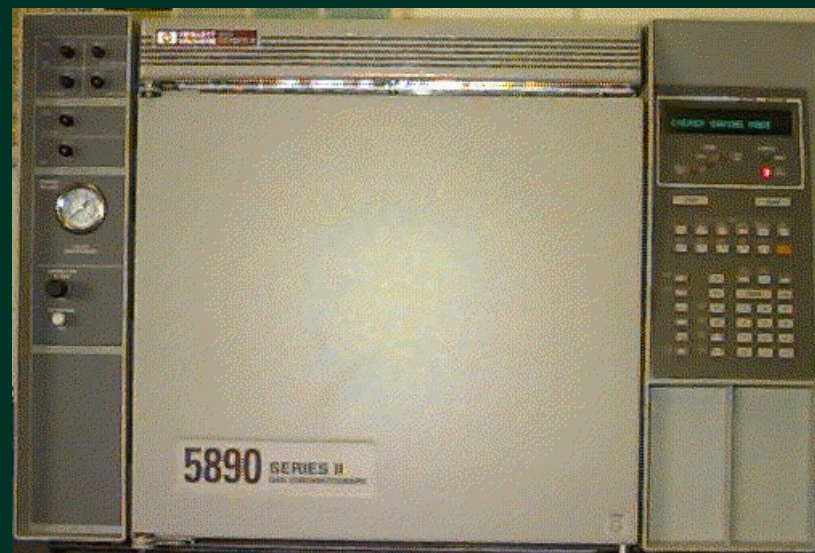


Αεριοχρωματογραφία (Gas Chromatography)



Ε. ΜΠΑΚΕΑΣ, 2012

Αεριοχρωματογραφία

- Η αεριοχρωματογραφία ανήκει στις μεθόδους διαχωρισμού και εφαρμόζεται κυρίως σε αναλυτική κλίμακα (ποσότητες δειγμάτων μικρότερες των 10^{-6} g = 1μg/συστατικό)
- Οι ενώσεις πρέπει να είναι ή να καθίστανται πτητικές και θα πρέπει να μεταβαίνουν στην αέρια φάση χωρίς ταυτόχρονη διάσπαση
- Η αεριοχρωματογραφία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ταυτότητας (ποιοτική ανάλυση) και της ποσότητας (ποσοτική ανάλυση) των ενώσεων
- Η αεριοχρωματογραφία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος απομόνωσης ενός συστατικού ενός μίγματος στην καθαρή μορφή του (Preparative Chromatography)

Οι 4 βασικές αρχές της αεριοχρωματογραφίας

Στατική φάση

Υγρή (L)

Στερεά (S)

Κινητή φάση

Αέρια (G)

GSC: χρωματογραφία προσρόφησης

GLC: χρωματογραφία κατανομής

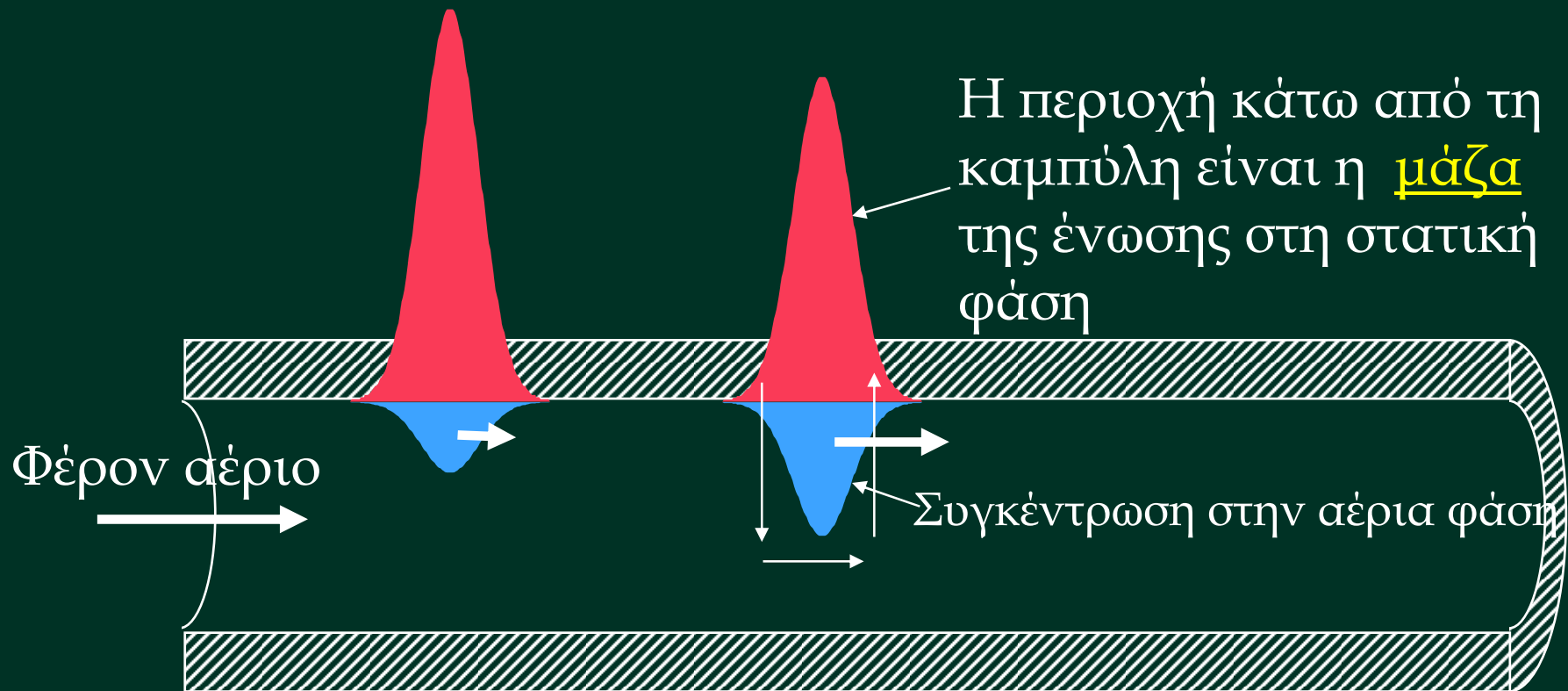
Κατανομή των αναλυτών μεταξύ των φάσεων

$$A_{\text{KIN}} \leftrightarrow A_{\text{ΣΤΑΤ}}$$

Η σταθερά ισορροπίας, K , ορίζεται ως **συντελεστής κατανομής**

Αρχή μεθόδου

- ▶ Η ταχύτητα της ένωσης μέσα στη στήλη εξαρτάται από τη “συγγένειά” της προς τη στατική φάση



Πλεονεκτήματα της αεριοχρωματογραφίας

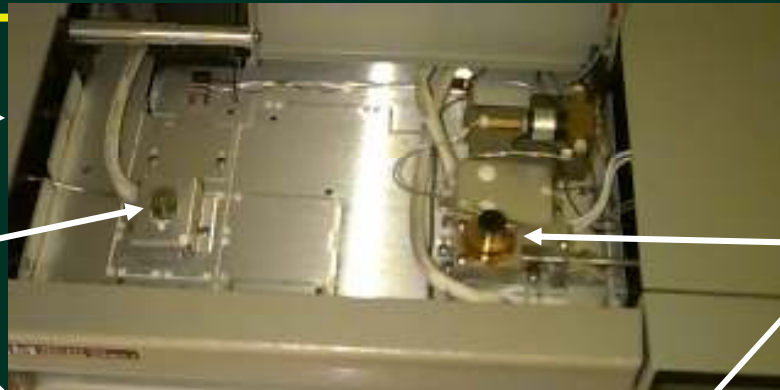
- Απαιτεί μικρού μεγέθους δείγματα τα οποία δεν απαιτούν εκτεταμένη προκατεργασία
- Αποτελεσματική στο διαχωρισμό πολύπλοκων μιγμάτων στα συστατικά τους ($N \sim 1,3 \cdot 10^6$)
- Τα αποτελέσματα λαμβάνονται σε σύντομο χρονικό διάστημα
- Υψηλή ακρίβεια (1-5 % RSD)
- Κατάλληλη ευαισθησία για τον προσδιορισμό πτητικών οργανικών ενώσεων σε χαμηλές συγκεντρώσεις (ppb, ppt)
- Η οργανολογία δεν είναι περίπλοκη

Πλεονεκτήματα της αεριοχρωματογραφίας

- Συχνά περιορίζεται από την πτητικότητα των ενώσεων
 - η θερμοκρασία της στήλης περιορίζεται $\sim 380\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - η $P_{\text{ατμ}}$ του αναλύτη $\sim 60\text{ torr}$ σε αυτή τη θερμοκρασία στήλης
 - οι ενώσεις θα πρέπει να έχουν σ.ζ. $< 500\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Ακατάλληλη για θερμικά ασταθείς ενώσεις
- Μερικά δείγματα απαιτούν εκτεταμένη προκατεργασία. Τα δείγματα θα πρέπει να είναι διαλυτά και να μην αντιδρούν με τη στήλη
- Συνήθως απαιτείται η χρήση φασματοσκοπίας (συνήθως MS) για τον προσδιορισμό της ταυτότητας των ενώσεων

Αεριοχρωματογράφος

Άνω όψη
Εισαγωγέας



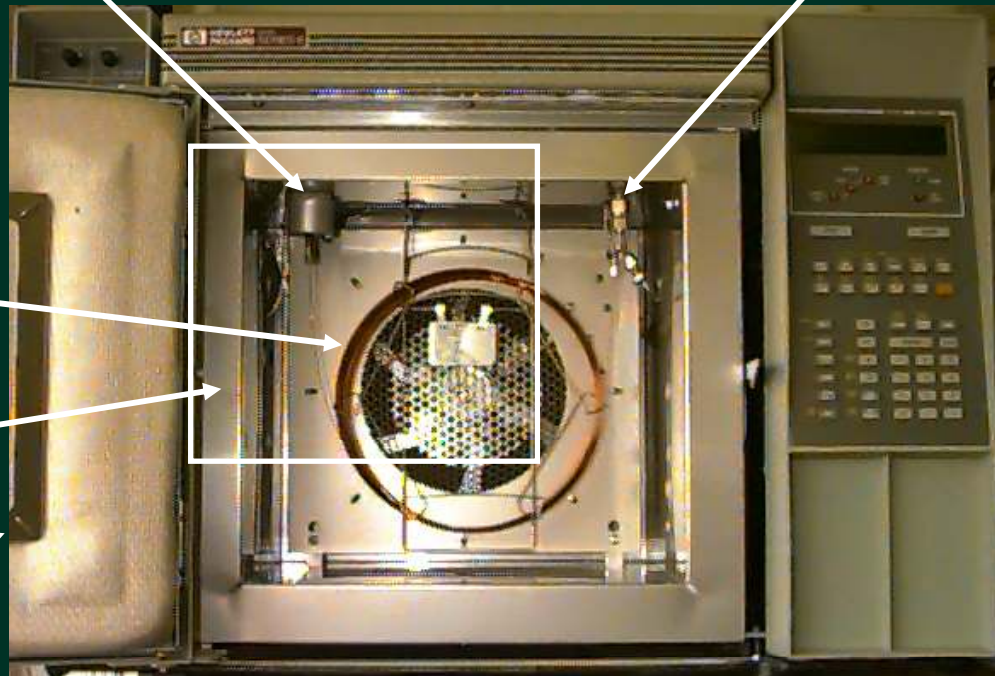
Ανιχνευτής



Στήλη

Φούρνος

Εμπρόσθια όψη

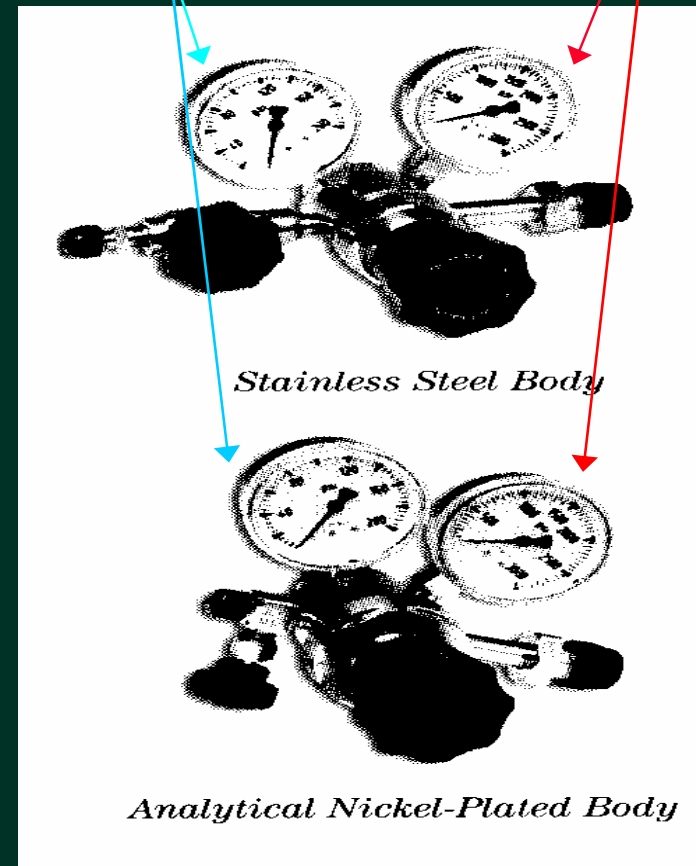


Ρύθμιση ροής αερίων

Ρύθμιση πίεσης
εισόδου από φιάλη

Ρύθμιση πίεσης
εξόδου προς
αεριοχρωματογράφο

- Μεταβολή κατά 1 % της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου προκαλεί μεταβολή κατά περίπου 1% του χρόνου κατακράτησης. Για αυτόν το λόγο απαιτείται η ροή να παραμένει σταθερή. Αυτό επιτυγχάνεται με
 1. Έλεγχο της πίεσης εισόδου του αερίου
 2. Έλεγχο της ταχύτητας ροής του αερίου
- Σε ισόθερμες συνθήκες ξεχωριστή ρύθμιση των παραπάνω δεν έχει έννοια αφού η ρύθμιση της σταθερότητας του ενός σημαίνει ταυτόχρονη ρύθμιση της σταθερότητας και του άλλου. Σε συνθήκες, όμως προγραμματιζόμενης θερμοκρασίας η κατάσταση είναι διαφορετική. Εάν παραμείνει σταθερή η πίεση εισόδου του φέροντος αερίου η ταχύτητα ροής αυτού θα μεταβάλλεται ανάλογα με τη θερμοκρασία. Στην περίπτωση αυτή απαιτείται και ρύθμιση της ροής του φέροντος αερίου.
- Τα αέρια φυλάσσονται σε φιάλες σε υψηλή πίεση 2500 psi(150-160 atm)
- Οι ρυθμιστές πίεσης διαθέτουν δύο διαφορετικά στάδια ρύθμισης :
 - πρώτο στάδιο : υψηλή πίεση εισόδου
 - δεύτερο στάδιο : χαμηλή πίεση εξόδου (40~100psi)



Προτεινόμενες ταχύτητες ροής αερίων

Ανιχνευτής	Αέριο	Περιοχή	Τριχοειδής στήλη	Πακεταρισμένη στήλη
FID	Φέρον αέριο		2 ml/min	40 ml/min
	H ₂	30~50 ml/min	35 ml/min	40 ml/min
	Αέρας	300~600 ml/min	350 ml/min	500 ml/min
	Make-up(N ₂)	10~60 ml/min	30 ml/min	-
NPD	H ₂	2~4 ml/min		
	Αέρας	40~80 ml/min		
	Make-up(N ₂ , He)	10~20 ml/min		
PID	Make-up	5~10 ml/min		
FPD	Φέρον αέριο		1~3 ml/min	30~50 ml/min
	H ₂		85~100 ml/min	100~120 ml/min
	Αέρας		100~120 ml/min	110~135 ml/min

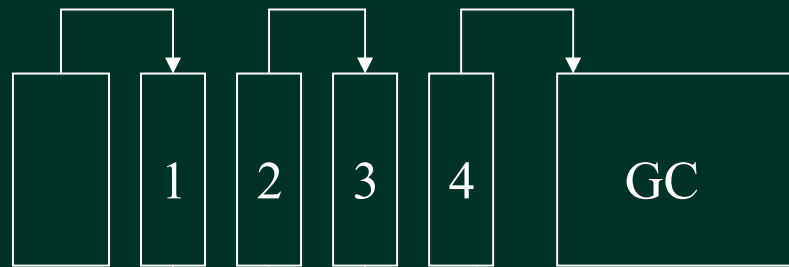
Παγίδες καθαρισμού αερίων

Οι παγίδες καθαρισμού των αερίων κατακρατούν την υγρασία ή τα έλαια τα οποία έχουν εισέλθει στις φιάλες των αερίων κατά τη διάρκεια της πλήρωσής τους. Οι προσμίξεις οι οποίες κατακρατούνται από τις παγίδες μπορεί να επιδράσουν στη στατική φάση δίνοντας επιπλέον κορυφές. Επίσης μπορεί να προκαλέσουν αυξημένο θόρυβο στον ανιχνευτή.

