

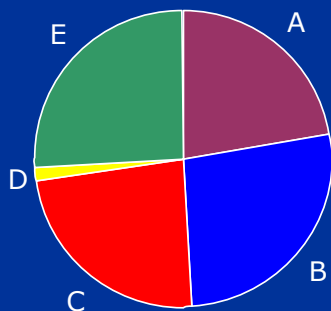
CZEŚĆ III

METODY ROZDZIELCZE

Współczesne metody chromatograficzne

2. Chromatografia gazowa

CHROMATOGRAFIA GAZOWA

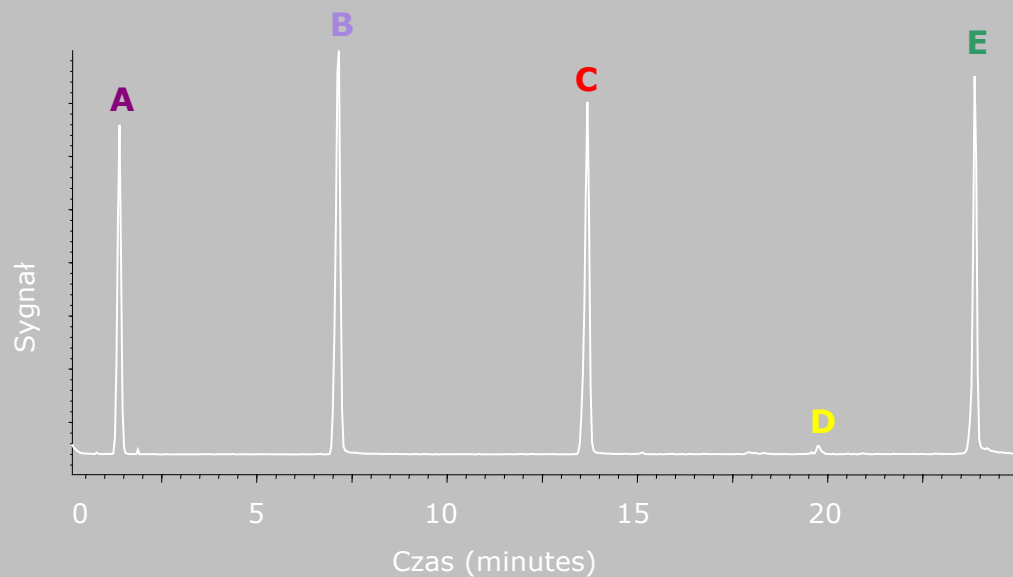


Próbka: mieszanina cieczy ($\sim 1\mu\text{L}$)

Chromatograf gazowy



Chromatogram gazowy



CHROMATOGRAFIA GAZOWA

Chromatografia gazowa jest szybką i skuteczną metodą rozdzielania mieszanin związków lotnych. Substancja rozdzielana jest przenoszona za pomocą gazu nośnego (faza ruchoma) przez kolumnę wypełnioną fazą nieruchomą. W zależności od typu stosowanej fazy nieruchomej rozróżnia się:

- a) chromatografię gazową podziałową**
(fazą nieruchomą jest ciecz naniesiona na stałym nośniku),
- b) chromatografię gazową adsorpcyjną**
(fazą nieruchomą jest adsorbent stały),
- c) chromatografię gazową kapilarną**
(fazą nieruchomą jest ciecz naniesiona bezpośrednio na ścianki kolumny).

Chromatografia gazowa znalazła również zastosowanie identyfikacji i oznaczeń ilościowych małych ilości mieszanin gazowych. Pierwsze prace, dotyczące chromatografii gazowej, ukazały się w 1952 r. (James i Martin – chromatografia podziałowa – GLC; Cremer i Janak – chromatografia adsorpcyjna – GSC).

W ciągu dwudziestu lat metoda ta osiągnęła powszechne zastosowanie w różnych działach przemysłu chemicznego oraz w laboratoriach analityczno-badawczych. Jedną z przyczyn burzliwego rozwoju chromatografii gazowej, niezależnie od doskonałych efektów, jakie ta metoda pozwala osiągnąć, jest to, że znalazła ona bogatego protektora w przemyśle naftowym.

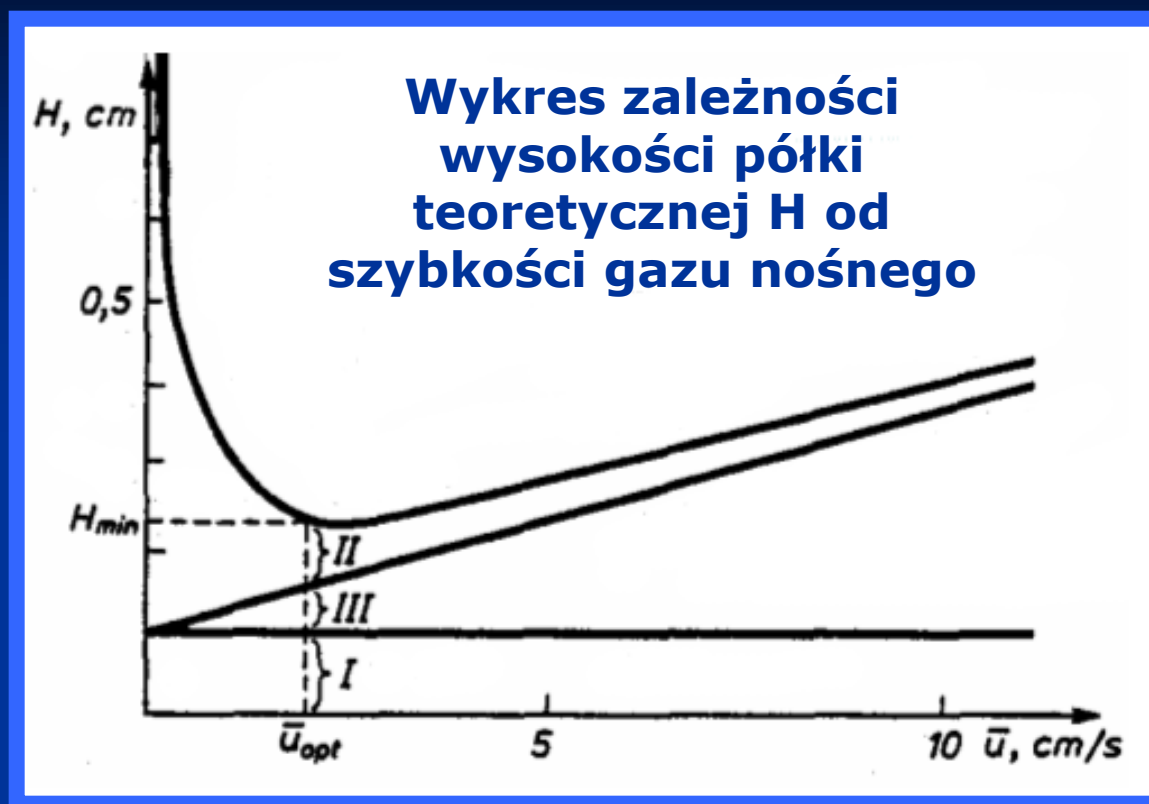
TEORIA KINETYCZNA

Podstawowe równanie tej teorii - równanie Van Deemtera - ujmuje zależność między wysokością półki teoretycznej H a czynnikami wpływającymi na przebieg procesów w kolumnie z kinetycznego punktu widzenia.

$$H = A + \frac{B}{u} + C\bar{u}$$

Uproszczona zależność od szybkości gazu WRPT zależy także od temperatury pomiaru. Równanie przedstawiające zależność wysokości półki teoretycznej H od temperatury kolumny T ma postać:

$$H = A + B'T + \frac{C'}{T}$$



Wydajność kolumny chromatograficznej można zwiększyć przez zwiększenie liczby półek teoretycznych dążąc do maksymalnego obniżenia wartości H , dobierając optymalną prędkość przepływu gazu nośnego w pobliżu minimum hiperboli. Inny sposób zwiększenia wydajności kolumny polega na takim doborze warunków doświadczenia, aby wartości A , B , C w równaniu van Deemtera miały jak najmniejsze wartości.

PARAMETRY RÓWNANIA VAN DEEMTERA:
$$H = A + \frac{B}{u} + C\bar{u}$$

Składnik pierwszy (A) - określa wielkość dyfuzji związanej z wypełnieniem kolumny. W każdej wypełnionej kolumnie cząsteczki substancji chromatografowanej poruszają się w strumieniu gazu nośnego różnymi drogami. W związku z tym ich czasy przebywania w kolumnie są różne. Prędkość przepływu poszczególnych lokalnych strumieni gazu, pomiędzy ziarnami, różni się od prędkości średniej. Ilustruje to schemat przedstawiony na rysunku 160. podczas przepływu gazu przez kolumnę z ziarnistym wypełnieniem niektóre cząsteczki przemieszczają się szybciej, natrafiając na otwarte drogi (kanały), inne dyfundują do zamkniętych przestrzeni lub omijają je (dyfuzja wirowa). Prowadzi to do rozmywania pików chromatograficznych. Rozmywanie pików zależy od wymiarów ziaren, ich kształtu, porowatości, ułożenia w kolumnie i średnicy kolumny. Zmniejszenie wartości członu A jest możliwe przez zastosowanie małych ziaren, o regularnej granulacji, upakowanych jednorodnie w kolumnach o niewielkich średnicach (1-6mm). Wartość tego członu nie zależy od właściwości chromatografowanej substancji ani od właściwości fazy ciekłej.

Składnik drugi (B/\bar{u})

$$H = A + \frac{B}{u} + C\bar{u}$$

- przedstawia dyfuzję cząsteczkową w fazie gazowej, nazywaną także dyfuzją podłużną. Dyfuzja cząsteczkowa zależy od gęstości i prędkości przepływu gazu nośnego. Można ją zmniejszyć przez zwiększenie gęstości lub prędkości liniowej gazu nośnego.

Składnik drugi ($C\bar{u}$)

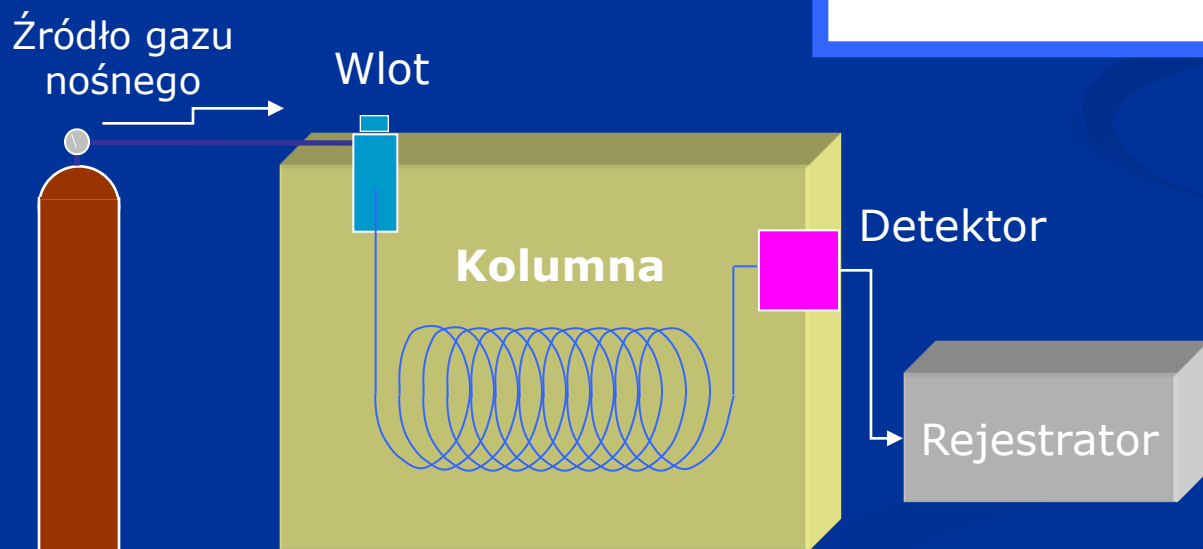
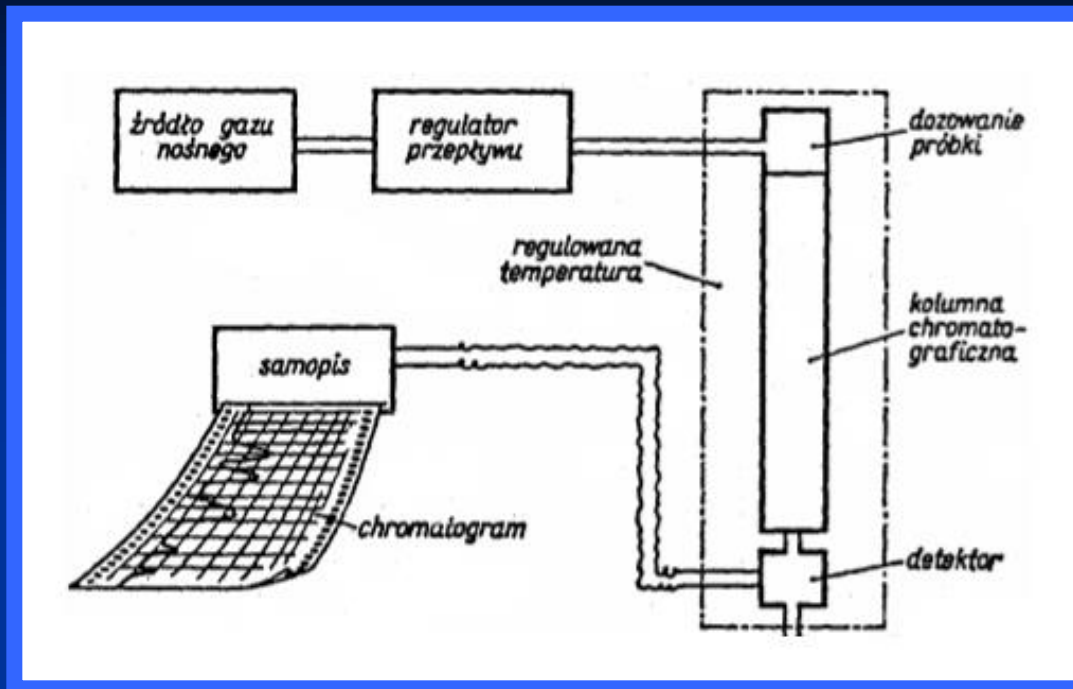
- charakteryzuje opór przenoszenia masy w fazie ciekłej. Z równania Van Deemtera wynika, że im więcej fazy ciekłej naniesiemy na nośnik, tym mniej sprawna będzie kolumna. Optymalna ilość cieczy stacjonarnej wynosi na ogół 3-10% masy nośnika.

Ilustracja dyfuzji wirowej



APARATURA

Schemat blokowy prostego chromatografu



Uwagi praktyczne

Gaz nośny

Gaz nośny powinien być chemicznie obojętny zarówno w stosunku do wypełnienia kolumny, jak i do składników badanej mieszaniny. Klasycznymi fazami ruchomymi w chromatografii gazowej są: azot, wodór, hel i argon. Rzadziej używa się dwutlenku węgla, powietrza i neonu.

Wybór gazu zależy, w dużej mierze, od zastosowanego detektora. W przypadku termokonduktometru (katarometru) istotne znaczenie ma wartość przewodnictwa cieplnego gazu nośnego. Z tablicy wynika, że do wykrywania związków organicznych najodpowiedniejszymi gazami są wodór i hel, a do wykrywania wodoru nadaje się dwutlenek węgla.

Gaz	Przewodnictwo cieplne względem powietrza w temp. 0°C
H ₂	7,1
He	6,2
N ₂	1,02
O ₂	1,04
N ₂ O	0,65
NO	0,93
CO	0,96
CO ₂	0,61
Ar	0,71
Związki organiczne	0,4 - 0,6

Regulacja przepływu gazu nośnego.

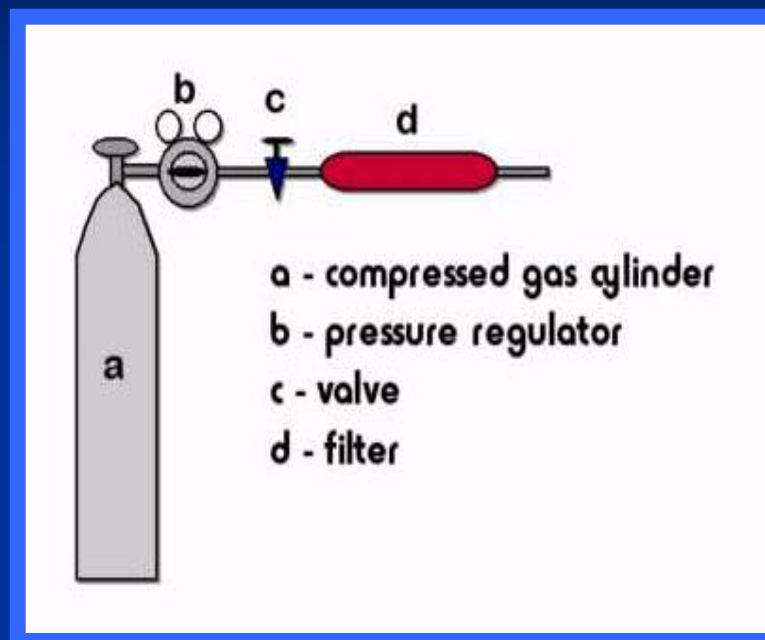
Ważnym zagadnieniem jest prędkość przepływu gazu nośnego. Od niej zależy bowiem sprawność kolumny.

Od niej zależy bowiem sprawność kolumny. Jak wiadomo, miarą sprawności kolumny jest liczba pólk teoretycznych, przypadająca na jednostkę długości kolumny.

Optymalną prędkość przepływu, dla określonych warunków rozdziału, wyznacza się eksperymentalnie.

Gaz nośny, znajdujący się w butlach stalowych pod wysokim ciśnieniem

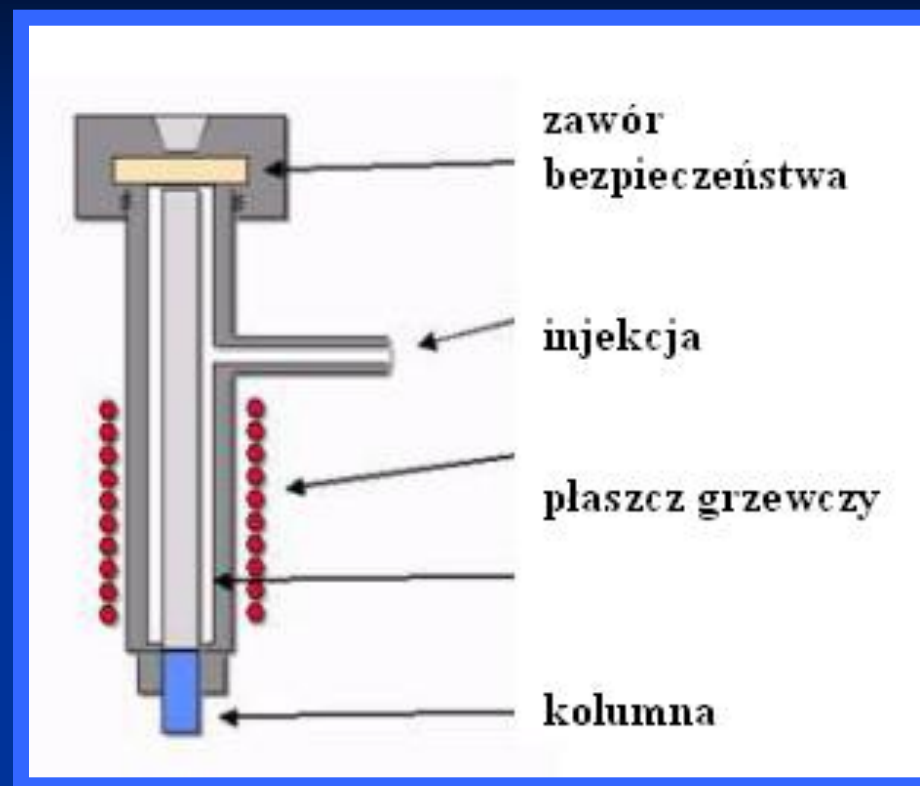
(ok. 15 Mpa), redukuje się wstępnie do 0,3–0,5 Mpa za pomocą zaworu redukcyjnego umieszczonego na głowicy butli. W celu uzyskania powtarzalnych wyników należy dokładnie regulować przepływ gazu nośnego i utrzymywać go stałym poziomie. W związku z tym bezpośrednio za zaworem redukcyjnym umieszcza się regulatory ciśnienia i przepływu. Natężenie przepływu gazu kontroluje się za pomocą przepływomierza umieszczonego przed wejściem do kolumny lub za detektorem.



Układ dozowania próbek.

Najprostszym i najczęściej stosowanym urządzeniem do odmierzania próbek jest strzykawka. Objętość analizowanych próbek zależy od wielkości i rodzaju kolumn oraz od stanu skupienia rozdzielanych mieszanin i mieści się, najczęściej, w granicach 0,1-10 μ l dla cieczy i 1-10ml dla gazów. Próbkę (w postaci gazu lub pary) wprowadza się w strumień gazu nośnego,

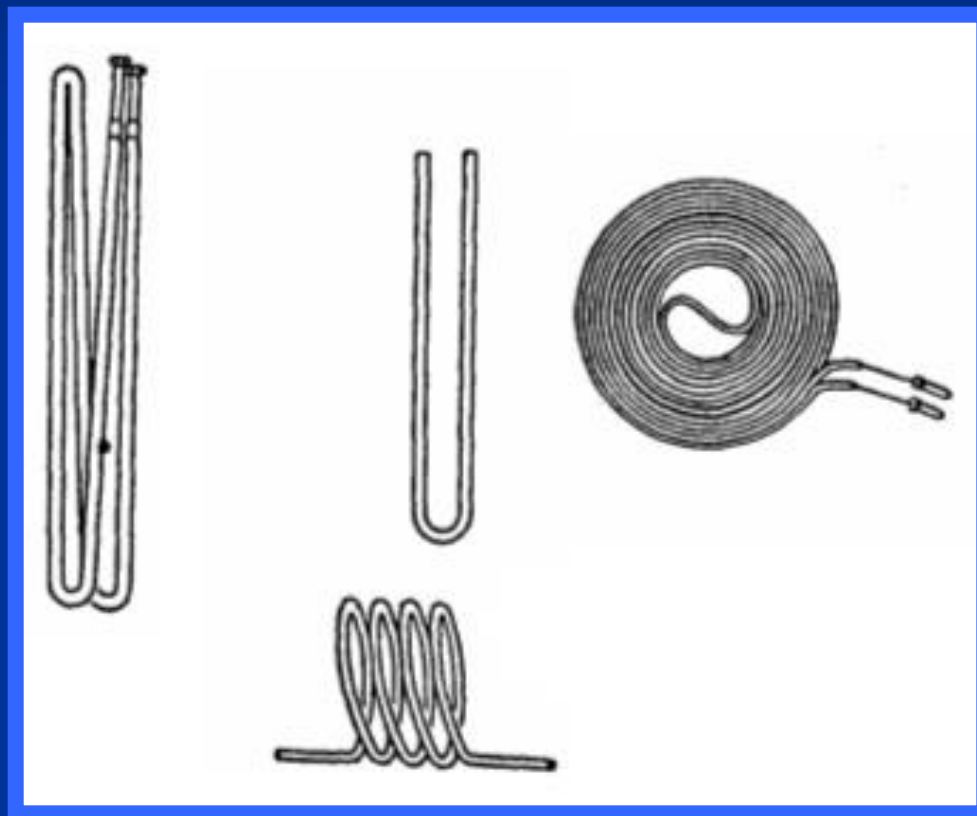
wkłuwając igłę strzykawki w membranę dozownika, wykonaną z gumy silikonowej. Dozownik wyposażony jest w podgrzewaną komorę, przez którą przepływa gaz nośny. Zadaniem komory nastrzykowej jest szybkie przeprowadzenie cieczy w stan pary. W przypadku badania próbek gazowych, do odmierzania i wprowadzania próbek stosuje się krany dozownicze z kalibrowaną pętlą pomiarową.



Kolumna

Kolumna jest najważniejszą częścią składową chromatografu, gdyż w niej następuje rozdział badanych mieszanin. Kolumny chromatograficzne wykonuje się ze szkła, metalu (Cu, Al.), stali nierdzewnej lub teflonu. Aby zmieścić się one w termostacie, wygina się je zwykle w spiralę lub nadaje kształt litery U lub W. Termostat umożliwia regulację temperatury z dokładnością $0,1^{\circ}\text{C}$.

Typy kolumn chromatograficznych.

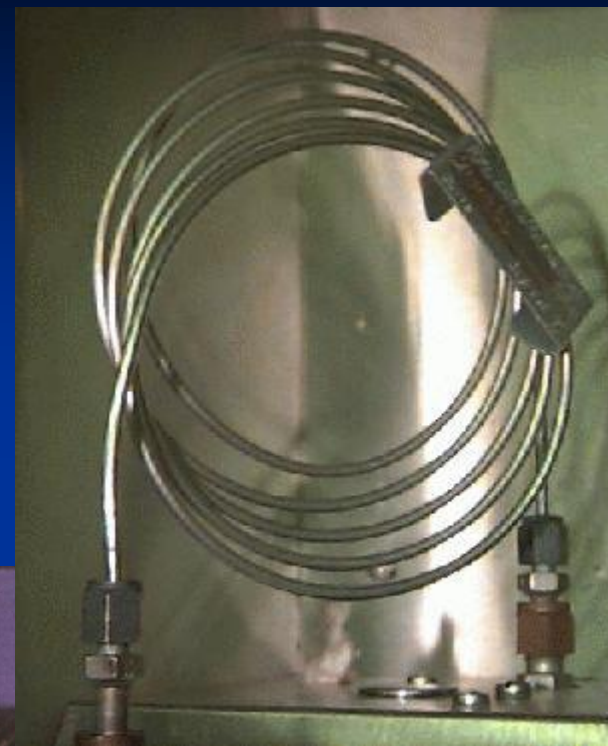
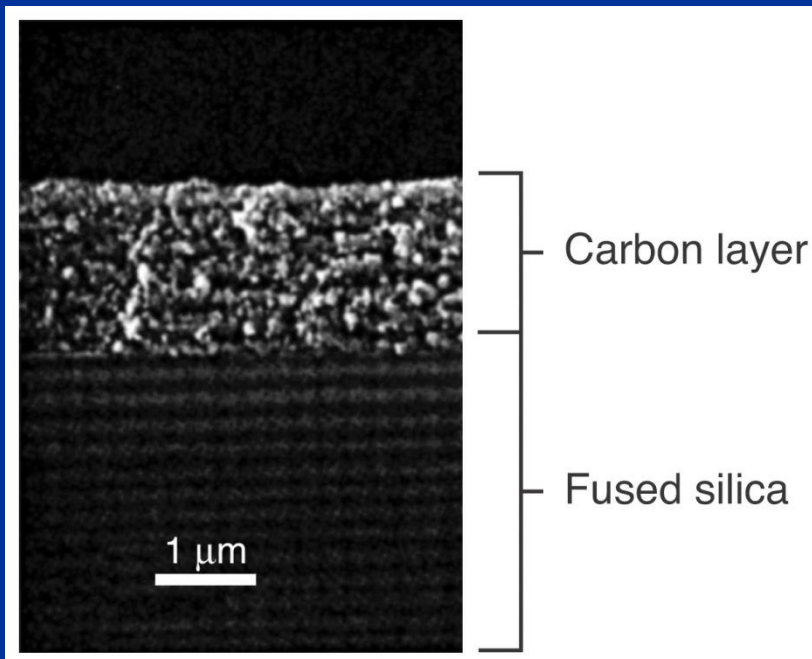


