

CHIMICA ANALITICA II

CON LABORATORIO

(AA 2018-19)

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

Separazione dei picchi e risoluzione

Già conosciamo il **fattore di selettività o fattore di separazione** che è una misura della separazione di due sostanze (A e B) ed è indicato con α :

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} = \frac{k_B}{k_A} = \frac{(t_R')_B}{(t_R')_A}$$

↙
↘
↘

Rapporto dei coefficienti di partizione Rapporto dei fattori di ritenzione Rapporto dei tempi di ritenzione corretti (per il tempo morto t_M)

Il fattore di selettività 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 (k).

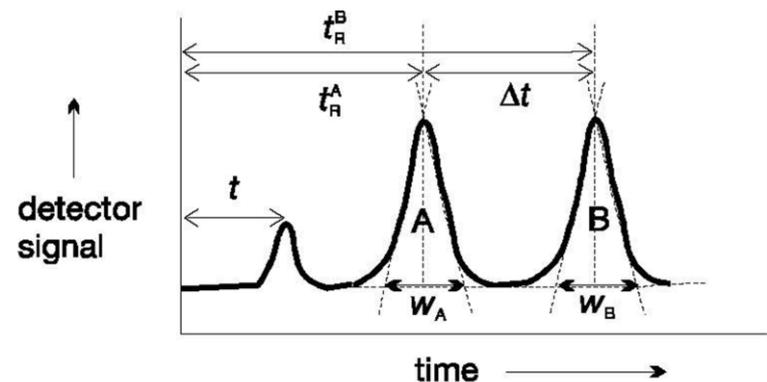
Quindi si utilizza la **RISOLUZIONE** (R_S) per caratterizzare l'abilità di una colonna cromatografica a separare due analiti (cioè la selettività). R_S si calcola per i picchi gaussiani di A e B, impiegando le ampiezze di base (w_b).

$$R_S = \frac{\Delta t}{\frac{w_A + w_B}{2}} = \frac{t_R^B - t_R^A}{w_b}$$

con $w_b \approx w_A \approx w_B$



"b" sta per "baseline"



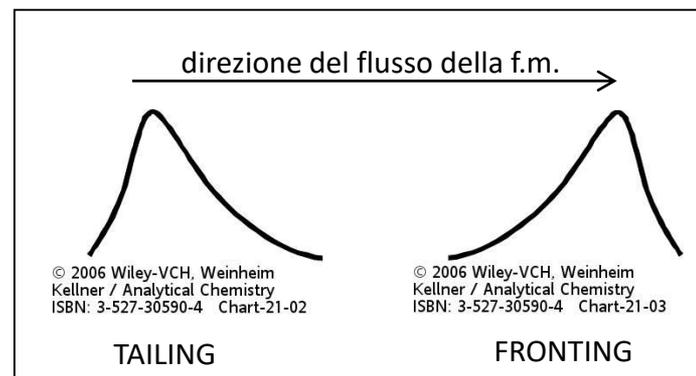
© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-07

segue →

Poiché è frequente che i picchi in condizioni reali siano NON simmetrici, quindi non gaussiani, è opportuno esprimere R_S in termini diversi da w_b .

Ricordando che il numero di piatti teorici è espresso come:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2 \quad \text{--> si ricava } w_b \text{ (per la sostanza B): } w_B = \frac{4 \cdot t_R^B}{\sqrt{N}}$$



Quindi sostituendo w_B in R_S :

$$R_S = \frac{t_R^B - t_R^A}{w_B} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{t_R^B - t_R^A}{t_R^B}$$

--> Dipendenza di R_S dal numero dei piatti N

Dato che il fattore di ritenzione è uguale a: $k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$ --> si ricava t_R : $t_R = t_M \cdot (k+1)$

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{t_R^B - t_R^A}{t_R^B} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\cancel{t_M}(k_B+1) - \cancel{t_M}(k_A+1)}{\cancel{t_M}(k_B+1)} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k_B - k_A}{k_B+1}$$

--> Dipendenza di R_S dai fattori di ritenzione delle sostanze A e B

segue →

Dato che il fattore di separazione α è uguale a: $\alpha = \frac{k_B}{k_A}$ --> si ricava k_A : $k_A = \frac{k_B}{\alpha}$

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k_B - k_A}{k_B + 1} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k_B - \frac{k_B}{\alpha}}{k_B + 1} \quad / \cdot \frac{\alpha}{\alpha}$$

--> Dipendenza di R_S dai fattori di ritenzione delle sostanze A e B

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

Se i fattori di ritenzione di A e B sono simili, quindi $k_B \approx k_A \approx k'$ e quindi $\alpha \rightarrow 1$, si può esprimere R_S come:

