



## **Gascromatografia, TROUBLESHOOTING**

dott. Davide Facciabene

GC & GC-MS Product Specialist at Thermo Fisher Scientific

# TROUBLESHOOTING in GASCROMATOLOGRAFIA

---

La gascromatografia, come ogni tecnica analitica, presenta diverse problematiche che possono influire sulla qualità dei risultati. Alcuni dei problemi più comuni includono la presenza di contaminanti, l'invecchiamento della colonna, problemi di iniezione del campione, variazioni nella temperatura della colonna, problemi di flusso del gas, sensibilità dello strumento, e così via. Ogni problema richiede un'analisi attenta e una diagnosi accurata per determinare la causa e trovare una soluzione.

Il troubleshooting in gascromatografia può essere una sfida, ma con l'esperienza e la conoscenza delle tecniche analitiche, è possibile risolvere efficacemente la maggior parte dei problemi e ottenere risultati affidabili e riproducibili.



# TROUBLESHOOTING in GASCROMATOLOGRAFO

---

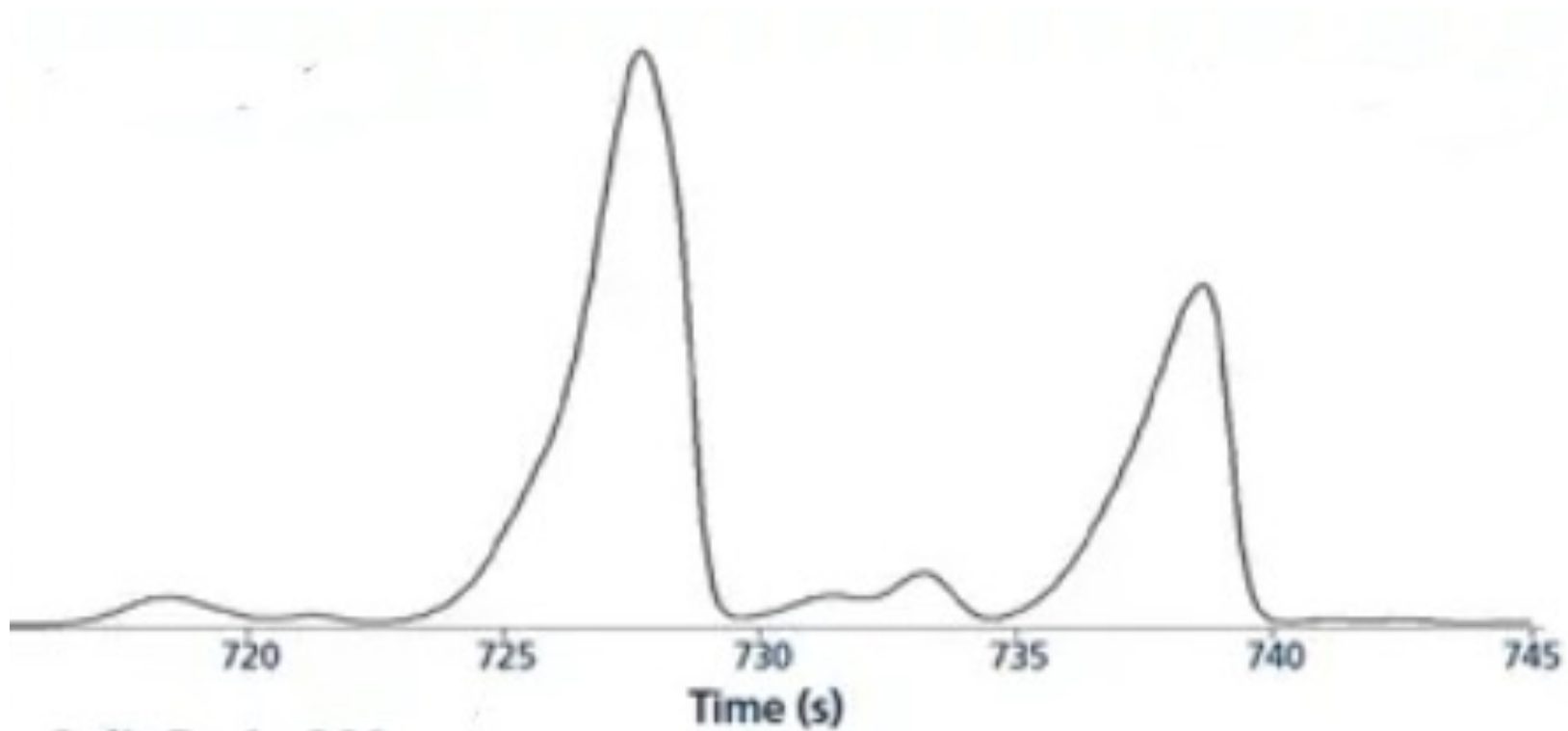
- fronting peaks
- tailing peaks
- low/no resolution (scarsa risoluzione)
- split peaks (picchi doppi)
- broad peaks (picchi larghi)
- column bleed (alto spurgo di colonna)
- RT Shift (RT instabile)
- baseline noise & drift (linea di base instabile)
- ghost peaks (picchi fantasma)
- spikes (segnali spuri)
- no peaks (assenza di picchi e/o di segnale)

*fenomeni spiegati:*

*solvent trap, flashback effect e flooding effect*

# FRONTING PEAKS

---



front-tail, coda frontale

# FRONTING PEAKS – CAUSE E RIMEDI

---

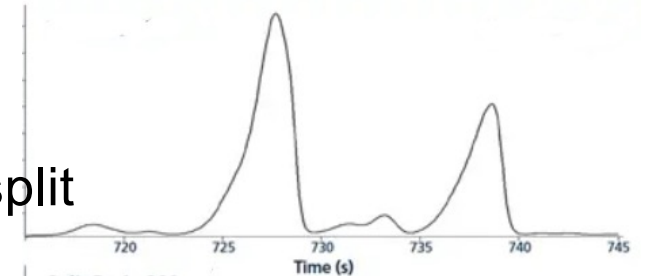
## overload della colonna

iniettare meno campione,

aumentare il rapporto di splittaggio in caso di iniezione split

iniettare in modalità pulsed in caso di iniezione splitless

cambio colonna aumentando il diametro interno e/o il thickness



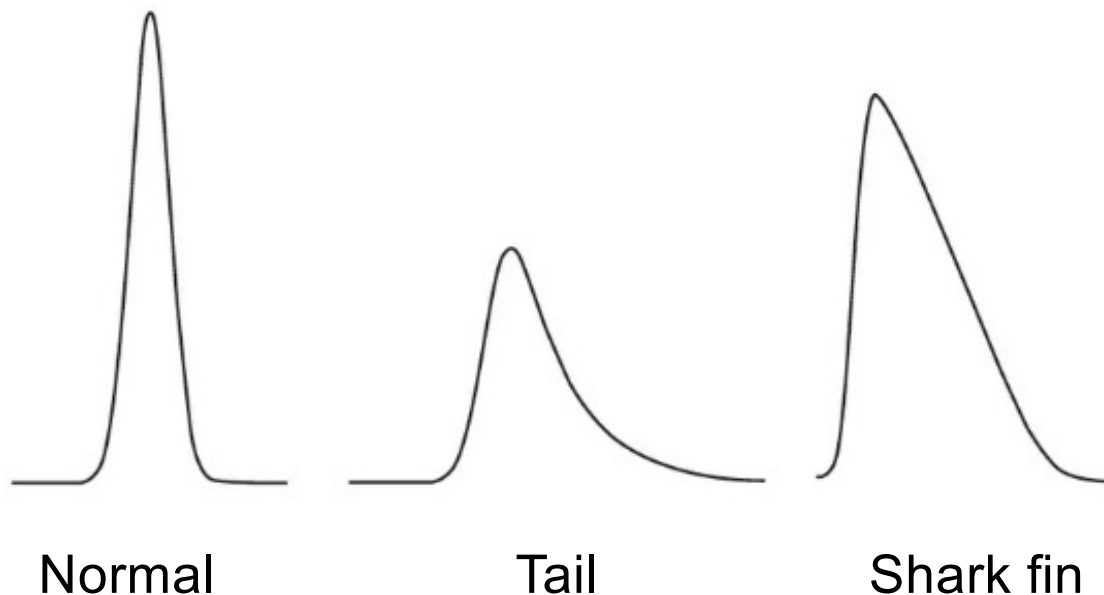
## fase stazionaria non adeguata

tentare con una programmata del forno che parte da una temperatura iniziale maggiore del punto di eb. del solvente utilizzato, almeno di 10°C

cambiare colonna

## TAILING PEAKS – CAUSE E RIMEDI

---

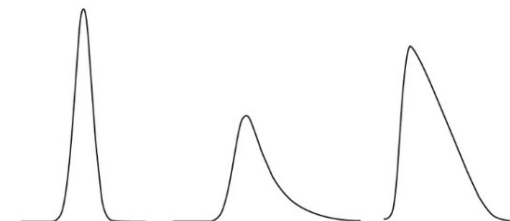


*Shark fin peak, è la forma finale cui tende la codatura all'aumentare della quantità di principio attivo, ma non è un overload, che invece è un problema di altra natura che da un picco con front tail.*

