

Chemia Analityczna

Chromatografia

Tłumaczyła: inż. Karolina Hierasimczyk

Korekta:

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

prof. dr hab. inż. Jacek Namieśnik

Część IV

Gazy nośne.

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 gazowej

- 3.1. Fazy stacjonarne
 - 3.1.1. Polisiloksany
 - 3.1.2. Glikole polietylenowe

4. Gazy nośneIV/3

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

4. Gazy nośne

Prędkość liniowa gazu nośnego lub natężenie przepływu strumienia gazu bezpośrednio wpływa na czas retencji i sprawność. Bardzo ważny jest właściwy wybór i parametry przepływu gazu nośnego tak aby uzyskać jak najlepszy czas analizy, sprawność i powtarzalność.

Prędkość liniowa gazu nośnego lub natężenie przepływu strumienia kontrolowane są poprzez dostosowanie ciśnienia gazu nośnego na wlocie kolumny (ciśnienie powszechnie zwane ciśnieniem na czole kolumny). Ustawienie ciśnienia zależy od rodzaju gazu nośnego, długości i średnicy kolumny, temperatury kolumny oraz żądanej prędkości liniowej lub natężenia przepływu strumienia gazu.

Dla kolumn kapilarnych, średnia prędkość liniowa (μ) jest lepszą i bardziej znaczącą miarą niż natężenie przepływu (F). Średnia prędkość liniowa może być określona jako średnia szybkość gazu nośnego w cm/s (np. centymetry kolumny przebyte w czasie sekundy przez cząstki gazu nośnego). Średnia prędkość liniowa obliczana jest za pomocą równania 9a.

Średnia prędkość liniowa

$$\mu \text{ (cm / s)} = L / t_M \quad (9 \text{ a})$$

L = długość kolumny (cm)

t_M = czas retencji nie zatrzymanego piku (s)

Czas retencji nie zatrzymanego piku dla danej prędkości liniowej

$$t_M = L / \mu \quad (9 \text{ b})$$

Długość kolumny i żądana średnia prędkość liniowa są wartościami znanymi, dlatego równanie 9a zostało przekształcone w równanie 9b. Dotyczy ono czasu retencji substancji nie zatrzymywanej (t_M lub t_o) przy danej prędkości liniowej. Na przykład, 30 m kolumna i średnia prędkość liniowa 32 cm/s wymagają warunków, w których czas retencji piku nie zatrzymanego wyniesie 1,56 minuty. W tabel 7 przedstawiono zalecane związki do wyznaczenia takiego czasu. Dozowano 1-2 μL par nie zatrzymanego związku i mierzono jego czas retencji. Jeżeli czas retencji jest za niski, należy obniżyć ciśnienie na czole kolumny (średnia prędkość liniowa jest za wysoka). Z kolei, jeżeli czas retencji jest za wysoki, należy

podwyższyć ciśnienie (średnia prędkość liniowa jest za niska). Procedura musi być powtórzona a ciśnienie na czole powinno być tak dobrane aby uzyskać czas retencji w zakresie 0,05 minuty obliczonej wartości. Ustawienie właściwej średniej prędkości liniowej jest bardzo ważne. Nawet małe błędy mogą przyczynić się bowiem do utraty rozdzielczości i zmienić czasy retencji.

Tabela 7. Związki stosowane do wyznaczania czasu martwego.

Detektor	Związki nie zatrzymywane
FID	Metan, Butan (1)
ECD	Chlorek Metylenu (2,3); Dichlorodifluorometan
NPD	Acetonitryl (4)
TCD, MS	Metan, Butan (1), powietrze
PID, ELCD	Chlorek winylu

- (1) Z zapalniczki jednorazowego użytku
- (2) Umieścić – 2 krople we fiolce autosamplera i szczelnie zatkać. Wstrząsnąć i wprowadzić 1-2 μ L z fiolki z fazy gazowej nad roztworem.
- (3) Pomiar w temperaturze kolumny powyżej 50 $^{\circ}$ C
- (4) Pomiar w temperaturze kolumny powyżej 90 $^{\circ}$ C

Jeżeli chromatograf gazowy wyposażony jest w układ do elektronicznej regulacji ciśnienia lub w system kontroli przepływu, powyższe ćwiczenie jest niepotrzebne, choć powinno być przeprowadzone w celu sprawdzenia spójności wyników lub innych problemów związanych z przepływem. Długość i średnicę kolumny, rodzaj gazu nośnego i oczekiwaną średnią prędkość liniową wprowadza się w odpowiednim programie. Chromatograf określa aktualną temperaturę kolumny i dobiera ciśnienie na wlocie kolumny tak aby uzyskać oczekiwaną prędkość liniową.

