

ANALYTIKH XHMEIA



ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

- ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΥ
- ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΣΤΗΛΕΣ
- ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΥ
- ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ

Καθηγητές

Βασίλης Σταθόπουλος

Όλγα Αρβανίτη

Ποιοτική και Ποσοτική Ανάλυση

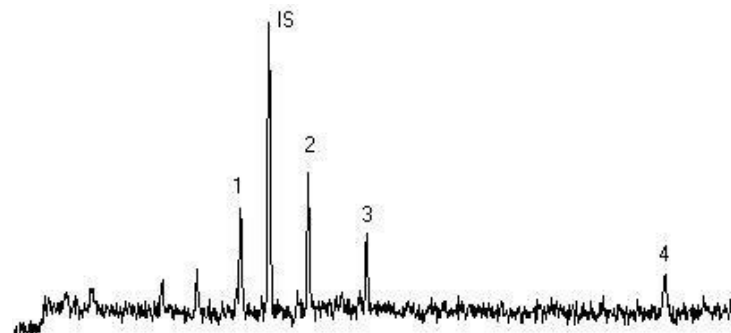
Ποιοτική Ανάλυση:

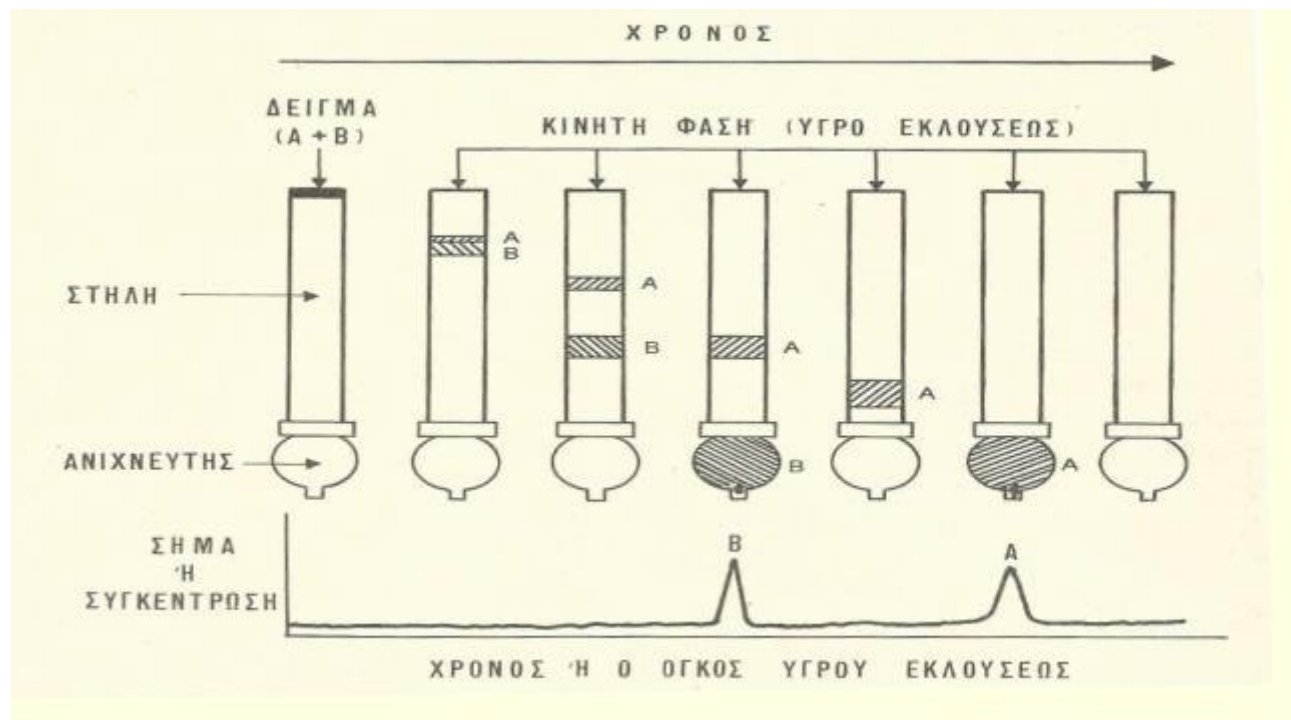
- Χρόνος Ανάσχεσης (t_R)
- Φασματοσκοπικές τεχνικές (MS, IR, UV/Vis,...)

Ποσοτική Ανάλυση:

Γραμμική σχέση μεταξύ σήματος και συγκέντρωσης

- **Ύψος κορυφής:** επηρεάζεται από μεταβολή εύρους, θερμοκρασία, ροή, ταχύτητα έγχυσης
- **Εμβαδόν κορυφής:** δεν επηρεάζεται από τα παραπάνω. Αυτοματισμός: Ολοκληρωτές – λογισμικά
- Βαθμονόμηση και πρότυπα
- Μέθοδος εσωτερικού προτύπου





Κατά την έξοδο από τη στήλη υπάρχει σύστημα ανίχνευσης

Προσδιορισμός

Ποιοτικός προσδιορισμός (ταυτοποίηση)

Επιτυγχάνεται με κριτήριο το **χρόνο ανάσχεσης ή συγκράτησης**.

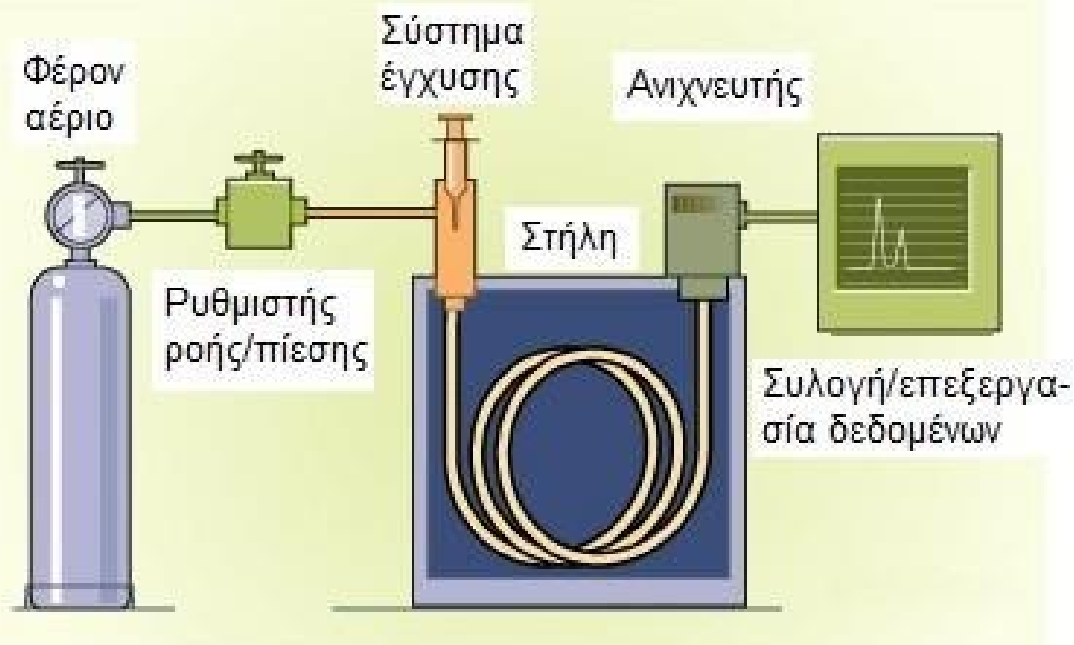
Ποσοτικός προσδιορισμός

Επιτυγχάνεται με κριτήριο το ύψος ή **το εμβαδόν των κορυφών** που καταγράφεται στον χρωματογράφο με τη βοήθεια του καταγραφικού οργάνου.

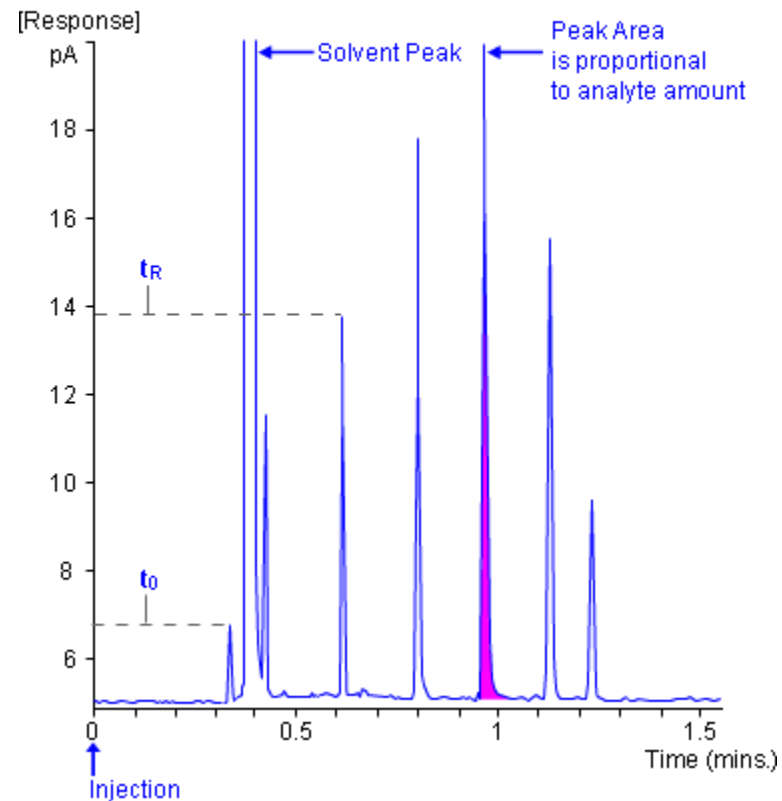
Αεριοχρωματογραφία

- ✓ Στην αεριοχρωματογραφία το δείγμα εξατμίζεται και εγχέεται στην κεφαλή μιας χρωματογραφικής στήλης. Η έκλουση πραγματοποιείται με **ροή αδρανούς αερίου**, το οποίο αποτελεί την κινητή φάση.
- ✓ Σε αντίθεση με τους περισσότερους τύπους χρωματογραφίας, **η κινητή φάση δεν αλληλεπιδρά με τα μόρια του αναλύτη**. Ο μόνος της ρόλος είναι η μετακίνηση του αναλύτη κατά μήκος της στήλης.
- ✓ Υπάρχουν δύο τύποι αεριοχρωματογραφίας: η **χρωματογραφία αερίου-στερεού** (gas-solid chromatography, GSC) & η **χρωματογραφία αερίου-υγρού** (gas-liquid chromatography, GLC).
- ✓ Η χρωματογραφία αερίου-υγρού χρησιμοποιείται ευρύτατα σε όλους τους κλάδους των θετικών επιστημών και συχνότερα αναφέρεται ως **αεριοχρωματογραφία** (gas chromatography, GC), αν και με την ονομασία αυτή παραβλέπεται, ότι η χρωματογραφία αερίου-στερεού αποτελεί κι αυτή ένα χρήσιμο τύπο χρωματογραφίας.

Διάγραμμα αεριοχρωματογράφου



t_0 - elution time of unretained peak
 t_R - retention time - determines sample identity



Αεριοχρωματογραφία

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΗ
ΑΝΑΛΥΣΗ **ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ**

ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ: Αέρια

ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ:

- 1. Στερεά σωματίδια** —→ **Χρωματογραφία αερίου-στερεού (gas-solid chromatography, GSC)**
- 2. Μη πτητικό υγρό** που συγκρατείται πάνω σε μια αδρανή στερεά επιφάνεια —→ **Χρωματογραφία αερίου-υγρού (gas-liquid chromatography, GLC)**

Χρωματογραφία αερίου-στερεού: βασίζεται στη χρήση στερεάς στατικής φάσης, όπου η κατακράτηση των αναλυτών είναι αποτέλεσμα φυσικής προσρόφησης. Οι εφαρμογές της είναι περιορισμένες λόγω της σχεδόν μόνιμης κατακράτησης δραστικών ή πολικών μορίων και της έντονης εμφάνισης ουράς στις κορυφές έκλουσης (ως συνέπεια του μη γραμμικού χαρακτήρα του μηχανισμού προσρόφησης).

Χρωματογραφία αερίου-υγρού: βασίζεται στην κατανομή του αναλύτη μεταξύ της αέριας κινητής και μιας υγρής φάσης. Η ανάπτυξη αναλυτικών εφαρμογών με την τεχνική αυτή πραγματοποιήθηκε με εκπληκτικούς ρυθμούς.

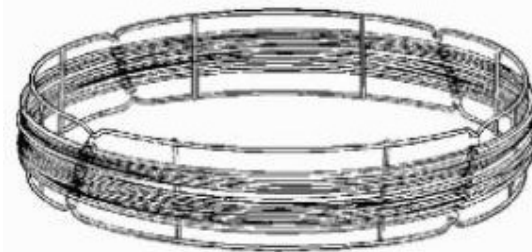
Χρωματογραφική στήλη / Στατική φάση

➤ Το **βασικότερο τμήμα** της αεριοχρωματογραφικής διάταξης είναι η **στήλη**

✓ **Πληρωμένη (packed)**

- Διάμετρος 3-6 mm

- Μήκος 1-3 m



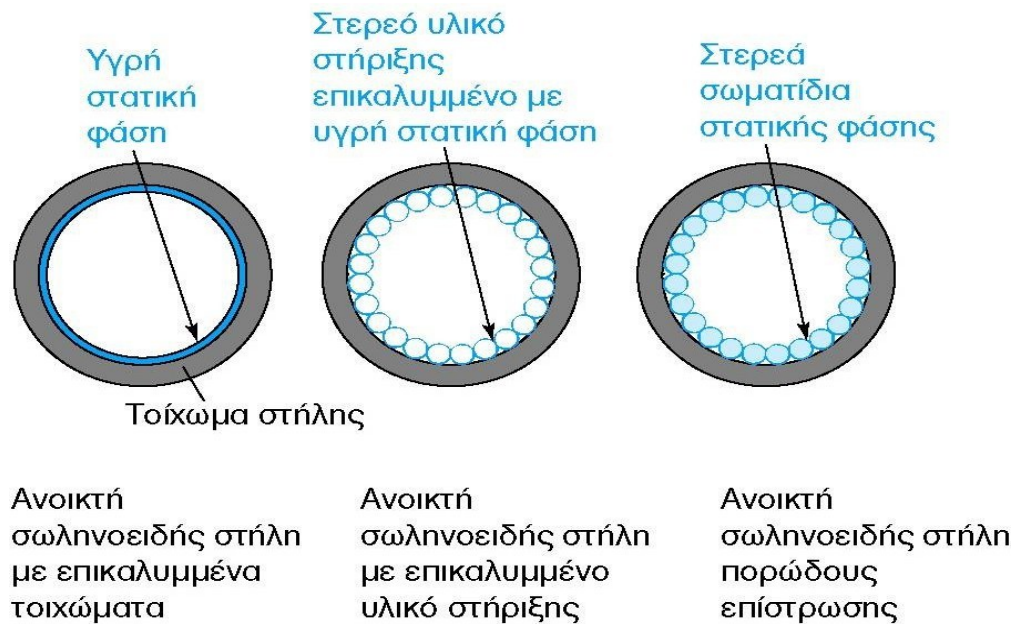
Περιέχουν ένα στερεό υπόστρωμα διαποτισμένο με κατάλληλο υγρό, που αποτελεί τη στατική φάση

✓ **Τριχοειδής (capillary)**

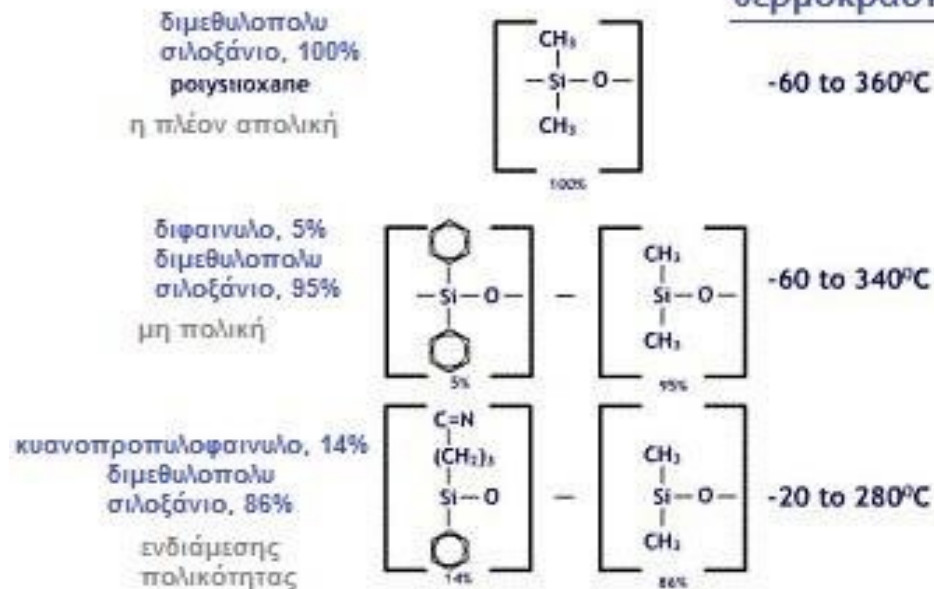
- Εσωτερική διάμετρος 0.1-1.5 mm

- Μήκος 15-100 m

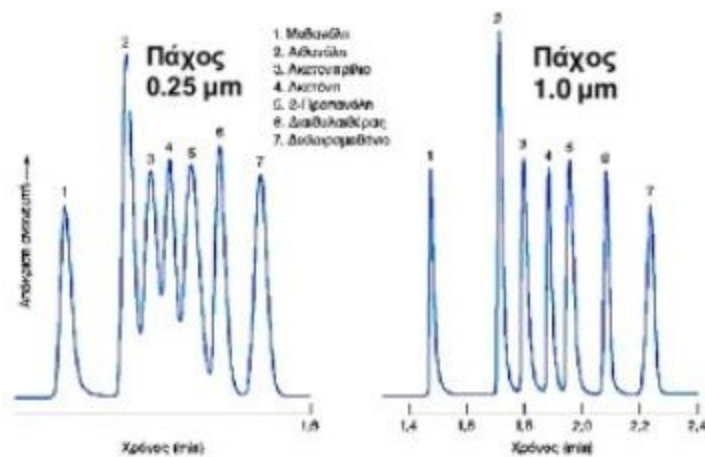
❖ *Το κριτήριο για την επιλογή της στατικής φάσης αποτελεί η χημική συγγένεια των συστατικών του δείγματος με αυτή.*



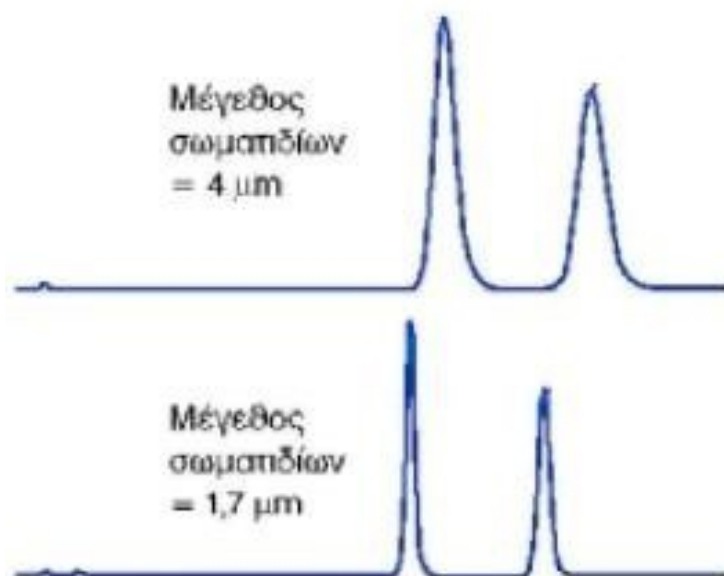
Περιοχή θερμοκρασίας:



Επίδραση του πάχους της στατικής φάσης στην αποδοτικότητα της στήλης



Επίδραση του μεγέθους των σωματιδίων στην ανάλυση



Κινητή φάση

- **Τροφοδοσία φέροντος αερίου**

Τα **φέροντα αέρια** πρέπει να είναι χημικώς αδρανή (ήλιο, άζωτο) αλλά και υδρογόνο (παρέχει ταχύτερους διαχωρισμούς και υψηλή αποδοτικότητα, αλλά είναι εύφλεκτο και απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στη χρήση του).

Η **επιλογή των αερίων** καθορίζεται συχνά από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή.

- **Φιάλη**

- **Ρυθμιστές πίεσης**

Πιέσεις: 10-50 psi πάνω από την ατμοσφαιρική πίεση (1 Atm = 14.7 psi)

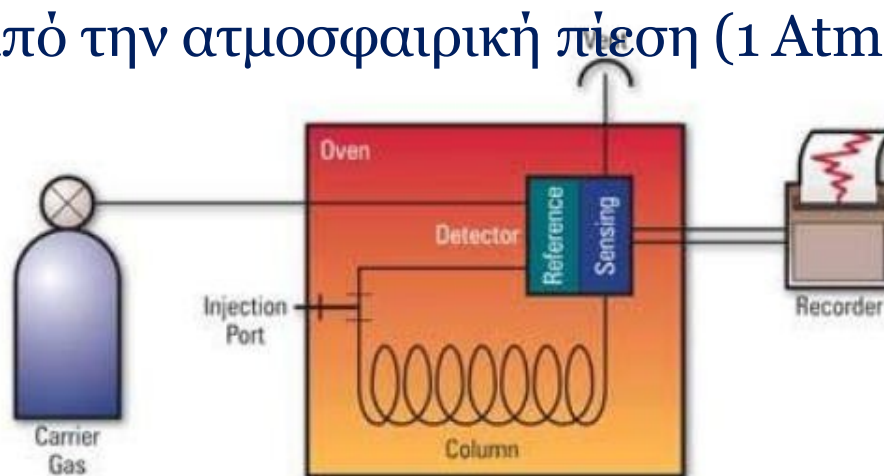
Ταχύτητα ροής:

25-150 mL/min

στις πληρωμένες

στήλες και στις

τριχοειδείς στήλες

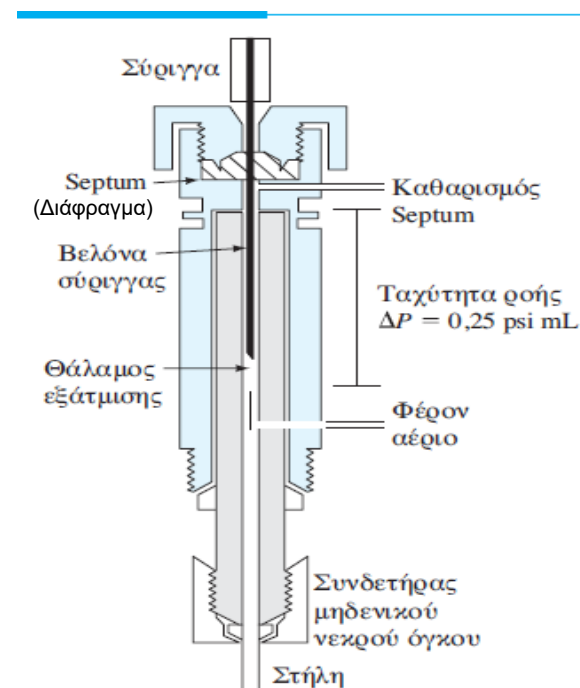
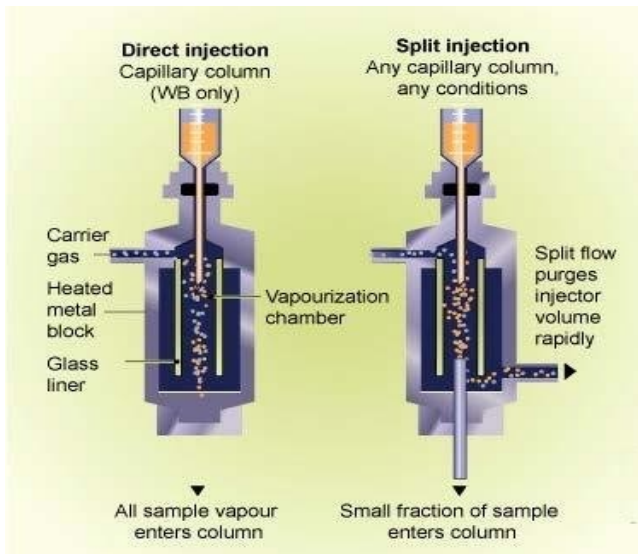


Σύστημα εισαγωγής δείγματος

Απαιτείται **ταχεία** εισαγωγή **όλου** του δείγματος (1-2 μL) σε θερμοκρασία πάνω από το σ.ζ. του λιγότερου πτητικού συστατικού του δείγματος.

Η συνηθέστερη τεχνική έγχυσης υγρού ή αερίου δείγματος είναι με μικροσύριγγα.

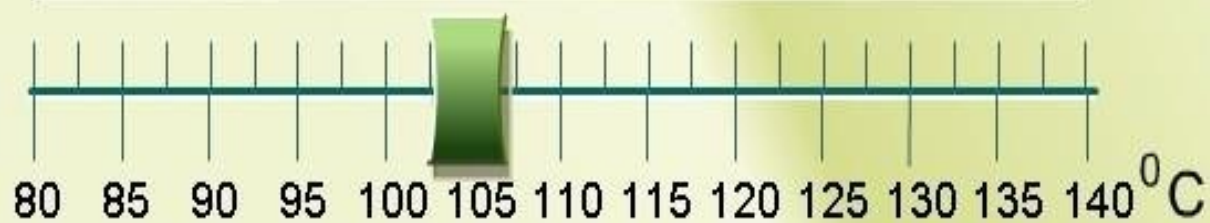
- Απευθείας έγχυση
- Έγχυση με διαμοιρασμό του δείγματος



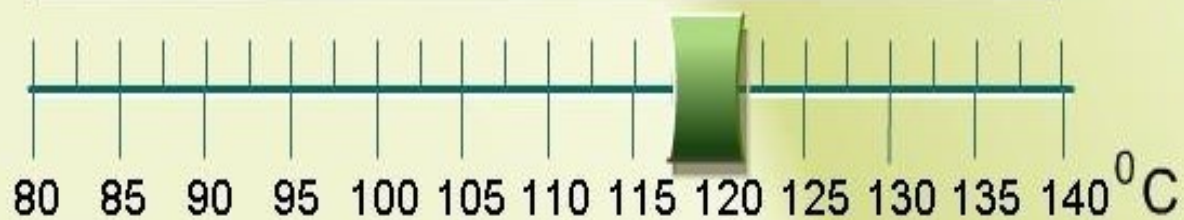
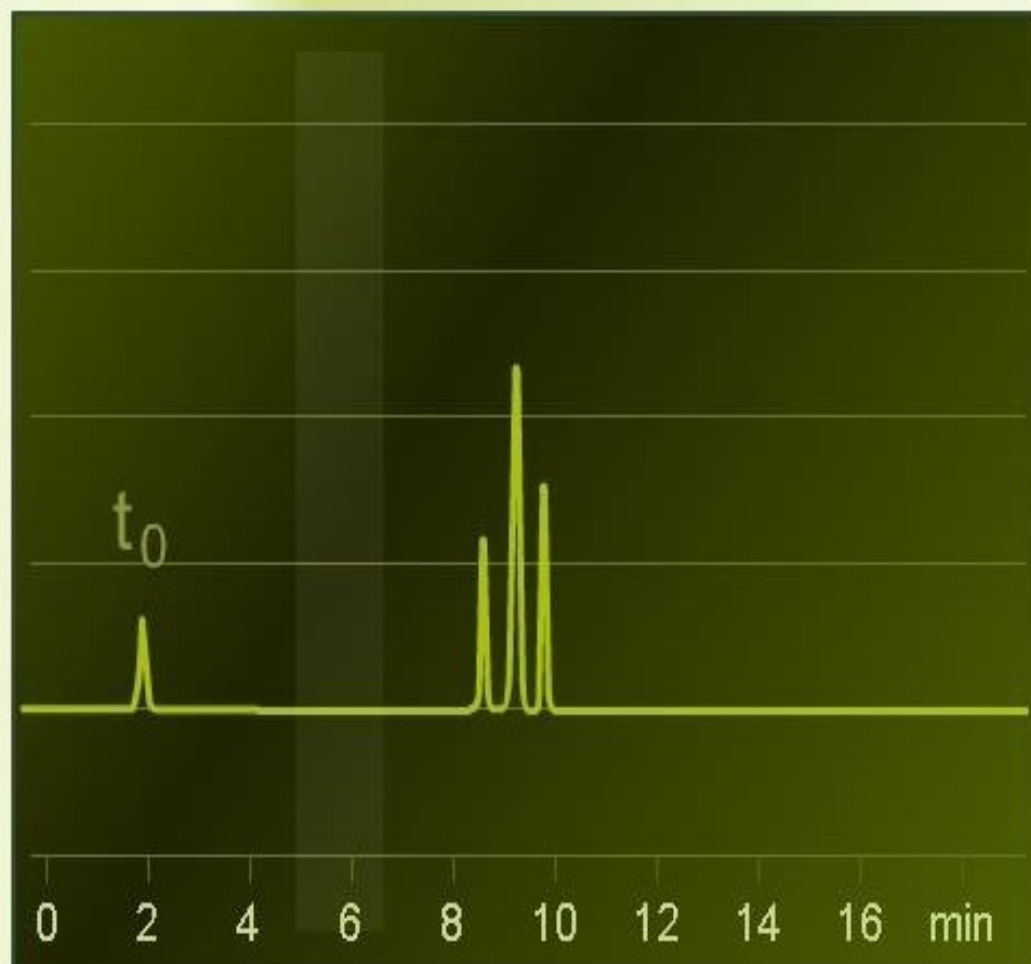
Διαμορφώσεις και φούρνοι στηλών

- ✓ Η **θερμοκρασία της στήλης είναι μια σημαντική παράμετρος** αφού επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη διαδικασία του διαχωρισμού και πρέπει να ελέγχεται με ακρίβεια μερικών δέκατων του βαθμού, αν απαιτούνται αναπαραγώγιμα αποτελέσματα.
- ✓ Η στήλη τοποθετείται σε ένα θερμοστατούμενο φούρνο.
- ✓ Η άριστη θερμοκρασία στήλης εξαρτάται από το σημείο ζέσης των συστατικών του δείγματος και τον απαιτούμενο βαθμό διαχωρισμού.
- ✓ Μια θερμοκρασία ίση ή λίγο μεγαλύτερη από το μέσο σημείο βρασμού του δείγματος οδηγεί σε λογικούς χρόνους έκλουσης (2 έως 30 min). Για δείγματα με συστατικά των οποίων τα σημεία βρασμού καλύπτουν ευρεία περιοχή τιμών, συχνά απαιτείται προγραμματισμός θερμοκρασίας.
- ✓ Ο άριστος διαχωρισμός προϋποθέτει εφαρμογή της ελάχιστης δυνατής θερμοκρασίας.
- ✓ Ωστόσο, χαμηλή θερμοκρασία οδηγεί σε αύξηση του χρόνου έκλουσης.

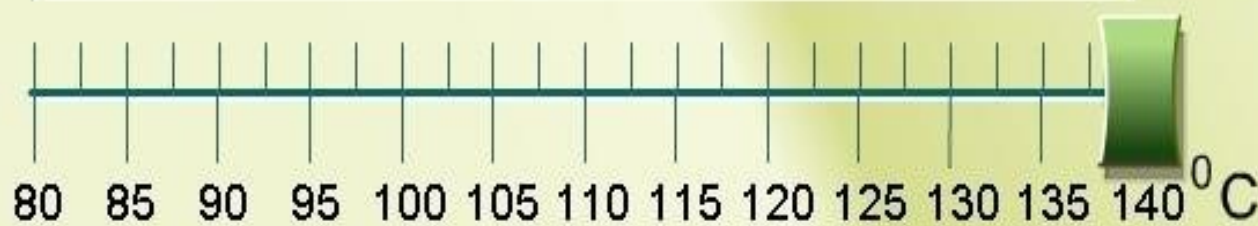
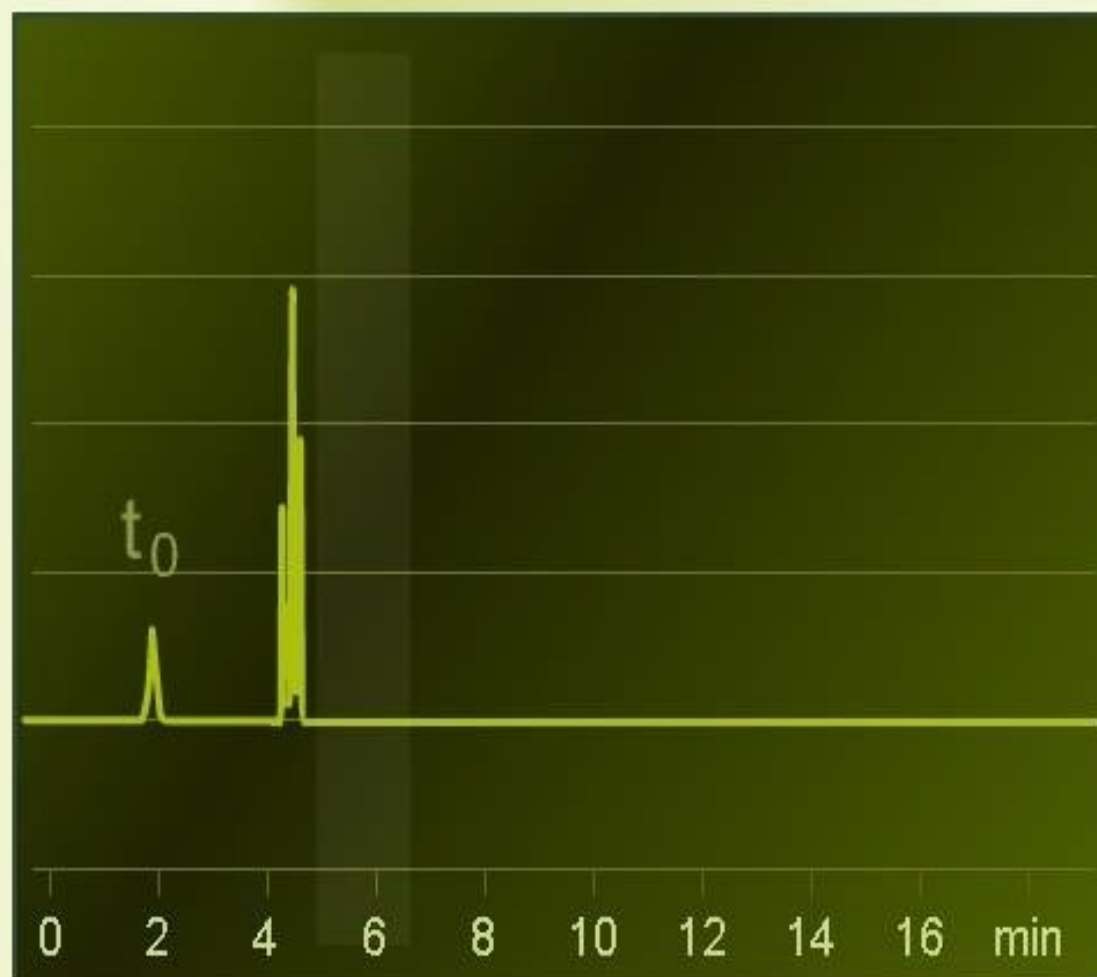
Κατακράτηση σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία



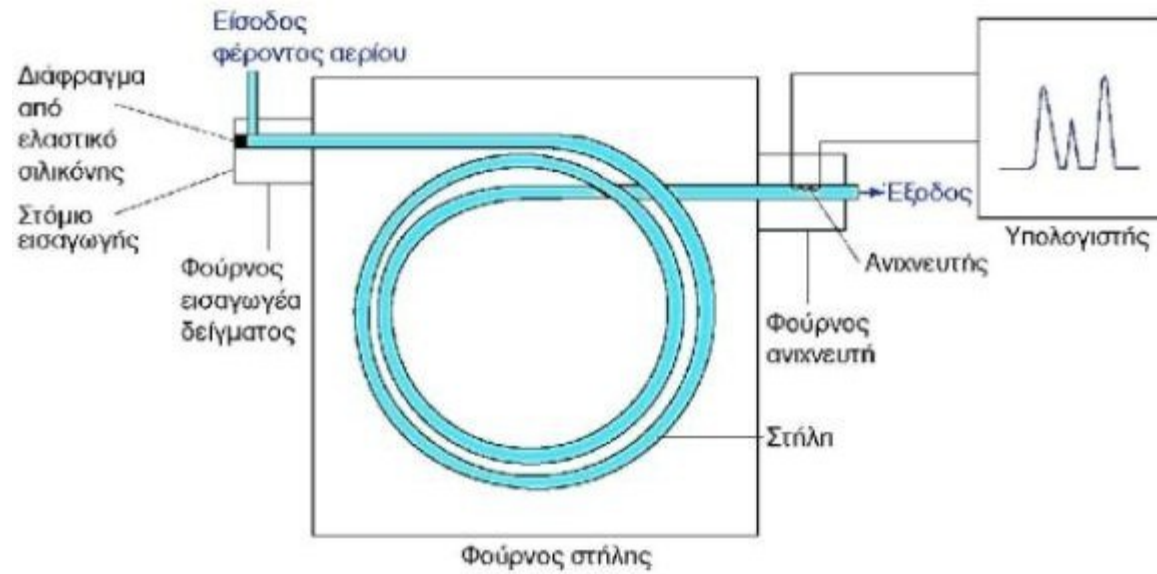
Κατακράτηση σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία

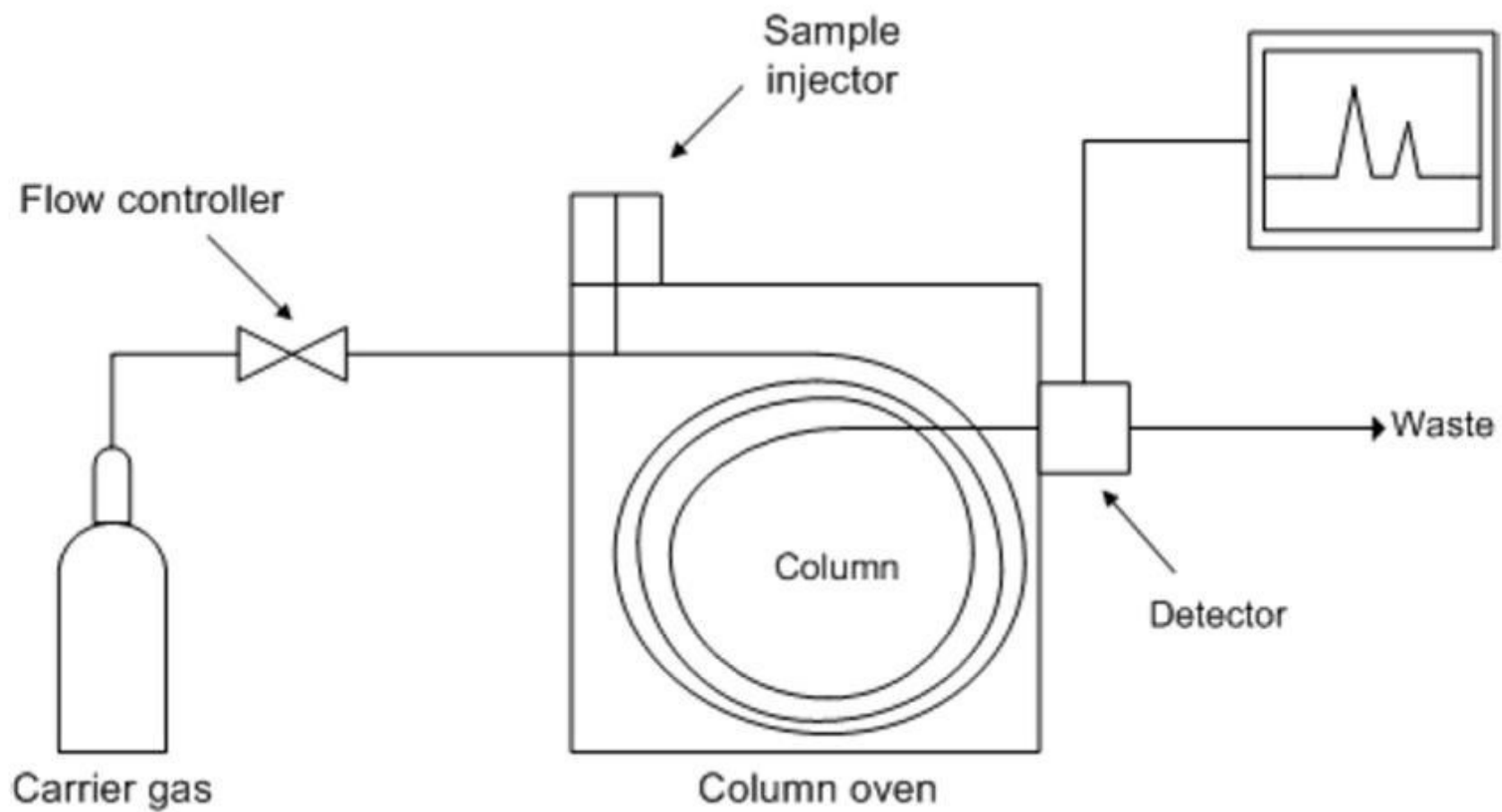


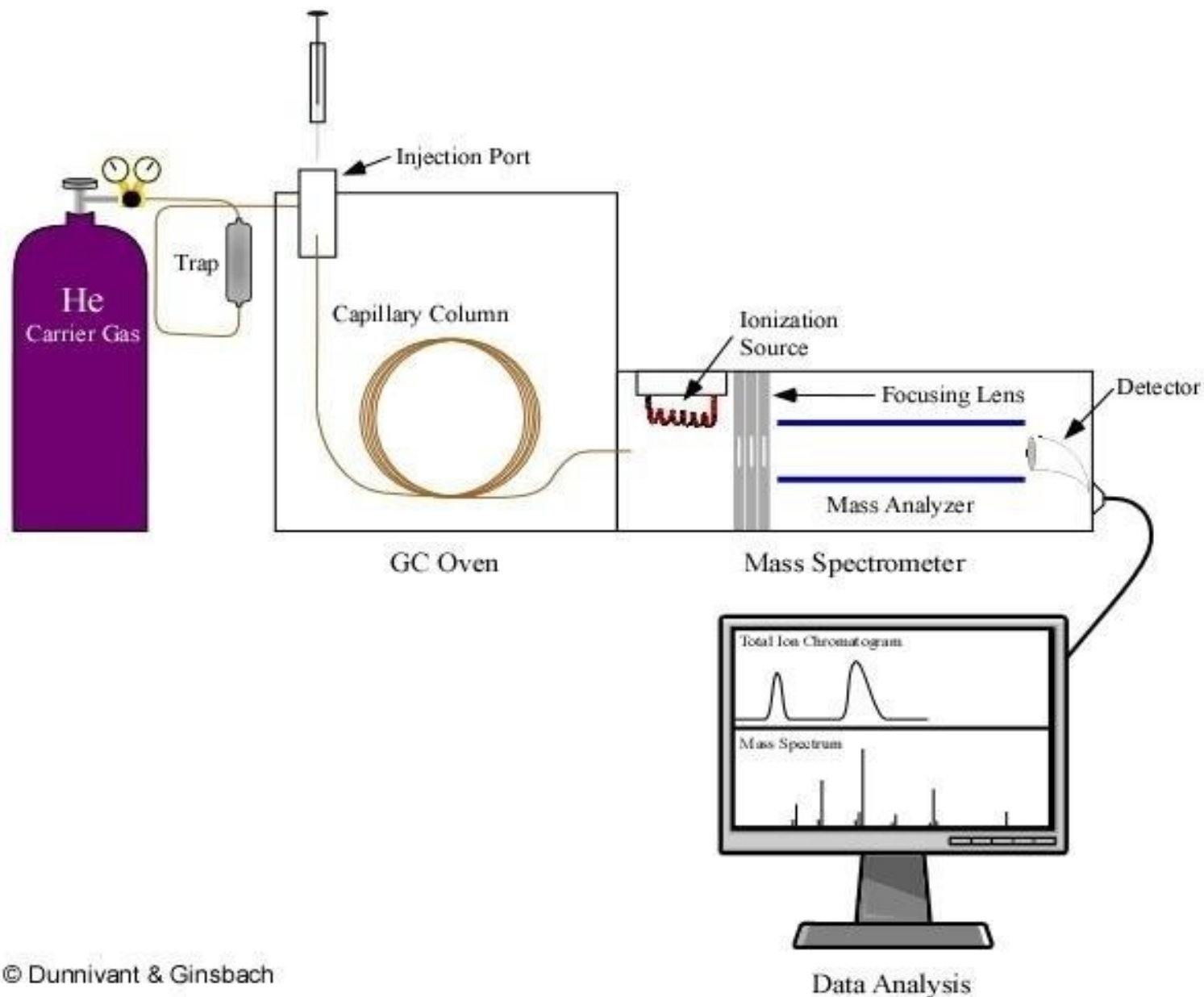
Κατακράτηση σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία



Διάγραμμα αεριοχρωματογράφου







Συστήματα ανίχνευσης

Χαρακτηριστικά του ιδανικού ανιχνευτή

1. Ικανοποιητική ευαισθησία.
2. Σταθερότητα και αναπαραγωγικότητα.
3. Γραμμική απόκριση επεκτεινόμενη σε περιοχή αρκετών τάξεων μεγέθους.
4. Περιοχή θερμοκρασιών λειτουργίας από τη θερμοκρασία δωματίου μέχρι τουλάχιστον τους 400°C.
5. Σύντομους χρόνους απόκρισης ανεξάρτητους από την ταχύτητα ροής.
6. Εξαιρετική αξιοπιστία και ευκολία στη χρήση. Ο ανιχνευτής θα πρέπει στο μέτρο του δυνατού, να μην “εξαπατά” και τον λιγότερο έμπειρο χρήστη.
7. Παρόμοια απόκριση προς όλες τις διαχωριζόμενες ουσίες ή (εναλλακτικά) εξαιρετικά προβλέψιμη και εκλεκτική απόκριση για μία ή περισσότερες ομάδες ενώσεων.
8. Να μην καταστρέφει το δείγμα.

Είναι προφανές, ότι **δεν υπάρχει ανιχνευτής που συνδυάζει όλα αυτά τα χαρακτηριστικά και είναι απίθανο να υπάρξει στο μέλλον.**

Τύποι ανιχνευτών

Ένα μεγάλο πλεονέκτημα της GC είναι η ποικιλία των ανιχνευτών που είναι διαθέσιμοι.

- ✓ Ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (FID)
- ✓ Ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (TCD)
- ✓ Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίου (ECD)
- ✓ Φλογοφωτομετρικός ανιχνευτής (FPD)
- ✓ Φασματογράφος μάζας (MS)
- ✓ Φασματόμετρο υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Ποσοτική ανάλυση

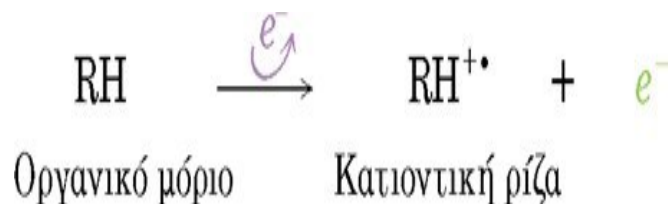
- ✓ Το σήμα από τον ανιχνευτή ενός αεριοχρωματογράφου έχει αξιοποιηθεί ευρύτατα για ποσοτικούς και ημιποσοτικούς προσδιορισμούς.
- ✓ Όπως ισχύει και στις περισσότερες αναλυτικές τεχνικές, η αξιοπιστία συνδέεται άμεσα με τον έλεγχο των μεταβλητών. Η φύση του δείγματος παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην ορθότητα των αποτελεσμάτων.

Φασματομετρία Μαζών, Mass Spectrometry, MS

❑ Τεχνική μέθοδος μέτρησης μάζας και συνεπώς μοριακού βάρους του μορίου

❑ **Αρχή λειτουργίας:**

- Μικρή ποσότητα δείγματος εισάγεται στο φασματόμετρο, όπου βομβαρδίζεται από μια **δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας**
- Όταν ένα ηλεκτρόνιο υψηλής ενέργειας προσκρούσει σε κάποιο μόριο → εκτοπίζει ένα ηλεκτρόνιο από την στοιβάδα σθένους του μορίου → δημιουργώντας μια **κατιοντική ρίζα**

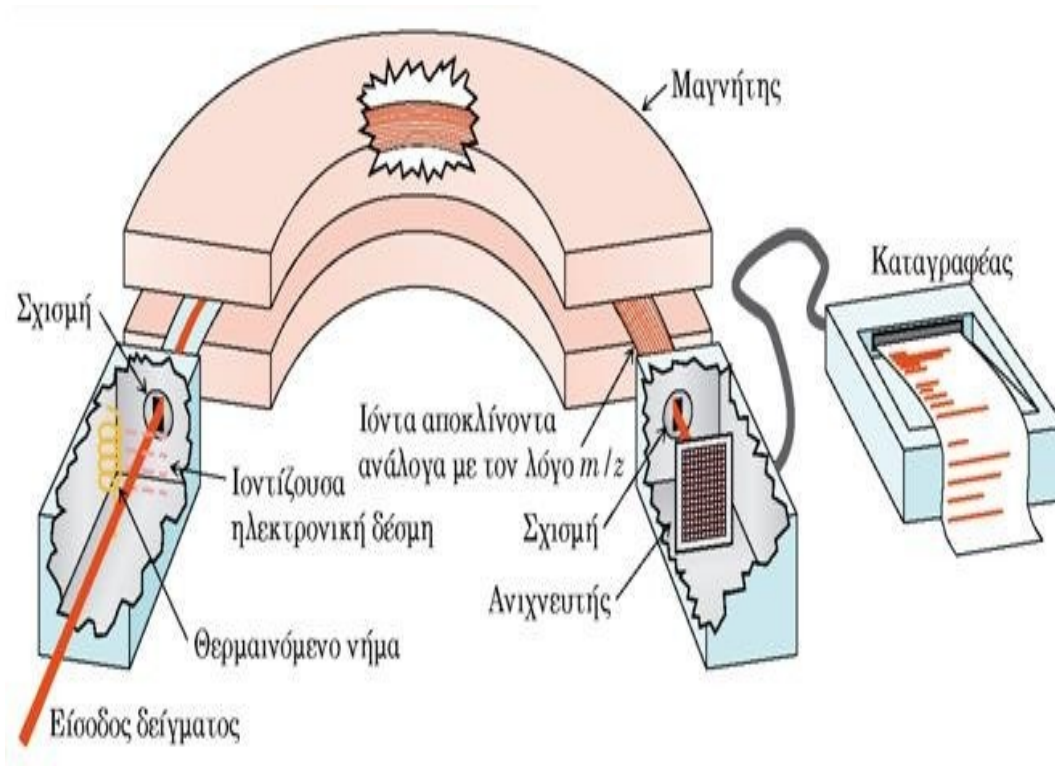


θετικό φορτίο: απώλεια ενός e^- από το μόριο, ρίζα: το μόριο διαθέτει περιττό αριθμό e^-

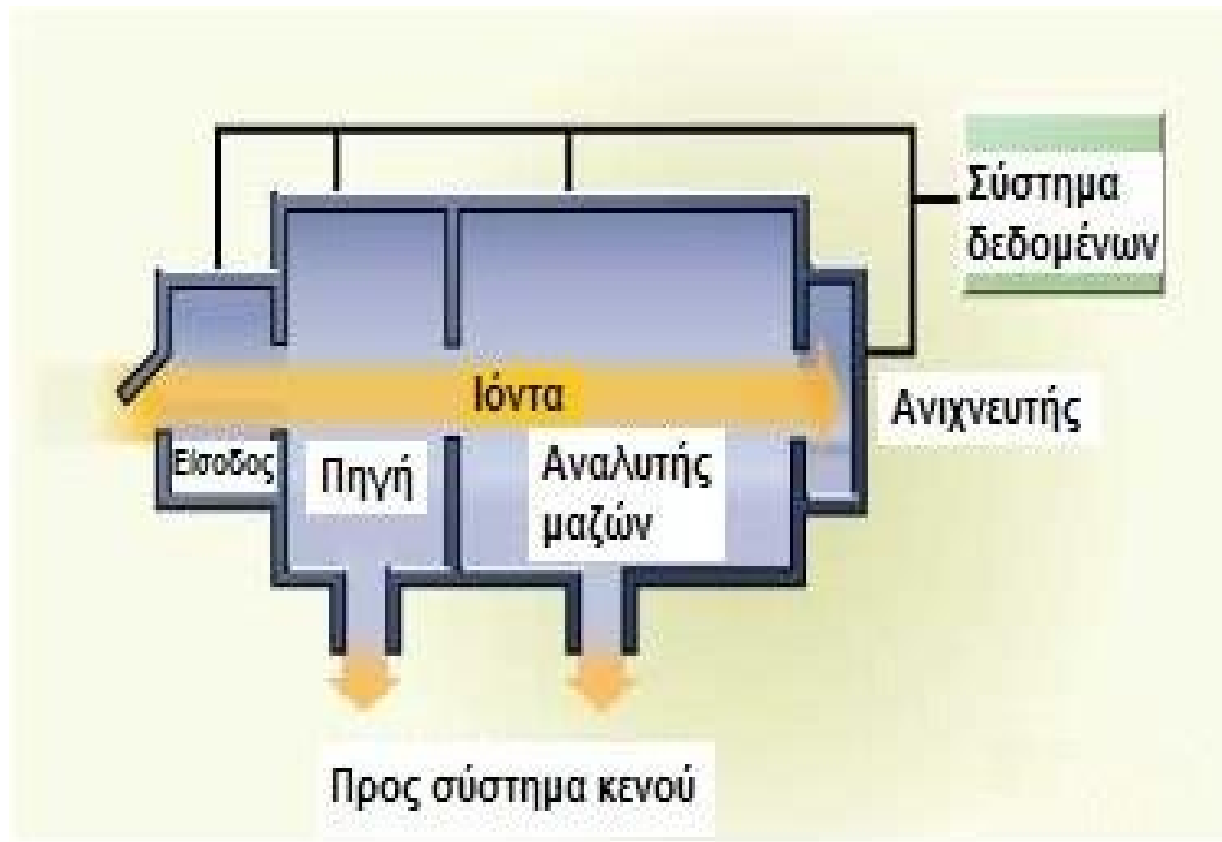
❑ Αρχή λειτουργίας (συνέχεια):

- Ο βομβαρδισμός με ηλεκτρόνιο μεταφέρει τόσο μεγάλη ποσότητα ενέργειας στο μόριο που οι περισσότερες κατιοντικές ρίζες **θραυματοποιούνται** => μικρότερα θραύσματα σε θετικά και μερικά ηλεκτρικά ουδέτερα θραύσματα
- Διέρχονται μέσω ενός σωλήνα με ισχυρό μαγνητικό πεδίο
 - Τα ουδέτερα θραύσματα δεν επηρεάζονται από το μαγνητικό πεδίο και χάνονται στα τοιχώματα
 - Τα θετικά θραύσματα **ταξινομούνται μέσω ενός ανιχνευτή (detector) και καταγράφονται ως κορυφές στις διάφορες τιμές μάζας προς φορτίο (m/z)**

Σχηματική απεικόνιση φασματομέτρου μαζών με μαγνητικό πεδίο



Σχηματική απεικόνιση φασματομέτρου μαζών με μαγνητικό πεδίο



Λόγος μάζας προς φορτίο (m/z):

Ο λόγος μάζας προς φορτίο (m/z) :

Λαμβάνεται με διαίρεση της μοριακής μάζας ενός ιόντος (m) με τον αριθμό (z) των φορτίων που φέρει

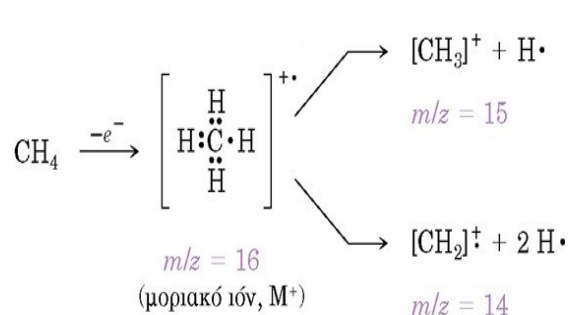
Παραδείγματα:

$$^{12}\text{C}^1\text{H}_4^+ : m/z = 16,035/1 = 16,035$$

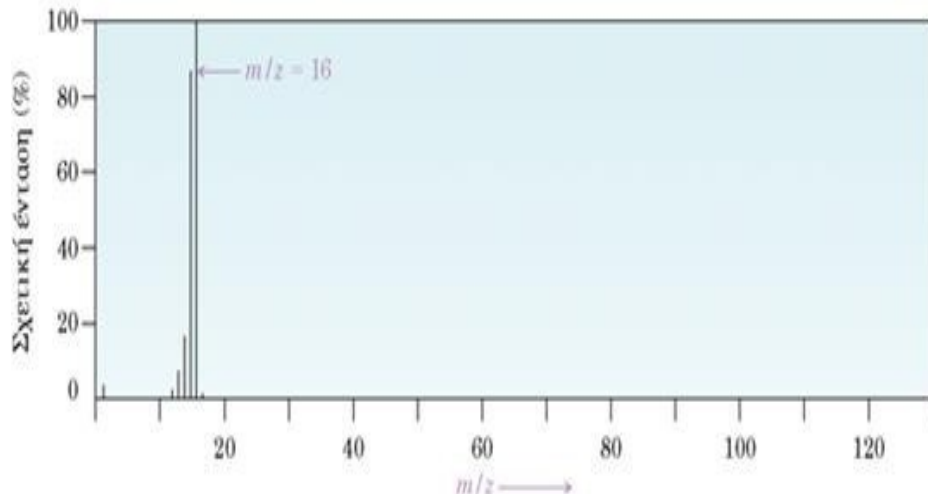
$$^{12}\text{C}^1\text{H}_4^{2+} : m/z = 16,035/2 = 8,018$$

(χωρίς μονάδες)

Φάσμα Μαζών Μεθανίου



Σχετικά απλό, επειδή είναι λίγες οι δυνατές θραυσματοποιήσεις

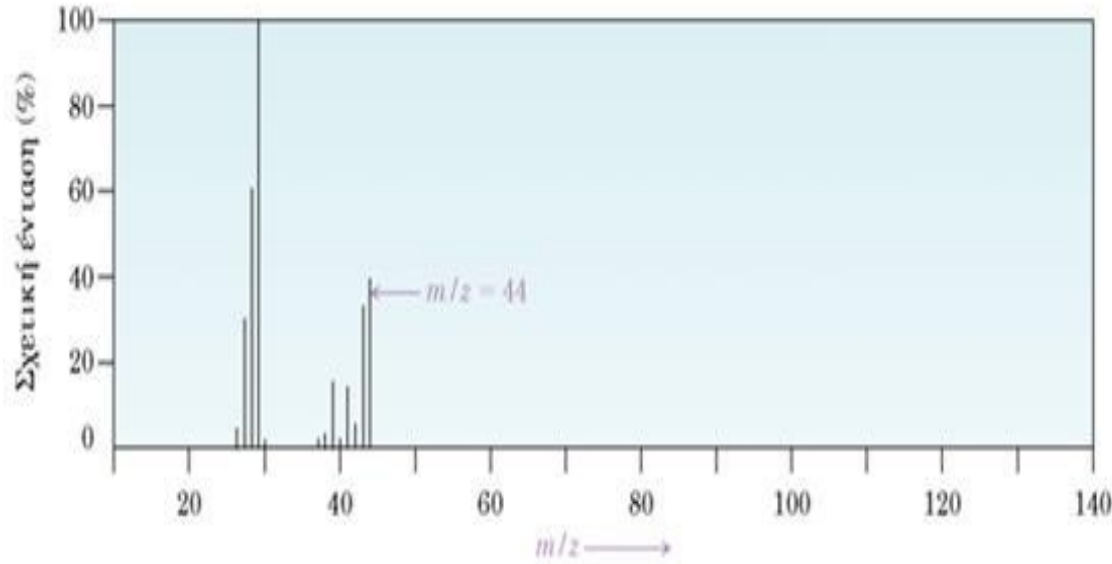


Φάσμα μαζών: γράφημα με m/z στον άξονα των x και ένταση στον άξονα των y

Βασική κορυφή: ψηλότερη κορυφή στο φάσμα στην οποία αποδίδεται αυθαίρετα ένταση 100%

Μητρική κορυφή ή μοριακό ιόν: μη θραυσματοποιημένη κατιοντική ρίζα ένωσης

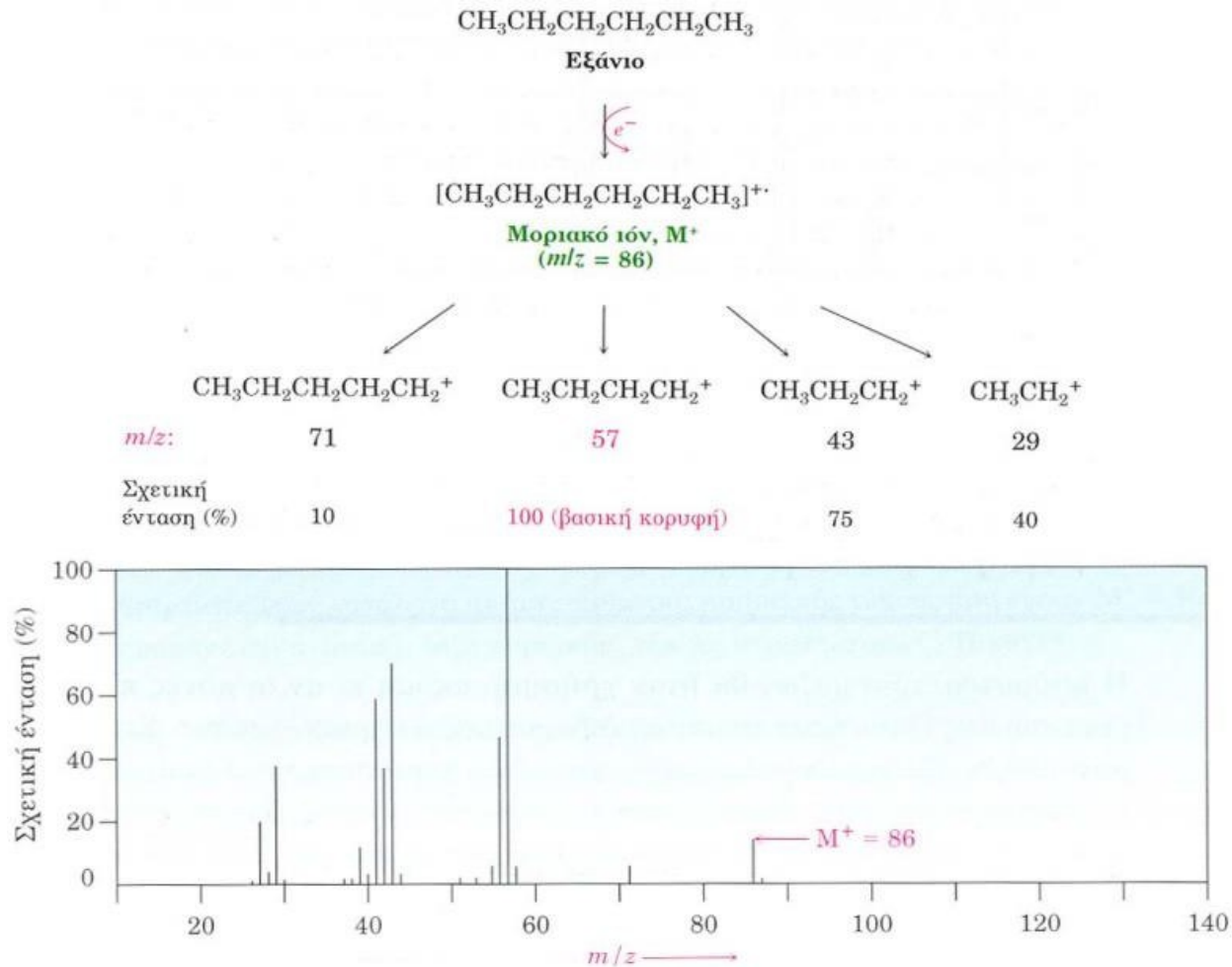
Φάσμα Μαζών Προπανίου



Παρατηρήσεις:

1. Μεγαλύτερο μόριο → περίπλοκος τρόπος θραυσματοποίησης
2. Μοριακό ιόν ($m/z = 44$) δεν είναι βασική κορυφή (30% ένταση)
3. Πολλά θραύσματα του μοριακού ιόντος

Φάσμα Μαζών Εξανίου



Ερμηνεία Φασμάτων Μαζών

❖ Μοριακό βάρος ένωσης

π.χ. τρεις όμοιες φιάλες με εξάνιο, εξένιο & εξίνιο $\rightarrow$ $M.B._{εξανίου} = 86$, $M.B._{εξενίου} = 84$ & $M.B._{εξινίου} = 82 \rightarrow$ μπορούν εύκολα να διακριθούν

❖ Υψηλή διακριτική ικανότητα

π.χ. C_5H_{12} & C_4H_8O έχουν το ίδιο $MB = 72$, το μεν 1^ο έχει 72,0939 και το 2^ο έχει 72,0575

$\rightarrow$ μπορούν εύκολα να διακριθούν

❖ Από το MB και με τη βοήθεια υπολογιστών είναι δυνατός ο υπολογισμός του μοριακού τύπου

π.χ. $m/z = 100 \rightarrow$ πιθανοί μοριακοί τύποι C_8H_{14} , $C_7H_{10}O$, $C_6H_6O_2$ ή $C_6H_{10}N_2$

❖ Κάθε οργανικό μόριο θραυσματοποιείται με ένα μοναδικό τρόπο (**σαν δακτυλικό αποτύπωμα**) εξαιτίας της δομής του $\Rightarrow$ Πιθανότητα δύο ενώσεων να έχουν πανομοιότυπα φάσματα: μικρή

❖ Χαρακτηρισμός άγνωστης ένωσης βάσει αντιπαραβολής μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή το φάσμα μαζών της με κάποιο από τα 220.000 φάσματα μαζών που έχουν καταγραφεί σε βάσεις δεδομένων

Βιβλιογραφία

- ✓ D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch, Θεμελιώδεις Αρχές Αναλυτικής Χημείας, 8η Έκδοση, Εκδ. Κωσταράκη, 2018
- ✓ H.C. Daniel, L.A. Charles, Αναλυτική Χημεία, Εκδ. BROKEN, 2021
- ✓ Gary D. Christian, Purnendu K. Dasgupta, Kevin A. Schug, Αναλυτική Χημεία, Odysseus Publishing Ltd, 2019
- ✓ Αλυγιζάκης, Ν., (2021) Αναλυτική Χημεία, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- ✓ Αρβανίτη, Ο., (2018) Ενόργανη Ανάλυση Τροφίμων, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Ιόνιο Πανεπιστήμιο
- ✓ Σταλίκας Κ., (2018) Αναλυτική Χημεία ΙΙΙ, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων