

Chemia Analityczna

Chromatografia

Tłumaczyła: inż. Karolina Hierasimczyk

Korekta:

dr hab. inż. Waldemar Wardencki, prof. nadzw. PG

prof. dr hab. inż. Jacek Namieśnik

Część III

Kolumny kapilarne do chromatografii gazowej.

Katedra Chemii Analitycznej

Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
2002

SPIS TREŚCI

Wprowadzenie

1. Co to jest chromatografia ?

- 1.1. Proces chromatograficzny
- 1.2. Podział metod chromatograficznych
- 1.3. Co to jest chromatografia gazowa?

2. Terminy i definicje

- 2.1. Czas retencji (t_R)
- 2.2. Współczynnik retencji (k)
- 2.3. Indeks retencji (I)
- 2.4. Współczynnik rozdzielenia
- 2.5. Teoretyczna liczba pól (N) lub sprawność kolumny
- 2.6. Rozdzielczość (R_S)
- 2.7. Stosunek faz (β)

3. Kolumny kapilarne do chromatografii gazowejIII/3

3.1. Fazy stacjonarneIII/6

3.1.1. PolisiloksanyIII/6

3.1.2. Glikole polietylenoweIII/14

4. Gazy nośne

5. Dozowniki

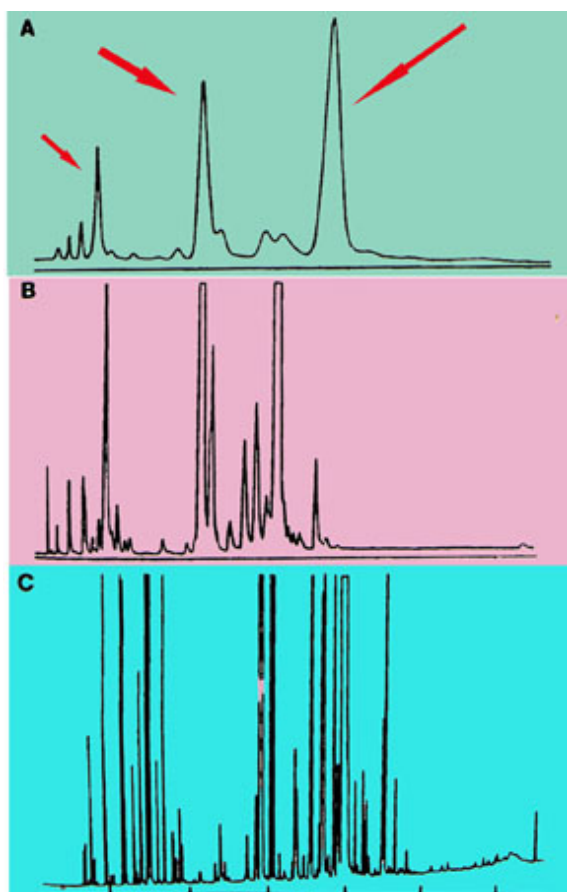
- 5.1. Dozowniki wykorzystujące odparowanie
- 5.2. Dyskryminacja związków dozowanych
- 5.3. Opłukiwanie membrany
- 5.4. Dozowanie na kolumnę typu „Megabore”
- 5.5. Dozowniki z dzieleniem strumienia gazu (*split*)
- 5.6. Dozownik bez podziału strumienia gazu

6. Detektory w GC

- 6.1. Detektor ciepłno-przewodnościowy (TCD)
- 6.2. Detektor płomieniowo – jonizacyjny (FID)
- 6.3. Detektor wychwytu elektronów (ECD)
- 6.4. Detektor azotowo fosforowy (NPD)
- 6.5. Detektor płomieniowo – fotometryczny (FPD)
- 6.6. Detektor fotojonizacyjny (PID)
- 6.7. Spektrometr mas (MS)

7. Analiza ilościowa

3. Kolumny do chromatografii gazowej: kolumna pakowana w stosunku do kolumny kapilarnej



Optymalne rozdzielanie olejku miętowego na (A) 182,8 cm x 0,63 cm – średnica wewnętrzna kolumny pakowanej, (B) 50-m x 0,25-mm -średnica wewnętrzna kolumny kapilarnej ze stali nierdzewnej, i (C) 50-m x 0,25-mm – średnica wewnętrzna szklanej kolumny kapilarnej. W każdej z kolumn fazą stacjonarną był Carbowax 20M;

Porównanie kolumn kapilarnych (ciecz naniesiona na wewnętrzną ściankę) i kolumn pakowanych