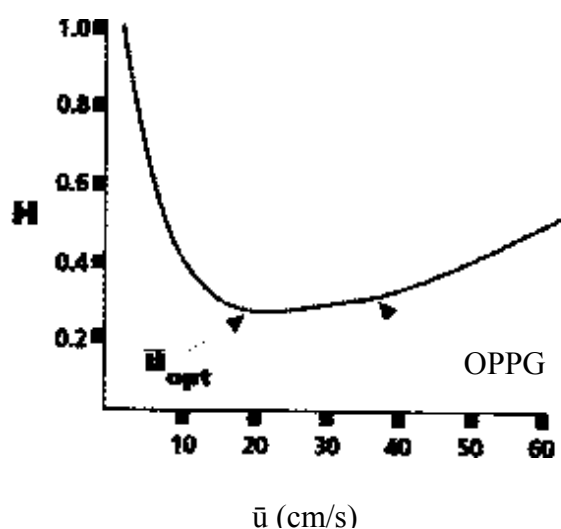
Prędkość liniowa gazu nośnego (i natężenie przepływu strumienia gazu) zależą od temperatury kolumny. Przy stałym ciśnieniu na czole, prędkości liniowe gazu nośnego maleją wraz ze wzrostem temperatury kolumny. Oznacza to, że średnia prędkość liniowa powinna być ustawiona w tej samej temperaturze dla danej metody jeżeli chcemy otrzymać powtarzalne wyniki.

Zmiana średniej prędkości liniowej w różnych temperaturach kolumny spowoduje zmiany w retencji i rozdzielczości. Ponieważ średnia prędkość liniowa zależy od temperatury kolumny, prędkość maleje w czasie przebiegu programowanej temperatury. Układ elektronicznego

sterowania ciśnieniem w dozownikach może być tak zaprogramowany, aby utrzymywać stałą średnią prędkość liniową lub natężenie przepływu podczas programowania temperatury. Wykorzystanie tej właściwości może poprawić rozdzielczość wolniej wymywanych pików lub prowadzi do skrócenia czasu analizy.

Wpływ średniej prędkości liniowej gazu nośnego na sprawność kolumny najlepiej przedstawia krzywa van Deemter'a lub wykres (rysunek 8). Krzywa van Deemter'a powstaje w wyniku wyznaczenia zależności sprawności (jako H) od średnich liniowych prędkości i naniesienia ich na wykres. Wykres krzywej van Deemter'a wskazuje, iż istnieje średnia prędkość liniowa, która zapewni maksymalną sprawność (u_{opt}).

Rysunek 8. Krzywa van Deemter'a

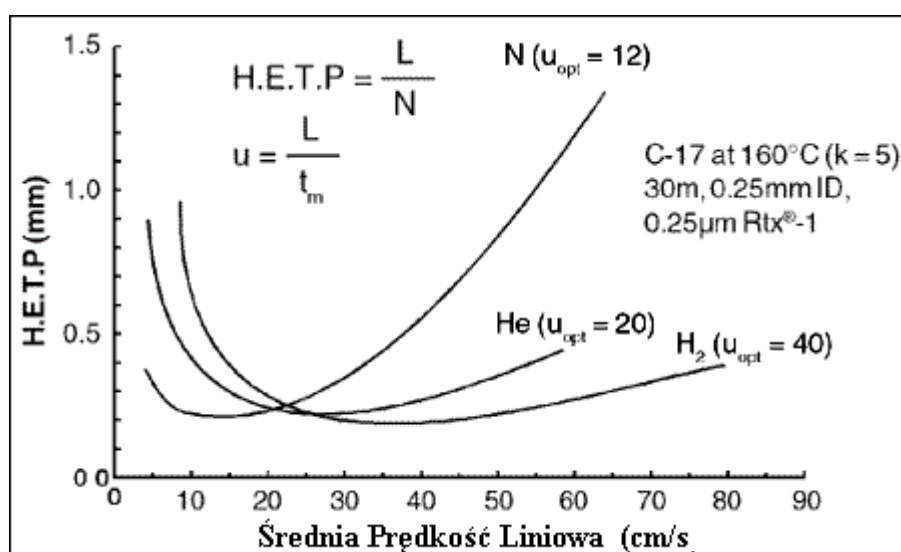


Wartość ta znajduje się w najniższym punkcie paraboli, w którym krzywa uzyskuje najmniejszą wartość H (najwyższa sprawność - rysunek 8). Krzywe van Deemter'a wskazują także na to, iż praca przy średniej prędkości liniowej, która jest zbyt oddalona od wartości u_{opt} , powoduje utratę sprawności. Większość analiz przeprowadza się przy wartościach średniej prędkości liniowej przekraczających u_{op} . Wartość ta określana jest jako optymalna praktyczna prędkość gazu (OPPG) i odpowiada wartości $1.5 - 2 u_{op}$.