Οι παγίδες θα πρέπει να αναγεννιούνται (περίπου δύο φορές το χρόνο) με θέρμανση στους 300 °C για 4~8 hr με τη διαβίβαση ενός ρεύματος αερίου ή με η τοποθέτησή τους σε φούρνο κενού.

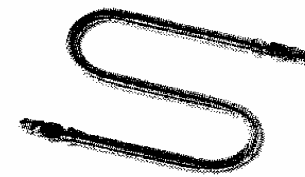
Παγίδες καθαρισμού αερίων

Παγίδες καθαρισμού αερίων

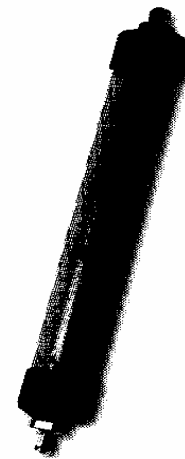


Φιάλη
αερίου

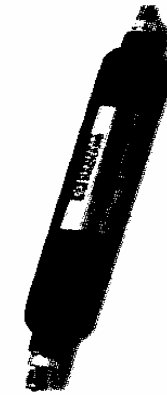
1. Παγίδα υδρογονανθράκων
2. Παγίδα υγρασίας
3. Παγίδα οξυγόνου
4. Παγίδα ένδειξης οξυγόνου



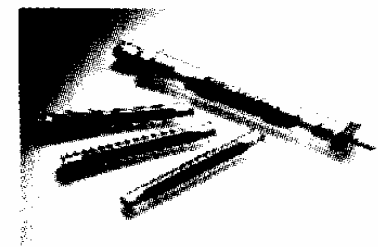
Moisture Trap



*Glass Indicating
Moisture Trap*



*Oxygen trap
3150-0414*



*Split Vent Trap
and Cartridges
5181-8802*

Παγίδες καθαρισμού αερίων (προτεινόμενη χρήση)

Προτεινόμενη
παγίδα

Τριχοειδή στήλη με οποιοδήποτε ανιχνευτή	Φέρον αέριο Make-up Αέρας για FID H ₂ για FID	Υδρογονάνθρακες, Υγρασία, Οξυγόνο όχι σε όλους τους ανιχνευτές αλλά για τον ECD υγρασίας και οξυγόνου Υδρογονάνθρακες Καμμία
Πακεταρισμένη στήλη με FID ή TCD	Φέρον αέριο	Υδρογονάνθρακες, Υγρασία, Οξυγόνο
Πακεταρισμένη στήλη με ECD, FPD, NPD, MSD	Φέρον αέριο	Υδρογονάνθρακες, Υγρασία, Οξυγόνο

Σύστημα εισαγωγής δείγματος

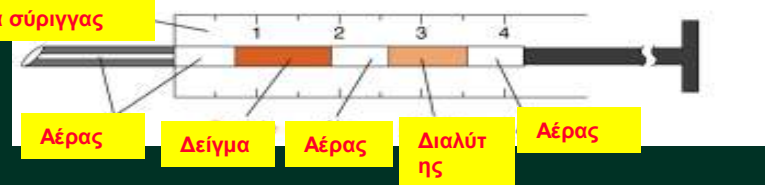
Ελαστικό
διάφραγμα
(septum)



- Η αποτελεσματικότητα της στήλης απαιτεί το ενιόμενο δείγμα να είναι κατάλληλου μεγέθους και να εισάγεται ως μικρού εύρους ζώνη. Αργή εισαγωγή μεγάλου όγκου δείγματος οδηγεί σε εκφυλισμό των κορυφών και απώλεια της διαχωριστικής ικανότητας του συστήματος.
- Οι πλέον χρησιμοποιούμενοι τρόποι εισαγωγής είναι η χρήση μικροσύριγγας και βαλβίδας
- Οι απαιτήσεις για το σύστημα εισαγωγής του δείγματος είναι να είναι θερμοκρασιακά ελεγχόμενο, να είναι μικρού όγκου και να είναι κατασκευασμένο από αδρανή υλικά.
- Η περιοχή στην οποία εισάγεται το δείγμα πρέπει να διατηρείται σε υψηλή θερμοκρασία έτσι ώστε το δείγμα να ατμοποιείται ταχέως. Για αυτόν το λόγο η θερμοκρασία του εισαγωγέα είναι συνήθως περίπου 50°C υψηλότερη από το σ.ζ. του λιγότερο πτητικού συστατικού του δείγματος.
- Μερικές φορές όμως η υπερθέρμανση του εισαγωγέα πρέπει να αποφεύγεται γιατί μπορεί να εκλυθούν αέριες προσμίξεις από το ελαστικό διάφραγμα του εισαγωγέα.
- Το φέρον αέριο παρασύρει το αέριο δείγμα από τον εισαγωγέα στη στήλη
- Για τις πακεταρισμένες στήλες η ενιόμενη ποσότητα δείγματος ποικίλει από 0,1 έως 10 mL ενώ για τις τριχοειδείς στήλες αντίστοιχα από 1x10 μL.

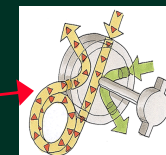
Η τεχνική εισαγωγής με τη χρήση μικροσύριγγας είναι η πλέον χρησιμοποιούμενη τόσο για αέρια όσο και για μικρού ιξώδους υγρά δείγματα τα οποία εισάγονται με την εισαγωγή της βελόνης της σύριγγας μέσω του ελαστικού διαφράγματος στον εισαγωγέα.

Σώμα σύριγγας

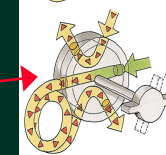


Οι βαλβίδες εισαγωγής του δείγματος ενδείκνυνται για την αυτόματη ανάλυση αερίων δειγμάτων. Στη θέση (α) το ρεύμα το οποίο δειγματοληπτείται ρέει μέσω ενός βρόγχου (loop) συγκεκριμένου όγκου ενώ το φέρον αέριο ρέει κατευθείαν μέσα στη στήλη. Στη θέση (β) το φέρον αέριο ρέει μέσω του βρόγχου παρασύροντας το δείγμα στη στήλη. Η χρήση των βαλβίδων αυξάνει στην ποσοτική ανάλυση αερίων και υγρών δειγμάτων λόγω της καλής επαναληψιμότητας του ενιόμενου όγκου δείγματος. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε εισαγωγή διαμοιρασμού και μη διαμοιρασμού του δείγματος.

(α)

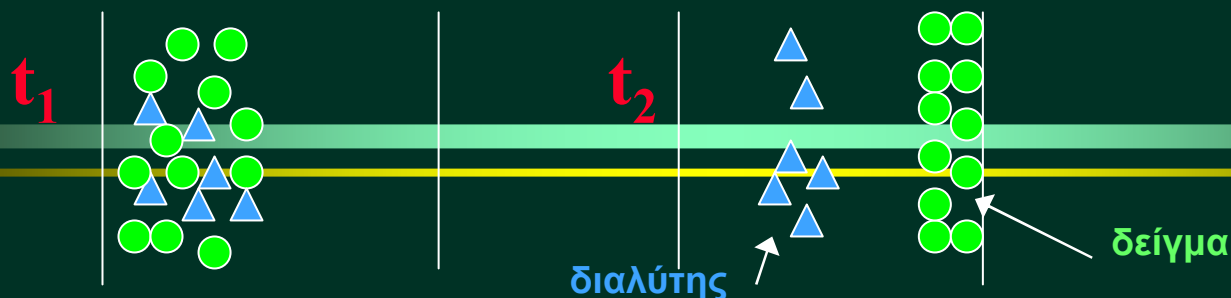


(β)



Ε. ΜΠΑΚΕΑΣ, 2012

Επίδραση του διαλύτη στην εισαγωγή του δείγματος



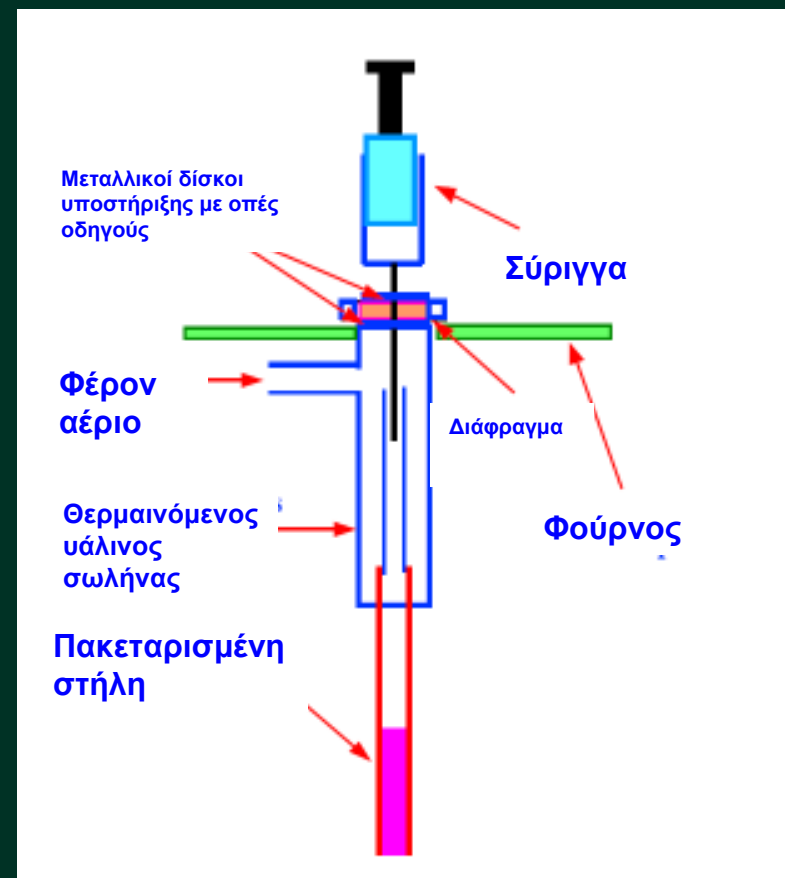
Χρόνος t_1 αμέσως μετά την εισαγωγή ο διαλύτης και το δείγμα συγκεντρώνονται σε μία ευρεία ζώνη στην κορυφή της στήλης. Η θερμοκρασία της στήλης θα πρέπει να είναι αρκετά χαμηλή για να παραμείνει συμπυκνωμένος ο διαλύτης.

Χρόνος t_2 μετά την παρέλευση χρονικού διαστήματος η θερμοκρασία της στήλης έχει αυξηθεί, το μεγαλύτερο ποσοστό του διαλύτη έχει ατμοποιηθεί και η επίδραση του διαλύτη έχει διατηρήσει τα μόρια του δείγματος συγκεντρωμένα σε μία μικρού εύρους ζώνη στην κορυφή της στήλης. Καθώς η θερμοκρασία αυξάνει περαιτέρω ο διαλύτης ο οποίος έχει παραμείνει και το δείγμα ατμοποιούνται ταχέως με αποτέλεσμα να παρατηρείται αυξημένη ικανότητα της στήλης και οξείες χρωματογραφικές κορυφές.

Εισαγωγή σε πακεταρισμένες στήλες

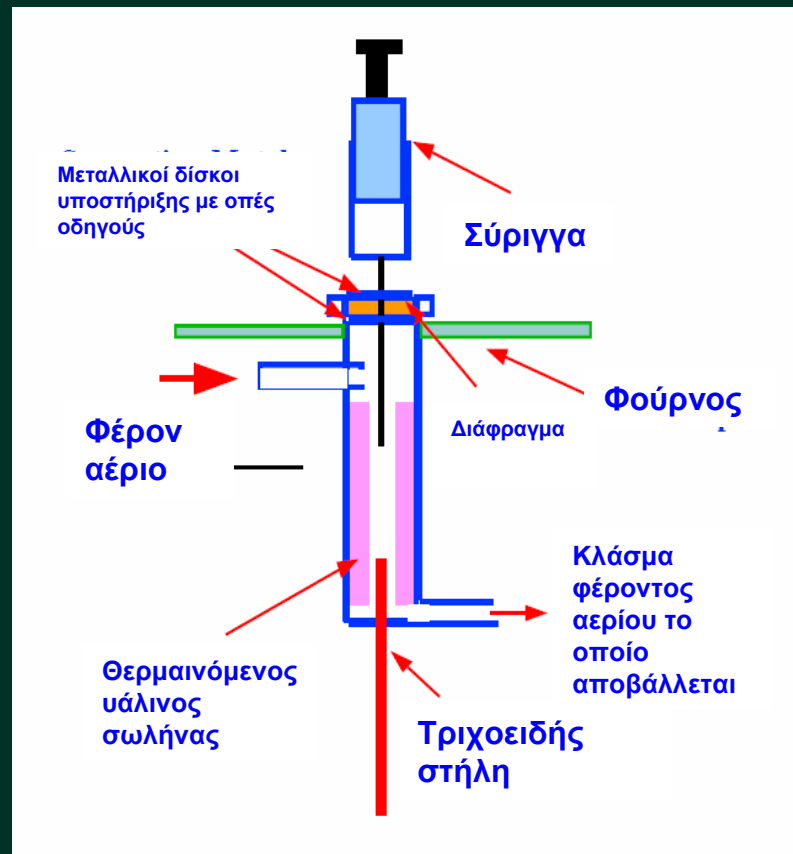
Γενικά ο όγκος του δείγματος ο οποίος εισάγεται σε μία πακεταρισμένη στήλη κυμαίνεται από 0,5 ml έως 10 ml και συνήθως η συγκέντρωση των προσδιοριζόμενων συστατικών κυμαίνεται από 5%w/v έως 10%w/v.

