

# **CHIMICA ANALITICA II**

**CON LABORATORIO**

**(AA 2019-20)**

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

# **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 dei gas dell'aria)*

- *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;*
- *nelle **CROMATOGRAFIE PER ADSORBIMENTO** la fase stazionaria è solida e le sostanze si separano a seconda della loro affinità di adsorbimento sulla fase solida.*

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

# 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

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

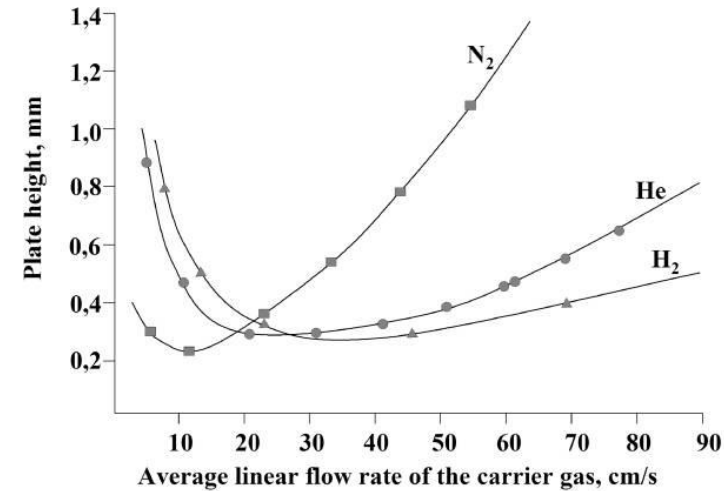
coefficiente di TRASFERIMENTO DI MASSA

"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;  $\gamma_1^0$  e  $\gamma_2^0$  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:**  $p_A = X_A \cdot p_A^0$

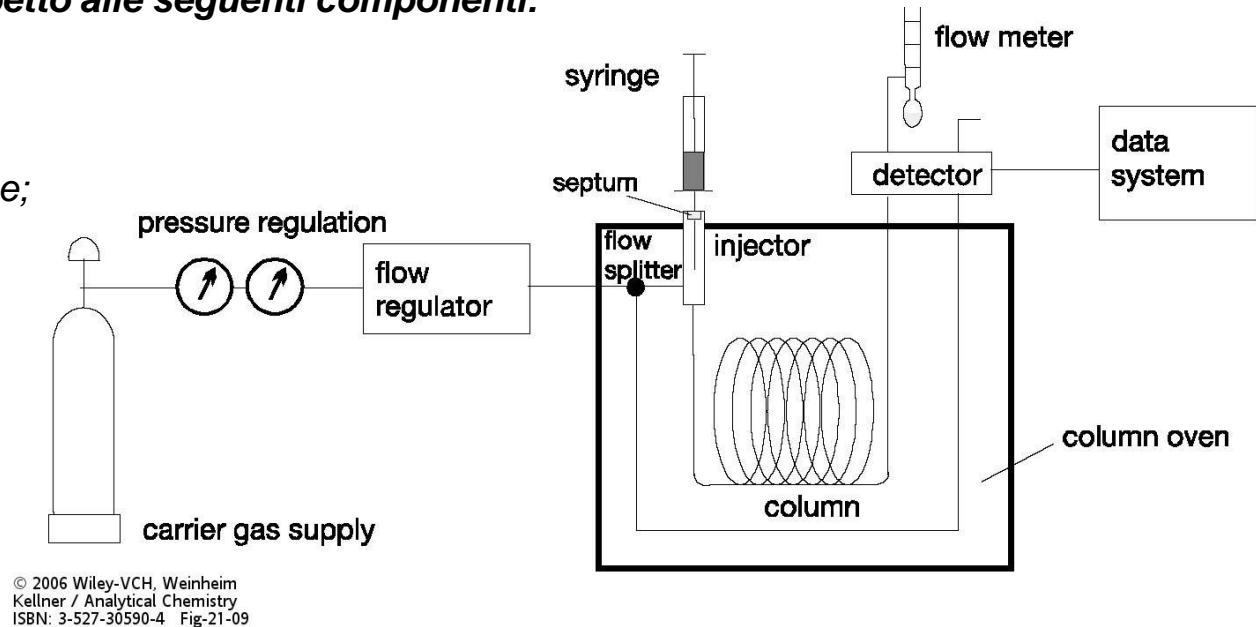
dove (a una determinata  $T$ ):

- $X_A$  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.
- ✓ Sono disponibili diverse tipologie di rivelatori, con selettività e specificità anche elevata.
- ✓ 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 →



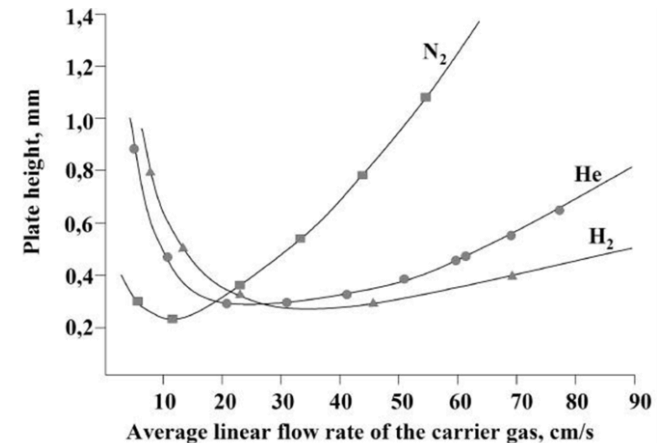
- Il gas di trasporto **non influenza la selettività della separazione**,
- **ma ha un effetto su risoluzione, tempo di analisi e sensibilità;**

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

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

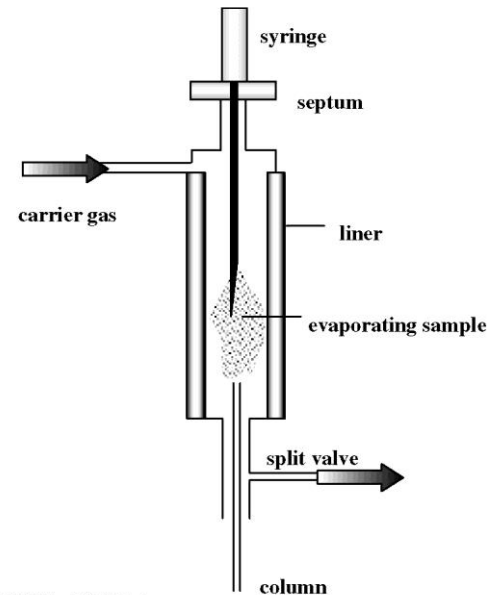
*Per colonne capillari i volumi di liquido iniettati variano tra 0,5 e pochi  $\mu\text{l}$ , ma si possono anche iniettare volumi maggiori.*

*Per colonne impaccate i volumi sono dell'ordine dei  $\mu\text{l}$*

**Per gas si impiegano sistemi di iniezione dedicati.**

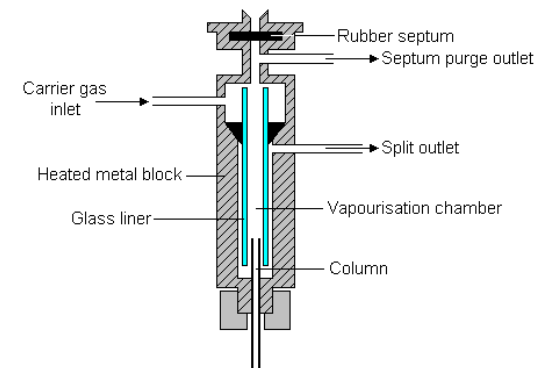
## ❖ Iniezione in modalità split (I)

- ✓ 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  $\mu\text{L}$  di liquido formano 300-1000  $\mu\text{L}$  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

