

CAMERA TERMOSTATICA

La temperatura è un parametro determinante per la qualità delle separazioni in GC

Il dispositivo più usato, soprattutto per semplicità e praticità, è la **camera termostatica a circolazione di aria calda**, che assicura una stabilità termica di $\pm 0,05$ °C.

La temperatura massima raggiungibile è di circa **400** °C.

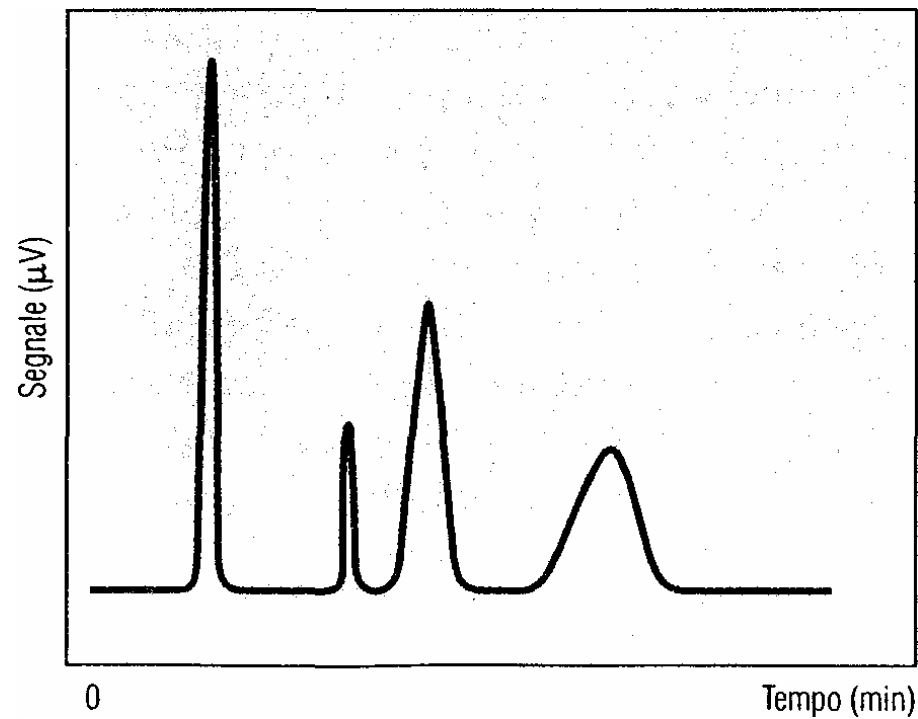


RIVELATORI

Rivelatori universali

Rivelatori selettivi

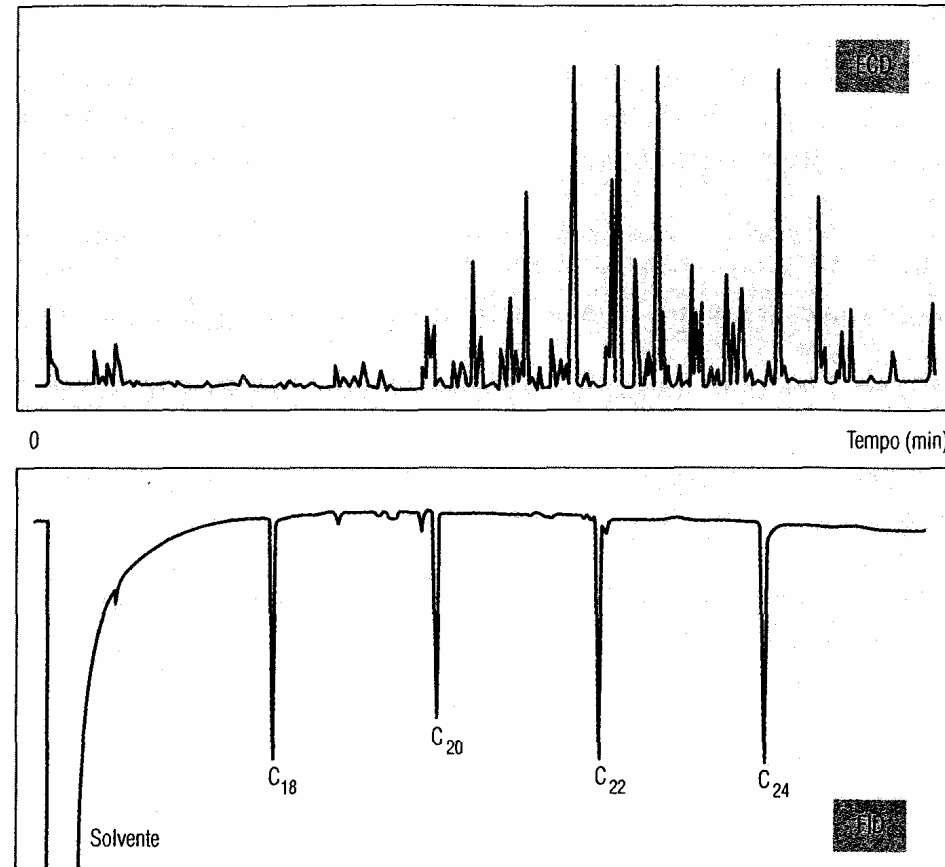
I rivelatori più usati sono di tipo differenziale



Le prestazioni di un rivelatore si valutano in funzione dei seguenti parametri:

- selettività;
- sensibilità;
- stabilità;
- tempo di risposta;
- rumore di fondo;
- deriva del segnale;
- limite di rivelabilità;
- intervallo di linearità.

La *selettività* di un rivelatore dipende dalla sua capacità di rivelare tutte o in parte le sostanze separate



Se il segnale è proporzionale alla concentrazione, la **sensibilità** (S) è data da:

$$S = A \frac{F_c}{m}$$

dove

- A è l'area del picco
- F_c il flusso corretto alla temperatura della colonna.
- m massa del campione

$$A = hw_h$$

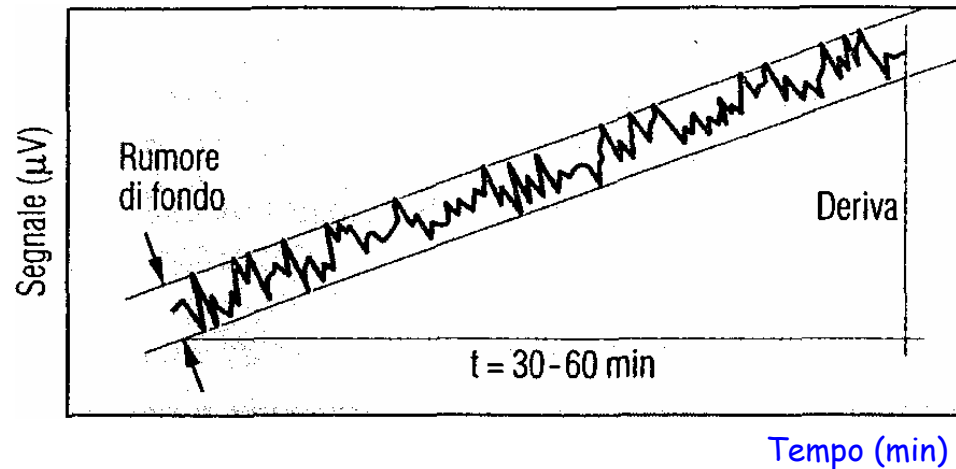
$$F_c = V/w_h$$

$$S = \frac{hw_h V/w_h}{m} = \frac{h}{c}$$

Se invece il segnale è proporzionale alla massa, la sensibilità è data da:

$$S = \frac{A}{m}$$

II **rumore di fondo o noise (N)** è il segnale fornito dal rivelatore quando nel *carrier* non è presente alcun componente della miscela da separare.



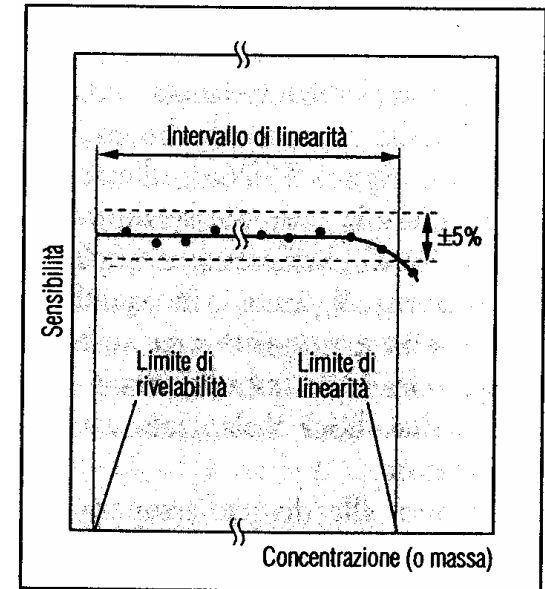
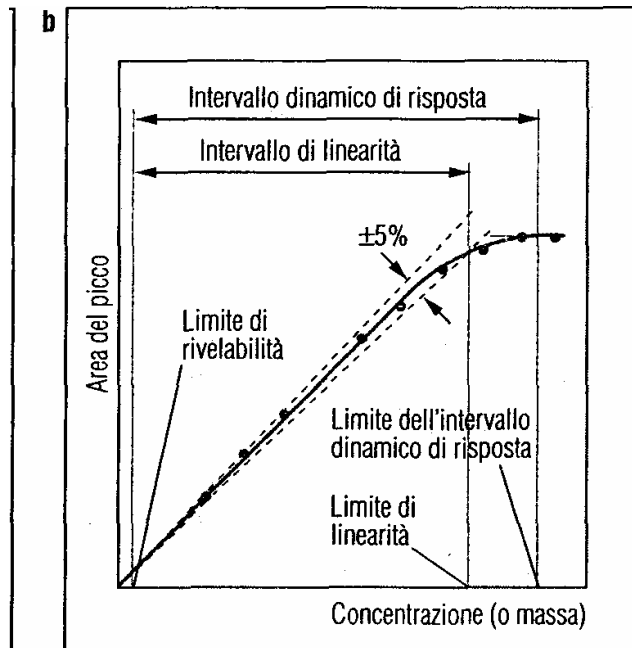
La **deriva** può essere misurata come spostamento verso l'alto o verso il basso della linea di base sul lungo periodo (30-60 min, nei test tipici)

