamento dei picchi lungo la colonna; ***l'ampiezza del picco è direttamente collegata all'efficienza di separazione o efficienza di colonna.***

Efficienza della colonna Supponiamo di iniettare un campione costituito da un unico componente. Al momento dell'iniezione del campione occupa una banda stretta di larghezza finita. Quando il campione passa attraverso la colonna, la larghezza di tale banda aumenta continuamente in un processo che chiamiamo **allargamento di banda**. L'efficienza della colonna fornisce una misura quantitativa dell'entità dell'allargamento di banda. Quando si inietta, il campione ha un profilo uniforme, o rettangolare di concentrazione in funzione della distanza lungo la colonna. Mentre scende nella colonna, la banda si allarga ed assume un profilo di concentrazione gaussiano.



Nel loro modello teorico originale di cromatografia, Martin e Synge divisero la colonna cromatografica in sezioni discrete - che chiamavano **piatti teorici** – in cui vi è una distribuzione di equilibrio del soluto tra la fase stazionaria e fase mobile. Descrissero l'efficienza della colonna in termini di numero di piatti teorici, N , con $N = L / H$ in cui L è la lunghezza della colonna e H è l'altezza di un piatto teorico. L'efficienza della colonna migliora e picchi cromatografici divengono più stretti, all'aumentare dei piatti teorici.

La teoria cinetica

- L'ampliamento dei picchi deriva da un *effetto cinetico che si manifesta a seguito della velocità finita a cui decorre il processo di trasferimento di massa durante la migrazione dell'analita lungo la colonna*. L'entità di questi effetti dipende dalla lunghezza dei possibili passaggi tra f.m. e f.s. ed è direttamente proporzionale alla velocità di flusso della f.m..
- Per descrivere questo effetto bisogna investigare la dipendenza di H dalla velocità (di flusso) lineare (cm s^{-1}).

Modello cinetico $H = C_M u + B / u + C_S u$

Influenze cinetiche sull'allargamento dei picchi

influenza	
Diffusione longitudinale	$B/u = (2k_D D_M) / u$
Trasferimento di massa da e verso la f.s. liquida	$C_S u = q k d_f^2 u / (1+k)^2 D_S$
Trasferimento di massa da e verso la f.s. solida	$C_S u = 2 t_d k u / (1+k)^2$
Trasferimento di massa nella fase mobile	$C_M u = f(d_c^2, d_p^2) u / D_M$

- Variabili importanti per l'efficienza delle colonne sono:

Velocità lineare della fase mobile

u

Coefficiente di diffusione nella f.m.

D_M

Coefficiente di diffusione nella f.s.

D_S

Diametro del materiale di impaccamento

d_D

Spessore del rivestimento liquido della f.s.

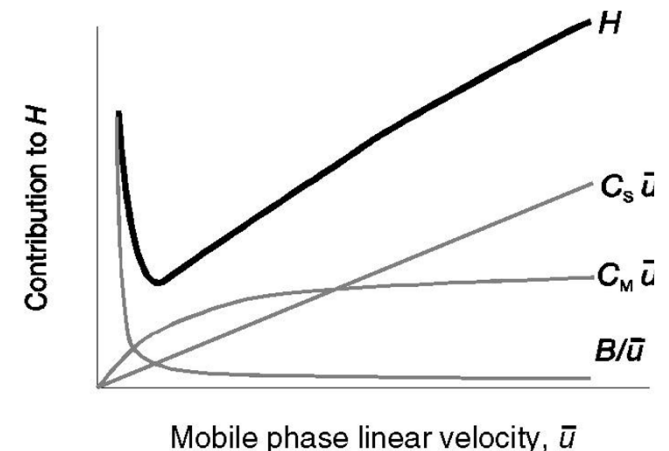
d_f

Velocità di desorbimento dell'analita

t_d

Diametro della colonna

d_c



L'obiettivo nelle cromatografie è quello di **raggiungere separazioni efficaci in un breve tempo di analisi**; ciò significa che si persegue una bassa altezza del piatto H , e che la funzione $H(u)$ dovrebbe svilupparsi con piccole variazioni, così che si possano avere alte velocità di separazione senza perdere efficienza.

Basse H_{\min} e curve $H(u)$ con piccole variazioni si possono ottenere:

- 1) *Con f.s. solida con piccole particelle o con rivestimento sottile di liquido immobilizzato*
- 2) *Con un impaccamento omogeneo di f.s. usando materiale con una distribuzione dimensionale stretta*
- 3) *Con colonna dal piccolo diametro (colonne sempre più strette)*
- 4) *con coefficienti di diffusione elevati nella fase stazionaria e bassi nella f.m. (in GC i coeff. nella f.m. si abbassano significativamente abbassando T)*

Poiché i coeff. di diffusione dipendono dalle dimensioni molecolari, l'allargamento di un picco dipende dalla massa molare relativa (piccole molecole, buona efficienza).

Separazione di picchi e risoluzione R_S

Già conosciamo il **fattore di selettività** o **fattore di separazione** che è una misura della separazione di due sostanze ed è indicato con α

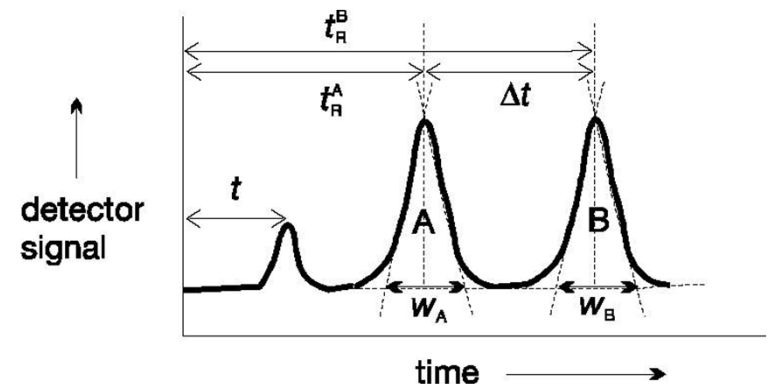
$$\begin{aligned}\alpha &= K_B / K_A && \text{rapporto dei coefficienti di partizione} \\ &= k_B / k_A && \text{rapporto dei fattori di ritenzione} \\ &= (t_R')_B / (t_R')_A\end{aligned}$$

α descrive solo la selettività del sistema di fasi impiegato. L'efficienza di una colonna dipende anche dal numero di piatti N , e dall'entità del fattore di ritenzione.

La **risoluzione** caratterizza l'abilità di una colonna cromatografica per separare due analiti. R_S caratterizza la selettività e si calcola per i picchi gaussiani A e B, impiegando le ampiezze di base.

$$R_S = \Delta t / ((w_A + w_B) / 2) = (t_R^B - t_R^A) / w_b$$

Con $w_b \approx w_A \approx w_B$



I picchi sono frequentemente asimmetrici con fenomeni

di *tailing*



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Chart-21-02

e

di *fronting*



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Chart-21-03

$$R_S = \Delta t / ((w_A + w_B) / 2) = (t_R^B - t_R^A) / w_b$$

Ricordando che:

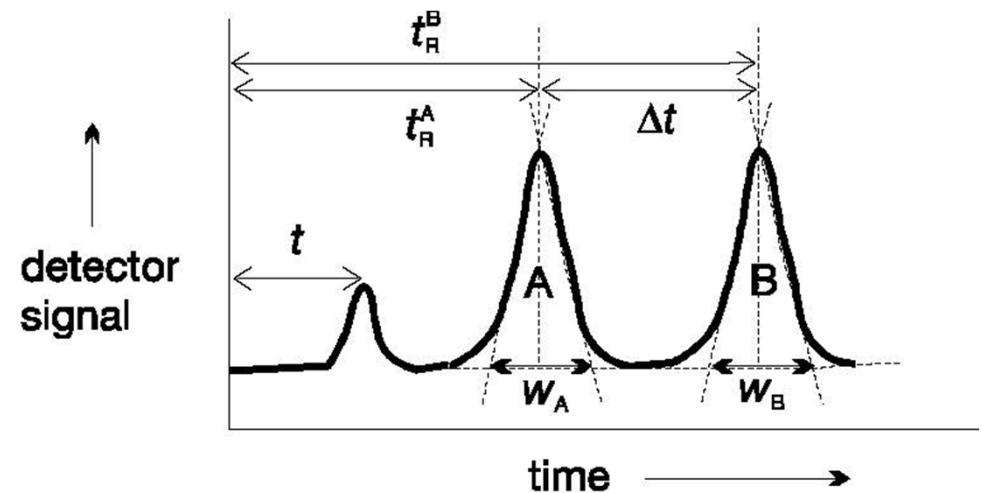
$$N = 16 (t_R / w_b)^2 \rightarrow w_b = 4 t_R^B / \sqrt{N}$$

Si ha:

$$R_S = (t_R^B - t_R^A) \sqrt{N} / 4 t_R^B$$

E ricordando che $k = (t_R - t_M) / t_M = t_R' / t_M$

$$R_S = (k_B - k_A) \sqrt{N} / (1 + k_B) 4$$



$$R_S = (k_B - k_A) \sqrt{N / (1 + k_B)} / 4$$

$\alpha = k_B / k_A$ e moltiplicando numeratore e denominatore di R_S per α

$$R_S = \sqrt{N / 4} \cdot ((\alpha - 1) / \alpha) \cdot (k_B / (1 + k_B))$$

Se $k_B \approx k_A \approx k'$

$$R_S = \sqrt{N / 4} \cdot (\alpha - 1) \cdot (k' / (1 + k'))$$

Quando la risoluzione R_S è nota, il numero di piatti teorici può essere calcolato dai fattori di separazione α e ritenzione k_B

$$N = 16 R_S^2 ((\alpha - 1) / \alpha)^2 \cdot ((1 + k_B) / k_B)^2$$

$$N = 16 R_S^2 ((\alpha - 1) / \alpha)^2 \bullet ((1 + k_B) / k_B)^2$$

In base alla dipendenza della risoluzione R_S da α , k' , N o meglio H , la separazione può essere ottimizzata. Le variabili possono essere modificate in modo “indipendente” l’una dall’altra.

Il fattore di separazione α (*collegato alla differenza dei t_R*) può essere modificato cambiando il tipo di interazione molecolare (es. cambiando la fase stazionaria);

Il fattore di ritenzione k' (*collegato a t_R*) può essere modificato cambiando la T in GC o la composizione della f.m. in LC;

Il numero di piatti teorici N può essere migliorato aumentando la lunghezza della colonna o ottimizzando H . H è influenzata dalla velocità del flusso, dalle dimensioni delle particelle del materiale di impaccamento, dalla viscosità delle fasi, e quindi dai coefficienti di diffusione D_s e D_m , dallo spessore del film di liquido immobilizzato usato come f.s..

Nel caso di **picchi simmetrici, egualmente intensi**, si parla di risoluzione $R_S = 1$ per la separazione della linea di base, o separazione di 4σ . Per **picchi a intensità molto diversa o asimmetrici** è necessaria una separazione molto maggiore per una completa separazione.

Esercizio

In un'analisi cromatografica vengono separati due idrocarburi. La colonna ha $L = 20$ m, diametro interno 0.25 mm. Si usa elio come carrier (f.m.) con velocità di 37 cm s^{-1} . I tempi di ritenzione delle componenti (ottano e decano) sono 2.53 e 4.75 min e le larghezze di picco alla semialtezza 0.28 e 0.55 min.

Calcolare: fattore di ritenzione, fattore di selettività, numero di piatti e risoluzione.

Analisi qualitativa in cromatografia

- Metodi cromatografici impiegabili per analisi **qualitative, quantitative o per scopi preparativi**.
- Informazione qualitativa per **cromatogrammi interni** risiede nella posizione della sostanza sulla f.s., mentre per **cromatogrammi esterni**, nel valore del volume o tempo di ritenzione delle diverse sostanze. Sebbene la riproducibilità di t o v di ritenzione è minore della precisione delle lunghezze d'onda in spettroscopia, comparando i dati di ritenzione con quelli di sostanze standard, la presenza o assenza di una sostanza può essere stabilita.
- Si accoppia la separazione cromatografica con un rivelatore spettroscopico, per identificare inequivocamente una sostanza (es. HPLC-UV DAD, GC-MS).
- 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 é approssimativamente calcolabile come:

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

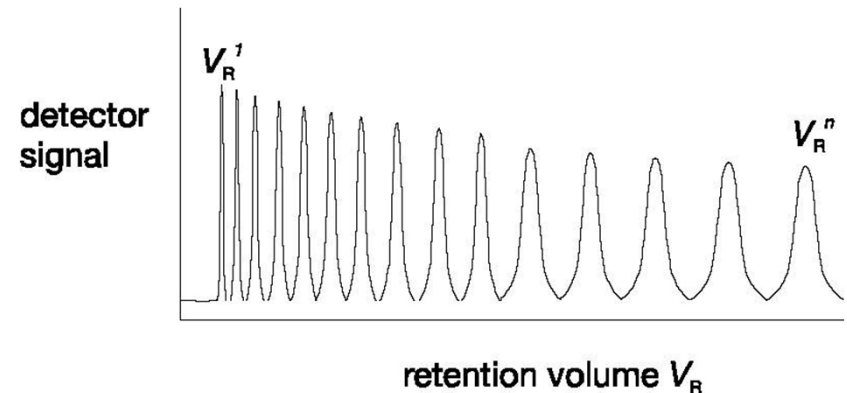
$$n = 1 + (\sqrt{N})/4 \ln (t_R^{(n)} / t_R^{(1)})$$

Volumi e tempi di ritenzione del primo e dell'ultimo picco.

Se il numero di costituenti eccede la capacità di picchi , allora si ha sovrapposizione

Dei picchi sotto i quali due o più costituenti eluiscono

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

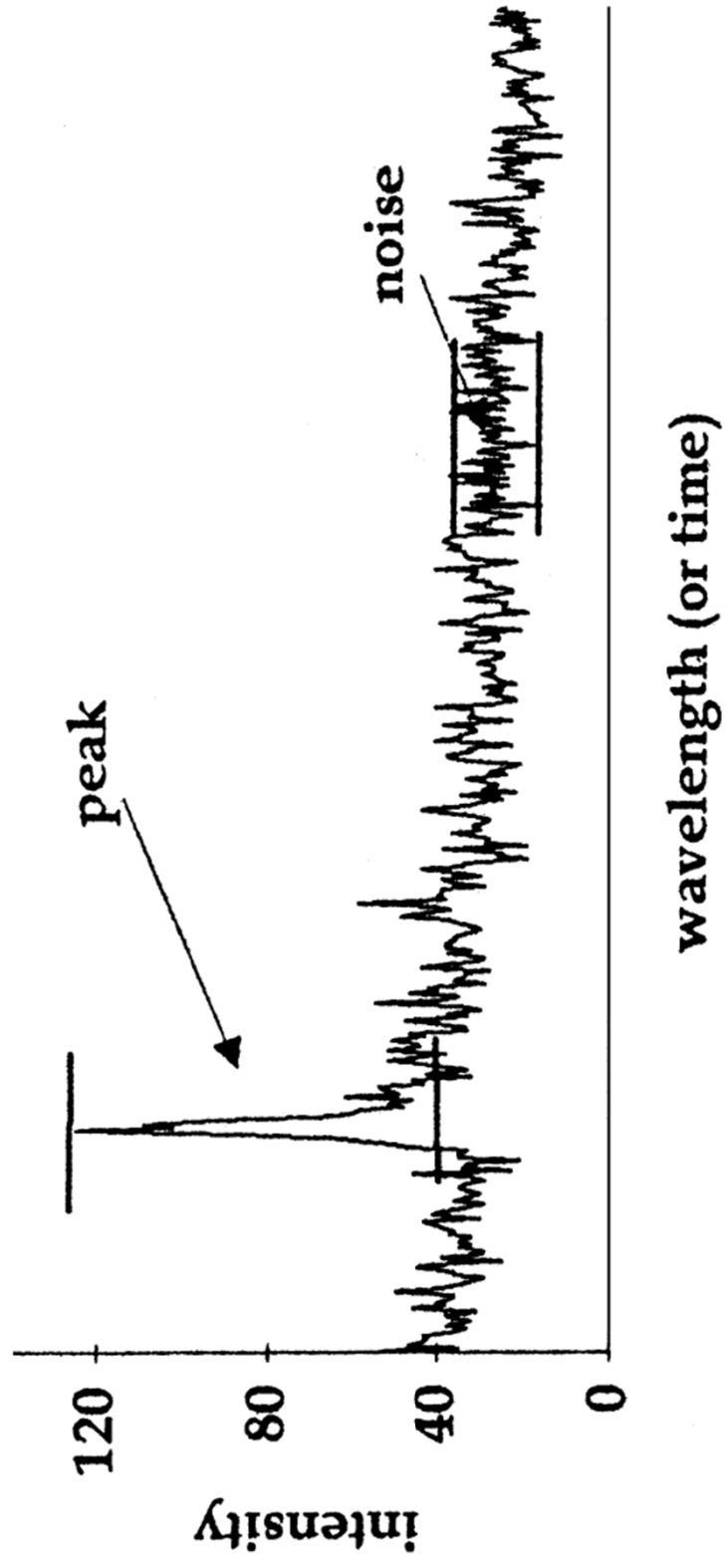


Analisi quantitativa in cromatografia

- La base dell' **analisi quantitativa** sulla cromatografia su colonna è la valutazione dell'altezza o dell'area dei picchi ; nelle cromatografie interne (es. TLC) si può misurare l'intensità complessiva della macchia (spot) di una sostanza.
- I metodi cromatografici sono **metodi relativi**; si esegue una **calibrazione con l'analisi di sostanze standard (si usano standard esterni o interni)**.