Το δείγμα εισάγεται με σύριγγα μέσω του ελαστικού διαφράγματος απευθείας στη στατική φάση της στήλης (διατηρεί το δείγμα σε μία μικρού εύρους ζώνη αλλά μπορεί να προκαλέσει μείωση της θερμοκρασίας στην κορυφή της στήλης) ή στο σώμα του εισαγωγέα (προκαλεί διεύρυνση των κορυφών αλλά υποβοηθά την ακτινωτή διάχυση του δείγματος). Το σύστημα αυτός (βλ. σχήμα) είναι διαθέσιμο στους περισσότερους αεριοχρωματογράφους. Με τη χρήση μικροσύριγγας με βελόνη μεγάλου μήκους μπορεί μετά τη διάτρηση του διαφράγματος και αφού η βελόνη διαπεράσει όλο το μήκος του υάλινου σωλήνα το δείγμα να εισαχθεί απευθείας στη στήλη. Ο τρόπος αυτός εισαγωγής του δείγματος καλείται «εισαγωγή στην κορυφή της στήλης» (**on column injection**) και καθώς μειώνει τη διεύρυνση των κορυφών κατά την εισαγωγή αυξάνει την ικανότητα της στήλης. Είναι συχνά ο προτιμώμενος τρόπος εισαγωγής δείγματος.



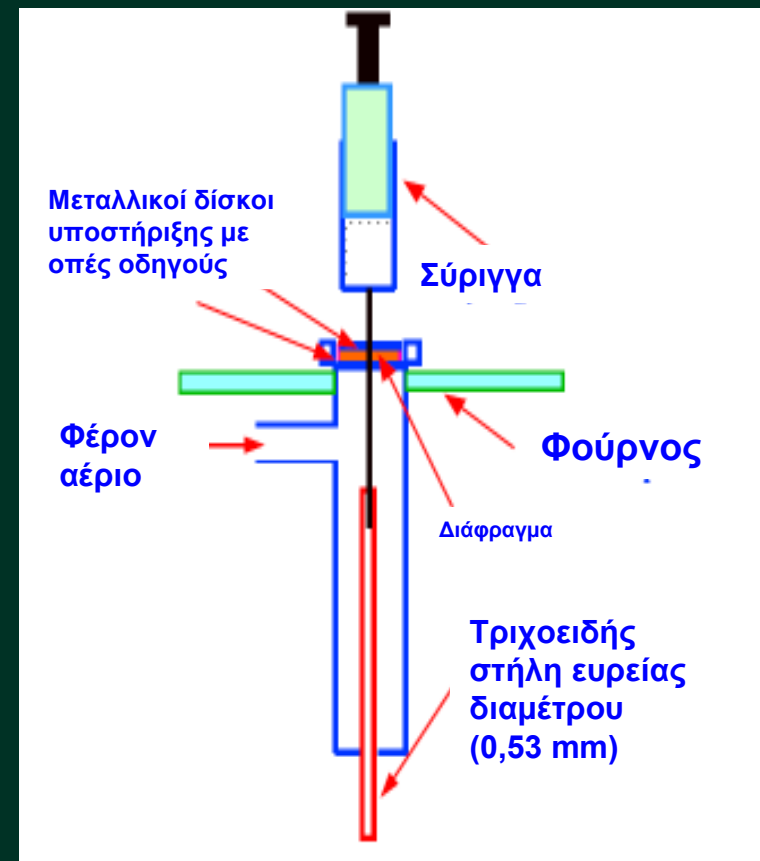
Εισαγωγή σε τριχοειδείς στήλες

Οι τριχοειδείς στήλες μπορούν να δεχτούν μικρές ποσότητες δείγματος και για αυτό απαιτείται ένα σύστημα εισαγωγής διαμοιρασμού (**split injection**) (βλ. σχήμα). Η βασική διαφορά με τον προηγούμενο εισαγωγέα είναι ότι η τριχοειδής στήλη εισέρχεται στον υάλινο σωλήνα και ένα μέρος του φέροντος αερίου περνά από την κορυφή της στήλης και αποβάλλεται χωρίς να εισέρχεται σε αυτήν (διαμοιρασμός). Καθώς το δείγμα περνά από την κορυφή της στήλης κλάσμα αυτού εισέρχεται σε αυτήν (**split injector**). Η αναλογία διαμοιρασμού ρυθμίζεται με ρύθμιση του κλάσματος του φέροντος αερίου το οποίο αποβάλλεται. Ο εισαγωγέας αυτός χρησιμοποιείται μόνο για τριμικρής διαμέτρου τριχοειδείς στήλες όπου το μέγεθος φόρτισης είναι κρίσιμο. Τυπική αναλογία διαμοιρασμού η οποία χρησιμοποιείται είναι η 1:100 με το 99% του δείγματος να αποβάλλεται στην ατμόσφαιρα.

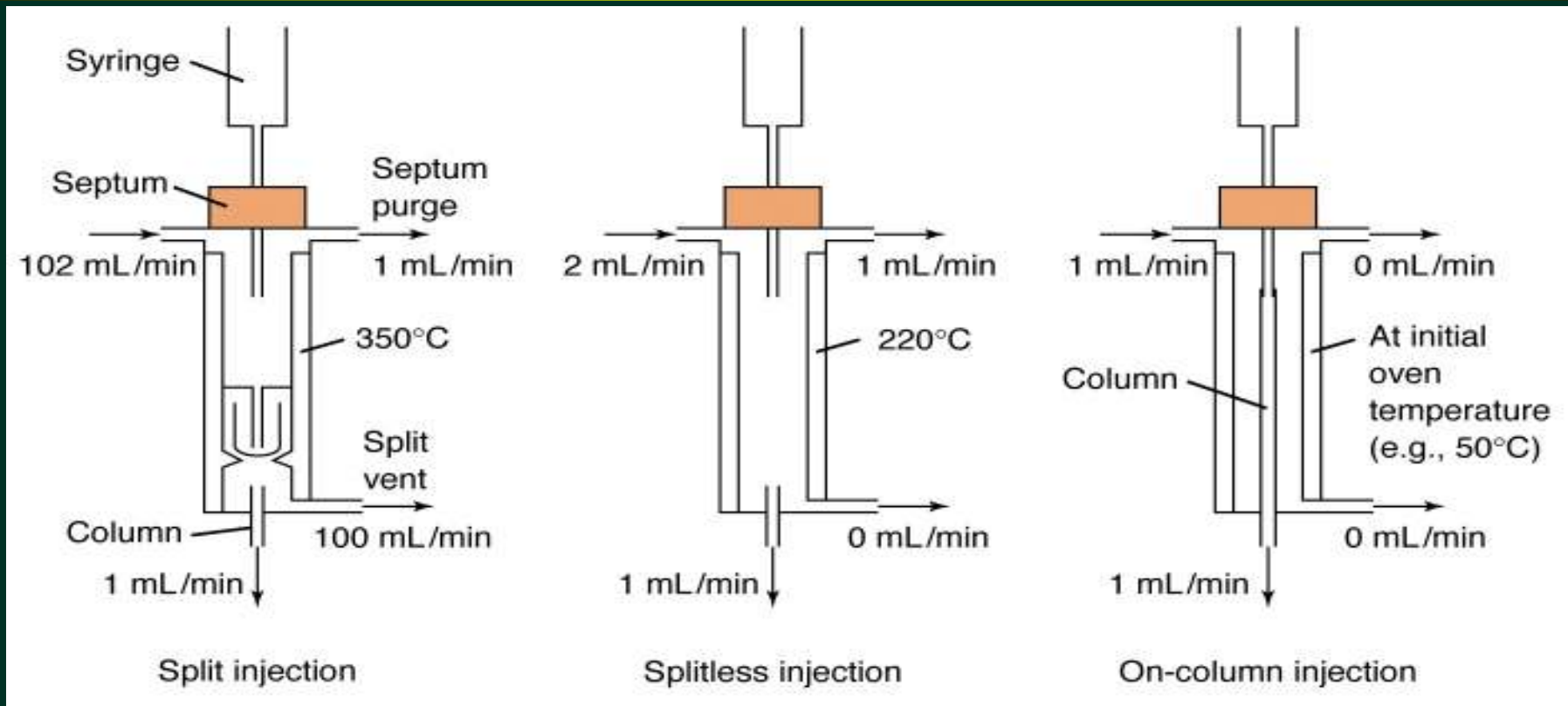


Εισαγωγή σε τριχοειδείς στήλες

Για την αποφυγή προβλημάτων τα οποία προκύπτουν από τον εισαγωγέα διαμοιρασμού χρησιμοποιούνται τριχοειδείς στήλες μεγαλύτερης διαμέτρου (0,53 mm i.d.) στις οποίες μπορεί να χρησιμοποιηθεί η τεχνική της εισαγωγής στην κορυφή της στήλης. Εδώ δεν πραγματοποιείται διαμοιρασμός του φέροντος αερίου και κατά επέκταση του δείγματος. Ο εισαγωγέας αυτός (βλ. σχήμα) ονομάζεται εισαγωγέας μη διαμοιρασμού (**splitless injector**). Οι σύγχρονοι εισαγωγείς αποτελούν συνδυασμό των δύο προηγούμενων εισαγωγέων (split/splitless injection)

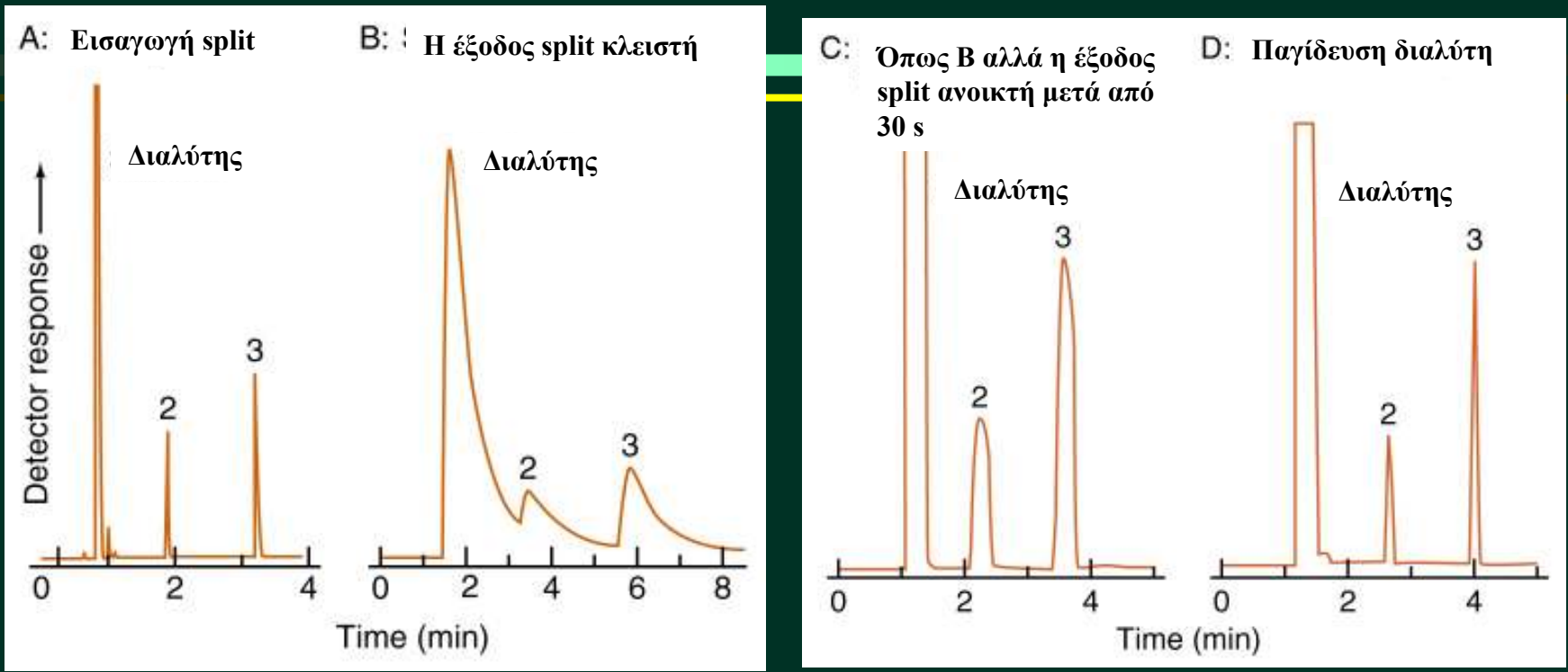


Εισαγωγή σε τριχοειδείς στήλες



Αντιπροσωπευτικές συνθήκες εισαγωγής για εισαγωγή διαμοιρασμού (split), εισαγωγή μη διαμοιρασμού (splitless) και εισαγωγή στην κορυφή της στήλης (on column).

Ε. ΜΠΑΚΕΑΣ, 2012



Εισαγωγή με διαμοιρασμό και χωρίς διαμοιρασμό διαλύματος το οποίο περιέχει 1 v/v % μεθυλο-ισοβουτύλο-κετόνη (σ.ζ. 118 °C) και 1 v/v % π-ξυλόλιο (σ.ζ. 138 °C) σε διχλωρομεθάνιο (σ.ζ. 40 °C) σε μία ελαφρώς πολική BP-10 τριχοειδή στήλη (0.22 mm i.d., 10 m μήκος, 0.25 μm, Θερμοκρασία στήλης =75 °C).

Εισαγωγή σε τριχοειδείς στήλες

Εισαγωγέας διαμοιρασμού (split injector)

- > Απλός
- > Υψηλή ικανότητα της στήλης
- > Προστασία της στήλης
- > Απώλεια των μικρού μοριακού βάρους ενώσεων σε σχέση με αυτές υψηλού μοριακού βάρους
- > Στην ποσοτική ανάλυση μπορεί να υπάρξει περιορισμός της πιστότητας και της ορθότητας ανάλογα με τη φύση του δείγματος

Εισαγωγέας μη διαμοιρασμού (splitless injector)

- > Υψηλή ευαισθησία (95 % του δείγματος εισάγεται στη στήλη)
- > Η επίδραση του διαλύτη δημιουργεί μικρού εύρους ενιόμενες ζώνες δείγματος
- > Αργή μεταφορά του δείγματος στη στήλη με αποτέλεσμα τη δημιουργία πεπλατυσμένων κορυφών
- > Προηγείται αραίωση του δείγματος σε πτητικό διαλύτη
- > Απαιτεί χρόνο : η στήλη πρέπει να διατηρηθεί σε χαμηλή θερμοκρασία
- > Αντεδείκνυται για θερμοσταθερές ενώσεις

Εισαγωγέας στην κορυφή της στήλης (on column injection)

- > Υψηλή πιστότητα
- > Ενδείκνυται για θερμοσταθερές ενώσεις
- > Χρησιμοποιείται για πακεταρισμένες και ευρείας διαμέτρου τριχοειδείς στήλες
- > Μικρή ικανότητα της στήλης

Εισαγωγή δείγματος (μικροεκχύλιση στερεάς φάσης, SPME)

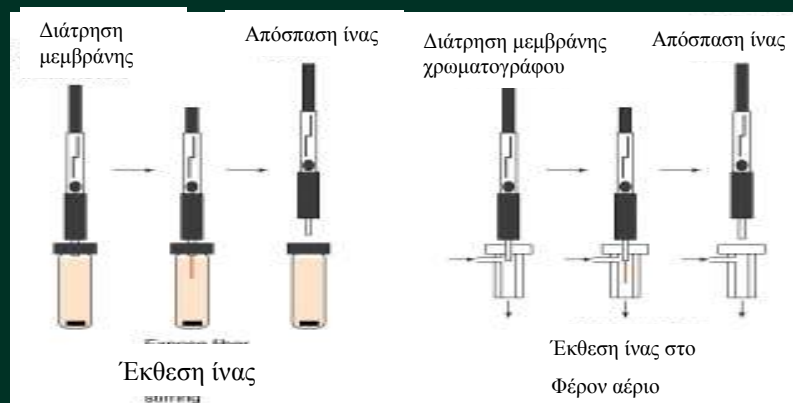
Η εισαγωγή δείγματος με την τεχνική της στερεάς μικροεκχύλισης (solid phase microextraction, SPME) αποτελεί μία σχετικά νέα τεχνική με εφαρμογή σε αέρια, υγρά και στερεά δείγματα.