Kategorie kolumn

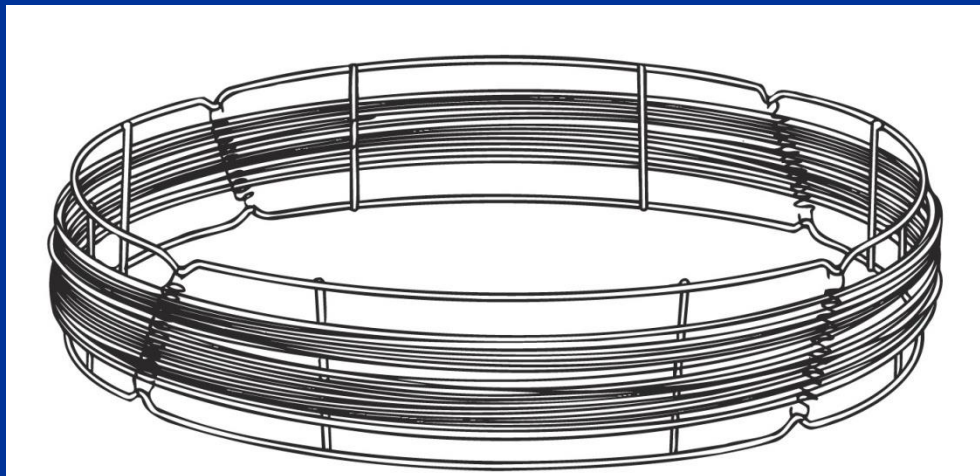
1. kolumny z wypełnieniem - wypełnienie tych kolumn stanowi adsorbent, występujący w postaci granulek, lub ciekała faza stacjonarna, osadzona na porowatym nośniku.

- analityczne, o średnicy 3-6mm i długości 1-16m;

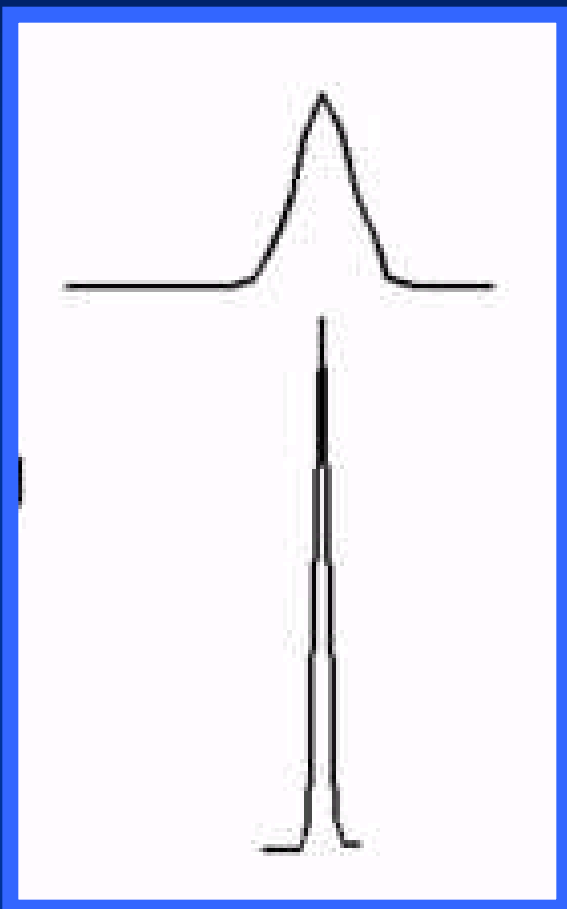
- preparatywne, o średnicy 2,5-5cm i długości 1-16m.



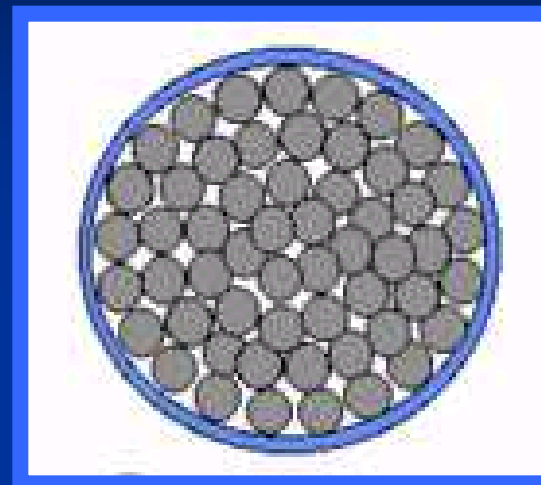
2. kolumny o przekroju otwartym (kapilarne) - Kolumny kapilarne o przekroju otwartym są to rurki szklane lub ze stali nierdzewnej, o średnicy 0,1- 0,75mm i długości 15-160m. Ciekła faza stacjonarna w postaci filmu jest osadzone bezpośrednio na ściankach kapilary. Grubość filmu waha się w granicach 0,5-2,5 μ m.



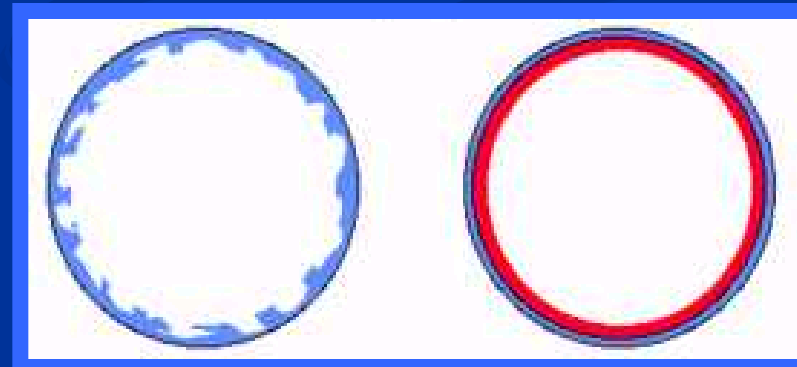
Kategorie kolumn



sygnał kolumny
z wypełnieniem



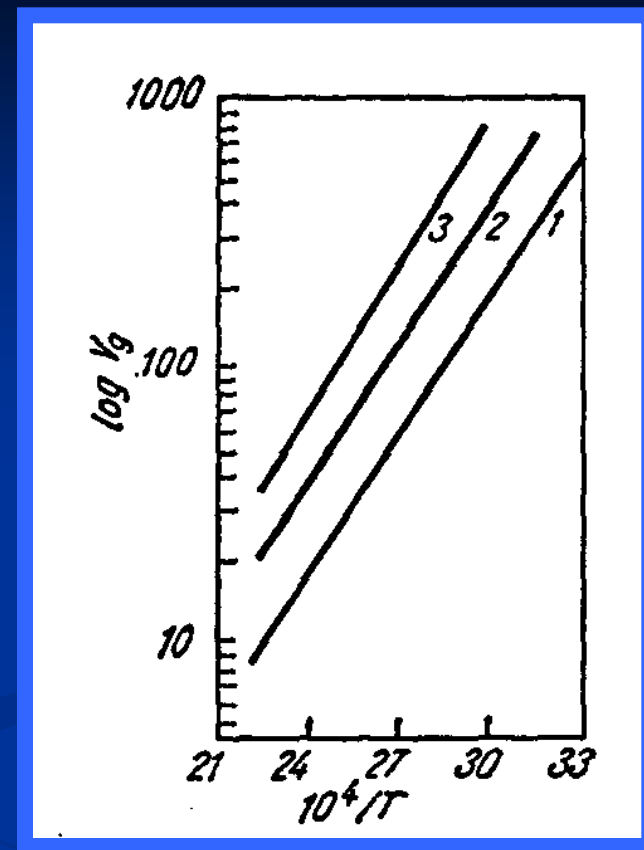
sygnał kolumny
kapilarne



Temperatura

Prawidłowy i powtarzalny przebieg rozdziału chromatograficznego zależy od zachowania stałej wartości temperatury kolumny. Stałą temperaturę kolumny utrzymuje się za pomocą specjalnego termostatu. Temperatura ma decydujący wpływ na objętość retencji i zdolność rozdzielczą kolumny. Stwierdzono doświadczalnie, że zachodzi liniowa zależność między logarytmem właściwej objętości retencji a odwrotnością bezwzględnej temperatury pomiaru.

$$\log V_g = \frac{a}{T} + b$$



Zależność logarytmu właściwej objętości retencji od temperatury pomiaru (ciekła faza stacjonarna-silikon 702) :1-benzen, 2-toluen, 3-p-ksylen.

Wypełnienia kolumn

Wypełnienia kolumn w chromatografii adsorpcyjnej (GSC).

Adsorbenty stosowane w chromatografii gazowej można podzielić na dwie grupy:

- Adsorbenty niespecyficzne
- Adsorbenty specyficzne

Adsorbenty niespecyficzne

Oddziaływanie niespecyficzne w układzie adsorbat- adsorbent zachodzi między dowolnymi partnerami i jest określane głównie siłami dyspersyjnymi. Adsorbenty niespecyficzne nie mają na swej powierzchni ani grup funkcyjnych, ani jonowymiennych, dlatego z rozdzielaną mieszaniną oddziałują niespecyficznie. Należą do nich m.in. węgiel aktywny, sadza grafitowa i nasycone węglowodory, a zwłaszcza polimery (np. polietylen).

Adsorbenty specyficzne

Oddziaływanie specyficzne wiąże się ze szczególnym rozmieszczeniem gęstości elektronowej w cząsteczkach oddziałujących z sobą. Rozmieszczenie to wynika z lokalnego skupienia ujemnych i dodatnich ładunków na końcach określonych wiązań lub łańcuchów. Oddziaływanie specyficzne w skrajnych przypadkach można rozpatrywać jako oddziaływanie elektrostatyczne.

Można wyróżnić dwa typy adsorbentów specyficznych:

- adsorbenty specyficzne, mające na powierzchni centra dodatnie (skupione lokalnie ładunki dodatnie). Nośnikami ładunku dodatniego mogą być grupy kwasowe lub kationowymienne. Adsorbenty te oddziałują specyficznie w węglowodorami (nienasyconymi i aromatycznymi), eterami, alkoholami, aminami itp. Należą do nich m.in. żel krzemionkowy i różnego typu zeolity;
- adsorbenty specyficzne, mające na powierzchni centra ujemne (skupione lokalnie ładunki ujemne). Nośnikami ładunku ujemnego mogą być grupy eterowe, nitrylowe, karbonylowe i inne. Do grupy tej można zaliczyć m.in. Chromosorb 104 (kopolimer akrylonitrylu i diwinylobenzenu).

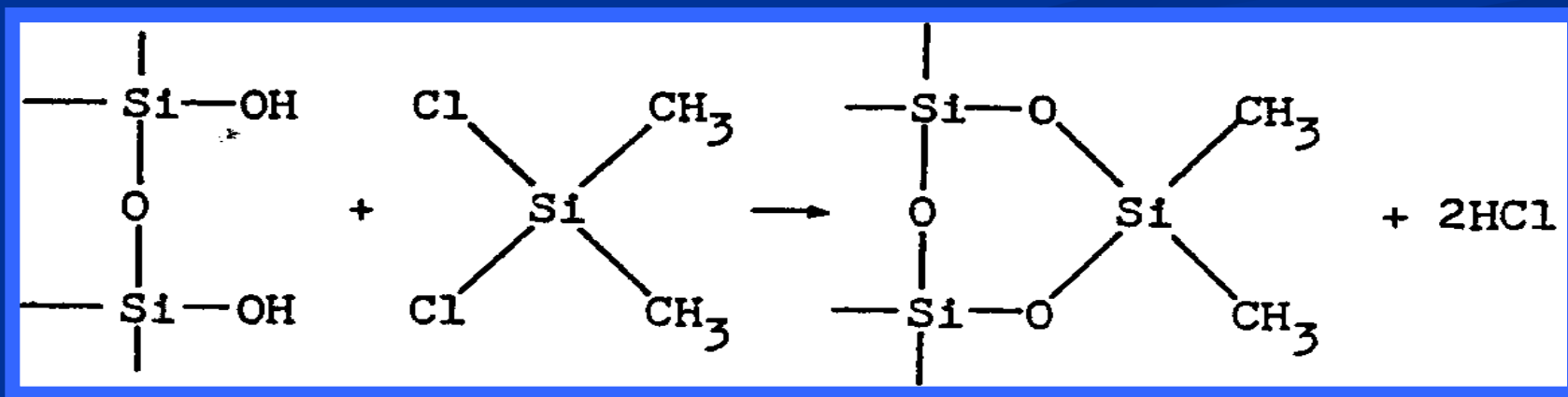
Wypełnienia kolumn w chromatografii podziałowej (nośnik + stacjonarna ciecz)

Nośniki

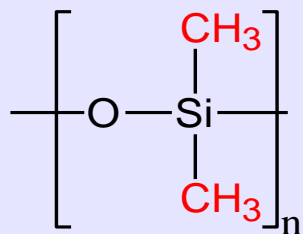
Wybór nośnika jest sprawą równie ważną, jak wybór ciekłej fazy stacjonarnej. Dobry nośnik powinien spełniać następujące warunki:

1. być chemicznie obojętny (nie powinien reagować ani z osadzoną na nim fazą ciekłą, ani z rozdzielaną substancją);
2. nie wykazywać właściwości adsorpcyjnych w stosunku do składników rozdzielanej mieszaniny;
3. mieć umiarkowanie rozwiniętą powierzchnię właściwą (w granicach $1-4\text{m}^2/\text{g}$);
4. charakteryzować się jednorodnością ziaren;
5. mieć małą i równomierną średnicę porów ($<10\mu\text{m}$)
6. charakteryzować się dobrą wytrzymałością mechaniczną i stabilnością termiczną.

