

# ● Introduzione alla Gascromatografia

dott. Davide Facciabene

GC & GC-MS Product Specialist at Thermo Fisher Scientific

VL. Leopardi 31/C - Montevarchi (AR)

3 e 4 Settembre 2013



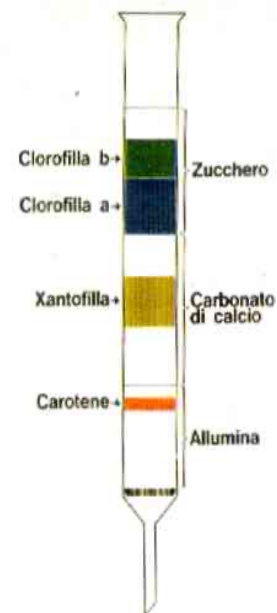
# STORIA DELLA CROMATOGRAFIA



Il nome più importante e noto al quale associare il concetto di cromatografia è quello del botanico russo Mikhail Tswett (1872-1919). Nel **1906** pubblicò un libro dove descriveva la separazione e l'isolamento dei pigmenti clorofilliani presenti nei cloroplasti delle cellule algali.

Egli usò questa tecnica per separare i differenti pigmenti algali facendoli passare attraverso una colonna di vetro impaccata con particelle fini di carbonato di calcio: le specie venivano separate dalla pressione esercitata dal solvente (etere di petrolio). Mentre il solvente passava attraverso la colonna i pigmenti si muovevano e si separavano aparendo come bande colorate con diverse gradazioni dal giallo al verde. Fu per questo motivo che chiamò il processo “**cromatografia**”: deriva dall'unione di 2 parole greche chroma che significa “colore” e graphein che significa “scrivere”

Tswett è il responsabile della maggior parte della nomenclatura che attualmente viene utilizzata in cromatografia.



# NOBEL & CROMATOLOGRAFIA

Le sue applicazioni sono cresciute in modo vertiginoso nell'ultimo mezzo secolo, non solo a causa dello sviluppo di nuove tecniche cromatografiche ma anche dal crescente bisogno da parte degli scienziati di metodi sempre più efficaci per la caratterizzazione di miscele complesse. L'impatto incredibile che queste tecniche hanno avuto per la scienza è testimoniato dall'assegnazione del premio Nobel nel **1952** a **J.P. Martin e R.M. Synge** per le loro scoperte in questo campo. E dalla serie di dodici premi Nobel assegnati tra il **1937** e il **1972** per lavori in cui la cromatografia riveste un ruolo fondamentale.

# DEFINIZIONE DI CROMATOLOGRAFIA

---

Proposta dall'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) nel 1993:

**“la cromatografia è un metodo fisico di separazione nel quale i componenti da separare vengono distribuiti tra due fasi: una denominata stazionaria e l'altra mobile.”**

... è il mezzo più diffuso per realizzare separazioni analitiche di componenti chimici presenti in una miscela...

La cromatografia è un metodo molto efficace e trova applicazioni in tutte le branche della scienza. Può separare gas, sostanze volatili attraverso la GasCromatografia (GC), i composti non volatili e i materiali polimerici incluse le sostanze biologiche attraverso la Cromatografia Liquida (LC)

# CROMATOGRAFIA

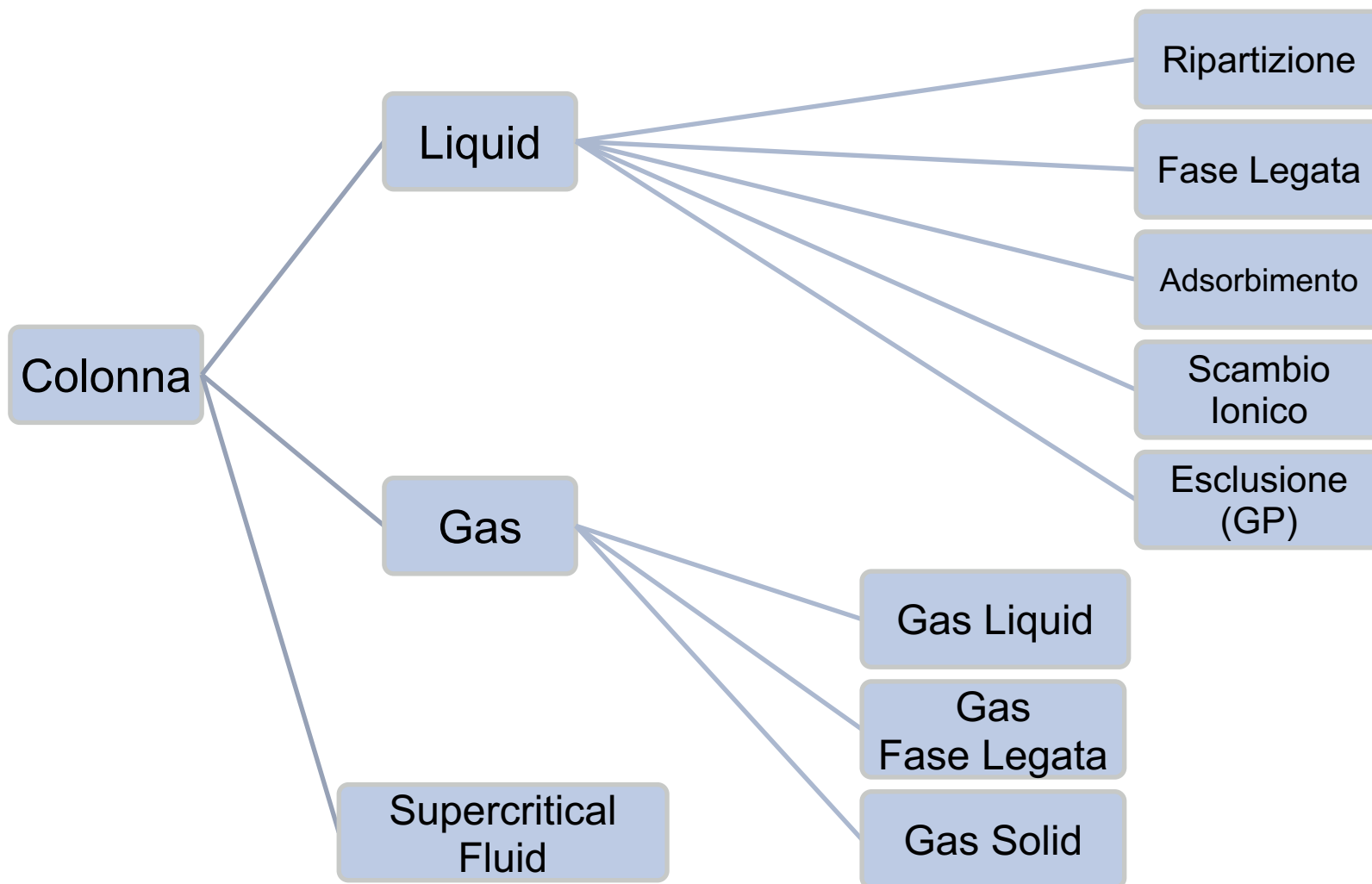
---

In tutte le separazioni cromatografiche il campione viene disciolto in una **fase mobile**, che può essere un gas, un liquido o un fluido supercritico. Questa fase mobile viene poi fatta passare attraverso una **fase stazionaria**, immiscibile, riposta in una colonna o su una superficie solida.

Ogni singolo analita contenuto nel campione in esame, presenta una diversa affinità sia con la fase mobile che con la fase stazionaria. Questa differenza permette la separazione dei singoli composti. Tecnicamente parlando si definisce “RISOLUZIONE” di una miscela.

Alla base della cromatografia ci sono tutta una serie di principi fisici che ne classificano le varie tecniche (GLC, GSC, Ripartizione, Adsorbimento, ecc. ecc.).

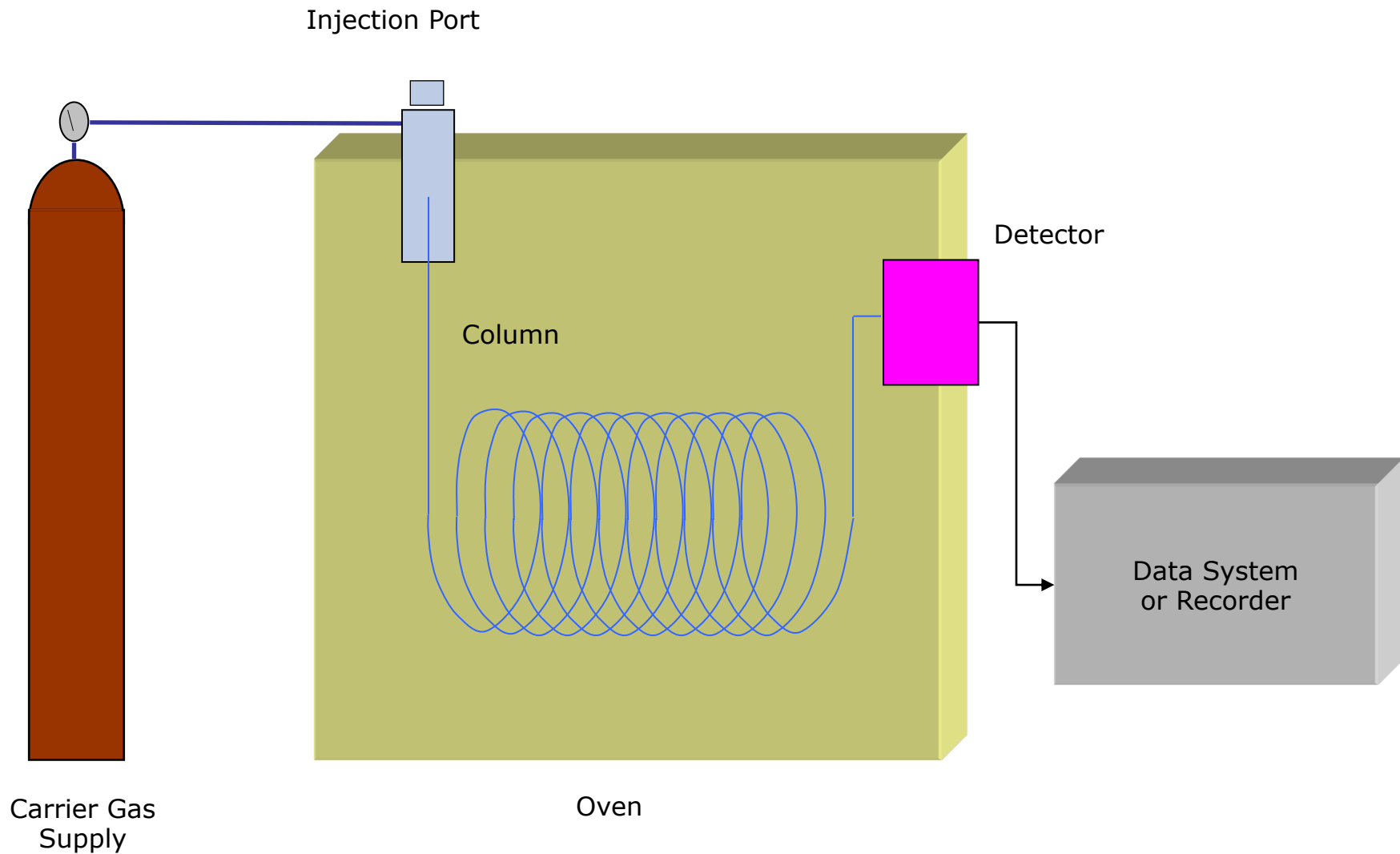
# CROMATOGRAFIA



# GASCROMATOGRAFO



# SCHEMA DI UN GASCROMATOGRAFO





# GASCROMATOLOGRAFIA

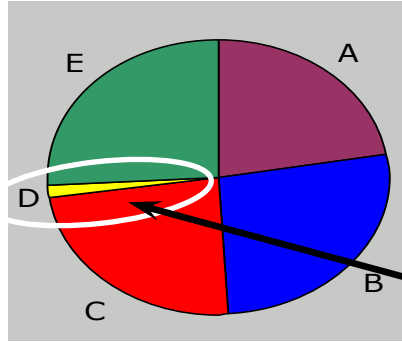
**UN COMPOSTO PER POTER ESSERE ANALIZZATO IN GC**

**DEVE AVERE SUFFICIENTE VOLATILITA' E STABILITA' TERMICA**

Ciò significa che devono avere un'apprezzabile volatilità a temperature uguali o inferiori a 400-500 °C e, a queste temperature, devono vaporizzare senza decomporsi e/o reagire.