Η σύριγγα SPME αποτελείται από το κύριο σώμα και από μία ίνα, εντός αυτού, στην οποία υπάρχει προσδεμένη υγρή στατική φάση.

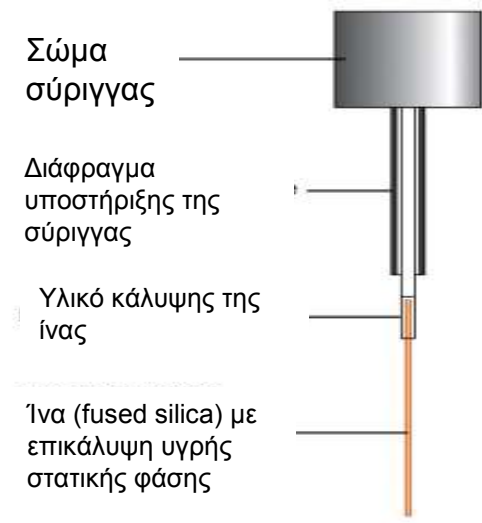
Η παραλαβή των ενώσεων από την ίνα γίνεται είτε με εμβάπτιση της ίνας στο υγρό σώμα του δείγματος είτε με έκθεση αυτής στον υπερκείμενο του υγρού χώρο του φιαλιδίου για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (3-60 min). Οι ενώσεις προσροφούνται στην ίνα. Κατά την παραλαβή των ενώσεων από το δείγμα το δείγμα ταυτόχρονα θερμαίνεται και αναδεύεται.

Μετά την παραλαβή των ενώσεων η σύριγγα SPME εισάγεται στον εισαγωγέα του αεριοχρωματογράφου και η ίνα εκτίθεται για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα στο φέρον αέριο. Οι ενώσεις εκροφούνται θερμικά από την ίνα και οδηγούνται στη στήλη προς διαχωρισμό.

Κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί ο περιορισμός της χρήσης διαλυτών. Επίσης είναι απλή, ταχεία και μπορεί να επιτευχθεί αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου λόγω προσυγκέντρωσης.

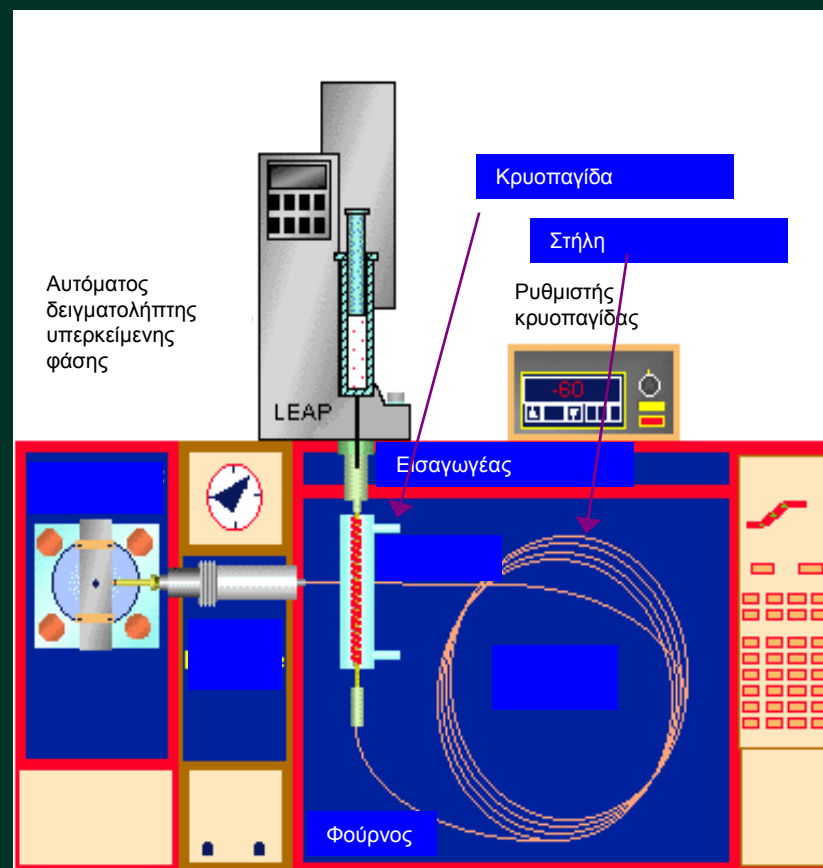


Η ποσότητα της ένωσης που προσροφείται από την ίνα εξαρτάται από το πάχος της ίνας και από το συντελεστή κατανομής της ένωσης



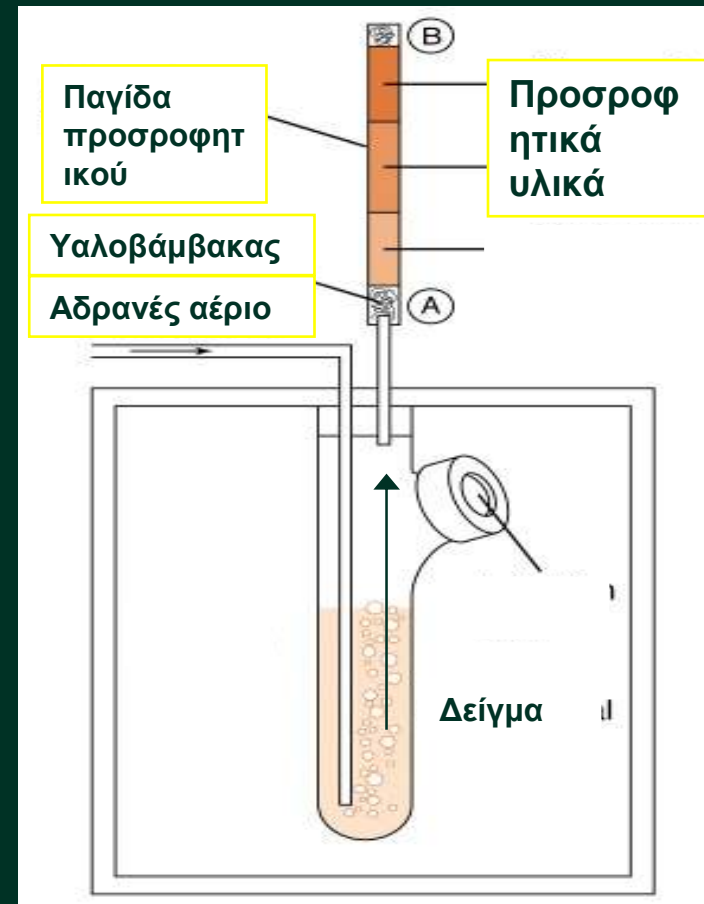
Εισαγωγή δείγματος (ανάλυση υπερκείμενης φάσης, Head Space Analysis)

- Η τεχνική εισαγωγής της υπερκείμενης φάσης περιλαμβάνει τη λήψη με μικροσύριγγα αερίων (gas tight syringe) των ατμών των συστατικών του δείγματος οι οποίοι ευρίσκονται στην υπερκείμενη φάση σε ισορροπία με το υγρό ή στερεό δείγμα. Χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό πτητικών και ημιπτητικών ενώσεων
- Το δείγμα ευρισκόμενο σε φιαλίδιο θερμαίνεται για συγκεκριμένο διάστημα και αναδεύεται σε περίπτωση υγρού δείγματος. Τα συστατικά του δείγματος μεταφέρονται στην αέρια όπυ και δειγματοληπτούνται
- Το πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι η χρήση της αεριοχρωματογραφίας προκαλώντας έτσι αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου 4 έως 5 τάξεις μεγέθους.
- Ο όγκος της υπερκείμενης φάσης ο οποίος συλλέγεται ποικίλει από 1 έως 10 ml.
- Η εισαγωγή του δείγματος στον αεριοχρωματογράφο μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε απευθείας είτε μέσω ενός σταδίου προσυγκέντρωσης με τη χρήση προσροφητικού υλικού ή κρυοπαγίδας.



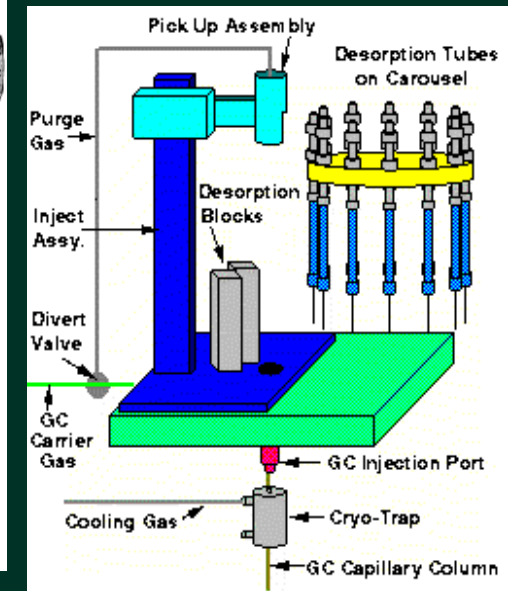
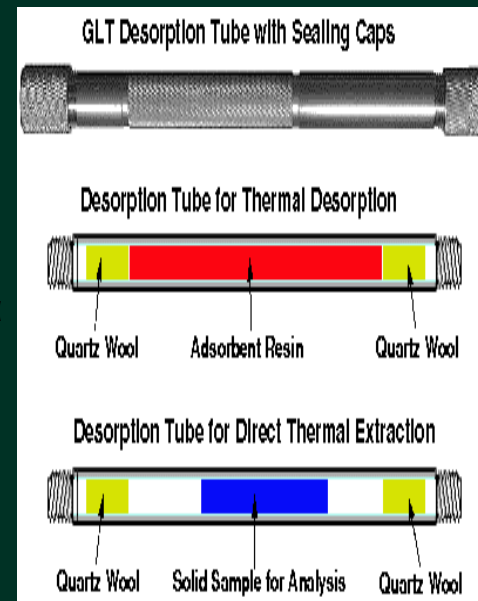
Εισαγωγή δείγματος (τεχνική εκδίωξης και παγίδευσης, Purge and Trap)

- Η τεχνική αυτή εισαγωγής αποτελεί εξέλιξη της τεχνικής υπερκείμενης φάσης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πτητικές οργανικές ενώσεις με σ.ζ. $< 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ και οι οποίες είναι μη ή ελάχιστα διαλυτές στο ύδωρ.
- Σε αντίθεση με την τεχνική υπερκείμενης φάσης ένα αδρανές αέριο διαβιβάζεται στο υγρό σώμα του δείγματος σε θερμοκρασία δωματίου ή αυξημένη θερμοκρασία ανάλογα με τις προσδιοριζόμενες ενώσεις.
- Οι ενώσεις στην αέρια φάση παρασύρονται από το αδρανές αέριο προς μία παγίδα συνήθως προσροφητικού υλικού όπου και κατακρατούνται.
- Μετά την εκδίωξη των ενώσεων προς την παγίδα αυτή θερμαίνεται (θερμική εκρόφιση) και ταυτόχρονα με τη ροή αδρανούς αερίου μέσω αυτής τα συστατικά εκροφούνται και οδηγούνται στη στήλη προς ανάλυση.



Εισαγωγή δείγματος (τεχνική θερμικής εκρόφησης, thermal desorption)

- Η τεχνική αυτή επιτρέπει της απευθείας θερμική ανάκτηση πτητικών και ημιπτητικών οργανικών ενώσεων από μικρού μεγέθους δείγματα (mg) χωρίς τη χρήση διαλυτών ή άλλου σταδίου προκατεργασίας του δείγματος.
- Το δείγμα μπορεί να βρίσκεται παγιδευμένο σε προσροφητικό υλικό ή να τίθεται σε αυτό.
- Ο σωλήνας με το προσροφητικό υλικό τοποθετείται σε σύστημα θερμικής εκρόφησης το οποίο συνδέεται με τον αεριοχρωματογράφο.
- Ο σωλήνας θερμαίνεται ταχέως και το φέρον αέριο, το οποίο ρέει μέσα από το σωλήνα, μεταφέρει τις εκροφούμενες ενώσεις στη στήλη προς ανάλυση.



Στήλες αεριοχρωματογραφίας (g.c. columns)

Τα χαρακτηριστικά με βάση τα οποία αξιολογείται μία στήλη για τη χρήση της στην αεριοχρωματογραφία είναι:

- **Διαχωριστική ικανότητα** (αριθμός θεωρητικών πλακών) – μέτρο του διαχωρισμού ο οποίος μπορεί να επιτευχθεί
- **Διαφυγή υποβάθρου (Bleed)** – μέτρο της σταθερότητας της στήλης
- **Αδράνεια** – μέτρο της επίδρασης στην ανάκτηση των ενώσεων
- **Μέγιστη θερμοκρασία λειτουργίας** – μέτρο της σταθερότητας και του χρόνου ζωής της στήλης
- **Πολικότητα στατικής φάσης** – επιλέγεται με βάση τις προσδιοριζόμενες ενώσεις
- **Γεωμετρικά χαρακτηριστικά της στήλης (μήκος, εσωτερική διάμετρος, πάχος στιβάδας στατικής φάσης)**

Στήλες αεριοχρωματογραφίας

Μία στήλη αποτελείται από

1) Υλικό σωλήνα (tubing material). Αυτό μπορεί να είναι:

- ανοξείδωτο ατσάλι
- ύαλος (μπορεί να αδρανοποιηθεί, δύσκολη στο χειρισμό)
- τηγμένη πυριτία (αυξημένη ελαστικότητα, αδρανής, δυνατότητα κατασκευής στηλών με υψηλή διαχωριστικότητα)

2) Στατική φάση. Αυτή μπορεί να είναι:

Στερεό υπόστρωμα

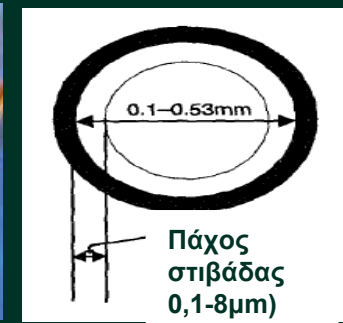
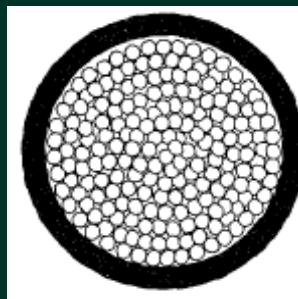
Υγρή φάση

Πορώδη πολυμερή

Προσροφητικά υλικά



Στήλες αεριοχρωματογραφίας (g.c. columns)



ΠΑΚΕΤΑΡΙΣΜΕΝΕΣ ΣΤΗΛΕΣ (packed columns)

- Συνήθως κατασκευάζονται από ανοξείδωτο ατσάλι
- Εσωτερική διάμετρος 2 έως 4 mm I.D. Και μήκος 1 έως 4 m.
- Πακεταρισμένες με κατάλληλο στερεό υπόστρωμα το οποίο επικαλύπτεται με τη σιβάδα της υγρής στατικής φάσης (περίπου 3-10% w/w) όταν η στατική φάση είναι υγρή και όχι στερεή.
- Δεν κατασκευάζονται σε μεγάλο μήκος. Περιοριστικός παράγοντας η πτώση πίεσης κατά μήκος της στήλης.
- Χρησιμοποιούνται κυρίως στην ανάλυση αερίων.
- Παρατηρείται διεύρυνση του πλάτους των κορυφών λόγω της διάχυσης κατά ζώνη (eddy diffusion).

