

Metody chromatograficzne w chemii i
biotechnologii, **wykład 7**

Chromatografia gazowa

Chromatografia gazowa

- ▶ Chromatografia jest **fizycznym sposobem rozdzielania** gdzie rozdzielane składniki rozłożone są między **dwiema fazami**

Z których: jedna jest nieruchoma (**faza stacjonarna**), druga (**faza ruchoma**) przemieszcza się w założonym kierunku

- ▶ W chromatografii gazowej **fazą ruchomą** jest **gaz**



Chromatografia gazowa

▶ Można analizować substancje, które w warunkach chromatografowania mają postać **gazów** lub **par** (ok. 20% związków chemicznych)

Są to substancje: **gazowe** oraz **ciekłe** i **stałe**, których **temperatura wrzenia** lub sublimacji (bez rozkładu) **nie przekracza 350 - 400°C**



Zalety i wady chromatografii GC

▶ **Zalety chromatografii gazowej**

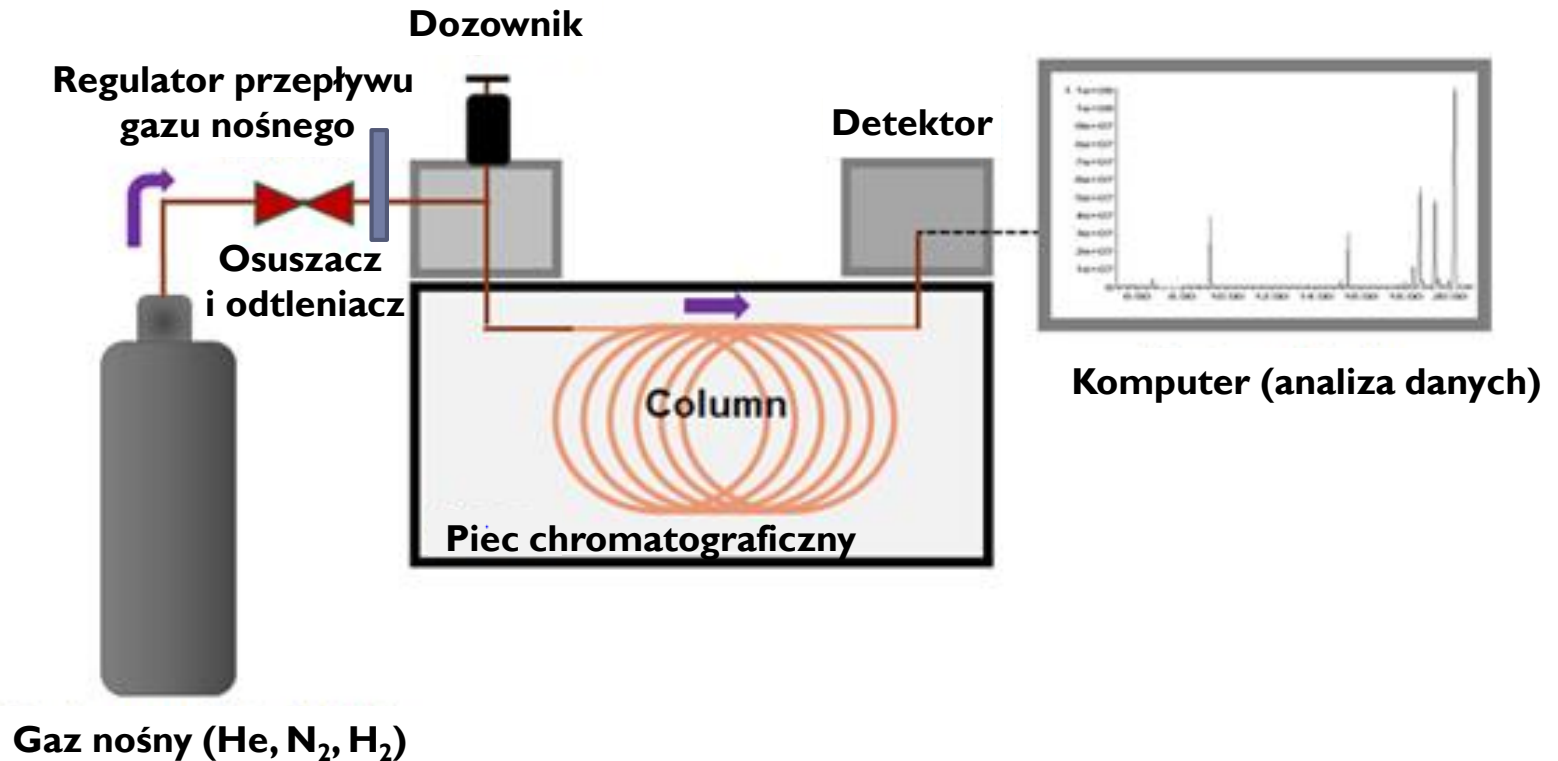
- ▶ Szybka analiza (minuty)
- ▶ Efektywna i zapewniająca wysoką rozdzielczość
- ▶ Wrażliwa, zdolna do wykrywania ppm (nierzadko ppb)
- ▶ Nieinwazyjna, umożliwiającą łączenie *on-line* (np. z detektorem mas: GC-MS)
- ▶ Umożliwia bardzo dokładną analizę ilościową
- ▶ Wymaga małej ilości próbki (typowo μl)
- ▶ Wiarygodne i stosunkowo proste
- ▶ Niedroga

▶ **Wady**

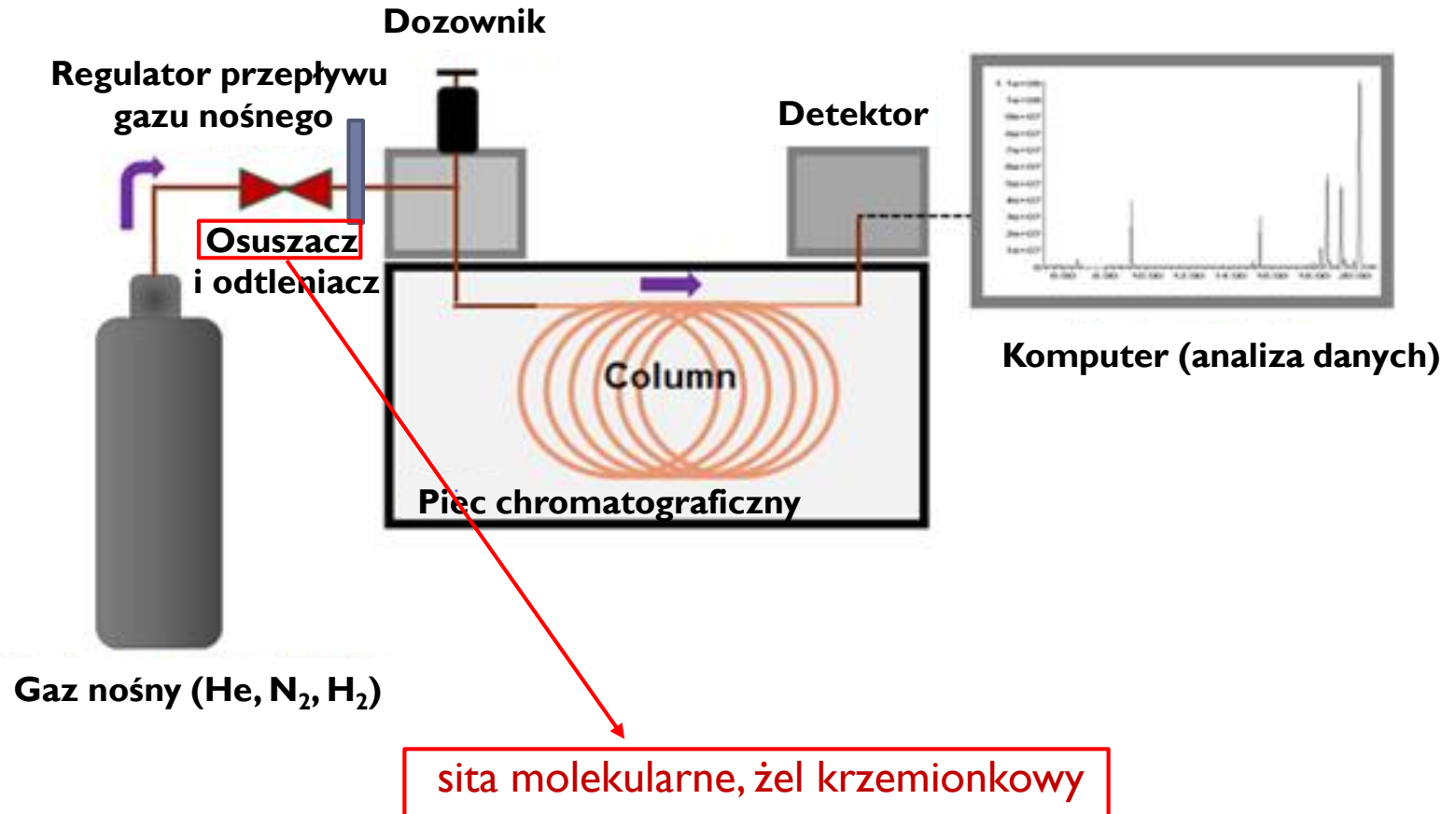
- ▶ **Ograniczone do lotnych próbek**
- ▶ Nie nadaje się do próbek termicznie labilnych
- ▶ Trudny w zastosowaniu do dużych próbek preparatywnych
- ▶ Wymaga spektroskopii, zwykle spektroskopii masowej, do identyfikacji analizowanego sygnału (lub wzorca)