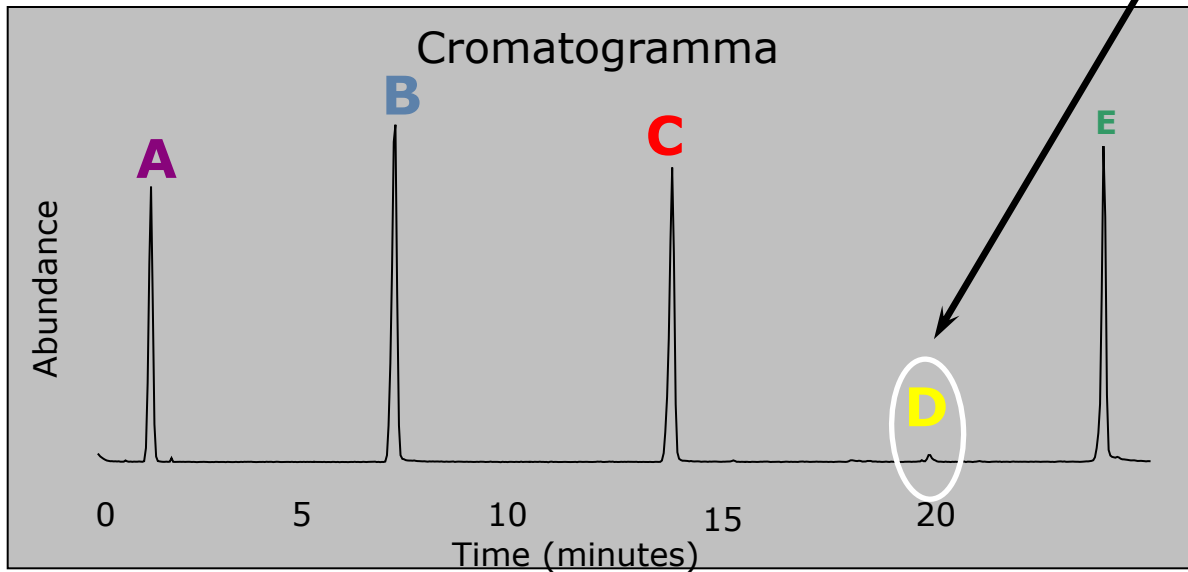
Con il termine volatilità si intende, oltre che del punto di ebollizione, anche di altre caratteristiche chimico-fisiche delle molecole in esame come il peso molecolare, la sua polarità.....

# GASCROMATOGRAFIA



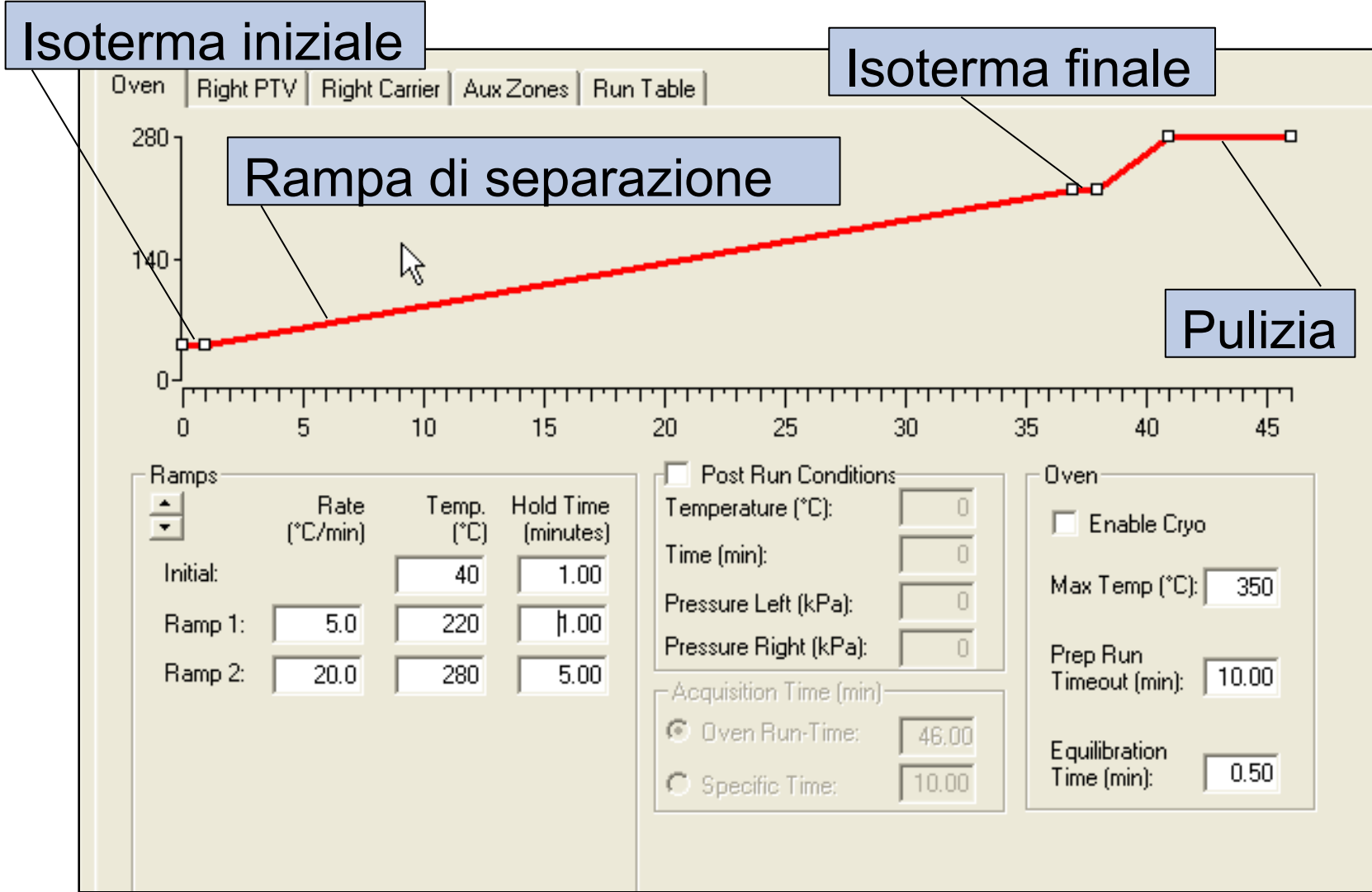
Campione

L'abbondanza di un picco (area o altezza) è proporzionale alla concentrazione della sostanza nel campione in esame.



Il tempo impiegato da una sostanza per uscire dalla colonna è definito come TEMPO di RITENZIONE, ed è un dato caratteristico.

# PROGRAMMA TERMICO



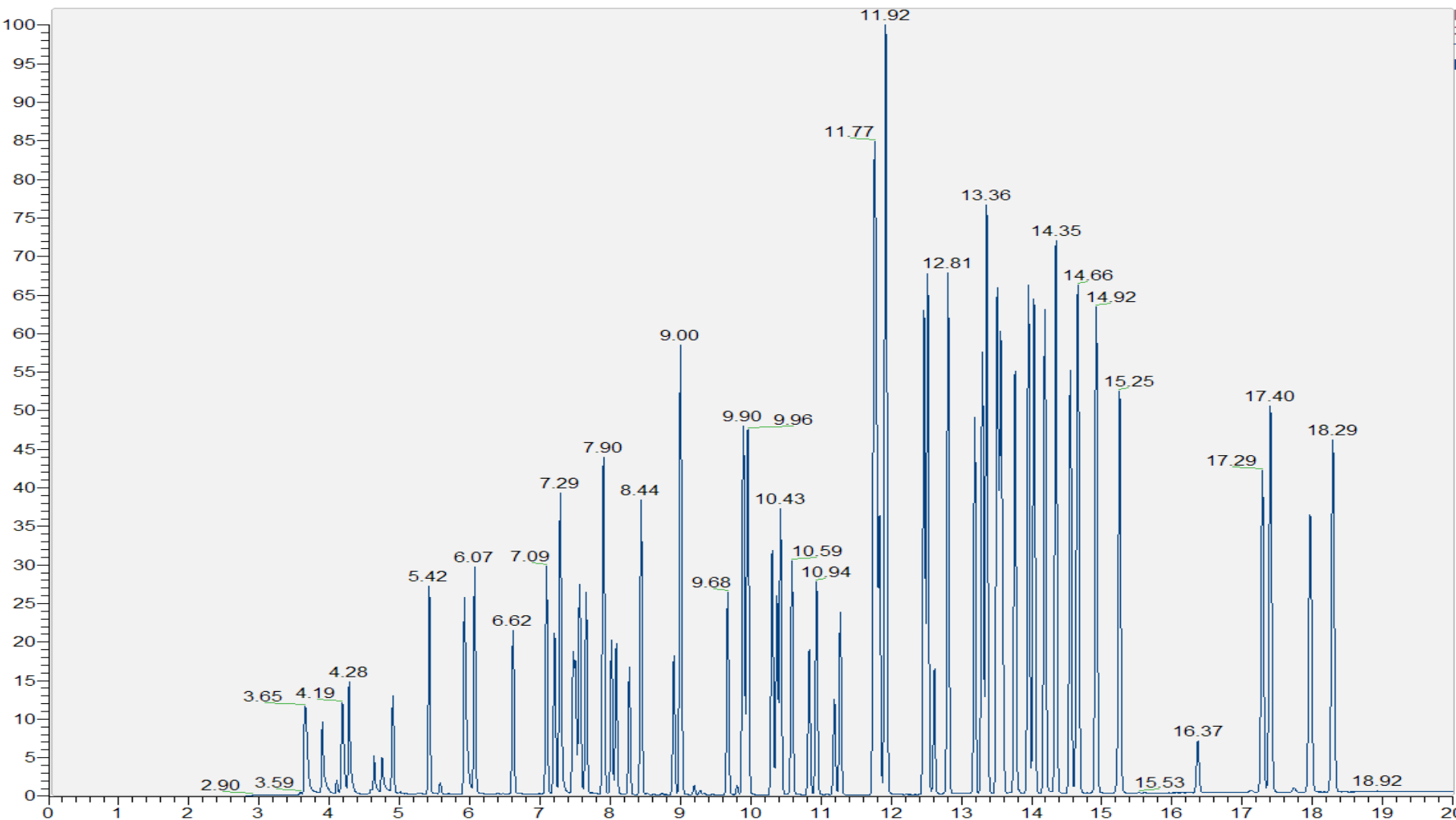
# PROGRAMMA TERMICO

---

Fa sì che tutti gli analiti vengano eluiti in un tempo ragionevole, con un fattore di capacità ottimale, ottenendo:

- ☞ Tempi brevi, anche quando l'intervallo di punti di ebollizione degli analiti è molto ampio (sia basso bollenti che alto bollenti)
- ☞ Picchi di larghezza simile per tutti gli analiti
- ☞ Picchi di altezza comparabile per tutti gli analiti (a parità di concentrazione e risposta)
- ☞ Picchi simmetrici

# GASCROMATOGRAFIA



# NOMENCLATURA

**Baseline** : Linea di Base

**Peak** : Picco (area/altezza)

**Base Peak** : Base del picco

**Peak With** : Larghezza alla base del picco (sec)

**FWHM** : Larghezza a metà altezza del picco (sec)

**S/N** : Rapporto segnale/rumore (RMS)

**RT** : Tempo di ritenzione (min, centesimi di sec)

**RRT** : Tempo di ritenzione relativo (adimensionale)

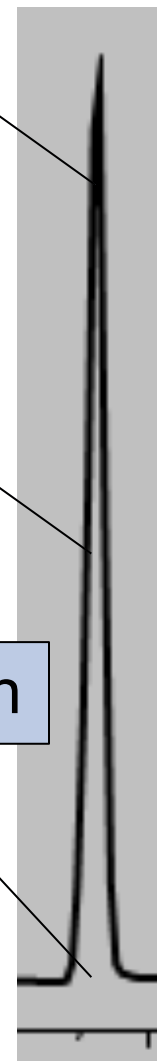
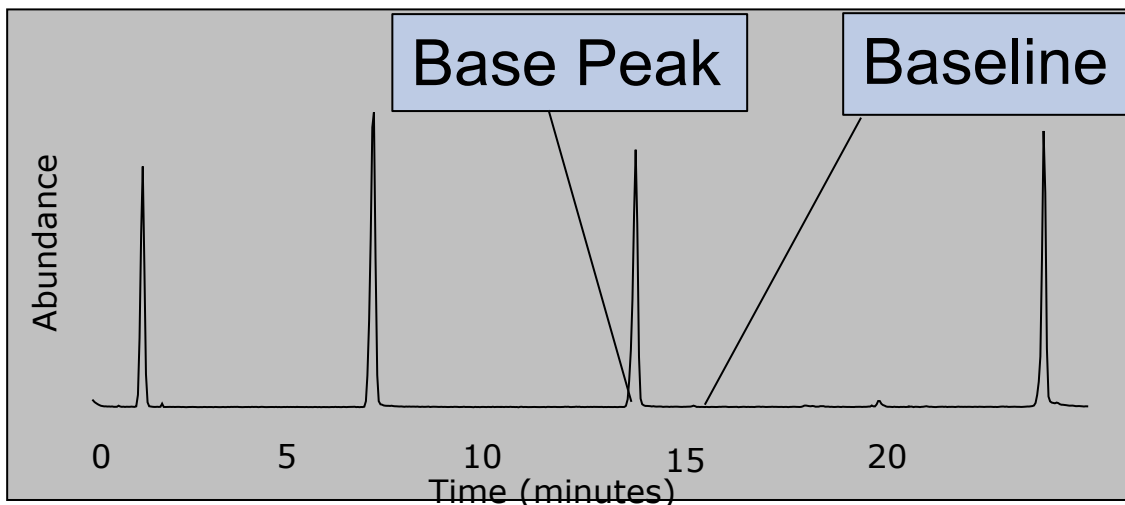
**RF** : Response Factor (area / concentrazione)

**RRF** : Relative RF (adimensionale)

RT / RRT

FWHM

Peak With



# TEORIA

---

**Velocità lineare media del soluto ( $v$ )**

**Coefficiente di distribuzione ( $K$ )**

**Fattore di capacità ( $k'$ )**

**Selettività ( $\alpha$ )**

**Risoluzione ( $R$ )**

**Modello dei piatti teorici ( $H$ )**

**Equazione di Van Deemeter (HETP)**

# VELOCITA' LINEARE

**Velocità lineare media di migrazione del soluto (v):** è data dal tempo che una sostanza non trattenuta impiega a percorrere tutta la lunghezza della colonna

$$v = L / t_R$$

L è la lunghezza della colonna

v è la velocità lineare espressa in cm/s

È funzione della temperatura della colonna, quindi la temperatura deve essere mantenuta costante quando la velocità viene misurata. In pratica si imposta la pressione in testa alla colonna variandola fino ad ottenere il tempo di ritenzione desiderato dell'analita non trattenuto.



# COEFFICIENTE DI DISTRIBUZIONE

**Coefficiente di distribuzione (K)** = è il rapporto tra la concentrazione molare di analita presente nella fase stazionaria e la concentrazione dell'analita presente nella fase mobile.



Questo coefficiente si potrebbe misurare lasciando equilibrare il soluto tra volumi definiti di fase stazionaria e di fase mobile;  $C_s/C_m$   
 $C_s$  è la concentrazione del soluto nella fase stazionaria all'equilibrio e  
 $C_m$  è la concentrazione del soluto sempre all'equilibrio nella fase mobile.

# FATTORE DI CAPACITA'

**Fattore di capacità ( $k^1$ ):** è la misura del tempo che un determinato composto impiega ad attraversare la colonna in rapporto al tempo impiegato da un composto non trattenuto

$$\frac{t_r - t_m}{t_m}$$

Quando un analita ha un fattore di capacità minore di 1 allora vuol dire che l'eluizione è così veloce che una determinazione accurata del tempo di ritenzione è molto difficile. Alti fattori di capacità (> di 20) favoriscono una buona separazione ma indicano che l'eluizione ha tempi molto lunghi.

**Fattori di capacità ottimali sono compresi fra 1 e 5.**

**Per ottenere fattori di capacità ottimali PER TUTTI GLI ANALITI si può agire incrementando la temperatura del forno (programmata termica).**

# SELETTIVITA'

**Selettività o fattore di separazione (alfa)** = è la capacità di un sistema cromatografico di ottenere picchi separati.

$$\alpha = k_B^1 / k_A^1$$

$\alpha$  è sempre maggiore di 1

$k_B^1$  è il fattore di capacità della specie B più trattenuta

$k_A^1$  è il fattore di capacità della specie A meno trattenuta

Ma poiché  $k'$ :

$$\frac{t_r - t_m}{t_m}$$

**alfa viene quindi definito come il rapporto tra il tempo di ritenzione dei due analiti in esame.**

$$\alpha = t_B / t_A$$

# RISOLUZIONE

La risoluzione di una colonna (R) è la misura quantitativa della sua efficienza nella separazione di due analiti

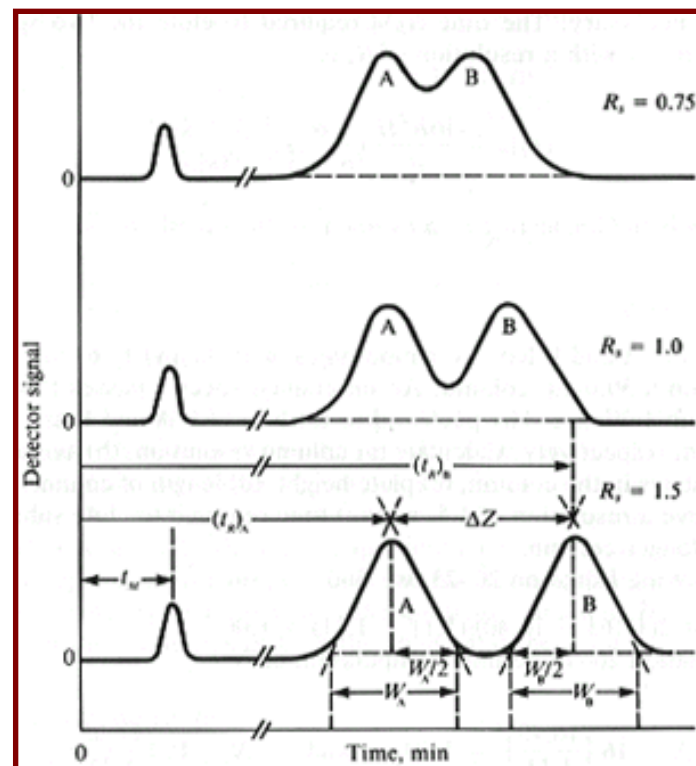
$$R = \frac{2 (t_{R2} - t_{R1})}{(w_{b1} + w_{b2})}$$

$R = 1$  i due picchi aventi aree uguali sono separati approssimativamente al 98% della base

$R = 1,5$  i due picchi aventi area uguale sono separati al 99,7%.

Le colonne capillari generalmente presentano risoluzione migliore di quelle impaccate.

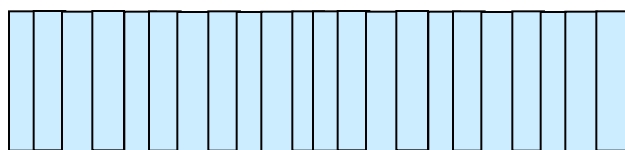
Un aumento o della temperatura o di pressione diminuisce la risoluzione



# IL MODELLO DEI PIATTI TEORICI

L'origine della teoria nasce da uno studio pionieristico di **Martin e Synge** in cui gli autori trattarono la colonna come se fosse costituita da numerosi strati sottili contigui ma discreti, chiamati **piatti teorici**.

La teoria si fondava sull'assunzione che in ciascun piatto gli analiti fossero in equilibrio fra fase mobile e fase stazionaria. Il movimento dell'analita lungo la colonna fu trattato come un trasferimento discontinuo della fase mobile in equilibrio da un piatto al successivo.



← **colonna**

**Piatto teorico**

# EFFICIENZA

È importante ricordare che i piatti teorici non esistono realmente; essi sono immaginari e servono solo per meglio far capire come lavora una colonna. Servono anche per ottenere una misura quantitativa dell'efficienza della colonna stessa, per far ciò si utilizzano due parametri tra loro correlati:

Altezza di un piatto teorico (H)

$$H = L/N$$

**L** è la lunghezza del riempimento della colonna (cm).

Il numero di piatti teorici (N)

$$N = 5,54 t_R^2 / W_{h/2}^2$$

**N** il numero di piatti teorici in una colonna.  
**W<sub>h/2</sub>** è la larghezza del picco presa a metà altezza

**L'efficienza di una colonna aumenta all'aumentare dei piatti teorici, diminuisce cioè con l'altezza di un singolo piatto.**

$$\text{HETP} = A + B/u + Cu$$

**HETP** : efficienza, in termini altezza del piatto teorico  
è *funzione della velocità della fase mobile u*

**A** : diffusione vorticososa (*inutile per GC*)

**B** : diffusione longitudinale (*allargamento del picco*)

**C** : trasferimento di massa (*cinetica di adsorbimento/desorb*)

L'efficienza di una colonna aumenta con l'aumentare del numero dei piatti teorici, diminuisce cioè con l'altezza di un singolo piatto (HETP)

# LUNGHEZZA DI UNA COLONNA

Efficienza media e tempi di ritenzione delle colonne GC in funzione della lunghezza

| Lunghezza (m) | N      | $t_R$ (min) |
|---------------|--------|-------------|
| 30            | 155000 | 15.2        |
| 60            | 304000 | 36.8        |
| 120           | 550000 | 82.4        |
| 150           | 719000 | 125.0       |

Colonna lunghe aumento dell'efficienza ma anche aumento della durata delle analisi



# DIAMETRO INTERNO DI UNA COLONNA

Efficienza tipica delle colonne GC in funzione del diametro interno

|                      | ID<br>(mm) | N    |
|----------------------|------------|------|
| Colonne capillari    | 0.20       | 5000 |
|                      | 0.25       | 4200 |
|                      | 0.32       | 3300 |
|                      | 0.53       | 1600 |
|                      | 0.75       | 1200 |
| Colonne<br>impaccate | 2          | 2000 |

se si riduce il  
diametro  
l'efficienza  
migliora.

# MIGLIORAMENTO DELLA SEPARAZIONE

---

**La Risoluzione (R) o separazione dei picchi cromatografici dipende da:**

- **Scelta fase stazionaria**
- **Scelta fase mobile**
- **Temperatura**
- **Lunghezza colonna**

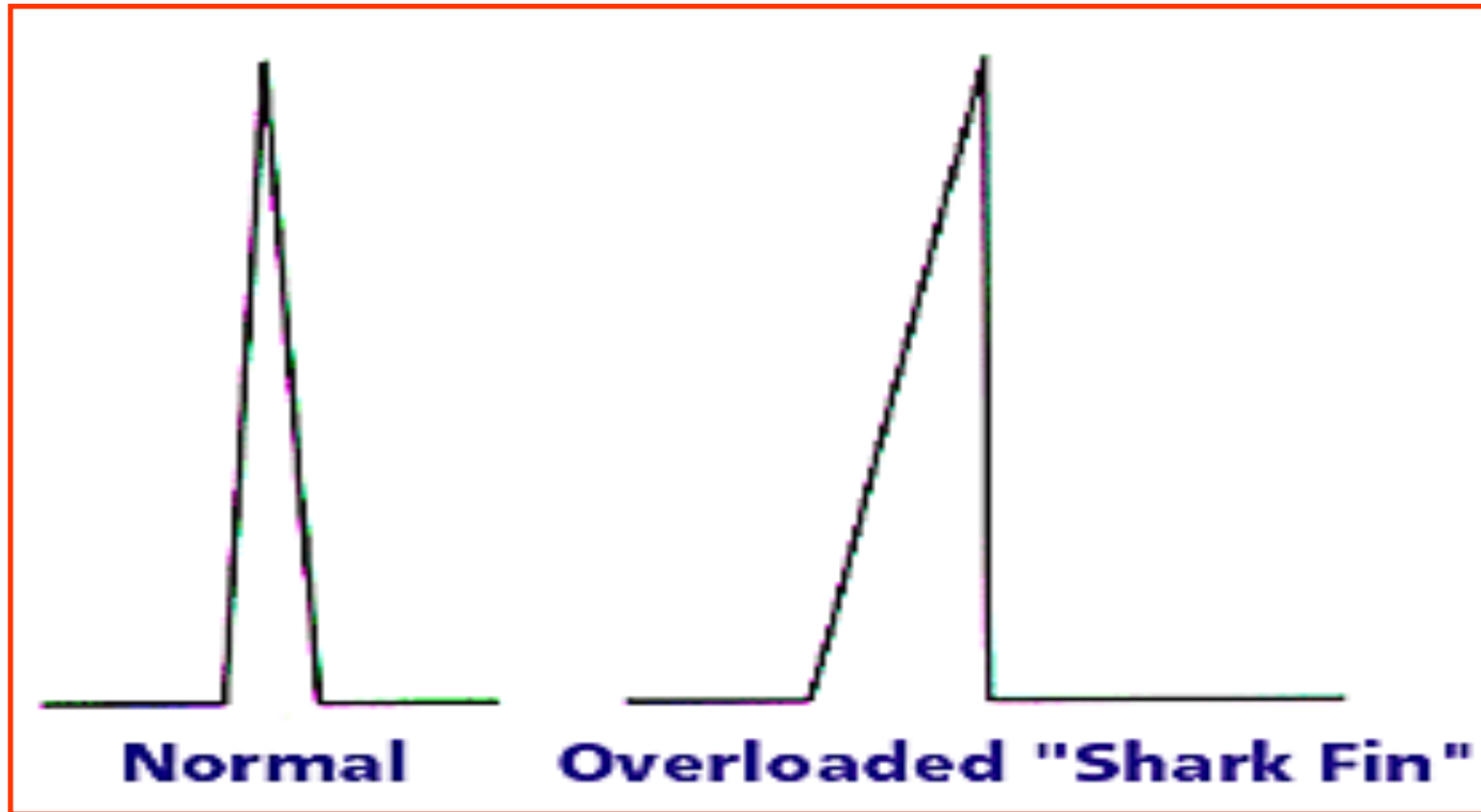
**L' Efficienza (H) o allargamento dei picchi cromatografici dipende da:**

- **Fattori costruttivi (geometria)**
- **Riempimento della colonna (film thickness, particle size)**
- **Velocità fase mobile**

# FORMA DEL PICCO CROMATOGRAFICO

NORMALE

SOVRACCARICO

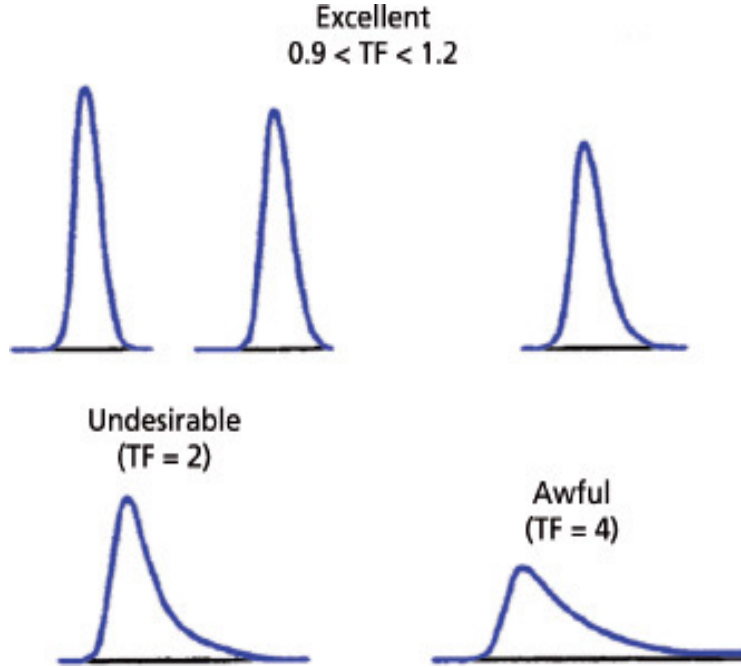
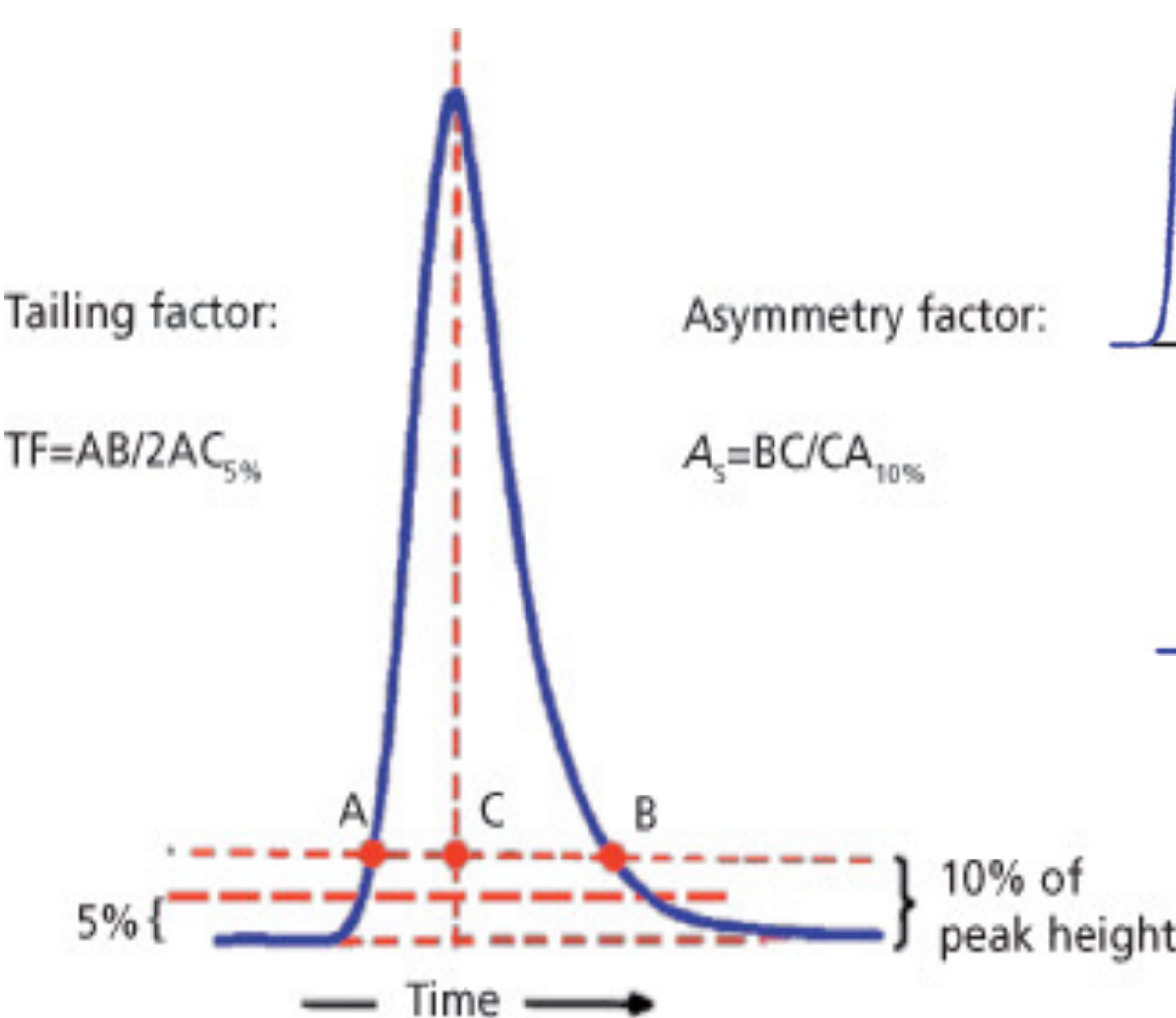


**Normal**

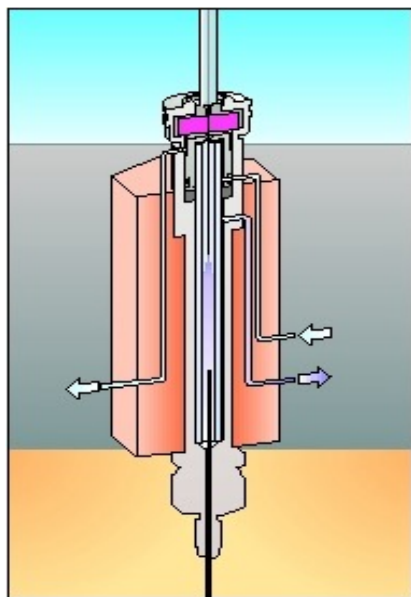
**Overloaded "Shark Fin"**

tempo

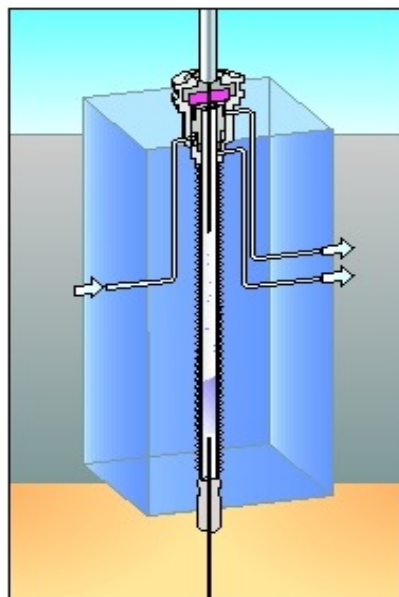
# FATTORE del PICCO CODATO o di ASIMMETRIA