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

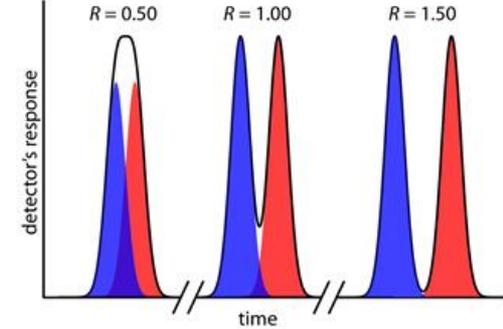
--> Dipendenza di R_S dal fattore di separazione

Quando la risoluzione R_S è nota, il numero di piatti teorici N può esser calcolato dai fattori di separazione α e il fattore di ritenzione del componente B, k_B .

$$N = 16 R_S^2 \cdot \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \cdot \left(\frac{k_B + 1}{k_B} \right)^2$$

segue →

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



La separazione può essere ottimizzata in base alla dipendenza della risoluzione R_S da α , k' , N (o meglio H). 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 l'altezza dei piatti teorici (H);
- **H** è influenzata dalla velocità del flusso (u), dalle dimensioni delle particelle del materiale di impaccamento (d_D), dalla viscosità delle fasi e quindi dai coefficienti di diffusione D_S e D_M , dallo spessore (d_f) 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 .
- Nel caso di **picchi a intensità molto diversa o asimmetrici** è necessaria una separazione molto maggiore per una completa separazione.

Analisi qualitativa in cromatografia

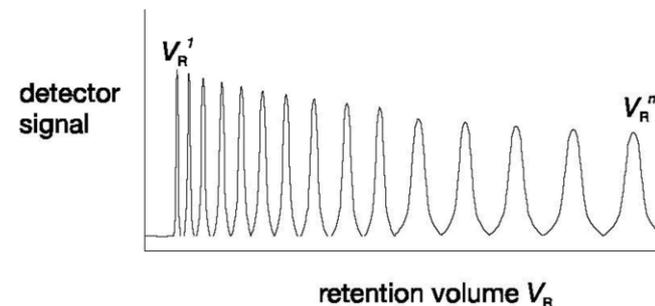
- I metodi cromatografici sono impiegabili per analisi **qualitative, quantitative** o **per scopi preparativi**.
- **L'informazione qualitativa:**
 - ✓ nei **cromatogrammi interni** risiede nella posizione della sostanza sulla f.s. (es. in TLC);
 - ✓ nei **cromatogrammi esterni** risiede nel valore 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



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

- 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.

Analisi quantitativa in cromatografia

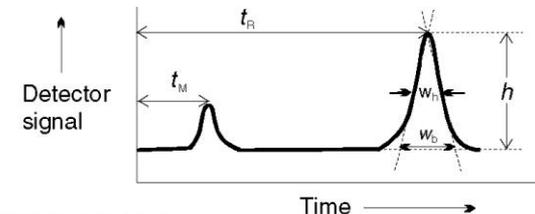
- **Per ottenere informazione quantitativa:**

- ✓ nelle **cromatografie interne** si può misurare l'intensità complessiva della macchia (spot) di una sostanza sulla f.s. (es. in TLC);
- ✓ nelle **cromatografie esterne** (cioè su colonna) si effettua una valutazione dell'altezza o dell'area dei picchi.

I metodi cromatografici sono **metodi relativi**; si esegue una **taratura mediante analisi di sostanze standard** (si usano sia standard esterni che interni).

- **Nelle cromatografie interne:**

- ✓ se si decide di valutare **l'altezza di picco**, si deve garantire che non c'è alterazione nella forma del picco a seguito di cambio delle condizioni cromatografiche (nel confrontare il segnale del campione con quello dello standard); poiché se ci sono alterazioni, non c'è più proporzione diretta con la concentrazione. Variabili come T della colonna, velocità di flusso, volume d'iniezione devono essere precisamente controllati. Inoltre bisogna evitare di sovraccaricare la colonna con una grande quantità di campione.
- ✓ se si decide di valutare **l'area di picco**, le alterazioni di forma dei picchi sono meno rilevanti. Si usano metodi di integrazione numerici, assistiti dal calcolatore. Le aree del picco si possono approssimare, calcolando il prodotto tra l'altezza e l'ampiezza a mezza altezza (area = $h \cdot w_h$). Picchi molto stretti possono generare problemi nell'integrazione dell'area poiché è difficile collocare la posizione esatta di inizio e fine del picco.



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

GASCROMATOGRAFIA

INTRODUZIONE

I composti da analizzare sono vaporizzati nel sistema di iniezione ed eluiti attraverso una colonna con l'aiuto di un gas come fase mobile.