-	Pakowane	Kapilarne
Długość (m)	1 - 5	5 - 60
Średnica wewnętrzna (mm)	2 - 4	0.10 - 0.53
Półki / metr	1000	5000
Całkowita ilość półek	5000	1,000,000
Rozdzielczość	niska	wysoka
Natężenie strumienia gazu nośnego (mL/min)	10 - 60	0,5 - 15
Przenikalność (10^7 cm^2)	1 - 10	10 - 1000
Pojemność	10 μg / pik	<100 ng / pik
Grubość warstwy stacjonarnej (μm)	10	0.1 - 10

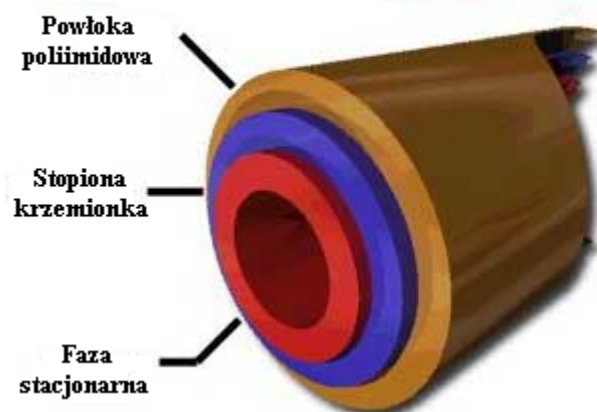
Kolumny Kapilarne do chromatografii gazowej

Najbardziej podstawowo kolumna kapilarna obejmuje dwie części – rurkę i fazę stacjonarną (rysunek 2)

Rysunek 2. Kolumny kapilarne do chromatografii gazowej



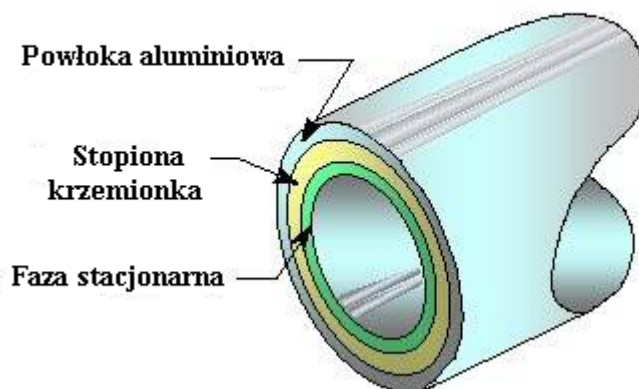
Stopiona krzemionka pokryta poliimidem



Kolumna ze stali nierdzewnej



Stopiona krzemionka pokryta powłoką aluminiową



Stopiona krzemionka (*fused silica*) i stal nierdzewna stanowią podstawowe materiały odpowiednie do wyrobu kolumn. Istnieją liczne fazy stacjonarne, w większości są to związki wielkocząsteczkowe, termicznie stabilne polimery, w formie cieczy lub żywic. Najbardziej powszechnymi fazami stacjonarnymi tego typu są polisiloksany (czasem niewłaściwie nazywane krzemianami) i glikol polietylenu. Innym powszechnym typem fazy stacjonarnej są małe, porowate cząstki zbudowane z polimerów lub zeolitów (np. tlenek glinowy, sita molekularne).

Stopiona krzemionka jest syntetycznym kwarcem o wysokiej czystości. Na powierzchnię zewnętrzną nakłada się powłokę ochronną z poliimidu, która jest najbardziej powszechnym materiałem nadającym się na powłoki. Powłoka poliimidowa odpowiedzialna jest za brązowy kolor kolumny kapilarnej ze stopionej krzemionki. Kolor powłoki poliimidowej często różni się pomiędzy kolumnami. Kolor kolumny, nie wpływa jednak na

chromatograficzne zachowanie się kolumny. Kolumny pokryte poliimidem często czernieją, gdy przedłużona jest ekspozycja w wysokiej temperaturze. Górna granica temperatury kolumny wykonanej ze stopionej krzemionki pokrytej standardowym poliimidem wynosi 360⁰C. Wysokotemperaturowy poliimid umożliwia pracę w 400⁰C.

Wewnętrzna powierzchnia kolumny wykonanej z topionej krzemionki jest chemicznie dezaktywowana aby zmniejszyć oddziaływania pomiędzy próbką a kolumną. Zastosowany proces oraz reagenty zależą od typu fazy stacjonarnej pokrywającej kolumnę. Dla większości kolumn stosuje się proces siliowania. Grupy silanowe (Si–OH) na powierzchni kolumny przereagowują z reagentem typu silan. Zazwyczaj, dla większości kolumn tworzone są powierzchnie z grupami metylowymi lub powierzchnie typu fenylometylosililowe.