## TAILING PEAKS – CAUSE E RIMEDI

---

adsorbimento del principio attivo nel liner e/o nella colonna



sostituzione del liner e/o taglio della colonna, minimo 10 cm, possibile anche 30 o 50 cm dipende dall'applicazione analitica

leak a livello di iniettore, pneumatica o gas carrier in genere

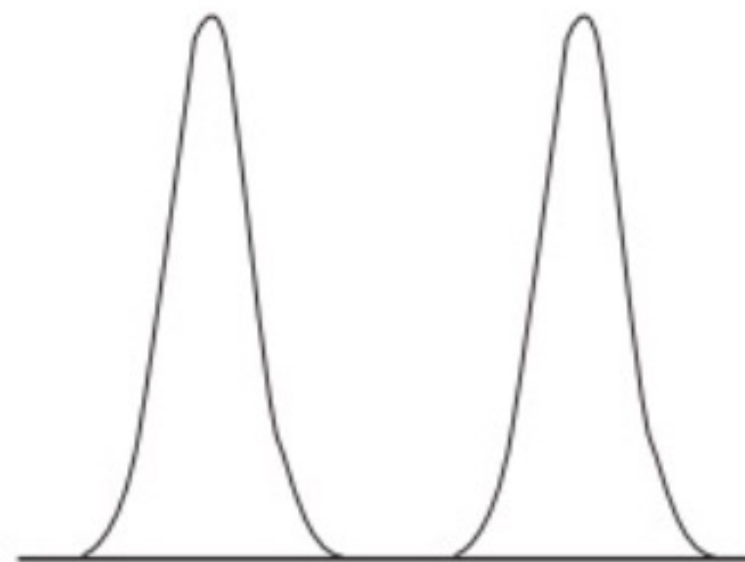
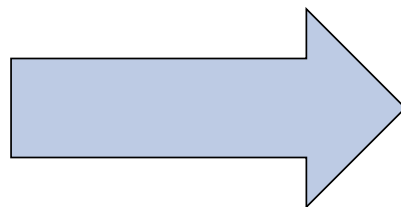
controllare integrità del setto, montaggio della colonna, eventuali leak a monte dell'iniettore

# SCARSA RISOLUZIONE

---



scarsa risoluzione



completa risoluzione



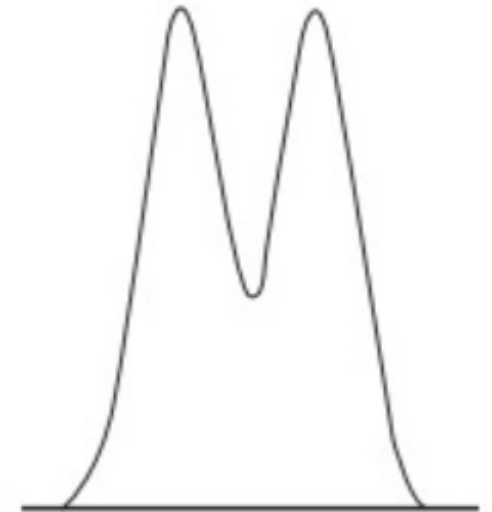
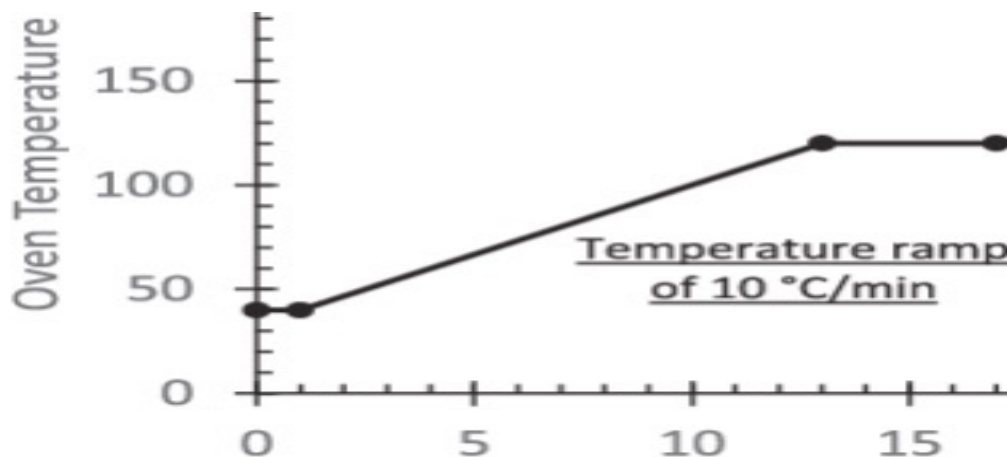
## SCARSA RISOLUZIONE – CAUSE E RIMEDI

### programma termico del forno non adeguato

eseguire un programma termico progressivo al fine di verificare la capacità risolutiva della colonna.

La temperatura iniziale deve essere più bassa del punto di ebollizione del solvente iniettato, almeno di 10°C.

La progressione termica indicativamente di 10°C/min.



## SCARSA RISOLUZIONE – CAUSE E RIMEDI

### taglio della colonna all'iniettore non corretto

tagliare la colonna incidendola col segmento ceramico, non bisogna seghettare ma eseguire un solo movimento di taglio, una volta incisa la colonna, va piegato il mancante nel verso dell'incisione, quindi lontano da voi, e poi spezzare l'estremità piegandola nel verso opposto dell'incisione, verso di voi.. Il taglio deve essere netto ed ortogonale alla colonna, senza schegge o becco di clarino



## SPLIT PEAKS / picchi doppi – CAUSE E RIMEDI

---

### split peaks

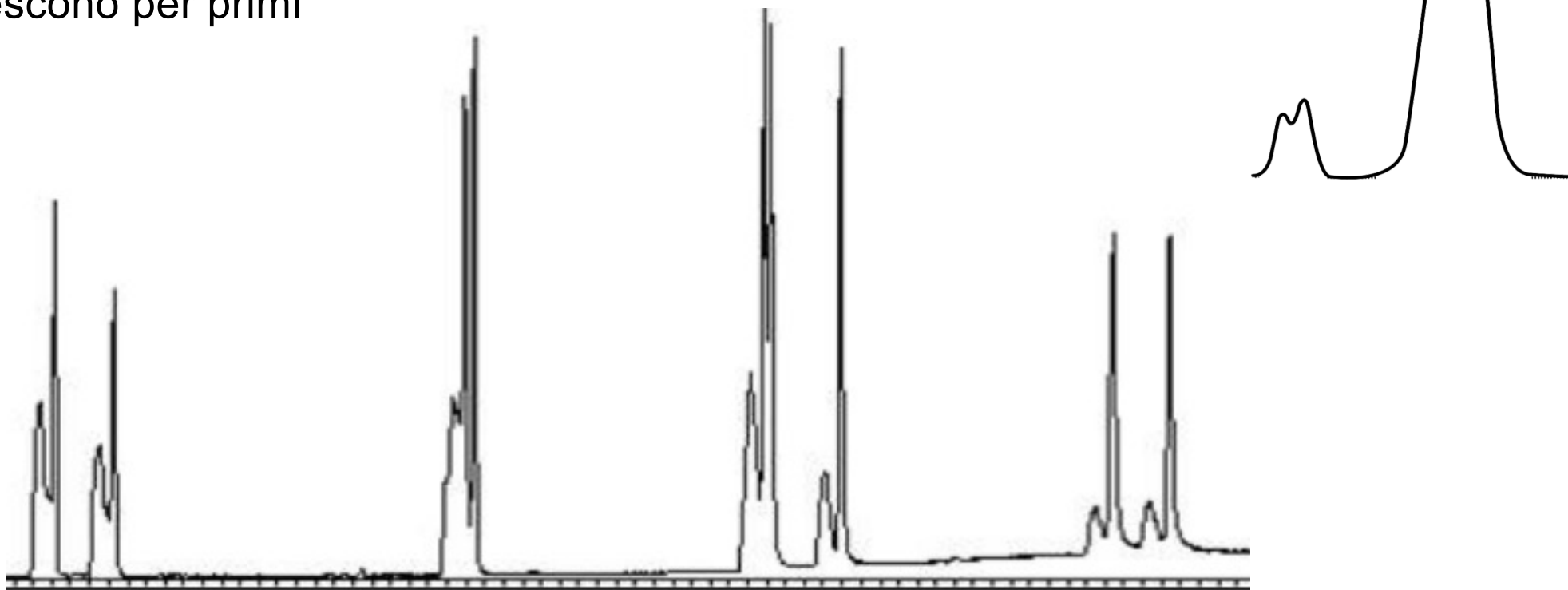
trattasi della stessa sostanza, che mostra una separazione cromatografica, o un accenno di essa che non dovrebbe esserci.