*La **fase mobile** 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 **fasi stazionarie** possono essere **liquide** (partizione liquido/gas (GLC detta anche GC) che viene utilizzata per analisi di composti organici) **o solide** (adsorbimento – GSC- "gas-solid chromatography"; es. analisi di gas permanenti e C1-C3)*

- *nelle **CROMATOGRAFIE PER ADSORBIMENTO** la fase stazionaria è solida e le sostanze si separano a seconda della loro affinità di adsorbimento sulla fase solida;*
- *nelle **CROMATOGRAFIE DI PARTIZIONE** la fase stazionaria è un film liquido supportato su solido e le sostanze si separano in dipendenza dei loro coefficienti di partizione tra la fase mobile e la fase stazionaria.*

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

ESEMPIO per GSC:
Chromatographia
May 1982, Volume 15,
Issue 5, pp 297–300 |

Separation of mixtures of
permanent gases and
light hydrocarbons on
spherical carbon
molecular sieves by gas-
solid chromatography

P. KuszA. AndrysiakJ.
Bobiński

Key Words

Gas-solid chromatography
Carbon molecular sieves
Permanent gases
Hydrocarbons C₁–C₃
Oxo-synthesis

Summary

Experimental results are presented on the application of Carbosieve S (Supelco) and Spherocarb (Analabs) spherical carbon molecular sieves for the gas chromatographic separation of mixtures of permanent gases and C₁–C₃ hydrocarbons using a single column or two columns in series. At a programmed temperature of 35–300 °C, good separation of the sample components was obtained when using helium as the carrier gas. When hydrogen was used as the carrier gas and the analysis was carried out under isothermal conditions the elution sequence of oxygen and nitrogen reversed as the temperature was increased. This behaviour was observed within a temperature range of 35–225 °C for Carbosieve S, and within a temperature range of 35–300 °C for Spherocarb.

Introduction

Separation of inorganic (H₂, N₂, O₂, CO, CO₂) and light (C₁–C₃) hydrocarbon gases has usually been carried out by gas-adsorption chromatography [1–3], utilizing two or three columns arranged parallel or in series [4–8] and connected by means of multiport valves which permit to change the elution sequence and detection. Detection is usually carried out after each column.

Finding a suitable method for the separation of some mixtures of permanent gases and light hydrocarbons on a single column has been a problem for a long time. Methods using Porapak Q [9, 10] and Chromosorb 102 [11] adsorbents under programmed temperature conditions starting at sub-ambient have been reported. Gvosdovich, Kiselev and Yashin [12] separated a mixture consisting of O₂, N₂, CO, CO₂, CH₄, C₂H₂, C₂H₄, C₂H₆, C₃H₆ and C₃H₈, in a column

containing microporous activated carbon using temperature programming from 25 °C to 250 °C. Carbon molecular sieves (CMS) prepared by Kaiser [13, 14] provided further possibilities for the GC separation of such gas mixtures [15, 16].

In this paper, our results obtained are presented on the use of Carbosieve S or Spherocarb spherical carbon molecular sieves in a single column or in two columns in a series for the analysis of mixtures of permanent gases and C₁–C₃ hydrocarbons under temperature-programmed conditions starting at temperatures above ambient. The aim of our work was to develop a simple and versatile method for the analysis of the gaseous feedstock used for the olefin hydroformylation (oxo) process. In this process, the main starting materials are: hydrogen, carbon monoxide, and ethylene or propylene.

Experimental

Instrumentation

ZDSO Model 577 (ZDSO, Kędzierzyn, Poland) gas chromatograph equipped with thermal conductivity detector having Re-W filaments (Code 13-002, Gow-Mac Instrument Co., Bridgewater, NJ, USA) was used in our work. It was connected to a MKE I type recorder (VEB Meßgerätewerk, Magdeburg, GDR), with a chart speed of 1 cm/min. Column tubes consisting of type 200 nickel (Analabs, Inc., North Haven, CO, USA), 2 m × 1/8 in. o.d., were used in the instrument.

Gas samples were injected with the help of a six-port sampling valve with a 0.5 cm³ sampling loop (Carlo Erba, Milan, Italy).

The carrier gases (hydrogen and helium) were predried in an adsorber containing molecular sieve 13X. Oxygen was removed from the carrier gas by means of BTS catalyst (Fluka AG, Buchs, Switzerland).

Materials

Two types of spherical carbon molecular sieves were used as the column packing: Carbosieve S supplied by Supelco, Inc. (Bellefonte, PA, USA), and Spherocarb supplied by Analabs Inc. (North Haven, CO, USA). Both represented a 100–120 mesh cut.

Derivatizzazione

La derivatizzazione consiste nella modifica per reazione chimica di un composto in modo da produrre un nuovo composto su cui sia possibile effettuare una analisi gas cromatografica.