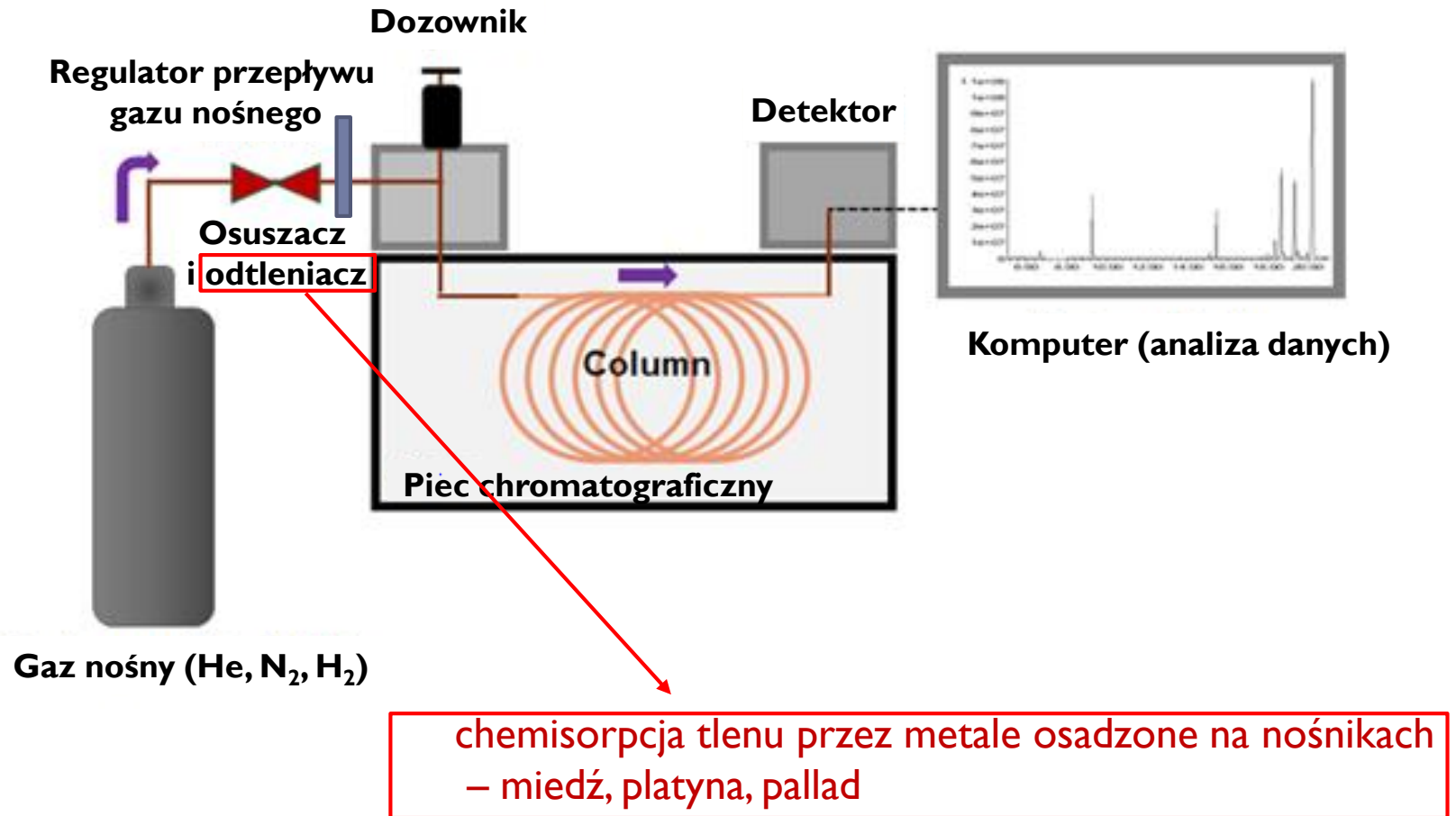
Schemat ogólny aparatu GC



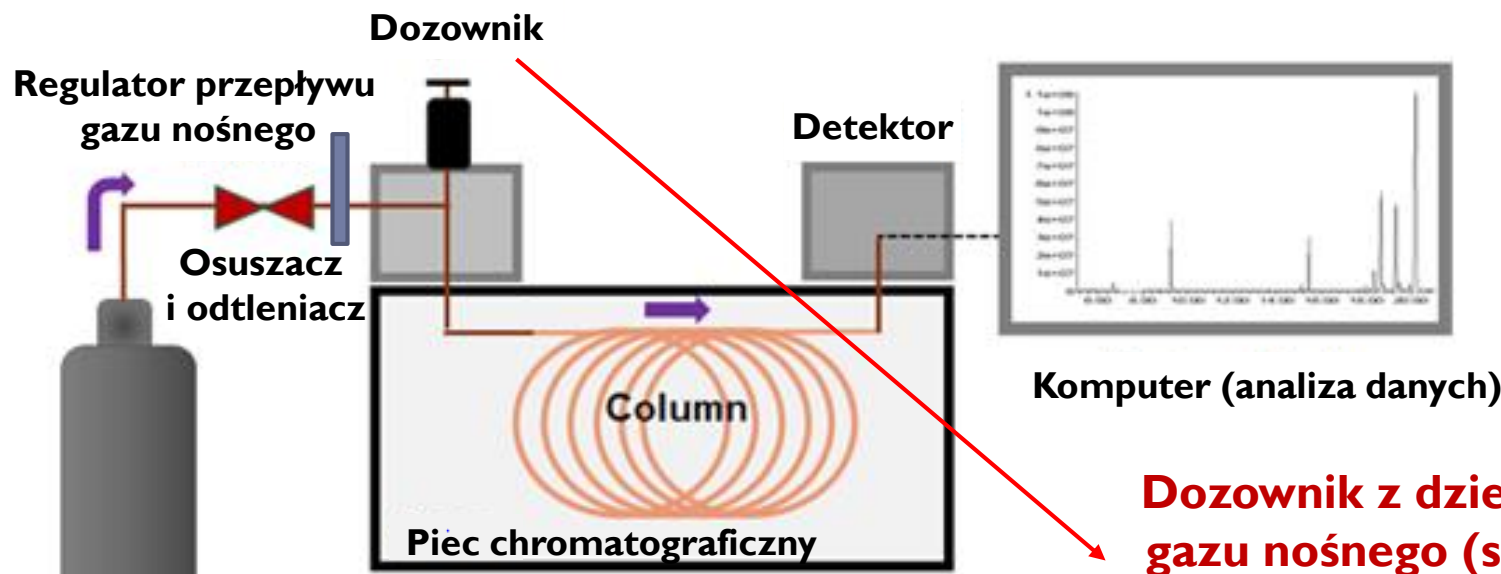
Schemat ogólny aparatu GC



Schemat ogólny aparatu GC



Schemat ogólny aparatu GC



Dozownik z dzieleniem gazu nośnego (splitter)

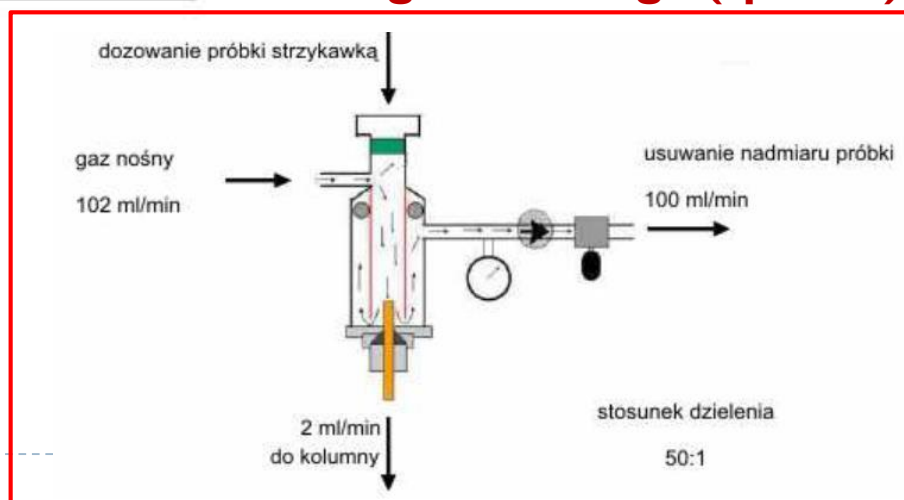
Gaz nośny (He, N₂, H₂)

0,1 – 5 μ L

powietrze + próbka + powietrze

rozpuszczalnik + powietrze + próbka + powietrze

Dla kolumn kapilarnych
wielkość próbki:
0,01 – 0,001 μ L



Schemat ogólny aparatu GC

▶ **Dozowanie próbki**

- ▶ Próbka gazowa lub ciekła (0,1 – 5 μ L) wprowadzana jest w optymalnej temp. ~ ok 20°C wyższej od temp. wrzenia najwyżej wrzącego składnika (szybkie odparowanie bez rozkładu termicznego)
- ▶ Czas wprowadzania próbki oraz objętość próbki powinny być jak najmniejsze (zapobieganie rozmyciu się pasma – niesymetryczne piki, słaby rozdział)



Aparat GC (chromatograf)



Optymalizacja parametrów analizy

- ▶ rodzaj fazy stacjonarnej
- ▶ wymiary kolumny
- ▶ temperatura pieca chromatograficznego
- ▶ temperatura detektora (zapobieganie kondensacji próbki) i dozownika
- ▶ prędkość przepływu gazu nośnego
- ▶ wielkość dozowanej próbki
- ▶ rodzaj detektora i dozownika



Chromatografia gazowa

Kolumny

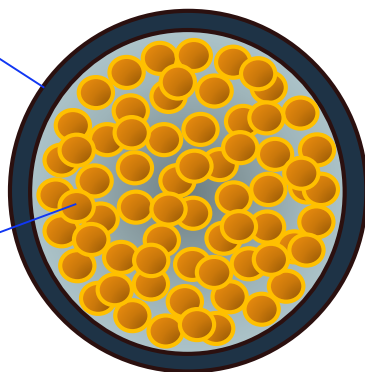
Typ kolumny	średnica wewnętrzna	długość
Pakowane analityczne	2 – 6 mm	kilka metrów (1 – 3 m zwykle)
Mikropakowane	0,8 – 1,2 mm	do kilkunastu metrów
Pakowane preparatywne (niewielkie ilości bardzo czystych związków)	ponad 6 mm	kilka metrów
Kapilarne	0,2 – 0,6 mm (typowo 0,15; 0,25; 0,32; 0,53)	kilkadziesiąt metrów (typowo 15; 25; 30; 50; 60)
Mikrokapilarne	poniżej 0,15 mm	kilkadziesiąt metrów



Kolumny

Kolumny pakowane

Kolumna szklana
lub ze stali
nierdzewnej



Adsorbent lub nośnik
z osadzoną fazą ciekłą

(ziarna, najczęściej kuliste o małej frakcji sitowej
np. 0,20 - 0,25 mm – małe opory gazu i małe
rozmycie dyfuzyjne pasm)

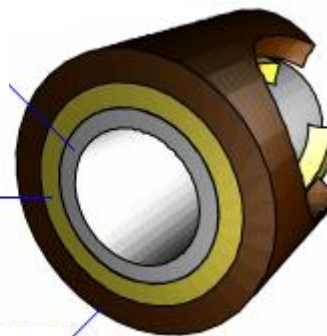


Kolumny kapilarne (open tubular)

Faza stacjonarna

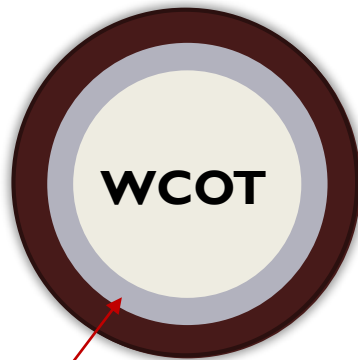
Krzemionka

Otoczka poliimidowa



Kolumny kapilarne

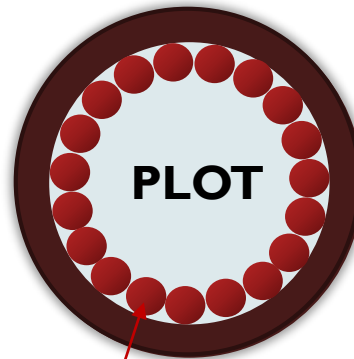
Wall
Coated
Open
Tube



Ciekła faza
Stacjonarna

(ponad 80% analiz,
długość od 5-60m)