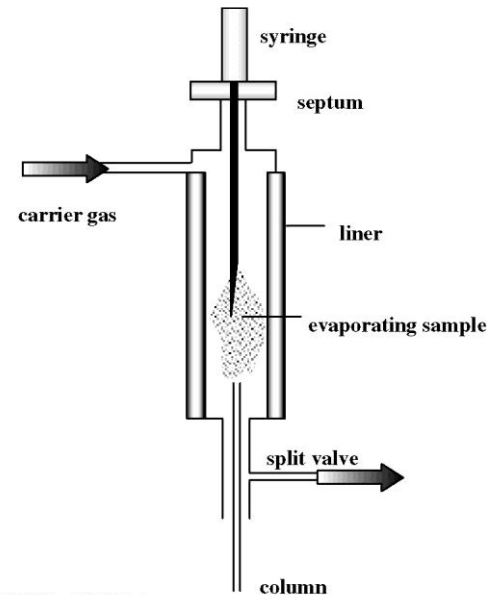


segue →

## ❖ Iniezione in modalità split (II)

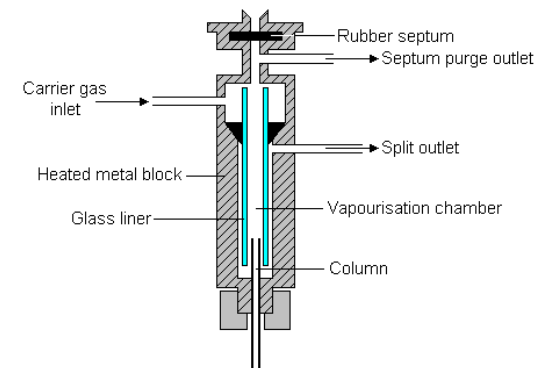
I parametri da ottimizzare/variabili:

- 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).



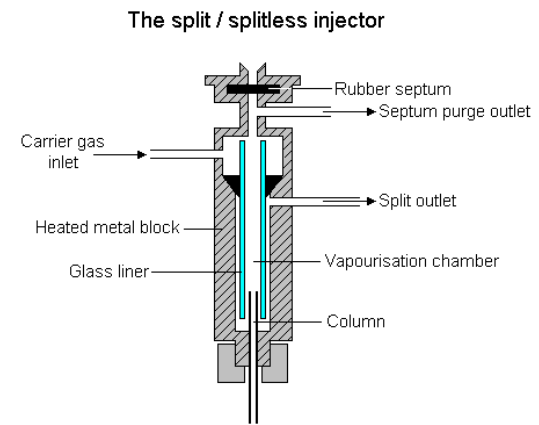
© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-10

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  $\mu\text{L}$ ).
- 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.



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

### **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)

## ❑ 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

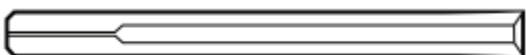


Figure 2: Thermo Scientific Splitless Liner 5 mm x 105 mm

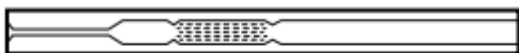
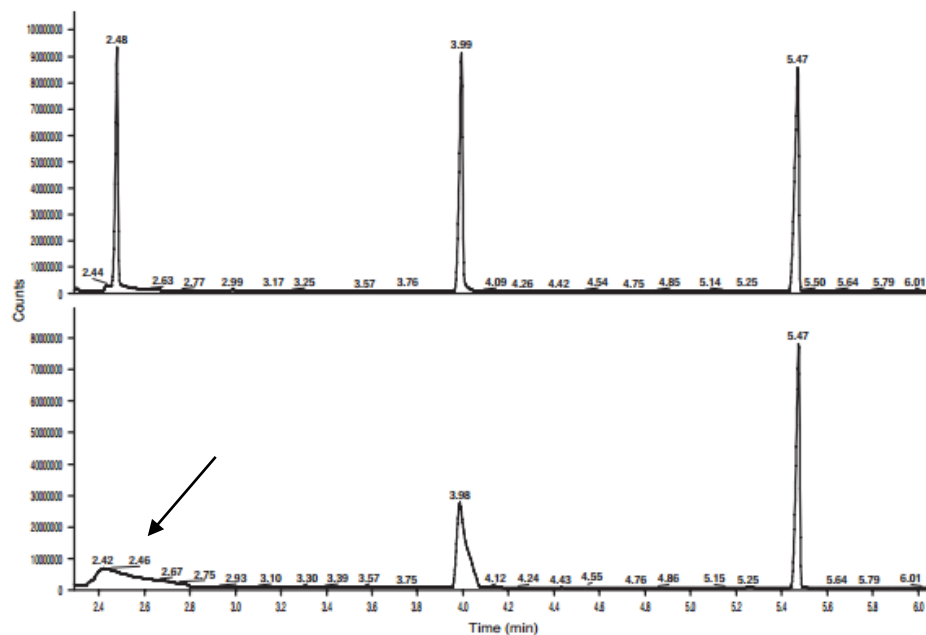


Figure 4: Example of Thermo Scientific Splitless FocusLiners 5 x 105 mm, note the different positions of the quartz wool packing



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)



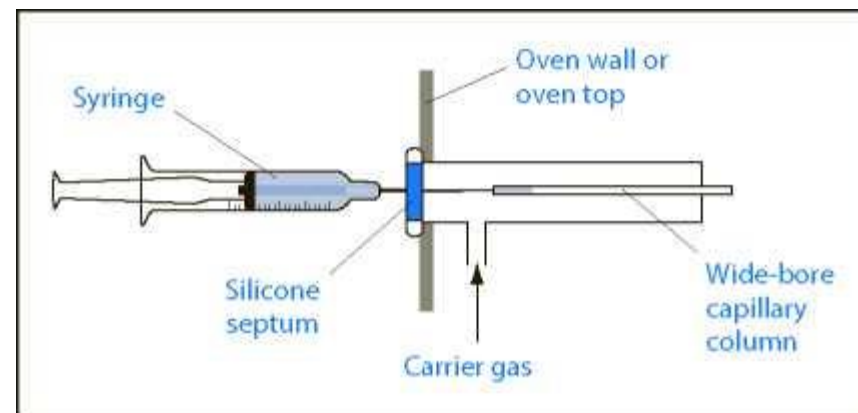
[http://www.separatedbyexperience.com/documents/Liner\\_Selection\\_Guide.pdf](http://www.separatedbyexperience.com/documents/Liner_Selection_Guide.pdf)

## ❖ Iniezione on-column

- Il campione è iniettato direttamente in colonna tramite l'utilizzo di una siringa;
- Non c'è una camera di vaporizzazione, il campione si vaporizza direttamente dentro la colonna;
- La T del forno viene mantenuta al di sotto del punto di ebollizione del solvente, durante l'iniezione.
- Il solvente quindi forma un film di liquido sulle pareti interne della colonna e evapora miscelandosi con il gas carrier.

### Vantaggi:

- **Eccellente ripetibilità ed affidabilità;**
- **Possibilità di analizzare composti termolabili;**
- **Possibilità di analisi quantitativa, anche in tracce.**



### Criticità:

- **Non è possibile analizzare miscele che contengano anche sostanze non vaporizzabili.**

[https://chem.libretexts.org/Textbook\\_Maps/Analytical\\_Chemistry/Supplemental\\_Modules\\_\(Analytical\\_Chemistry\)/Chromedia/01Gas\\_Chromatography\\_\(GC\)/Gas\\_Chromatography%3A\\_In\\_Practice/02Gas\\_Chromatography%3A\\_Injection\\_techniques\\_and\\_principles/08Cold\\_on-column\\_injection](https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Chromedia/01Gas_Chromatography_(GC)/Gas_Chromatography%3A_In_Practice/02Gas_Chromatography%3A_Injection_techniques_and_principles/08Cold_on-column_injection)

## ❖ Programmable Temperature Vaporizer

- Assomiglia la sistema di iniezione *split/splitless*;
- La principale differenza è che la T dell'iniettore può essere modulata durante l'iniezione;
- Il *liner* può essere vuoto o riempito con del materiale come lana di vetro o un materiale adsorbente;
- Durante l'iniezione la temperatura viene mantenuta poco al di sotto del punto di ebollizione del solvente;
- Il solvente evapora nel flusso di gas in maniera controllata;
- Il processo di evaporazione del solvente raffredda il *liner* e gli analiti rimangono intrappolati nel *liner* raffreddatosi mentre il solvente viene eliminato tramite la valvola di split;
- Una volta evaporato il solvente, la valvola di split viene chiusa e il *liner* riscaldato repentinamente in modo da vaporizzare gli analiti e trasferirli in colonna.

### Vantaggi:

- Il processo di evaporazione è meno repentino che in *split/splitless*, quindi non c'è differenza tra velocità di vaporizzazione di composti più o meno volatili;
- Il rapporto di split rimane costante quindi è possibile effettuare analisi quantitative;
- Si possono iniettare miscele contenenti composti poco volatili;
- Si possono iniettare grandi volumi di soluzione (anche > 100 µl)

### Criticità:

- Non è possibile analizzare miscele di composti molto volatili che potrebbero volatilizzarsi assieme al solvente ed essere eliminati attraverso la valvola di split assieme ad esso.

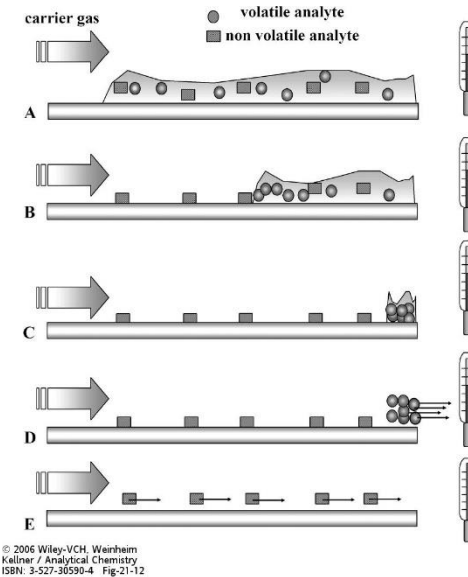


## □ Effetti del solvente

I solventi liquidi hanno diversi effetti sulla separazione in GC. Possono essere divisi in:

- ✓ **Solvent trapping** (intrappolamento del solvente)
  - ✓ **Phase soaking** (imbibizione della fase stazionaria)
  - ✓ **Band broadening in space** (allargamento della banda nello spazio)
- **Solvent trapping** e **Phase soaking** sono fenomeni che vengono sfruttati per la fase di **riconcentrazione in colonna** nella tecnica di **iniezione on-column**;
- **Band broadening in space** è invece un effetto negativo per sua natura: quando il solvente liquido entra nella colonna distribuisce gli analiti sulle pareti della stessa, causando questo effetto. Tuttavia modulando i parametri di analisi è possibile riconcentrare anche queste bande sfruttando gli altri due fenomeni dovuti al solvente.
- Per ottenere un effetto ottimale di **solvent trapping** è necessario modulare i seguenti parametri: temperatura del forno, caratteristiche e quantità di solvente iniettato. Solventi volatili non polari sono ottimali purché la temperatura del forno possa essere mantenuta sufficientemente bassa durante l'iniezione.

### Solvent trapping



## ➤ **Sistemi di iniezione del campione (composti organici volatili)**

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

- **head space injection**
- **CIS-TDU injector** (*Criogenic Injection System coupled with Thermal Desorption Unit*)
- **valvola multivia**

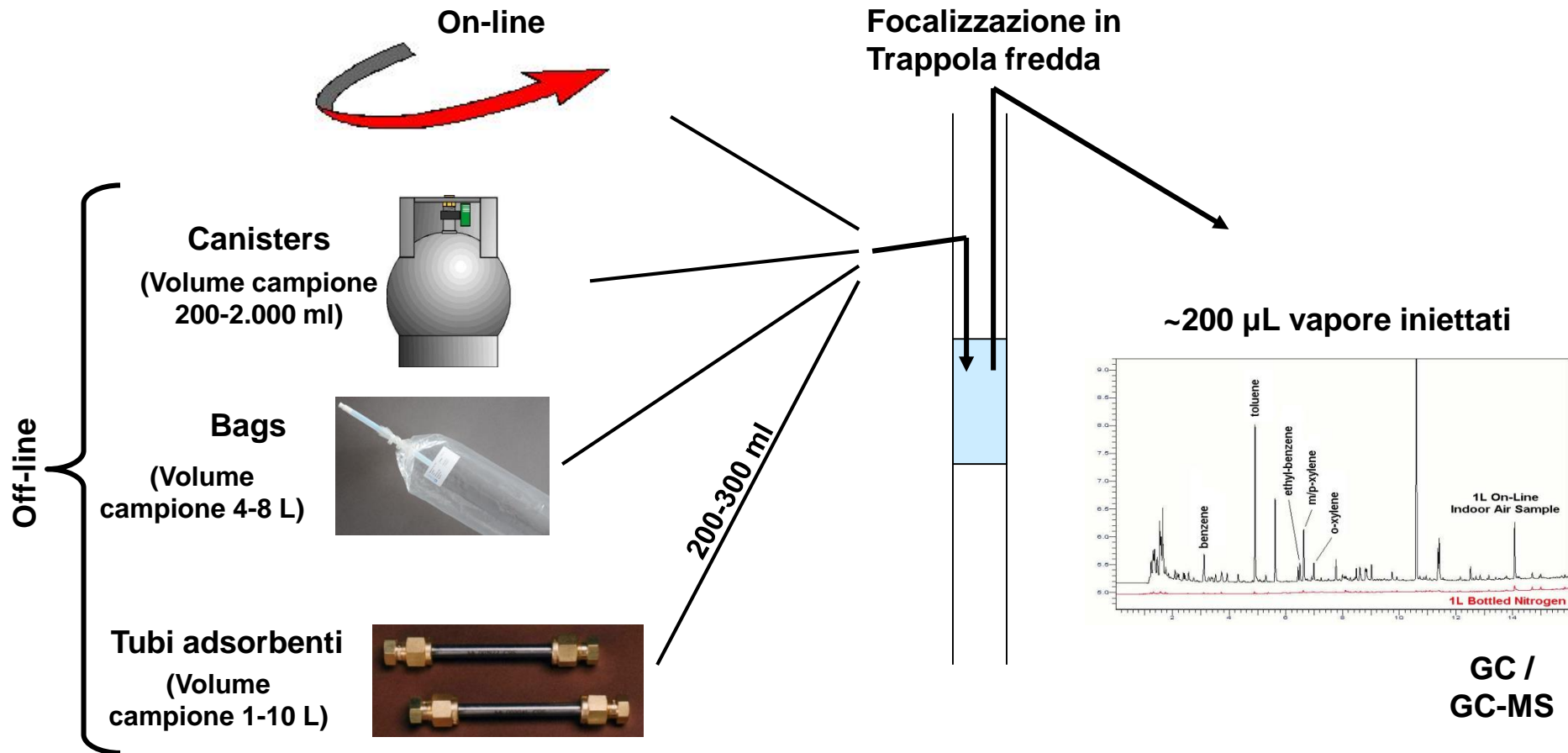
### ❖ **Head Space Injection**

- E' stata sviluppata per **l'analisi dei composti volatili** presenti in un campione solido o liquido;
- Il campione è introdotto in una fiala (*vial*) chiusa ermeticamente e riscaldato ad una certa temperatura finché si raggiunge **l'equilibrio tra la fase solida (o liquida) e la fase vapore**;
- Questa tecnica è denominata **spazio di testa statico** (*SHS – Static Head Space*);
- Gli analiti nella fase vapore possono essere campionati sia con una *siringa per gas (a tenuta)* che con una fibra adsorbente.
- Esiste anche la tecnica di **spazio di testa dinamico** (*DHS – Dynamic Head Space*) che prevede che la fase vapore sia allontanata (*stripping*) in modo continuo da un flusso di gas inerte e poi fatta condensare in una trappola fredda;
- La trappola fredda viene infine riscaldata per vaporizzare nuovamente gli analiti (*desorbimento termico*) e iniettarli nel GC;
- Questa ultima tecnica viene usualmente chiamata «***purge and trap***»