A volte, questo problema viene erroneamente interpretato come la mancata separazione di due picchi differenti, quindi come un problema di mancata risoluzione, non è questo il caso, piuttosto è l'esatto contrario, ossia una mancata focalizzazione del picco.



## SPLIT PEAKS / picchi doppi – CAUSE E RIMEDI

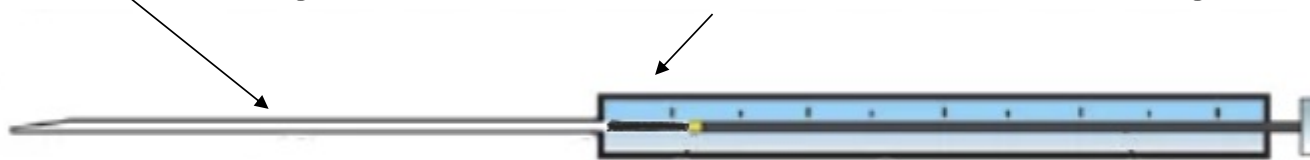
si può manifestare in diverse forme cromatografiche, su tutti i picchi del cromatogramma o solo su una parte di essi, solitamente quelli che escono per primi



## SPLIT PEAKS / picchi doppi – CAUSE E RIMEDI

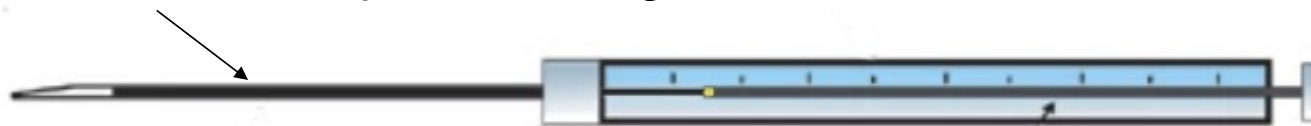
iniezione manuale senza air gap,  
campione che rimane nell'ago durante l'iniezione

AIR GAP nell'ago

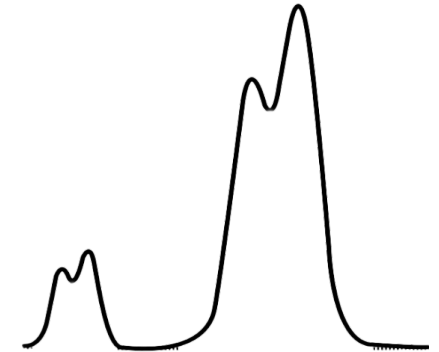


OK

NO AIR GAP, campione nell'ago



KO

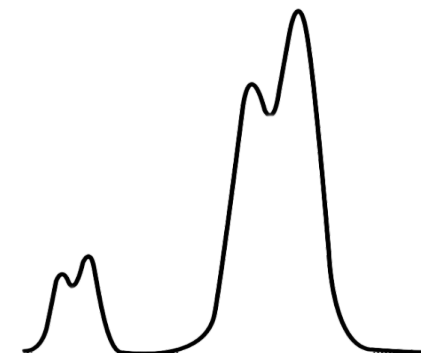


*l'autocampionatore di default carica il campione in siringa con air gap nell'ago*

## SPLIT PEAKS / picchi doppi – CAUSE E RIMEDI

uso di liner inadeguato, in particolare con iniettore PTV a freddo  
parte del campione liquido finisce direttamente in colonna  
durante l'iniezione e prima della vaporizzazione

utilizzare liner con lana di vetro o non lineari, quindi con bolle o  
restrizioni oppure in caso di liner lineari, sufficientemente stretti  
(ID di 2 mm o minore)

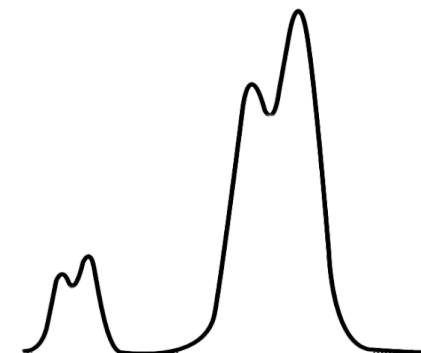
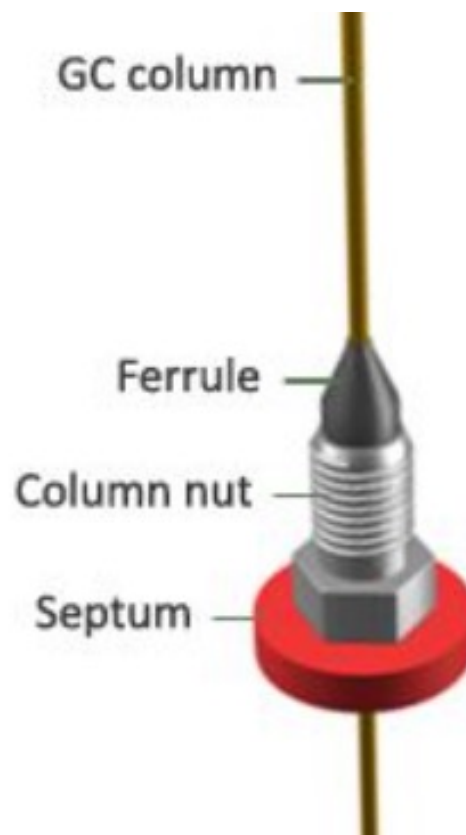


## SPLIT PEAKS / picchi doppi – CAUSE E RIMEDI

### errato montaggio della colonna

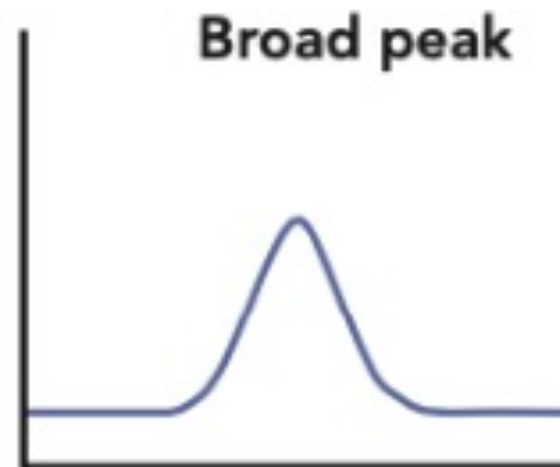
controllare posizione della colonna  
in uscita dal nut dell'iniettore

rispettare le misure indicate dal  
fornitore



## BROAD PEAKS / picchi larghi /– CAUSE E RIMEDI

---



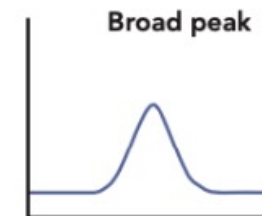
normalmente, in media, un picco acquisito con una colonna da 30 m per 0.25 mm, flussato con He a 1.2 ml/min, presenta una larghezza alla base di 6 – 8 secondi



## BROAD PEAKS / picchi larghi – CAUSE E RIMEDI

---

solvent trap non efficaci



abbassare la temperatura iniziale del forno di 5-10°C o più rispetto al p.e. del solvente iniettato