Si derivatizza per:

- Consentire l'analisi di composti che, per esempio, non siano sufficientemente volatili o stabili per analisi GC;
- Migliorare l'andamento del cromatogramma o la possibilità di rivelare un determinato composto. Molti composti non producono un cromatogramma utilizzabile (ad es. molteplicità di picchi o un picco unico molto largo), oppure è difficile rivelare il composto a causa della sua natura. Quindi è necessario effettuare una opportuna derivatizzazione dello stesso prima di effettuare l'analisi GC.

Con la derivatizzazione si può ottenere:

- Un aumento della volatilità (es. analisi degli zuccheri) per esempio per eliminazione (mascheramento) di gruppi polari OH, NH ed SH;
- Aumento della rivelabilità, ad es. per steroidi/colesterolo;
- Aumento della stabilità dei composti;
- Aumento della sensibilità nel caso di rivelatore ECD (Electron Capture Detection). L'introduzione di gruppi rivelabili tramite ECD come gli acil-alogenuri, permette la rivelazione di sostanze "cieche" all'ECD.

segue →

In genere il motivo principale per cui i composti vengono derivatizzati è per renderli più volatili. Di solito le molecole poco volatili sono grandi, oppure sono piccole ma possiedono molti gruppi polari che ne diminuiscono la volatilità.

Nel secondo caso è abbastanza semplice aumentare la volatilità della molecola perchè basta "*mascherare*" i gruppi polari tramite opportune reazioni.

Questo risultato si può ottenere con tre tipi di reazioni:

- Silanizzazione (metodo più usato);
- Alchilazione;
- Acilazione.

Silanizzazione

- ✓ Consente di rimpiazzare gli idrogeni attivi con gruppi TMS (trimetilsilil-).
- ✓ Questa reazione avviene per attacco nucleofilo SN2.
- ✓ Migliore è il gruppo uscente migliore sarà la resa della silanizzazione.
- ✓ La reazione deve avvenire in solventi anidri e non contenenti alcol, poiché essi reagirebbero per primi inficiando al procedura di silanizzazione.
- ✓ Il Bis(trimethylsilyl)acetamide ("BSA", $\text{Me}_3\text{SiNC}(\text{OSiMe}_3)\text{Me}$) è un efficiente agente silanizzante. La reazione del BSA con gruppi alcolici dà come prodotti il corrispondente trimetilsilil-etero e N-(trimetilsilil)acetamide come sottoprodotto:



segue →

Dati di ritenzione e coefficiente di partizione

Per tenere conto di pressione e temperatura, **nella teoria** si usa il **volume di ritenzione** (V_R e V_M) piuttosto che il tempo di ritenzione (**nella pratica** invece si usano i **tempi**). Se F è il flusso del gas carrier (ml di carrier per minuto):

$$V_R = F \cdot t_R$$

$$V_M = F \cdot t_M$$

t_M si può determinare anche con iniezione di metano aggiunto al carrier o aria

Il **volume di ritenzione corretto** si esprime come:

$$V_R' = V_R - V_M$$

Il volume di ritenzione corretto è caratteristico di una sostanza ed è correlato, attraverso il volume della f.s. (V_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)**,

$$V_N = j V_R'$$

$$\text{con } j = \frac{3 \cdot \left[\left(\frac{P_i}{P_0} \right)^2 - 1 \right]}{2 \cdot \left[\left(\frac{P_i}{P_0} \right)^3 - 1 \right]}$$

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):

$$V_g = \frac{V_N}{W_S} \cdot \frac{273}{T}$$

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

La separazione in fase gassosa

$$H = C_M \cdot u + \frac{B}{u} + C_S \cdot u$$

$$B = 2 \cdot k_D \cdot D_M$$

coefficiente di DIFFUSIONE LONGITUDINALE

$$C_M = \frac{f(d_D^2, d_c^2)}{D_M}$$

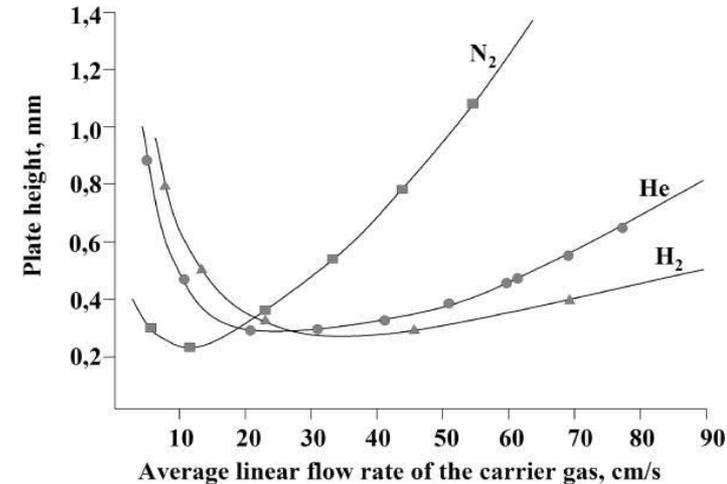
coefficiente di TRASFERIMENTO DI MASSA

"da e verso" la fase mobile

$$C_S = \frac{q \cdot k \cdot d_f^2}{(1+k)^2 \cdot D_S} = \frac{2 \cdot t_d \cdot k}{(1+k)^2}$$

coefficiente di TRASFERIMENTO DI MASSA

"da e verso" la fase stazionaria



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Chart-21-04

• 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
• Tempo di desorbimento dell'analita	t_d
• Diametro della colonna	d_c
• Fattore di ritenzione della sostanza	k
• Costanti	k_D, q
• Dipendenza funzionale ("funzione di")	f