segue →

## ❖ CIS-TDU injector (Crio-genic Injection System coupled with Thermal Desorption Unit)

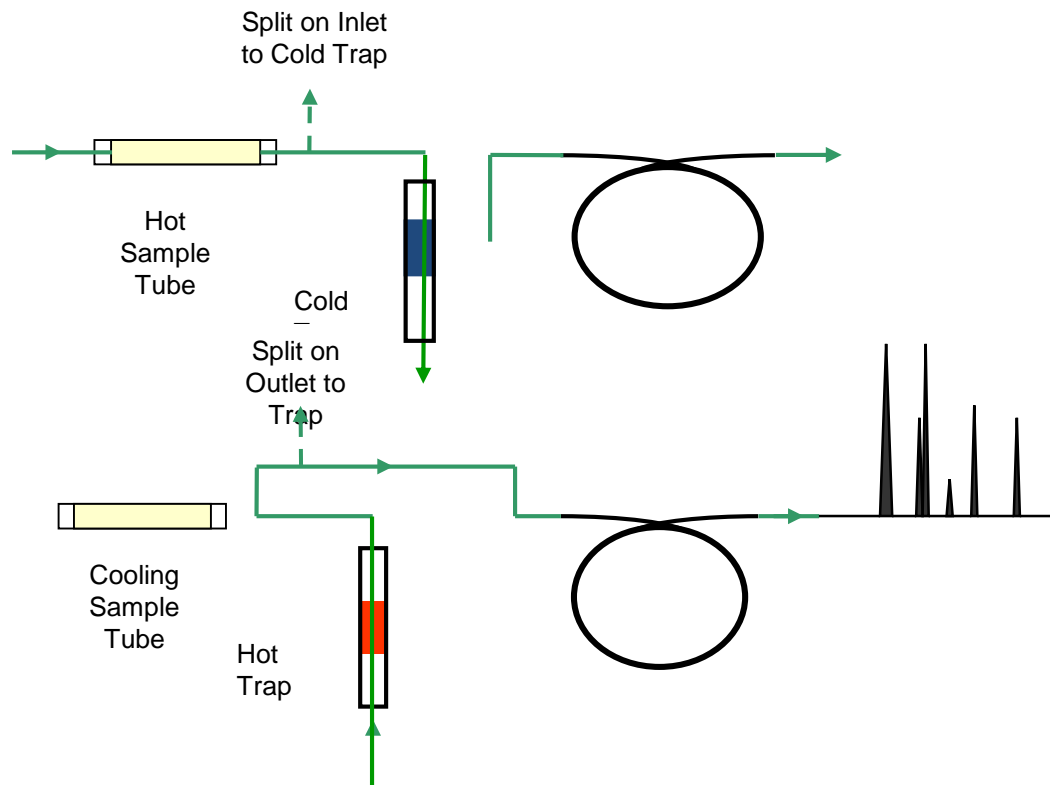
- Questo tipo di iniettore viene utilizzato per **misure on-line o off-line di VOC (sostanze organiche volatili)**
- I VOC possono essere direttamente iniettati nel sistema (on-line) o prima campionati con diversi metodi (raccolta in sacca, in canister o adsorbimento su cartucce riempite di uno o più specifici materiali adsorbenti), quindi in questo caso si effettua una analisi off-line.



- **Desorbimento a doppio stadio:** si utilizza una trappola di focalizzazione, impaccata con materiale adsorbente e raffreddata es. elettricamente (sistema di Peltier) in cui si concentra il campione che viene poi desorbito e iniettato in colonna durante il secondo stadio.

## Primary (Tube) Desorption

## Secondary (Trap) Desorption



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; 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.

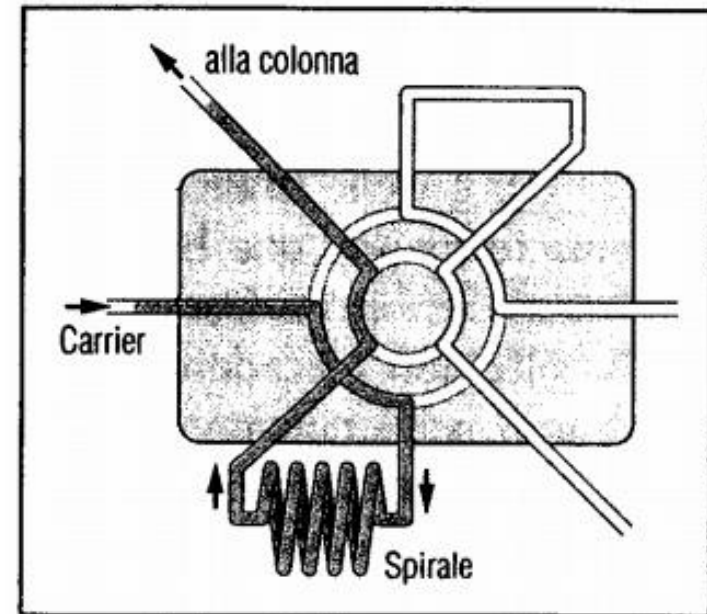
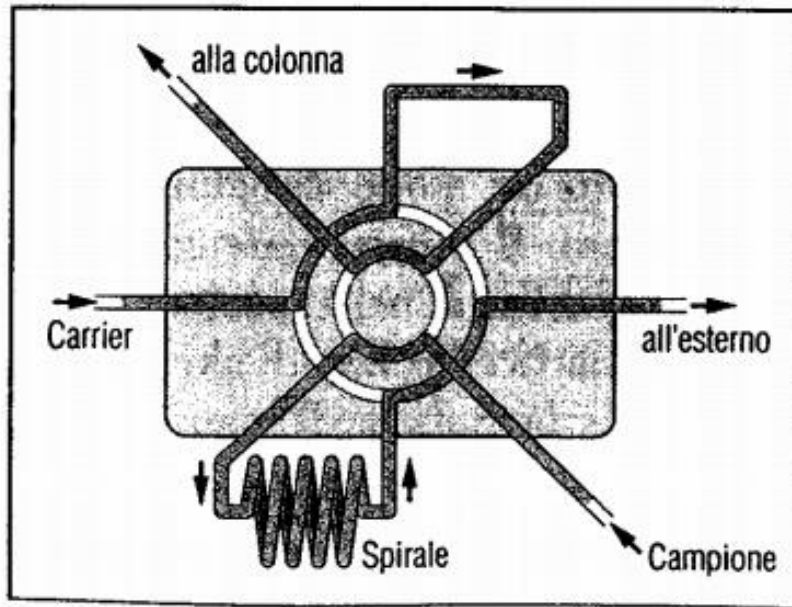
La direzione in cui il calore viene trasferito dipende dal verso della corrente continua applicata ai capi della piastrina stessa.

Il comune uso della cella è la sottrazione di calore mediante adesione del lato freddo al corpo da raffreddare (fino a - 40°C).