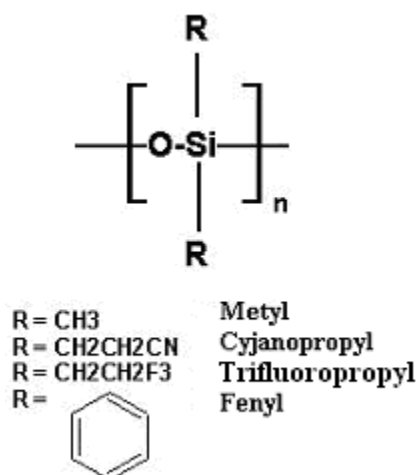
Kolumny kapilarne ze stali nierdzewnej stosowane są w przypadkach wymagających bardzo wysokich temperatur. Kolumny ze stali nierdzewnej są bardziej trwałe niż kolumny poliimidowe, dlatego są stosowane w sytuacjach, w których musi być wyeliminowana możliwość jej złamania. Stal nierdzewna oddziałuje z wieloma związkami, dlatego jest odpowiednio traktowana w celu minimalizacji takich niepożądanych oddziaływań. Powierzchnia wewnętrzna jest chemicznie traktowana albo pokryta cienką warstwą stopionej krzemionki. Przy właściwym wykonaniu, obojętność kapilarnej kolumny nierdzewnej jest porównywalna z kolumną wykonaną ze stopionej krzemionki.

3.1. Fazy stacjonarne

3.1.1. Polisiloksany

Polisiloksany są najbardziej znanym typem faz stacjonarnych. Są one dostępne w największej różnorodności oraz są najbardziej trwałe, stabilne i wszechstronne. Standardowe polisiloksany charakteryzują powtarzające się łańcuchy siloksanowe (rysunek 3). Każdy atom krzemu zawiera dwie grupy funkcyjne. Typ i ilość grup pozwala rozróżnić każdą fazę stacjonarną i jej właściwości. Cztery najbardziej powszechne grupy wyszczególniono poniżej na rysunku 3.

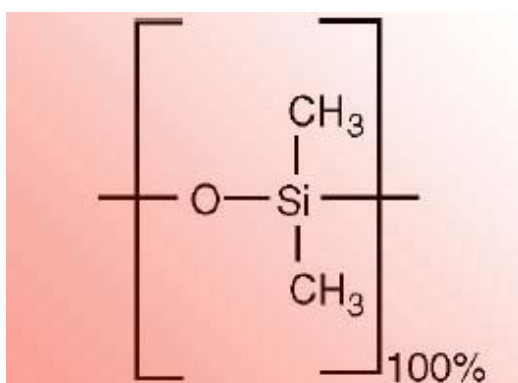
Rysunek 3. Polisiloksany



Najbardziej podstawowym polisiloksanem jest polisiloksan podstawiony w 100% grupami metylowymi. W obecności innych grup, ich ilość wskazana jest jako procent całkowitej liczby grup. Na przykład, 5% difenyl-95% dimetylopolisiloksan zawiera 5% grup fenylowych i 95% grup metylowych. Przedrostek "di-" wskazuje na to, że każdy atom krzemu zawiera dwa podstawniki z poszczególnej grupy. Czasami przedrostek ten jest pominięty nawet jeżeli występują dwie identyczne grupy. Jeżeli procentowość grup metylowych nie jest podana, traktujemy ją jako obecną w ilości niezbędnej do podstawienia w 100% (np. 50% fenylo-metylopolisiloksan zawiera 50% grup metylowych). Wartość procentowa cyjanopropylenu może być pominięta. 14% cyjanopropyl-fenylo-dimetylopolisiloksan zawiera 7% grup cyjanopropylowych i 7% fenylowych (z 86% metylowych). Grupy cyjanopropylowe i fenylowe znajdują się na tym samym atomie krzemu, dlatego ich ilość jest podana łącznie.

Struktury i nazwy chemiczne różnych faz stacjonarnych

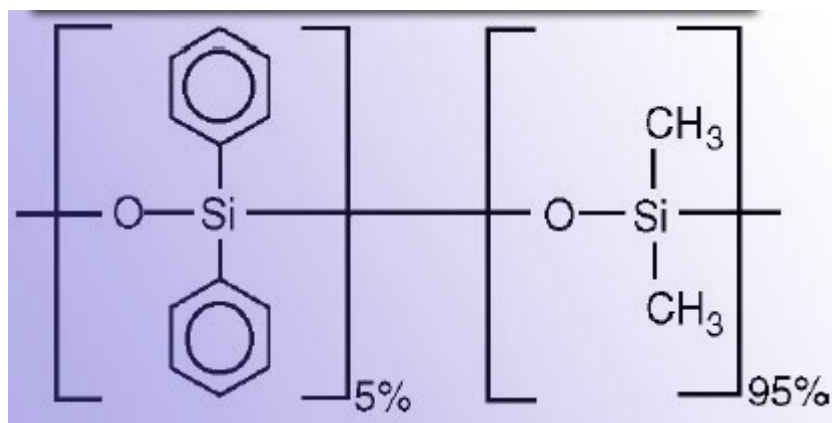
Poli(dimetylosiloksan)