ΤΡΙΧΟΕΙΔΕΙΣ ΣΤΗΛΕΣ (capillary ή open tubular columns)

- Εσωτερική διάμετρος 0,10 έως 0,53 mm I.D. και μήκος 10 έως 100 m.
- Ο σωλήνας παραμένει ανοικτός με αποτέλεσμα να υπάρχει μικρή πτώση πίεσης και να επιτρέπεται η κατασκευή μεγάλου μήκους στηλών.
- Η στατική φάση τοποθετείται στα εσωτερικά τοιχώματα της στήλης υπό μορφή σιβάδας πάχους 0,2 μm έως 1 μm
- Οξείες κορυφές και όχι πεπλατυσμένες.
- Πολύ καλοί διαχωρισμοί.
- Οι πλέον χρησιμοποιούμενες.

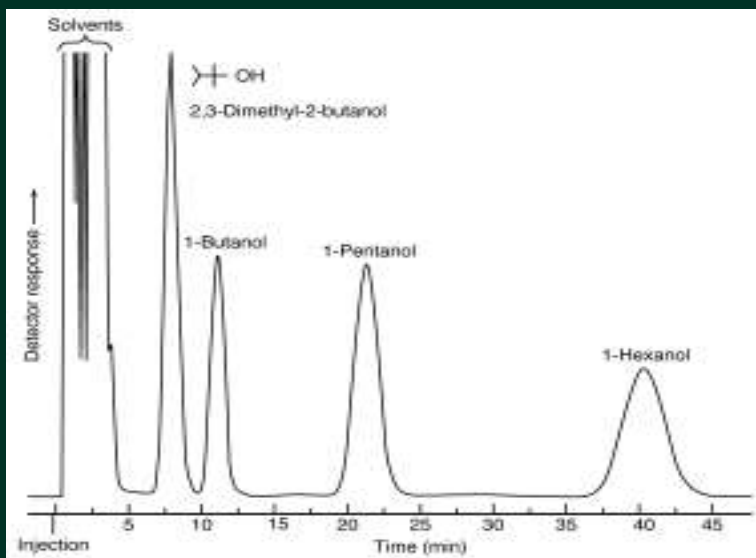
Στήλες αεριοχρωματογραφίας

Τριχοειδείς vs πακεταρισμένων στηλών

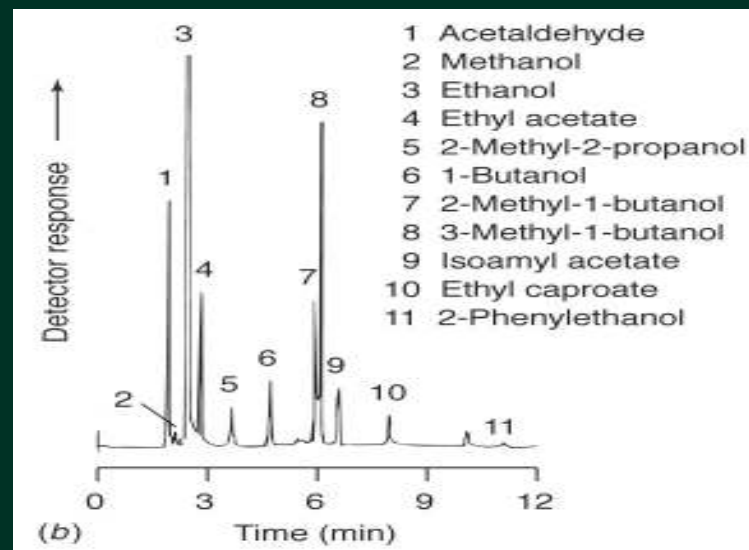
	Τριχοειδής	Πακεταρισμένη
Μήκος	60 m	2 m
Θεωρητικές πλάκες (N/m)	3000-5000	2000
Συνολικός αριθμός πλακών $length \times (N/m)$	180000-300000	4000

Στήλες αεριοχρωματογραφίας

Τριχοειδείς vs πακεταρισμένων στηλών



Χρωματογράφημα αλκοολούχου δείγματος στους 40 °C με τη χρήση πακεταρισμένης στήλης (2mm I.D., 76 cm, 20 % Carbowax 20 M) και ανιχνευτή FID.



Χρωματογράφημα των ατμών υπερκείμενης φάσης μύρας με τριχοειδή στήλη 0,25 mm, 30 m, στατικής φάσης πορώδους άνθρακα και με θερμοκρασιακό πρόγραμμα 30 °C (2 min) έως 160 °C με ρυθμό ανόδου 20 °C/min.

Στήλες αεριοχρωματογραφίας (τριχοειδείς στήλες)

Οι τριχοειδείς στήλες ανάλογα με την εσωτερική τους διάμετρο (i.d.) διακρίνονται σε

- > μικροτριχοειδείς (narrow bore) με εσωτερική διάμετρο < 100 μm
- > μέσης διαμέτρου τριχοειδείς (mid bore) με εσωτερική διάμετρο 250 και 320 μm
- > ευρείας διαμέτρου τριχοειδείς (wide bore) με εσωτερική διάμετρο 530 μm. Αυτές συνδυάζουν τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες τόσο των τριχοειδών όσο και των πακεταρισμένων στηλών

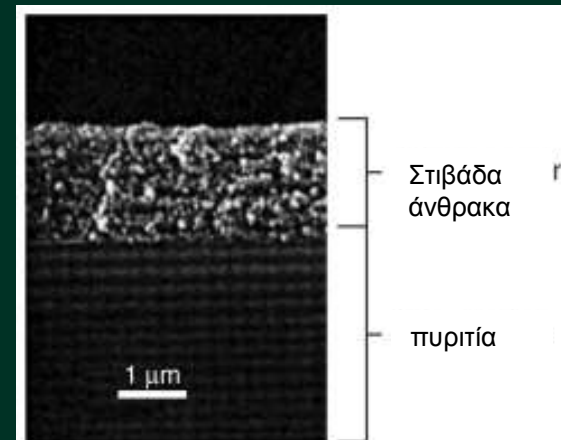
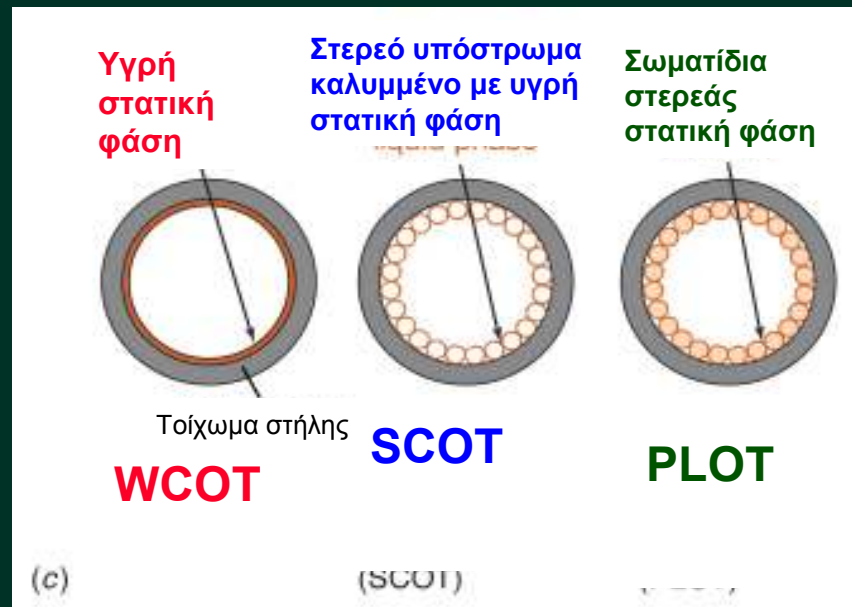
Προσοχή!!! Η επιλογή της εσωτερικής διαμέτρου της στήλης αποτελεί σημαντική παράμετρο της ικανότητας αυτής (βλ. διπλανό πίνακα.)

i.d. (μm)	Διαχωριστικότητα	Ταχύτητα	Χωρητικότητα
100	+++	+++	+
250, 320	++	++	++
530	+	++	+++

Στήλες αεριοχρωματογραφίας (τριχοειδείς στήλες)

Οι τριχοειδείς στήλες ανάλογα με τον τρόπο τον οποίο τοποθετείται η στατική φάση στη στήλη διακρίνονται σε:

- αυτές τις οποίες η υγρή στατική προσδένεται απευθείας στο εσωτερικό τοίχωμα της στήλης (wall coated open tubular column, WCOT)
- αυτές στις οποίες η υγρή στατική φάση προσδένεται σε στερεό υπόστρωμα το οποίο καλύπτει το εσωτερικό τοίχωμα της στήλης (support coated open tubular column, SCOT)
- αυτές τις οποίες τα σωματίδια της στερεάς στατικής φάσης προσδένονται απευθείας στο εσωτερικό τοίχωμα της στήλης (porous layer open tubular column, PLOT)



Στήλες αεριοχρωματογραφίας (τριχοειδείς στήλες)

Εσωτερική διάμετρος, mm	0,25	0,32	0,53
Μέγιστος όγκος δείγματος, μl	0,5	1	1
Μέγιστη ποσότητα ενός συστατικού, ng	2~50	3~75	5~100
Αποτελεσματικές πλάκες (N_{eff}) ανά μέτρο	3000~5000	2500~4000	1500~2500
Αριθμός Trennzahl ανά 25 m	40	35	25
Βέλτιστη ροή για N_2 , ml/min *	0.5~1	0.8~1.5	2~4
Βέλτιστη ροή για He, ml/min **	1~2	1~2.5	5~10
Βέλτιστη ροή για H_2 , ml/min ***	2~4	3~7	8~15

* Η βέλτιστη ταχύτητα είναι 10 έως 15 cm/s για κάθε στήλη

** Η βέλτιστη ταχύτητα είναι 25 cm/s για κάθε στήλη

*** Η βέλτιστη ταχύτητα είναι 35 cm/s για κάθε στήλη



Συνήθεις
συνθήκες
λειτουργίας
τριχοειδών
στηλών

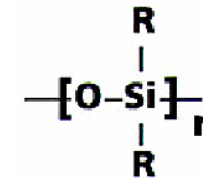
Στήλες αεριοχρωματογραφίας

Σύγκριση πακεταρισμένων στηλών (i.d. 0,316 cm), ευρείας διαμέτρου τριχοειδών στηλών (i.d. 0,53 mm), και τριχοειδών στηλών

Εσωτερική διάμετρος, mm	2,2	0,53	0,25
Πάχος στιβάδας, μm	5	1~5	0,25
Αναλογία όγκου φάσεων (β)	15~30	130~250	250
Μήκος στήλης, m	1~2	15~30	15~60
Ταχύτητα ροής, ml/min	20	5	1
Αποτελεσματικές πλάκες (N_{eff}) ανά μέτρο	2000	1200	3000
Ύψος αποτελεσματικών (H_{eff}), mm	0,5	0,6	0,3
Τυπικό μέγεθος δείγματος		15 μg	50 ng

Στήλες αεριοχρωματογραφίας (στατική φάση)

Η στατική φάση πρέπει να έχει μικρή πτητικότητα, υψηλό σ.ζ. και να είναι χημικά αδρανής

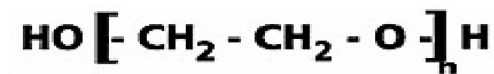


➤ Πολυσιλοξάνιο

Το πολυσιλοξάνιο είναι η πλέον συνηθισμένη στατική φάση. Είναι σταθερή, ανθεκτική και πολλαπλών κρίσεων. Το πολυσιλοξάνιο χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενα μονομερή (α). Κάθε άτομο συνδέεται με δύο δραστικές ομάδες (R). Αυτές μπορεί να είναι μέθυλο-, κυανοπρόπυλο-, τριφθοροπρόπυλο- και φαίνυλο-ομάδες. Η παρουσία φαίνυλο-ομάδας στη στατική φάση πολυσιλοξανίου την σταθεροποιεί με αποτέλεσμα αυτή να διασπάται σε υψηλότερες θερμοκρασίες.

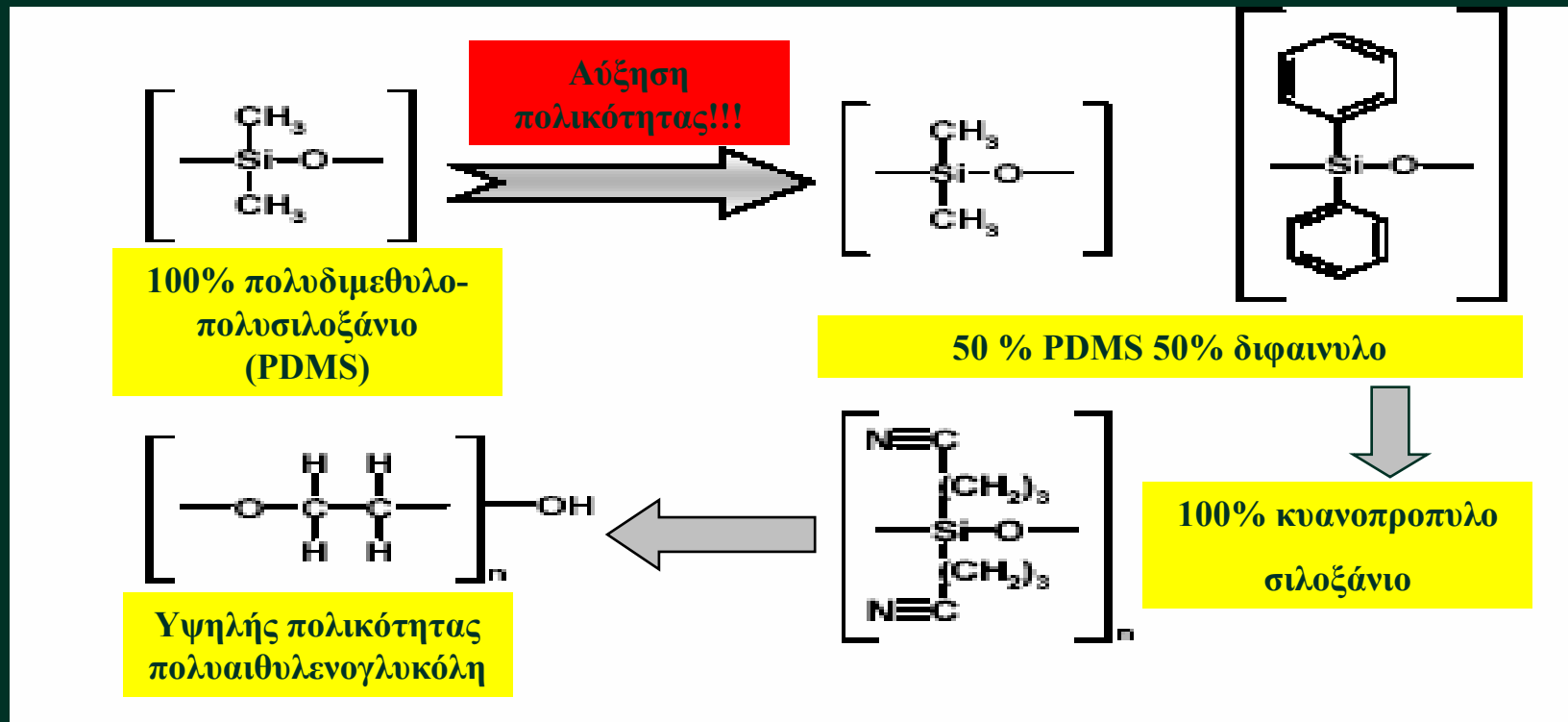
➤ Πολυαιθυλενο-γλυκόλη.