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** (coefficiente di diffusione nei gas circa 10000 volte maggiori che nei liquidi). Quindi il minimo nella funzione $H(u)$ è più appiattito e posizionato verso velocità lineari più elevate.

segue →

Il **potere risolvante di una colonna** per uno specifico problema analitico può esser 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:

$$\lg \frac{V_{g2}}{V_{g1}} = \lg \frac{p_1^0}{p_2^0} + \lg \frac{\gamma_1^0}{\gamma_2^0}$$

Dove V_{g2} e V_{g1} sono volumi di ritenzione specifici per i 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 ricercano i tempi di ritenzione necessari per separare i due costituenti, si applicano le seguenti relazioni:

$$\lg \frac{t_{R2}}{t_{R1}} \approx \lg \frac{p_1^0}{p_2^0} + \lg \frac{\gamma_1^0}{\gamma_2^0} \quad \longrightarrow \quad \frac{t_{R2}}{t_{R1}} \approx \frac{p_1^0 \gamma_1^0}{p_2^0 \gamma_2^0}$$

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.

Legge di Henry: $[A] = p_A K_A^H$

dove:

- $[A]$ è la concentrazione del gas nel liquido,
- p_A è la pressione parziale del gas e
- K_A^H è la costante di Henry che viene espressa in $\text{mol l}^{-1} \text{atm}^{-1}$.

Legge di Raoult: $p_A = X_A \cdot p_A^0$

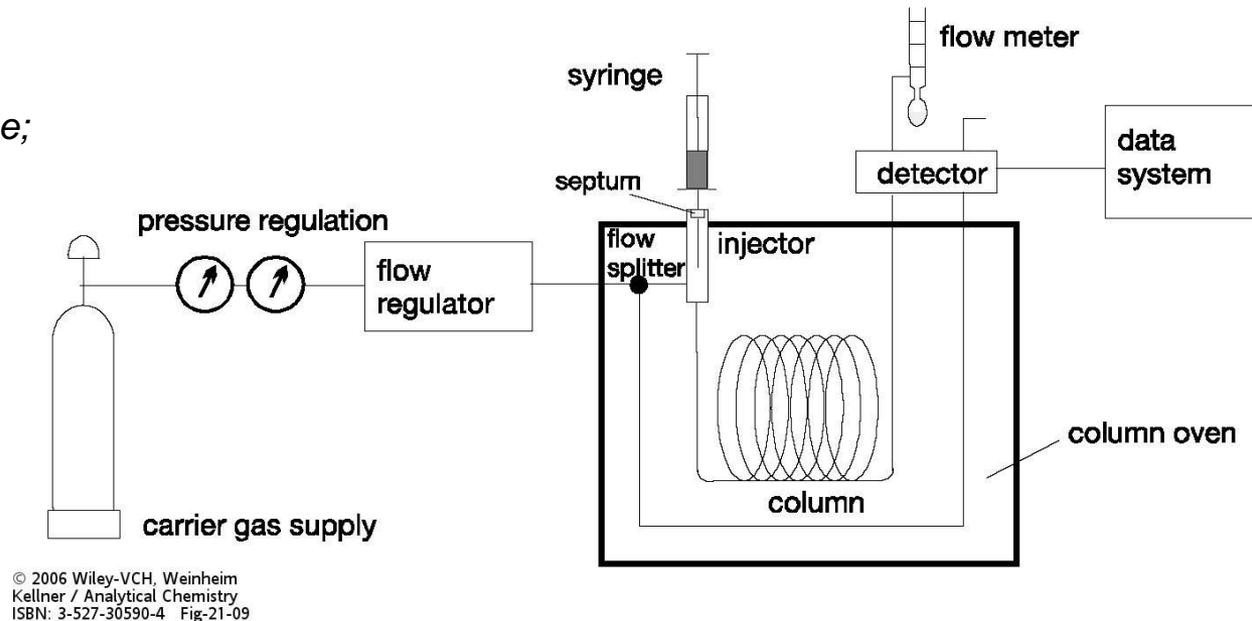
dove (a una determinata T):

- X_A è la frazione molare di A nella fase liquida;
- p_A è la pressione parziale del gas e
- p_A^0 è la pressione di vapore di A puro.

La strumentazione

La strumentazione può variare rispetto alle seguenti componenti:

- Tipo di carrier gas usato;
- Regolatore del gas;
- Sistema di iniezione del campione;
- Colonna cromatografica;
- Rivelatore



- ✓ Il flusso e le pressioni del **carrier gas** sono aggiustati 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 vengono 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

Il gas di trasporto (carrier):

- ✓ ha come funzione principale **trasferire gli analiti da iniettore a detector** (passando attraverso la colonna);
- ✓ **non deve interagire** con le molecole del campione.
- In teoria qualsiasi gas inerte e sufficientemente puro ($\geq 99.995\%$); le impurezze presenti possono essere H_2O e O_2 .
In pratica si utilizza **He** o **H_2** o **N_2** ;
- Il gas viene flussato attraverso **setacci molecolari o letto adsorbente** per rimuovere H_2O , prima di entrare nel sistema gascromatografico;
- Il **flusso** è assicurato dalla **pressione in eccesso da una bombola**, così che non sia necessaria una pompa. Il flusso deve essere **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 rotametro, 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.

segue →

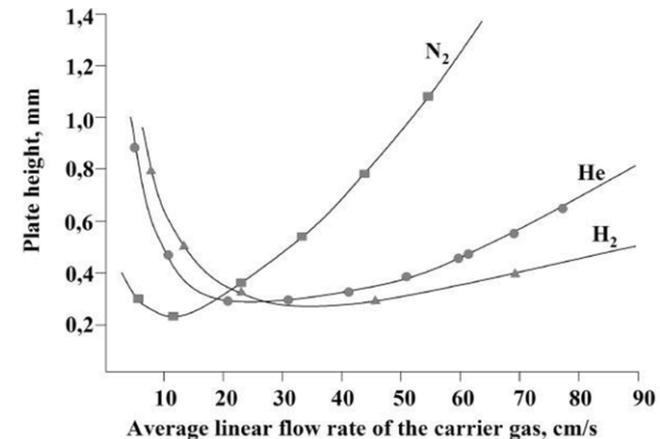
- Il gas di trasporto **non influenza la selettività della separazione**,
- **ma ha un effetto su risoluzione, tempo di analisi e sensibilità;**

$$H = C_M \cdot u + \frac{B}{u} + C_S \cdot u$$

I parametri caratterizzanti il carrier gas sono:

- **Massa molare** che 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 stazioneranno per più tempo 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) ha un effetto simile. Maggiore la densità, maggiori le collisioni tra le molecole e l'allargamento dei picchi. E' opportuno mantenere la pressione più bassa possibile che però garantisca un flusso ragionevole di gas lungo la colonna;
- **La viscosità** del gas determina la minima pressione possibile applicabile al sistema. La pressione da utilizzare dipende anche dalla lunghezza e dal diametro interno della colonna.

- Si possono ottenere H (altezza piatti teorici) ottimali e simili con carrier gas diversi, ma i tempi di analisi cambiano.
- $H(u)$ ha un minimo simile per He, H_2 , N_2 .
- Per He, H_2 si può aumentare u (velocità della fase mobile) con piccolo cambiamento di H (= aumento, cioè peggioramento della risoluzione).
- La separazione più veloce si ha con H_2 , poiché possiede piccola MM e viscosità.



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Chart-21-04

➤ **Sistemi di iniezione del campione (liquido)**

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

*Di solito nel GC vengono iniettati **campioni liquidi** e il liquido deve essere **vaporizzato** (o nell'iniettore o nel primo tratto della colonna).*

*Tipi di iniettore per **campioni liquidi** sono:*

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

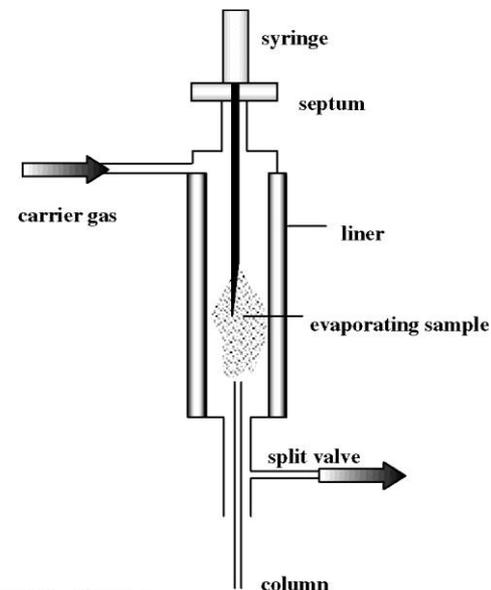
Per colonne capillari i volumi di liquido iniettati variano tra 0,5 e pochi μl , ma si possono anche iniettare volumi maggiori.