Niepolarna faza związana. Zakres temperatury pracy: -60 °C – 320 °C. Chemicznie kompatybilna z wodą i innymi dozowanymi rozpuszczalnikami. Wrażliwa na silne

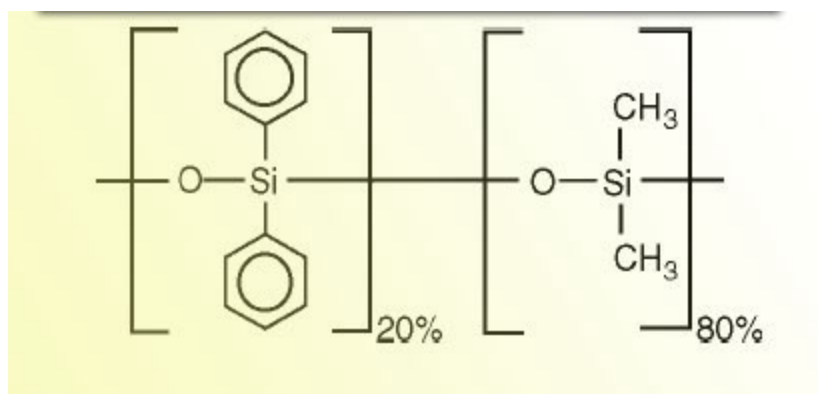
nieorganiczne kwasy i zasady ale trwała przy niskiej zawartości HCl w próbkach niewodnych. Odporna na działanie organicznych kwasów i zasad. Może być przemywana.

Poli(5% - difenylo – 95% dimetylosiloksan)



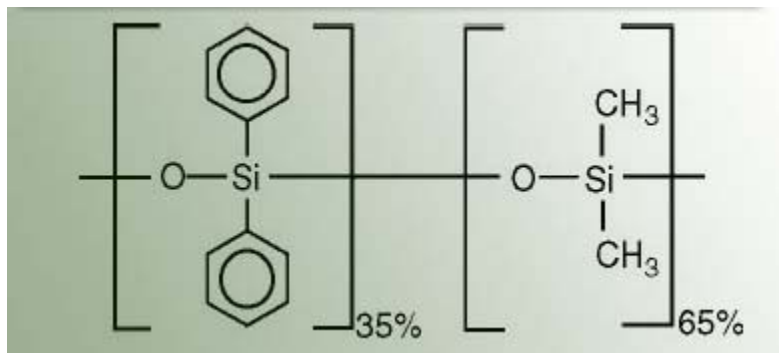
Pośrednia polarność fazy związanej. Zakres temperatury pracy: -60 °C – 320 °C. Chemicznie kompatybilna z wodą i innymi dozowanymi rozpuszczalnikami. Wrażliwa na silne nieorganiczne kwasy i zasady ale trwała przy niskiej zawartości HCl w próbkach niewodnych. Odporna na działanie organicznych kwasów i zasad. Może być przemywana.

Poli(20% difenylo- 80% dimetylosiloksan)



Niska polarność fazy związanej. Zakres temperatury pracy: poniżej temperatury otoczenia do 300°C. Chemicznie kompatybilna z wodą i innymi dozowanymi rozpuszczalnikami. Wrażliwa na silne nieorganiczne kwasy i zasady ale trwała przy niskim poziomie HCl w próbkach niewodnych. Odporna na działanie organicznych kwasów i zasad. Może być przemywana.

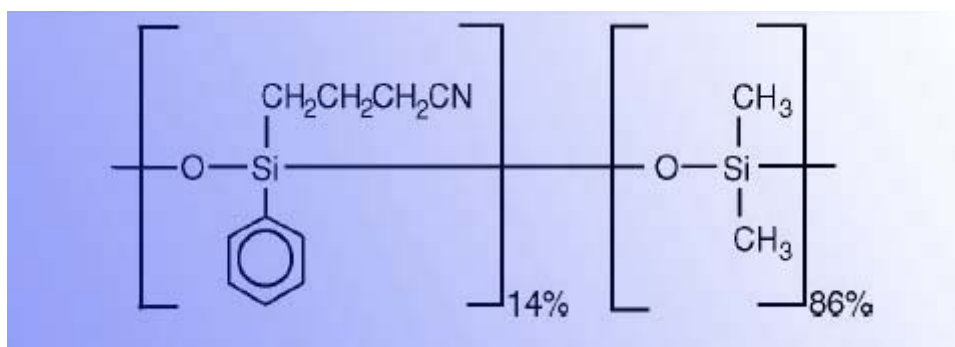
Poli(35% - difenylo- 65% dimetylosiloksan)



Pośrednia polarność fazy związanej.