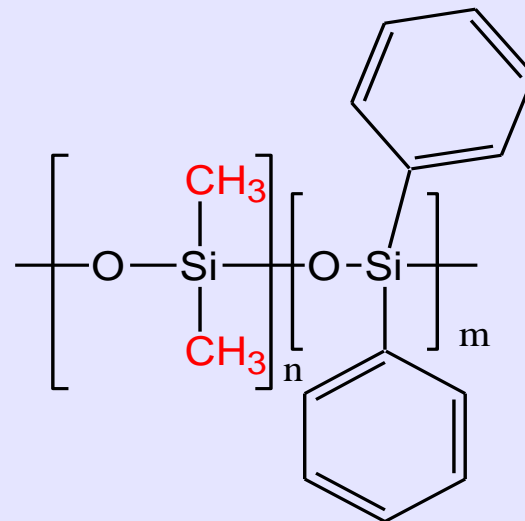
Nośniki wykazujące zbytnią aktywność w wyniku oddziaływań adsorpcyjnych z rozdzielanymi substancjami powodują tzw. ogonowanie pików, co utrudnia analizę. W celu ograniczenia tego zjawiska wykonuje się dezaktywację nośnika, modyfikując jego powierzchnię (przez przemywanie kwasem lub zasadą, silanowanie itp.). Nośniki krzemionkowe mają silne właściwości adsorpcyjne, gdyż na ich powierzchni występują wolne grupy wodorotlenowe. Grupy te można zablokować działając na nośnik dichlorodimetylosilanem, zgodnie z równaniem reakcji:



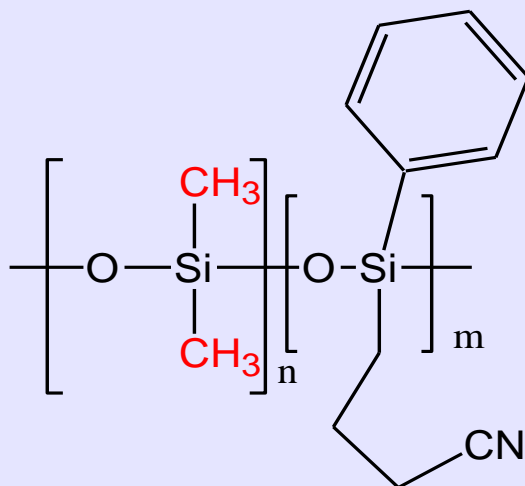
Przykłady wypełnienia kolumn



100 % dimethyl polysiloxane
poly(dimethylsiloxane)



5 % diphenyl - 95 % dimethyl polysiloxane
(dimethyl)_{0.95}(diphenyl)_{0.05}polysiloxane



(cyanopropylphenyl)_{0.16}(diphenyl)_{0.84}polysiloxane

16 % cyanopropylphenyl - 84 % dimethyl polysiloxane

Ciekłe fazy stacjonarne

Prawidłowo dobrana ciekła faza stacjonarna umożliwia dobre rozdzielanie wszystkich składników analizowanej mieszaniny. Powinna ona wykazywać następujące właściwości:

1. dużą zdolność rozpuszczania przynajmniej jednego ze składników mieszaniny;
 2. chemiczną obojętność zarówno względem składników mieszaniny, jak i względem nośnika;
 3. niską lotność i termiczną stabilność w warunkach pracy kolumny;
 4. małą lepkość;
 5. dużą selektywność w stosunku do składników analizowanej mieszaniny.
- Miarą selektywności fazy ciekłej jest różnica szybkości wymywania dwóch związków o różnej budowie cząsteczek, lecz o identycznych temperaturach wrzenia.
 - Nie ma i nie może być jednoznacznych reguł dotyczących wyboru faz ciekłych, ze względu na wielką różnorodność składu analizowanych mieszanin. Trudna jest również klasyfikacja faz ciekłych, gdy ich właściwości nie zmieniają się w sposób ostry i wyraźny.

Ciecze, stosowane jako fazy nieruchome, można ogólnie podzielić na:

- 1) fazy niepolarne** - wykazujące dużą selektywność w stosunku do związków niepolarnych,
- 2) fazy średnio polarne** - rozpuszczające, stosunkowo dobrze, zarówno związki niepolarne jak i polarne,
- 3) fazy polarne** - słabo rozpuszczające związki niepolarne, ale wykazujące dużą selektywność w stosunku do związków polarnych. Wybór fazy ciekłej opiera się w znacznym stopniu na przesłankach empirycznych.

Zasada rozpuszczalności: „podobne rozpuszcza podobne”

Do rozdziału substancji niepolarnych stosuje się niepolarne fazy ciekłe, a do rozdziału substancji polarnych - fazy polarne. Polarność jest więc najważniejszym parametrem decydującym o selektywności fazy ciekłej:

- 1)** na niepolarnych fazach ciekłych substancje niepolarne rozdzielają się w kolejności ich temperatur wrzenia,
- 2)** na niepolarnych fazach ciekłych substancje polarne są wmywane szybciej niż substancje niepolarne o tej samej temperaturze wrzenia,
- 3)** na polarnych fazach ciekłych substancje niepolarne są wmywane szybciej niż substancje polarne o tej samej temperaturze wrzenia, czyli im większa jest polarność fazy ciekłej, tym dłużej jest zatrzymywana substancja polarna w porównaniu z substancją niepolarną.

DETEKTOR

Detektor chromatograficzny służy do ilościowej rejestracji rezultatów rozdzielania chromatograficznego. Nie wpływa on, oczywiście na jakość rozdzielania. Wielkość sygnału detektora powinna być wprost proporcjonalna do stężenia substancji w gazie nośnym (tzn. sygnał powinien być liniowy).

Dobry detektor musi mieć szereg cech, z których najważniejsze to:

1. duża czułość i wykrywalność,
2. odtwarzalność sygnału,
3. szeroki zakres liniowości wskazań,
4. niski poziom "szumów" linii zerowej,
5. stały i możliwie szybki czas detekcji,
6. niewielka martwa objętość retencji.

PODZIAŁ DETEKTORÓW:

Detektory stężeniowe

Detektory stężeniowe mierzą stężenie substancji oznaczanej w gazie nośnym. Wielkość sygnału S tych detektorów określa wzór:

$$S = k_c c$$

gdzie: k_c - współczynnik proporcjonalności, c - stężenie substancji oznaczanej w gazie nośnym.

Przykładem detektorów stężeniowych są **katarometry**

Detektory masowe (strumieniowe)

Detektory masowe mierzą masę przepływających przez nie oznaczanych składników. Wielkość sygnału S można ująć wzorem:

$$S_n = k_m F_o c$$

gdzie: k_m - współczynnik proporcjonalności, F_o - objętościowa prędkość przepływu gazu nośnego, c - stężenie substancji oznaczanej.

Przykładem detektorów masowych są **detektory jonizacyjne**.

Detektory uniwersalne (niespecyficzne)

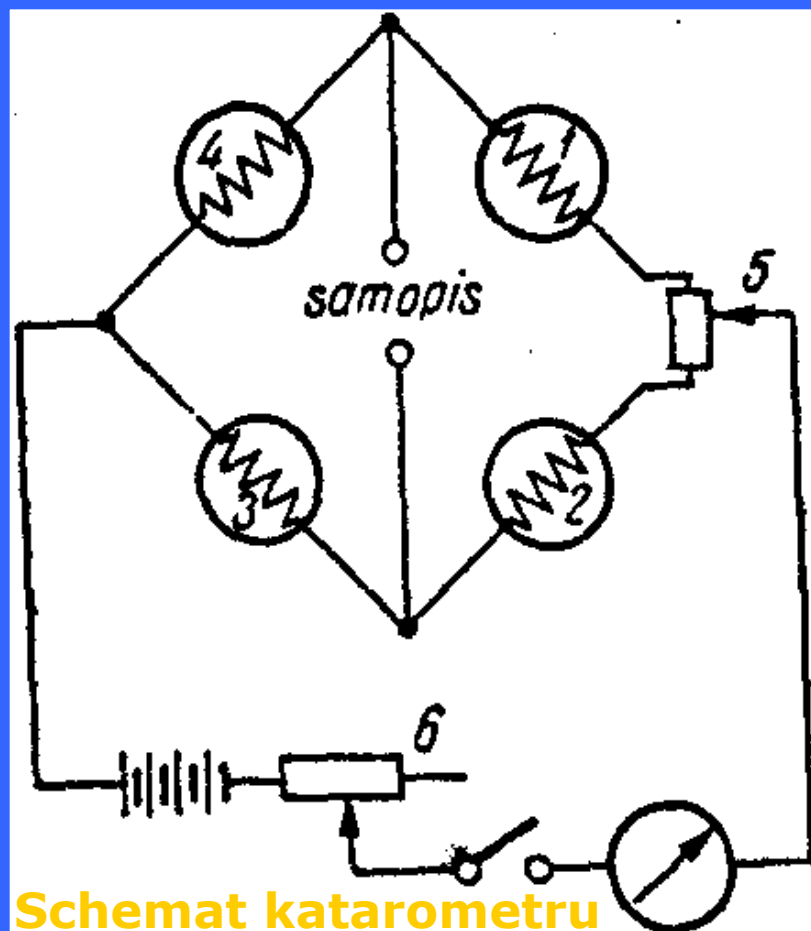
Detektory uniwersalne reagują na każdy związek wypływający z kolumny.

Detektory selektywne (specyficzne)

Detektory selektywne charakteryzują się dużą czułością tylko w stosunku do określonej grupy związków. W przypadku analizy mieszaniny związków różnych typów bardziej pożądanym jest detektor uniwersalny, natomiast w przypadku poszukiwania określonego związku lub grupy związków stosuje się detektory selektywne

ZASADA DZIAŁANIA NIEKTÓRYCH DETEKTORÓW

Detektor termokonduktometryczny - katarometr



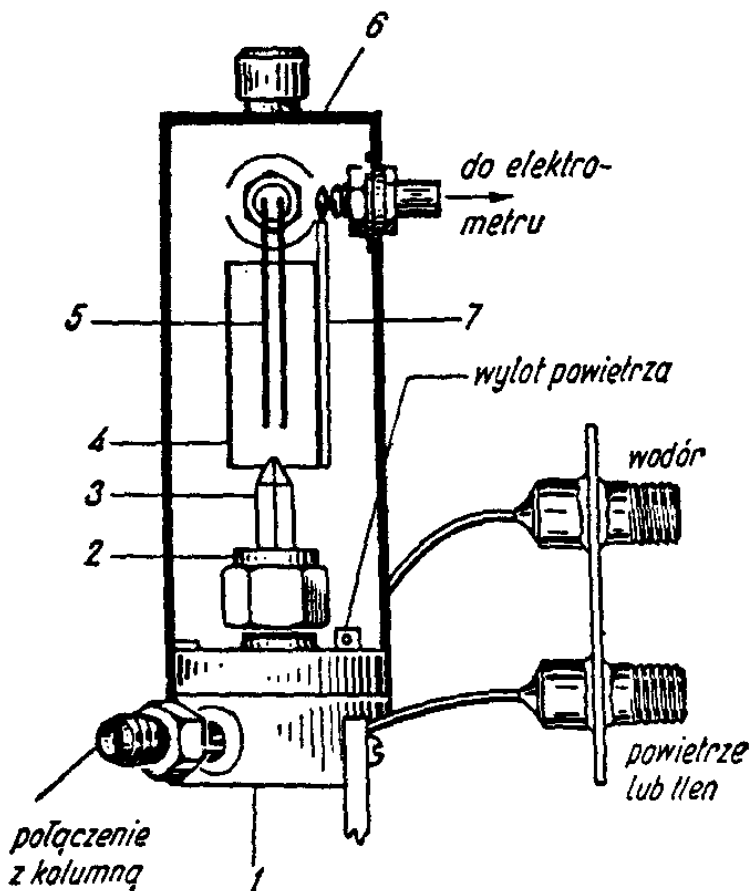
Schemat katarometru

- 1, 3 - elementy wzorcowe,
- 2, 4 - czujniki,
- 5 - regulacja zera,
- 6 - regulacja prądu

Zasada działania katarometru

(ang. TCD - Thermal Conductivity Detector) polega na wykorzystaniu wrażliwości niektórych oporników na małe zmiany temperatury. Zasadniczym elementem pomiarowym tego detektora są cztery oporniki włączone w ramiona mostka Wheatstone'a. Dwa z nich (umieszczone przed dozownikiem) służą jako elementy porównawcze, gdy przepływa przez nie czysty gaz nośny, dwa pozostałe służą jako czujniki i są umieszczone w strumieniu gazu opuszczającym kolumnę. Związek organiczny wypływający z kolumny razem z gazem nośnym zmienia temperaturę czujników, przez co zostaje zachwiana równowaga elektryczna mostka. Sygnał ten jest wzmacniany i zapisywany. Czułość katarometru zależy od względnej różnicy przewodnictwa cieplnego gazu nośnego i analizowanej substancji. W przypadku badania związków organicznych najlepszym gazem nośnym jest wodór lub hel. Katarometr jest detektorem uniwersalnym, gdyż umożliwia detekcję zarówno związków organicznych, jak i nieorganicznych. Wykrywalność katarometru jest rzędu $2 \cdot 10^{-6} \text{ mg/ml}$. Sygnał tego detektora zależy od stężenia badanej substancji w gazie nośnym.