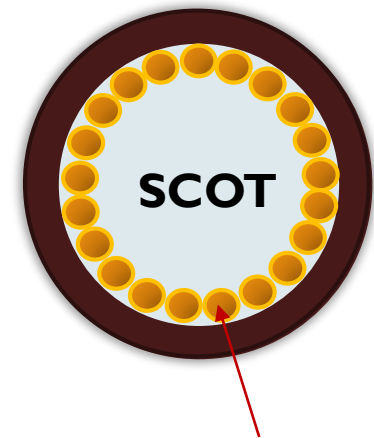
Porous
Layer
Open
Tube



Ziarna adsorbenta
(warstwa porowata)

(analiza gazów oraz niskowrzących związków,
długość od 2 -30m,)

Support-
Coated
Open
Tube



Ziarna adsorbenta
z osadzoną
na nich fazą ciekłą

(obecnie małe znaczenie)

▶ Grubość warstwy stacjonarnej wynosi zwykle 0,1 – 0,3 μm

Cieńsza warstwa - większą sprawność kolumny, krótszy czas rozdzielania; Grubsza warstwa - większa pojemność sorpcyjna kolumny

Kolumny kapilarne vs pakowane

TABLE 2.2 Comparison of Packed and WCOT Columns

	$\frac{1}{8}$ " Packed	WCOT
Outside diameter	3.2 mm	0.40 mm
Inside diameter	2.2 mm	0.25 mm
d_f	$5 \mu\text{m}$	$0.25 \mu\text{m}$
β	15–30	250
Column length	1–2 m	15–60 m
Flow	20 mL/min	1 mL/min
N_{tot}	4000	180,000
H_{min}	0.5 mm	0.3 mm
Advantages	Lower cost	Higher efficiency
	Easier to make	Faster
	Easier to use	More inert
	Larger samples	Fewer columns needed
	Better for fixed gases	Better for complex mixtures

Zalety kolumn kapilarnych: krótszy czas analizy, lepsze efekty rozdzielania, małe zużycie gazów nośnych i faz stacjonarnych brak konieczności stosowania nośników



Faza stacjonarna

▶ **Chromatografia adsorpcyjna gaz-ciało stałe, GSC:**

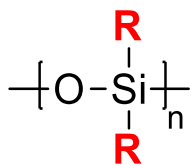
- ▶ Adsorbenty: węglowe, nieorganiczne (żele krzemionkowe, sита molekularne – naturalne lub syntetyczne zeolity), polimerowe organiczne (polimery porowate)
- ▶ Adsorbenty stosuje się do analiz gazów i węglowodorów o niskich masach cząsteczkowych
 - ▶ Spherosil, Corasil, Porasil, Chromosil, Gas Pro, Silica PLOT – żel krzemionkowy
 - ▶ Porapak, Chromosorb – polimery i kopolimery diwinylobenzenu i styrenu w różnych stosunkach molowych (lub etylowinylobenzen lub akrylonitryl) z dodatkiem modyfikatorów zawierających różne grupy funkcyjne

-
- ▶ Adsorbenty mają powierzchnie rzędu kilkudziesięciu do kilkuset m^2/g
Powierzchnia powinna być jednorodna, bez fragmentów o zwiększonej zdolności sorpcyjnej

Faza stacjonarna

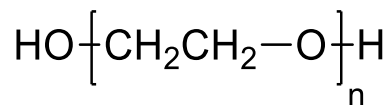
▶ Chromatografia podziałowa gaz-ciecz, GLC:

- ▶ Fazy niepolarne: węglowodory będące dobrymi rozpuszczalnikami substancji niepolarnych, np. skwalan - naturalny alkan, $C_{30}H_{62}$
- ▶ Fazy średniopolarne: siloksany o różnej masie cząsteczkowej
- ▶ Fazy polarne: glikole polietylenowe oraz estry (tetrachloroftalany, bursztynian glikolu dietylowego)



R = CH_3 ,
 $CH_2CH_2CH_2CN$
 $CH_2CH_2CF_3$
Ph

Polisiloksany czyli fazy silikonowe
(mono- lub mieszane, wszechstronne, trwała,
stabilne,)



Carbowax (PEG – glikole polietylenowe,
średnia polarność)

Faza stacjonarna

▶ **Ciekła faza stacjonarna**

- ▶ 90% wszystkich analiz
- ▶ postać gęstych, oleistych cieczy o małej lotności, lub są ciałami stałymi w temperaturze otoczenia
- ▶ odporna na działanie podwyższonej temperatury, na działanie gazu nośnego oraz substancji chromatografowanej
- ▶ Rozdzielanie składników mieszanin następuje na skutek różnic w rozpuszczalności tych składników



Ciekła faza stacjonarna

▶ Zasady doboru GLC:

- ▶ do rozdziału substancji niepolarnych stosuje się fazę stacjonarną niepolarną
- ▶ do rozdziału substancji polarnych stosuje się fazę stacjonarną polarną
- ▶ dla mieszaniny związków o różnej polarności (niepolarnych, polarnych i średnio polarnych) stosujemy fazy o średniej polarności

- ▶ Czynnikiem wpływającym na rozdzielanie substancji na **fazach polarnych** jest **polarność** ciekłej fazy stacjonarnej
- ▶ Czynnikiem wpływającym na rozdzielanie substancji na **fazach niepolarnych** jest **temperatura wrzenia** analitu



Faza ruchoma

▶ **Gaz nośny powinien:**

- ▶ mieć małą gęstość, niską lepkość, duży współczynnik dyfuzji (wodór, azot, argon lub hel)
 - ▶ być super czysty >99,999%
 - ▶ być obojętny chemicznie dla fazy stacjonarnej oraz składników rozdzielanej mieszaniny
 - ▶ Zadaniem gazu jest transport próbki przez dozownik, kolumnę i detektor
 - ▶ Rodzaj gazu nośnego ma bardzo mały wpływ na efektywność separacji w kolumnach pakowanych, natomiast w kapilarnych zalecany jest wodór lub hel
 - ▶ O wyborze gazu nośnego decyduje rodzaj wybranego detektora (cena, dostępność i czystość)
-



Faza ruchoma

▶ Prędkość liniowa gazu nośnego (μ):

$$\mu \text{ (cm / s)} = L / t_M$$

L = długość kolumny (cm)

t_M = czas retencji nie zatrzymanego piku (s)

- ▶ wpływa na czas retencji i sprawność
- ▶ kontrolowana poprzez dostosowanie ciśnienia gazu nośnego na wlocie kolumny
- ▶ jest zależna od temperatury kolumny i lepkości gazu



Chromatografia gazowa

▶ **Efektywność chromatografowania zależy od temperatury kolumny:**

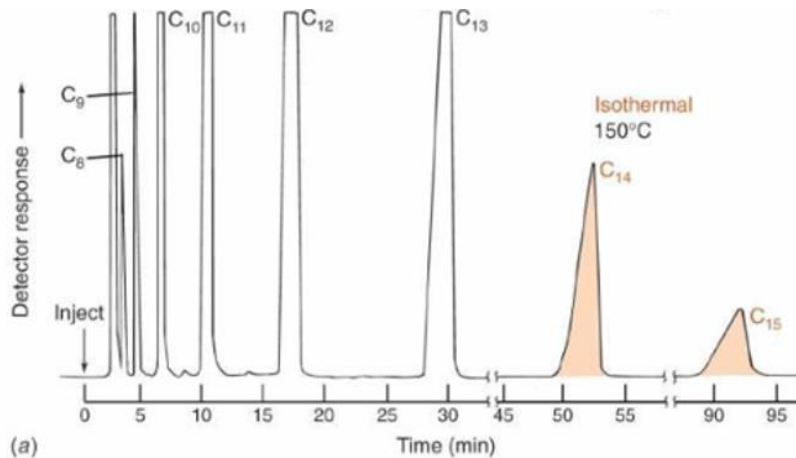
- ▶ w chromatografii podziałowej – temperatura kolumny powinna być podobna do temperatury wrzenia analizowanych substancji (zwykle nieco niższa)
- ▶ w chromatografii adsorpcyjnej – temperatura kolumny powinna być wyższa (lub dużo wyższa) od temperatury wrzenia substancji analizowanych
- ▶ Wzrost temperatury kolumny – gorszy rozdział
- ▶ Zbyt mała temperatura analizy – poszerzenie i niesymetryczność pików



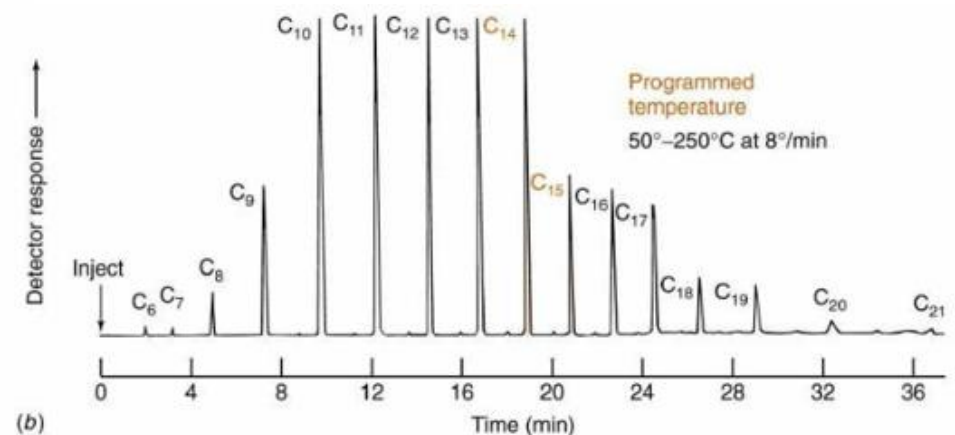
Chromatografia gazowa

▶ Analiza z programowaniem temperatury:

- ▶ do analizy mieszaniny składników różniących się znacząco temperaturami wrzenia



Analiza izotermiczna



Analiza z programowaniem temperatury

Kluczowe równania

$$K_c = \frac{[A]_S}{[A]_M}$$

$[A]_S$ – stężenie substancji A w fazie stacjonarnej, $[A]_M$ stężenie substancji A w fazie ruchomej

$$K_c = k \times \beta$$

$$\beta = \frac{V_M}{V_S} \quad \text{i} \quad \beta = \frac{r_c}{2d_f}$$

V_M – objętość fazy ruchomej (gazu), V_S – objętość fazy stacjonarnej,
 r_c – promień kolumny, d_f = grubość filmu ($r_c \gg d_f$),

$$k = \frac{(X_A)_S}{(X_A)_M}$$

$(X_A)_S$ – liczba moli substancji A w fazie stacjonarnej, $(X_A)_M$ – liczba moli substancji A w fazie ruchomej

(współczynnik retencji k jest miarą jak mocno substancja wiąże się z fazą stacjonarną)

Phase Ratio (β)

Effects of phase film thickness are interdependent with column I.D. The phase ratio, beta (β), expresses the ratio of the gas volume and the stationary phase volume in a column:

$$\beta = \frac{\text{column radius } (\mu\text{m})}{2 \times \text{film thickness } (\mu\text{m})}$$

In contrast to relative terms ("thick film" and "thin film"), β values establish a distinct ranking for columns. As a general rule, select columns by β values as follows:

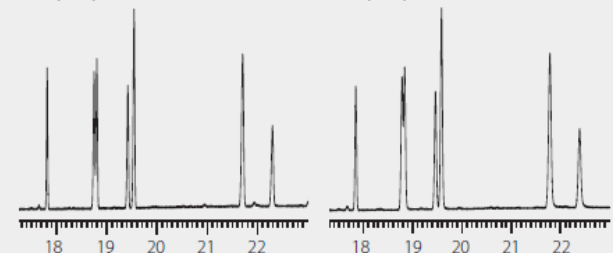
β Value	Uses
<100	Highly volatile, low molecular weight compounds
100–400	General purpose analyses Wide range of compounds
>400	High molecular weight compounds Trace analyses

β values are also useful when changing column I.D. and film thickness combinations for a particular analysis, because columns with the same phase ratio will provide very similar retention times and elution order under the same analytical conditions.

Columns With Similar β Values

SLB*-5ms, 30 m x 0.53 mm I.D.,
0.50 μm ($\beta = 265$)

SLB*-5ms, 30 m x 0.25 mm I.D.,
0.25 μm ($\beta = 250$)



Kluczowe równania

ale:

$$k = \frac{K_c}{\beta} = \frac{K_c V_S}{V_M}$$

$$V_R = V_M + K_C V_S$$

z czego:

$$V_R - V_M = V'_R = K_C V_S$$

i stąd:

$$k = \frac{V'_R}{V_M} = \left(\frac{V_R}{V_M} \right) - 1$$

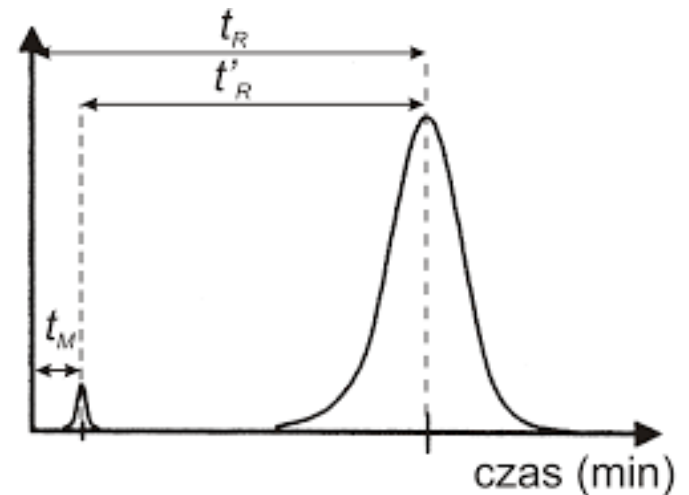
V_R oraz V_M możemy odczytać bezpośrednio z chromatogramu

Objętość retencji można zastąpić czasem retencji:

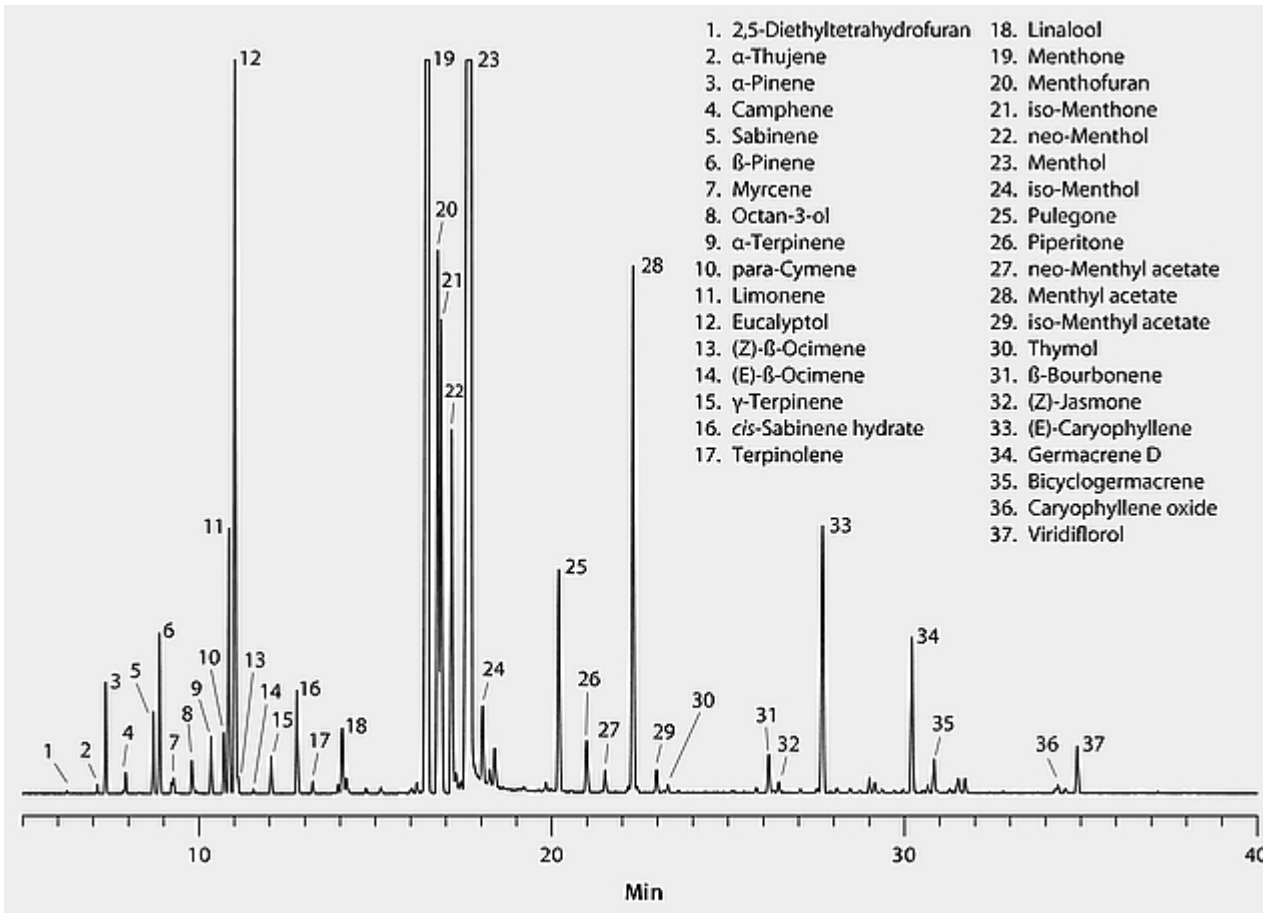
$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M} = \left(\frac{t_R}{t_M} \right) - 1$$

V_R to objętość gazu od nastrzyku do szczytu piksu (maksimum masy) albo ilość gazu potrzebna do elucji analitu

V_M to objętość gazu do elucji składnika niezwiązanego



Typowy chromatogram



column: SLB-5ms, 30 m
x 0.25 mm I.D., 0.25 μ m
(28471-U)

oven: 50 $^{\circ}$ C, 3 $^{\circ}$ C/min
to 300 $^{\circ}$ C

inj. temp.: 220 $^{\circ}$ C

detector: FID, 300 $^{\circ}$ C

carrier gas: helium,
30 cm/sec

detector: 1 μ L,
100:1 split

sample: Peppermint oil
diluted 1:10 in n-
hexane

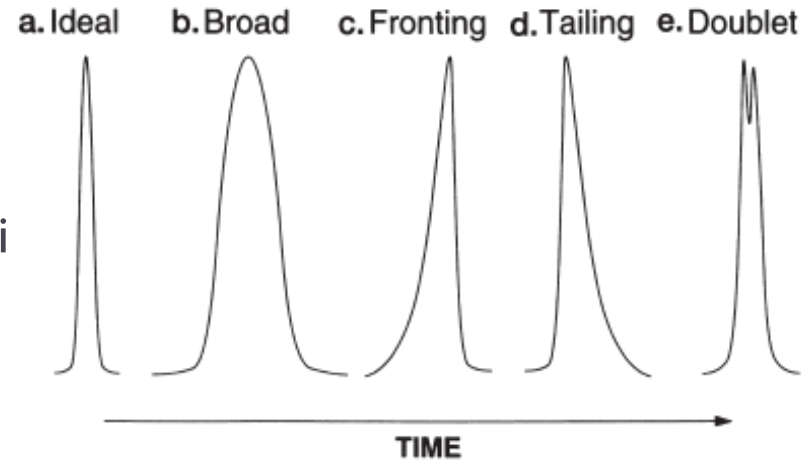
Skuteczność podziałów/kształt piku

▶ Sprawność kolumny

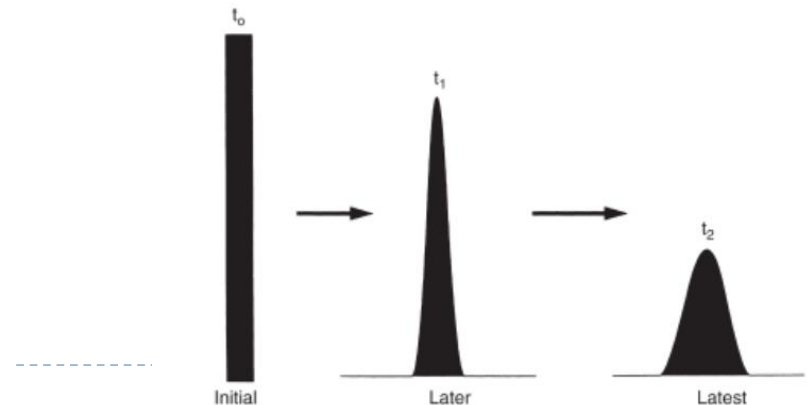
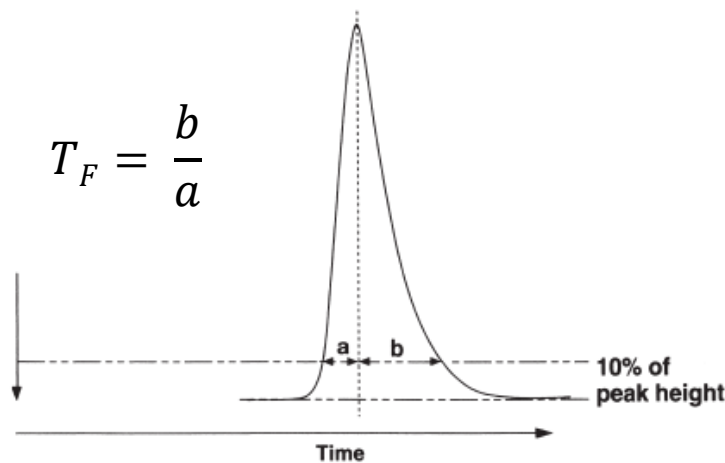
(liczba pólek teoretycznych):

- ▶ decyduje o kształcie piku.
- ▶ można wyznaczyć przy użyciu substancji testowej, dla której $k = 5 - 10$.