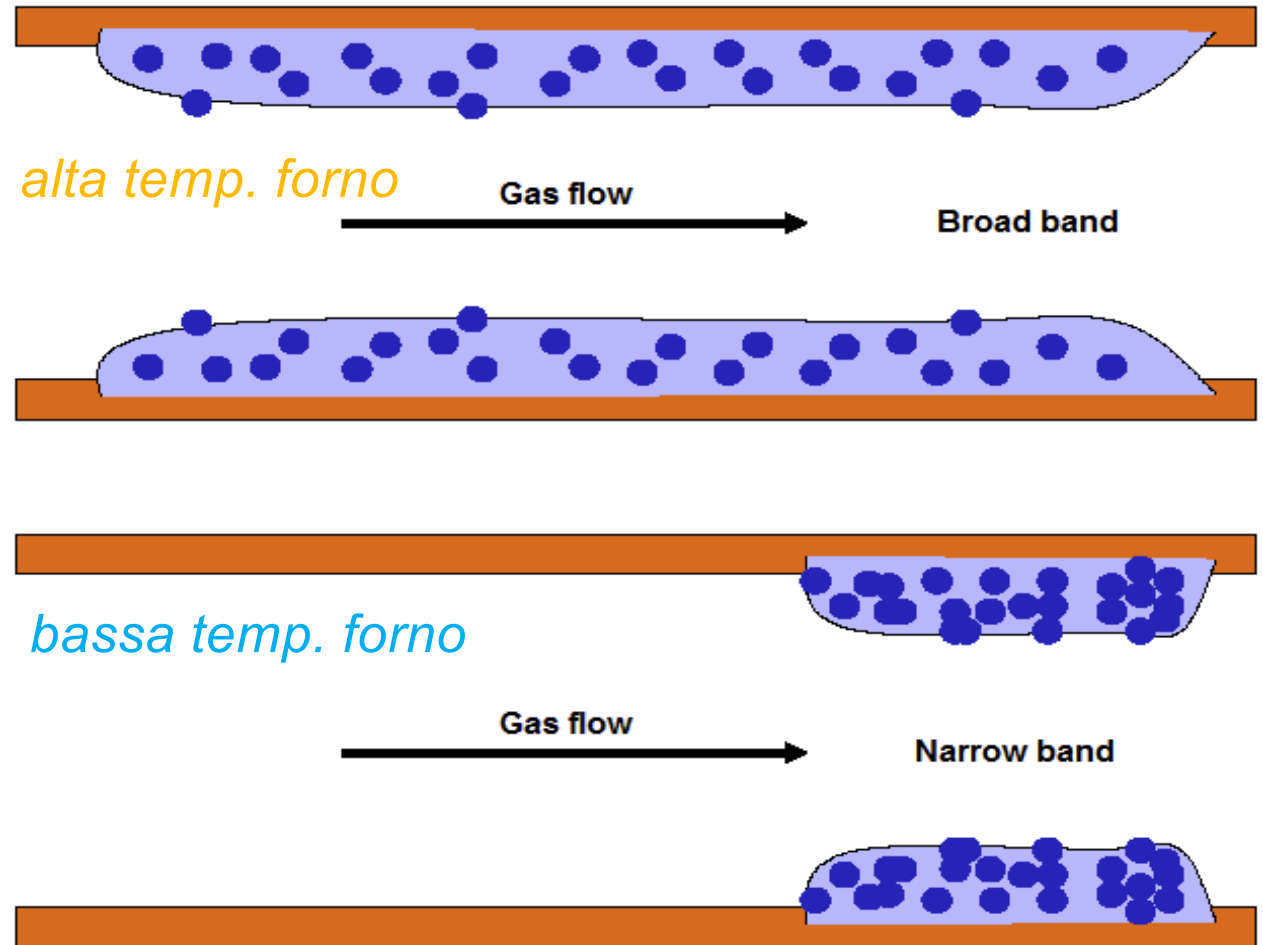
# BROAD PEAKS / picchi larghi – CAUSE E RIMEDI

## SOLVENT TRAP

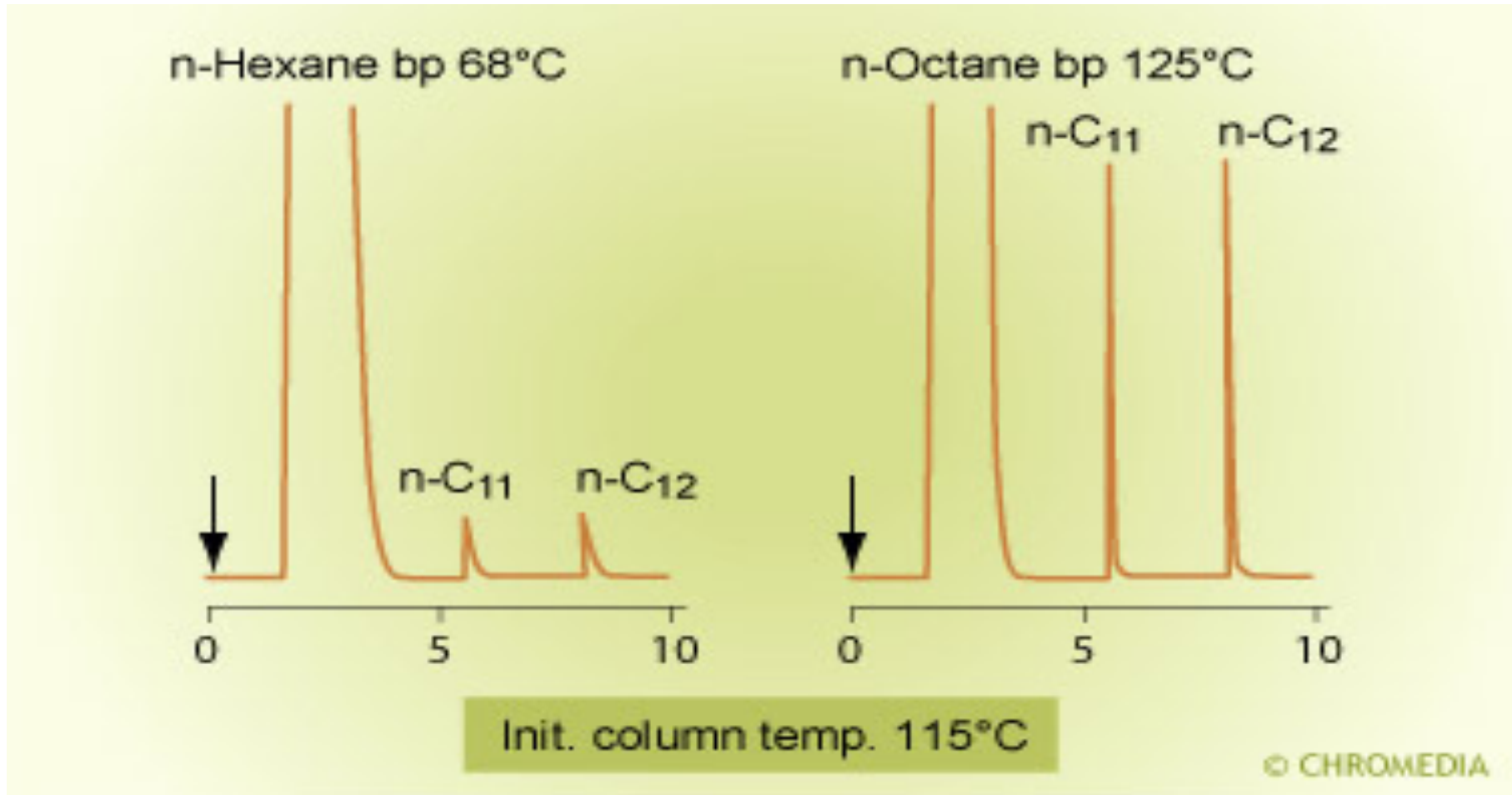
rapida condensazione del solvente iniettato nella prima parte della colonna

grazie ad una temperatura del forno sensibilmente più bassa del p.e. del solvente utilizzato

questo fenomeno produce picchi cromatografici più stretti



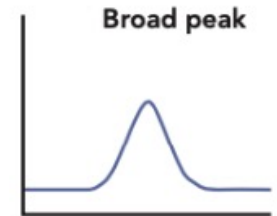
## BROAD PEAKS / picchi larghi – CAUSE E RIMEDI



## BROAD PEAKS / picchi larghi – CAUSE E RIMEDI

---

solvent trap controproducente ( flooding effect )



aumentare la temperatura iniziale del forno di almeno 10°C sopra il p.e. del solvente iniettato

### FLOODING EFFECT

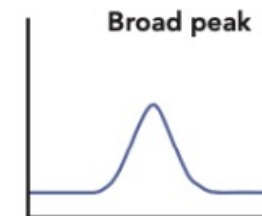
*si verifica quando il principio attivo in esame presenta scarsa affinità con la fase stazionaria della colonna. Forzare la sua condensazione sfruttando il solvent trap, ne provoca una condensazione, ma il picco letteralmente «scivolerà» sulla superficie della fase stazionaria, generando un picco molto largo a volte più largo che alto*

## BROAD PEAKS / picchi larghi – CAUSE E RIMEDI

---

flusso di colonna troppo basso

aumentare il flusso in colonna, in base alla geometria della stessa e al tipo di gas carrier utilizzato



## BROAD PEAKS / picchi larghi – CAUSE E RIMEDI

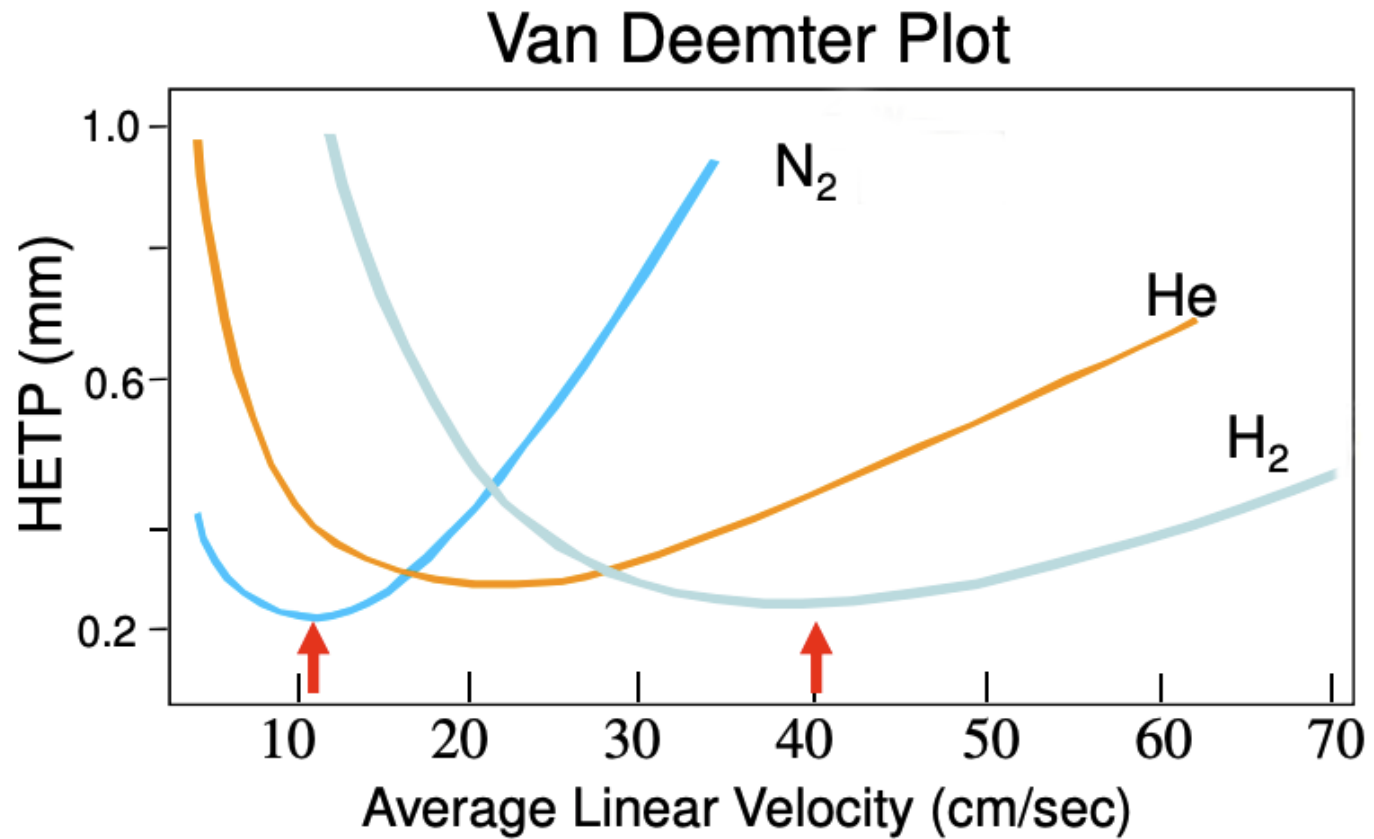
colonna 30 m per 0.25 mm

He 20-30 cm/sec massima efficienza

massima velocita 35 cm/sec

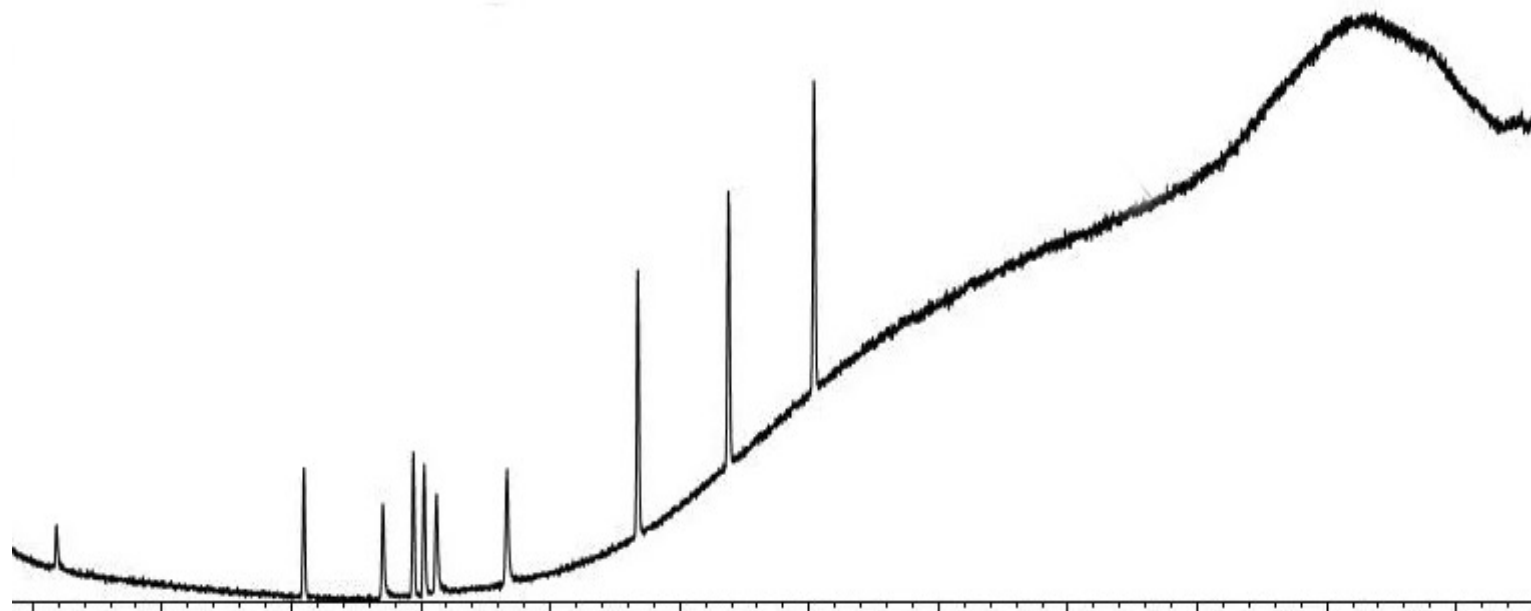
He 1.0 ml/min

*sono valori teorici,  
differiscono leggermente dalla realtà*



## COLUMN BLEEDING / alto spurgo – CAUSE E RIMEDI

---



elevato innalzamento della linea di base del cromatogramma, spesso in concomitanza dell'aumento di temperatura del forno o solo al superamento di una certa temperatura del forno