Detektor płomieniowo-jonizacyjny



Detektor płomieniowo-jonizacyjny

(ang. FID – Flame Ionization Detector) składa się z palnika wodorowego i układu elektrod, połączonych z przyrządem pomiarowym. Zasada działania tego detektora polega na wykorzystaniu ostrej zmiany przewodnictwa elektrycznego atmosfery płomienia wodorowego po wprowadzeniu do niego śladów związków organicznych tworzących w procesie spalania karbojony. Powstający przy tym prąd jonizacyjny jest wzmacniany i rejestrowany. Czysty płomień wodorowy daje stały prąd podstawowy rzędu $10^{-11}A$. Wielkość tego prądu zależy od czystości wodoru. Sygnał detektora jest proporcjonalny do liczby atomów węgla nie związanych z tlenem, a więc w przybliżeniu do masy substancji.

Detektor płomieniowo-jonizacyjny jest bardzo czuły w stosunku do większości związków organicznych. Pozwala on wykryć $10^{-12}g$ substancji badanej. Nie jest on czuły w stosunku do związków nieorganicznych, a także do takich związków węgla, jak: CO , CO_2 , CS_2 , COS , $HCOOH$ i $COCl_2$. W przypadku stosowania tego detektora gazem nośnym jest najczęściej azot, hel lub argon.

Schemat

- 1 - podstawa,
- 2 - nakrętka mocująca,
- 3 - palnik kwarcowy,
- 4 - cewka zapłonowa,
- 5 - elektroda ujemna,
- 6 - pokrywa,
- 7 - elektroda dodatnia (cylinder).

Detektor wychwytu elektronów

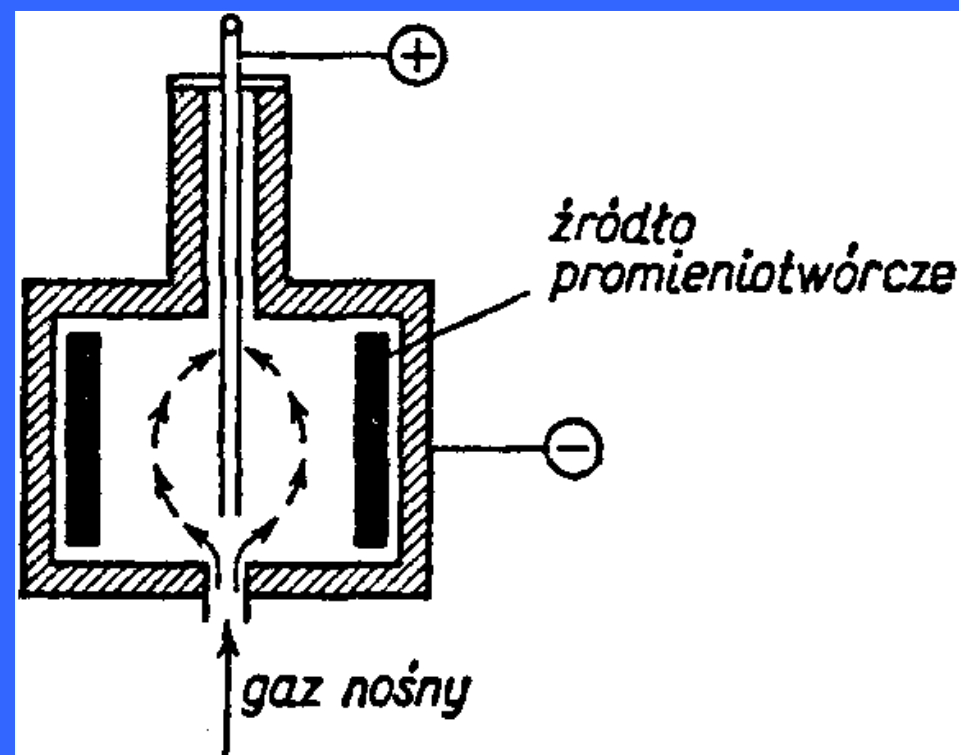
Zasada działania detektora wychwytu elektronów (ang. ECD - **Electron Capture Detector**) polega na gwałtownym spadku natężenia prądu płynącego w komorze jonizacyjnej po wprowadzeniu do niej substancji o dużym powinowactwie elektronowym. W komorze detektora znajduje się źródło promieniotwórcze (^3H , ^{63}Ni) stanowiące katodę detektora oraz elektroda zbiorcza - anoda. Gaz nośny azot lub argon z metanem (10%) jest jonizowany przez cząsteczki β emitowane ze źródła. Powstałe zgodnie z równaniem:



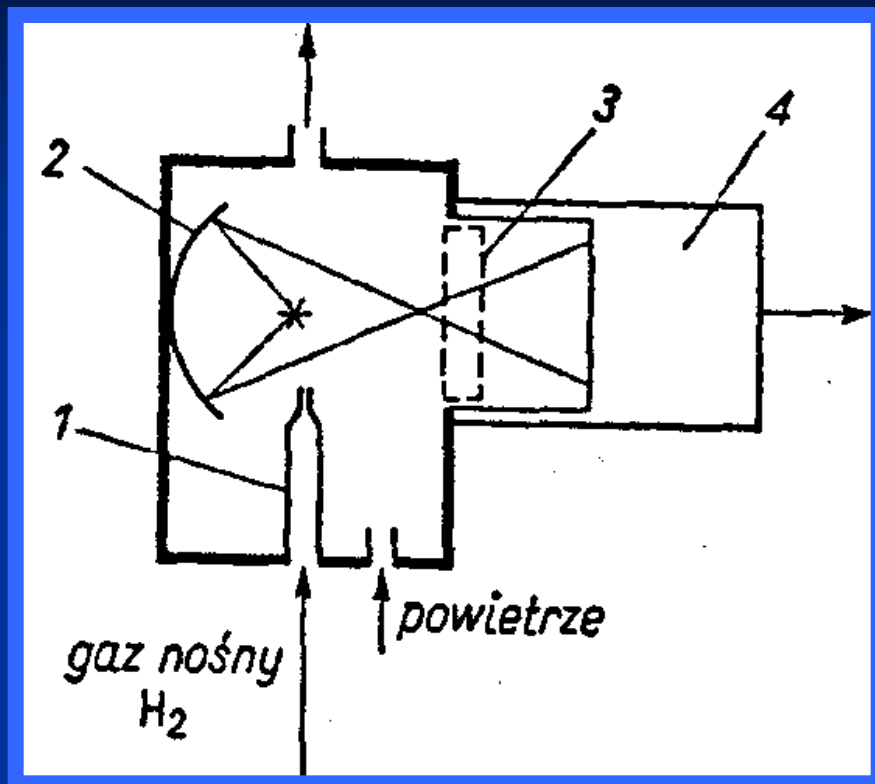
jony dodatnie i elektrony "zbierane" są przez elektrody. W ten sposób tworzy się prąd tła o natężeniu 10^{-8}A . Wprowadzone do detektora badane związki o stosunkowo dużym powinowactwie elektronowym wychwytyują wolne elektrony według schematu:



Jony ujemne rekombinując z jonami dodatnimi gazu nośnego powodują spadek prądu tła. Sygnał detektora zależy od stężenia badanego składnika w gazie nośnym. Jest to detektor selektywny charakteryzujący się dużą czułością na halogenozwiązki. Jest on stosowany głównie do oznaczania chlorowcopestycydów. Wykrywalność tego detektora jest rzędu 10^{-14}g/ml .



Detektor płomieniowo-emisyjny



- 1-palnik,
- 2-lustro,
- 3-filtr optyczny,
- 4-fotopowielacz.

(ang. FPD - Flame Photometric Detector). Zasadniczym elementem tego detektora jest palnik wodorowy zasilany (1) wodorem, powietrzem i gazem nośnym z kolumny (jak w detektorze płomieniowo-jonizacyjnym). Dalsze elementy tego detektora to lustro (2) skupiające promienie świetlne (emitowane przez płomień wodorowy) na filtrze optycznym (3) oraz fotopowielacz (4). Sygnał tego detektora zależy od masy badanego składnika. W zależności od konstrukcji detektor ten może być selektywny, gdy jest wyposażony w filtr przepuszczający tylko wybraną linię, lub nieselektywny, gdy wszystkie linie emitowane przez płomień padają na fotokatodę fotopowielacza. Dobierając odpowiedni filtr, można więc uczulić detektor na wybrany związek.

Na przykład do detekcji związków siarki stosuje się detektor z filtrem przepuszczającym linię o długości 394 nm., a do detekcji związków fosforu - detektor z filtrem przepuszczającym linię o długości 526 nm.

Detektory jakościowe

Do najczęściej stosowanych należą spektrometry masowe, spektrofotometry IR i spektrometry NMR.

GS-MS – obecnie jeden z najpopularniejszych zestawów analitycznych

Detekcja chemiczna w oparciu o reakcje charakterystyczne

Przynależność do grup związków chemicznych poszczególnych składników rozdzielonej mieszaniny można określić na podstawie barwnych reakcji chemicznych charakterystycznych dla określonych grup funkcyjnych.

ZASTOSOWANIA CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

W chemii analitycznej chromatografia gazowa jest stosowana głównie do identyfikacji i ilościowego oznaczania składników mieszaniny.

ANALIZA JAKOŚCIOWA

- Analiza jakościowa w chromatografii gazowej opiera się na danych retencyjnych.
- Przeprowadza się ją najczęściej porównując dane retencyjne związków badanych z danymi retencyjnymi związków wzorcowych.
- Najprostszym problemem jakościowym polega na potwierdzeniu lub wykluczeniu obecności określonego związku w analizowanej mieszaninie. W tym celu wykonuje się w identycznych warunkach chromatogram substancji wzorcowej i badanej. Jeżeli na chromatogramie substancji badanej nie występuje pik o czasie retencji równym czasowi retencji substancji wzorcowej, dowodzi to nieobecności związku wzorcowego w badanej próbce. Jeżeli na chromatogramie substancji badanej występuje taki pik to obecność związku wzorcowego w próbce nie jest przesądzona w sposób definitywny, gdyż wiele związków należących do różnych klas chemicznych może mieć identyczny lub prawie identyczny czas retencji.
- Identyfikację należy potwierdzić przez powtórzenie analizy na innej kolumnie.

Identyczność czasów retencji substancji nieznannej i związku wzorcowego na dwóch różnych kolumnach uważa się za dowód identyczności tych dwóch substancji.

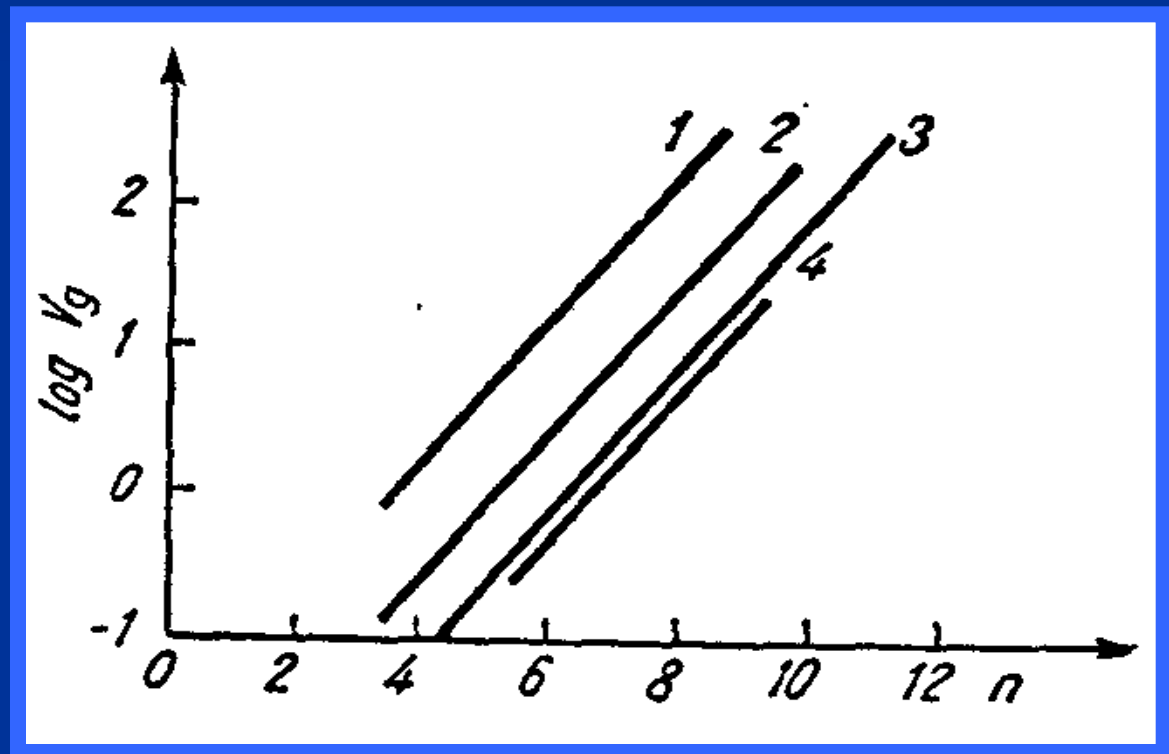
ANALIZA JAKOŚCIOWA

Do identyfikacji mieszanin wykorzystuje się między innymi:

1. wykresy logarytmiczne przedstawiające liniową zależność logarytmu objętości retencji od liczby atomów węgla w szeregu homologicznym.

Zależność logarytmu objętości retencji V_g od liczby atomów węgla (na grafitowanej sadzy technicznej w temp. 150°C):

- 1-n-kwasy,
- 2-n-alkohole,
- 3-n-alkany,
- 4-n-alkilobenzeny.



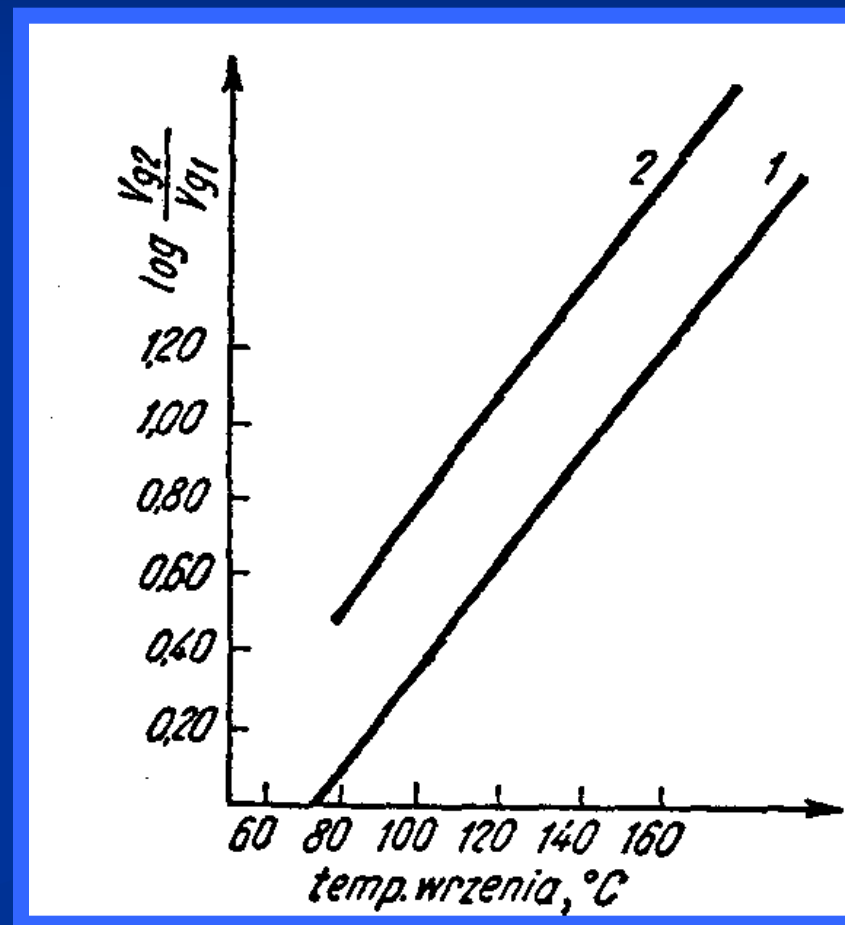
ANALIZA JAKOŚCIOWA

2. wykresy logarytmiczne przedstawiające liniową zależność logarytmu objętości retencji od temperatury wrzenia związków szeregu homologicznego.

Zależność logarytmu objętości retencji od temperatury wrzenia:

- 1 - węglowodorów alifatycznych
- 2 - węglowodorów aromatycznych.

Z wykresów tych można odczytać skład mieszaniny danego szeregu homologicznego lub temperaturę wrzenia, odpowiadającą identyfikowanemu związkowi



ANALIZA JAKOŚCIOWA

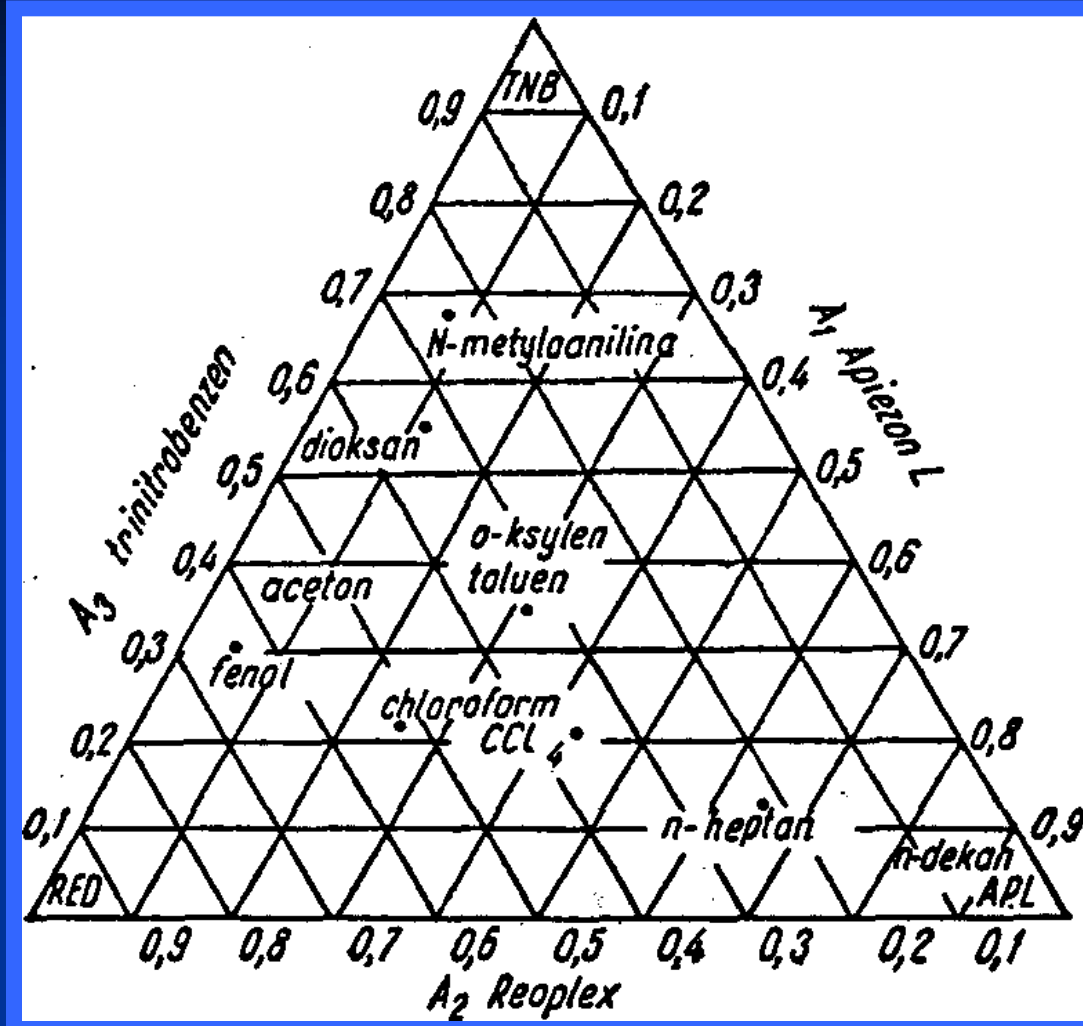
3. Wykresy trójkątne.

W metodzie tej do identyfikacji mieszanin złożonych stosuje się trzy różne ciekłe fazy stacjonarne: niepolarną i dwie polarne, z których jedna pełni rolę donora, a druga akceptora elektronów. Uzyskane na tych trzech wypełnieniach czasy retencji t_R' przelicza się następnie na ułamki retencji:

$$F_n = \frac{t_{R_n}}{t_{R_n} + t_{R_d} + t_{R_a}} \quad F_d = \frac{t_{R_n}}{t_{R_n} + t_{R_d} + t_{R_a}}$$

$$F_a = \frac{t_{R_n}}{t_{R_n} + t_{R_d} + t_{R_a}}$$

gdzie indeksy n, d, a oznaczają kolejno fazę ciekłą niepolarną, polarną donorową, polarną akceptorową. Ułamki te nanosi się na wykres trójkątny



Trójkątny wykres retencyjny APL - Apiezon, TNB 1,3,5 trinitrobenzen, REO - Reoplex 400)

ANALIZA ILOŚCIOWA

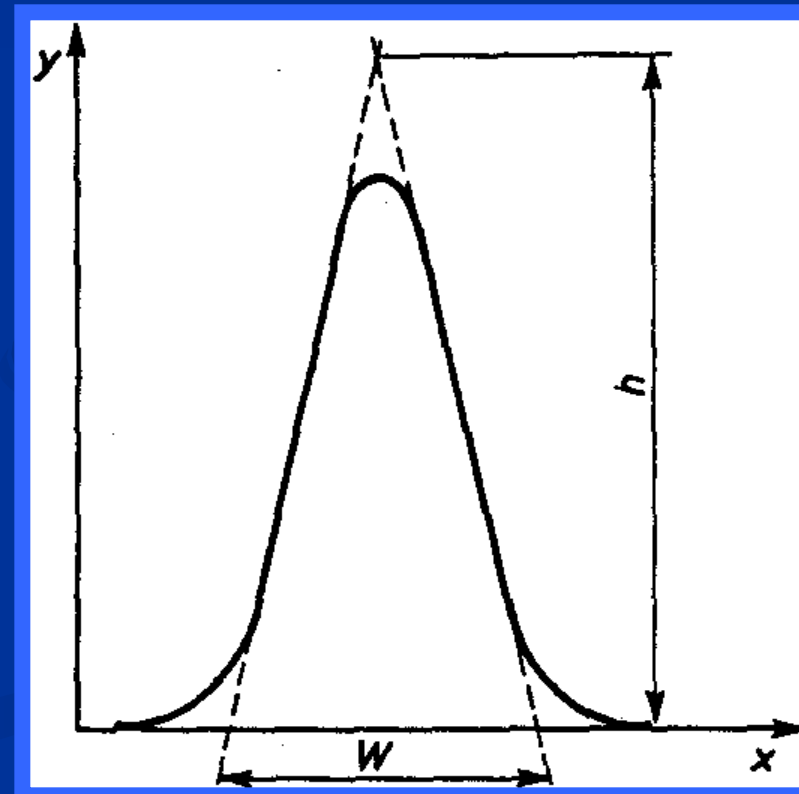
Analiza ilościowa jest oparta na liniowej zależności między sygnałem detektora (powierzchnią piku) a stężeniem substancji badanej w gazie nośnym. Powierzchnia piku jest proporcjonalna do ilości oznaczanej substancji.

Sposób pomiaru powierzchni piku metodą trójkąta

1. Metody geometryczne

metoda trójkąta

Metodą bardzo prostą, ale dającą tylko przybliżoną wartość powierzchni piku, jest metoda trójkąta. W celu obliczenia powierzchni piku A konstruuje się trójkąt, a następnie mnoży się długość podstawy przez połowę wysokości trójkąta. Metoda ta jest obarczona błędami związanymi z wykreślaniem stycznych w punktach przegięcia.



Metoda połowy wysokości

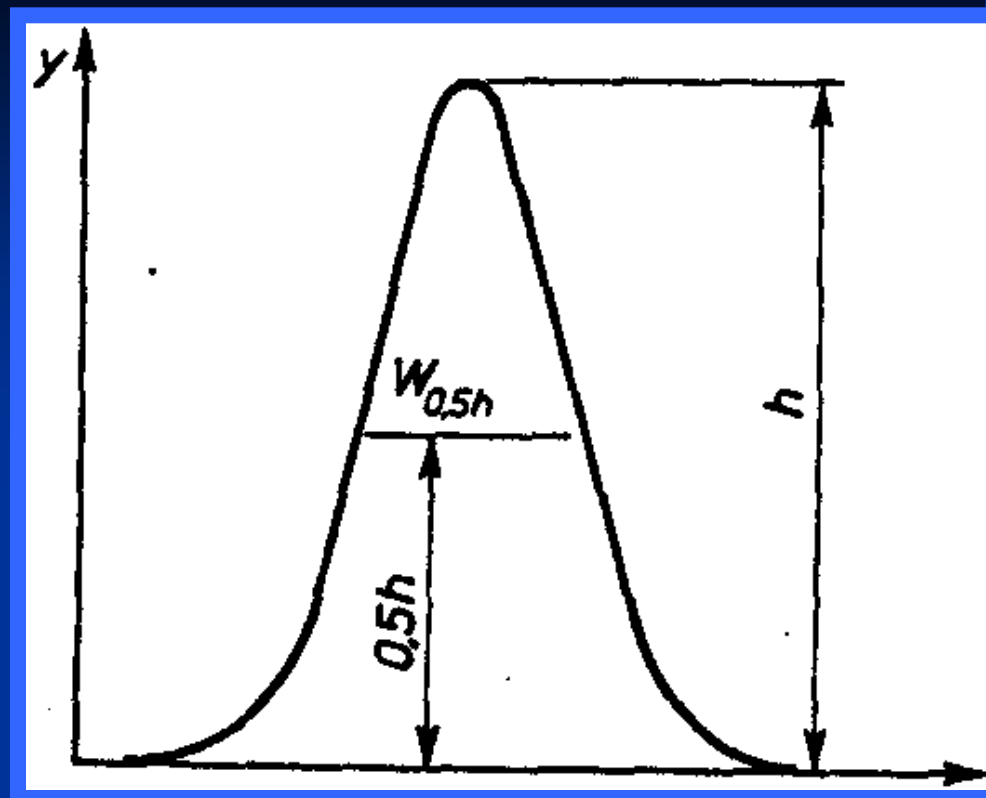
Wyniki bardziej zbliżone do rzeczywistych uzyskuje się mnożąc wysokość pików przez jego szerokość w połowie wysokości. Wyniki bardziej zbliżone do rzeczywistych uzyskuje się mnożąc wysokość pików przez jego szerokość w połowie wysokości

Metoda w oparciu o krzywą Gaussa

W przypadku gdy pik ma kształt krzywej Gaussa, powierzchnię pików A określa równanie:

$$A = 2,507 h \delta$$

gdzie: h - wysokość pików, δ - odchylenie standardowe; szerokość pików mierzona w odległości $0,882 h$.