Otrzymany pik powinien być symetryczny.



▶ Asymetryczność piku określa się za pomocą współczynnika symetrii T_F



Skuteczność podziału/zdolność złoża

▶ Wysokość równoważna półce teoretycznej:

- ▶ mówi o sprawności kolumny,
- ▶ najmniejsza objętość kolumny, w której zostaje osiągnięty stan równowagi między stężeniami substancji chromatografowanej w fazie ruchomej i stacjonarnej.

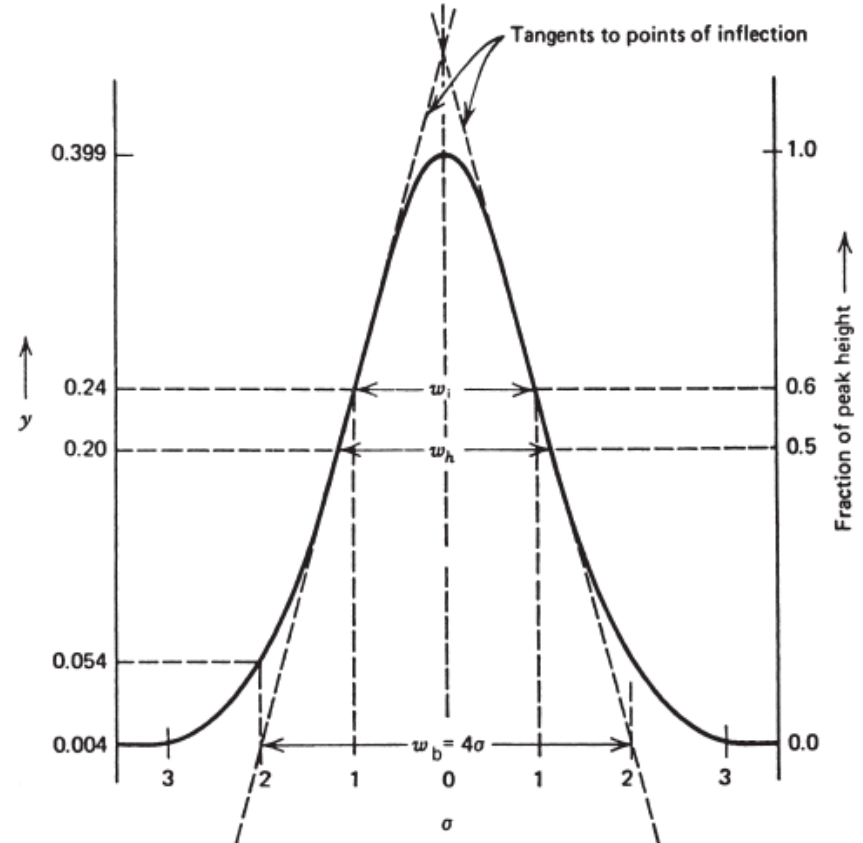
$$H = \frac{\sigma^2}{t_R}$$

▶ Kolumna składa się z N pótek

$$N = \frac{L}{H}$$

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{w_b}\right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_h}\right)^2$$

σ - odchylenie standardowe krzywej



Skuteczność podziału/Zakłócenia przepływu

Równanie van Deemtera

$$H = A + \frac{B}{\bar{\mu}} + C\bar{\mu}$$

A - dyfuzja wirowa (w GLC czynnik A = zero)

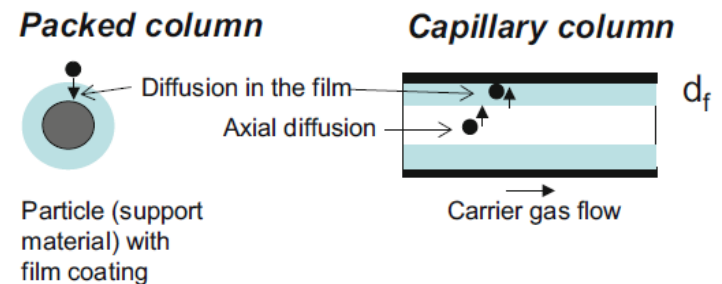
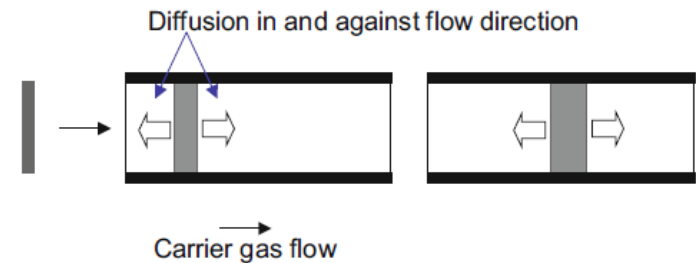
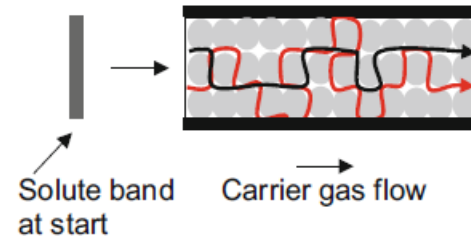
B – dyfuzja podłużna (cząsteczkowa, zależy od rodzaju gazu nośnego)

C – opóźnienie przepływu przez transfer masy (opór przenoszenia masy)

$$C = \frac{8}{\pi^2} \times \frac{k}{(1+k)} \times \frac{d_L^2}{D_L}$$

w przypadku chromatografii podziałowej
zależy od dyfuzji do ciekłej fazy stacjonarnej

w przypadku chromatografii adsorpcyjnej
zależy od kinetyki adsorpcji i desorpcji



Skuteczność podziałów

► Współczynnik selektywności:

$$\alpha = \frac{t'_{R(2)}}{t'_{R(1)}} = \frac{k_2}{k_1} = \frac{V'_{R(2)}}{V'_{R(1)}} = \frac{K_2}{K_1}$$

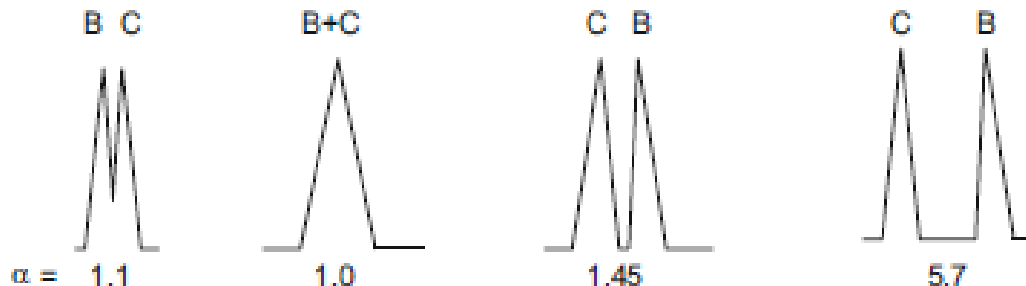
$\alpha \gg 1$



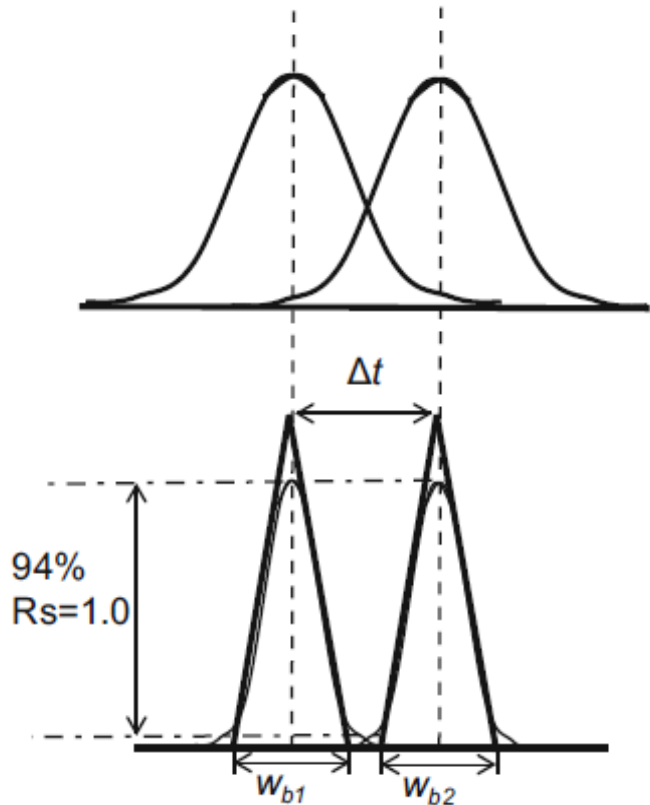
Stationary phase

100% Methyl OV-1	Polysiloxane 5% Phenyl SB-5	7% Phenyl/7% CP OV-1701
---------------------	--	----------------------------