Zakres temperatury pracy: poniżej temperatury otoczenia do 300⁰C.
Chemicznie kompatybilna z wodą i innymi dozowanymi rozpuszczalnikami. Wrażliwa na silne nieorganiczne kwasy i zasady ale trwała przy niskim poziomie HCl w próbkach niewodnych. Odporna na działanie organicznych kwasów i zasad. Może być przemywana.

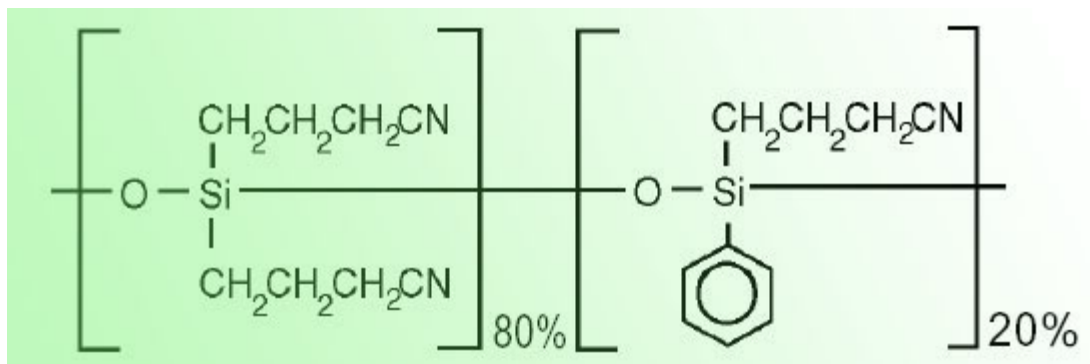
Poli (14% cyjanopropylofenyl – 86% dimetylosiloksan)



Pośrednia polarność fazy związanej.

Zakres temperatury pracy: poniżej temperatury otoczenia do 280⁰C. Obecność grupy cyjanowej sprawia, iż faza ta jest bardziej podatna na zniszczenia spowodowane tlenem, wilgoć i HCl niż inne fazy krzemionkowe. Kolumny mogą być przemywane.

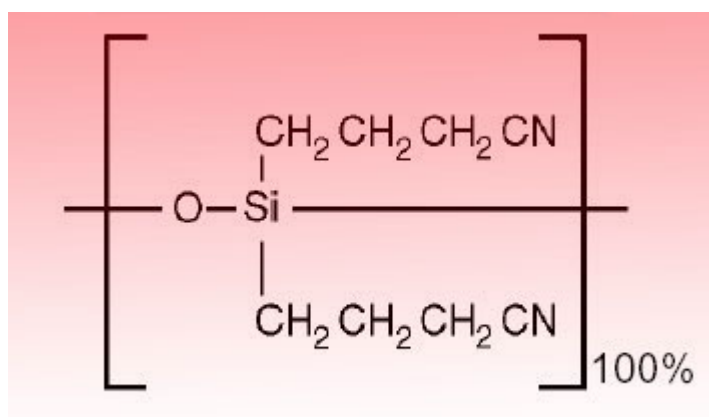
Poli (80-% biscyjanopropylo – 20% cyjanopropylofenylosiloksan) SP – 2330



Bardzo polarna faza niezwiązana.

Zakres temperatury pracy: poniżej temperatury otoczenia do 250 °C. Grupa cyjanowa sprawia, iż faza ta jest bardziej podatna na degradację przez tlen, wilgoć i HCl niż inne fazy krzemionkowe. Przy dozowaniu na kolumnę należy unikać rozpuszczalników takich jak woda i metanol. Kolumny nie mogą być przemywane.

Poli (biscyjanopropylosiloksan) SP - 2340

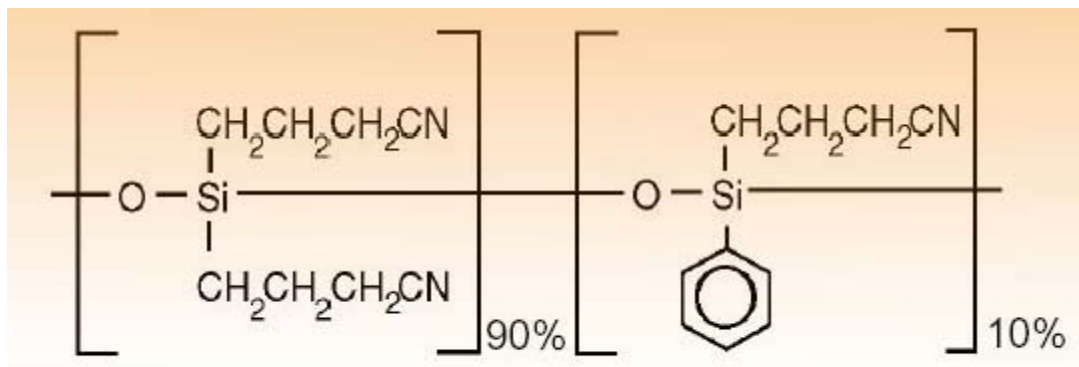


Bardzo polarna faza niezwiązana.