## COLUMN BLEEDING / alto spurgo – CAUSE E RIMEDI

---

inadeguato condizionamento della colonna

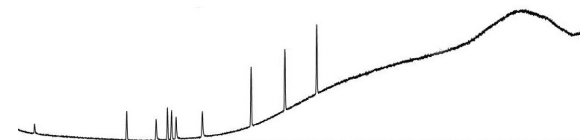
ricondizionare la colonna

contaminazione della colonna

ricondizionare la colonna e/o tagliare da 10 ai 50 cm

ingresso di aria a livello di iniettore e/o detector

controllare setto e montaggio colonna





## RT Shift / RT instabile – CAUSE E RIMEDI

---

ingresso d'aria a livello di iniettore

sostituire setto e controllare montaggio della colonna

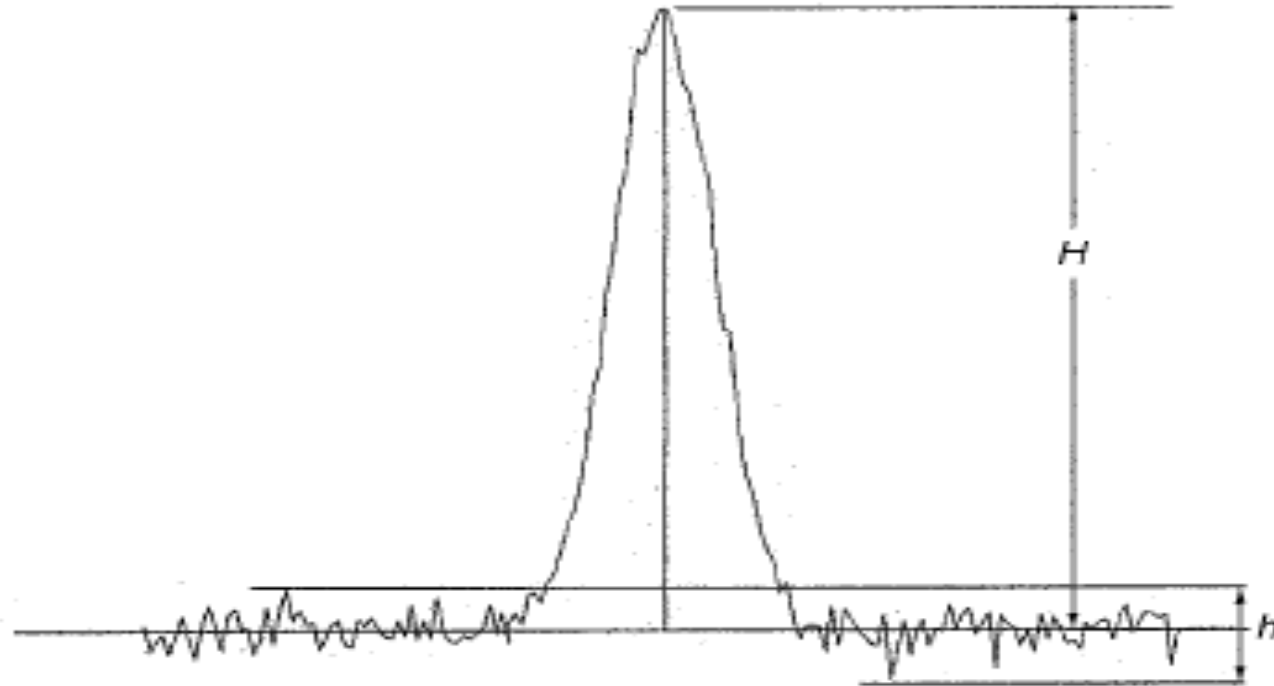
temperatura del forno instabile

chiamare assistenza tecnica

flusso colonna instabile

chiamare assistenza tecnica

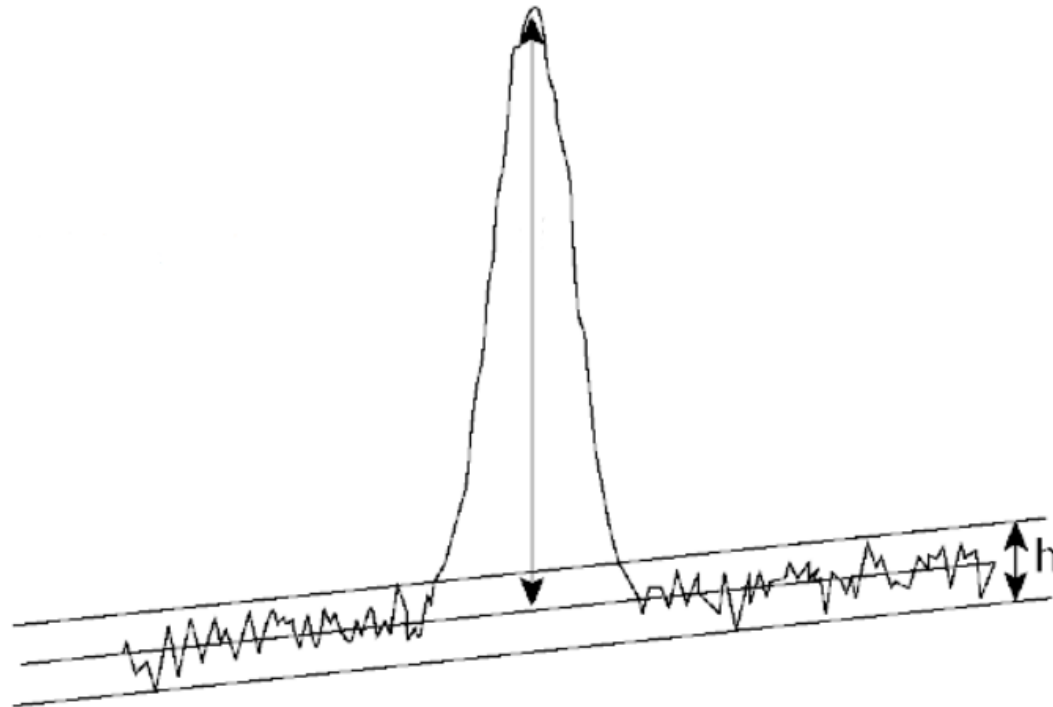
# LINEA DI BASE INSTABILE / NOISE & DRIFT – CAUSE E RIMEDI



noise

linea di base instabile che presenta un'elevata variabilità nell'unità di tempo

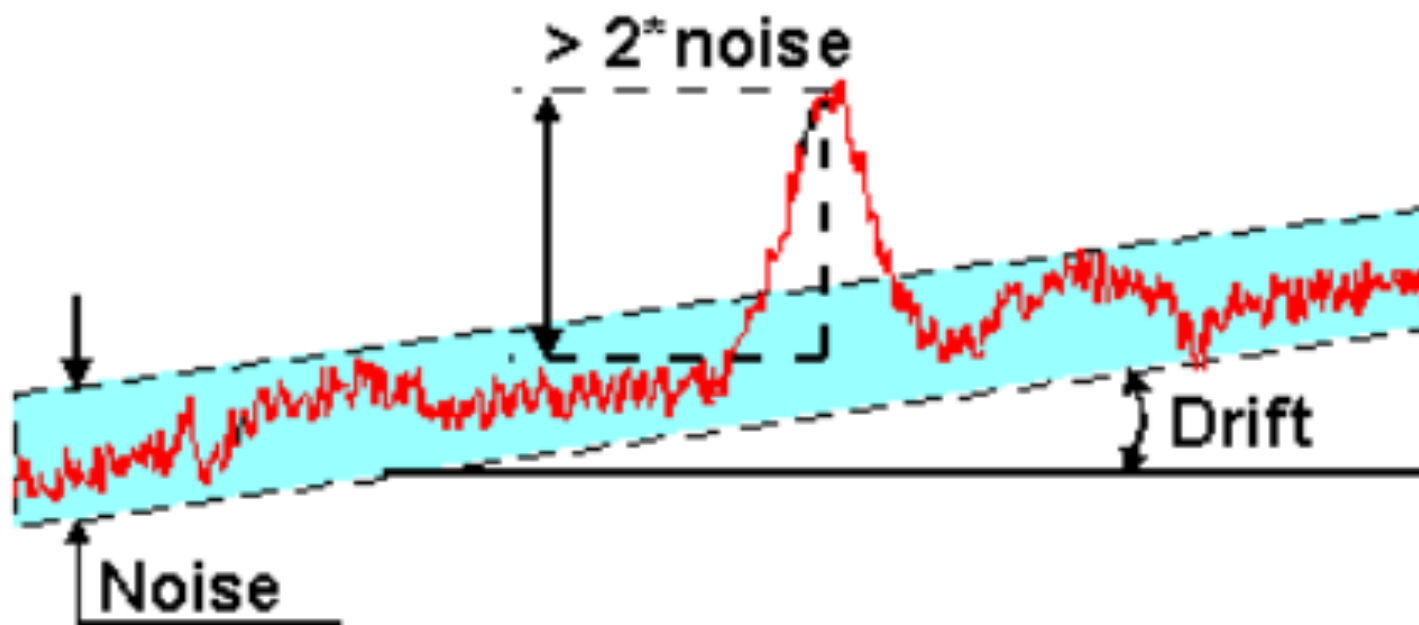
# LINEA DI BASE INSTABILE / NOISE & DRIFT – CAUSE E RIMEDI



drift

linea di base che va in deriva, anche con forno a temperatura costante

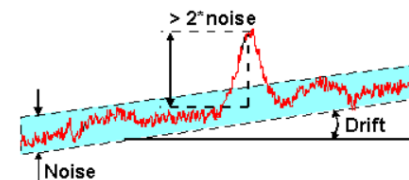
## LINEA DI BASE INSTABILE / NOISE & DRIFT – CAUSE E RIMEDI



noise & drift

i due problemi sono spesso presenti contemporaneamente, per cause comuni

## LINEA DI BASE INSTABILE / NOISE & DRIFT – CAUSE E RIMEDI



ingresso d'aria a livello di iniettore e/o detector

sostituire setto e controllare montaggio della colonna lato iniettore e detector

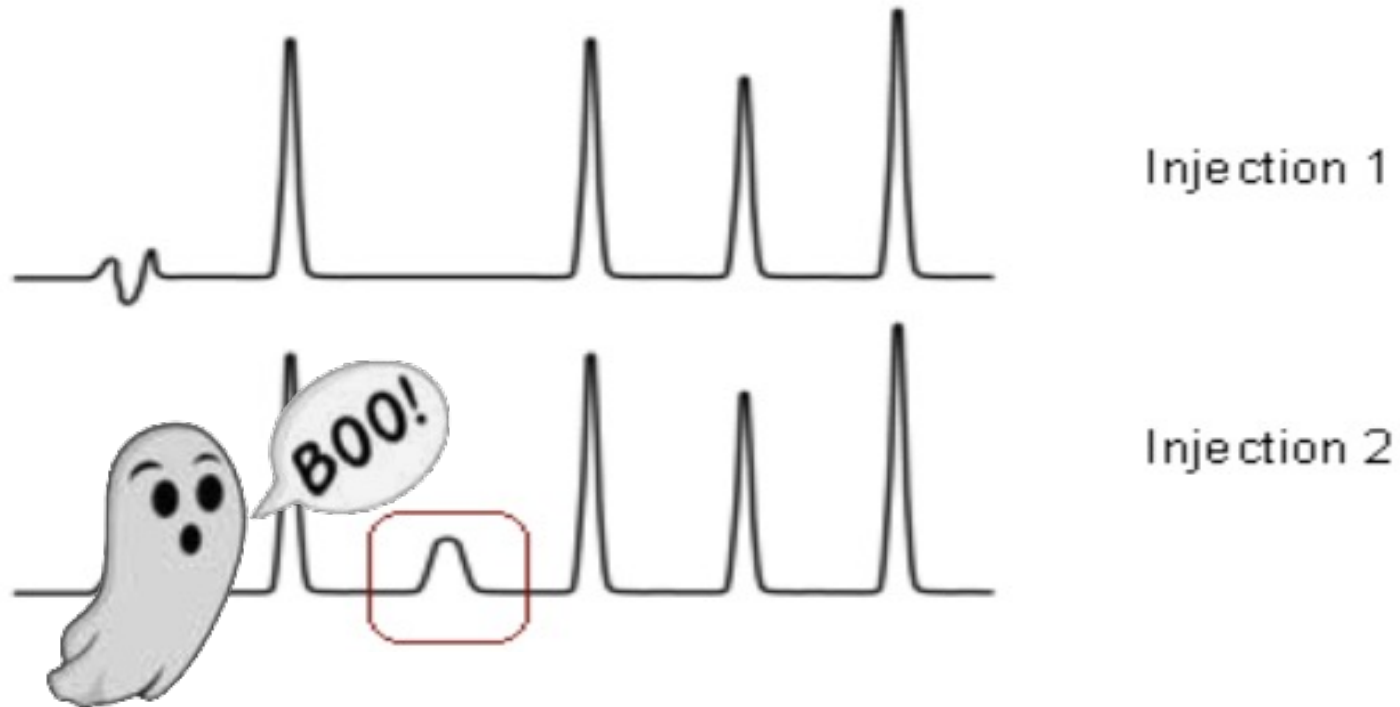
flusso dei gas di colonna e/o detector instabile o grado di purezza non adeguate