PEG CW 20 M



Dwa anality-Rozdział

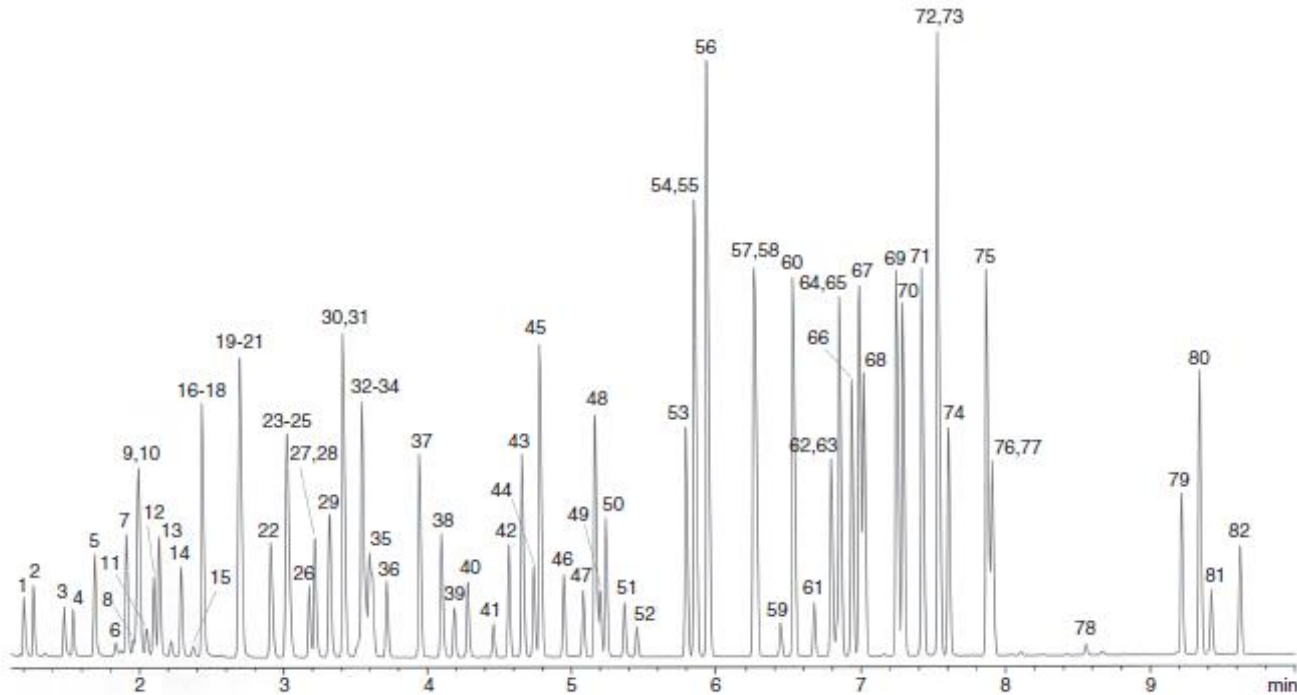


$$R_s = \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{(w_{b(2)} + w_{b(1)})/2}$$

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_2}{k_2 + 1} \right)$$

Zazwyczaj pełne rozdzielanie pików otrzymujemy dla $R_s > 1$

Chromatogram



Column: Zebron ZB-624
 Dimensions: 20 meter x 0.18 mm x 1.00 μ m
 Part No: 7FD-G005-22
 Injection: Purge and Trap
 Carrier Gas: Constant Flow Helium
 Oven Program: 35 $^{\circ}$ C to 210 $^{\circ}$ C
 Detector: MSD @ 35-275 amu

- Sample:
1. Chloromethane
 2. Vinyl chloride
 3. Bromomethane
 4. Chloroethane
 5. Trichlorofluoromethane
 6. Ethanol
 7. Dichlorotrifluoroethane
 8. Acrolein
 9. Trichlorotrifluoroethane
 10. 1,1-Dichloroethene
 11. Acetone
 12. Methyl iodide
 13. Carbon disulfide
 14. Methylene chloride
 15. t-Butanol
 16. trans-1,2-Dichloroethane
 17. Methy-t-butyl ether
 18. Acrylonitrile
 19. 1,1-Dichloroethane
 20. Vinyl Acetate
 21. Diisopropyl ether
 22. Ethyl-t-butyl ether
 23. 2,2-Dichloropropane
 24. cis-1,2-Dichloroethene
 25. 2-Butanone
 26. Bromochloromethane
 27. Chloroform
 28. Tetrahydrofuran

29. 1,1,1-Trichloroethane
30. 1,1,-Dichloropropene
31. Carbon tetrachloride
32. 1,2-Dichloroethane-d4
33. Benzene
34. 1,2-Dichloroethane
35. t-Amyl methyl ether
36. Fluorobenzene
37. Trichloroethene
38. 1,2-Dichloropropane
39. Dibromomethane
40. Bromodichloromethane
41. 2-Chloroethylvinyl ether
42. cis-1,3-Dichloropropene
43. Methyl isobutyl ketone
44. Toluene-d8
45. Toluene
46. trans-1,3-Dichloropropene
47. 1,1,2-Trichloroethane
48. Tetrachloroethene
49. 1,3-Dichloropropane
50. 2-Hexanone
51. Dibromochloromethane
52. Ethylene dibromide
53. Chlorobenzene
54. 1,1,1,2-Tetrachloroethane
55. Ethylbenzene
56. m,p-Xylene

57. O-Xylene
58. Styrene
59. Bromoform
60. Isopropylbenzene
61. 4-Bromofluorobenzene
62. 1,1,2,2-Tetrachloroethane
63. Bromobenzene
64. 1,2,3-Trichloropropane
65. n-Propylbenzene
66. 2-Chlorotoluene
67. 1,3,5-Trimethylbenzene
68. 4-Chlorotoluene
69. tert-Butylbenzene
70. 1,2,4-Trimethylbenzene
71. sec-Butylbenzene
72. 1,3-Dichlorobenzene
73. 4-Isopropyltoluene
74. 1,4-Dichlorobenzene
75. n-Butylbenzene
76. 1,2-Dichlorobenzene-d4
77. 1,2-Dichlorobenzene
78. 1,2-Dibromo-3-chloropropane
79. 1,2,4-Trichlorobenzene
80. Hexachlorobutadiene
81. Naphthalene
82. 1,2,3-Trichlorobenzene

Detekcja sygnału

▶ **Detektory różniczkowe:**

- ▶ reagują na różnice we właściwościach fizykochemicznych gazu nośnego i gazu zawierającego substancje eluowane z kolumny.
- ▶ Rejestrowane właściwości są proporcjonalne do stężenia lub natężenia masowego przepływu wykrywanego składnika w gazie nośnym

Czułość detektora: stosunek przyrostu sygnału do przyrostu stężenia (lub masy) substancji w gazie nośnym

Wykrywalność detektora (granica wykrywalności): najmniejsza ilość substancji wywołującej sygnał, którego wartość jest co najmniej dwa razy większa od amplitudy szumów



Detekcja sygnału

▶ Detektory (uniwersalne i selektywne)

- ▶ **FID** (płomieniowo-jonizacyjny, ogólnego zastosowania, węglowodory [ale nie woda], destrukcyjny)
- ▶ **TCD** (katarometr, *thermal-conductivity detector*, ogólnego zastosowania **NIEINWAZYJNY**)
- ▶ **ECD** (electron-capture detector, chlorowcopochodne)
- ▶ **Inne Jonizacyjne** (NPD – związki azotowe i fosforowe, AFID, TID, PID, DID, HID)

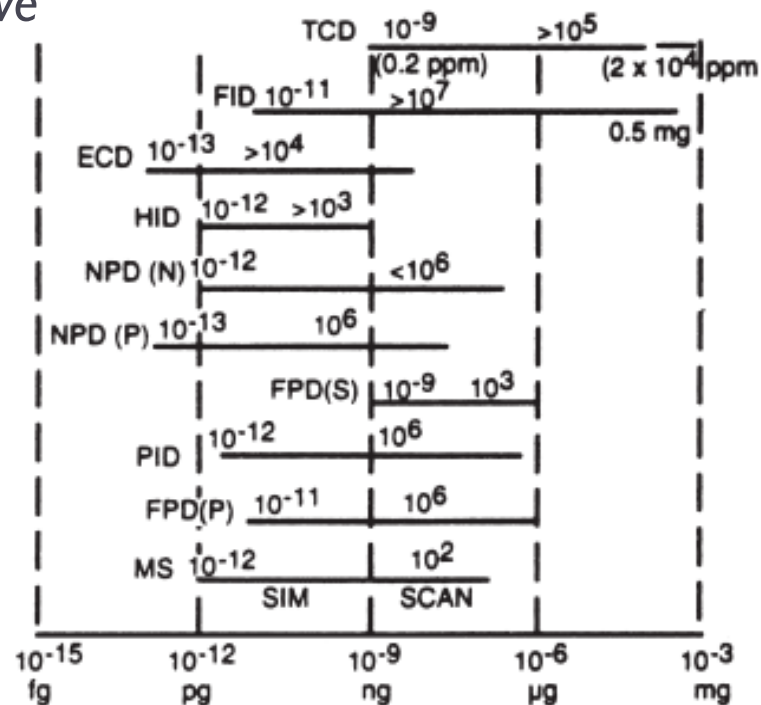
- ▶ Emisyjne

- ▶ Elektrochemiczne

- ▶ *Inne*, a wśród nich:

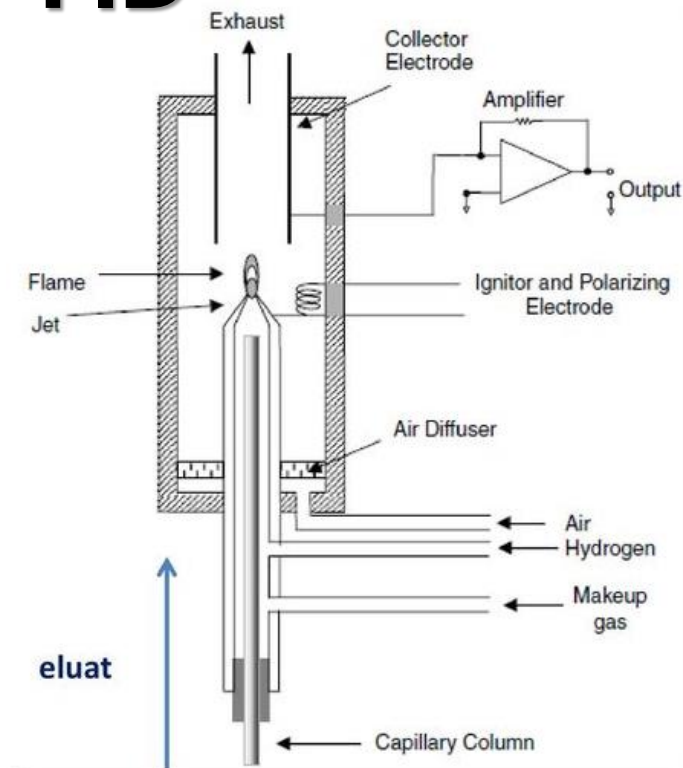
 - Detektory mas

 - FTIR



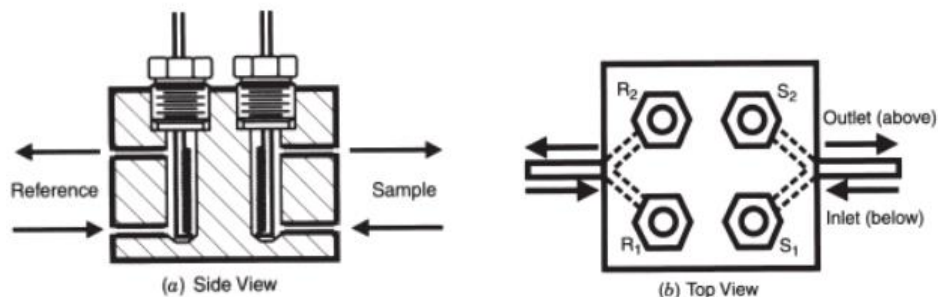
FID i TCD konstrukcja

FID

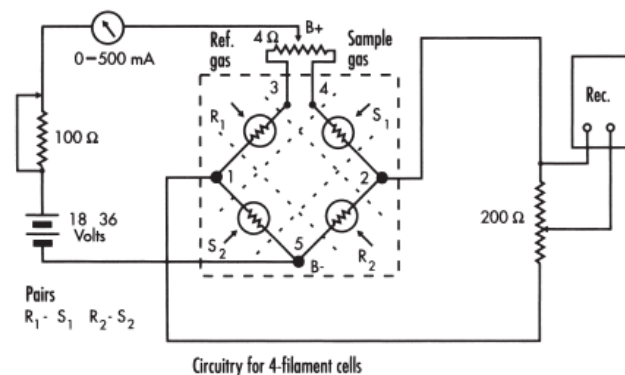


Detektor uniwersalny,
Dla związków zawierających wiązanie C-H,
Detektor masowy
Pomiar prądu jonowego wytwarzanego przez termojony powstałe w wyniku spalania