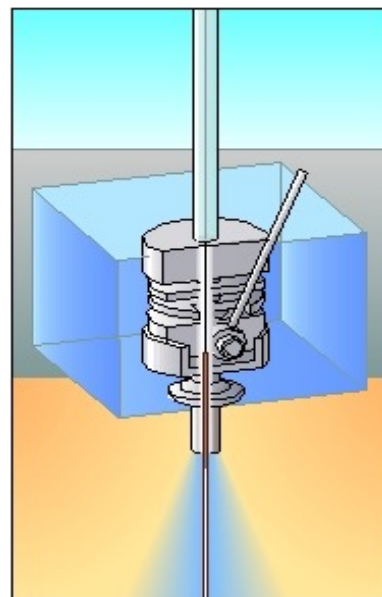
# INIETTORI



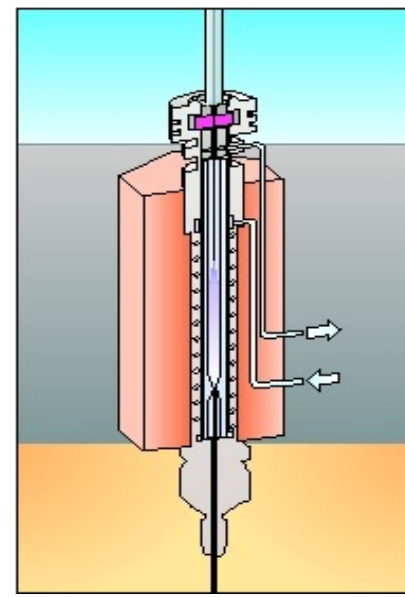
SPLIT/SPLITLESS



PTV



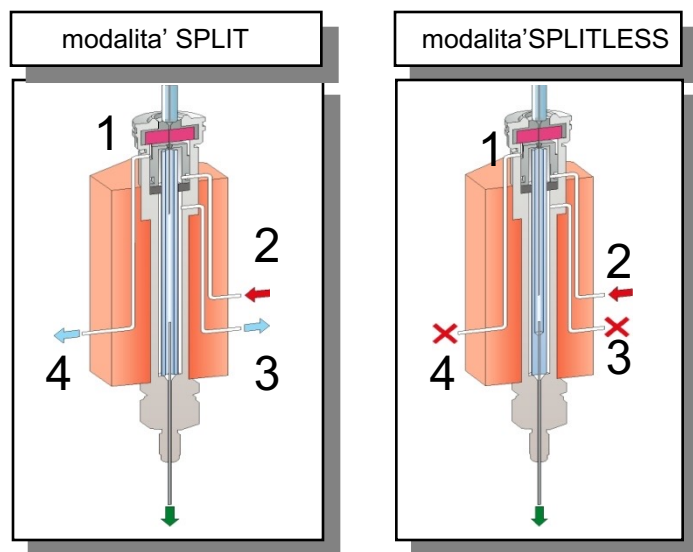
ON COLUMN



PKD / PKDD

# SPLIT / SPLITLESS (SSL)

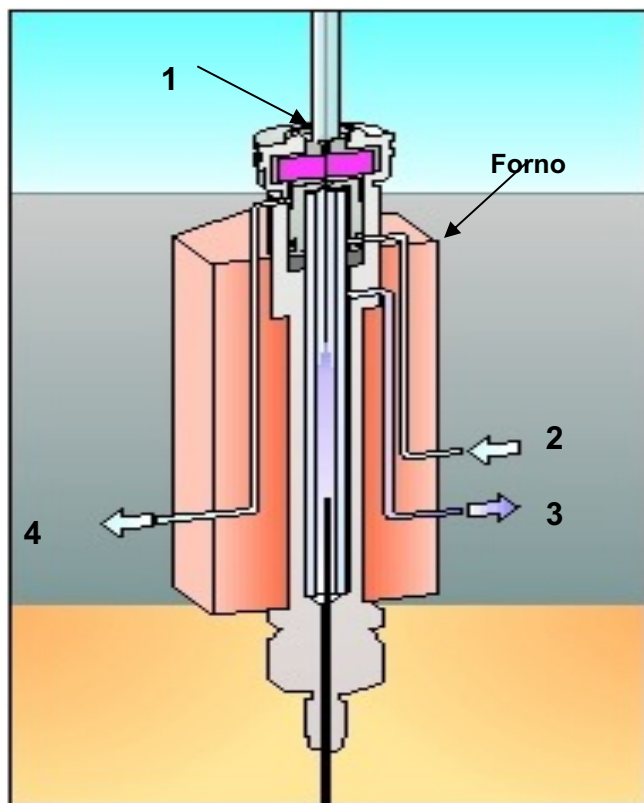
Iniettore a caldo per colonne capillari a temperatura costante impostata dall'operatore. SSL è l'iniettore attualmente più diffuso ed è utilizzabile con tutti i campioni.



- 1: ingresso campione
- 2: ingresso gas di trasporto (*carrier*)
- 3: linea di splittaggio
- 4: linea di lavaggio testa iniettore (*purge*)

*La tecnica di iniezione splitless è nata da osservazioni sperimentali di iniezioni sbagliate con split chiuso eseguite nel 1968 da Grob.*

# SPLIT / SPLITLESS (SSL)



L'iniezione split/splitless può essere schematizzata così:

Il campione (1-2 $\mu$ l) introdotto dall'alto mediante una siringa arriva in una camera cilindrica chiamata "liner" dove per effetto dell'alta temperatura (200-300°C) tutti i componenti evaporano completamente. La miscela gassosa risultante viene trasferita in colonna dal flusso del gas di trasporto.

Operando in modalità **splitless** la via 3 è chiusa e tutto il campione viene trasferito in colonna.

Operando in modalità **split** con via 3 aperta parte del campione iniettato viene fatto fuoriuscire proprio dalla via 3. In questo modo non tutto il campione viene trasferito in colonna.

# INIEZIONE SPLIT

**Solo una frazione del campione viene iniettato in colonna.**

Lo splitter è costituito da una camera di iniezione termostata a elevata temperatura, in cui il campione evapora rapidamente e si miscela con il gas di trasporto.

All'uscita la miscela si distribuisce tra l'ingresso in colonna e il condotto di split, secondo i rapporti impostati dall'operatore agendo su una valvola.

Il flusso del gas di trasporto viene suddiviso in due parti: una diretta verso il setto che chiude la camera di iniezione per mantenerlo sempre pulito (flusso di purge: 10 ml/min regolato dalla valvola di Purge); l'altra, invece, trascina il campione parte in colonna e parte verso il condotto esterno (regolato dalla valvola di Split).



# INIEZIONE SPLITLESS

---

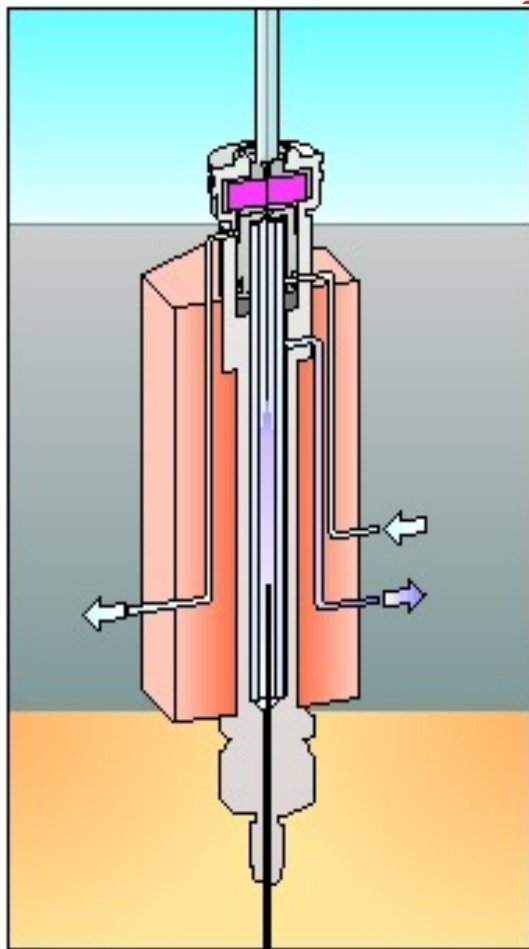
**Tutto il campione viene iniettato in colonna.**

Tutto il campione, compreso il solvente, viene introdotto in colonna.

Questo permette di rilevare i composti e le impurezze in tracce ( la tecnica si usa per rilevare componenti in concentrazioni molto basse), ma la separazione cromatografica peggiora e così anche la forma dei picchi.

**Per ripristinare la forma corretta dei picchi è opportuno usare la tecnica del “solvent refocusing”:** il solvente, dopo l’iniezione, viene ricondensato in colonna usando una temperatura iniziale della programmata di temperatura **INFERIORE** alla temperatura di ebollizione del solvente.

# MODALITA' DI INIEZIONE



## **Thermospray** (*ad ago caldo o hot needle*)

- Alta inerzia
  - *Usa di liner vuoti*
- Alta ripetibilità
  - *Evaporazione costante, anche per composti molto volatili*
- Meno sensibile ai contaminanti
  - *Particelle del setto o del campione*

## **Banda liquida** (*ad ago freddo*)

- Large Volume Injection (LVI)
- Bassa discriminazione
  - *No distillazione via ago*
- Basso volume dell'ago
- Ideale per solventi alto bollenti

# LIMITI INIETTORE SSL

---

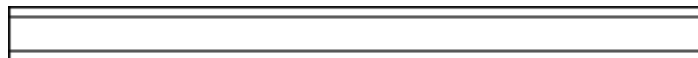
## Temperatura costante

- Discriminante in base alla volatilità/labilità dell'analita
- Non è possibile impostare una fase di pulizia (rischio di cross contamination)
- Tempi relativamente lunghi nel cambio di temperatura

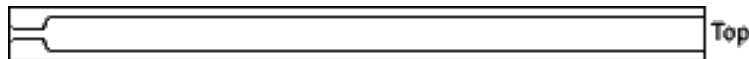
# LINER

Solitamente è un tubo di vetro, internamente reso inerte mediante un processo di silanizzazione, può contenere lana di vetro, vetro sinterizzato o una o più espansioni che servono ad aumentare la superficie di contatto e così migliorare il trasferimento di calore fra la camera di iniezione e i componenti della miscela favorendone la volatilizzazione.