Zakres temperatury pracy: poniżej temperatury otoczenia do 250 °C. Grupa cyjanowa sprawia, iż faza ta jest bardziej podatna na degradację spowodowaną obecnością tlenu, wilgoci i HCl niż inne fazy krzemionkowe. Przy dozowaniu na kolumnę należy

unikając rozpuszczalników takich jak woda i metanol. Kolumny nie mogą być przemywane.

Poli (90% biscyjanopropylo – 10% cyjanopropylofenylosiloksan) SP - 2380

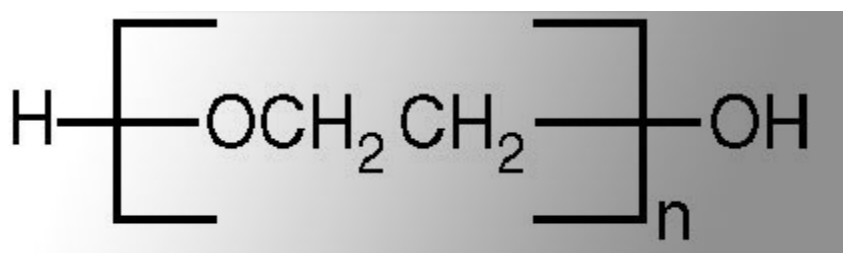


Bardzo polarna faz niezwiązana.

(znacznie bardziej trwała niż SP – 2330)

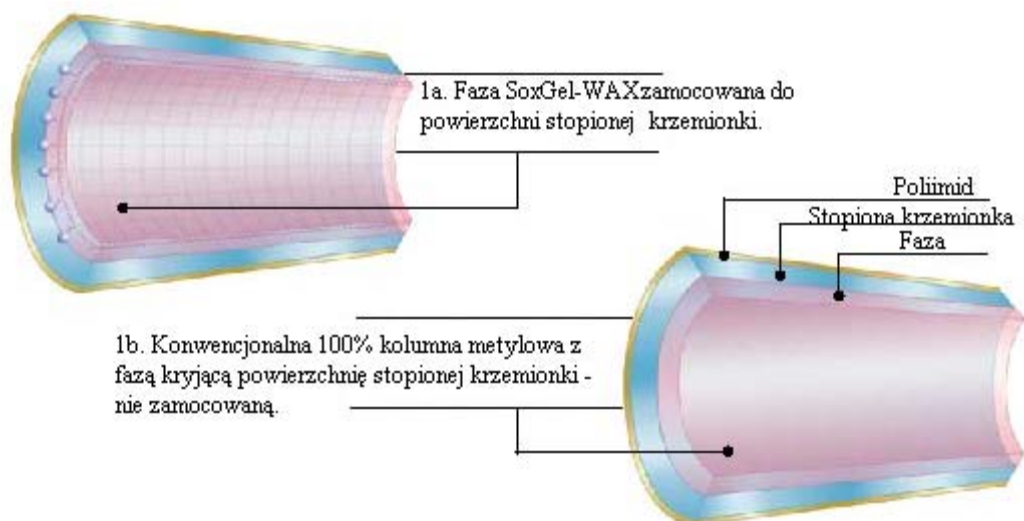
Zakres temperatury pracy: poniżej temperatury otoczenia do 275 °C. Grupa cyjanowa sprawia, iż faza ta jest bardziej podatna na degradację przez tlen, wilgoć i HCl niż inne fazy krzemionkowe. Przy dozowania na kolumnę należy unikać rozpuszczalników takich jak woda i metanol. Kolumny nie powinny być przemywane.

Glikol polietylenu

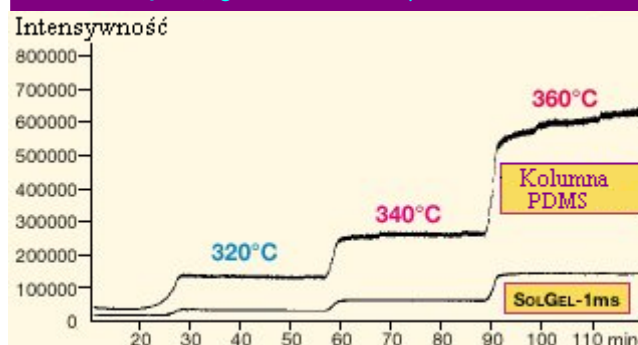


Pośrednia polarność fazy związanej.

Zakres temperatury pracy: 50 °C do 280 °C. Chemicznie kompatybilna z wodą i innymi dozowanymi rozpuszczalnikami.

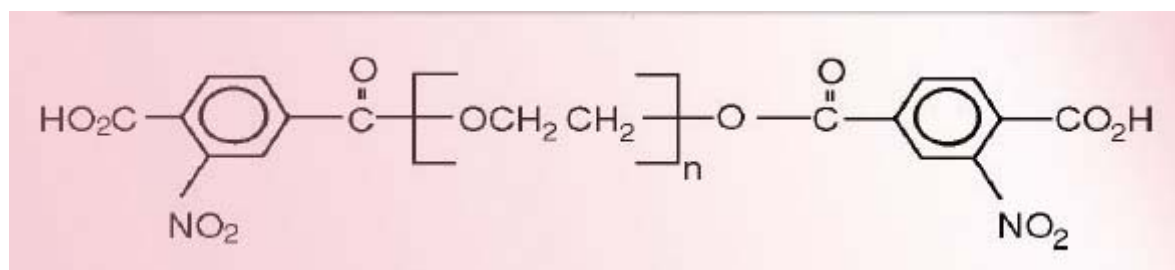


Chromatogramy przedstawiające upływ fazy z handlowych kolumn wytworzonych z poli(dimetylosiloksanu) PDMS (górze) i SolGel – 1ms (dół) przy zastosowaniu detektora selektywnego. Parametry obu kolumn 30m, 0.25 mm śred. wewnętrzna, grubość filmu 0.25 μm.



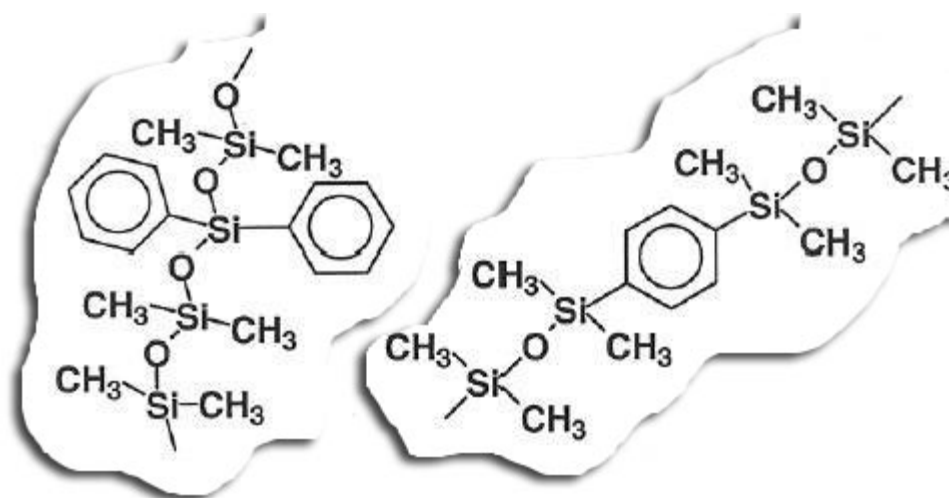
Kolumny SGE Carbowax

Glikol polietylenu modyfikowany kwasem nitrotereftalowym



Polarna faza związana. Zakres temperatury pracy: 60 °C – 200 °C (220 °C dla programu z krótkim czasem analizy). Chemicznie kompatybilna z wodą i innymi dozowanymi rozpuszczalnikami, ale rozpuszczalniki takie jak woda i metanol muszą odparować zanim dotrą do wlotu kolumny. (Należy unikać takich rozpuszczalników podczas dozowania na kolumnę). Wrażliwa na silne nieorganiczne kwasy. Kolumna może być przemywana.

Rysunek 5. Fazy z niewielkim upływem z kolumny (Arylen)



Konwencjonalna
95% - dimetylo – 5% difenilo
polisiloksan

Polimer Sveda
poli(tetrametylo – 1,4 – silfenylene
siloksan)

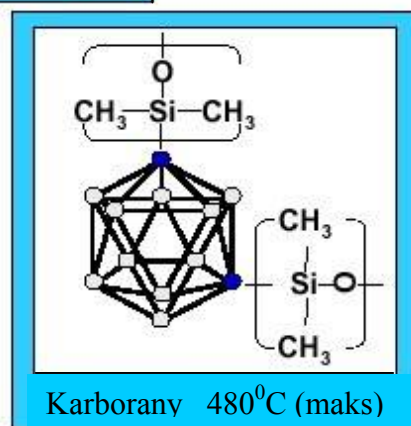
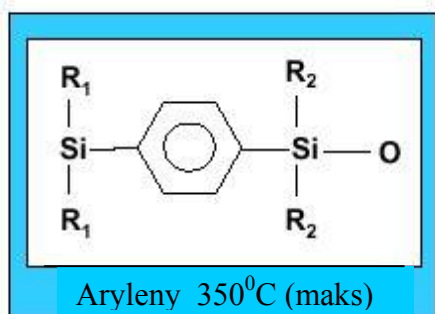
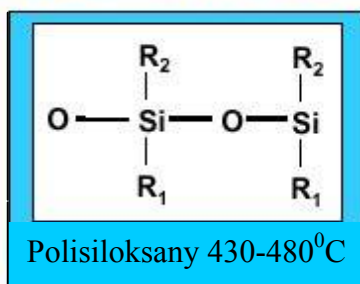
Możliwy jest wybór kolumn z niewielkim upływem fazy z kolumny lub typu „ms”. Wspomniane fazy stacjonarne wprowadzają podstawniki fenyłowe lub pokrewne do łańcucha polimeru siloksanu (rysunek 5). Fazy te powszechnie zwane są jako aryleny.

Grupy fenyłowe wzmacniają i usztywniają szkielet polimeru co przeciwdziała degradacji fazy stacjonarnej w wysokich temperaturach. W rezultacie, upływ fazy z kolumny jest powstrzymany i w większości przypadków, dopuszczalna jest praca w wyższych temperaturach. Podstawienie arylenowej fazy stacjonarnej może być tak poprowadzone aby utrzymać tę samą charakterystykę rozdzielania jak w oryginalnej, nie-arylenowej wersji (np. DB-5 i DB-5ms). W obu przypadkach rozdzielanie wygląda tak samo albo jest bardzo podobne. Rzadko, ale czasami mogą zdarzyć się minimalne różnice przy rozdzielaniu pomiędzy wersją standardową a tą o małym upływie fazy stacjonarnej z kolumny.

Standardowa	HT	Stal
360 °C	400 °C	450 °C
Najlepsza charakterystyka chromatograficzna	Mniej optymalna charakterystyka chromatograficzna	Porównywalna charakterystyka zależy od historii termalnej. (istotny jest zakres temperatur, w których kolumna pracowała)
Wszystkie średnice	0.25 i 0.32 mm średnicy wew.	0.53 mm średnicy wew.

Łatwa do cięcia	Łatwa do cięcia	Trudno ją ciąć
Łatwe połączenie z pułapką retencyjną	Utrudnione połączenie z pułapką retencyjną	Utrudnione połączenie z pułapką retencyjną

Fazy Stacjonarne



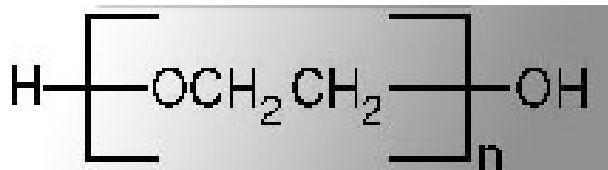
3.1.2. Glikole polietylenowe

Glikole polietylenowe (PEG) są powszechnie stosowane jako fazy stacjonarne (rysunek 6). Fazy stacjonarne typu „WAX” lub „FFAP” należą do grupy glikolów polietylenowych. Fazy stacjonarne glikolu polietylenowego nie są podstawiane, dlatego polimer stanowi 100% materiał.

Glikole polietylenowe są mniej trwałe i mniej wydajne oraz mogą pracować w temperaturach niższych niż większość polisiloksanów. W normalnym stosowaniu, wykazują krótszy czas życia i są bardziej podatne na zniszczenia powodowane przegrzaniem lub działaniem tlenu.

Unikalne właściwości separacyjne glikolu polietylenowego sprawiają, iż owe niedogodności mogą być zaakceptowane. Fazy stacjonarne glikolu polietylenowego muszą być ciekłe w warunkach pracy (temperatur).

Rysunek 6. Glikol polietylenu



Istnieją dwa rodzaje glikolu polietylenowego, które są powszechnie stosowane jako fazy stacjonarne w GC. Jeden z nich charakteryzuje się wyższą dopuszczalną temperaturą pracy (DB-WAXetr), ale wykazuje minimalnie wyższą aktywność (np. ogonowanie piku dla niektórych związków). Drugi ma niższą dopuszczalną temperaturę i niższą dolną granicę temperatury ale wykazuje lepszą powtarzalność i obojętność (DB-WAX). Charakterystyki rozdzielania obu faz stacjonarnych różnią się minimalnie. Inną odmianą faz z glikolem polietylenowym są fazy modyfikowane wartością pH. Kolumny FFAP to zmodyfikowany glikol polietylenu (DB-FFAP) kwasu tereftalowego. Kolumny te stosuje się do analizy związków kwaśnych. Fazy stacjonarne z glikolu polietylenowego modyfikowane zasadami są także dostępne do analizy związków zasadowych (CAM). Silne kwasy i zasady często są przyczyną ogonowania piku w kolumnach standardowych. Fazy stacjonarne z możliwością modyfikowania pH mogą zmniejszać proces ogonowania dla silnych kwasów i zasad.