TCD, katarometr



Cztery czujniki (spiral, element oporowy) połączone w układzie mostka Wheatstone'a

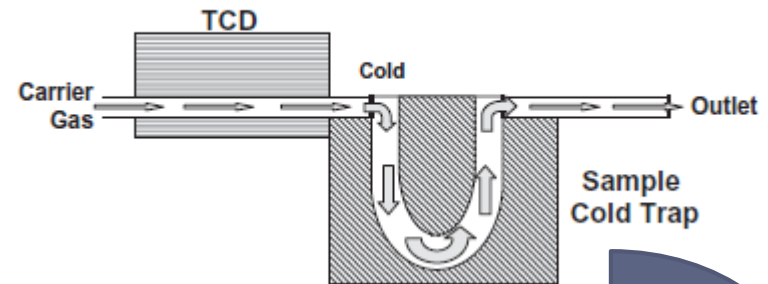
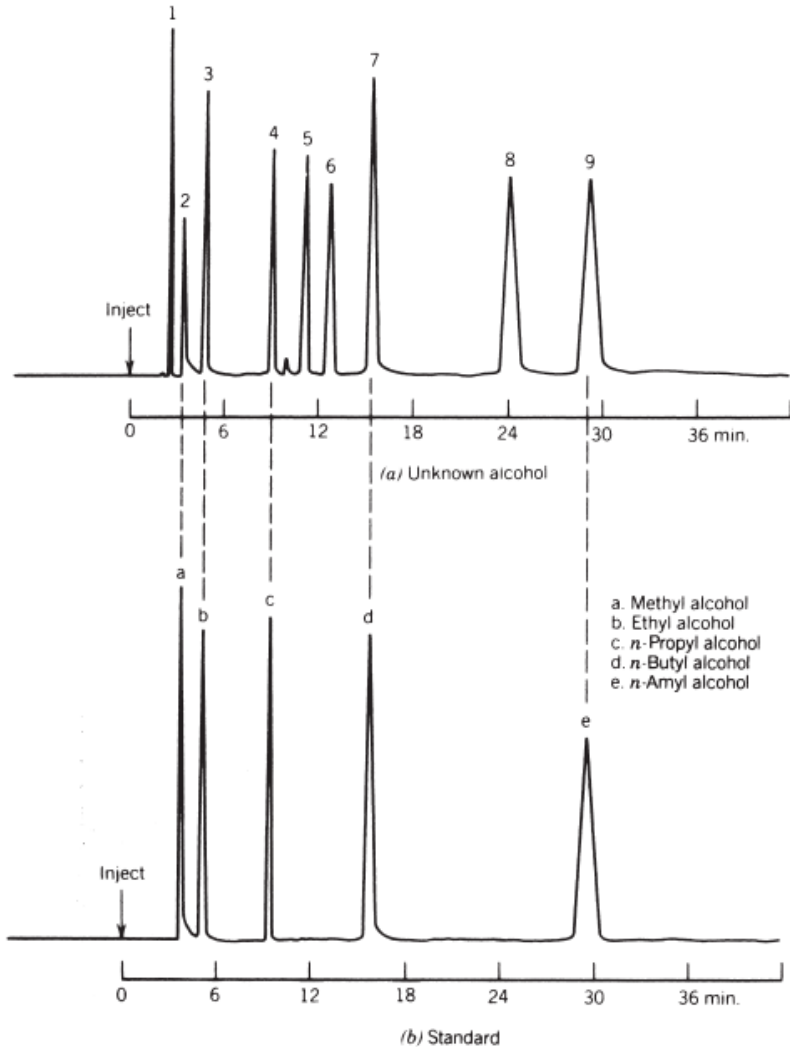


Detektor uniwersalny, reaguje na wszystkie chromatografowane substancje
Mniejsza wykrywalność

GC zastosowania

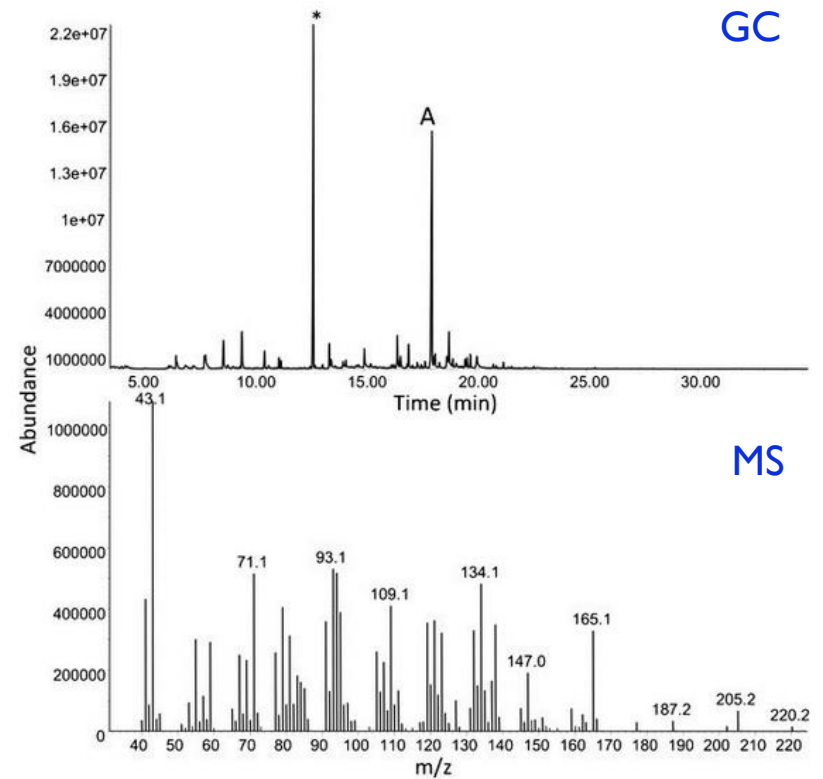
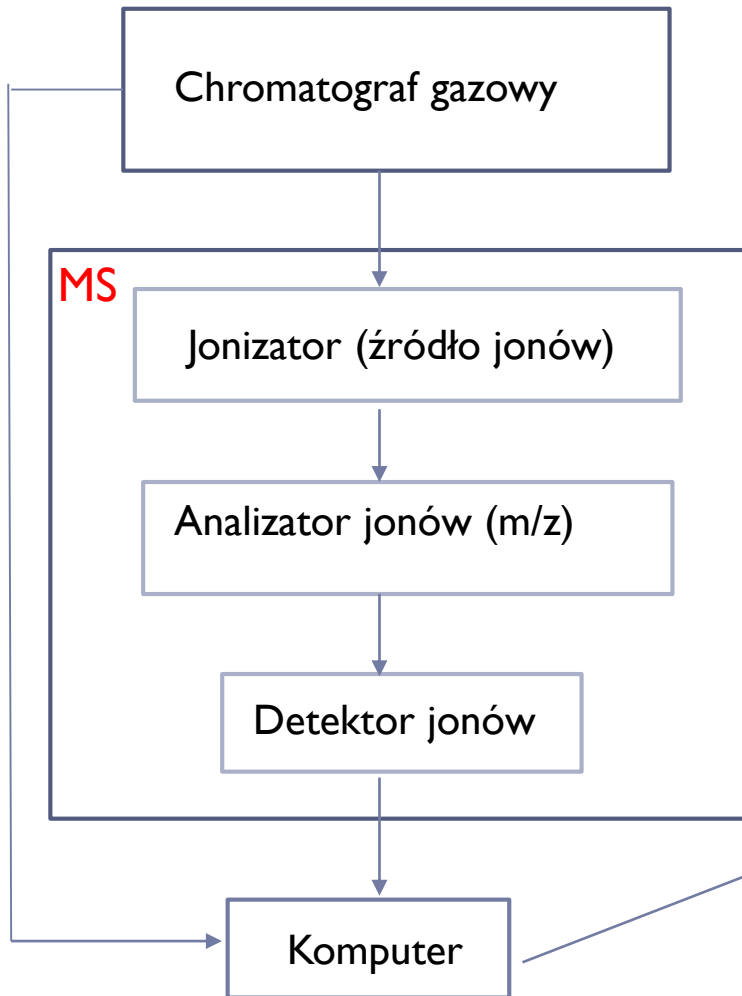


GC-analiza jakościowa

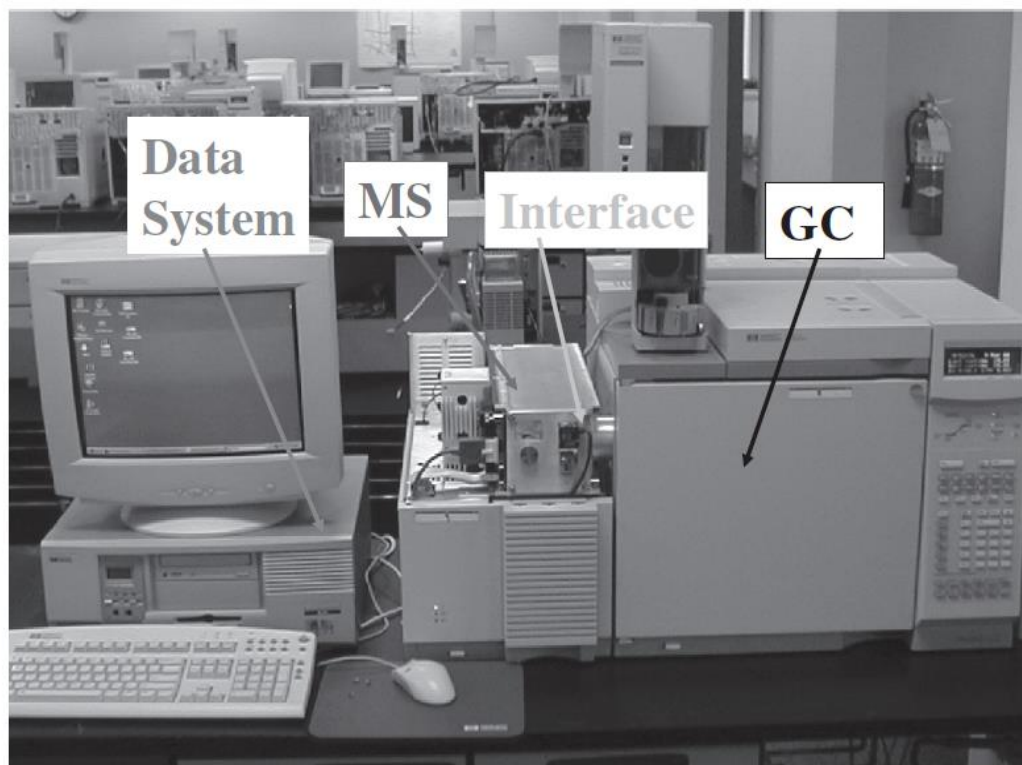


MS, FTIR,
NMR....