2. Metody planimetryczne.

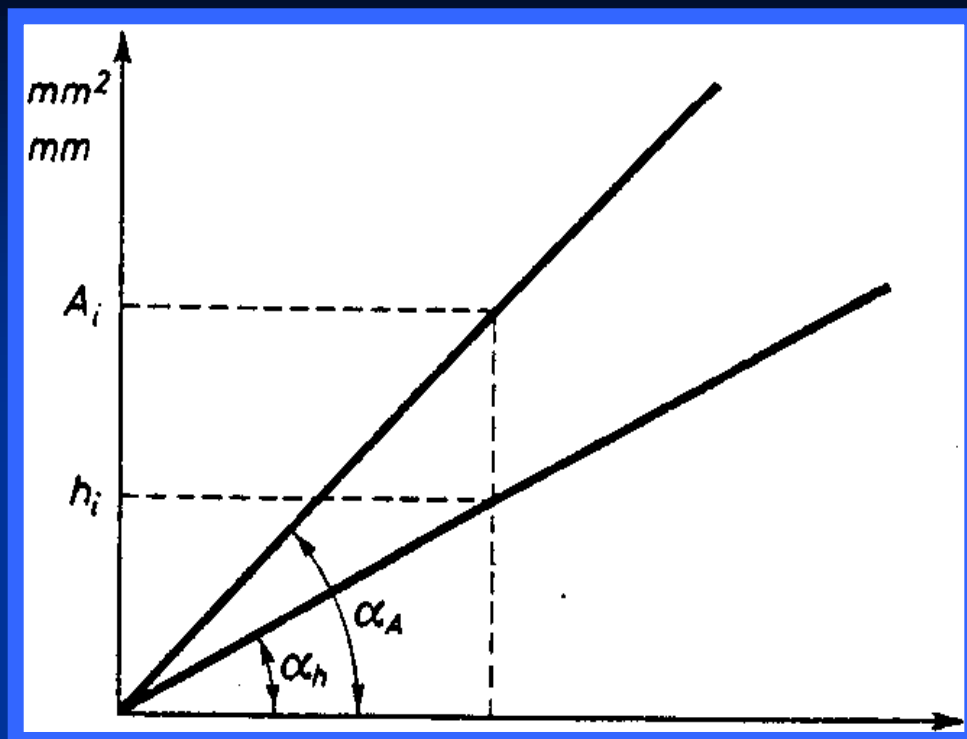
Planimetr jest urządzeniem mechanicznym, pozwalającym na pomiar powierzchni o nieregularnych kształtach. Dokładność pomiaru zależy od wielkości mierzonej powierzchni, która nie może być zbyt mała.

3. Zastosowanie integratorów.

Integratory umożliwiają określenie powierzchni pików bez względu na ich kształt i wielkość. Dzielimy je na elektroniczne, elektromechaniczne i mechaniczne. Integratory elektroniczne automatycznie rejestrują wielkości powierzchni pików i odnotowują odpowiadające im czasy retencji. Wyniki te drukowane są na taśmie papierowej, a błąd oznaczenia powierzchni nie przekracza 1%.

4. Metoda kalibracji

Procentową zawartość składnika w analizowanej próbce oblicza się metodą kalibracji, normalizacji wewnętrznej lub metodą wzorca wewnętrznego. Metodą kalibracji oznaczamy zawartość tylko jednego interesującego nas składnika mieszaniny, a nie zajmujemy się pikami pochodzącymi od innych składników mieszaniny.



Krzywe kalibracyjne przedstawiające zależność powierzchni A i wysokości h pików od liczby gramoty G chromatografowanego składnika.

Na kolumnę dawkuje się znane ilości oznaczanego związku, zwiększając stopniowo wielkość próbek. Następnie oblicza się powierzchnie kolejnych pików lub mierzy ich wysokości. Na tej podstawie sporządzamy wykres zależności $A(h)$ od ilości dawkowanego związku. Z otrzymanej krzywej kalibracyjnej można odczytać bezwzględną ilość G oznaczanego składnika w badanej próbce. Krzywe kalibracyjne, przedstawiają zależność powierzchni A (wysokości h) pików od ilości G chromatografowanego składnika.

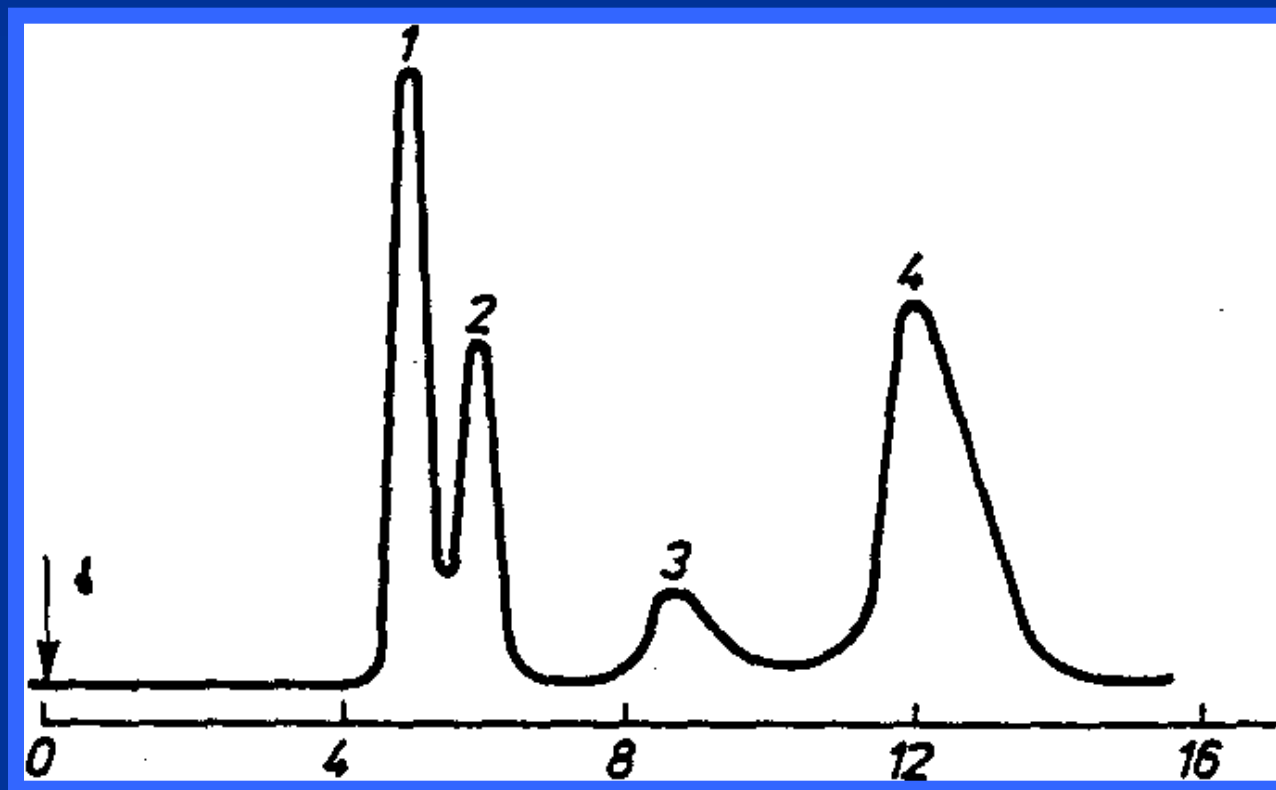
Metoda dodatku wzorca

W metodzie dodatku wzorca można wyróżnić dwa przypadki:

- 1) wzorcem jest związek, którego nie ma w analizowanej próbce (metoda wzorca wewnętrznego). Analiza ilościowa tą metodą polega na tym, że do znanej ilości badanej próbki dodajemy znaną ilość wzorca wewnętrznego i wykonujemy chromatogram. Pik wzorca wewnętrznego powinien być położony możliwie blisko piku oznaczanego składnika.
- 2) wzorcem jest związek oznaczany. W tej metodzie wykonujemy dwa chromatogramy- pierwszy analizowanej próbki, drugi analizowanej próbki z dodatkiem znanej ilości substancji oznaczanej.

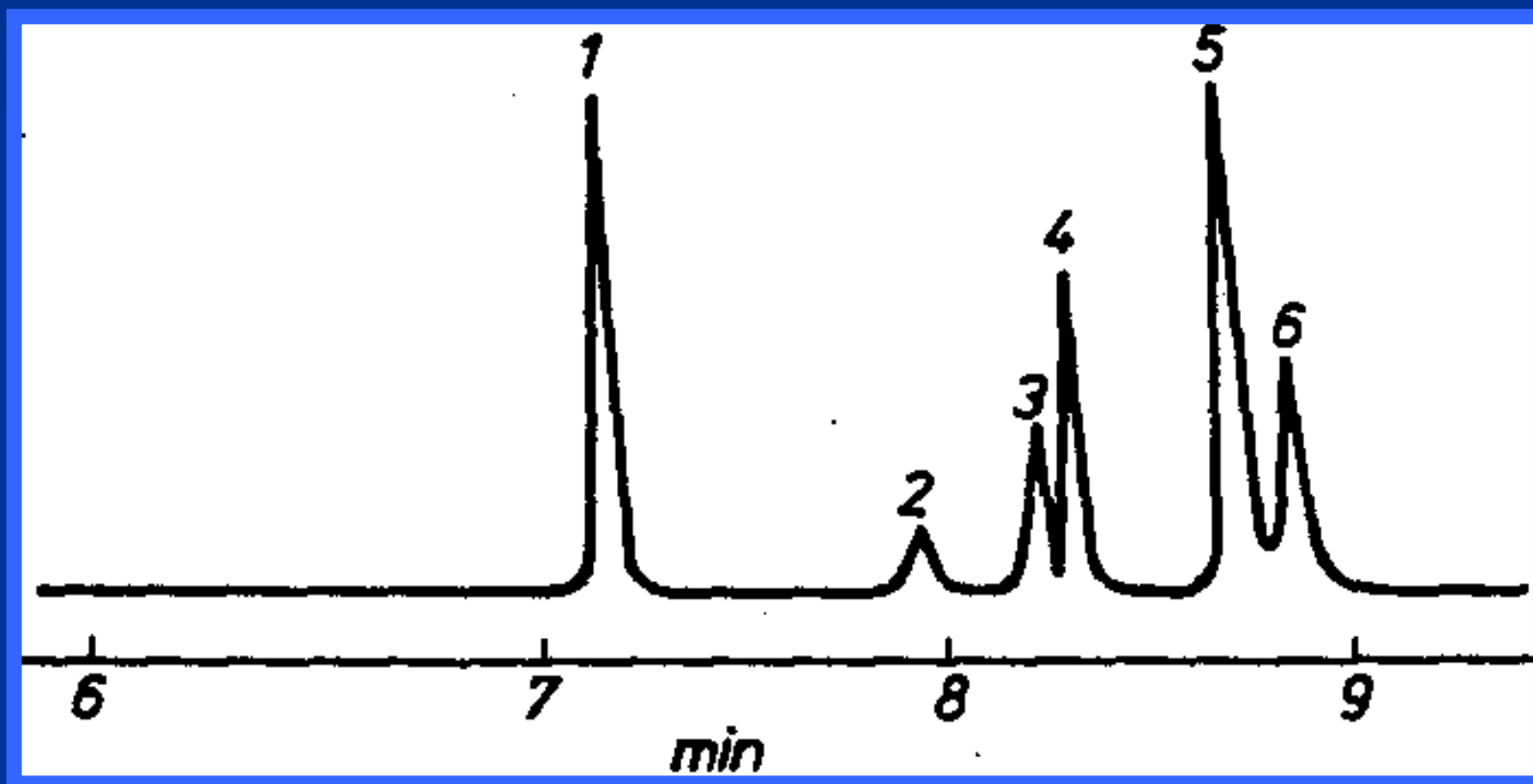
PRZYKŁADY:

Chromatogram butylobenzenów (na kolumnie 100x50cm wypełnionej grafitowaną sadzą techniczną w temp. 208°C, prędkość przepływu gazu nośnego – helu 40cm³/min, detektor- katarometr):
1-III-rzędowy butylobenzen, 2-II-rzędowy butylobenzen,
3- izobutylobenzen, 4-n- butylobenzen.



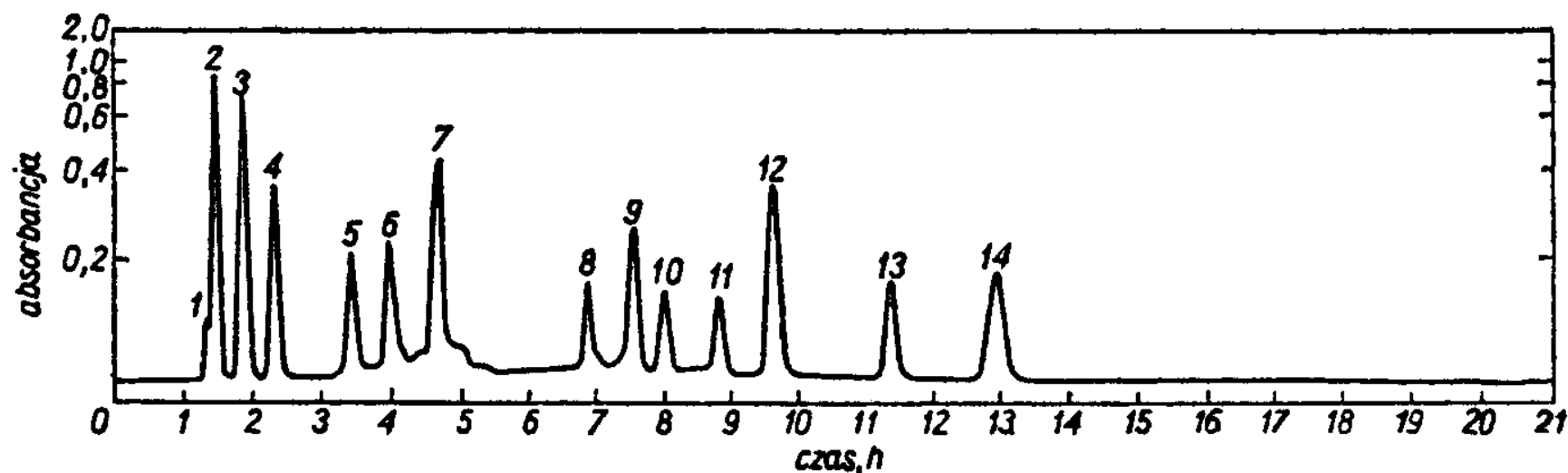
PRZYKŁADY:

Chromatogram mieszaniny izotopów i izomerów wodoru (na szklanej kolumnie kapilarnej 80m x 0,27mm z porowatą warstwą adsorpcyjną, temp 125°C, gaz nośny- neon): 1 - He, 2 - p-H₂, 3 - o-H₂, 4 - HD, 5 - o-D₂, 6 - p-D₂.

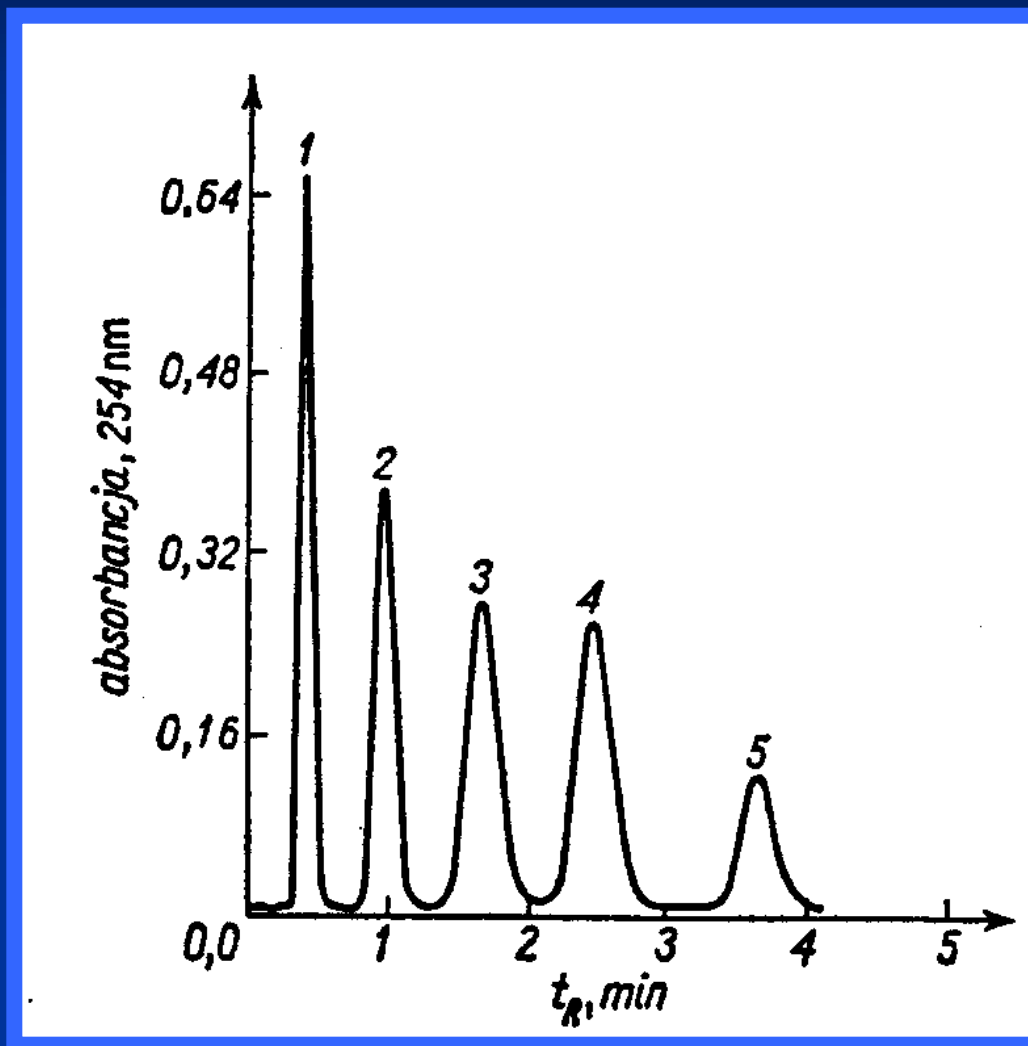


PRZYKŁADY:

Rozdział 14 węglowodanów na kolumnie wypełnionej silnie zasadowym anionitem Aminex A-27: 1 - sacharoza, 2 - dezoksyroboza, 3 - rafinoza, 4 - celobioza, 5 - maltoza, 6 - laktoza, 7 - ramnoza, ryboza, 8 - mannoza, 9 - fruktoza, 10 - arabinoza, 11 - galaktoza, 12 - sorboza i ksyloza, 13 - glukoza, 14 - melibioza ($\lambda = 481\text{nm}$)



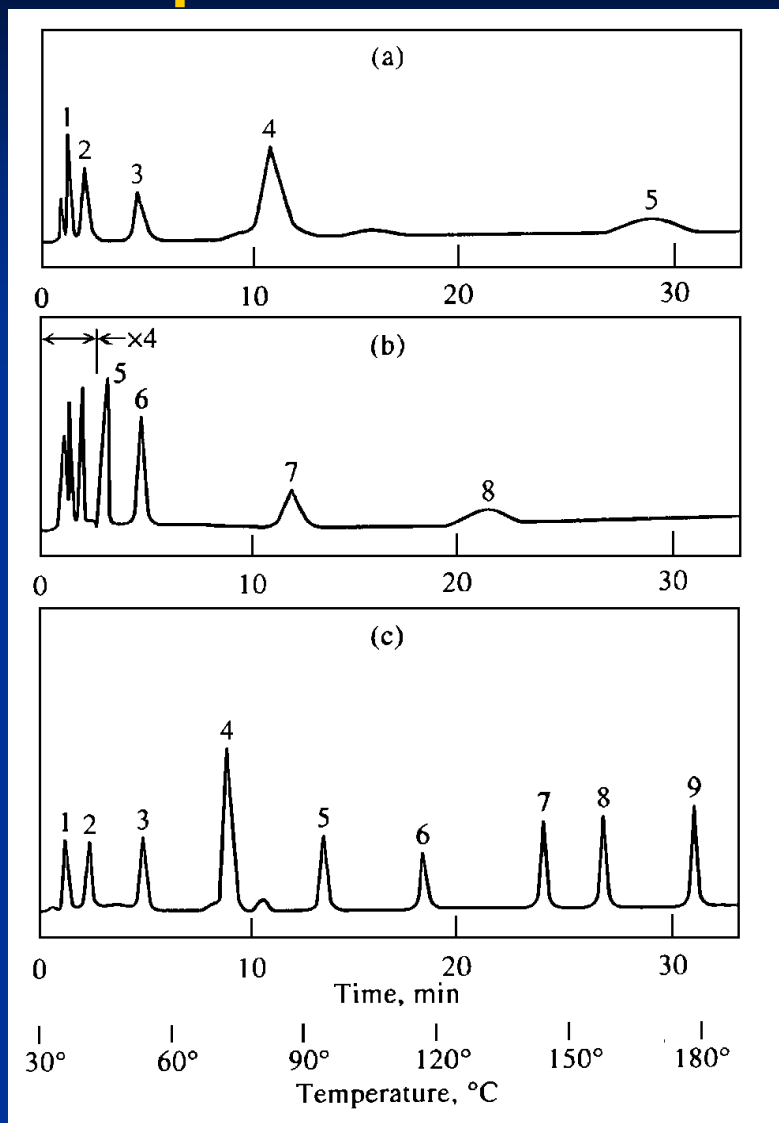
PRZYKŁADY:



Rozdziął pięciu nukleozydów na kolumnie wypełnionej silnie kwaśnym kationem:

1-urydina,
2-inozyna,
3-guanozyna,
4-adenozyna,
5-cytydina

Temperatura



Trudności w rozdziale składników różniących się temperaturami wrzenia

(a) – niska temperatura (45°C) – dobra rozdzielczość początkowych sygnałów – zbyt wolna dla późniejszych

(b) – wyższa temperatura (145°C) – szybsza lecz zbyt słaba rozdzielczość dla początkowych składników

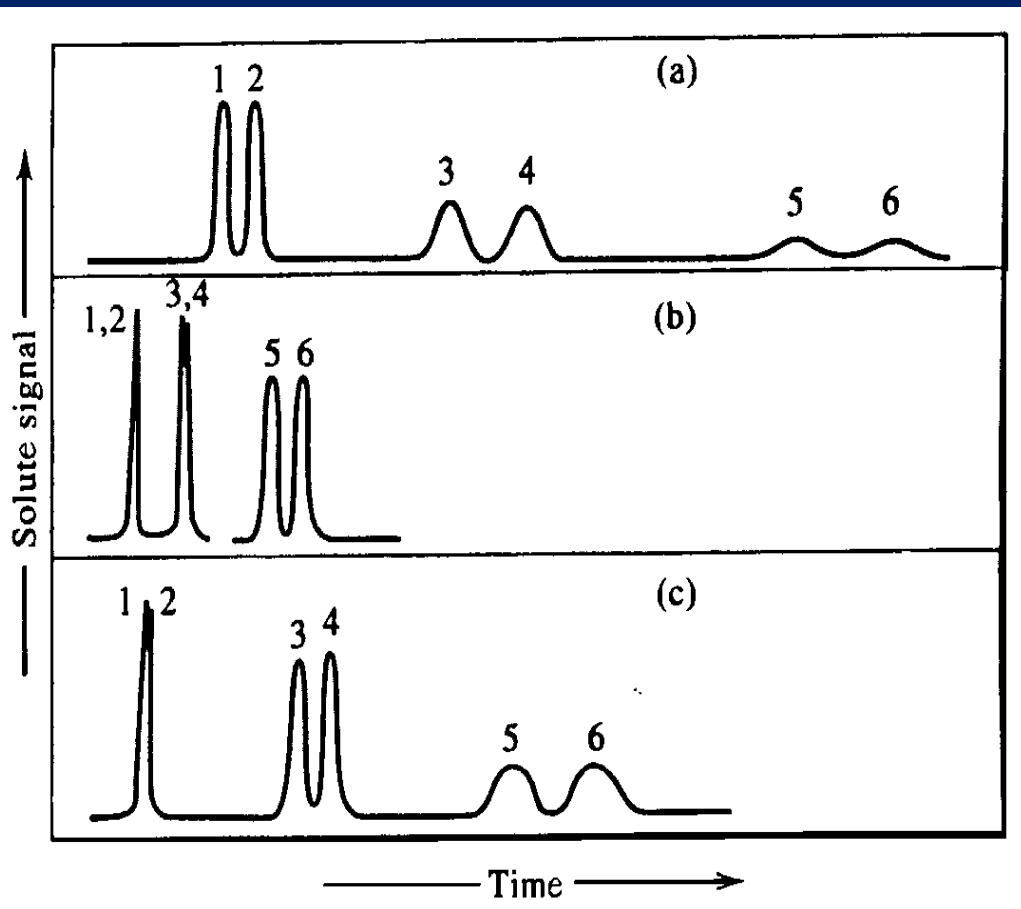
Reguła:

najlepszy rozdział w temperaturze zbliżonej do temperatury wrzenia analitu

(c) w przypadku szerokiego zakresu punktów wrzenia składników znajdujących się w próbce sample Najlepszą rozdzielczość uzyskuje się dzięki

programowaniu temperatury

Trudności w rozdziale składników różniących się współczynników podziału



(a) – warunki optymalne dla 1 i 2 –
lecz zbyt długie czasy retencji dla 5 i 6.

(b) – warunki optymalne dla 5 i 6 –
lecz składniki 1-4 nierozdzielone

**(c) - rozwiązaniem jest
programowanie elucji**

Podsumowanie

- Chromatografia gazowa jest jedną z nielicznych metod analitycznych, umożliwiających w jednym procesie analizę jakościową złożonej mieszaniny oraz ilościowe oznaczenie jej składu.
- Umożliwia ona rozdział i identyfikację mieszanin, zawierających nawet kilkaset składników (np., na kolumnie kapilarnej rozdzielono i zidentyfikowano ok. 250 składników benzyny), podczas gdy inne metody instrumentalne dają możliwość ilościowego określania składu mieszanin zawierających tylko kilka składników.
- Ze względu na selektywność do rozdzielenia mieszanin metoda chromatografii gazowej wystarczają drobne różnice w budowie lub właściwościach fizycznych rozdzielanych substancji.
- Metoda chromatografii gazowej znalazła szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach chemii. Stosuje się ją do: identyfikacji związków, ilościowego oznaczania składników w próbce, automatyzacji procesów technologicznych w przemyśle, wyznaczania niektórych stałych fizykochemicznych (np., współczynników aktywności, entropii i ciepła właściwego roztworów, masy molowej, współczynników dyfuzji gazów, ciepła i entropii adsorpcji, powierzchni właściwych ciał stałych, stałych równowagi różnych reakcji chemicznych) oraz badania kinetyki reakcji katalitycznych i kinetyki adsorpcji i innych