Επίσης ευρέως χρησιμοποιούμενη στατική φάση. Είναι λιγότερο ανθεκτική και με χαμηλότερο θερμοκρασιακό όριο από το πολυσιλοξάνιο αλλά η καλή διαχωριστική ικανότητα της την κάνει χρήσιμη. Πρέπει να είναι υγρή υπό τις συνήθεις θερμοκρασίες οι οποίες χρησιμοποιούνται στην αεριοχρωματογραφία. Δεικνύει καλύτερη αναπαραγωγιμότητα και αδράνεια



Στήλες αεριοχρωματογραφίας (στατική φάση)

Η πολικότητα της στατικής φάσης αυξάνει κατά τη σειρά:



Στήλες αεριοχρωματογραφίας (στατική φάση)

Στατική φάση	Σύνηθες εμπορικό όνομα	Μέγιστη T, °C	Εφαρμογές
πολυ διμέθυλο- σιλοξάνιο (-CH ₃)	OV-1, SE-30, BP1	350	Γενικής χρήσης μη πολική φάση, υδρογονάνθρακες, πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, στερεοειδή, PCBs
5% φαινυλο-πολυδιμεθυλο σιλοξάνιο (-C ₆ H ₅)	OV-3, SE-52, BP5	350	Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων, αλκαλοειδή, φάρμακα, αλογονομένες ενώσεις
5% φαινυλο-πολυδιμεθυλο σιλοξάνιο	OV-17	250	Φάρμακα, στεροειδή, φυτοφάρμακα, γλυκόλες
50% τριφθοροπροπυλο- διμεθυλοπολυσιλοξάνιο	OV-210	200 (-C ₃ H ₆ CF ₃)	Χλωριωμένες και νιτρο-αρωματικές ενώσεις, αλκυλο-βενζόλια
πολυαιθυλενογλυκόλη (OCH ₂ CH ₂) _n	Carbowax 20M	250	Οξέα, αλκοόλες, αιθέρες, έλαια, γλυκόλες
50% κυανοπροπυλο- διμεθυλοπολυσιλοξάνιο	OV-275	240 (-C ₃ H ₆ CN)	Πολυ-ακόρεστα λιπαρά οξέα, οξέα, αλκοόλες

Ανιχνευτές αεριοχρωματογραφίας

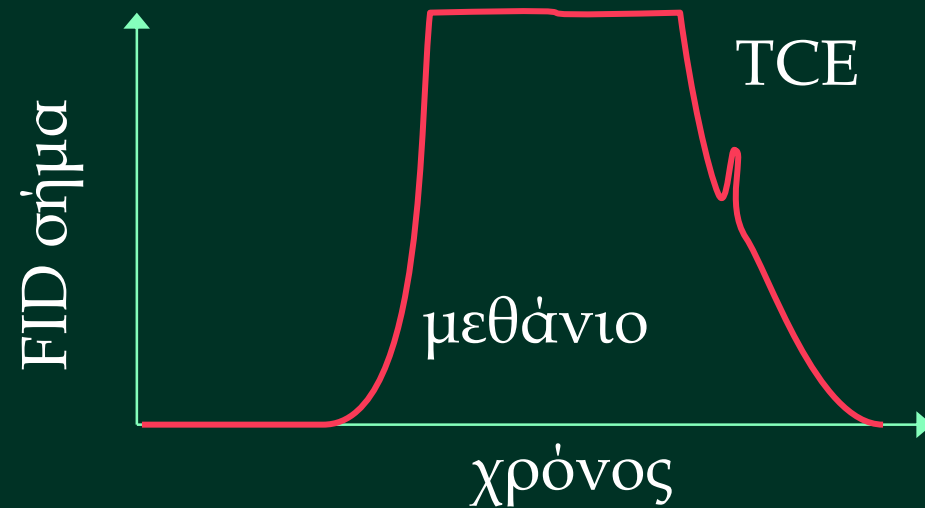
Τα χαρακτηριστικά ενός “ιδανικού” ανιχνευτή:

- Υψηλή σταθερότητα και αναπαραγωγιμότητα σε σχέση με το θόρυβο και το χρόνο.
- Ευαισθησία ($\Delta\text{Response}/\Delta\text{C}$)
- Εκλεκτικότητα
- Γραμμική απόκριση στους αναλύτες η οποία να καλύπτει ευρεία περιοχή συγκεντρώσεων.
- Θερμοκρασία λειτουργίας έως 400 °C.
- Μικρός χρόνος απόκρισης ανεξάρτητος της ταχύτητα ροής.
- Μη καταστρεπτικός.
- Υψηλή αξιοπιστία και ευκολία χρήσης.

Κανένας ανιχνευτής δεν συγκεντρώνει όλα αυτά τα χαρακτηριστικά.

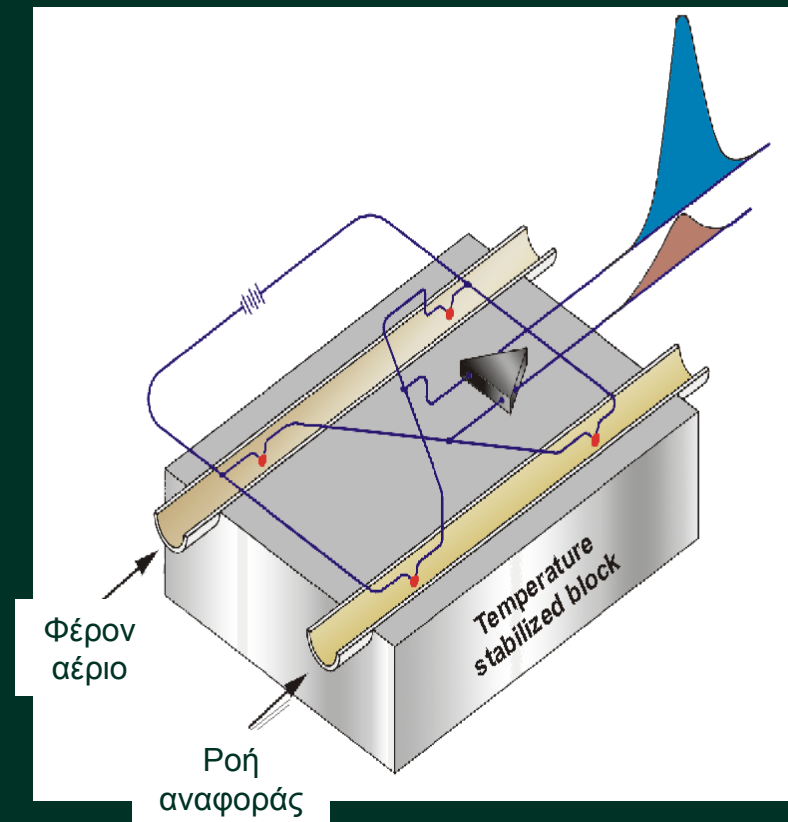
Πλεονέκτημα εκλεκτικών ανιχνευτών

Μίγμα το οποίο περιέχει περίσσεια μεθανίου και μικρή ποσότητα TCE



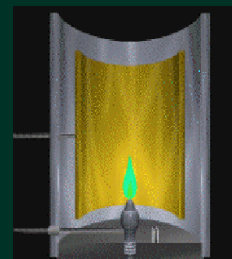
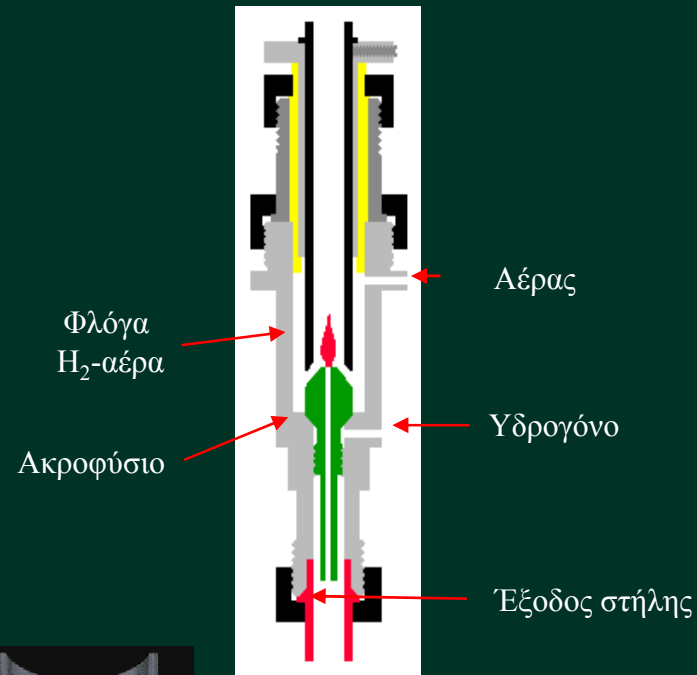
Ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (Thermal Conductivity Detector, TCD)

- Βασίζεται στη μεταβολή της θερμικής αγωγιμότητας ενός ρεύματος αερίου η οποία οφείλεται στην παρουσία των μορίων της προσδιοριζόμενης ένωσης.
- Η θερμική αγωγιμότητα του φέροντος αερίου μειώνεται με την παρουσία της ένωσης σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις αυτής και έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας στον ανιχνευτή.
- Οι τιμές θερμικής αγωγιμότητας των He και H₂ είναι ~ 6 – 10 φορές υψηλότερες από τις περισσότερες οργανικές ενώσεις και αυτό κάνει απαραίτητο τη χρήση των αερίων αυτών ως φέρον αέριο.
- Γραμμική περιοχή της τάξης του 10⁵ και είναι κατάλληλος για οργανικά και ανόργανα δείγματα.
- Μη καταστρεπτικός ανιχνευτής επιτρέποντας τη συλλογή του δείγματος μετά την ανίχνευση αλλά μικρής ευαισθησίας ~ 10⁻⁸ g/s ένωσης/αέριο.



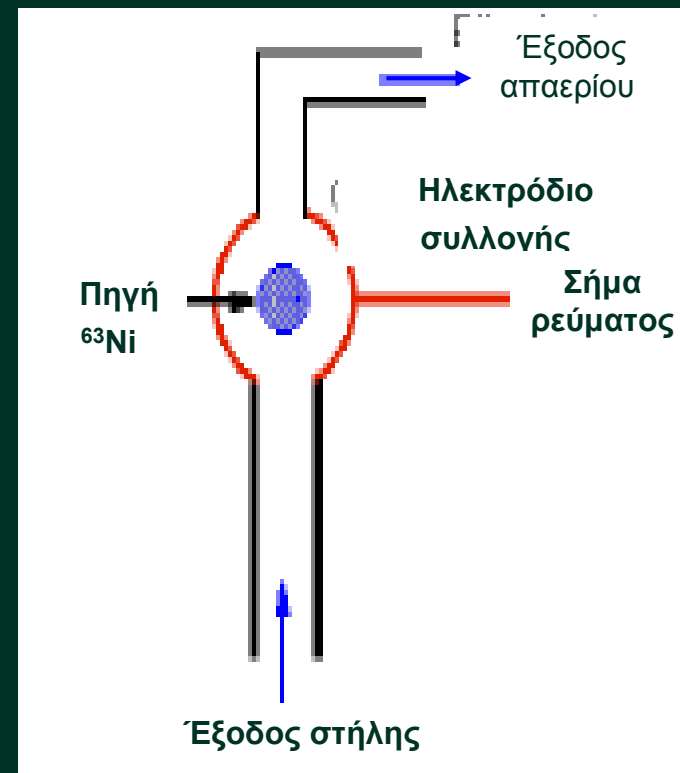
Ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID)

- Οι περισσότερες οργανικές ενώσεις πυρολύονται σε φλόγα Η₂-αέρα παράγοντας ιόντα και ηλεκτρόνια.
- Μεταξύ του ακροφυσίου καύσης και του ηλεκτροδίου συλλογής εφαρμόζεται δυναμικό μερικών εκατοντάδων volts.
- Το προκύπτον ρεύμα είναι ανάλογο του αριθμού ατόμων άνθρακα στη φλόγα.
- Αποκρίνεται σε μάζα και όχι σε συγκέντρωση. Καταστρεπτικός ανιχνευτής.
- Ευρείας χρήσης ανιχνευτής. Δεν παρουσιάζει όμως καλή ευαισθησία σε χαρακτηριστικές ομάδες (π.χ. καρβονυλο- και αλογονο-ομάδες) καθώς επίσης και στα αδρανή αέρια Η₂Ο CO₂ SO₂ NO_x.
- Μεγάλη γραμμική περιοχή απόκρισης ($\sim 10^7$) και χαμηλός θόρυβος. Πριν την ανάλυση απαιτείται σταθεροποίησή του για 24 hr.
- Υψηλή ευαισθησία $\sim 10^{-13}$ g/s του αναλύτη/second