L'alternativa alla cella di Peltier per l'utilizzo in trappole fredde è l'impiego di **liquidi criogenici** (es. azoto liquido - 195,8 °C)

## ❖ Valvola multiviva

- Per introdurre gas nel GC si possono utilizzare anche siringhe per gas, tuttavia accuratezza e riproducibilità sono modeste, quindi in genere si preferiscono i dispositivi a valvola.
- Le valvole multiviva consentono un campionamento preciso e riproducibile

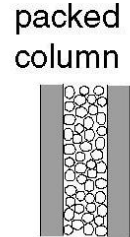


## ➤ Colonne cromatografiche

*Elevato  $N$ , buona selettività e capacità di carico sono prerequisiti per colonne efficienti.*

*Le colonne cromatografiche per GC possono essere di due tipi:*

- **colonne impaccate**
- **colonne capillari**

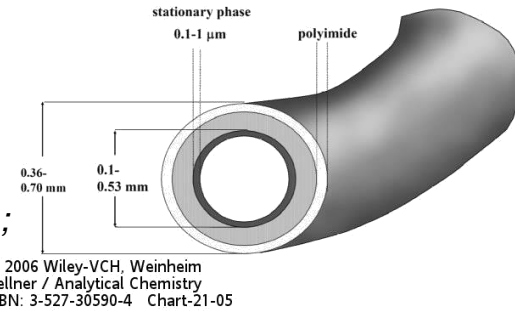


### ❖ Colonne impaccate

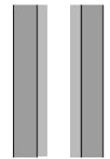
- *Sono colonne che vengono utilizzate usualmente per analisi semplici in GC (es. separazione ed analisi di gas inorganici);*
- *La fase stazionaria viene impaccata in colonne di acciaio inox, la colonna ha un diametro interno tra i 3 e gli 8 mm e una lunghezza tra 1 e 3 m;*
- *Nelle colonne impaccate con  $L > 20$  m si ha caduta di pressione del gas;*
- *In genere  $N < 10000$ ;*
- *Materiali tipici di impaccamento per separazioni GSC sono: adsorbenti solidi (silica, allumina, carbonio grafitico);*
- *Materiali tipici di impaccamento per separazioni GLC sono supporti porosi ricoperti di un liquido altobollente.*

## ❖ Colonne capillari (per GLC)

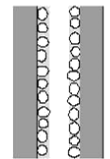
- *Golay ha introdotto nel 1958 le colonne capillari, con L fino a 100 m;*
- *La fase stazionaria è LIQUIDA e viene depositata sulle pareti interne della colonna;*
- *Il loro diametro interno va da 0.1 mm a 0.53 mm;*
- *Usualmente sono lunghe 30 m o 60 m, ma esistono anche colonne capillari lunghe 100 m;*
- *N può arrivare fino a 100'000;*
- *Vengono avvolte in matasse con diametro di 10-30 cm su un supporto, per consentire l'alloggiamento dentro al forno del GC;*
- *In genere sono fabbricate con silice sintetica ad alta purezza che viene ricoperta all'esterno con uno strato sottile di poliammide per rinforzarle e renderle meno fragili. La poliammide può resistere fino a temperature di 360-400°C;*
- *La fase stazionaria è un liquido immobilizzato sulla superficie interna della colonna. L'immobilizzazione può essere effettuata in due modi:*



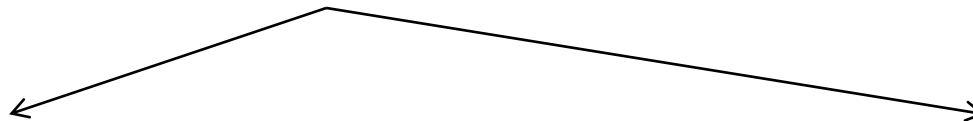
thin-film  
capillary



thin-layer  
capillary



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-1

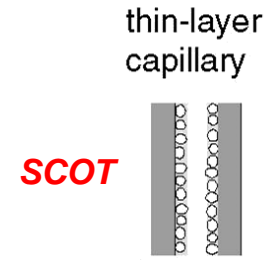
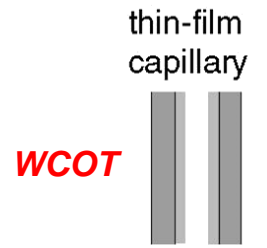


*Il liquido può essere applicato direttamente sulla superficie interna (**WCOT** – Wall-Coated Open Tubular*

*Il liquido può essere prima adsorbito su un supporto poroso di circa 30μm di spessore (**SCOT** – Support-Coated Open Tubular*

segue →

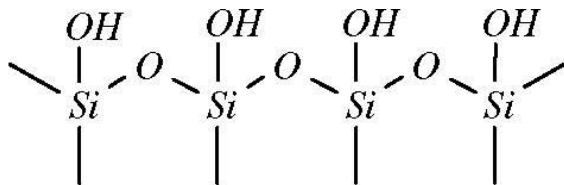
- L'efficienza delle colonne WCOT è superiore a quella delle colonne SCOT;
- Nelle SCOT un tipico materiale di supporto è la diatomite (formata da più del 90% di acido silicico in forma amorfa);
- Le colonne SCOT hanno maggior capacità di carico delle WCOT;



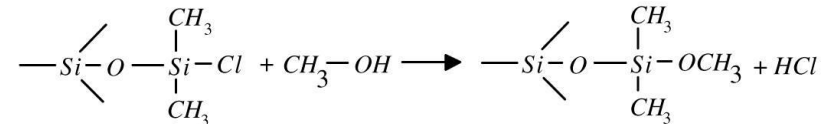
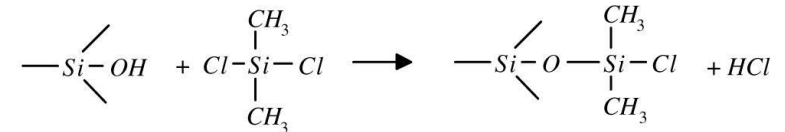
parametri	impaccate	WCOT	SCOT
$L, m$	1-5	1-100	10-100
diametro interno, mm	2-4	0,1-0,75	0,5
Efficienza, N/m	500-1000	1000-4000	600-1200
dimensione del campione, ng	10-10 <sup>6</sup>	10-1000	10-1000

© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-1

- **Problema del supporto in silice** (sia per WCOT che per SCOT): ci sono gruppi **silanolo** che possono formare **legami idrogeno** molto forti con gruppi polari di molecole del campione, portando a fenomeni di: **peak tailing**, **peak broadening**, **assenza di picchi**.



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-17



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

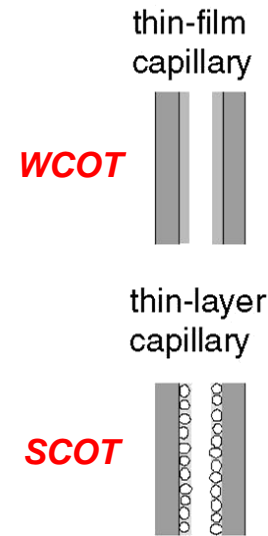
- **Quindi essi devono essere «mascherati»** con opportune reazioni di **silanizzazione** per rendere la superficie completamente **idrofobica**



segue →

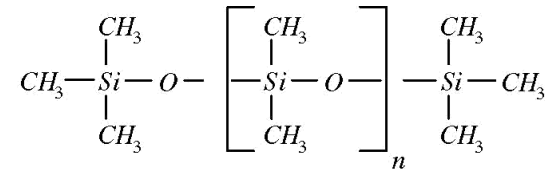


- I film liquidi devono essere costituiti da sostanze **termicamente e chimicamente stabili**;
- Questi materiali possiedono una **alta viscosità e punto di ebollizione molto alto** (circa 100°C in più rispetto alla temperatura massima del forno richiesta per la separazione degli analiti);
- Devono mostrare una certa **selettività**, cioè differenti coefficienti di partizione per diversi analiti, ma i coefficienti non devono essere né troppo alti (analita troppo ritenuto) né troppo bassi (analita poco ritenuto = no separazione);
- Materiali tipici per il film liquido sono polimeri ad alta viscosità.