**Split**

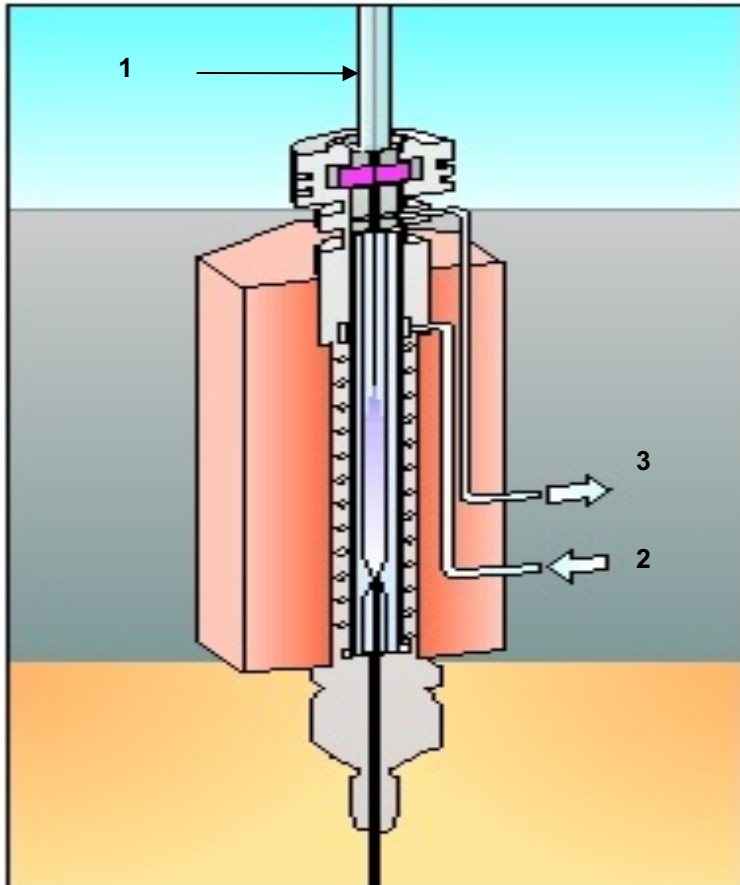


**Splitless**



Diametro interno 3-5 mm

# INIETTORE PKD / PKDD

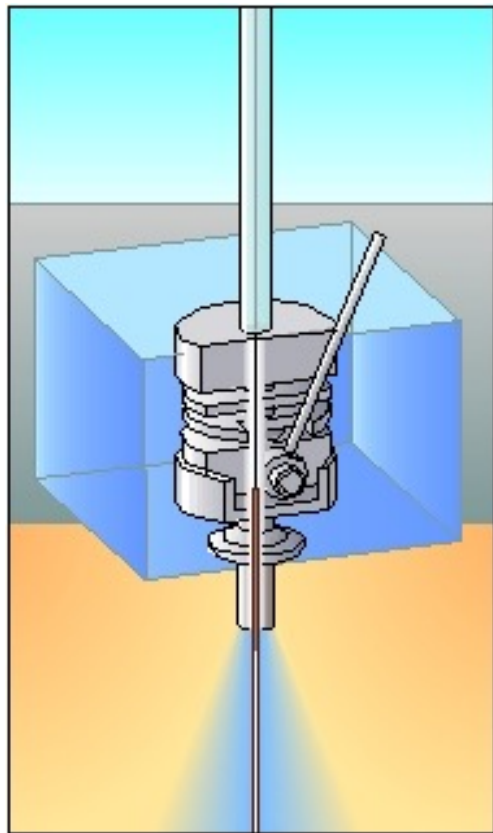


Iniettori a caldo per colonne impaccate a temperatura costante selezionabile dall'operatore. Il PKDD, rispetto al PKD, è dotato di una linea di purge. Sono simili come struttura e funzionamento ad un SSL solo che sono per colonne impaccate.

Non esiste linea di splittaggio perché, avendo le colonne impaccate un'elevata capacità di carico, non è mai necessario eliminare parte del campione.

- 1: ingresso campione
- 2: ingresso gas di trasporto (carrier)
- 3: linea di lavaggio testa iniettore (solo per PKDD)

# INIETTORE ON-COLUMN



Iniezione direttamente in colonna senza una preventiva vaporizzazione.

Sistema di iniezione detto “a freddo” in modo da prevenire l’evaporazione del solvente nell’ago della siringa.

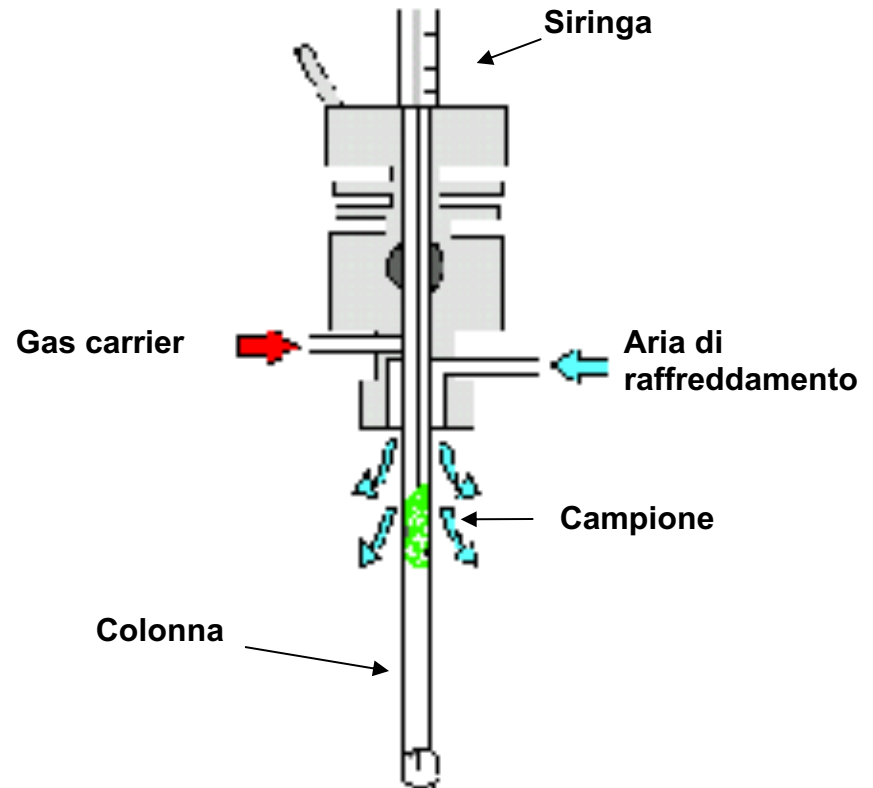
Le siringhe da 1  $\mu\text{l}$  possono iniettare volumi piccoli fino a 0,1 – 0,5  $\mu\text{l}$  in modo sufficientemente riproducibile. Gli aghi usati sono molto sottili, in acciaio o in silice fusa.

# INIETTORE ON-COLUMN

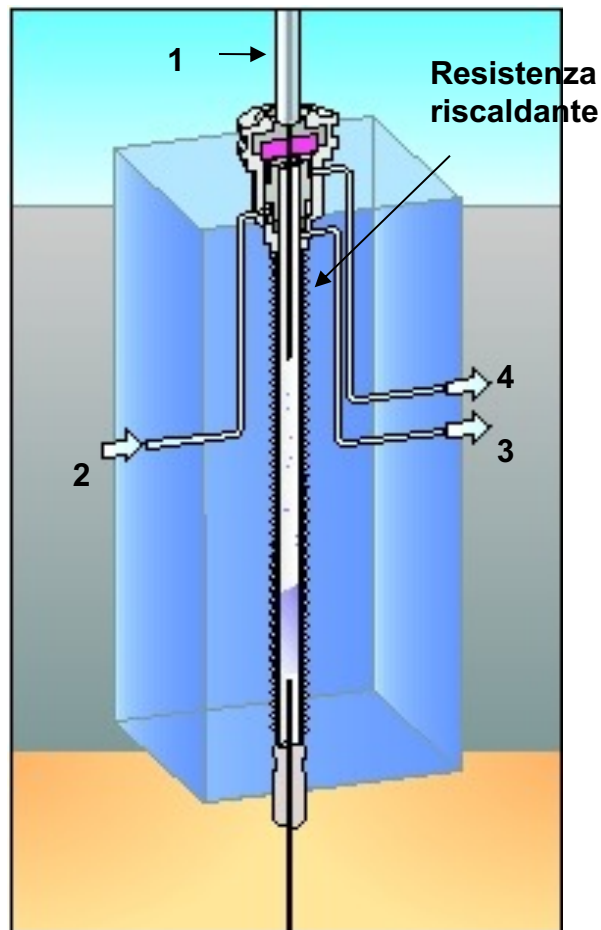
Durante l'iniezione la colonna viene mantenuta ad una temperatura relativamente bassa, molto vicina al p.e. del solvente.

Dal momento che il campione viene iniettato direttamente in colonna si elimina il problema di discriminazione dei componenti altobollenti da quelli bassobollenti.

Indicata per analisi di composti estremamente TERMOLABILI o alto bollenti.



# PTV – Programmed Temperature Vaporizer



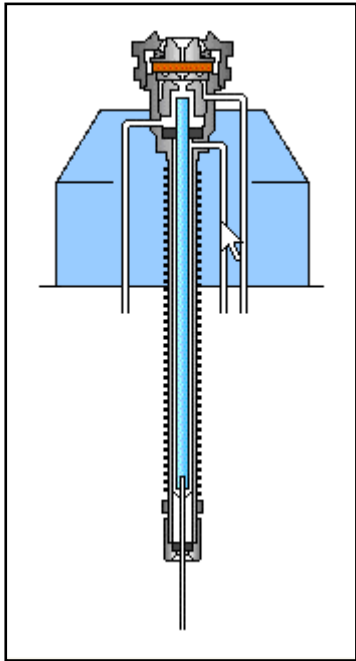
Consente di variare la temperatura durante l'iniezione grazie ad una serpentina riscaldante situata intorno al corpo dell'iniettore. I composti presenti nel campione saranno vaporizzati in funzione del p.e.. Viene effettuata una pre-separazione. L'intera procedura di riscaldamento dura solo pochi secondi per garantire un rapido trasferimento del campione in colonna.

Con questa tecnica si riduce del 90% il problema della perdita dei bassobollenti.

- 1: ingresso campione
- 2: ingresso gas di trasporto (carrier)
- 3: linea di splittaggio
- 4: linea di lavaggio testa iniettore

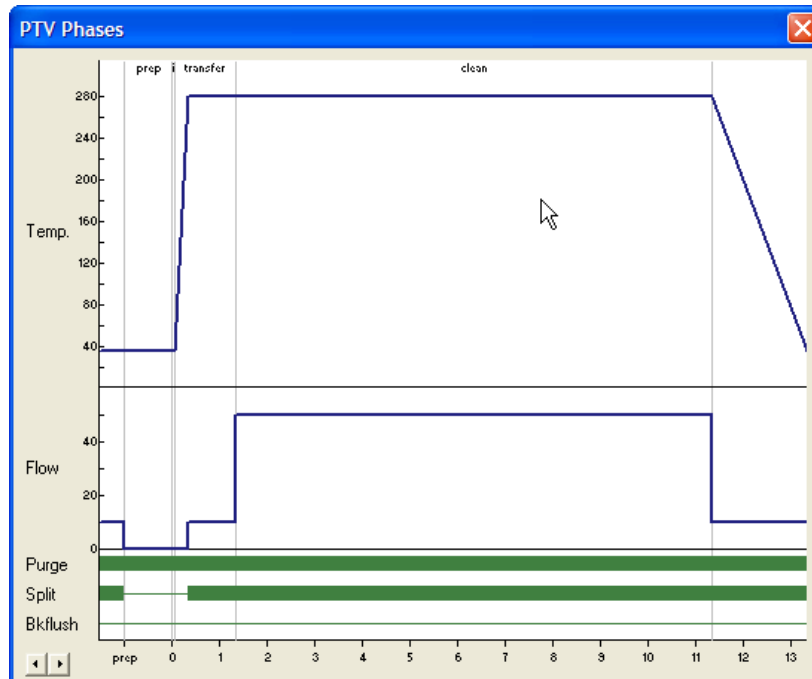


# PTV



| Inlet  |                                   | Injection Phases |                                  |                                   |                                   |                                    |
|--|-----------------------------------|------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Temperature (°C):    | <input type="text" value="35"/>   | Pressure (kPa)   | Rate (°C/sec)                    | Temp. (°C)                        | Time (min)                        | Flow (ml/min)                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> Split Flow (ml/min): | <input type="text" value="10"/>   | Injection:       | <input type="text" value="70"/>  |                                   | <input type="text" value="0.05"/> | <input type="text" value="50"/>    |
| Split Ratio:   | <input type="text" value="10"/>   | Evap.:           | <input type="text" value="140"/> | <input type="text" value="14.5"/> | <input type="text" value="200"/>  | <input type="text" value="1.00"/>  |
| Splitless Time (min):                                    | <input type="text" value="0.00"/> | Transfer:        | <input type="text" value="210"/> | <input type="text" value="14.5"/> | <input type="text" value="280"/>  | <input type="text" value="1.00"/>  |
| <input type="checkbox"/> Solv. Valve Temp. (°C):         | <input type="text" value="100"/>  | Cleaning:        |                                  | <input type="text" value="14.5"/> | <input type="text" value="280"/>  | <input type="text" value="10.00"/> |
|  |                                   |                  |                                  |                                   | <input type="text" value="50"/>   |                                    |

Show Graph...