Per colonne impaccate i volumi sono dell'ordine dei μl

Per gas si impiegano sistemi di iniezione dedicati.

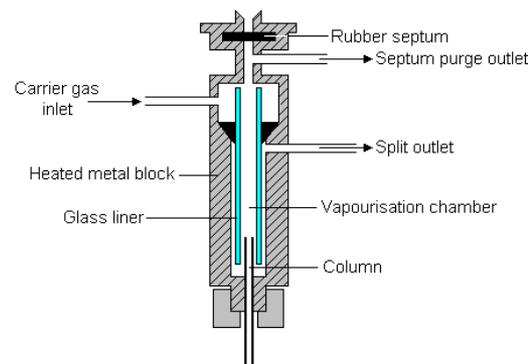
❖ **Iniezione in modalità split (I)**

- ✓ Nell'iniezione split **solo una parte del campione è trasferita in colonna** dal carrier gas.;
- ✓ la maggior parte è eliminata (*venting*) attraverso una suddivisione del flusso (*split*) verso lo scarico.
- ✓ Il setto alla testa dell'iniettore è attraversato dalla siringa (a punta obliqua) che inietta il campione in un **liner**;
- ✓ Il campione viene **vaporizzato** all'interno del *liner*;
- ✓ Al fondo dell'iniettore c'è una valvola di splittaggio;
- ✓ 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 viene trasportato allo scarico, **una piccola parte entra in colonna** (20:1 - 100:1, misurato da flussi di carrier gas, di solito controllati tramite software o predisposti, nella vecchia strumentazione, tramite valvole manuali e uso di un flussimetro).
- ✓ Quando il solvente è iniettato, 1-2 μL di liquido formano 300-1000 μL di vapore, e cambiano la pressione all'interno dell'iniettore. Il quantitativo di vapore formatosi dipende dal volume iniettato e dal tipo di solvente.



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

The split / splitless injector

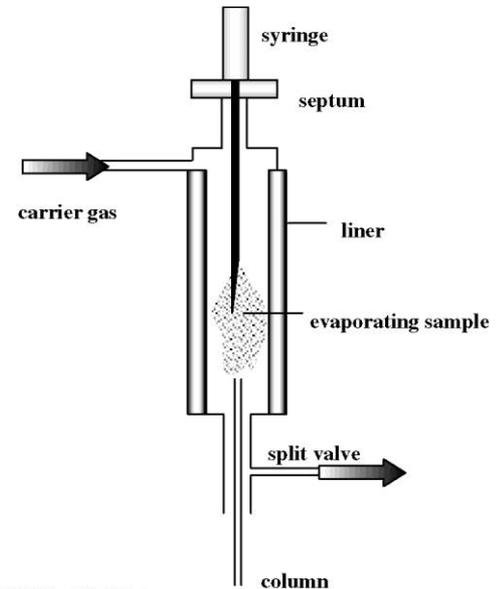


segue →

❖ Iniezione in modalità split (II)

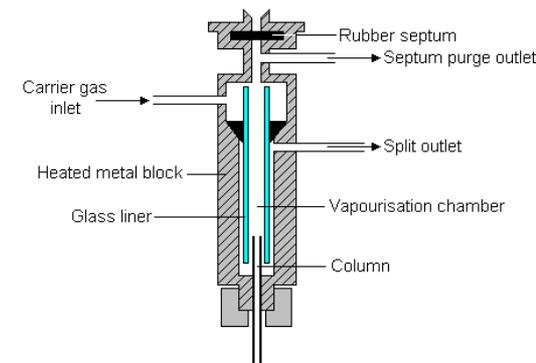
I parametri da ottimizzare/variabili:

- Temperatura dell'iniettore (es. tra 150°C e 250°C);
 - Rapporto di splittaggio;
 - Volume ed eventuali materiali di impaccamento (es. lana di vetro) nel *liner*;
 - Pressione e velocità di flusso del gas di trasporto.
-
- ✓ Una temperatura elevata vaporizza 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 temperatura 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 sono meglio trasferite in colonna rispetto a componenti meno volatili della miscela iniettata;
 - ✓ Non è adeguato per effettuare analisi di composti in tracce (ppb).



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

The split / splitless injector



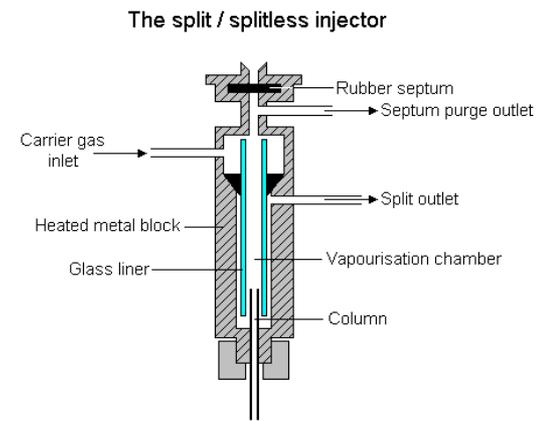
❖ Iniezione in modalità splitless

- 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 carrier gas, dal quantitativo di campione e dal tipo di solvente;
- Il trasferimento del vapore di solvente in colonna richiede del tempo, per cui l'intervallo di tempo di chiusura della valvola *split* dev'essere tale da consentire che la maggior parte del campione passi in colonna (anche 40-90 s per 1-2 μL).
- Poiché il trasferimento dei vapori richiede tempo, la zona in cui si trova il campione è ampia e richiede un processo di riconcentrazione:

- se gli analiti non sono molto volatili la riconcentrazione può essere effettuata mantenendo la temperatura del forno abbastanza bassa in modo che gli analiti rimangano intrappolati nella f.s. della colonna (ma T comunque sufficientemente alta da prevenire la ricondensazione in colonna);
- se gli analiti sono volatili la T del forno deve essere ancora più bassa per consentire la ricondensazione del solvente. Questo tipo di ricondensazione può essere utilizzata per riconcentrare gli analiti.

Criticità:

- **Effetto matrice:** componenti non volatili presenti nella matrice possono disturbare il processo di vaporizzazione;
- **Effetto memoria:** è causato da costituenti rimasti nell'iniettore da iniezioni precedenti che entrano in colonna generando "picchi fantasma" (cioè non relativi al campione che si sta analizzando in quel momento)



E' un ottimo sistema per effettuare analisi quantitativa anche di componenti in tracce (ppb)

❑ Liner per iniettori split/splitless

Es. comparazione dell'utilizzo di un *liner* per iniezione split e uno per splitless in una iniezione di miscela di alcani in iniettore *splitless*.

Si nota che la forma e l'altezza del picco del composto più volatile che eluisce per primo (t_R più basso) è peggiore se si utilizza il *liner* non corretto (cioè per split) nella modalità *splitless*.



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

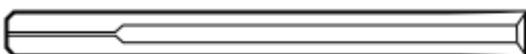


Figure 2: Thermo Scientific Splitless Liner 5 mm x 105 mm

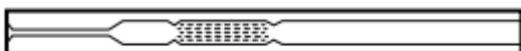


Figure 4: Example of Thermo Scientific Splitless FocusLiners 5 x 105 mm, note the different positions of the quartz wool packing

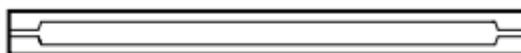
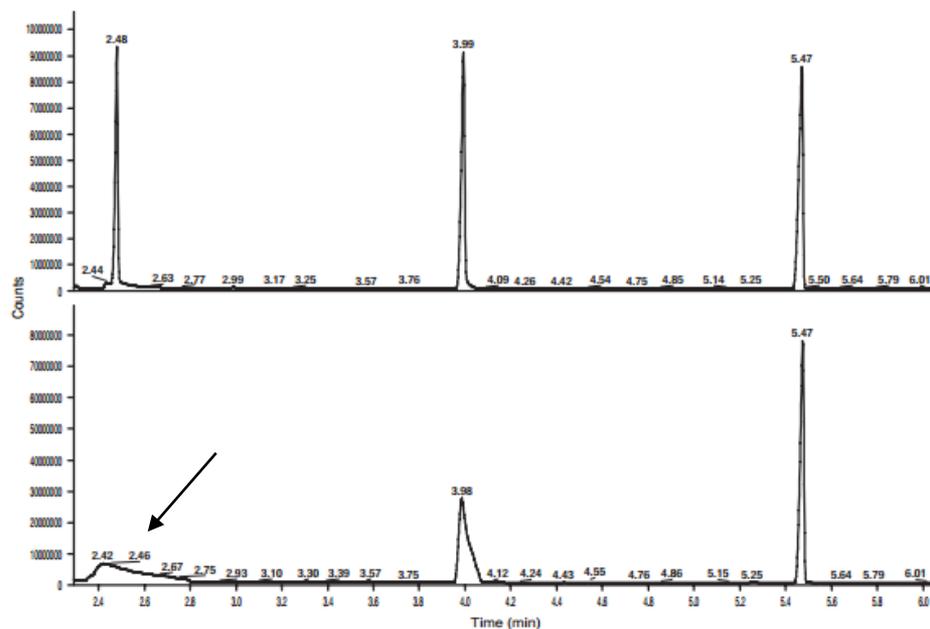


Figure 6: Thermo Scientific liner for TRACE 1300/1310 and Agilent Split/Splitless inlet, Double Taper 4 x 78.5 mm internal dimension (P/N 453A1355)



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