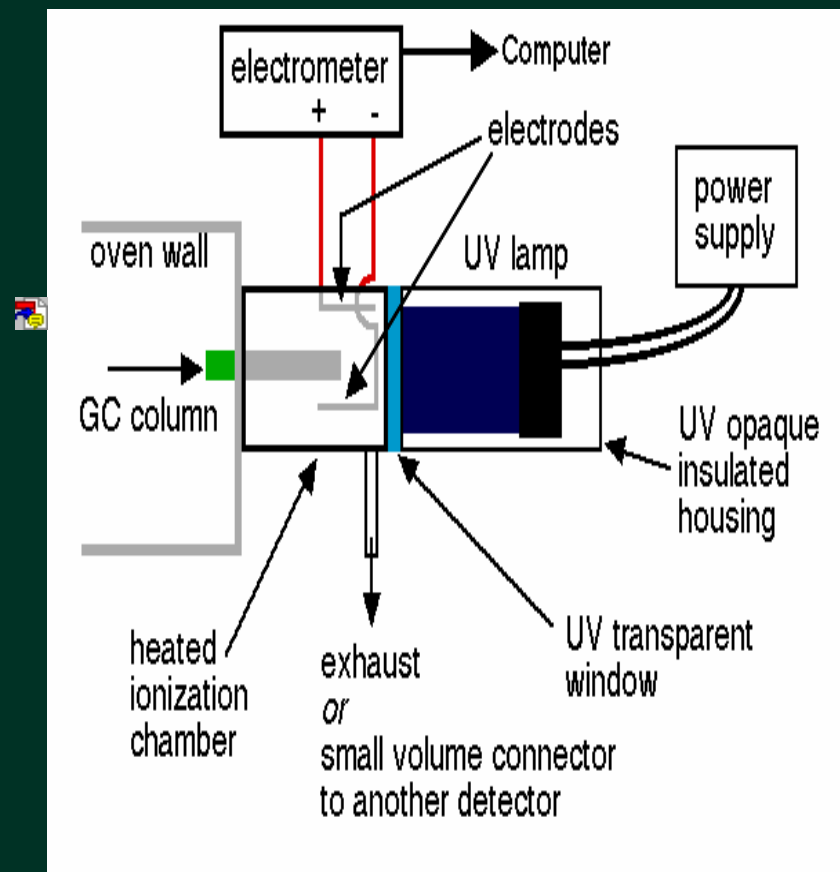
Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (Electron Capture Detector, ECD)

- Ανιχνευτής εκλεκτικός σε ενώσεις οι οποίες περιέχουν αλογονο-ομάδες
- Πηγή Ni-63: τα εκπεμπόμενα e ιονίζουν το φέρον αέριο N₂ δημιουργώντας ρεύμα
- Ηλεκτραρνητικές ομάδες (αλογόνα, υπεροξείδια, κινόνες και η νίτρο-ομάδα) στο δείγμα «συλλαμβάνουν» τα e με αποτέλεσμα το ρεύμα να μειώνεται
- Υψηλή εκλεκτικότητα και ευαισθησία, μη καταστρεπτικός
- Υψηλή ευαισθησία. 10⁻¹⁵g/s για πολλές αλογονομένες ενώσεις (PCB, DDT κ.α.).
- Μικρή ευαισθησία σε αμίνες, αλκοόλες και υδρογονάνθρακες
- Μικρή γραμμική περιοχή (10²)



Ανιχνευτής φωτοϊονισμού (Photoionization Detector, PID)

- Ο ανιχνευτής αυτός χρησιμοποιεί ακτινοβολία UV για τον ιονισμό των ενώσεων οι οποίες εκλύονται από τη στήλη
- Τα ιόντα τα οποία παράγονται συλλέγονται από ηλεκτρόδια. Το προκύπτον ρεύμα αποτελεί μέτρο της συγκέντρωσης των ενώσεων
- Υψηλή εκλεκτικότητα για τον προσδιορισμό ενώσεων οι οποίες περιέχουν αρωματικό δακτύλιο
- Γραμμική περιοχή $< 10^7$

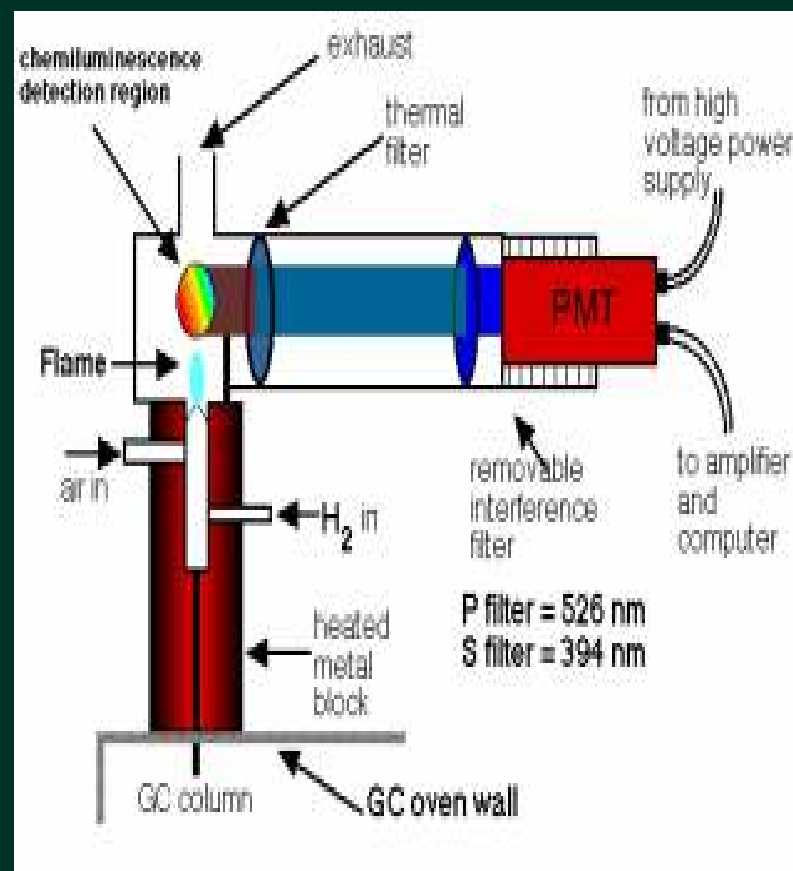


Ε. ΜΠΑΚΕΑΣ, 2012



Φωτομετρικός ανιχνευτής φλόγας (Flame Photometric Detector, FPD)

- Χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό ενώσεων οι οποίες περιέχουν S και P
- Η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στην μέτρηση της ακτινοβολίας η οποία εκπέμπεται από διεγερμένα μόρια: S(394 nm) και P(526 nm)
- Ευαισθησία: <math><1 \text{ pg/s (P)}, <10 \text{ pg/s (S)}</math>
- Γραμμική περιοχή: $>10^4 \text{ (P)}, >10^3 \text{ (S)}$



Αντιδράσεις παραγωγοποίησης στην αεριοχρωματογραφία

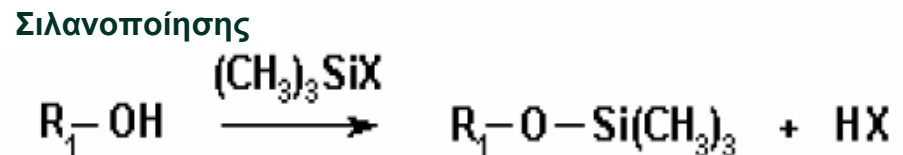
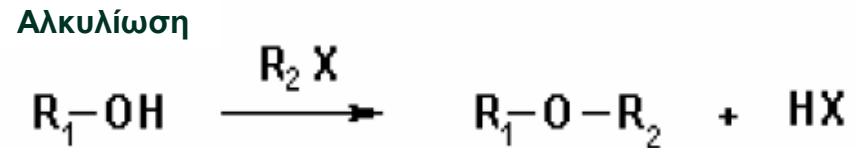
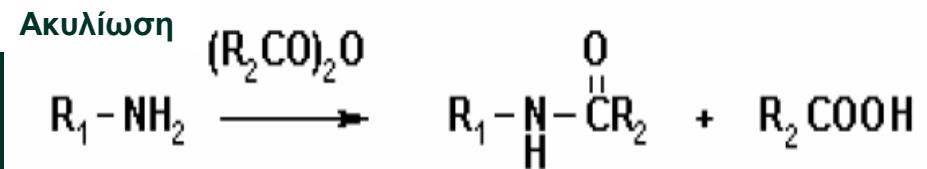
Η αεριοχρωματογραφία χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό πτητικών ενώσεων οι οποίες είναι θερμικά σταθερές. Δεν εφαρμόζεται όμως πάντοτε για ενώσεις υψηλού Μ.Β. ή ενώσεις οι οποίες περιέχουν πολικές ομάδες. Αυτές είναι δύσκολο να διαχωρισθούν με αεριοχρωματογραφία διότι δεν είναι αρκετά πτητικές, εκφυλίζονται σημαντικά, κατακρατούνται ισχυρά από τη στατική φάση, είναι θερμικά ασταθείς ή διασπώνται.

Η χημική παραγωγοποίηση πριν την ανάλυση γενικά χρησιμοποιείται για :

- Αύξηση της πτητικότητας ή μείωση της πολικότητας της ένωσης
- Μείωση της θερμικής τους διάσπασης
- Αύξηση της απόκρισης του ανιχνευτή
- Αύξηση της διαχωριστικότητας και μείωση της διεύρυνσης των κορυφών

Οι αντιδράσεις παραγωγοποίησης ανάλογα με το αντιδραστήριο διακρίνονται σε

- Σιλανοποίησης
- Ακυλίωσης
- Αλκυλίωσης
- Εστεροποίησης



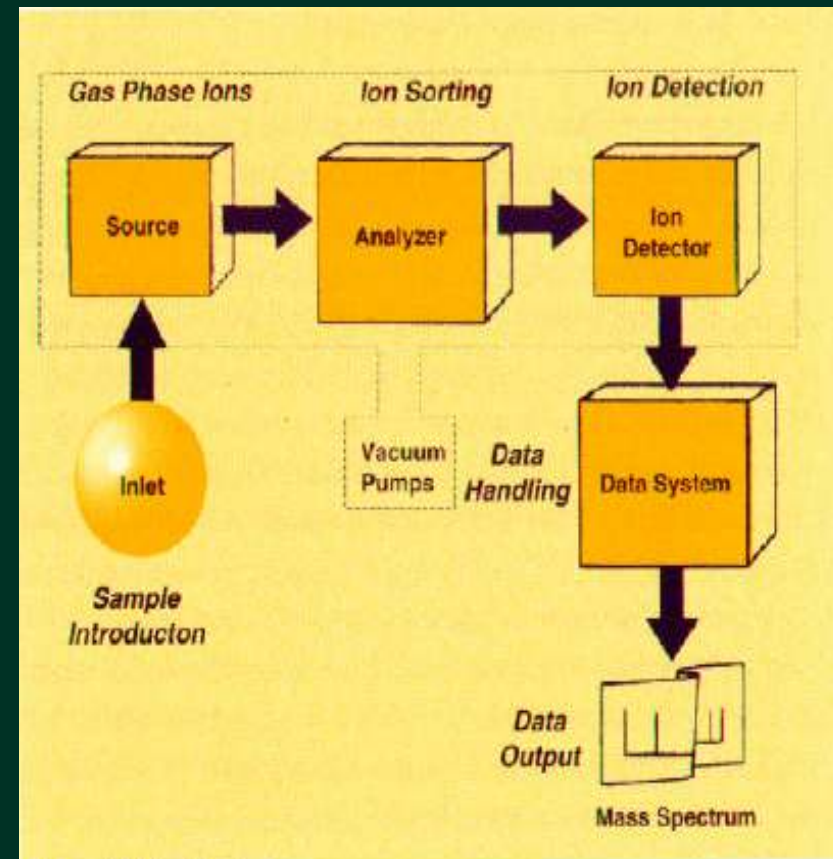
Φασματομετρία μαζών (Mass Spectrometry)

- Χρησιμοποιεί τη διαφορά του λόγου μάζα-προς-φορτίο (m/z) ιονισμένων ατόμων ή μορίων για να τα διαχωρίσει.
- Τα μόρια έχουν καθορισμένα σχήματα διάσπασης τα οποία δίνουν δομικές πληροφορίες για τον προσδιορισμό των συστατικών του δείγματος.
- Η αρχή λειτουργίας ενός φασματομέτρου μαζών είναι:
 - Δημιουργία καθαρών ιόντων στην αέρια φάση
 - Διαχωρισμός των ιόντων στο χώρο ή στο χρόνο με βάση τους λόγους m/z
 - Μέτρηση της ποσότητας των ιόντων κάθε λόγου m/z

Φασματομετρία μαζών

Τα βασικά μέρη ενός φασματομέτρου μαζών είναι:

- Η πηγή ιονισμού (ion source)
- Ο αναλυτής ιόντων (analyzer)
- Ο ανιχνευτής (ion detector)



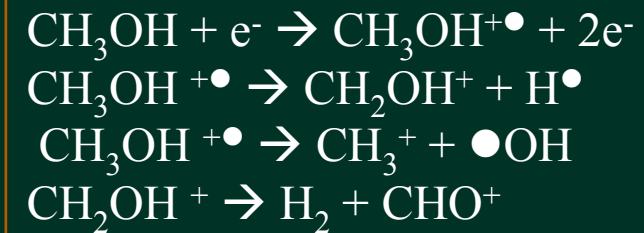
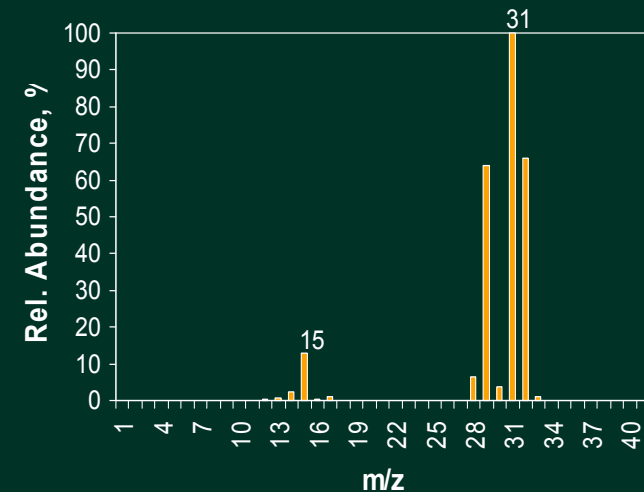
Φάσμα μαζών

Το φάσμα μαζών είναι το γράφημα της έντασης των ιόντων σε σχέση με το λόγο m/e. Τα φάσματα έχουν συνήθως τη μορφή ιστογράμματος.

- Άξονας x: m/z
 - Άξονας ψ: εκατοστιαία αφθονία (% abundance) ιόντος

Παράδειγμα: φάσμα μεθανόλης

m/z	Rel. Abundance
12	0.33
13	0.72
14	2.4
15	13.
16	0.21
17	1.0
28	6.3
29	64
30	3.8
31	100.
32	66.
33	0.98
34	0.14

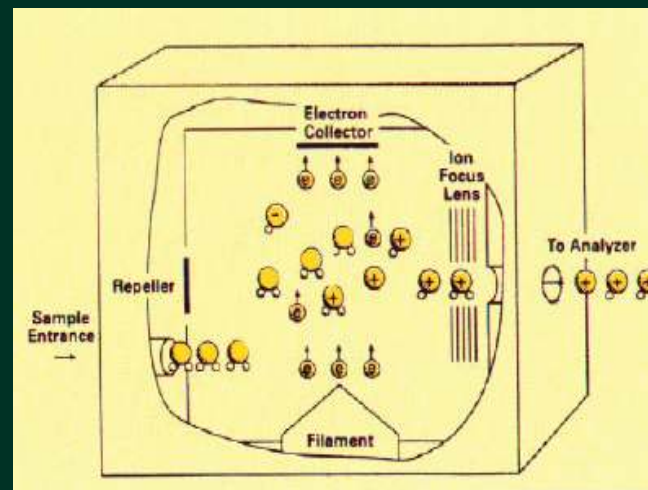


Φασματομετρία μαζών (πηγή ιονισμού)

Πηγή ηλεκτρονικού ιονισμού (Electron Impact, EI)

Τα ιόντα δημιουργούνται μετά το βομβαρδισμό των μορίων του δείγματος τα οποία βρίσκονται στην αέρια φάση με μία δέσμη υψηλής ενέργειας ηλεκτρονίων (βλ. Σχήμα). Δημιουργείται έτσι ένα μίγμα θετικών και αρνητικών ιόντων καθώς και ουδέτερων μορίων. Η ενέργεια των ηλεκτρονίων είναι γενικά πολύ υψηλότερη από αυτή των μοριακών δεσμών. Έτσι δεν έχουμε μόνο φαινόμενα ιονισμού του μορίου αλλά και διάσπασης των δεσμών και σχηματισμό θραυσμάτων με αποτέλεσμα την εμφάνιση στο φάσμα και άλλων ιόντων πέραν του μοριακού ιόντος.