Indicata per analisi in tracce di composti anche termolabili

# VANTAGGI DEL PTV

---

- Possibilità di variare la temperatura (zero discriminazione)
- Possibilità di variare la pressione
- Iniezione direct LVI (direttamente nel liner) e LVI
- Iniezione on-column
- Modalità Solvent Split
- Fase di pulizia (zero cross contamination)
- Modalità SSL (temperatura costante)

# CONFRONTO FRA DIVERSI SISTEMI DI INIEZIONE

| <b>Sistema</b> | <b>Intervallo p.e. dell'analita</b> | <b>Stabilità termica richiesta</b> | <b>Diametro della colonna (mm)</b> | <b>Frazione campione</b>         |
|----------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| Split          | Basso                               | Buona                              | 0.10-0.75                          | da 1:10 a 1:500<br>Frazione vap. |
| Spiltless      | Anche alto                          | Buona                              | 0.10-0.75                          | Frazione vap.                    |
| On Column      | Anche alto                          | Anche bassa                        | 0.53-0.75                          | Tutto                            |
| PTV            | Qualsiasi                           | Anche bassa                        | 0.10-0.75                          | Da 1:10 a Tutto                  |

# COLONNE

Le colonne sono il cuore del processo di separazione gas-cromatografico

**Esistono due tipi  
di colonne:**

le colonne impaccate (packed columns)



tubolari aperte o capillari (open tubular columns )



# COLONNE CAPILLARI

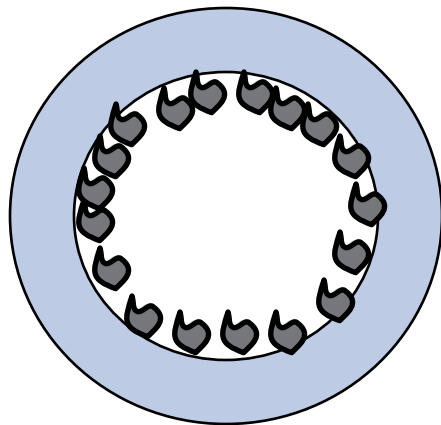
Le colonne capillari vengono suddivise in funzione di come si presenta la fase stazionaria

PLOT (**P**orous **L**ayer **O**pen **T**ubular)

SCOT (**S**upport **C**oated **O**pen **T**ubular)

WCOT (**W**all **C**oated **O**pen **T**ubular)

# PLOT



**PLOT** fase stazionaria costituita solo da particelle porose fatte aderire alle pareti. Hanno un supporto solido poroso.

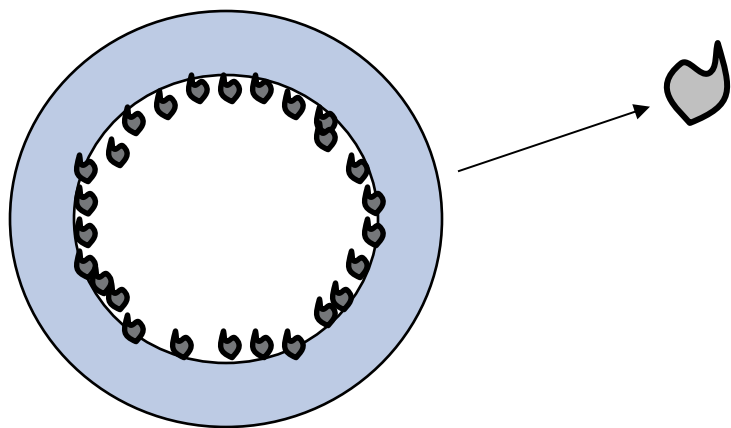
GSC (Gas Solid Chromatography)

Porous Layer Open Tubular column

Indicate per l'analisi dei gas o principi attivi molto volatili

Sconsigliato l'uso con MSD (elevato spurgo di colonna)

# SCOT



Support Coated Open Tubular column

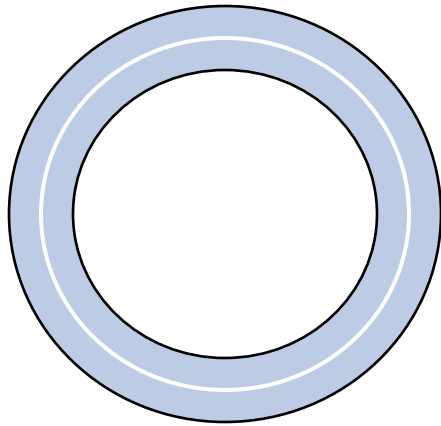
**SCOT** in cui un materiale granulare poroso molto fine, su cui è stato depositato un sottilissimo film di liquido di ripartizione, viene fatto aderire alle pareti della colonna. Vengono ottenute per evaporazione del solvente da una sospensione di supporto ricoperto dalla fase liquida.

GLC (Gas Liquid Chromatography)

Indicate per l'analisi di principi attivi volatili

Sconsigliata per semivolatili ed alto bollenti e MSD (elevato spurgo di colonna)

# WCOT



**WCOT** le pareti interne sono ricoperte (o legate chimicamente) dalla fase stazionaria liquida.

Sono di gran lunga le colonne più usate.

GLC (Gas Liquid Chromatography)

Wall Coated Open Tubular column

Indicate per l'analisi di principi attivi volatili, semivolatili ed alto bollenti

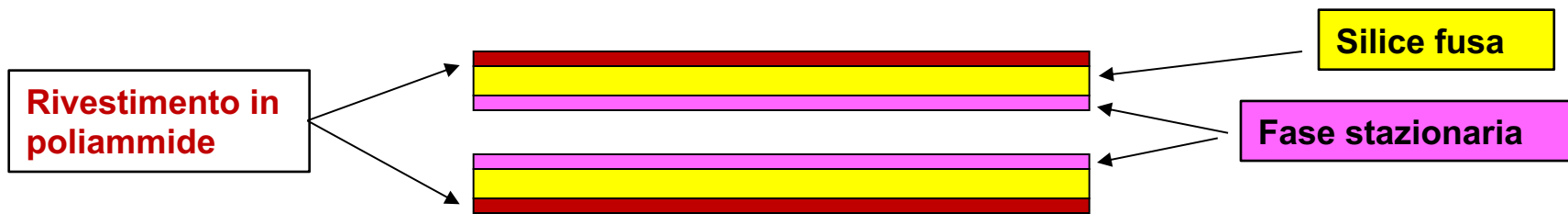
Sconsigliata per gas



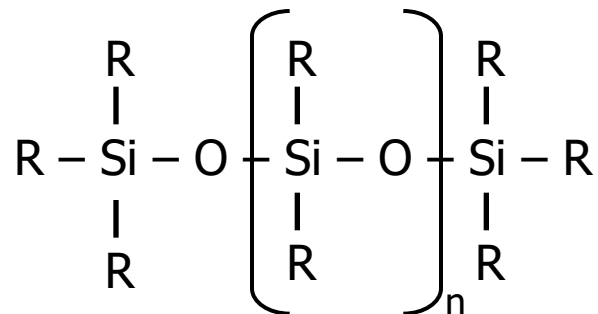
# COLONNE CAPILLARI

Le colonne SCOT e PLOT hanno granuli di diametro medio minore ad 1  $\mu\text{m}$ , mentre lo strato di materiale sulle pareti può variare da 5 a 50  $\mu\text{m}$  di spessore.

Le WCOT più recenti apparse per la prima volta nel 1979 ed ora ampiamente diffuse sono le colonne capillari in silice fusa (FSOT). Si tirano capillari in silice fusa da silice altamente purificata che contiene quantità minime di ossidi di metalli. Si conferisce maggiore resistenza mediante un rivestimento protettivo esterno in poliammide, che viene applicato mano a mano che si tira il capillare. Ne risultano colonne flessibili, resistenti e inerti chimicamente ovvero con scarsissima reattività nei confronti dei componenti dei campioni.



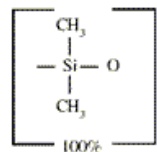
# FASE STAZIONARIA



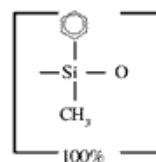
Polydimethyl siloxane

- Polydimethyl siloxane (R = CH<sub>3</sub>) é la fase stazionaria di base.
- La sostituzione dei gruppi metilici con altri tipi di gruppi, ne cambia la polarità e le capacità di separazione.
  - Phenyl – C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>
  - Cyanopropyl – C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>CN
  - Trifluoropropyl - C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>CF<sub>3</sub>

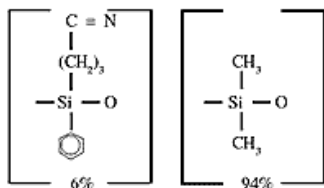
# FASI STAZIONARIE PIU' COMUNI



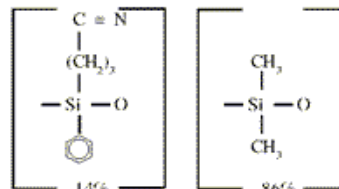
**Rtx®/MXT®-1**  
 100% dimethyl polysiloxane  
 Stable to 360°C  
 Polarity: non-polar  
**Uses:** solvents, petroleum products, pharmaceutical samples, waxes



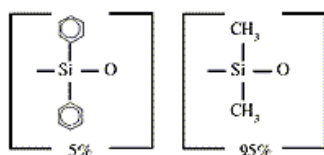
**Rtx®/MXT®-50**  
 50% phenyl - 50% methyl polysiloxane  
 Stable to 340°C  
 Polarity: intermediately polar  
**Uses:** triglycerides, phthalate esters, steroids, phenols



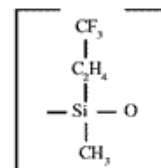
**Rtx®/MXT®-1301, Rtx®/MXT®-624**  
 6% cyanopropylphenyl - 94% dimethyl polysiloxane  
 Stable to 280°C  
 Polarity: slightly polar  
**Uses:** volatile compounds, insecticides, residue solvents in pharmaceutical products



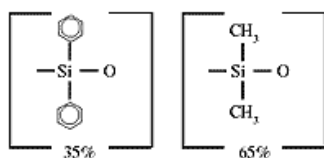
**Rtx®/MXT®-1701**  
 14% cyanopropylphenyl - 86% dimethyl polysiloxane  
 Stable to 280°C  
 Polarity: intermediately polar  
**Uses:** pesticides, Aroclors, alcohols, oxygenates