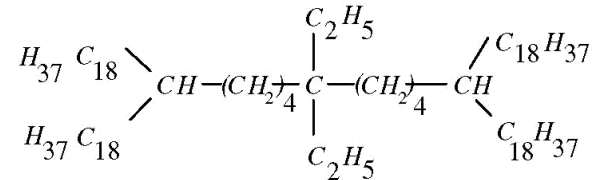


© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-1

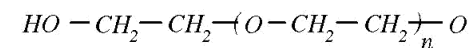
fase	temperatura	polarità
Metil silossano (OV-1 SE-30)	20-325	non polare
Squalano	20-150	non polare
Apolan 87	50-300	non polare
Fenil silossano (OV 22)	60-240	media polarità
Ciano propil silossano (OV 255)	60-240	alta polarità
polietilen glicol (Carbowax)	50-255	polare



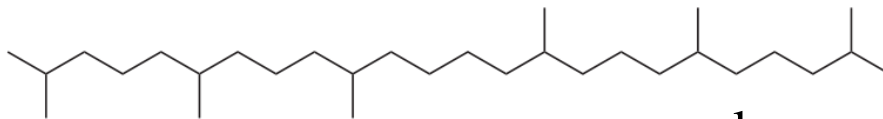
Polydimethylsiloxanes



Apolan-87



Polyethylene glycol



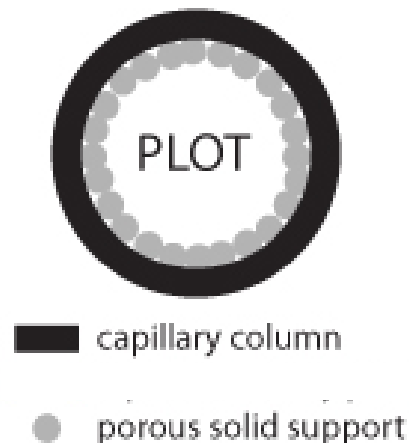
squalano

© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-18

segue →

## ❖ Colonne capillari (per GSC)

- La **fase stazionaria è SOLIDA** e viene depositata sulle pareti interne della colonna;
- Queste colonne vengono denominate **PLOT** (Porous Layer Open Tubular);
- Concettualmente sono simili alle SCOT (quindi vengono comunque dette «thin-layer»), ma **SENZA** film liquido depositato sul supporto poroso interno alla colonna;



### Vantaggi (rispetto a WCOT e SCOT, che sono per GLC):

- ✓ Ampio intervallo di termostabilità;
- ✓ Buona stabilità della linea di base (cioè del segnale rilevato dal detector), qualità importante per GC con rampe di temperatura e/o accoppiamento con spettrometria di massa (MS);
- ✓ Equilibratura rapida = analisi veloci.

### Svantaggi (rispetto a WCOT e SCOT, che sono per GLC):

- × Picchi asimmetrici a causa del ristretto intervallo di linearità delle isoterme di assorbimento;
- × Alta entalpia di adsorbimento = alti tempi di ritenzione;
- × Molti adsorbenti hanno superficie eterogenea ed innescano reazioni catalitiche.

famiglia	nome commerciale	T max	area superficiale specifica	applicazioni
	Chromosorb A			
diatomite	Gaschrom	400	0,5-4	supporto per GLC
silica gel	PORASIL	400	1,5-500	genereale
carboni attivi		400	1300	gas inorganici
polistirene	Chromosorb B	275	50-800	bassi pesi molecolari
copolimeri	PORAPAK P, Q,T	250	100-600	sostanze polari
teflon	Chromosorb T	250	7-8	sostanze estremamente polari

## ► Programmi di temperatura (del forno)

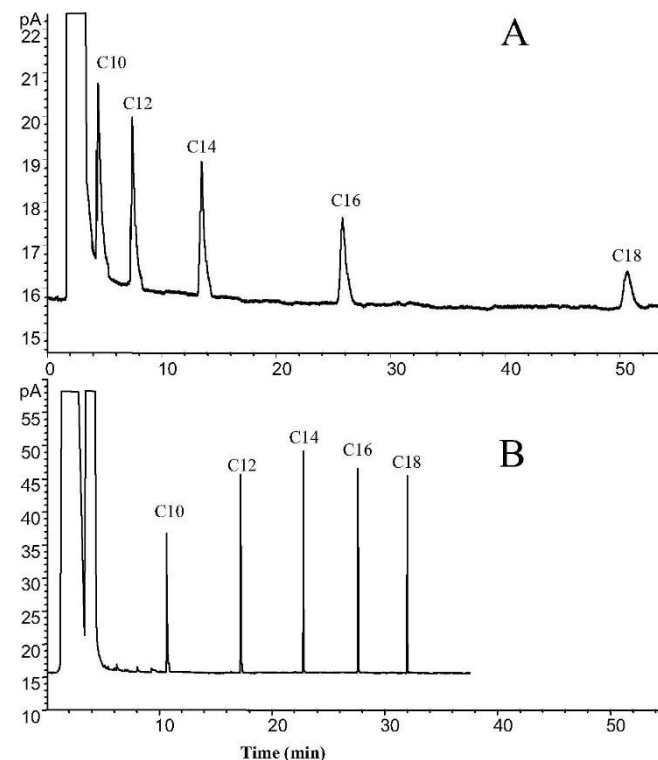
- Il **coefficiente di partizione**, espresso in GLC dalla seguente equazione (già trattata in precedenza) relativa ai volumi

$$V_R' = K V_S$$

$V_R'$  = volume di ritenzione corretto,  
 $V_S$  = volume della fase stazionaria  
 $K$  = coefficiente di partizione

è, come tutte le costanti di equilibrio, dipendente dalla **Temperatura**.

- Come già visto, i volumi di ritenzione dipendono dalle pressioni di vapore degli analiti ad una data temperatura;
- Un aumento di temperatura aumenta la pressione di vapore e quindi aumenta la velocità di eluizione;
- Secondo la correlazione di Clausius-Clapeyron **il tempo di ritenzione aumenta logicamente in funzione dell'aumento di temperatura**;
- In GC, utilizzando programmi di temperatura si riescono a separare miscele contenenti componenti con un ampio intervallo di punti di ebollizione**, infatti le sostanze ad alto punto di ebollizione rimangono in testa alla colonna a corsa cromatografica già iniziata, finché il forno non raggiunge una temperatura adeguata a volatilizzare le sostanze che iniziano a muoversi lungo la colonna.



- (A) Isotherma a 175 °C  
(B) Temperatura programmata

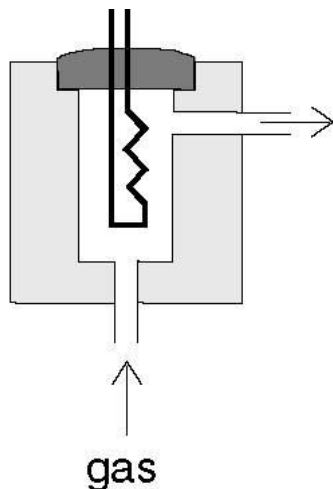
## ➤ Rivelatori

<b>RIVELATORI</b>	<b>specie rilevate</b>	<b>LOD</b>	<b>area lineare</b>
<b>TCD</b>	non specifico	$10^{-8} \text{ g mL}^{-1}$	$10^4$
<b>FID</b>	specie contenenti CH	$10^{-13} \text{ g s}^{-1}$	$10^7$
<b>ECD</b>	gruppi elettroaffini	$10^{-14} \text{ g s}^{-1}$	$5 \times 10^4$
<b>TID</b>	P	$10^{-15} \text{ g s}^{-1}$	$10^5$
	N	$10^{-14} \text{ g s}^{-1}$	
<b>FPD</b>	P	$3 \times 10^{-13} \text{ g s}^{-1}$	$10^5$
	N	$2 \times 10^{-11} \text{ g s}^{-1}$	

- *TCD = Thermal Conductivity Detector;*
- *FID = Flame Ionization Detector;*
- *ECD = Electron Capture Detector;*
- *TID = Thermo-Ionic Detector o NPD = Nitrogen-Phosphorus Detector;*
- *FPD = Flame Photometric Detector.*
  
- *MS = Spettrometro di Massa (sempre più impiegato in virtù della possibilità di identificare picchi generati da composti incogniti)*