controllare livello di pressione dei gas e grado di purezza

problema elettronico

chiamare assistenza tecnica

## GHOST PEAKS – CAUSE E RIMEDI



Picchi inaspettati, che compaiono con tempi ritenzione costanti o variabili

## GHOST PEAKS – CAUSE E RIMEDI

---

### contaminazione di siringa, soluzioni di lavaggio, iniettore e/o colonna

incrementare cicli e volumi di lavaggio della siringa,

sostituire il solvente di lavaggio con uno più idoneo  
(isooctano:acetone 80:20)

lavare la siringa su più vial, una di pre ed una di post iniezione



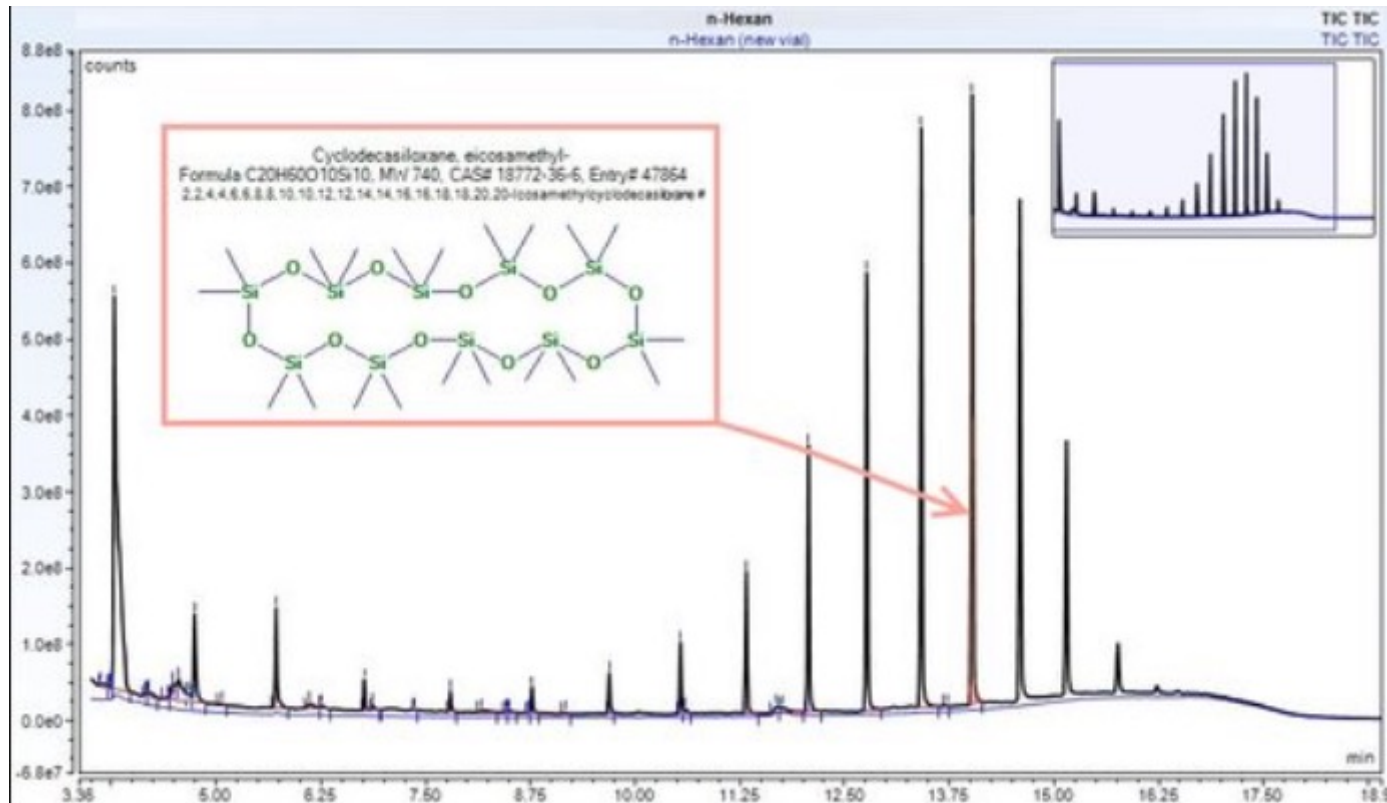
### carry over da GC run-time, durata della corsa troppo breve, p.a. permangono in colonna

aumentare durata della isoterma finale di pulizia e/o aumentare la temperatura

### usura del setto e/o della colonna

sostituzione o nel caso della colonna, ricondizionamento

# GHOST PEAKS – CAUSE E RIMEDI



usura del setto e/o della colonna

sostituzione o nel caso della colonna, ricondizionamento



## GHOST PEAKS – CAUSE E RIMEDI

---

flashback, volume vaporizzato di campione che eccede il volume del liner

Uso di un liner di volume maggiore

Uso di solventi con minor coeff. di espansione

Uso di un iniettore PTV

Iniettare meno



# FLASHBACK EFFECT PROBLEM

---

## **Cause:**

Volume del solvente vaporizzato è maggiore del volume fisico del liner

## **Dove:**

Si manifesta in modalità splitless ed in particolare con iniettori di tipo SSL

## **Soluzioni:**

Uso di un liner di volume maggiore

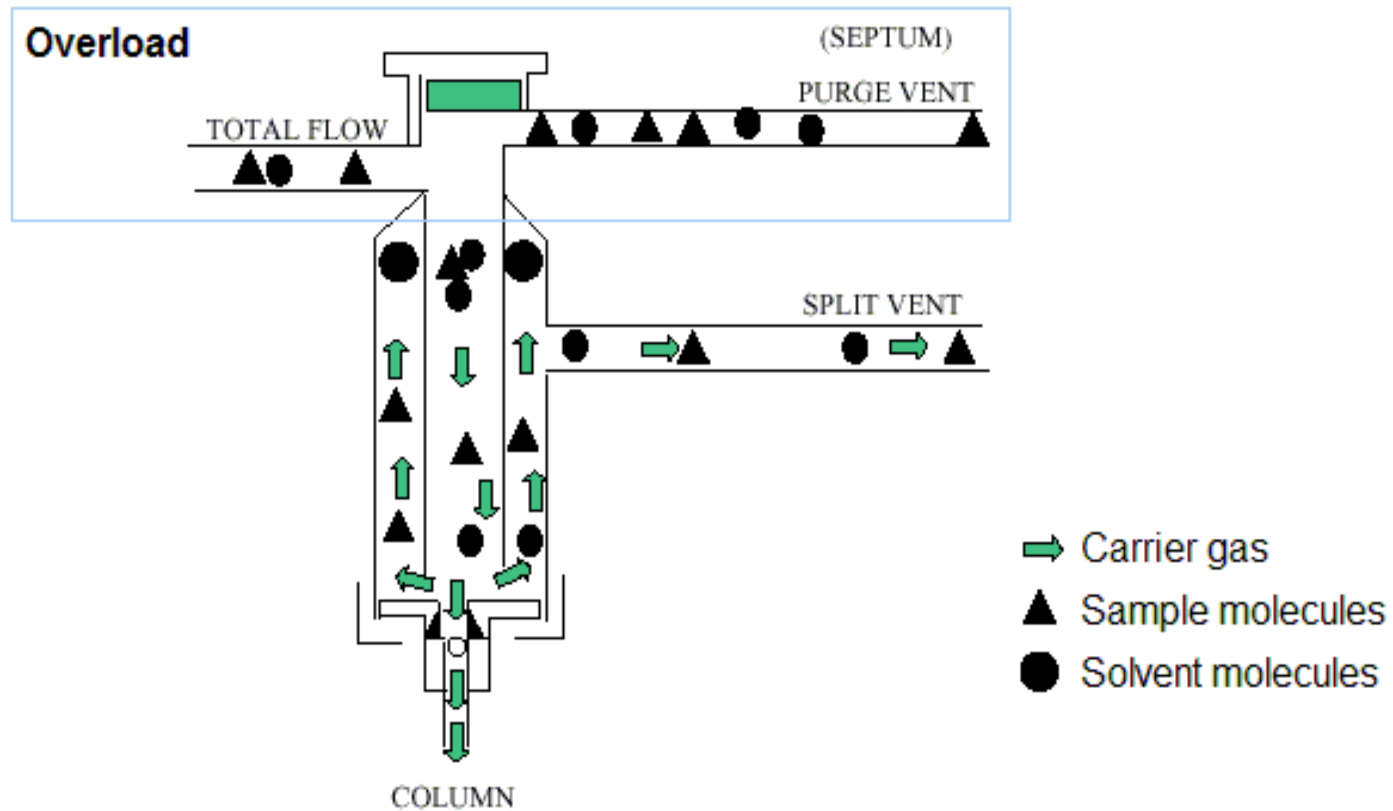
Uso di solventi con minor coeff. di espansione