Maksymalna sprawność w przeliczeniu na jednostkę czasu jest obliczona dla średniej liniowej prędkości. Mała strata sprawności może być zaakceptowana przy znacznym skróceniu czasu analizy.

Do najczęściej stosowanych gazów nośnych w kapilarnych kolumnach do chromatografii gazowej należą azot, hel i wodór. Różnice pomiędzy gazami są oczywiste porównując ich krzywe van Deemter'a (rysunek 9). Azot charakteryzuje się najlepszą sprawnością; jednakże, jego u_{op} występuje przy średniej prędkości liniowej. Poszczególne odcinki krzywej van Deemter'a dla azotu wskazują na to, że małe zmiany średniej prędkości liniowej powodują duże zmiany sprawności. Niska średnia prędkość liniowa dla u_{op} sprawia, iż azot jest najmniej pożądanym gazem nośnym dla kolumn kapilarnych. W porównaniu do azotu, u_{op} dla helu ma wyższą wartość średniej prędkości liniowej przy trochę niższej sprawności.

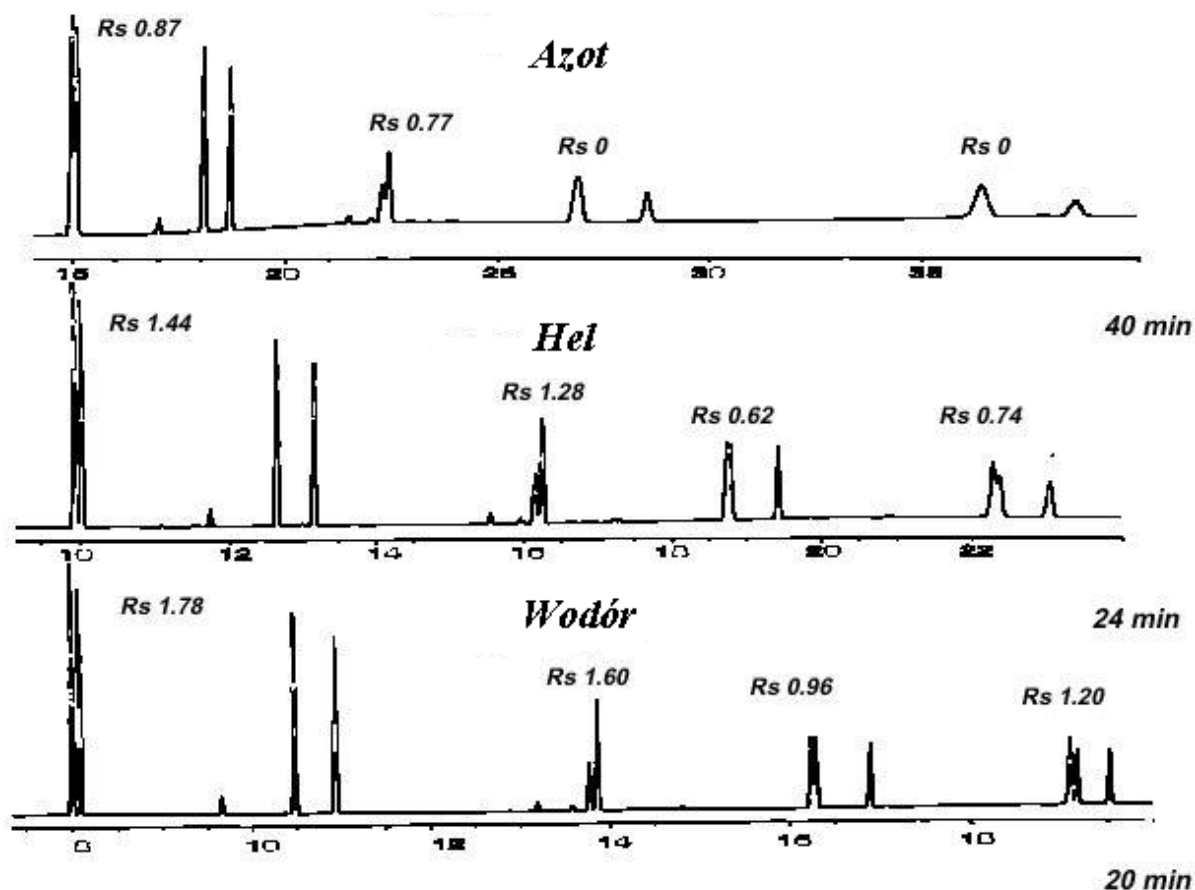
Rysunek 9. Krzywe van Deemter'a dla azotu, helu i wodoru.