## ❖ TCD (Thermal Conductivity Detector)

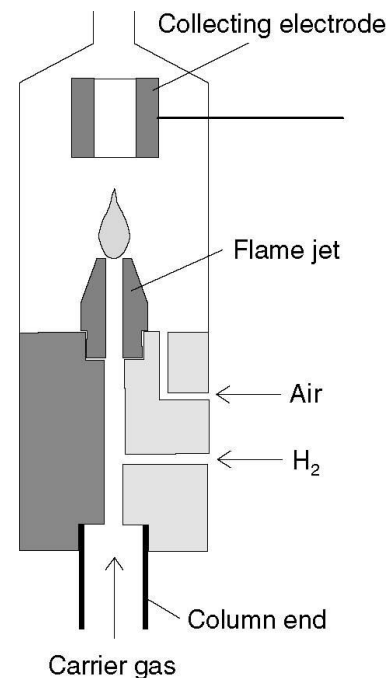
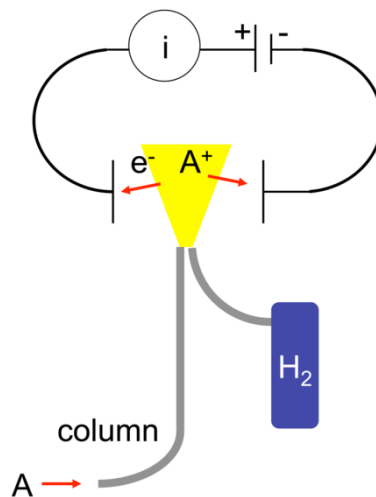
- *In presenza dell'analita al rivelatore, si ha riduzione della conducibilità termica del carrier gas (He o H<sub>2</sub>). Le conducibilità termiche di He o H<sub>2</sub> sono 6 - 10 volte maggiori di quelle di vapori organici;*
- *Il filamento cambia resistenza rispetto al filamento non esposto a campione ( simile a Ponte di Weathstone);*
- *Il segnale è proporzionale alla concentrazione.*
- *E' un detector aspecifico (risponde sia a specie organiche che inorganiche) e poco sensibile, ma è "non distruttivo".*



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-13

## ❖ FID (Flame Ionization Detector)

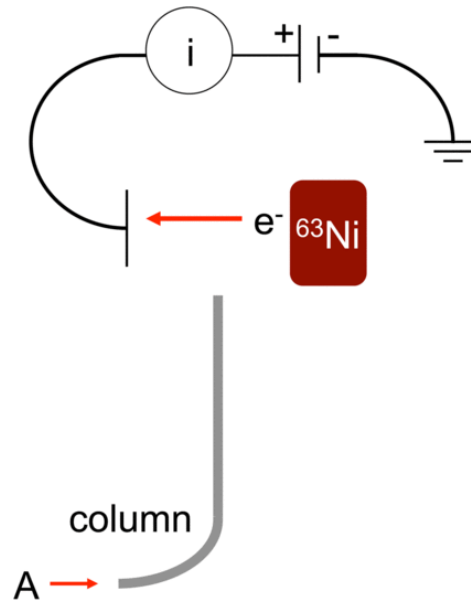
- Consiste nella variazione della conducibilità elettrica in una fiamma alimentata da idrogeno quando questa è alimentata da composti organici, il tutto in presenza di un campo elettrico.
- I composti organici vengono pirolizzati (frammentati) e ossidati generando elettroni:  
 $CH\cdot + O \rightarrow CHO^+ + e^-$
- Rivela legami CH e CC, poco legami CO, COH, gruppi amminici o alogeni;
- Il detector risponde al numero di C per unità di tempo;
- Limit Of Detection (LOD) basso;
- Ampio intervallo di linearità (concentrazione vs. segnale);
- E' un detector distruttivo.



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-21-14

## ❖ ECD (Electron Capture Detector)

- Questo detector usando un emettitore  $\beta$  (Ni o trizio) genera una corrente costante di ioni e elettroni nel carrier gas.;
- In presenza di un analita che contenga gruppi con significativa affinità elettronica (alogeni, perossidi, chinoni, nitro-gruppi), si ha diminuzione rilevabile della corrente;
- ECD è insensibile ad ammine, alcoli e idrocarburi.



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

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

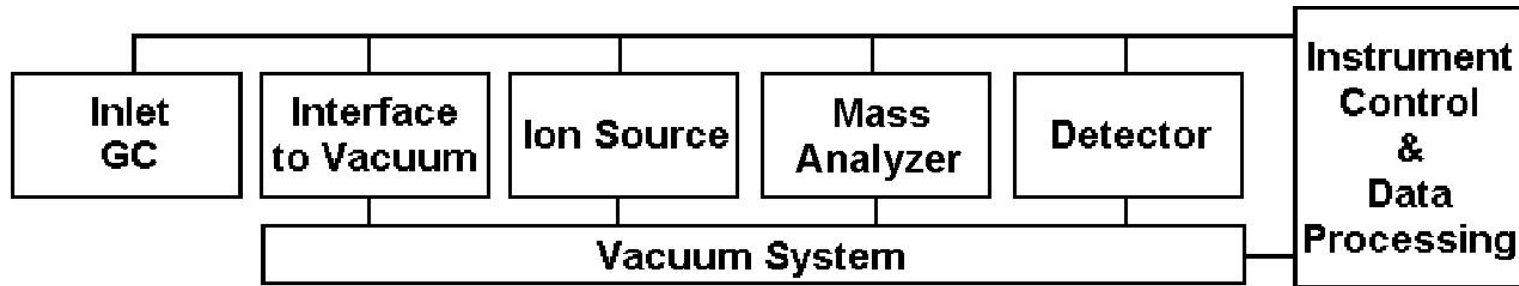
## ❖ **FPD (Flame Photometric Detector)**

- *Utilizza un tubo fotomoltiplicatore **per rilevare linee spettrali dei composti bruciati in una fiamma.***
- *I composti eluiti dalla colonna vengono portati in una fiamma alimentata da idrogeno che eccita elementi specifici nelle molecole;*
- *Gli elementi eccitati (**P, S, alogeni, alcuni metalli** ) emettono luce a lunghezze d'onda caratteristiche;*
- *La luce emessa viene filtrata e rilevata da un tubo fotomoltiplicatore. In particolare, ad es., le emissioni del fosforo sono a circa 510 - 536nm e quelle dello zolfo a 394nm.*



## ❖ Spettrometro di Massa (MS)

Gli spettrometri di massa accoppiati a sistemi cromatografici sono strumenti costituiti da cinque blocchi:



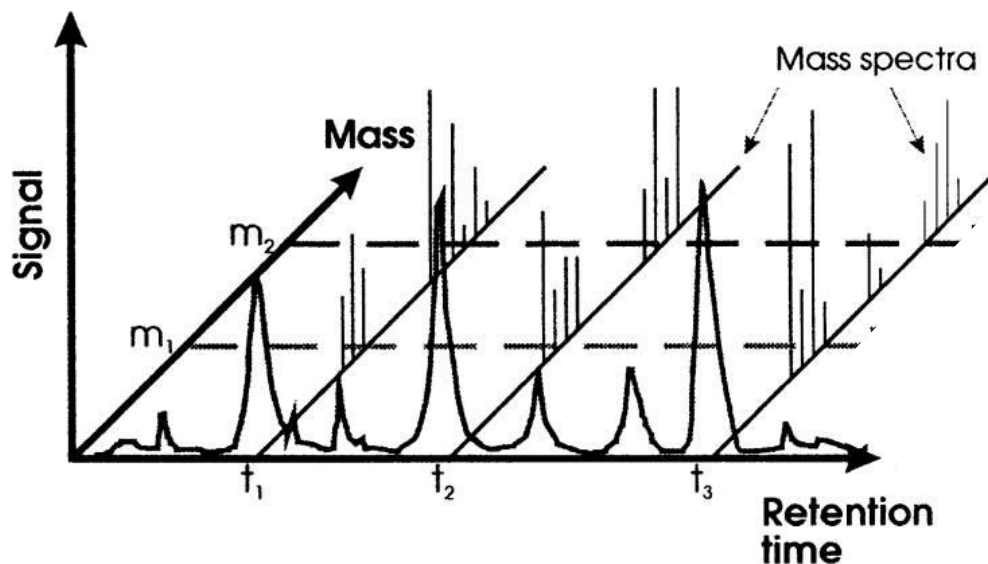
1. introduzione del campione;
2. ionizzazione degli analiti;
3. analisi della massa;
4. rilevazione;
5. elaborazione dell'informazione