Quando valutiamo **l'altezza di picco**, si deve garantire che non c'è alterazione nella forma del picco a seguito di cambio delle condizioni cromatografiche (quando confrontiamo il segnale del campione con quello dello standard); se così non è, non c'è più proporzione diretta con la concentrazione. Variabili come *T della colonna, velocità di flusso, volume d'iniezione* devono essere precisamente controllati. *Non si devono sovraccaricare le colonne.*

- L'allargamento dei picchi è meno rilevante quando si considerano le **aree dei picchi**. Si usano metodi di integrazione numerici, assistiti dal calcolatore. Le aree del picco si possono approssimare, valutando il prodotto dell'altezza e dell'ampiezza a metà altezza (area = hw_B). Si possono aver problemi anche per picchi stretti, per collocare la posizione esatta di inizio e fine del picco)



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-08-02-01

La gas-cromatografia

I composti da analizzare sono vaporizzati ed eluiti attraverso una colonna con l'aiuto di un gas come f.m..

La f.m. è usata soltanto come **gas di trasporto** (***carrier gas***) il che significa che non ci sono interazioni chimiche significative tra analiti e f.m..

Le f.s. **possono essere liquide** (*partizione L/G -GLC o GC; preponderante per analisi di composti organici*) **o solide** (*adsorbimento - GSC; es. analisi dei gas dell'aria*)

Le analisi gas cromatografiche sono adatte per **analiti volatili, termicamente stabili, non polari, o che possono esser resi tali** da opportune reazioni.

Derivatization is the process of chemically modifying a compound to produce a new compound which has properties that are suitable for analysis using a GC.

Why derivatize

- To permit analysis of compounds not directly amenable to analysis due to, for example, inadequate volatility or stability
- Improve chromatographic behavior or detectability Many compounds do not produce a useable chromatograph (i.e. multiple peaks, or one big blob), or the sample of interest goes undetected. As a result it may be necessary to derivatize the compound before GC analysis is done.

What does D. accomplish

- Increases volatility (i.e. sugars): – Eliminates the presence of polar OH, NH, & SH groups – Derivatization targets O, S, N and P functional groups (with hydrogens available)
- Increases detectability, i.e. steroids/ cholesterol
- Increases stability
- Enhances sensitivity for ECD (Electron Capture Detection). The introduction of ECD detectable groups, such as halogenated acyl groups, allows detection of previously undetectable compounds

https://www.chromspec.com/pdf/gc_derivativization_methods.pdf

The main reason for derivatizing is **to impart volatility** to otherwise nonvolatile compounds. The low volatility may result from the size of the molecule and the resultant large dispersion forces holding the molecule together.

Smaller molecules may have a low volatility due to the strong intermolecular attractions between polar groups. In the latter case, masking the polar groups by derivatization can yield dramatic increases in volatility.

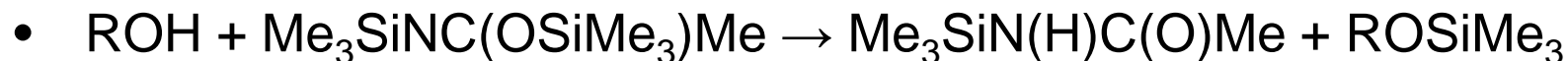
...

- Silylation – readily volatilizes the sample. Most prevalent method
- Alkylation
- Acylation

Silylation

Replaces active hydrogens with a TMS (trimethylsilyl group). ● Silylation occurs through nucleophilic attack (SN2). The better the leaving group, the better the silylation. ● Silylation reagents will react with water and alcohols first.

Bis(trimethylsilyl)acetamide ("BSA", $\text{Me}_3\text{SiNC}(\text{OSiMe}_3)\text{Me}$) is an efficient silylation agent used for the derivatisation of compounds. The reaction of BSA with alcohols gives the corresponding trimethylsilyl ether, together with N-(trimethylsilyl)acetamide as a byproduct:



Dati di ritenzione e coefficiente di partizione

Per tener conto di pressione, temperatura, **nella teoria** si usa **il volume di ritenzione** piuttosto che il tempo di ritenzione (V_R e V_M) (**in pratica** si usano **i tempi**).

Se F è il flusso del gas carrier (ml di carrier per minuto):

$$V_R = F t_R$$

$$V_M = F t_M$$

t_M si determina a volte con iniezione di metano aggiunto o aria.

$$V_R' = V_R - V_M$$

è il **volume di ritenzione corretto**

Il **volume di ritenzione corretto** è caratteristico di una sostanza ed è correlato, attraverso il volume della f.s., al coefficiente di partizione:

$$V_R' = K V_S$$

La resistenza della colonna comporta **pressioni più elevate all'ingresso che all'uscita** (differenza di P in colonna); in considerazione della comprimibilità dei gas, **il flusso di gas aumenta all'aumentare della differenza di pressione**. Per descrivere il *volume di ritenzione indipendentemente dalle cadute di pressione* si può usare un **fattore correttivo j (di Martin)**,

$$V_N = j V_R'$$
$$j = 3 [(p_i/p_o)^2 - 1] / 2 [(p_i/p_o)^3 - 1]$$

Il **volume di ritenzione specifico** V_g dipende da V_N , dalla massa della fase stazionaria (in g) W_S , dalla temperatura della colonna T (in K):

$$V_g = (V_N 273) / (W_S T)$$

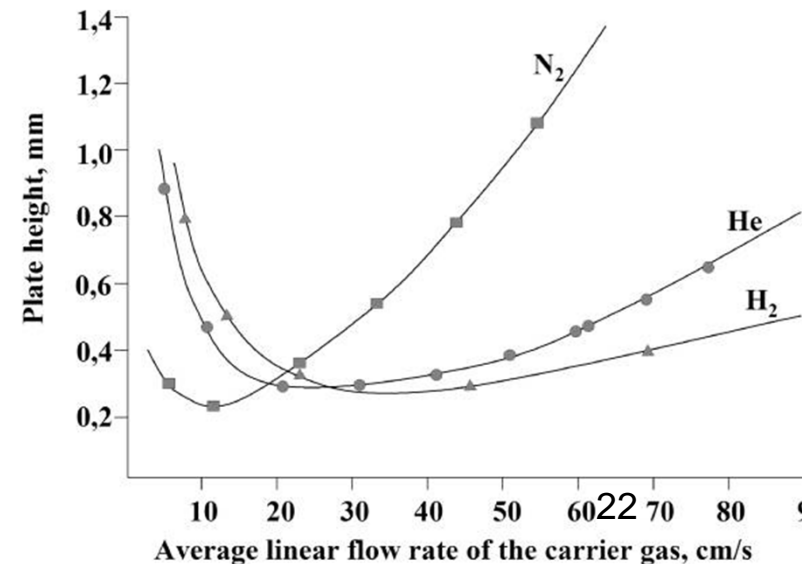
È meno influenzato dalle condizioni di analisi, ma spesso si preferisce impiegare V_R' o valori di ritenzione relativi.

La separazione in fase gassosa

N e H vengono impiegati per valutare l'efficacia di separazione di diverse colonne.

La **diffusione longitudinale (B)** è relativamente più rilevante in **GC** che in altre cromatografie (coeff. diffusione nei gas circa 10000 x maggiori che nei liquidi). Quindi il minimo nella funzione $H(u)$ è più appiattito e posizionato verso velocità lineari più elevate.

influenza	
Diffusione longitudinale	$B/u = (2k_D D_M) / u$
Trasferimento di massa da e verso la f.s. liquida	$C_S u = q k d_f^2 u / (1+k)^2 D_S$
Trasferimento di massa da e verso la f.s. solida	$C_S u = 2 t_d k u / (1+k)^2$
Trasferimento di massa nella fase mobil	$C_M u = f(d_c^2, d_p^2) u / D_M$



Il **potere “risolutivo” di una colonna** per uno specifico problema analitico può essere meglio **descritto dalla efficienza di separazione** (teoria dei piatti e modelli cinetici non bastano...); **si considerano le tensioni di vapore degli analiti e la loro interazione con la f.s.:**

Considerando le leggi di Raoult e Henry, **Herington** ottenne la relazione seguente per descrivere l'efficienza di separazione:

$$\lg (V_{g2} / V_{g1}) = \lg (P_1^0 / P_2^0) + \lg (\gamma_1^0 / \gamma_2^0)$$

Dove V_{g2} e V_{g1} sono volumi di ritenzione specifici per componenti 1 e 2; P_1^0 e P_2^0 sono le tensioni di vapore delle componenti pure; γ_1^0 e γ_2^0 sono i coefficienti di attività a diluizione infinita.

Se si guarda ai tempi di ritenzione, i tempi di ritenzione netta

$$\lg (t_{R2} / t_{R1}) \approx \lg (P_1^0 / P_2^0) + \lg (\gamma_1^0 / \gamma_2^0) \quad \text{o}$$
$$(t_{R2} / t_{R1}) \approx (P_1^0 / P_2^0) (\gamma_1^0 / \gamma_2^0)$$

La **separazione tra due sostanze è primariamente determinata dalle volatilità relative**; le pressioni di vapore dipendono ovviamente da T.

I **coefficienti di attività** sono espressione delle interazioni tra analiti e f.s. e **determinano la selettività della fase stazionaria**; sono disponibili circa 1000 diverse fasi liquide. Le differenze nelle pressioni di vapore sono alla base della separazione tra composti chimicamente correlati (serie omologhe); sostanze con stessa T_{eb} , sono separabili in base a diversi coefficienti di attività.

La legge di Raoult stabilisce che la pressione parziale p_i di un componente in una soluzione a n componenti, a una determinata temperatura T , è funzione lineare della sua pressione di vapore p°_i e della frazione molare x_i del componente liquido secondo l'equazione:

$$p_i = x_i p^\circ_i$$

dove p°_i è la pressione di vapore del componente puro alla stessa temperatura T .

La legge di Henry dice che a temperatura costante, la solubilità di un gas è direttamente proporzionale alla pressione che il gas esercita sulla soluzione.

$$P = kC$$

Raggiunto l'equilibrio, il liquido si definisce saturo di quel gas a quella pressione.

In Memoriam Arnaldo Liberti

This special issue of the Journal of Separation Science is dedicated to the memory of Professor Arnaldo Liberti, who died on August 21, 2000. It contains a selection of the papers presented at the Meeting "Attualità ed Interdisciplinarietà della Chimica Analitica", held in Rome in February 20–22, 2002, most of which dealt with "Separation Science".

Professor Arnaldo Liberti, doyen of Italian Analytical Chemistry, was born in 1917. In 1933 he obtained a first class degree in Chemistry at Rome University, and another in Pharmacy in 1945. In the same year he won a scholarship from the Institute of International Education in New York, and in 1948 he took an MSc in Analytical Inorganic Chemistry at Minneapolis University. In 1952 he qualified for a "Liberata Docenza" in Analytical Chemistry and in 1954 he was appointed to the chair of Analytical Chemistry at Messina University, a position he filled until 1961. He was then called to the same chair in Naples University, where he worked till 1968, and finally moved to Rome, where he was nominated Professor "Emeritus" at the end of his term of office.

In 1967 he was appointed Director of the newly created Laboratory of Atmospheric Pollution at the National Research Council (CNR) and held this post for twenty years.

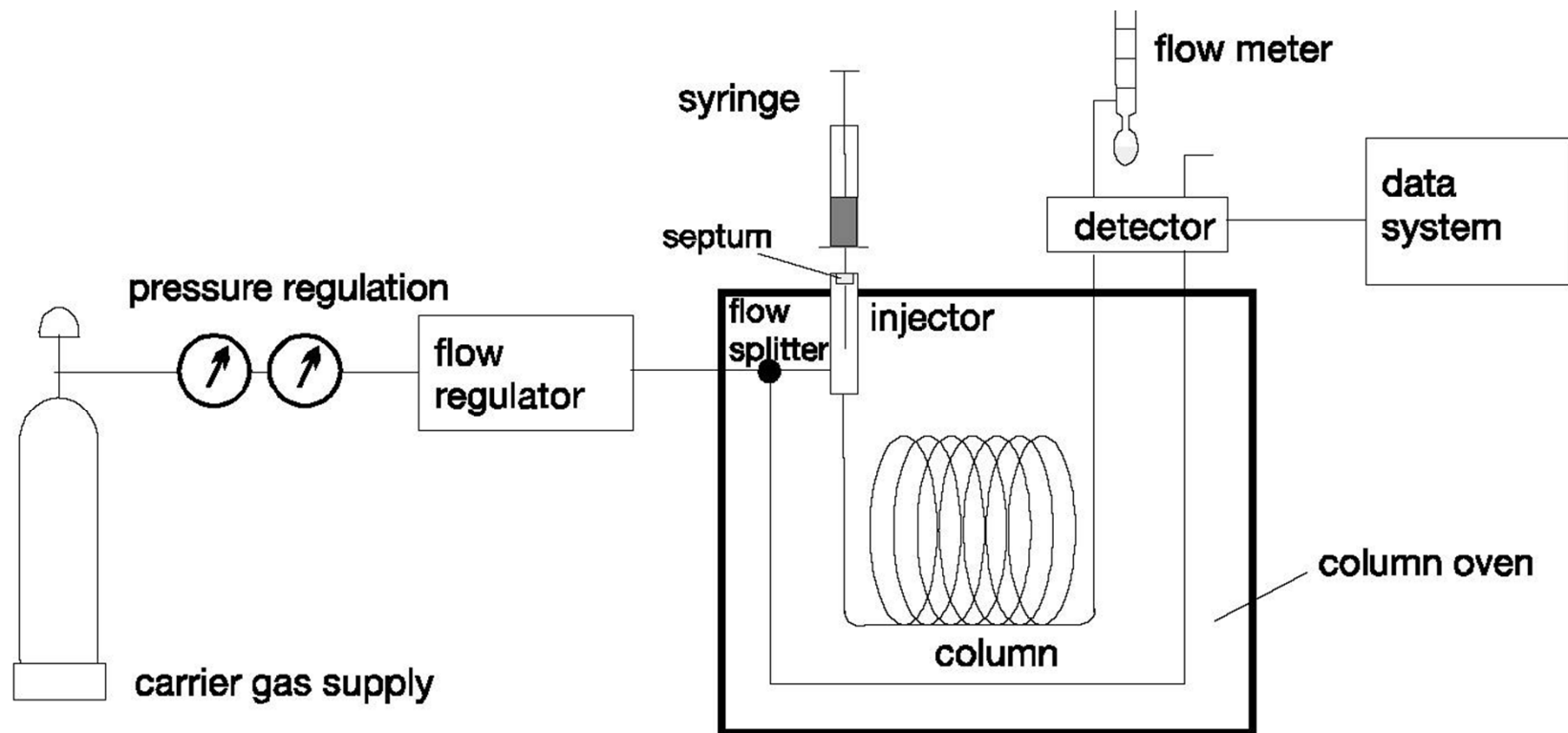
He was the founder and first President of the Division of Analytical Chemistry of the Italian Society of Chemists. He directed the O.E.C.D. project for a modern teaching method for chemistry, and for many years he was chairman of the COST project "Physicochemical Behaviour of Atmospheric Pollutants" of the European Community. He was concurrently President of the Italian Society for the Advancement of Science. His activities were very intense and many sided, in pure and applied research, in didactics and organisation, and his interests covered a wide range of problems, especially, but not only, in the field of Analytical Chemistry.

He was active to the end, with the enthusiasm, the initiative, and the scientific curiosity of a much younger researcher. His research activity developed initially in the field of Electroanalytical Chemistry, studying particularly the polarographic behaviour of organic reagents, then in that of solution equilibrium, where he applied various techniques, particularly those of potentiometry, following the experimental technology and the calculation methods elaborated by the Scandinavian School. But already in 1954 he undertook research in Gas Chromatography, a technique of which he is considered one of the pioneers. Innumerable contributions and developments were made to this technique by Professor Liberti and his collaborators, such as the separation of isotopic mixtures, the analysis of essential oils, the evaluation of aromas, the analysis of polycyclic hydrocarbons and its application to environmental problems. His contributions to the technology of capillary columns are of particular interest. He also studied complex ecological phenomena, such as the evaluation of the acidity of the atmosphere, the quantification of photochemical smog, the definition of analytical methodologies for the identification of species of environmental interests, the design of specific apparatus, the disposal of sewage products. Author of over three hundred publications, he received numerous honours in Italy and abroad, such as the Garneri Medal for Analytical Chemistry from the Italian Society of Chemists, the A.J.P. Martin Award from the Chromatographic Society, the Anniversary Chromatography Award, and finally the Emanuele Paternò gold metal recently awarded to him by the Italian Society of Chemists.

Giampaolo Cartoni
Dipartimento di Chimica,
Università di Roma "La Sapienza",
Roma, Italy

Salvatore Fanali
Istituto di Metodologie Chimiche,
Consiglio Nazionale delle Ricerche,
Monteotondo Scalo, Italy

Componenti di un gas cromatografo: la strumentazione

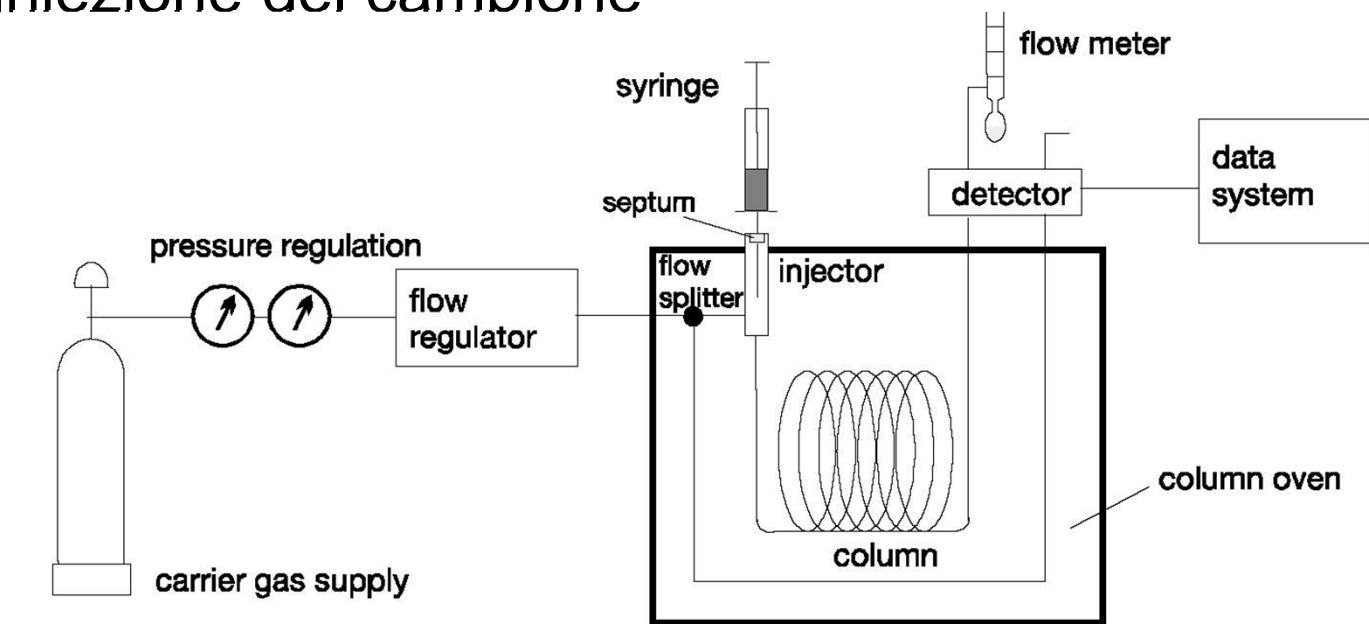


© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-09

Componenti di un gas cromatografo: la strumentazione

Differenze:

- tipo di carrier gas usato
- Regolatore del gas
- Sistema di iniezione del campione
- Colonne
- Rivelatori



Operazioni

Flusso e pressioni del **carrier gas** sono aggiustate con regolatori di flusso e pressione e il gas è diretto attraverso l'iniettore alla colonna cromatografica.

Il **campione** è introdotto in uno speciale iniettore o direttamente iniettato in colonna (i campioni liquidi sono vaporizzati).

Gli analiti sono separati nella **colonna** che è mantenuta in un forno a temperatura controllata. Usualmente si impiega un gradiente di temperatura per migliorare la separazione.

La strumentazione moderna è controllata da computer.

Gas di trasporto

Non interagisce con le molecole del campione, ha come funzione principale **trasferire gli analiti da iniettore a detector**.

In teoria qualsiasi gas inerte e sufficientemente puro ($\geq 99.995\%$); impurezze acqua e O_2 .

In pratica **He, H₂, N₂**. Gas flussato attraverso **setacci molecolari o letto adsorbente** per rimuover H_2O .

Flusso assicurato dalla **pressione in eccesso da una bombola**, così che non è necessaria una pompa. Il flusso dev'esser costante per riproducibilità.

Lavorando in condizioni isoterme, è sufficiente impostare la pressione dell'alimentazione della colonna usando **un riduttore di pressione a due stadi**. **Nel caso di un metodo a temperatura programmata, un regolatore di flusso dev'essere aggiunto** per tener conto dei cambiamenti della resistenza del fluido. Per misurare la velocità del flusso, **all'ingresso** si può inserire un rotometro, o un flussimetro a bolle di sapone **all'uscita** della colonna.

Per colonne impaccate il flusso di gas di trasporto varia nell'intervallo tra 25 e 150 mL min⁻¹, per capillari varia tra 1 e 25 mL min⁻¹.

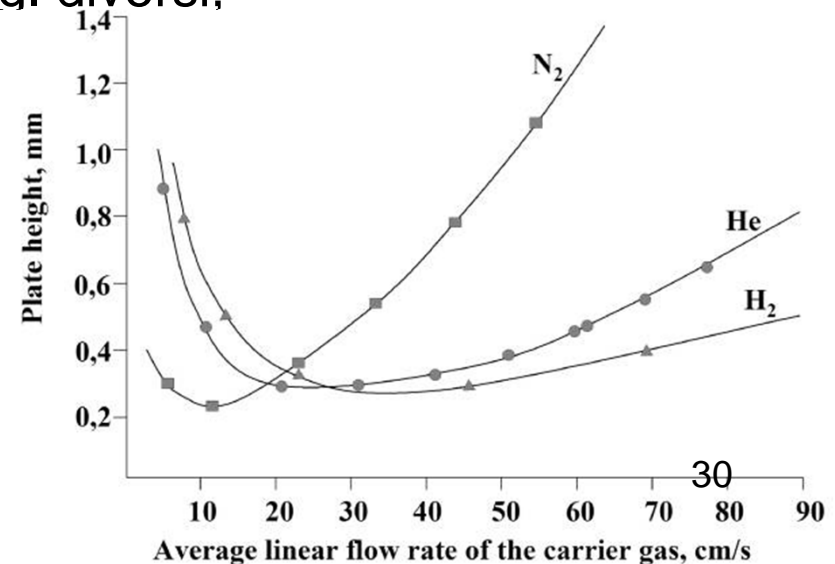
Gas di trasporto

Il gas di trasporto non influenza la selettività della separazione, ma ha un **effetto su risoluzione, tempo di analisi e sensibilità**. Gli aspetti caratterizzanti il c.g. sono: **Massa molare** determina l'effetto delle collisioni con le molecole di analita in fase gassosa. Se si ha MM elevata, le collisioni rallenteranno di più la migrazione degli analiti in colonna; essi staranno di più nella f.m. in colonna il che aumenta la diffusione longitudinale e quindi l'allargamento dei picchi. La **densità** di un gas (e quindi la pressione) hanno effetto simile. Maggiore la densità, più le collisioni tra le molecole e l'allargamento dei picchi. E' opportuno mantenere la pressione più bassa che garantisca un flusso ragionevole di gas lungo la colonna; P dipende da **viscosità** del gas dalla lunghezza e dal diametro interno della colonna.

Si possono ottenere H ottimali simili con c.g. diversi, ma i tempi di analisi cambiano.

H minimo simile per He, H₂, N₂.

Per He, H₂ cambio u con piccolo cambiamento di H. La separazione più veloce si ha con H₂, per piccola MM e viscosità.



Sistemi di iniezione del campione

Per l'analisi quantitativa la scelta della tecnica e delle condizioni d'iniezione può essere critica.

Campioni liquidi sono iniettati in un sistema GC e il liquido deve essere vaporizzato (o nell'iniettore o nel primo tratto della colonna). Tipi di iniettore per liquidi:

- *split/splitless*
- *on column*
- *programmed temperature injector*

Per gas si impiegano sistemi di iniezione dedicati.

Per colonne capillari i volumi di liquido iniettati variano tra 0,5 e pochi microlitri, ma si possono anche iniettare volumi maggiori.

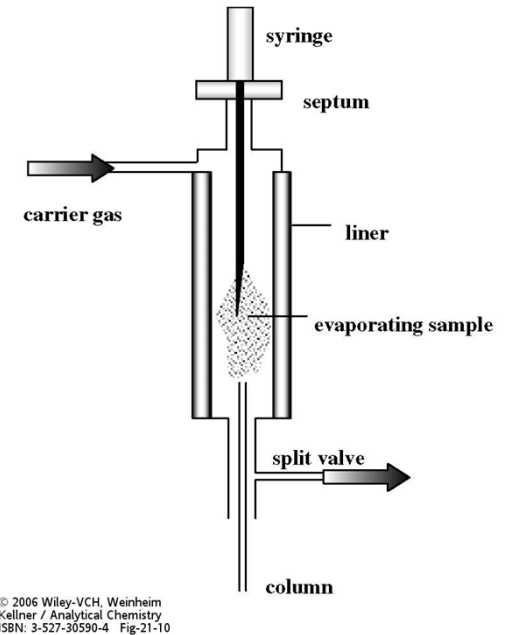
Per colonne impaccate i volumi sono nell'ordine dei microlitri

Iniezione split

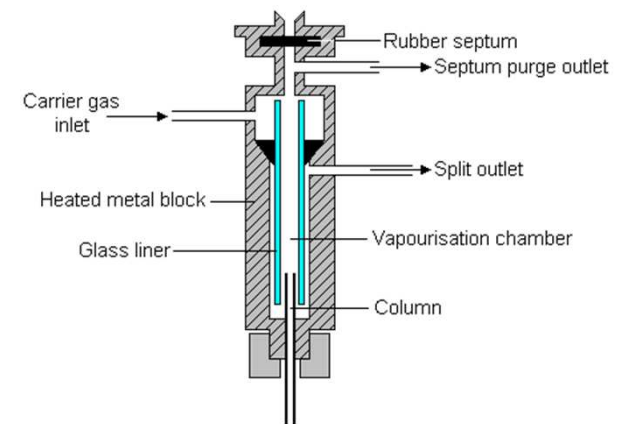
Nell'iniezione split solo una parte del campione è trasferita in colonna dal c.g.; la maggior parte è eliminata (*venting*) attraverso una suddivisione del flusso (*split*) verso lo scarico.

Setto attraversato da siringa (punta obliqua) che inietta il campione in un *liner*; lì evapora il campione. Al fondo dell'iniettore c'è una valvola di splittaggio (ci può essere uno "spurgo" (*purge*) per il setto).

Per un'iniezione split, il campione è iniettato nel liner caldo dell'iniettore, con la valvola di splittaggio aperta. La maggior parte del campione vaporizzato se ne va allo scarico, piccola parte in colonna (20:1 - 100:1, misurato da flussi di c.g.). Quando il solvente è iniettato, 1-2 μL formano 300-1000 μL di vapore, e cambiano la pressione. Il quantitativo di vapore dipende dal volume iniettato e dal tipo di solvente.



The split / splitless injector



Iniezione split

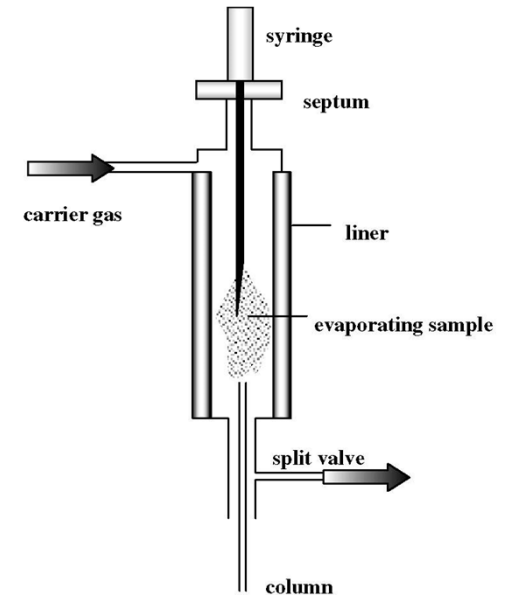
Parametri da ottimizzare/variabili: **T iniettore**, **rapporto di splittaggio**, **volume e impaccamento del liner**, **pressione e velocità di flusso del gas di trasporto**.

T elevata per vaporizzare rapidamente il campione.

Per assicurare un'evaporazione rapida e omogenea del campione in fondo al liner si pone della **lana di vetro deattivata**, per rallentare il liquido iniettato.

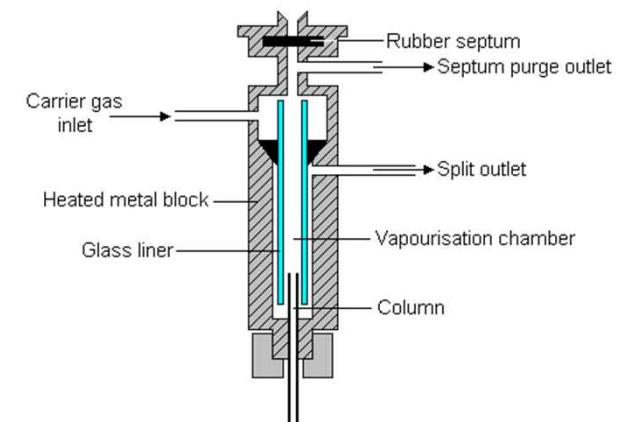
Durante l'iniezione la **T del forno** che contiene la colonna deve essere sufficientemente elevata da **impedire la ricondensazione** del campione vaporizzato.

L'iniettore split genera **picchi affilati** ed è relativamente facile da impiegare; **non è ottimale per le analisi quantitative**, in quanto il rapporto di split cambia anche con piccole variazioni nelle condizioni d'iniezione. **Componenti più volatili son meglio trasferite in colonna** di componenti meno volatili. **Non va bene per l'analisi di tracce.**



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kallner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-10

The split / splitless injector



Iniezione splitless

L'intero campione è trasferito in colonna (**valvola di split chiusa durante l'iniezione**). La valvola è aperta dopo un tempo predeterminato (periodo splitless), che dipende da velocità e pressione del c.g., dal quantitativo di campione, dal solvente. Il trasferimento del vapore di solvente in colonna richiede del tempo, per cui il periodo dev'essere tale da consentire che la maggior parte del campione passi in colonna (anche 40-90 s per 1-2 uL). Poiché il trasferimento dei vapori richiede tempo, la zona in cui si trova il campione è ampia e richiede una riconcentrazione (distingui analiti volatili e poco volatili), semplicemente tenendo la colonna a T relativamente basse, controllando l'eventuale ricondensazione di alcuni analiti.

Problemi: **effetto matrice** e **effetto memoria** ; (1) componenti presenti nella matrice possono disturbare la vaporizzazione (2) nell'iniettore possono rimanere costituenti da iniezioni precedenti.

Picchi fantasma.

I liners

http://www.separatedbyexperience.com/documents/Liner_Selection_Guide.pdf

Es. Comparison using a splitless and split liner in a *splitless injection* with a sample of alkanes. Notice how the peak shape and height of the early eluting (more volatile) compounds is severely affected when using the incorrect (split) liner

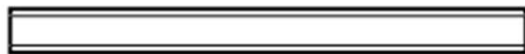


Figure 1: Thermo Scientific Split Liner 5 mm x 105 mm

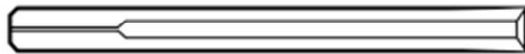


Figure 2: Thermo Scientific Splitless Liner 5 mm x 105 mm

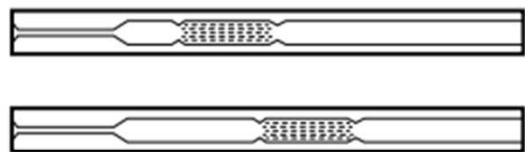


Figure 4: Example of Thermo Scientific Splitless FocusLiners 5 x 105 mm, note the different positions of the quartz wool packing



Figure 6: Thermo Scientific liner for TRACE 1300/1310 and Agilent Split/Splitless inlet, Double Taper 4 x 78.5 mm internal dimension (P/N 453A1355)

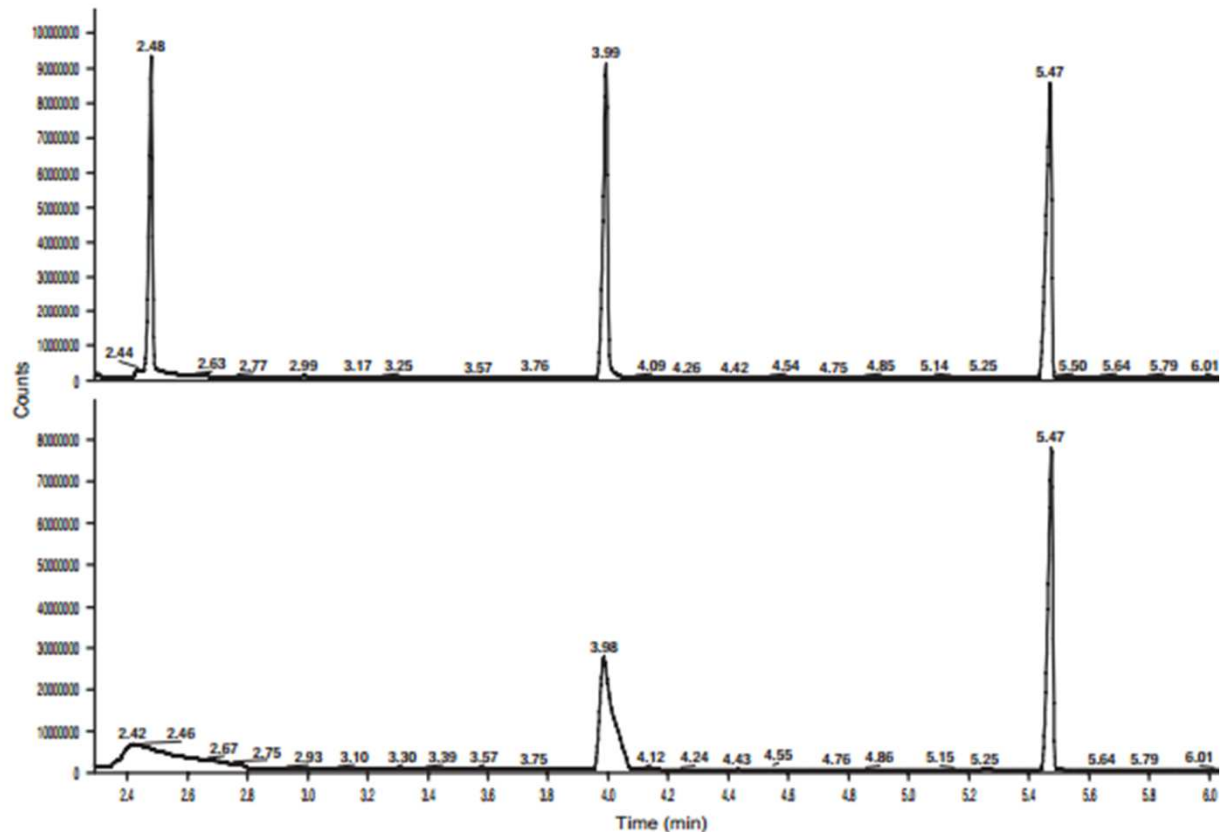


Figure 3: The effect of using the wrong liner in splitless mode (n-alkanes). Top chromatogram, splitless (correct) liner, bottom chromatogram split (incorrect) liner

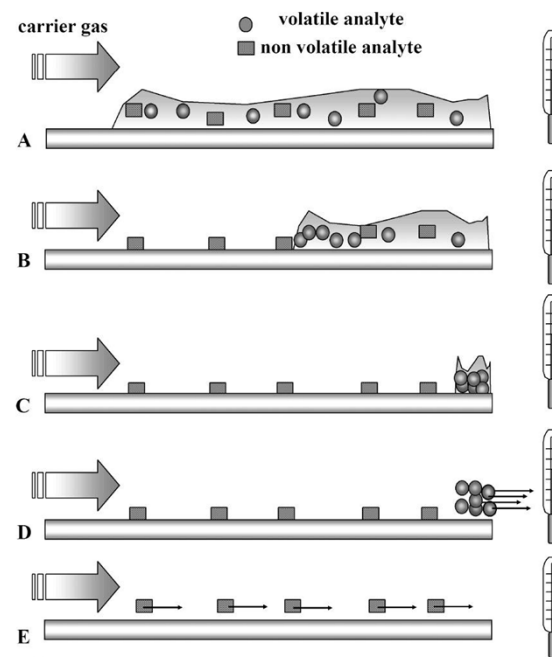
Altri iniettori

- Iniezione a freddo *on column* (minimizzo cross contaminazione con porzione di colonna deattivata in testa)
- *Programmable Temperature Vaporizer*
- iniezione in spazio di testa (SHS e DHS)

Effetti del solvente

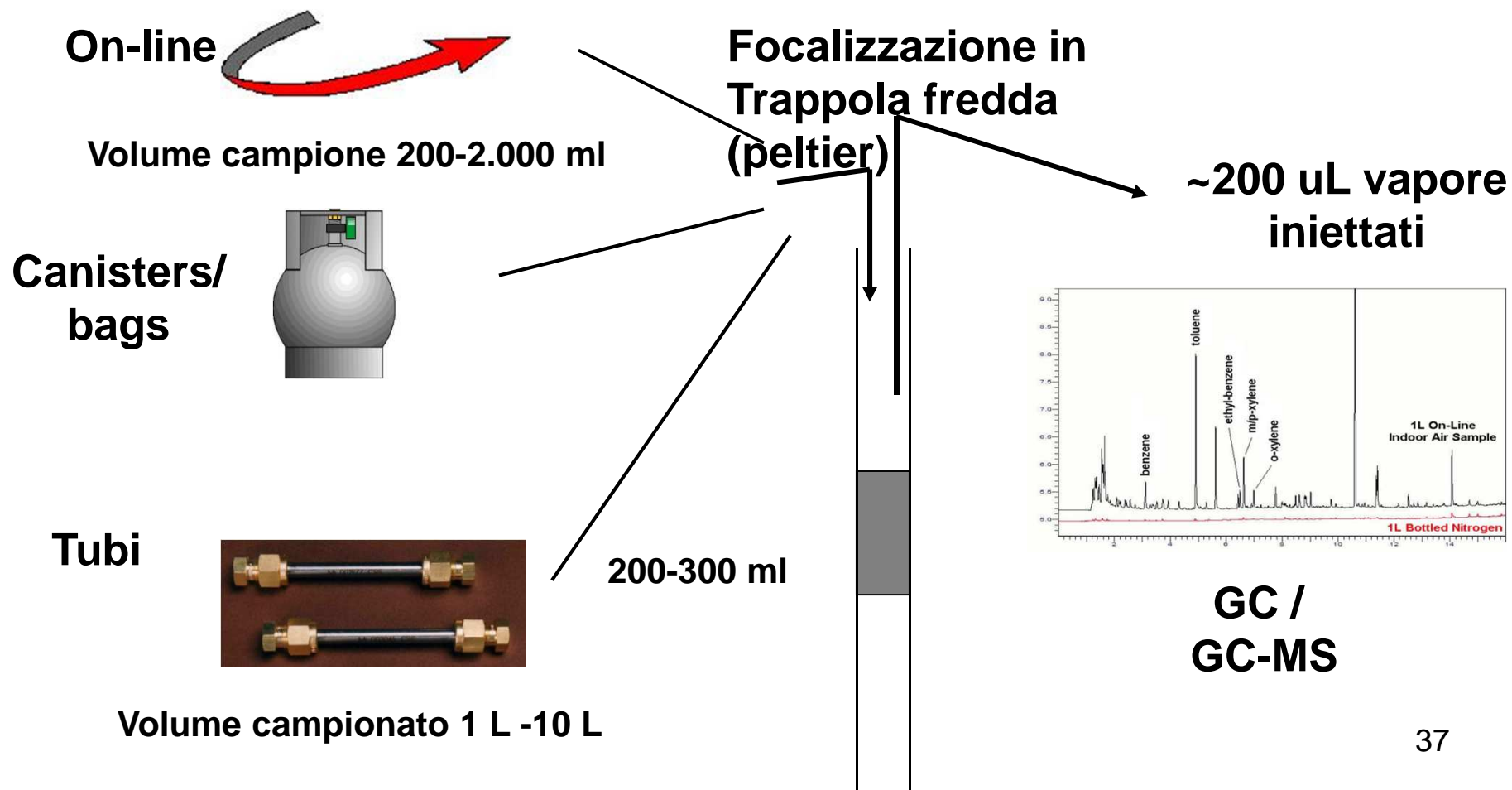
- *Solvent trapping*
- *Phase soaking*
- *Band broadening in space*