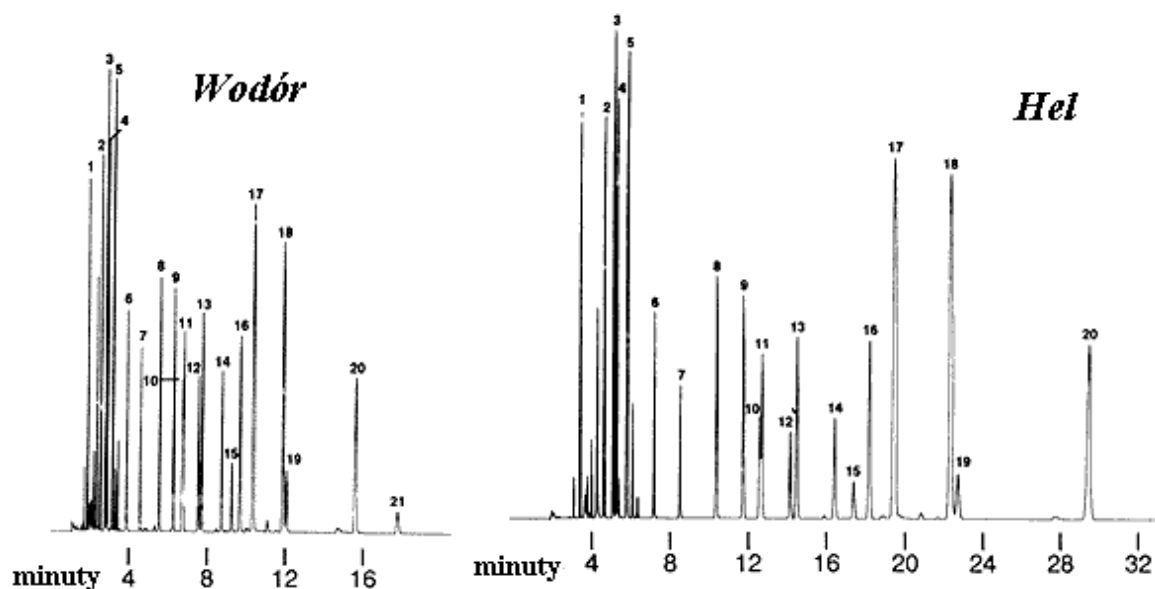
Czasy analizy, gdy stosuje się hel, są o około połowę krótsze od czasów przy stosowaniu azotu a strata sprawności jest niewielka. Krzywa van Deemter'a dla helu jest bardziej płaska niż krzywa dla azotu, dlatego zmiany średniej prędkości liniowej nie zmniejszają sprawności w znaczący sposób. u_{op} dla wodoru jest najwyższe spośród wszystkich trzech gazów a krzywa van Deemter'a jest bardzo płaska. Szeroki zakres, w którym zastosowana jest wysoka sprawność powoduje, że wodór jest najlepszym gazem dla próbek zawierających związki eluujące w szerokim zakresie temperatur. Rysunek 10 przedstawia typowe różnice czasów analizy i rozdzielczości dla trzech gazów.

Skrócenie czasu pracy operatora i chromatografu stały się ważnym czynnikiem uwzględnianym w wielu laboratoriach.

Rysunek 10. Porównanie rozdzielczości przy zastosowaniu azotu, helu i wodoru – jako gazów nośnych.



Rysunek: Wodór zapewnia zbliżoną rozdzielczość przy dwukrotnie krótszym czasie analizy dla helu.