GC-MS



GC-MS



Łącznik – umożliwia wprowadzenie składników rozdzielanych substancji w kolumnie do spektrometru mas w stanie jakościowo i ilościowo niezmienionym



GC-analiza ilościowa

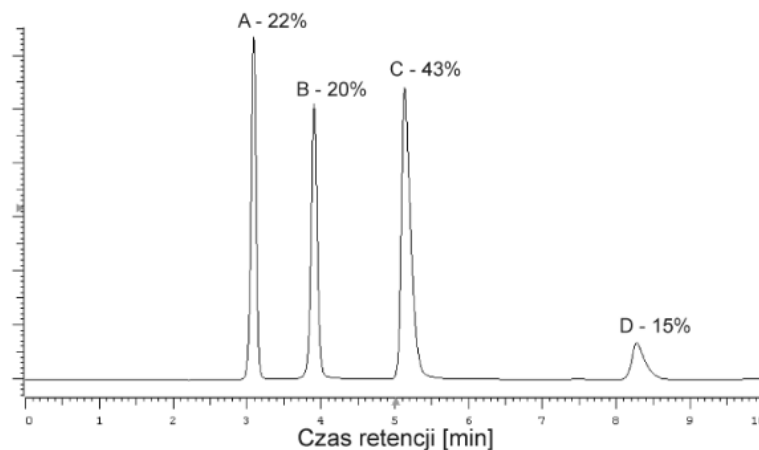
- ▶ Polega na ustaleniu zależności pomiędzy sygnałem detektora (powierzchnia pod pikiem, wysokość piku), a stężeniem lub masą oznaczanego składnika
 - ▶ Normalizacja powierzchni
 - ▶ **Analiza normalizacyjna powierzchni ze współczynnikiem odpowiedzi**
 - ▶ Metoda wzorca zewnętrznego (metoda krzywej kalibracyjnej)
 - ▶ **Metoda wzorca wewnętrznego**
 - ▶ Metoda dodatku wzorca (metoda fortyfikacji)



GC-normalizacja pola

- ▶ Nie jest to metoda kalibracyjna – nie stosuje się próbek wzorca
- ▶ Polega na obliczaniu procentowego udziału powierzchni dla każdego z oznaczanych związków w stosunku do sumarycznej powierzchni wszystkich pików

$$\text{Pole } X (\%) = \left[\frac{A_X}{\sum_i (A_i)} \right] \times 100\%$$



- ▶ Wszystkie składniki mieszaniny muszą być rozdzielone i opuścić kolumnę
- ▶ Wszystkie składniki mieszaniny muszą być oznaczone (odpowiedź detektora pozytywna)
- ▶ **Wszystkie składniki mieszaniny muszą dawać tą samą odpowiedź w stosunku do masy** (np. detektor FID dla węglowodorów)



Współczynnik odpowiedzi (korekcyjny)

- ▶ Współczynnik odpowiedzi f_x uwzględnia zróżnicowaną odpowiedź detektora dla różnych składników próbki
- ▶ Stosunek stężenia znanego do stężenia wyliczonego na podstawie metody normalizacji pola



GC-normalizacja pola + współczynnik odpowiedzi (korekcyjny)

$$X (\%) = \left[\frac{(A_X f_X)}{\sum_i (A_i f_i)} \right] \times 100\%$$

- ▶ MIESZANINA: etanol (pole: 5.0), heksan (9.0), benzen (4.0), octan etylu (7.0)
- ▶ Etanol $\times f(\text{etanol}) = 5 \times 0.64 = 3.20$
- ▶ Pole znormalizowane ($\times f_i$ -tego składnika) = 18.15
- ▶ Zaw. Etanolu (%) = $[3.20/18.15] \times 100 = 17.6\%$

TABLE 8.4 Example of Area Normalization with Response Factors

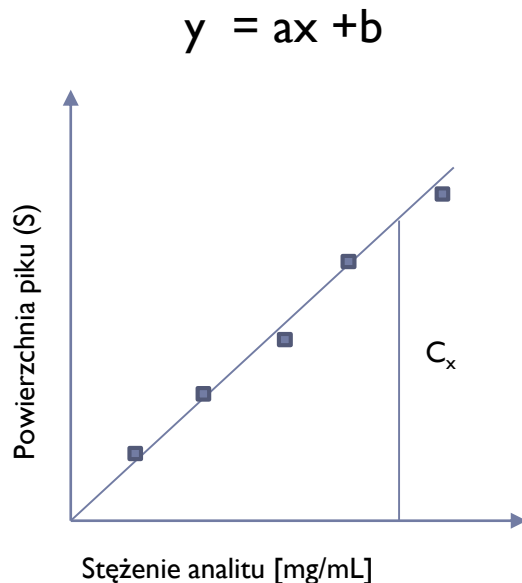
Compound	Raw Area	Weight Response Factor	Corrected Area	Weight %	Area %	Absolute Error
Ethanol	5.0	0.64	3.20	17.6	20.0	+2.4
Hexane	9.0	0.70	6.30	34.7	36.0	+1.3
Benzene	4.0	0.78	3.12	17.2	16.0	-1.2
Ethylacetate	7.0	0.79	5.53	30.5	28.0	-2.5
Total	25.0	—	18.15	100.0	100.0	

TABLE 8.3 Relative Response Values for the FID and TCD (Wt. %)[16]

Compound	Relative Response Factors, Weight %	
	FID ^a	TCD
<i>n</i> -Paraffins		
Methane	1.03	0.45
Ethane	1.03	0.59
Propane	1.02	0.68
Butane	0.92	0.68
Pentane	0.96	0.69
Hexane	0.97	0.70
Octane	1.03	0.71
Branched Paraffins		
Isopentane	0.95	0.71
2,3-Dimethylpentane	1.01	0.74
2,2,4-Trimethylpentane	1.00	0.78
Unsaturates		
Ethylene	0.98	0.585
Aromatics		
Benzene	0.89	0.78
Toluene	0.93	0.79
<i>o</i> -Xylene	0.98	0.84
<i>m</i> -Xylene	0.96	0.81
<i>p</i> -Xylene	1.00	0.81
Oxygenated Compounds		
Acetone	2.04	0.68
Ethylmethylketone	1.64	0.74
Ethylacetate	2.53	0.79
Diethylether	—	0.67
Methanol	4.35	0.58
Ethanol	2.17	0.64
<i>n</i> -Propanol	1.67	0.60
<i>i</i> -Propanol	1.89	0.53
Nitrogen Compounds		
Aniline	1.33	0.82

Metoda wzorca zewnętrznego

- ▶ Przygotowuje się szereg roztworów o znanych stężeniach (r-ry wzorcowe) substancji analizowanych
- ▶ Wykonuje się analizę chromatograficzną każdego r-ru i mierzy pole powierzchni lub wysokość sygnału
- ▶ Mierzony parametr (pole powierzchni lub wysokość pików) jest funkcją liniową stężenia



$$C_x = \frac{S_x}{f}$$

Dla $b = 0$ współczynnik odpowiedzi f jest współczynnikiem kierunkowym a

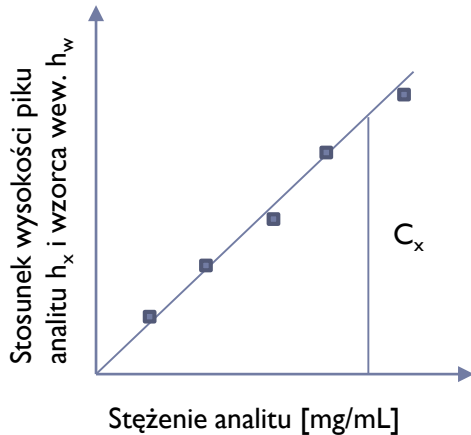
Metoda wzorca wewnętrznego

- ▶ Dodatek substancji do analizowanej próbki, która musi spełniać następujące warunki:
 - ▶ Powinna eluować w pobliżu interesującego składnika
 - ▶ Nie może za niego nachodzić (idealnie rozdzielona $R_s > 1$)
 - ▶ Musi być podobna chemicznie do analizowanej substancji (podobna odpowiedź detektora), ale **NIE MOŻE** być identyczna z jakimkolwiek składnikiem mieszaniny
 - ▶ Nie może reagować z żadnym składnikiem badanej mieszaniny
 - ▶ Musi być łatwo dostępna jako związek o wysokiej czystości
-



Metoda wzorca wewnętrznego

- ▶ FID: sygnał \sim ilość atomów węgla



$$\begin{cases} h_x = a_x c_x \\ h_w = a_w c_w \end{cases}$$

$$\frac{h_x}{h_w} = \frac{a_x c_x}{a_w c_w}, \text{ jeśli } f = \frac{a_x}{a_w} \text{ to: } \frac{h_x}{h_w} = \frac{c_x}{c_w} \times f$$

▶ POMIAR

- ▶ Roztwór wzorcowy o znanych stężeniach c_x i c_w ; mierzymy wysokość piku obu składników
- ▶ Z równań wyznaczamy wartość f
- ▶ Do próbki o nieznannej zawrotości c_x dodajemy znaną ilość wzorca (np. w 1 ml). Po skończonym pomiarze wyznaczamy wysokość sygnałów i ze wzoru wyznaczamy nieznaną wartość

Metoda dodatku wzorca

- ▶ Wzorcem jest związek oznaczany
- ▶ Równanie krzywej kalibracyjnej ma przebieg liniowy, a $b = 0$
- ▶ Objętość aplikowanej próbki na kolumnę musi być stała
- ▶ Wykonujemy analizę próbki oraz próbki z dodatkiem wzorca o znanej ilości

$$\begin{cases} h_x = ac_x \\ h_{x+w} = a(c_x + c_w) \end{cases}$$

$$c_x = h_x c_w / (h_{x+w} - h_x)$$



Literatura i źródła

- ▶ *Basic Gas Chromatography*, Second Edition, by Harold M. McNair and James M. Miller; Copyright © **2009** John Wiley & Sons, Inc.
- ▶ Materiały promocyjne producentów