Le componenti dinamiche del sistema di rivelazione possono essere ottimizzate per comunicare il segnale al sistema di elaborazione nei tempi più appropriati. Infatti se il **tempo di risposta** è troppo breve, il disturbo aumenta, mentre se è troppo lungo, si può verificare una deriva lenta e continua del segnale.

La quantità (o concentrazione) minima rivelabile, ossia il **limite di rivelabilità**, è correlata all'andamento del disturbo di fondo e, in ultima analisi, al segnale minimo che questo può distinguere.

Il **limite di linearità** corrisponde a quella concentrazione (o massa) che è inferiore del 5% rispetto al valore atteso per un andamento lineare.

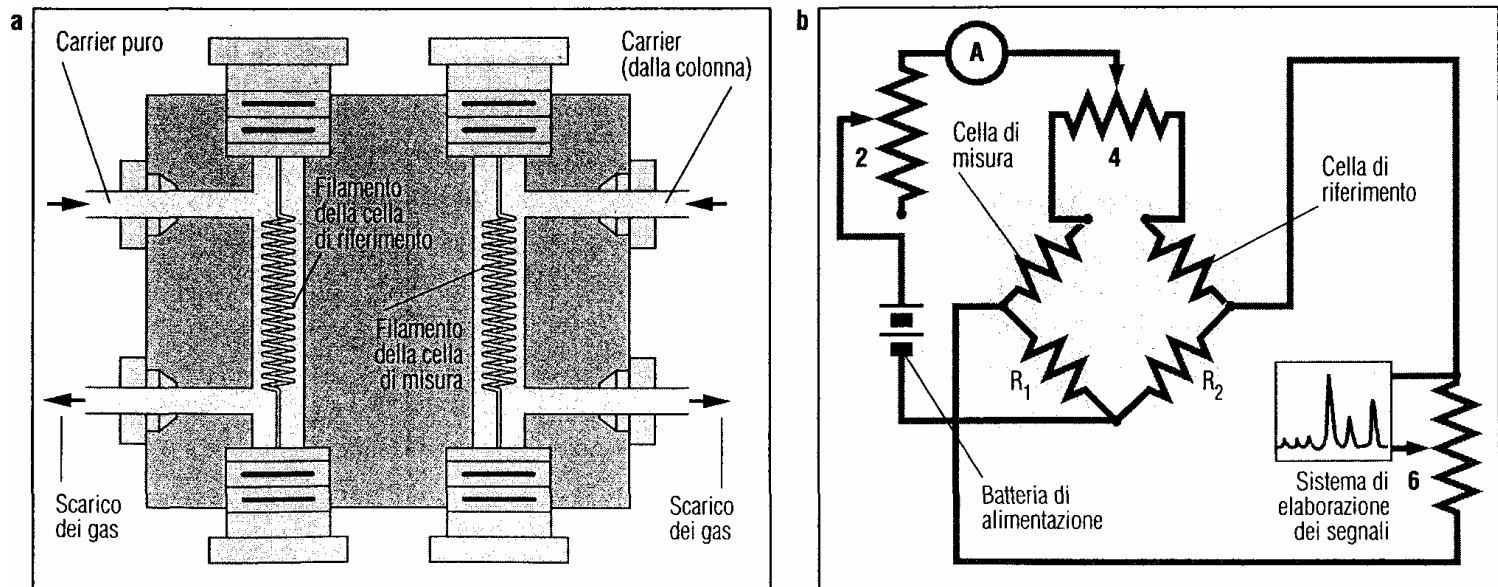
L'**intervallo di linearità**, invece, è l'intervallo di concentrazioni (o masse) entro il quale la sensibilità del rivelatore rimane costante



L'**intervallo di risposta dinamico** è l'intervallo di concentrazioni (o masse) entro il quale un aumento di queste ultime causa un aumento della risposta del rivelatore, che non necessariamente è lineare

RIVELATORE A TERMOCONDUCEBILITÀ

Il **rivelatore a termoconduttività** (*Hot Wire Detector, HWD*), detto anche **catarometro** o **rivelatore a filo caldo**, è di tipo universale e non distruttivo.



Un tipico HWD è composto da due celle opportunamente sagomate e termostatate; gli elementi sensibili possono essere di due tipi:

- *filamenti di tungsteno o di platino;*
- *termistori* (ossidi di metalli sinterizzati).

Prestazioni dei rivelatori HWD:

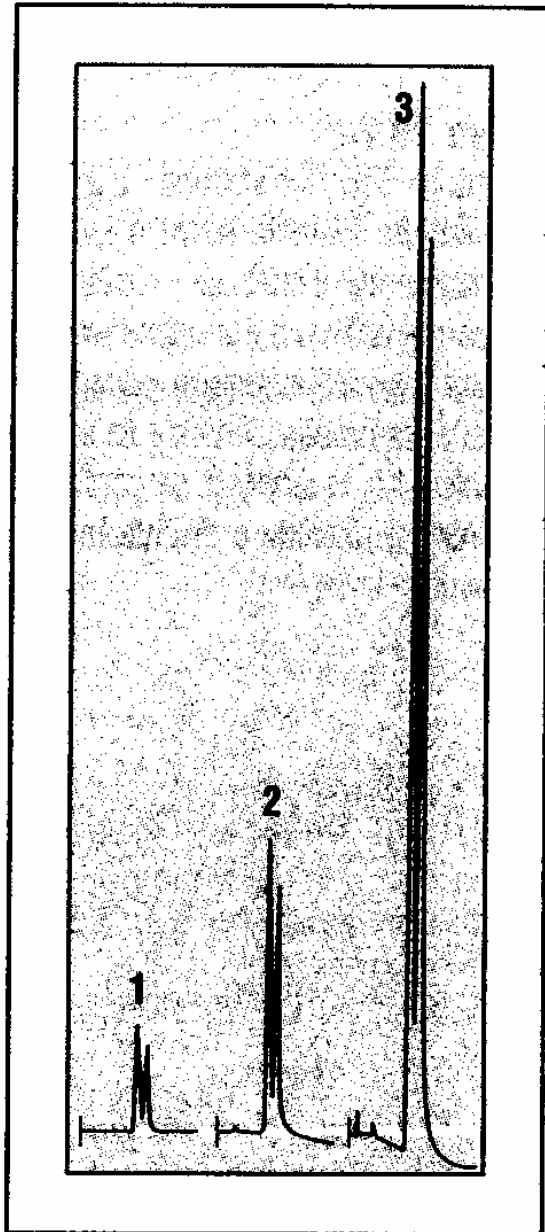
- selettività,
- sensibilità (e limiti di rivelabilità),
- praticità d'uso.

Qualsiasi sostanza può provocare una variazione di conducibilità termica del *carrier*, di conseguenza, l'HWD è un rivelatore *non selettivo*

Per ottenere una elevata *sensibilità*, e quindi *limiti di rivelabilità* bassi, la conducibilità termica del *carrier* deve essere molto diversa da quella delle sostanze da separare (e rivelare).

In definitiva, il limite di rivelabilità dell'HWD è modesto (scende difficilmente sotto le ppm di *carrier*), mentre la *risposta lineare* è abbastanza buona

I *tempi di risposta* sono relativamente lunghi; d'altra parte, l'HWD è un rivelatore robusto, stabile e, se ben tarato, preciso. I costi di esercizio sono piuttosto elevati (si usa elio invece di azoto, che è meno costoso), ma sono compensati dalla ridotta manutenzione di cui necessita

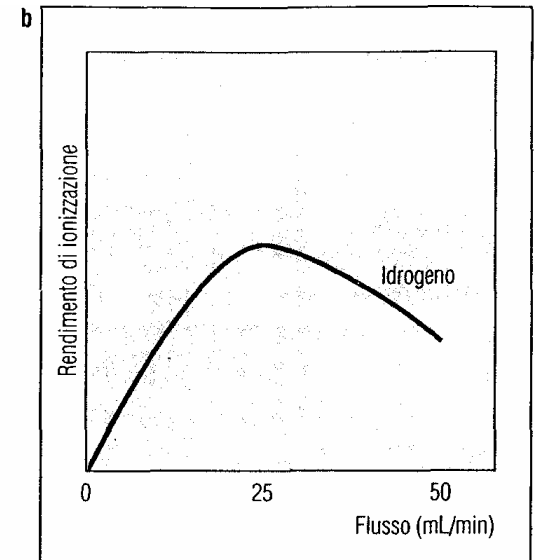
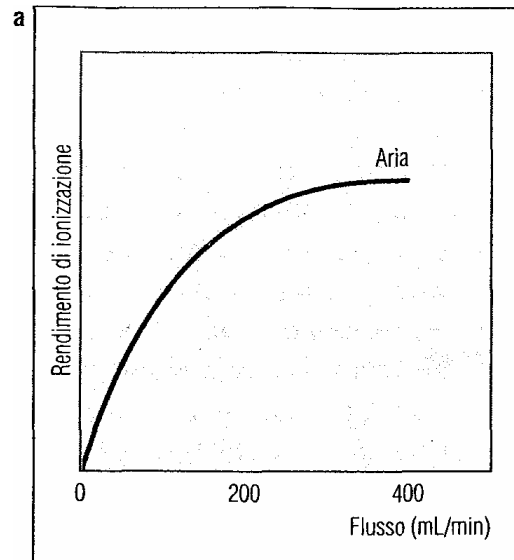
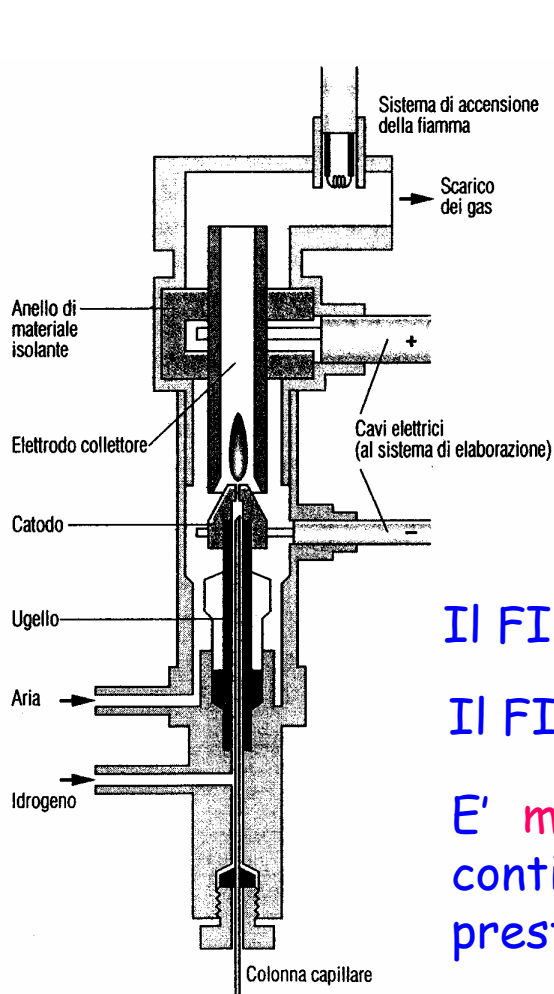


L'intensità di corrente che attraversa i filamenti influisce sulla sensibilità di un rivelatore HWD:

- (1) alimentazione di 130 mA;
- (2) alimentazione di 190 mA;
- (3) alimentazione di 260 mA.

RIVELATORE A IONIZZAZIONE DI FIAMMA

Il **rivelatore a ionizzazione di fiamma** (*Flame Ionisation Detector*, FID) è di tipo universale e distruttivo; le sostanze separate, infatti, vengono bruciate e portate allo stato di ioni in fase gassosa.

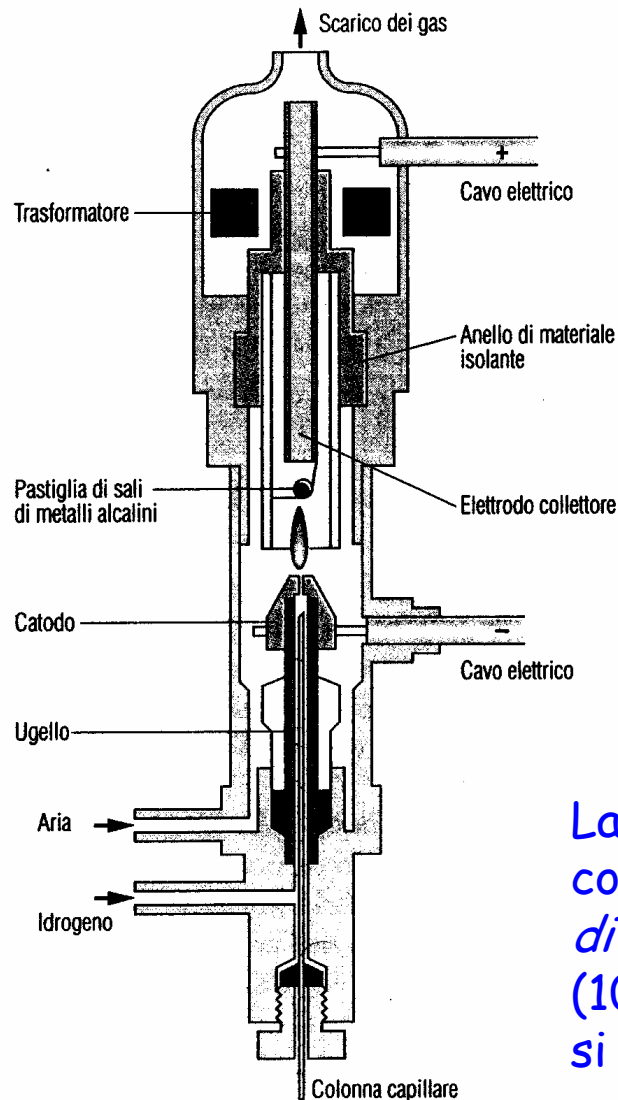


Il FID è un rivelatore **poco selettivo**, quasi universale.

Il FID è un rivelatore **molto sensibile**.

E' **molto robusto** e può sopportare un esercizio continuo per tempi lunghi assicurando comunque prestazioni soddisfacenti.

RIVELATORE A FIAMMA ALCALINA



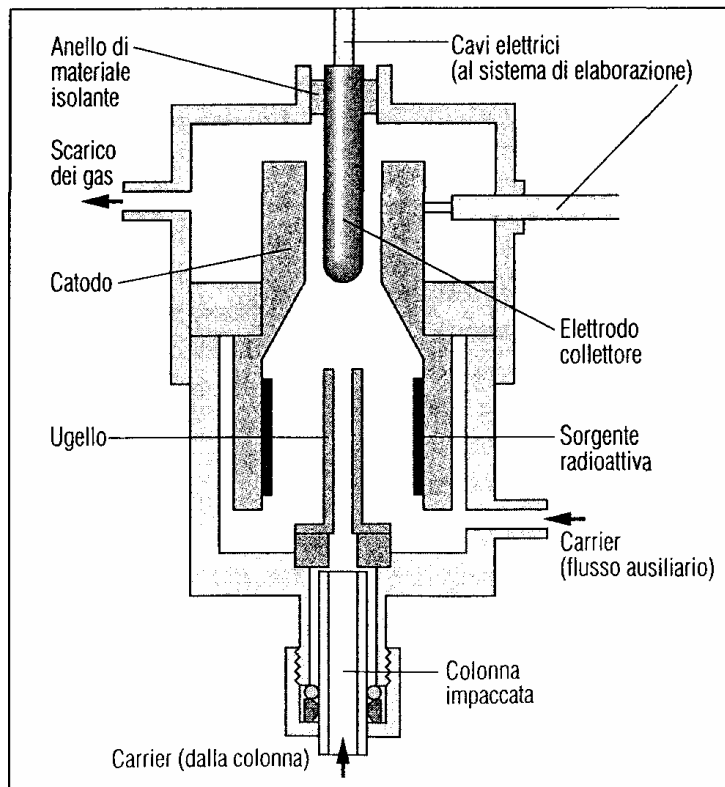
Il **rivelatore a fiamma alcalina** (*Alkali Flame Ionisation Detector*, AFID) è una variante del FID.

L'AFID è più o meno selettivo, secondo il tipo di alogenuro; CsBr lo rende più selettivo per il fosforo, mentre RbCl lo rende più selettivo per l'azoto.

La **sensibilità è molto elevata**. Per i composti del fosforo si ottengono *limiti di rivelabilità* dell'ordine dei picogrammi (10^{-12} g), mentre per i composti dell'azoto si arriva ai nanogrammi (10^{-9} g).

RIVELATORE A CATTURA DI ELETTRONI

Il **rivelatore a cattura di elettroni** (*Electron Capture Detector, ECD*) è **selettivo e non distruttivo**; ha una sensibilità maggiore del FID e può fornire direttamente informazioni qualitative sulle sostanze rivelate.



La sorgente radioattiva può essere costituita da:

- una lamina di acciaio rivestita da triziuro di titanio (TiT_4) che emette particelle β con energia media di 18 keV e può essere usata fino a $220^\circ C$;
- una lamina d'oro rivestita di ^{63}Ni , che emette particelle β con energia media di 67 keV e può essere usata fino a $350^\circ C$.

TECNICHE E DISPOSITIVI DI INIEZIONE

La **banda** di miscela che entra in colonna deve essere **compatta** e deve avere la **stessa composizione del campione** da analizzare

I numerosi accorgimenti proposti per ottimizzare l'ingresso in colonna sono sostanzialmente di tre tipi:

1. Si può fare in modo che nella colonna entri solo una **piccola aliquota del campione iniettato** (sistemi *split* e *splitless*).

- Adatta solo per miscele molto omogenee
- Le sostanze entrano nella colonna in modo selettivo, con perdita (totale o parziale) dei componenti meno volatili e più concentrati.

Per ovviare a questo inconveniente, si può aumentare la temperatura!

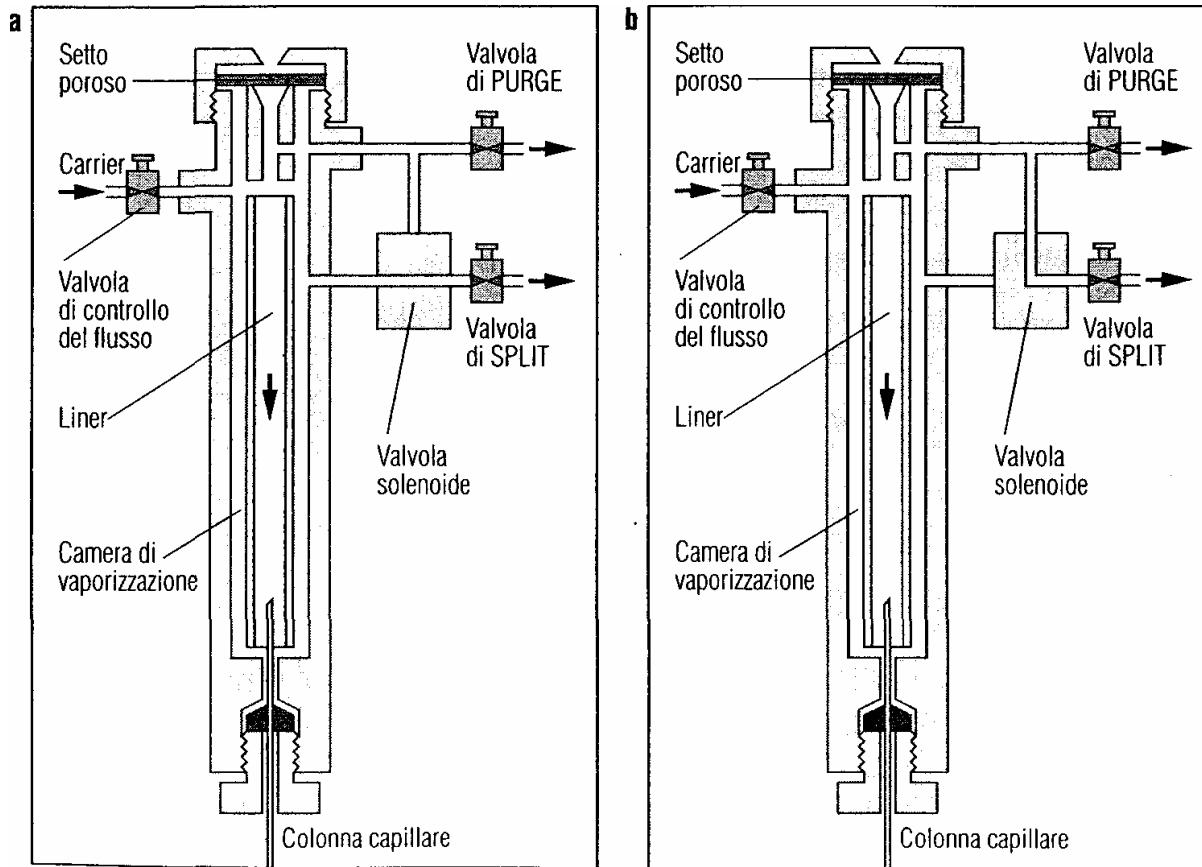
2. Si può introdurre tutto il campione iniettato nella camera di vaporizzazione oppure direttamente in colonna

- Non sempre praticabile perché richiede l'uso di aghi e dispositivi speciali
- Risente delle eventuali impurezze presenti nel campione o nel *carrier*

Offre migliori prestazioni nell'analisi quantitativa perché il campione viene iniettato interamente!

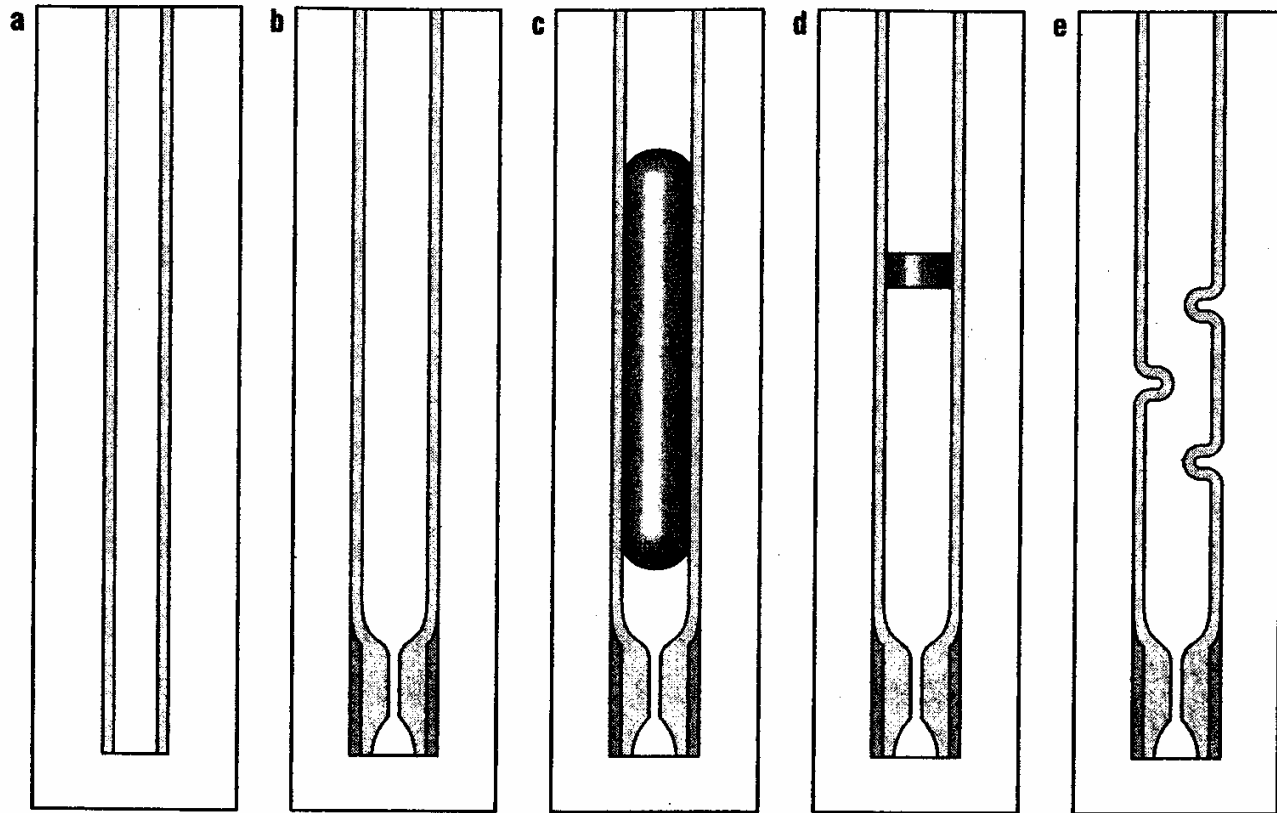
3. Si può adsorbire il campione nella camera di iniezione e poi farlo rilasciare, completamente o selettivamente, programmando la temperatura.

Sistema split e splitless

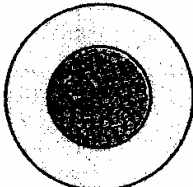
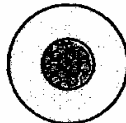
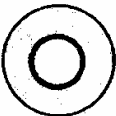

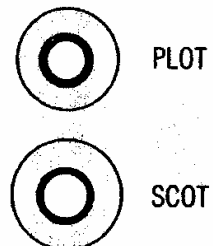


(a) Nell'uso del sistema *split* il flusso di *carrier* viene suddiviso in due parti: una è diretta verso il setto, per mantenerlo sempre pulito, e l'altra trascina il campione in parte in colonna e in parte verso il condotto esterno, (b) Nell'uso in modo *splitless*, il sistema si trova per quasi tutto il tempo in modo *split*. Il flusso di *split* viene bloccato solo immediatamente prima dell'iniezione e ripristinato dopo pochi secondi. In questo modo quasi tutto il campione entra in colonna, mentre i vapori di solvente residui vengono eliminati. La valvola solenoide consente di passare dal modo *split* al modo *splitless*.

Se si iniettano miscele non molto omogenee, può essere utile inserire un **liner** nella camera di iniezione in testa alla colonna



Liner: (a) di acciaio, per colonna impaccata; (b) rastremati per sistemi *split* e *splitless*; (c) con setto in lana di vetro o Chromosorb W ricoperto con OV-1 al 10%, per sistemi *split*; (d) con setto poroso, per sistemi *split*, (e) con strozzature, per sistemi *split*.

Tipo di colonna	Convenzionale impaccata	Capillare microimpaccata	Capillare WCOT a foro stretto e medio	Capillare WCOT a foro largo	Capillare PLOT e SCOT
Sezione					

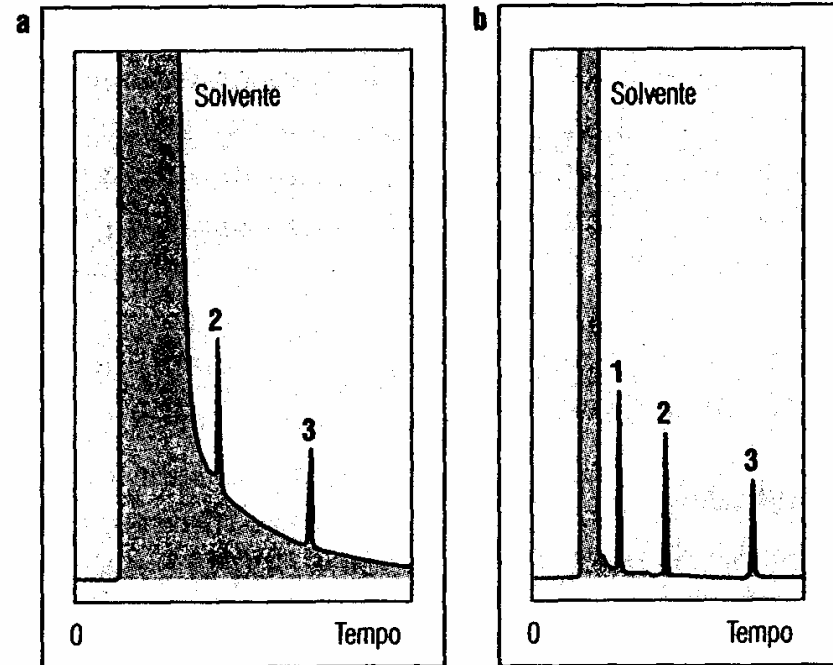
Caratteristiche					
OD (mm)	3-6	1,5	0,4-1	1,2	1,0
ID (mm)	2-4	0,53-0,75	0,10-0,32	0,53-0,75	0,32-0,75
Lunghezza (m)	1-4	3-6	10-100	25-60	10-50
Spessore del film di fase stazionaria (μm)	—	—	0,1-7	0,1-7	1-50
Efficienza media (N/m)	2000	2000-4000	2000-5000	1000-2000	1000-2000
Tipo di iniezione	normale	<i>split-splitless</i>	<i>split-splitless</i>	<i>split-splitless</i>	<i>split-splitless</i>
Capacità per componente	20 μg	20 μg	100 ng	10-15 μg	15 μg
Volume massimo iniettabile (μL)					
<i>split</i>	—	—	1-2	1-2	1-2
<i>on column</i>	5-10	1-5	1	5	5
Flusso (mL/min)	15-60	2-8	0,2-4	3-30	3-100
Velocità lineare (cm/s)	4-8	10	10-35	15-35	15-25
Rapidità di analisi	bassa	media	alta	alta	alta

Il tempo di chiusura della valvola di split dipende da:

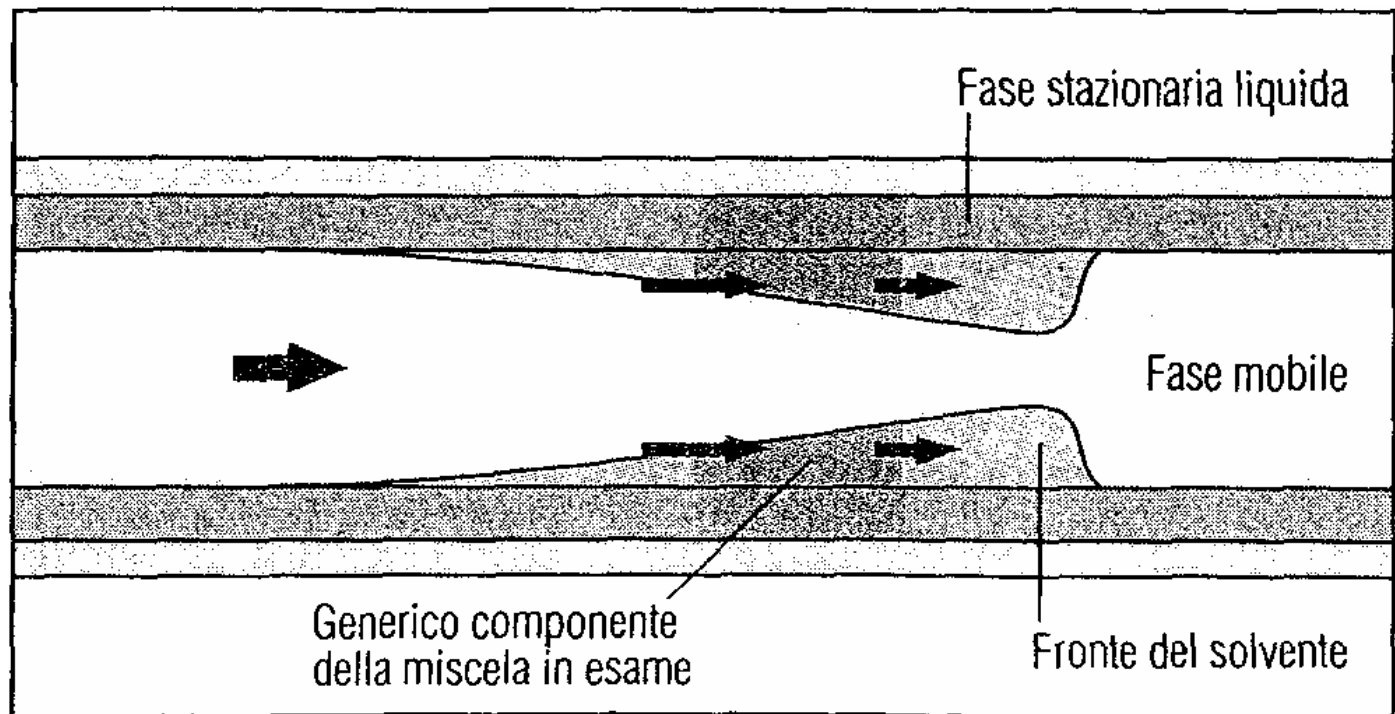
- caratteristiche del solvente (soprattutto la sua volatilità);
- caratteristiche del campione;
- volume e temperatura della camera di vaporizzazione;
- quantità di campione;
- velocità di iniezione;
- velocità del *carrier*.

Con questo sistema i picchi non si allargano, anche se viene introdotta una maggiore quantità di miscela e in modo più lento; ciò è dovuto a un effetto di compattamento (**focusing**) della banda in testa alla colonna, che viene realizzato sfruttando uno dei seguenti fenomeni:

- *effetto solvente;*
- *effetto termico.*



Effetto solvente. Durante la fase di iniezione la testa della colonna viene mantenuta 25-30 °C al di sotto del p.e. del solvente (che dovrebbe avere un p.e. inferiore di 25-50°C rispetto al componente più volatile della miscela in esame). Dopo la fase di vaporizzazione il solvente si condensa sulle pareti della colonna e i componenti della miscela si concentrano prevalentemente sulla sua coda



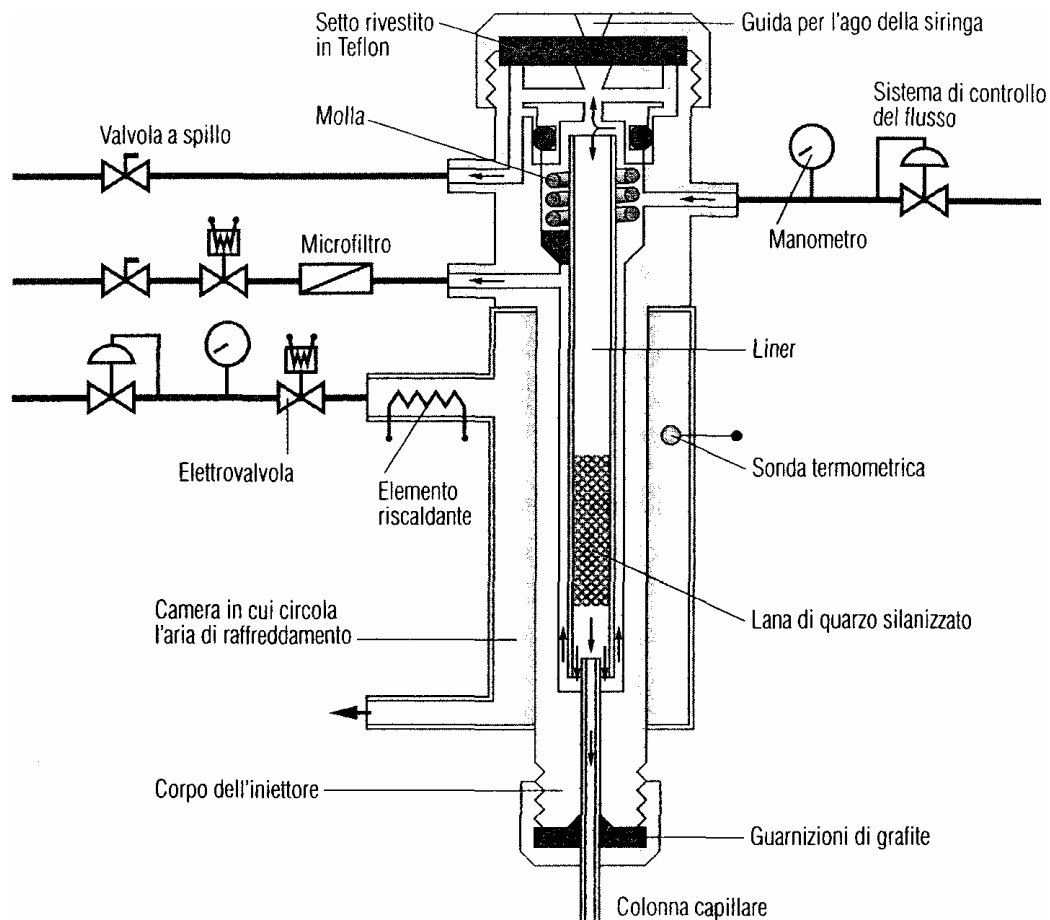
Effetto termico. La colonna viene mantenuta a una temperatura inferiore di almeno 150 °C al p.e. medio della miscela, in modo che tutti i componenti siano condensati; il solvente, invece, deve essere allo stato di vapore. In questo modo si rinuncia parzialmente a sfruttare l'effetto solvente.

Sul piano dell'analisi quantitativa la tecnica fornisce un'accuratezza migliore rispetto al sistema *split*, purché le sostanze non siano particolarmente altobollenti o termolabili.

Sistema a iniezione diretta (direct injection)

Sistema on-column (on-column injection)

Sistema PTV (Programmed Temperature Vaporizer)



Iniettore PTV. È costituito da tre parti fondamentali:
iniettore *split-splitless*;
un sistema di programmazione della temperatura;
linee pneumatiche dei gas

VARIANTI E TECNICHE PARTICOLARI

Rivelatori in serie

Si possono ottenere, con una sola iniezione, informazioni molto complete

mettendo a valle quelli non distruttivi

Un esempio è l'accoppiamento ECD-FID

Con l'ECD, vengono rivelati i derivati molto elettroaffini

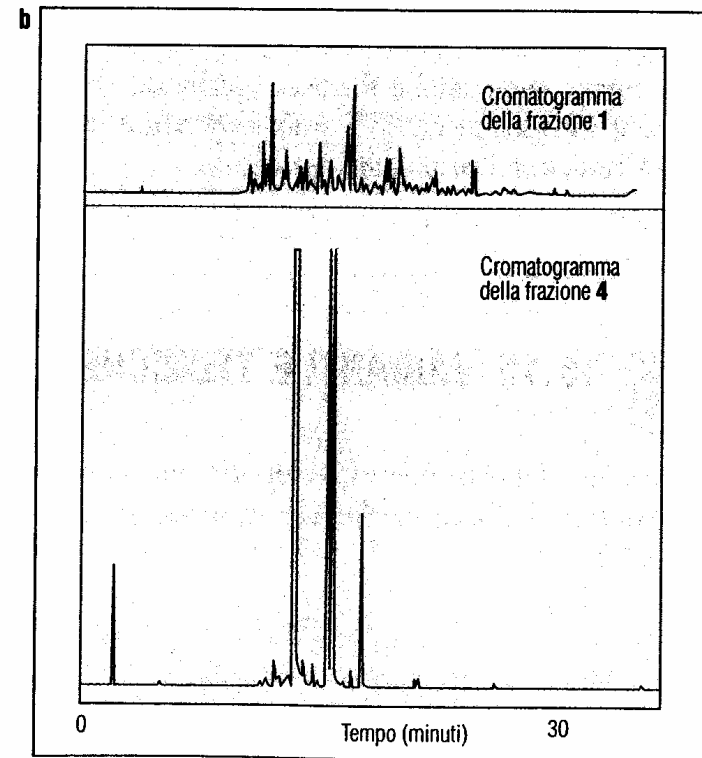
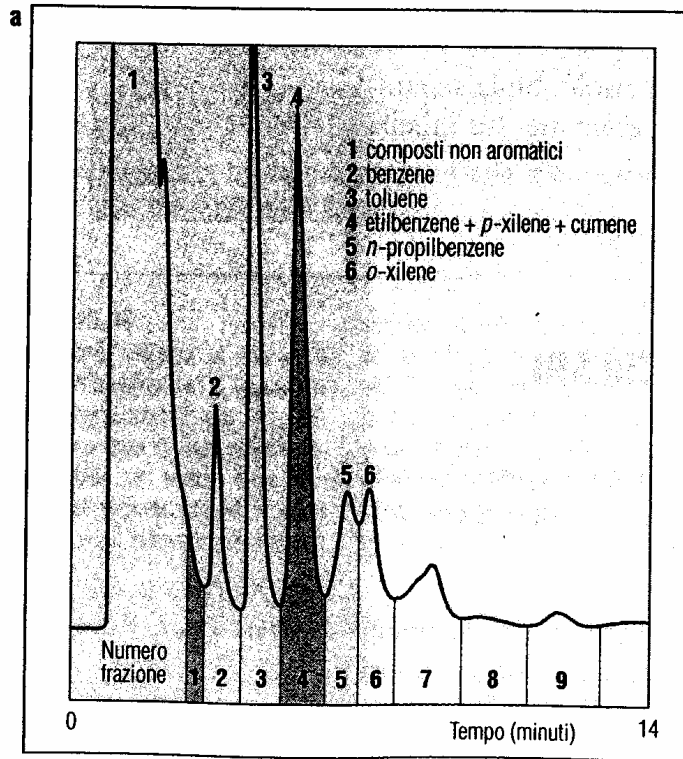
Il FID rivela pressoché completamente tutti i componenti della miscela.

L' accoppiamento ECD-NPD è più specifico

Con l'NPD si rivelano i fosfoderivati, mentre con l'ECD si ha il cromatogramma dei cloroderivati.

Sistema per gascromatografia multidimensionale

Sistema *MUSIC*



Colonne in parallelo

Collegando due colonne a un unico sistema di iniezione, il campione viene ripartito fra le due colonne e subisce così una diversa separazione in ognuna delle due.

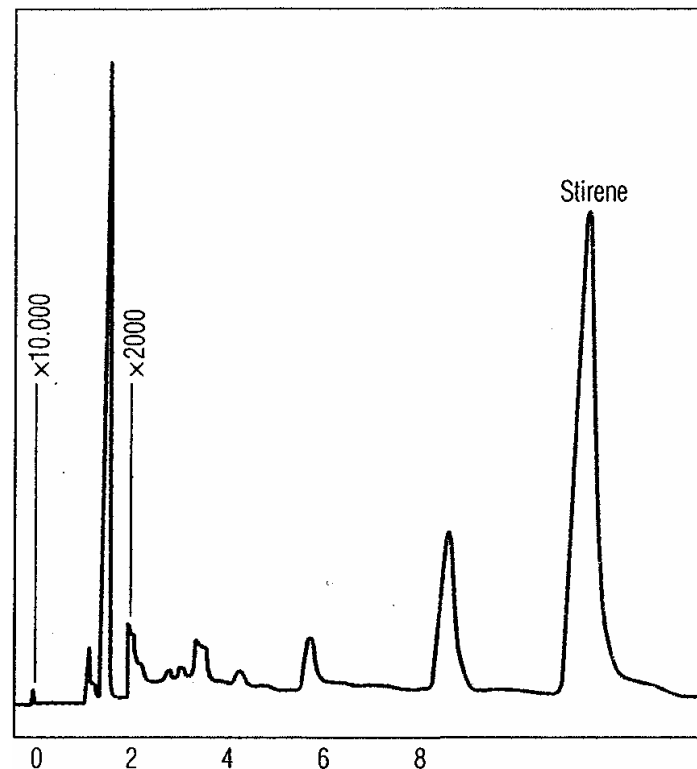
Inversione di flusso

Si eluiscono per prime le sostanze con tempi di ritenzione brevi, poi si aziona un dispositivo che inverte il flusso.

TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

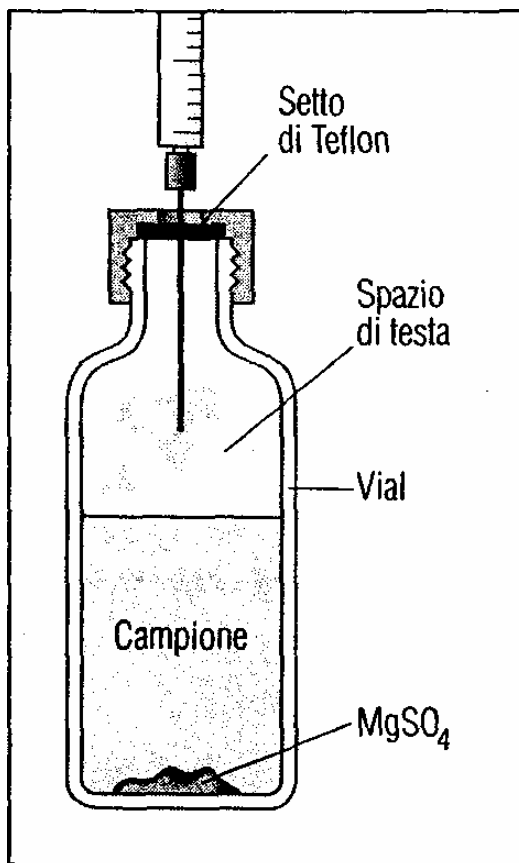
- DISIDRATAZIONE
- DERIVATIZZAZIONE
- GASCROMATOGRAFIA DI PIROLISI

Con la **gascromatografia di pirolisi** (*Pyrolysis Gas Chromatography, PGC*) si effettua una decomposizione termica (con temperature fino a 1000 °C) del campione in un dispositivo posto a monte della colonna.



GASCROMATOGRAFIA DELLO SPAZIO DI TESTA

La tecnica dello **spazio di testa** (*Head Space Gas Chromatography, HSGC*) è ottimale per l'analisi di composti volatili presenti in tracce in campioni solidi oppure in una grande massa di solvente.



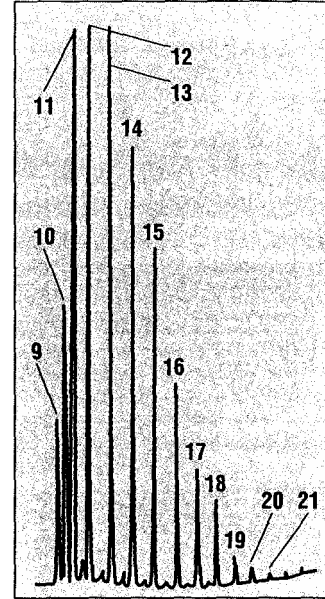
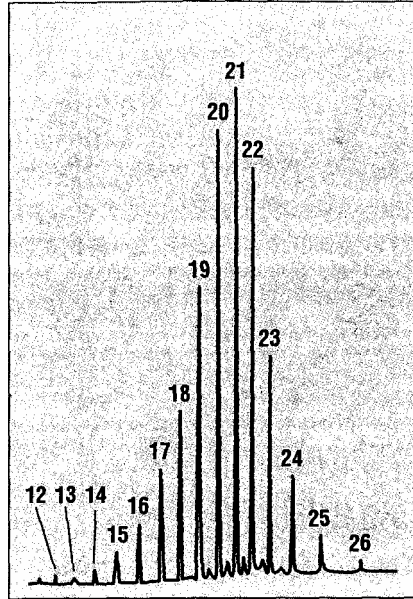
Legge di Raoult:

$$P_i = X P_0$$

$$S = f X P_0$$

f è il **fattore di risposta**
del rivelatore

$$S = f' X$$



Cromatogramma di una miscela di alcani: (a) campione originario; (b) HSGC a 80 °C. I numeri si riferiscono agli atomi di carbonio dei corrispondente alcano. Nello spazio di testa i componenti più volatili sono presenti in percentuale più alta.

Con il metodo dello spazio di testa si possono individuare tracce di composti volatili fino alle ppb o, addirittura, alle ppt (parti per trilione = 10^{-3} ppb).

Per aumentare la sensibilità, si può procedere in due modi, usati anche contemporaneamente:

1. alzare la temperatura della soluzione;

$$\text{Log } p_0 = - \frac{0,2185 A}{T} + B$$

2. introdurre elettroliti in soluzione.

La tecnica HSGC presenta alcuni sostanziali vantaggi:

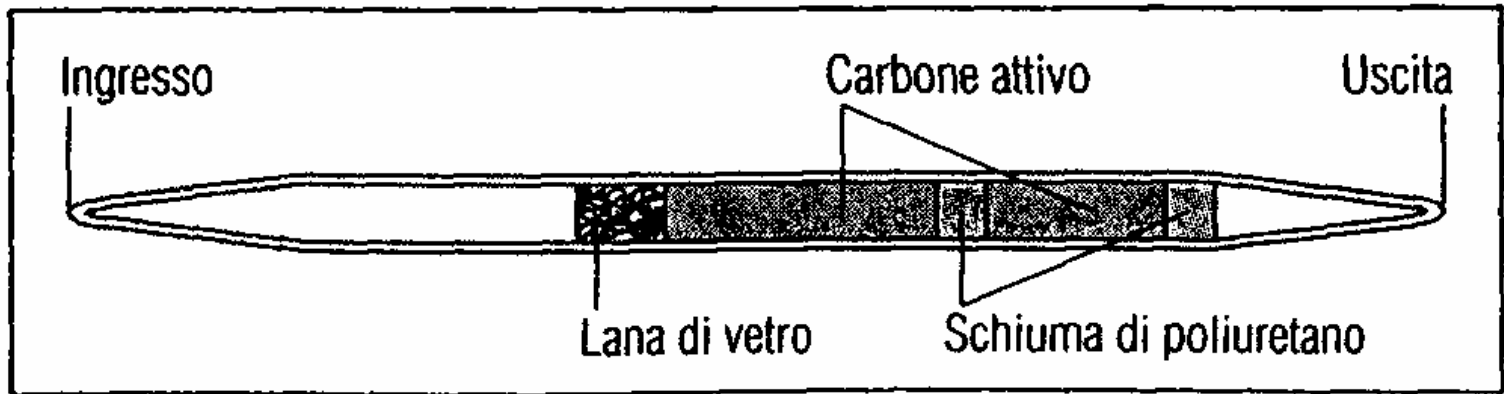
- maggiore sensibilità, perché i componenti volatili si concentrano nella fase vapore;
- le sostanze non si decompongono, perché viene evitata la fase di vaporizzazione a temperatura elevata;
- minore rischio di contaminazione perché si eliminano i composti non volatili;
- si possono usare rivelatori selettivi senza particolari complicazioni;
- si possono automatizzare tutte le fasi, migliorando le prestazioni.

Esecuzione di analisi HSGC

- Le soluzioni devono essere preparate e mantenute in contenitori a chiusura ermetica riempiti fino all'orlo, evitando tappi di gomma.
- La soluzione standard o campione deve essere trasferita nel *vial* con una siringa.
- La chiusura del *vial* deve essere effettuata con appositi dispositivi, che assicurino una perfetta tenuta.
- La termostatazione del *vial* di lavoro deve essere eseguita con la massima precisione a una temperatura che di solito varia fra 40 e 80 °C.
- Il prelievo dello spazio di testa del campione per l'iniezione nella colonna è una fase estremamente delicata.

PRECONCENTRAZIONE PER ADSORBIMENTO

Il metodo di **adsorbimento/desorbimento** (in inglese, *purge and trap*) è il più sensibile per l'analisi di campioni gassosi estremamente diluiti (come per esempio la determinazione di solventi nell'aria).



Il desorbimento può essere effettuato in due modi:

- per via termica (e successiva analisi dei gas);
- per estrazione con solvente (e successiva analisi della soluzione).

ANALISI QUALITATIVA

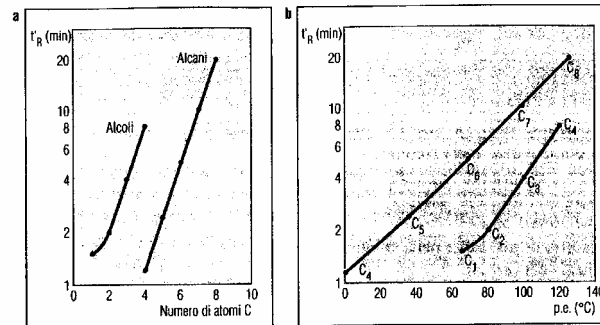
Per riconoscere una sostanza incognita con un ragionevole grado di certezza esistono due strade possibili:

- la più veloce (e costosa) consiste nell'interfacciare il gascromatografo con uno spettrometro di massa;
- l'altra, più lenta (ed economica), consiste nell'effettuare la separazione cromatografica su due colonne, con fasi stazionarie e polarità diverse, e nel verificare se gli indici di ritenzione sono uguali a quelli della sostanza pura.

In alcuni casi l'uso di rivelatori selettivi (come l'ECD) o la tecnica della derivatizzazione possono costituire un valido aiuto al riconoscimento di una sostanza incognita.

USO DEI DATI CROMATOGRAFICI PER L'ANALISI QUALITATIVA

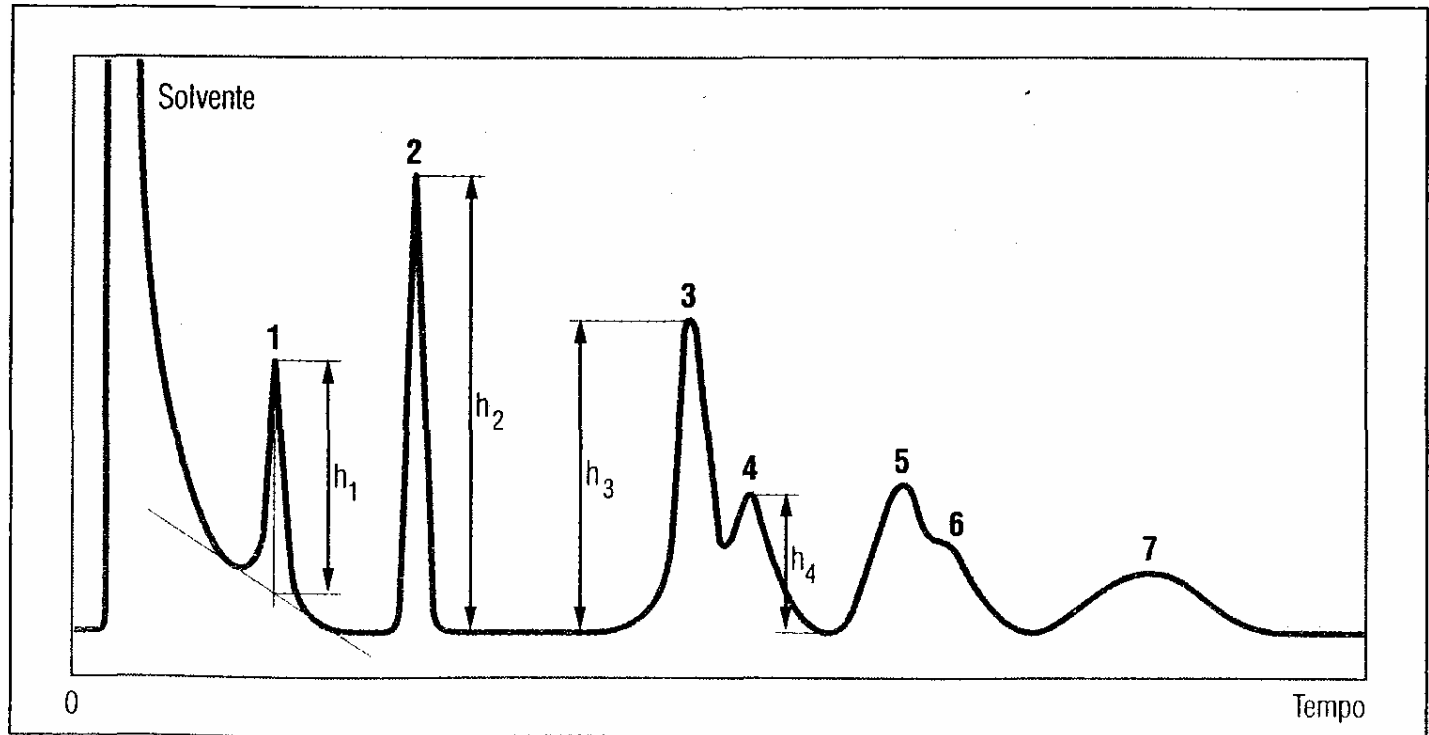
- Tempo e volume di ritenzione
- Volume netto
- Volume specifico
- Selettività
- Diagramma di ritenzione



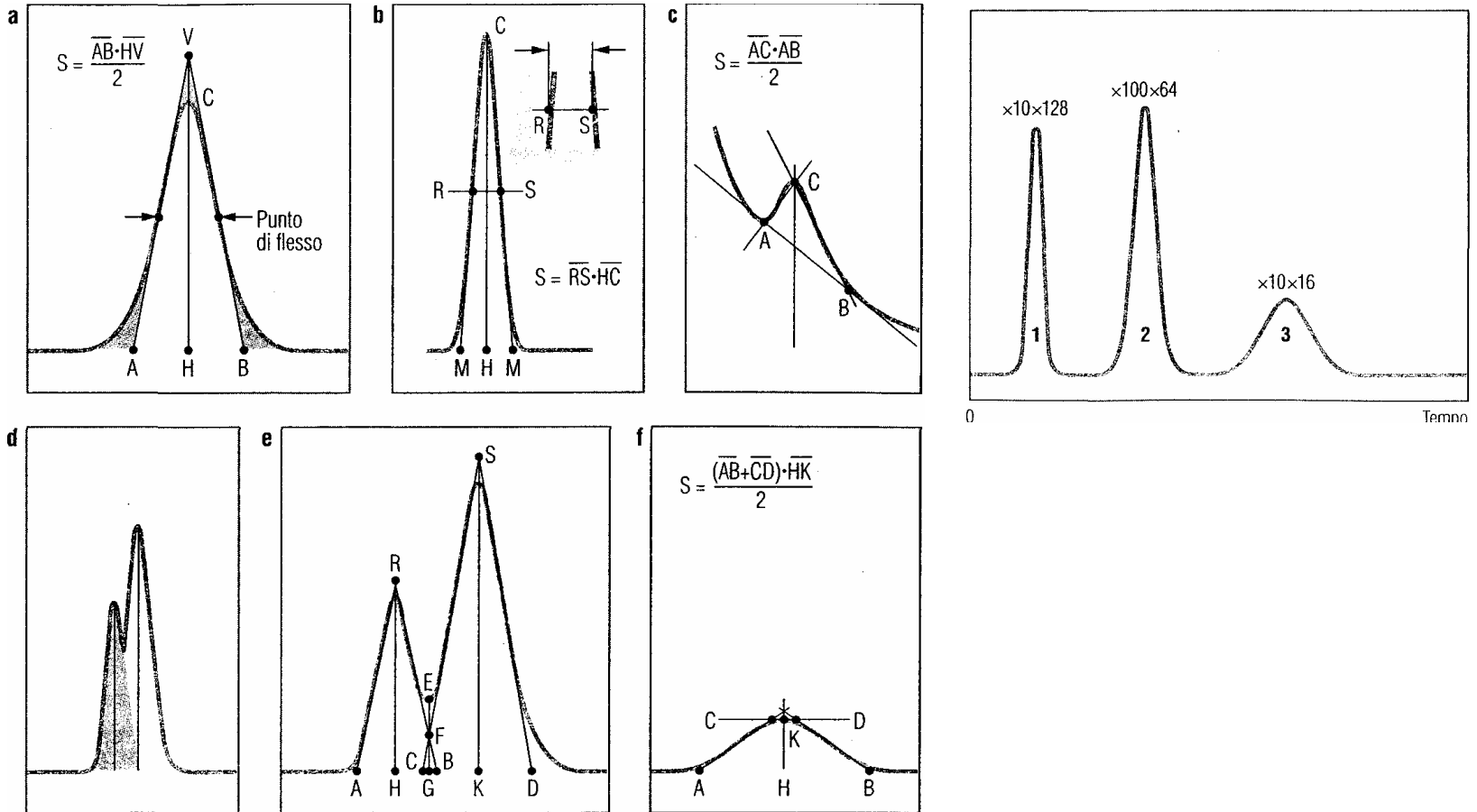
- Indice di ritenzione
- Metodo dell'arricchimento
- Uso di rivelatori selettivi
- Gascromatografia di pirolisi

ANALISI QUANTITATIVA

Misura dell'altezza dei picchi



Misura dell'area dei picchi



(a) Picco simmetrico: tracciando le tangenti ai punti di flesso, si ottiene un triangolo di area simile a quella del picco. Le tre superfici ombreggiate in colore più scuro si compensano parzialmente fra loro. (b) Picco alto e stretto: si ottiene l'area del picco moltiplicando l'altezza per la base a metà altezza (i triangoli CRS e CMN sono triangoli simili). La misura deve tenere conto dello spessore della linea del picco, (c) Picco che cresce sulla coda di un altro picco: il triangolo ABC è quello più adatto al calcolo dell'area, (d) Picchi non ben separati: la superficie estrapolata (in colore più scuro) comporta un errore significativo, (e) La separazione dei picchi è tale che $EG < 1/2RH$. Si possono estrapolare i due triangoli senza commettere errori significativi. Le tangenti sono tracciate in modo che $FG \approx 1/2EH$. (f) In questo caso la figura che meglio approssima il picco è un trapezio.

METODI DI MISURA DELLA CONCENTRAZIONE

- Normalizzazione interna
- Taratura diretta
- Standardizzazione esterna
- Aggiunta singola e multipla
- Standardizzazione interna

Lo standard interno deve obbedire a una serie di requisiti:

- non essere presente nella miscela da analizzare;
- essere ben risolto dagli altri componenti;
- avere un tempo di ritenzione simile a quello dell'analita;
- avere una concentrazione simile a quella dell'analita e, se possibile, essere strutturalmente simile ad esso, in modo che il rivelatore manifesti la stessa sensibilità nei suoi confronti;
- non contenere impurezze;
- non reagire con il campione.