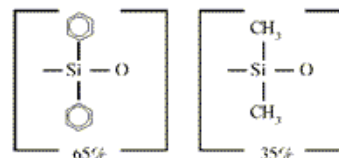
**Rtx®/MXT®/XTI®-5**  
 5% diphenyl - 95% dimethyl polysiloxane  
 Stable to 360°C  
 Polarity: non-polar  
**Uses:** flavors, environmental samples, aromatic hydrocarbons



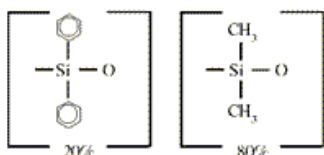
**Rtx®/MXT®-200**  
 trifluoropropylmethyl polysiloxane  
 Stable to 360°C  
 Polarity: selective for lone pair electrons  
**Uses:** environmental samples, solvents, Freons, drugs, ketones, alcohols



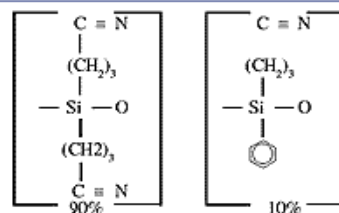
**Rtx®/MXT®-35**  
 35% diphenyl - 65% dimethyl polysiloxane  
 Stable to 300°C  
 Polarity: intermediately polar  
**Uses:** pesticides, Aroclors, amines, nitrogen containing herbicides



**Rtx®/MXT®-65TG**  
 65% diphenyl - 35% dimethyl polysiloxane  
 Stable to 370°C  
 Polarity: intermediately polar  
**Uses:** triglycerides, rosin acids, free fatty acids



**Rtx®/MXT®-20**  
 20% diphenyl - 80% dimethyl polysiloxane  
 Stable to 310°C  
 Polarity: slightly polar  
**Uses:** volatile compounds, alcohols



**Rtx®-2330**  
 90% biscyanopropyl - 10% cyanopropylphenyl polysiloxane  
 Stable to 275°C  
 Polarity: very polar  
**Uses:** FAMES, cis/trans and dioxin isomers, rosin acids

# GEOMETRIA - DIAMETRO INTERNO x LUNGHEZZA

| <b><i>DIAMETRO INTERNO</i></b> | <b><i>i.d. (mm)</i></b> |
|--------------------------------|-------------------------|
| <b>Wide bore</b>               | 0.53                    |
| <b>Convenzionali</b>           | 0.25 - 0.32             |
| <b>Narrow bore</b>             | < 0.25                  |

| <b><i>LUNGHEZZA</i></b> | <b><i>L (m)</i></b> |
|-------------------------|---------------------|
| <b>Wide bore</b>        | 10 - 30             |
| <b>Convenzionali</b>    | 30 - 60             |
| <b>Narrow bore</b>      | < 20                |

**Narrow bore = FAST GC**

# COLONNE CAPILLARI

Wide: sono da preferire quando si ha un flusso elevato (iniezione diretta, campioni trasferiti da filtri assorbenti, strumentazione vecchia).

Convenzionali (Medium): sono le più usate. Buon compromesso.

Narrow: offrono un aumento dell'efficienza di separazione.

Vantaggi colonne narrow (*FAST GC*):

- Tempi di analisi corti
- Tempi di vita media di una colonna lunghi
- Ridotta permanenza dei composti in colonna
- Fortemente consigliato con MSD e H2 come carrier

# SPESSORE DEL FILM

La fase stazionaria liquida o di ripartizione viene depositata sul supporto solido (plot e scot) o sulle pareti di una colonna capillare (wcot)

La quantità di fase stazionaria viene definita in termini di spessore del film ricoprente ( $\mu\text{m}$ ).

Maggiore è lo spessore del film, tanto più grandi saranno:

- capacità di carico
- ritenzione dei principi attivi
- lo spurgo di colonna
- velocità di usura della colonna

## **Funzione**

trascinare i componenti della miscela da analizzare lungo la colonna

## **Criteri da adottare per la scelta del gas**

Grado di purezza

Costo

Inerzia chimica

Densità e viscosità

Compatibilità con il rivelatore

# GAS DI TRASPORTO

|                                | H <sub>2</sub> | He |
|--------------------------------|----------------|----|
| Tempo di analisi relativo      | 1              | 2  |
| Prezzo per purezza equivalente | 1              | 3  |

d He : 0,18 kg/m<sup>3</sup>

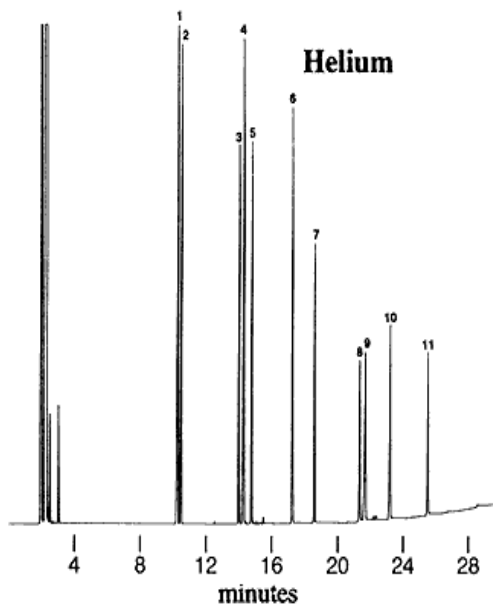
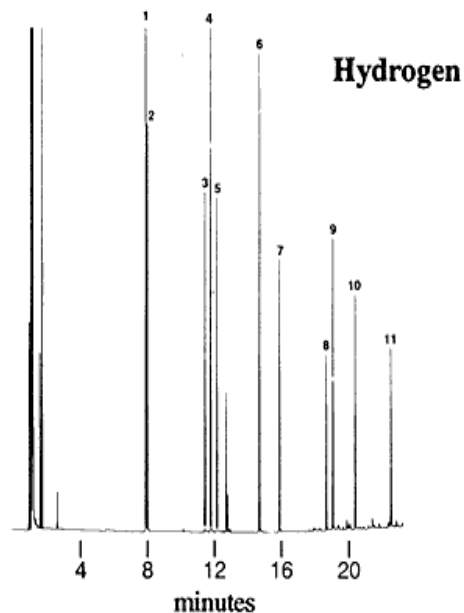
d H<sub>2</sub> : 0,09 kg/m<sup>3</sup>

***“ A parità di risoluzione cromatografica, l’Idrogeno flussa circa al doppio della velocità dell’ Elio, di conseguenza i tempi di ritenzione sono più brevi lavorando con l’Idrogeno rispetto all’ Elio “***



# IDROGENO vs ELIO

Con rampa di temperatura, le analisi fatte in Idrogeno sono più veloci che con l'elio



## Component list:

1. phenol
2. 2-chlorophenol
3. 2-nitrophenol
4. 2,4-dimethyl phenol
5. 2,4-dichlorophenol
6. 4-chloro-3-methyl phenol
7. 2,4,6-trichlorophenol
8. 2,4-dinitrophenol
9. 4-nitrophenol
10. 2-methyl-4,6-dinitrophenol
11. pentachlorophenol

## Linear velocity:

Hydrogen = 40 cm/sec.,

Helium = 20 cm/sec.

**FID sensitivity:**  $32 \times 10^{-11}$  AFS

**Inj. & Det. temp:** 280°C

## Oven temp:

50°C (hold 4 min.)

to 250°C @

8°C/min. (hold 5 min.)

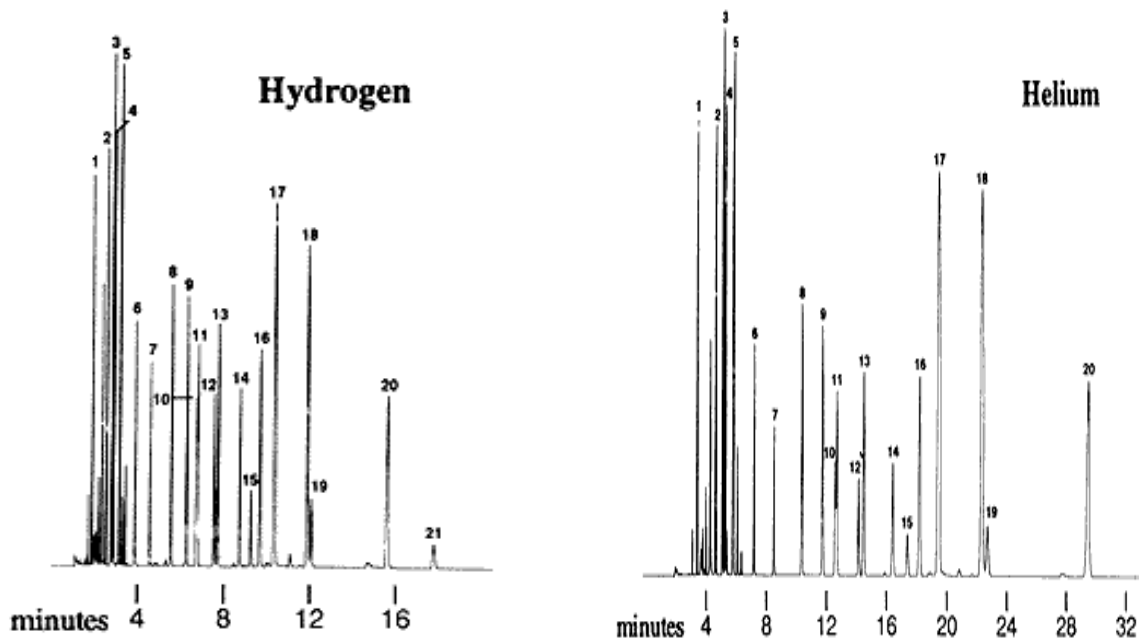
## Run Conditions:

30m, 0.25mm ID, 0.25µm Rtx®-5 (cat.# 10223)

0.1µl split injection of phenols

# IDROGENO vs ELIO

In isoterma, le analisi fatte in Idrogeno durano la metà che con l'Elio



1. tetrachloro-m-xylene
2. alpha-BHC
3. beta-BHC
4. gamma-BHC
5. delta-BHC
6. heptachlor
7. aldrin
8. heptachlor epoxide
9. gamma-chlordane
10. endosulfan I
11. alpha-chlordane
12. dieldrin
13. DDE
14. endrin
15. endosulfan II
16. DDD
17. endrin aldehyde
18. endosulfan sulfate
19. DDT
20. endrin ketone
21. methoxychlor

## Run Conditions:

30m, 0.25mm ID, 0.25 $\mu$ m Rtx®-5 (cat.# 10223)  
0.1 $\mu$ l split injection of chlorinated pesticides

ECD sensitivity:  $512 \times 10^{-11}$  AFS

Split vent flow: 100cm<sup>3</sup>/min.

Oven temp: 210 °C isoterma

Inj/Det temp.: 250°C/300°C

Linear veolocity:

Hydrogen 40cm/s

Helium 20cm/s

# IDROGENO vs ELIO

## Vantaggi:

Efficienza di separazione più alta

Tempo di analisi più corto di circa la metà

Sensibilità doppia

Tempo di residenza in colonna breve

Aspetto economico

Aumento della risoluzione e della vita della colonna poiché si può lavorare a temperature più basse

Non sono presenti tracce di ossigeno (no trappole per impurezze)

## Svantaggi:

Infiammabilità

Influenza della risposta del FID in programmata di temperatura

Minor sensibilità se si utilizza la massa

Per la sicurezza è necessario installare un sensore di idrogeno

*“ Teoricamente il miglior gas di trasporto è l’Idrogeno ma il più utilizzato è l’Elio “*

**Con MSD ed Idrogeno, è fortemente consigliata la FAST GC.**

**FINE**

*Grazie per l'attenzione*