Uso di un iniettore PTV

Iniettare meno

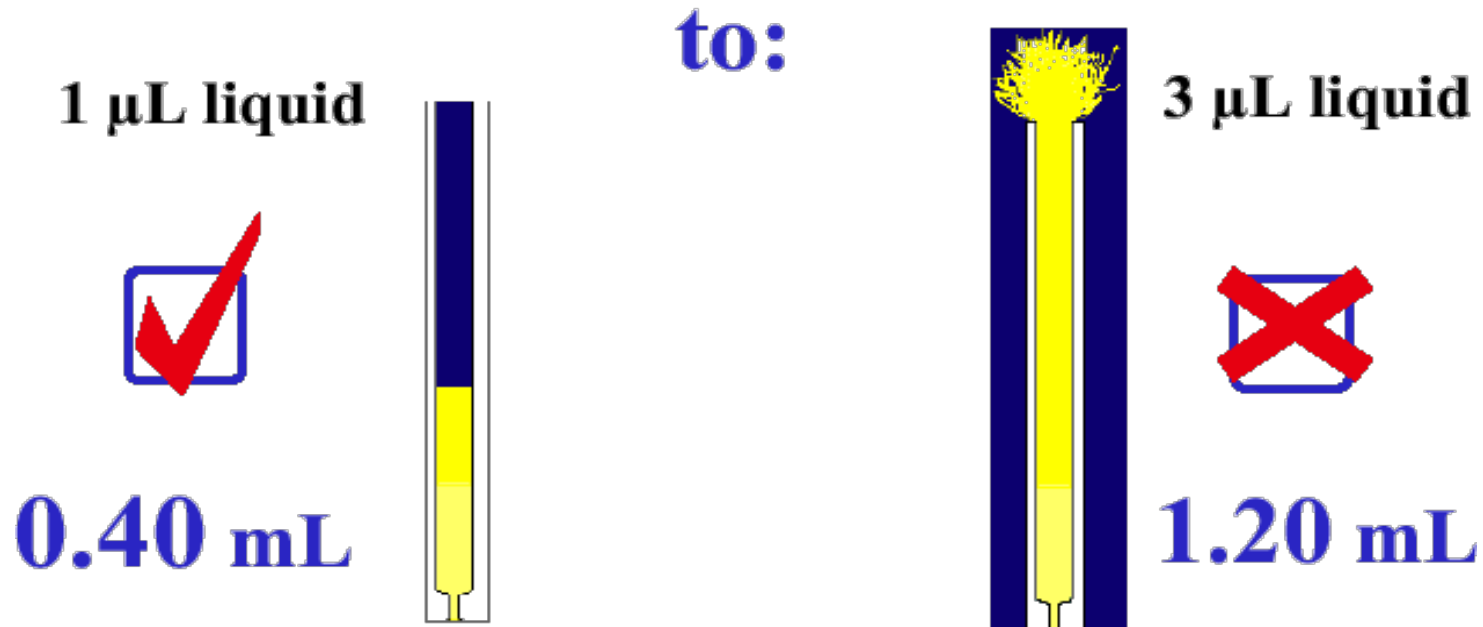
# FLASHBACK EFFECT PROBLEM

## Capillary flow diagram: Inlet liner overload



# FLASHBACK EFFECT PROBLEM

**Methylene chloride at 250°C and 10 psi inlet pressure will expand**



## GHOST PEAKS – CAUSE E RIMEDI

---

flashback, volume di campione che eccede il volume del liner

Uso di un liner di volume maggiore

Uso di solventi con minor coeff. di espansione

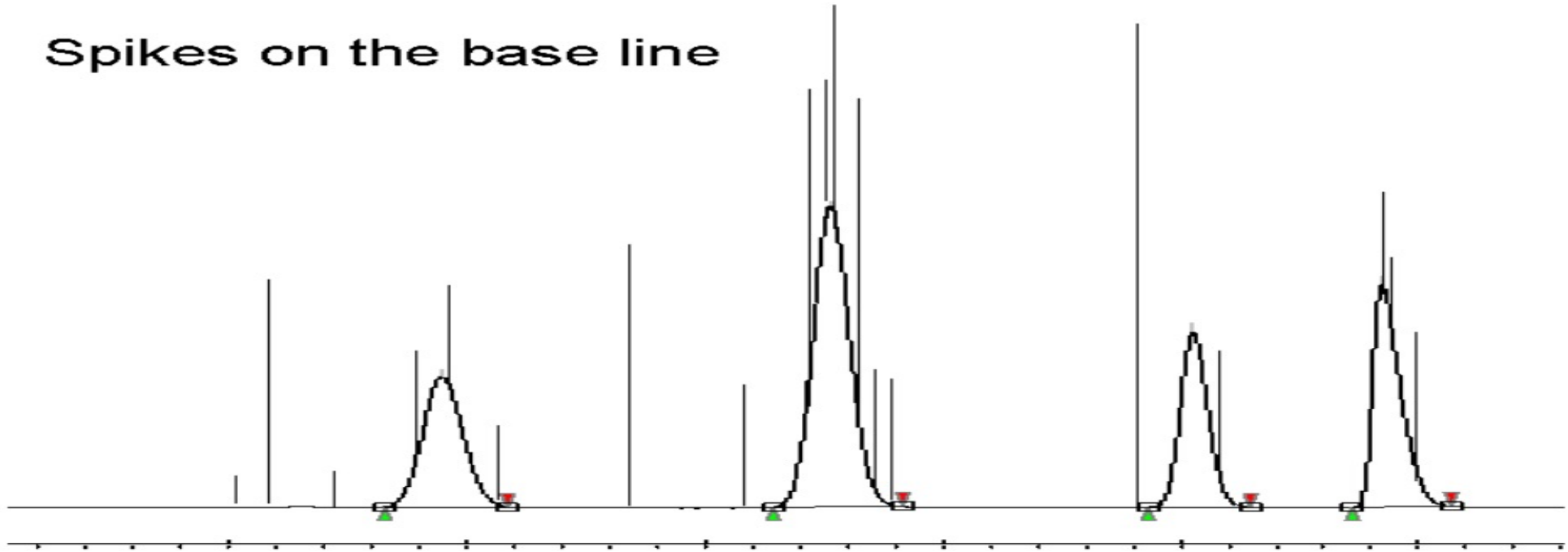
Uso di un iniettore PTV

Iniettare meno



## SPIKES – CAUSE E RIMEDI

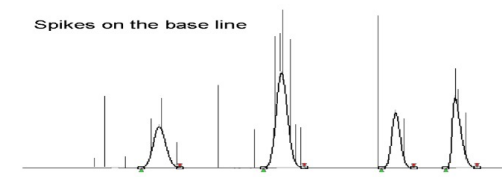
### Spikes on the base line



Non sono picchi cromatografici, ma linee di segnale della durata di decimi o centesimi di secondo che attraversano il cromatogramma verticalmente, a volte anche sotto la linea di base, tipico dei detector analogici (FID, ECD, NPD, FPD...)

## SPIKES – CAUSE E RIMEDI

---



estremità della colonna nel detector compromessa, cessione di parti (FID)

tagliare qualche centimetro di colonna, eventualmente pulire il detector

problema elettronico, specie se si presenta con spike negativi, sotto la linea di base

chiamare assistenza tecnica

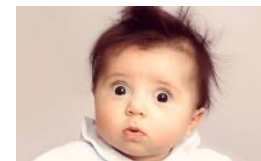
# NO PEAKS – CAUSE E RIMEDI





## NO PEAKS – CAUSE E RIMEDI

---



siringa otturata (linea di base presente)

verificare che la siringa non sia otturata

problema detector (linea di base non presente)

chiamare assistenza tecnica

---

*Grazie per l'attenzione*



[dfchimica.it](http://dfchimica.it)