L'intrappolamento sul solvente dipende da (quantità e tipo di solvente (bene i non polari volatili), T forno durante l'iniezione)



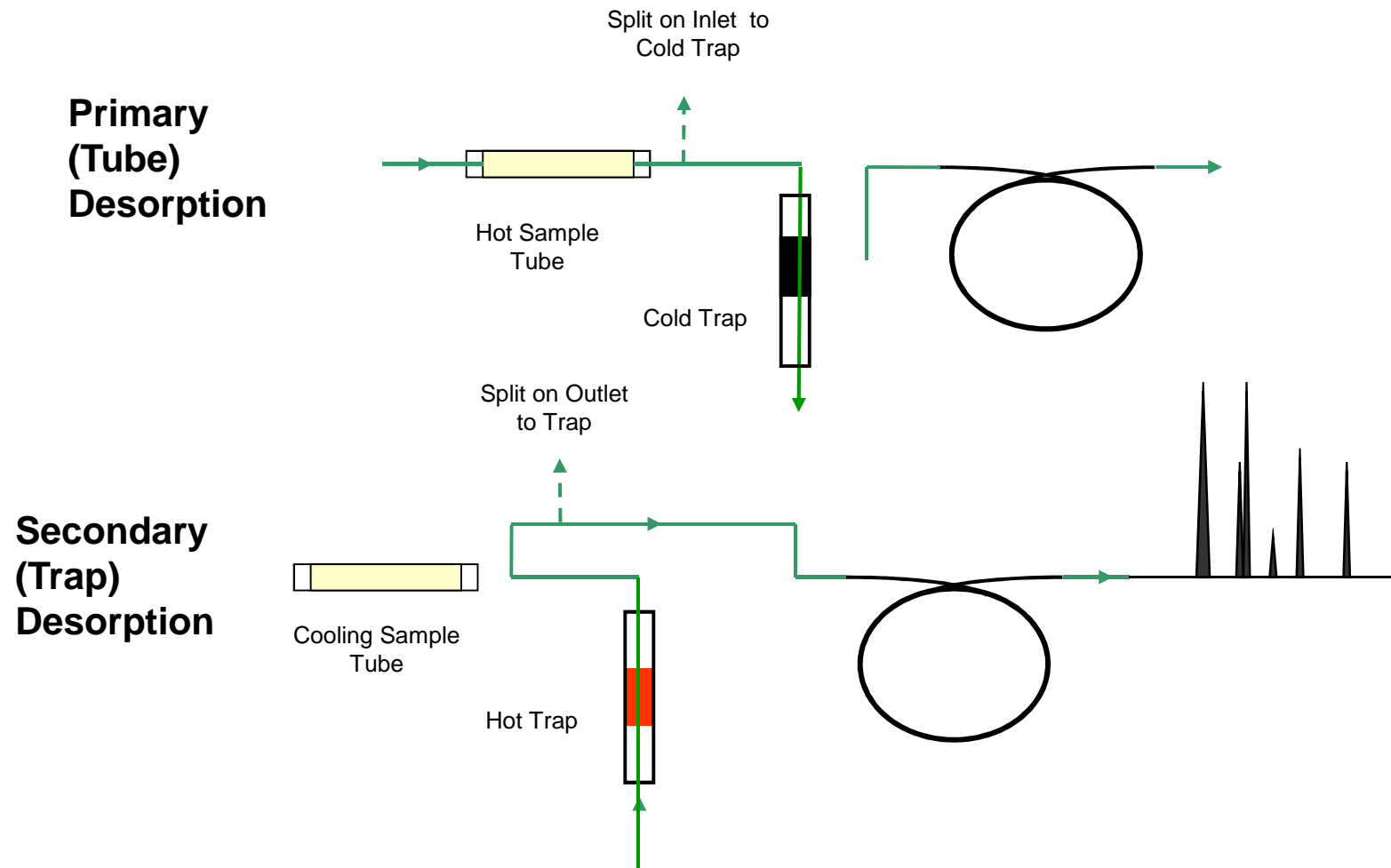
Misura online-offline di VOC a bassa concentrazione

il processo analitico: campionamento – concentrazione selettiva -
desorbimento – trasferimento al sistema analitico - misura



Desorbimento a doppio stadio

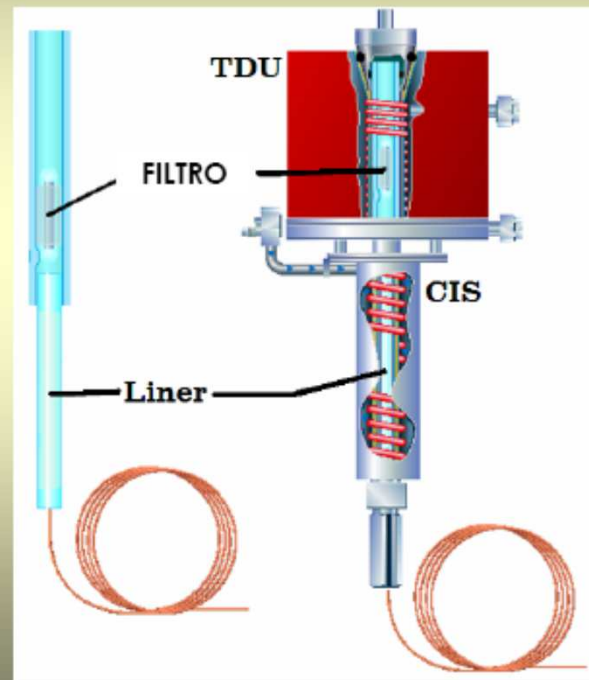
utilizzando una piccola trappola di focalizzazione, impaccata con materiale adsorbente e raffreddata elettricamente



Nelle **trappole fredde** si usano spesso **celle di Peltier**

- La cella di Peltier è un dispositivo termoelettrico costituito da molte giunzioni ad effetto Peltier in serie; Il suo nome deriva da Jean Charles Athanase Peltier.
- La cella di Peltier è fondamentalmente una pompa di calore a stato solido dall'aspetto di una piastrina sottile; una delle due superfici assorbe il calore mentre l'altra lo emette. La direzione in cui il calore viene trasferito dipende dal verso della corrente continua applicata ai capi della piastrina stessa.
- Il comune uso della cella è la sottrazione di calore mediante adesione del lato freddo al corpo da raffreddare; arrivano a -40°C
- L'alternativa è l'impiego di **liquidi criogenici** (es. azoto liquido $-195,8^{\circ}\text{C}$)

TDU – CIS liner in liner



DTD-GC-qMS: TDU-CIS

TDU Liner in Liner, Peltier 10°C



DTD-GC-qMS: TDU-CIS

Dal campionamento al dato analitico



Introduzione automatizzabile

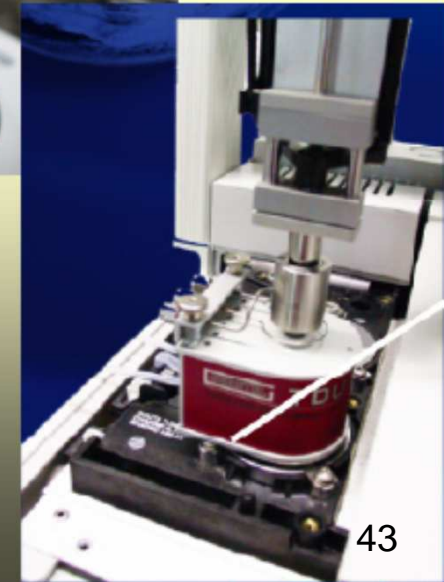
DTD-GC-qMS: TDU-CIS



Il "liner" contenente il filtro viene prelevato dal Tray



e inserito nel TDU



Introduzione di gas

Si possono usare siringhe analoghe a quelle per i liquidi, ma di maggiore capacità. Poiché accuratezza e riproducibilità sono modeste, in genere si preferiscono i **dispositivi a valvola**.

Le **valvole multivia** consentono un campionamento preciso e riproducibile