E' necessario un sistema di generazione di alto vuoto ( $\sim 10^{-6}$  torr)

*L'accoppiamento più comune di un GC è con un **MS ad impatto elettronico (EI)** quale sorgente di ionizzazione, **singolo quadrupolo** quale analizzatore di massa e **elettromoltiplicatore** quale rivelatore. Altri tipi di MS sono utilizzabili.*

segue →

- ❑ *Lo spettrometro di massa quadrupolare durante l'acquisizione dei dati varia i potenziali dei campi in corrente continua e in corrente alternata secondo un rapporto fisso, in modo da far passare in successione ioni nell'intervallo  $m/z$  tra 1.6 e 800 amu fino al detector;*
- ❑ *Una scansione è eseguita in un secondo circa;*
- ❑ *Ciascuna **scansione**, cioè la **registrazione dell'intensità degli ioni come funzione di  $m/z$** , è salvata sul computer per una successiva elaborazione dei dati;*
- ❑ *Si ottiene un **array tridimensionale di dati**, con intensità dello ione,  $m/z$ , e tempo o numero di scansione (collegati al tempo di ritenzione) come tre dimensioni.*

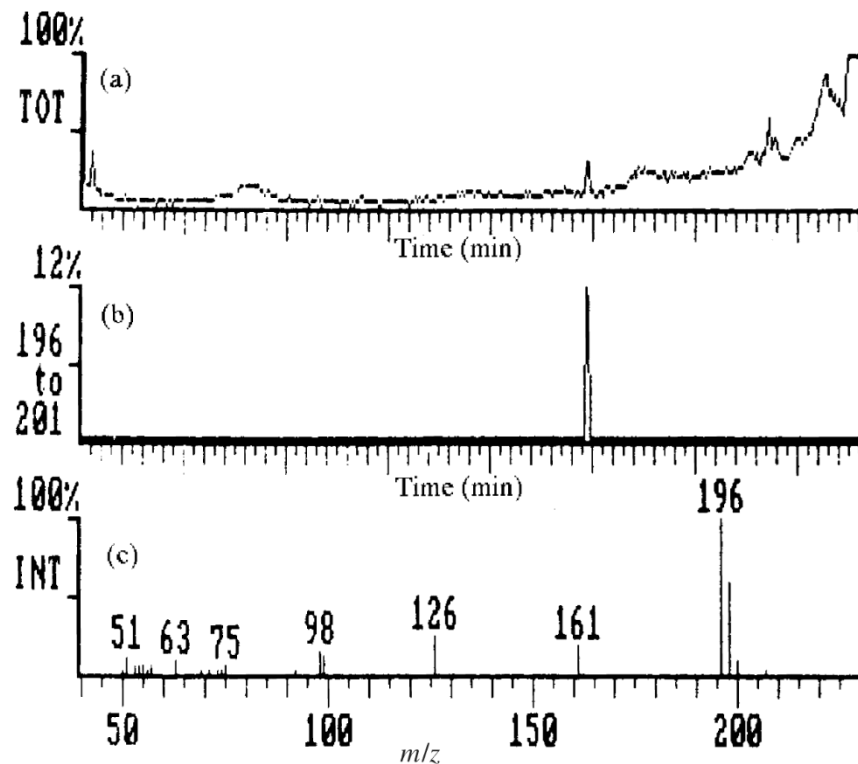


© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-26-04

segue →

La gestione dei dati può essere condotta in modi diversi:

- a) Il **Total Ion Chromatogram (TIC)**: le intensità degli ioni di ciascuna scansione sono sommate indipendentemente da  $m/z$  dello ione e le intensità sommate, cioè la corrente ionica totale è riportata come funzione del tempo o del numero di scansione (questo cromatogramma corrisponde a quello ottenuto in GC con un FID).
- b) Il **cromatogramma di massa**: le intensità di uno o più ioni con  $m/z$  selezionati possono essere estratte dal TIC e riportate come funzione del tempo o del numero di scansione.
- c) Lo **spettro di massa**: per ciascuna scansione (o in pratica, picco del cromatogramma), l'intensità dei diversi ioni della sostanza rappresentata dal picco vengono riportati in funzione di  $m/z$ . Gli spettri di massa possono essere confrontati per via informatica con librerie di spettri di massa (NIST 11 contiene spettri di oltre 200.000 sostanze organiche).

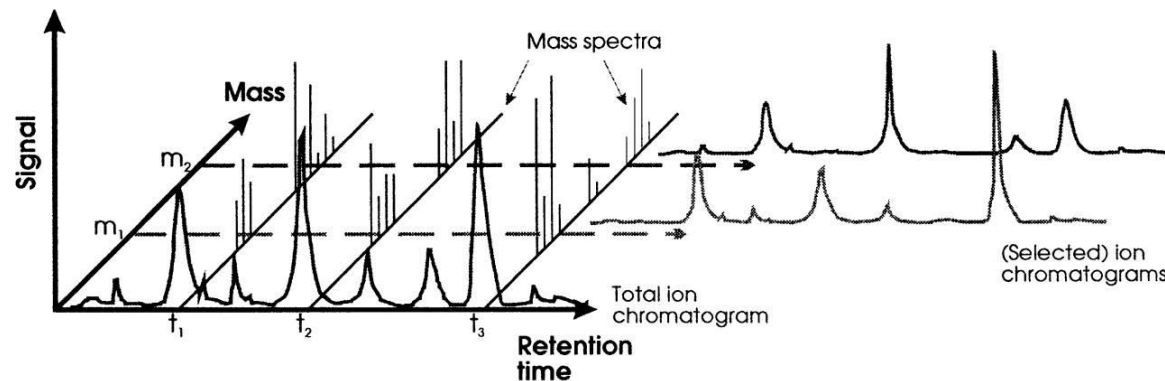


© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-25-04-05

segue →

## Monitoraggio di ioni selezionati (Selected Ion Monitoring - SIM)

- Si è assunto finora che lo strumento lavorasse in modalità di scansione (TIC), acquisendo una serie di spettri completi;
- Tale modalità (TIC) viene impiegata in particolare nell'analisi di campioni di composizione incognita e in maniera "non supervisionata";
- Quando lo spettrometro di massa è usato **come rivelatore selettivo e sensibile per l'analisi quantitativa di molecole predefinite**, un numero limitato di ioni è interessante;
- Si impiega conseguentemente la modalità **Selected Ion Monitoring - SIM**, in cui lo strumento seleziona un particolare  $m/z$  per un periodo, poi si sposta su un altro  $m/z$  per un altro periodo e così via;
- Non si registrano spettri completi, ma i dati possono esser visualizzati come **cromatogramma di massa**;
- Il vantaggio è che il sistema non perde tempo a rilevare ioni irrilevanti, e un maggior tempo di acquisizione a un  $m/z$  definito consente di ottenere **migliori rapporti segnale/rumore** e conseguentemente migliori limiti di **rilevabilità/maggiore sensibilità**.



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim  
Kellner / Analytical Chemistry  
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-26-04

segue →

## **Limiti dello spettrometro di massa quadrupolare accoppiato al GC:**

*Molto usato, strumento versatile e potente, ma:*

- Soltanto analiti volatili sono analizzabili in GC-MS, escludendo composti a elevata polarità, ionici e/o macromolecolari;*
- La ionizzazione è limitata a composti con sufficiente tensione di vapore e stabilità;*
- Le reazioni di frammentazione (hard) unimolecolare in EI possono oscurare la presenza dello ione molecolare, specie per i composti meno stabili, impedendo la determinazione della massa molecolare;*
- Si ottengono informazioni solo dalla massa nominale in un intervallo limitato di  $m/z$ ;*
- Per superare tali limitazioni si sono sviluppati un numero di approcci diversi per l'introduzione del campione, la ionizzazione dell'analita, l'analisi delle masse, la rivelazione dello ione.*