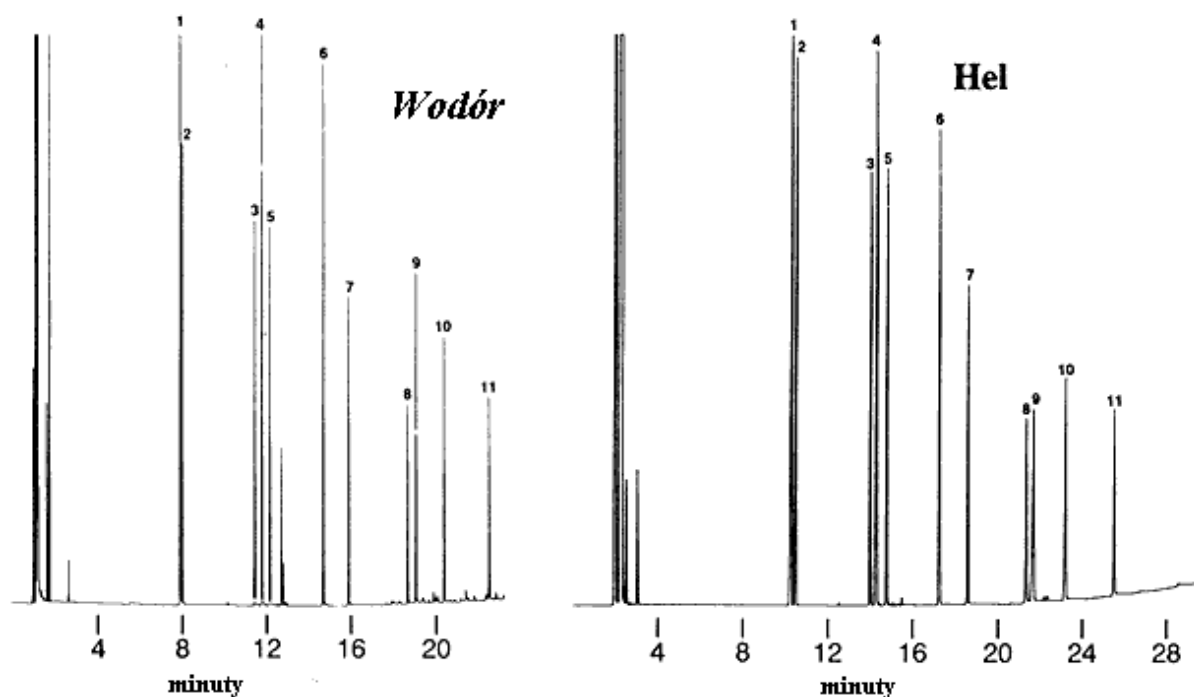
Warunki analizy: 30 m
 0.25 mm średnica wewnętrzna, 0.25 μ m Rtx®-5
 0.1 μ l dozowanie chlorowanych
 pestycydów z dzieleniem strumienia
 Temperatura termostatu: 210°C
 (Izotermiczna)

Składniki:
 1. tetrachloro-m-ksylen 2. alfa-BHC
 3. bera-BHC 4. gamma-BHC
 5. delta-BHC 6. heptachlor
 7. epoksyd aldryny 8. heptachlor
 9. gamma-chlordan 10. endosulfan I

Temperatura dozownika: 250⁰C
 Temperatura detektora: 300⁰C
 Prędkość liniowa:
 Wodór = 40 cm/s
 Hel = 20 cm/s
 Czułość ECD: 512 x 10-11 AFS

11. alfa-chlordan	12. diendryna
13. DDE	14. endryna
15. endosulfan II	16. DDD
17. aldehyd endryny	18. siarczan endosulfanu
19. DDT	20. keton endryny

Rysunek: W tych samych warunkach programowanej temperatury czas analizy dla wodoru jest trochę krótszy niż dla helu.



Warunki analizy: 30 m
 0.25 mm śred. wew., 0.25 µm Rtx®-5
 0.1 µl dozowanie fenoli z dzieleniem strumienia
 Temperatura termostatu: 50⁰C (4min.)
 do 120⁰C @ 8⁰C/min. (5min.)
 Temperatura dozownika i detektora: 280⁰ C
 Prędkość liniowa:
 Wodór = 40 cm/s
 Hel = 20 cm/s
 Czułość FID: 32 x 10-11 AFS
 Przepływ boczny (split) na wlocie: 40cm³/min.

Lista składników:
 1. fenol
 2. 2-chlorofenol
 3. 2-nitrofenol
 4. 2,4-dimetyl fenolu
 5. 2,4-dichlorofenol
 6. 4-chloro-3-metyl fenolu
 7. 2,4,6-trichlorofenol
 8. 2,4-dinitrofenol
 9. 4-nitrofenol
 10. 2-metylo-4,6-dinitrofenol
 11. pentachlorofenol