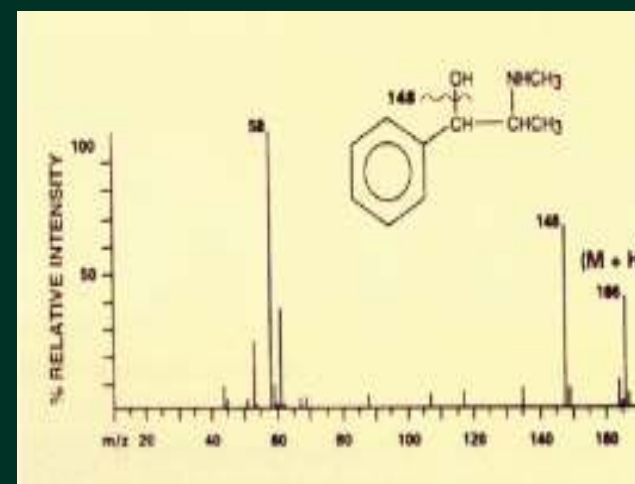
EI



Πηγή χημικού ιονισμού (Chemical Ionization, CI)

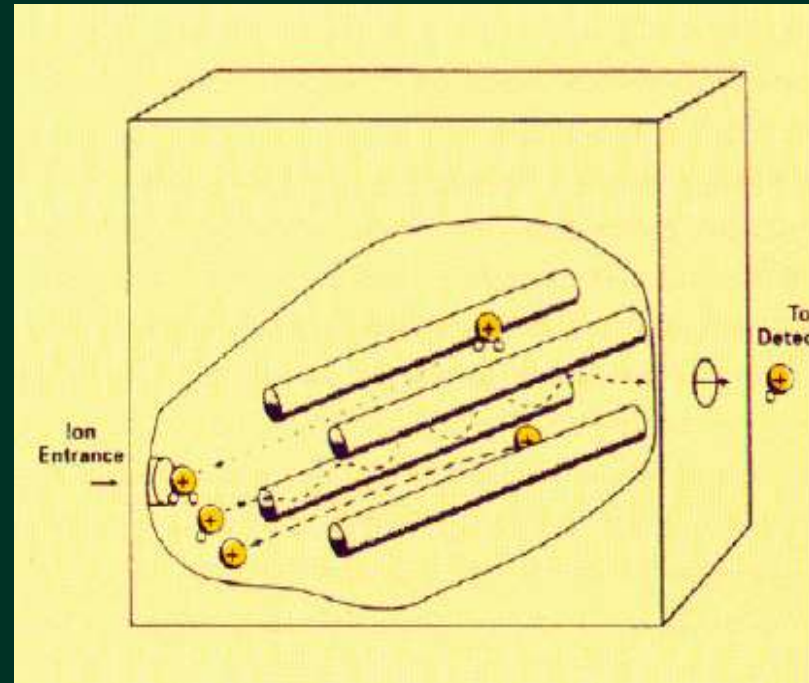
Με το χημικό ιονισμό τα ιόντα παράγονται με τη μεταφορά πρωτονίων. Τα μόρια του δείγματος εκτίθενται σε περίσσεια ιονισμένου αερίου αντίδρασης. Έτσι η μεταφορά ενός πρωτονίου σε ένα μόριο δείγματος M από ένα ιονισμένο αέριο αντίδρασης όπως το το μεθάνιο στη μορφή CH_5^+ , έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό του θετικού ιόντος $[M+H]^+$ (βλ. παράδειγμα εφεδρίνης).

CI



Φασματομετρία μαζών (αναλυτής ιόντων)

- Τετράπολο (quadrupole)
- Παγίδα ιόντων (ion trap)
- Time of Flight (TOF)



Τετράπολο

Φασματομετρία μαζών (τρόπος προσδιορισμού ιόντων)

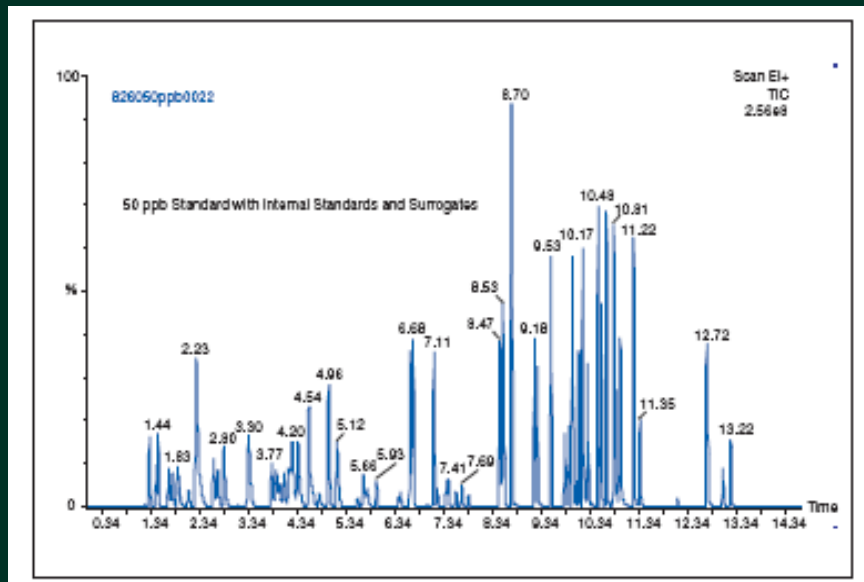
➤ Scan

- Συλλέγει δεδομένα μαζών σε μία γνωστή και εκτεταμένη περιοχή
- Αργός τρόπος

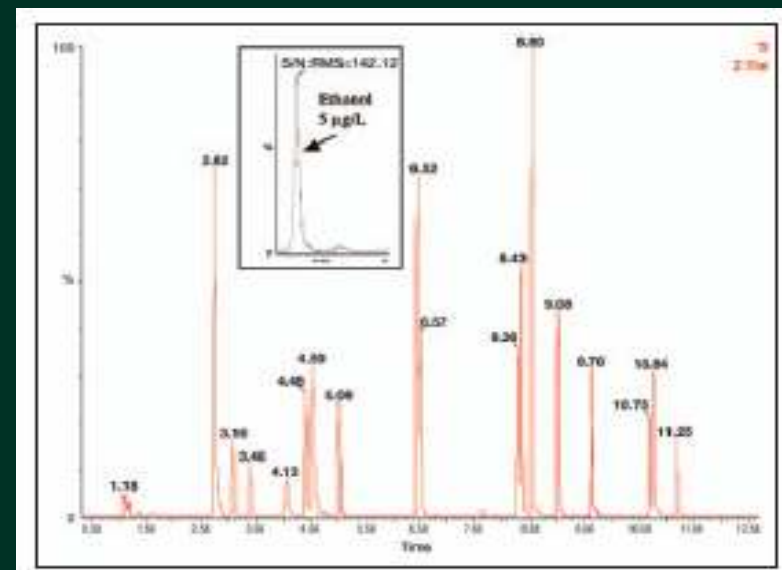
➤ Εκλεκτική παρακολούθηση ιόντων (Selective ion monitoring, SIM)

- Παρακαλούθει συγκεκριμένες μάζες σε προκαθορισμένες τιμές
- Γρήγορος τρόπος

Παραδείγματα εφαρμογής GC/MS

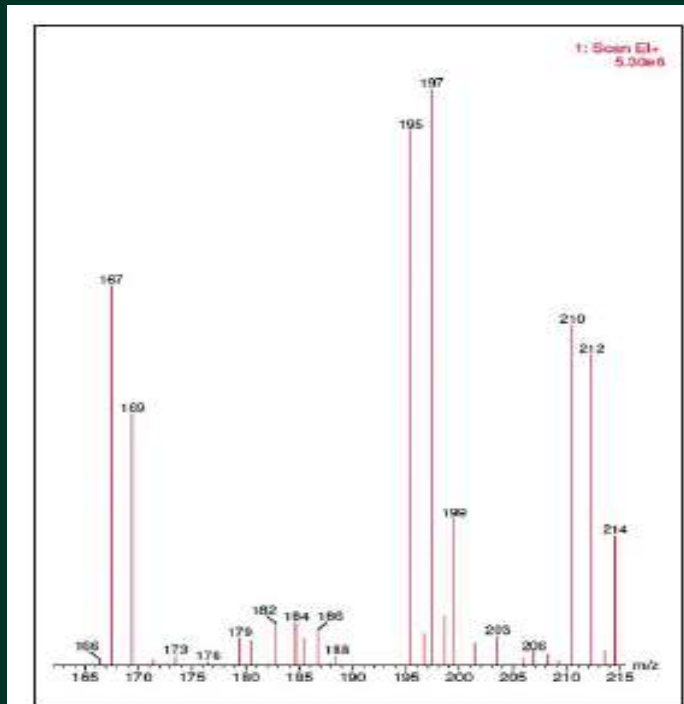


Προσδιορισμός πτητικών οργανικών ενώσεων με τη μέθοδο USEPA 8260B

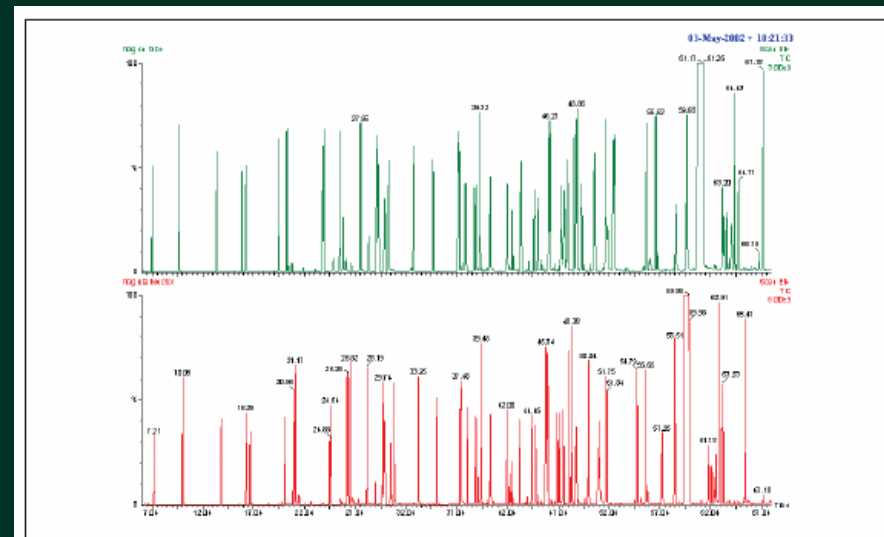


Προσδιορισμός οξυγονούχων πρόσθετων στα καύσιμα

Παραδείγματα εφαρμογής GC/MS

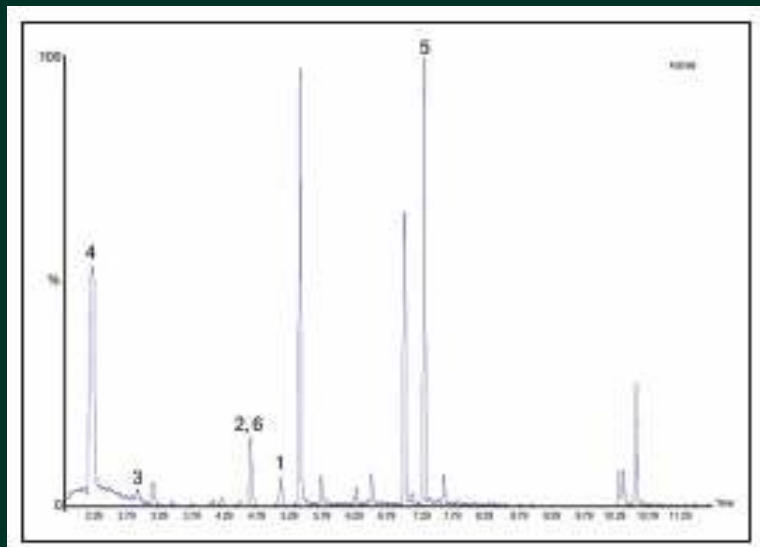


Προσδιορισμός της 2,4,6-τριχλωρο-
ανισόλης σε κρασί

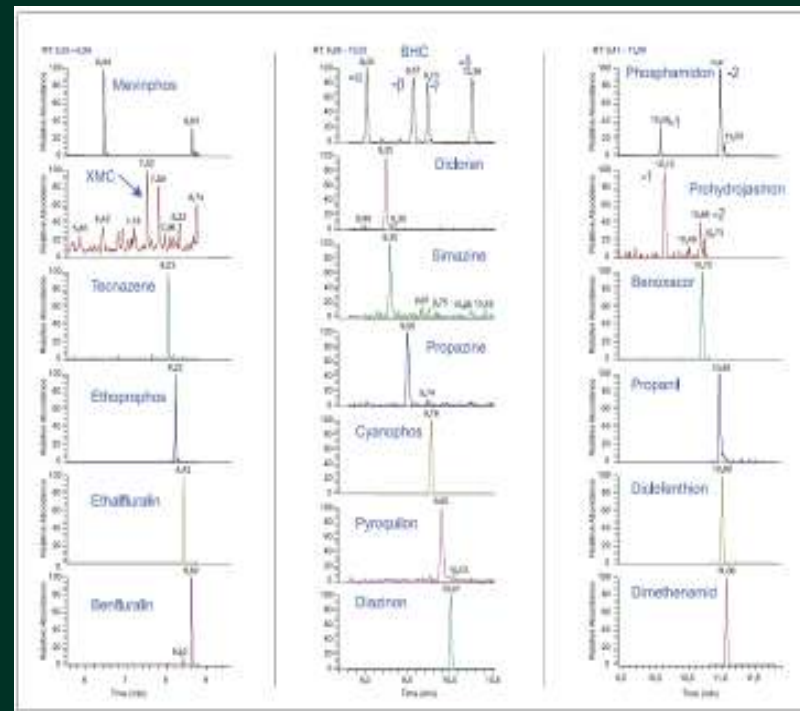


Προσδιορισμός οσμών αρωματικών κηρών

Παραδείγματα εφαρμογής GC/MS



Προσδιορισμός εκροφούμενων ενώσεων
από μεμβράνη περιτυλίγματος τροφίμων



Προσδιορισμός υπολειμμάτων
φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα