

7. Povrchová analýza

Inverzní plynová chromatografie



*Příprava předmětu byla podpořena
projektem OPPA č. CZ.2.17/3.1.00/33253*

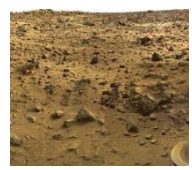


Evropský sociální fond
Praha & EU: Investujeme do vaší budoucnosti

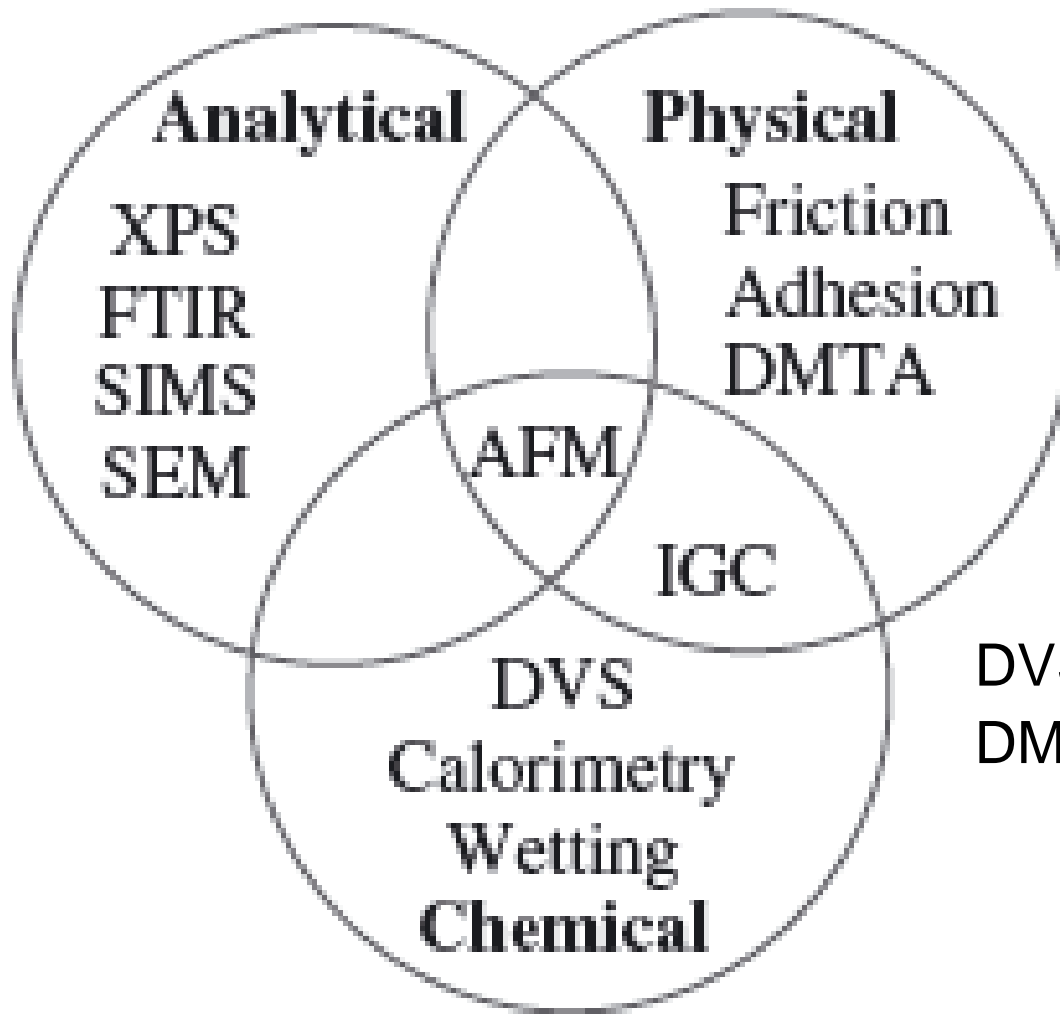


Povrchová analýza

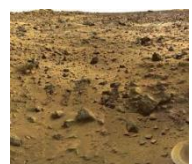
- pro charakterizaci povrchů a chemických vlastností organických materiálů včetně farmaceutických látek se používá řada experimentálních technik: FTIR, Ramanova spektroskopie, ...
- pro charakterizaci povrchu: SIMS (hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů), XPS (fotoelektronová spektroskopie), ...
- tyto techniky poskytují informace o kvalitě, kvantitě a distribuci studovaných látek
- neposkytují ale termodynamické údaje



Povrchová analýza



DVS – dynamická sorpce par
DMTA – dynamicko-mechanická termická analýza



Povrchová analýza

- nejlepší techniky pro studium termodynamických a souvisejících fyzikálně-chemických informací o povrchu využívají páry rozpouštědel jako molekulární sondy pro studium interakcí plyn-pevná látka
- techniky, které využívají molekul ve formě par, mají oproti klasickým metodám řadu výhod:
 - a) vzorek může být studován za reálných podmínek
 - b) molekulární sondy mohou být vybrány přesně dle nároků na požadované informace
 - b) vzhledem k vysoké citlivosti může být zjištěn i velmi malý amorfní obsah přítomný na povrchu studovaných částic
 - c) lze získat jak kinetická, tak termodynamická data

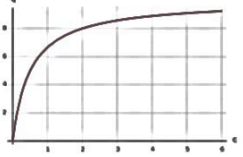


Sorpce par a povrchová analýza

- pro charakterizaci pevných materiálů pomocí sorpce par lze použít dvě hlavní techniky:
 - a) inverzní plynovou chromatografií
 - b) dynamickou sorpcí par



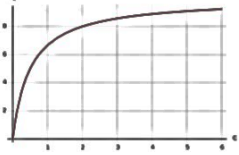
Termodynamika rozhraní



ADSORPCE NA POVRCHU PEVNÁ LÁTKA-PLYN

- molekuly plynu mohou s pevnými látkami interagovat:
 - a) navázáním na povrch (adsorpce)
 - b) adsorpcí a následnou kondenzací v pórech
 - c) rozpouštěním v celém objemu (absorpce)
- adsorpci lze dále rozdělit na:
 - fyzisorpci
 - chemisorpci
- chemisorpce – vznik chemické vazby doprovázené příslušnou změnou entalpie
- fyzisorpce – potřebná energie je stejná jako pro zkapalnění; pro neporézní materiály reverzibilní
- často je složité tyto procesy rozlišit a oddělit

Termodynamika rozhraní



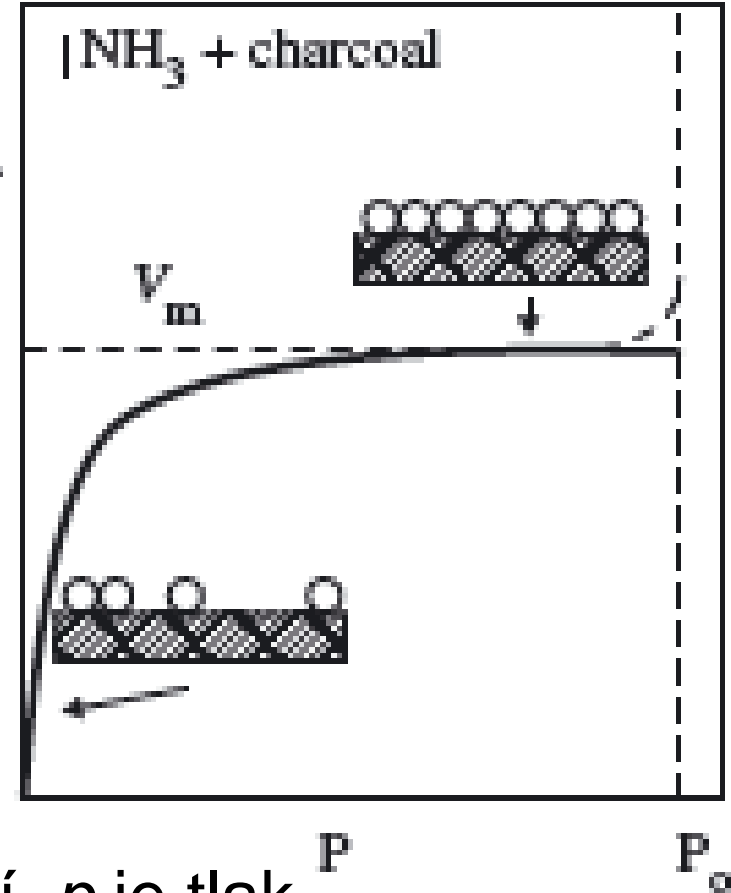
- sorpce zahrnuje adsorpci i absorpci, u amorfních látek nastávají oba děje
- fyzisorpce je spontánně probíhající proces bez vzniku chemické vazby, je založený na van der Waalsových interakcích
- adsorpce je exotermní proces, který je méně preferovaný při vyšších teplotách
- za konstantní teploty závisí na tlaku par
- adsorpce je studována experimentálně změřením množství naadsorbované látky v závislosti na tlaku par (adsorpční izoterma)
- rozeznáváme 5 základních typů izoterem podle termodynamických a adsorpčních mechanismů

Langmuirova izoterma (typ I)

- je charakteristická svým ustáleným stavem
- reprezentuje vznik monovrstvy, rapidní nárůst adsorbovaného množství při počátečním zvýšení tlaku
- adsorbované množství lze odhadnout podle rovnice:

$$\theta_{ABS} = \frac{bp}{1+bp}$$

- kde θ_{ABS} je adsorbované množství, p je tlak, b je Langmuirova adsorpční konstanta



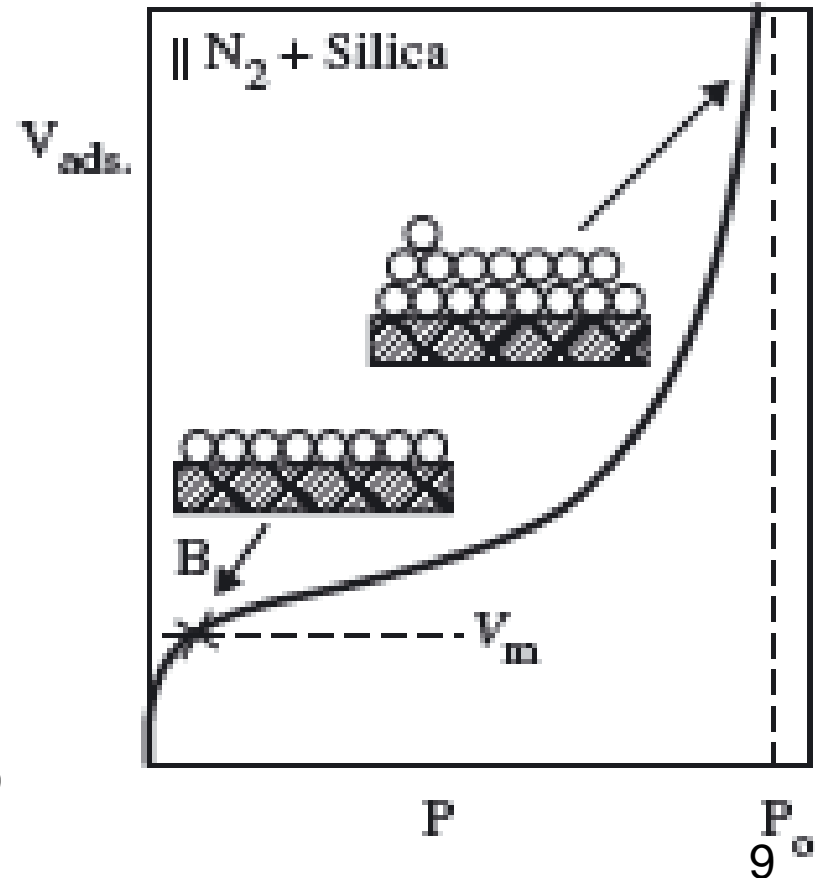
BET izoterma (typ II)

- Brunauer, Emmett, Teller
- typická pro fyzisorpci
- po vzniku monovrstvy dochází za vyššího tlaku ke vzniku mnohovrstvy a v asymptotickém bodě dochází ke zkapalnění této vrstvy

$$\frac{x}{V(1-x)} = \frac{1}{V_m c} + \frac{x(c-1)}{V_m c}$$

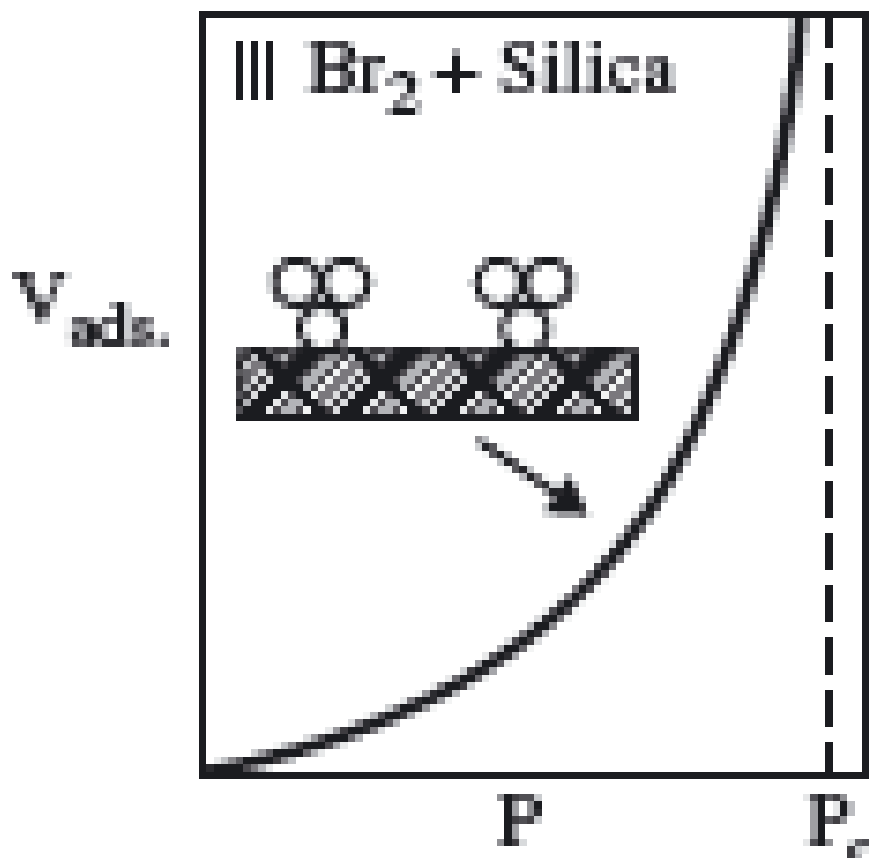
V je objem adsorbované fáze,
 V_m je objem monovrstvy,
 x je relativní tlak (p/p_0),
 c je proměnná vycházející ze série aproximací

- jako adsorbát nelze použít vodu používají se inertní plyny (N_2 , Ar) nebo cyklohexan



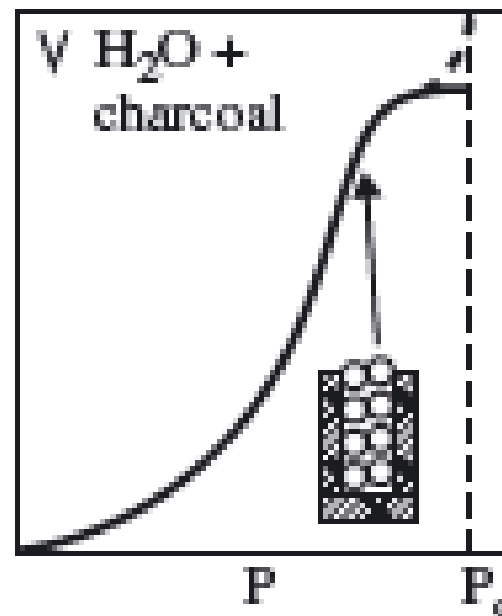
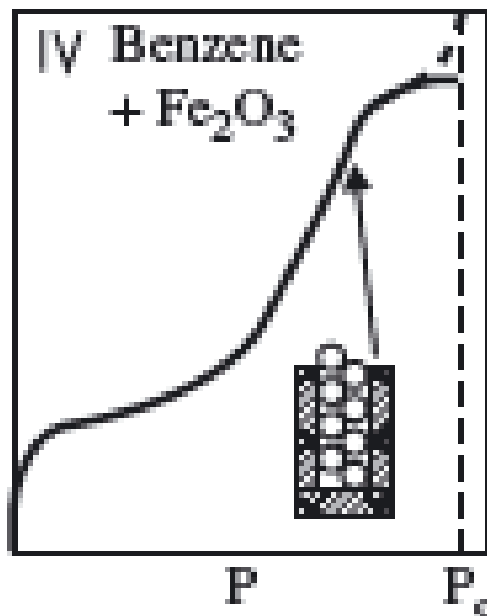
Izoterma III. typu

- síly mezi adsorbentem a adsorbátem jsou slabé
- množství adsorbátu roste až při vyšších tlacích
- nejpomalejší je počáteční iniciace povrchu
- typicky vodní pára na hydrofobním povrchu

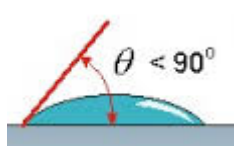


Izoterma IV. a V. typu

- izoterma typu IV a V – kapilární kondenzace
- založené na izotermách II a III
- u těchto izoterm je adsorpční teplo srovnatelné s kondenzačním teplem



- v praxi je často složité určit konkrétní typ adsorpční izotermy, protože reálná izoterma může být složena ze dvou a více typů izoterm



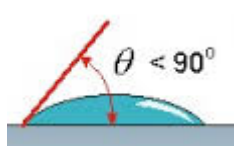
Termodynamika rozhraní

ADSORPCE NA POVRCHU PEVNÁ LÁTKA-KAPALINA

- základním popisem rozhraní je mezifázová energie (γ_{ij}). Vnitřní energii uzavřeného systému lze vyjádřit jako:

$$dU = TdS - pdV + \sum_{i=1}^c \mu_i dN_i + \gamma_{ij} dA$$

U je vnitřní energie, S entropie, p tlak, T teplota, μ_i chemický potenciál příslušné složky, N_i je množství příslušné složky, A je plocha povrchu mezi fázemi, γ_{ij} je mezifázová energie



Termodynamika rozhraní

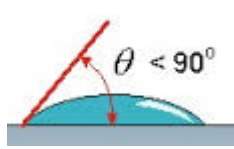
- γ_{ij} je definována jako zvýšení vnitřní energie systému ku zvýšení plochy povrchu mezi fázemi za konstantních podmínek ($S, V, N_i = \text{konst.}$)

$$\gamma_{ij} = \left[\frac{\partial U}{\partial A} \right]_{S, V, N_i} \quad \text{nebo} \quad \gamma_{ij} = \left[\frac{\partial G}{\partial A} \right]_{T, P, N_i}$$

- šíření kapaliny na pevném substrátu je určeno mezifázovou energií a vede ke vzniku nového rozhraní
- každá nově vznikuvší plocha kapaliny A_i vede k zániku plochy pevné látky A_j
- spontánní šíření ($S_{i/j}$) kapaliny i na substrátu j je dáno rovnicí:

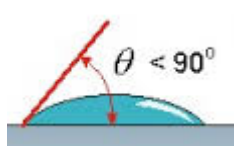
$$- \left[\frac{\partial G}{\partial A_i} \right]_{T, P} = S_{i/j} = \gamma_j - \gamma_i - \gamma_{ij}$$

- kladné $S_{i/j}$ odpovídá spontánnímu šíření kapaliny



Termodynamika rozhraní

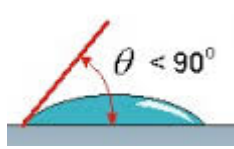
- ve většině případů neprobíhá šíření kapaliny na substrátu kontinuálně
- kapky kapaliny mohou dosáhnout termodynamické rovnováhy
- v rovnovážném stavu je možné změřit kontaktní úhel θ
- kohezní práce odpovídá práci potřebné k vytvoření nového povrchu
- přímé mechanické měření je ale zdlouhavé a výsledky se mohou lišit až o několik řádů
- měřením kontaktních úhlů za použití různých smáčedel však lze daný povrch poměrně snadno a rychle charakterizovat



Povrchová energie

Youngova rovnice

- kapky kapaliny na ideálně hladkém, rovném, isotropickém, rigidním a nedeformovatelném povrchu v termodynamické rovnováze se svými vlastními parametry mají unikátní profil
- tato skutečnost byla poprvé popsána Thomasem Youngem v roce 1805
- na rozhraní pevná látka-kapalina-plyn je kontaktní úhel θ_e definován jako úhel tangenty rozhraní kapaliny-pára
- pomocí tohoto úhlu lze vyjádřit povrchovou energii pevných látek

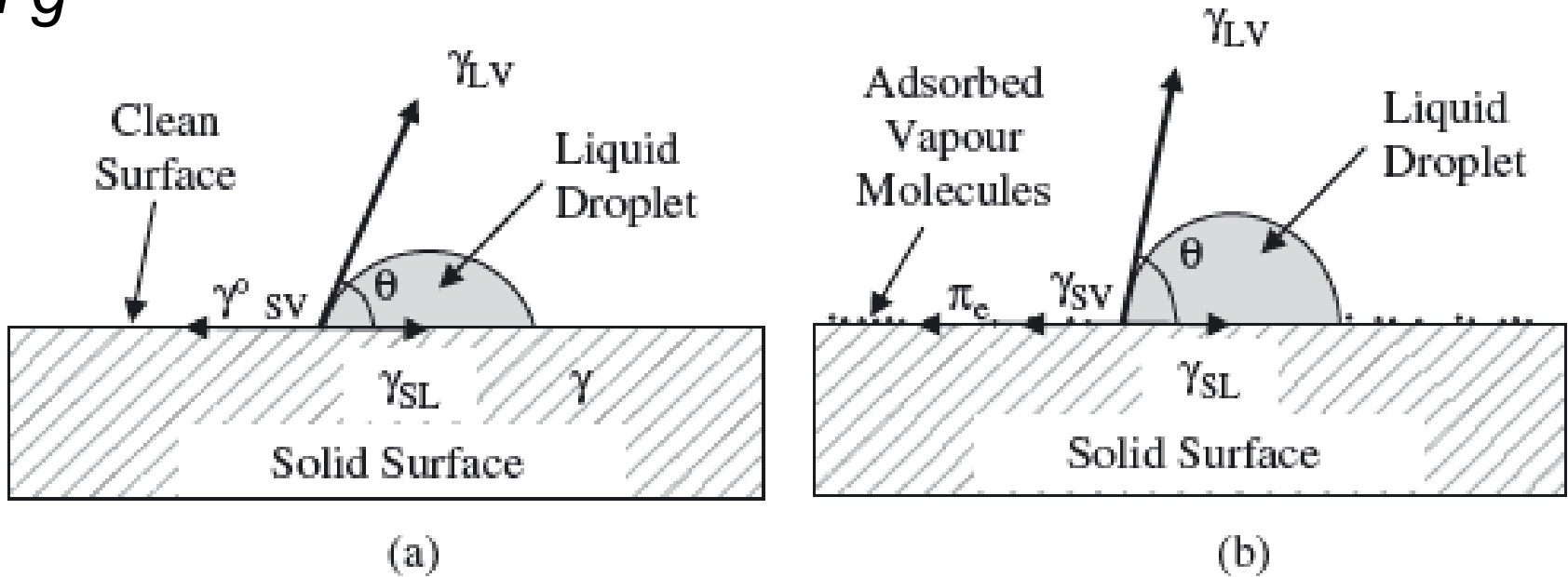


Povrchová energie

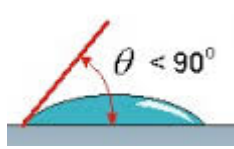
- Youngova rovnice může být zapsána v následujícím tvaru:

$$\gamma_{SV}^{\circ} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cdot \cos\theta_e ,$$

kde γ_{SV}° , γ_{SL} a γ_{LV} jsou energie mezi rozhraním s-g, s-l a l-g



Rovnovážný kontaktní úhel a) na povrchu, b) na povrchu s adsorbovanými molekulami plynu

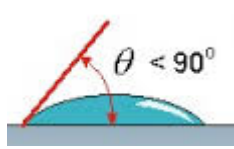


Povrchová energie

- kapky kapaliny s vyšší povrchovou tenzí mají vyšší kontaktní úhel
- v případě úplného pokrytí povrchu kapalinou je kontaktní úhel nulový
- pro analýzu povrchové energie existují dva protikladné přístupy
- první je Fowkesův předpoklad, že povrchovou energii pevných látek lze vyjádřit jako součet povrchových energií jednotlivých komponent v závislosti na specifickém typu intramolekulárních sil

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SV}^d + \gamma_{SV}^h + \gamma_{SV}^{dp} + \gamma_{SV}^i + \gamma_{SV}^m = \gamma_{SV}^d + \gamma_{SV}^{nd}$$

- povrchová energie je tedy dána součtem disperzních (Londonovy, d) a nedisperzních (nd) interakcí
- nedisperzní interakce zahrnují vodíkové (h), dipól-dipól (dp), indukované (i) a kovové (m)



Povrchová energie

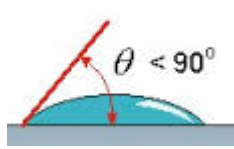
- pro molekuly, mezi nimiž působí pouze disperzní síly platí:

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} + \gamma_{LV} - \sqrt{\gamma_{SV}\gamma_{LV}}$$

- dosazením do Youngovy rovnice lze vyjádřit kontaktní úhel:

$$\cos\theta_e = 2\sqrt{\gamma_{SV}} \frac{1}{\sqrt{\gamma_{LV}}} - 1$$

- zahrnutí nedisperzních interakcí je mnohem složitější a vyžaduje řadu aproximací
- největší problémy jsou s vodou a jejím amfoterním chováním



Povrchová energie

- v přímém kontrastu s přístupem sčítání jednotlivých komponent je Neumannova metoda, která vychází z termodynamicky rovnovážných stavů a předpokládá, že kontaktní úhel je čistě funkcí dvou proměnných: povrchového napětí měřené kapaliny a povrchové energie pevné látky

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} + \gamma_{LV} - 2 \cdot \sqrt{\frac{\gamma_{SV}}{\gamma_{LV}}} \cdot e^{-\beta(\gamma_{LV} - \gamma_{SV})^2}$$

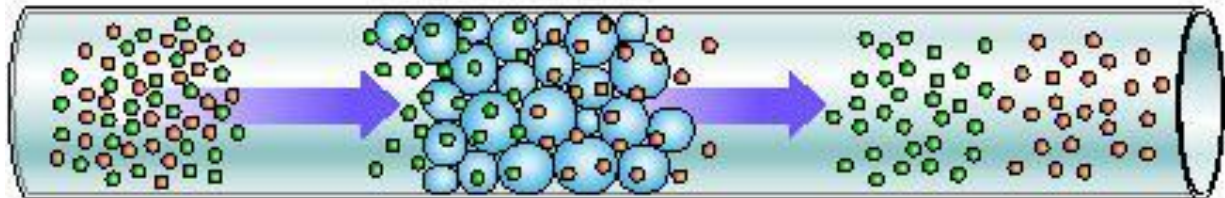
β je empirická konstanta

- výsledná rovnice umožňuje vypočítat povrchovou energii z měření kontaktního úhlu, nicméně tento přístup neumožňuje vypočítat dodatečné informace o chemickém složení pevné látky

Inverzní plynová chromatografie (IGC)

- je inverzní podobou klasické plynové chromatografie
- v IGC je kolona naplněna „neznámým“ (zkoumaným) pevným vzorkem a páry o známém složení (molekulární sondy) jsou dávkovány do proudu nosného plynu

ANALYTICAL GAS CHROMATOGRAPHY



Sample gas pulse

Standard analytical column packing

Separated sample peaks

INVERSE GAS CHROMATOGRAPHY (IGC)



Single probe gas pulse

Packed sample (particulate or fibre)

Single peak (Retention time t_R)



Inverzní plynová chromatografie (IGC)

- molekulární sondy interagují s pevným vzorkem, jsou nesený nosným plynem. Jejich retenční vlastnosti jsou sledovány pomocí odezvy detektoru plynového chromatografu. To umožňuje určit retenční objem (V_N) a rozdělovací koeficient pro interakci g - s ($K_S = V_N/W_S$), kde W_S je hmotnost analyzovaného vzorku
- z těchto primárních dat lze určit řadu fyzikálně chemických charakteristik pevné látky, jako např. povrchovou energii, aciditu nebo bazicitu povrchu, difuzní kinetiku, parametry rozpustnosti, heterogenitu povrchu, teplotu fázového přechodu

Teoretické aspekty IGC

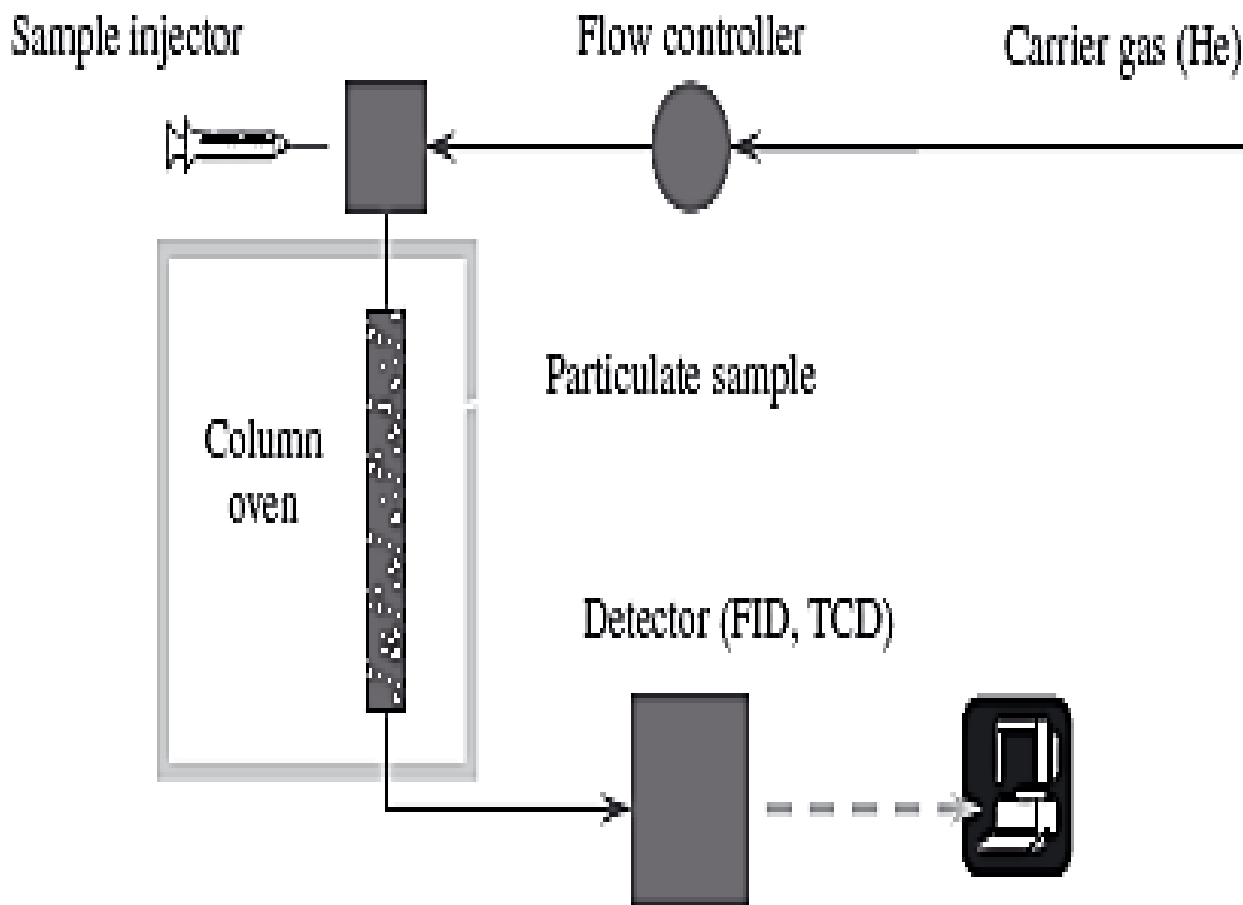


- ve farmacii je tato technika používaná k charakterizaci odchylek při opakovaných přípravách, mletí, krystalů, optických forem, způsobů přípravy a efektu vlhkosti na vlastnosti produktů
- provádí se experimenty s „konečným a nekonečným zředěním“
- v případě experimentu s nekonečným zředěním se nastříkuje malé množství tekutiny a lze hovořit o experimentech s nulovým pokrytím povrchu. Při tomto experimentu se adsorpční izoterma řídí Henryho zákonem a množství adsorbovaných par je lineárně závislé na koncentraci nástríku
- v tomto případě jsou píky symetrické a mají Gaussův profil

Teoretické aspekty IGC



- Henryho zákon není použitelný pro vyšší koncentrace par, kdy se uplatňují se izotermy typu I, II a III



Teoretické aspekty IGC



- z experimentu nekonečného zředění, kdy molekuly plynu vykazují stejné adsorpční chování, lze získat informace o
 - povrchových energiích
 - interakcích kyselin a zásad
 - morfologických a fázových změnách
 - adsorpčních termodynamických datech: entalpii, entropii a Gibbsově energii

Teoretické aspekty IGC



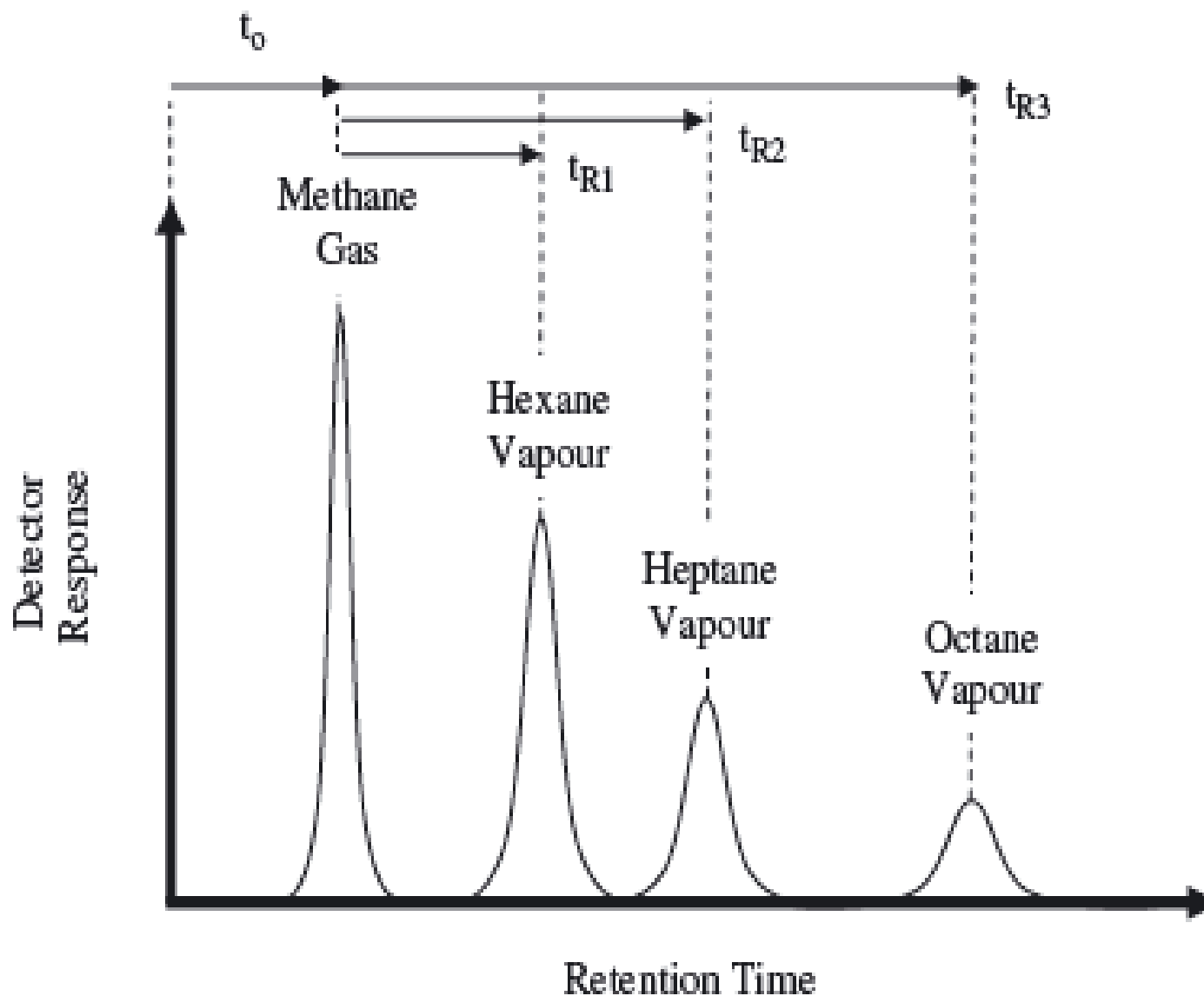
- z experimentu konečného zředění, kdy koncentrace adsorbentu nezávisí lineárně na koncentraci par a uplatňují se jednotlivé izotermy, lze získat informace o
 - typu izotermy
 - kompetitivních adsorpčních jevech
 - povrchových plochách
 - reakcích v plynné fázi, například „titraci povrchu“
 - porozitě
 - rozpustnosti, difuzivitě a permeabilitě

Určení retenčního času



- pro symetrické píky odpovídá t_R danému maximu
- t_R vyjadřuje sílu interakce mezi parami a pevnou látkou, v uvedeném případě vzrůstá retenční čas s délkou řetězce homologů alkenů
- v některých případech heterogenních pevných látek jsou výsledné píky zdeformované (především v případech použití kyselých nebo zásaditých sond). V takovýchto případech se míra nesymetrie píku vyjadřuje poměrem zkosení η .

Určení retenčního času





Určení retenčních objemů

- retenční čas a retenční objem jsou základní termodynamické vlastnosti pomocí kterých lze popsat řadu dalších termodynamických vlastností a předvídat vlastnosti povrchů

$$V_R^o = \frac{j}{m} \cdot F \cdot (t_R - t_o) \cdot \frac{T}{273.15}$$

T – teplota kolony [K], m – hmotnost stacionární fáze

F – průtok nosného plynu na konci kolony měřený za atmosférického tlaku a pokojové teploty

j – Jamesův-Martinův (kompresibilitní) korekční faktor

t_r – retenční čas nadávkovaného plynu

t_o – retence mobilní fáze v koloně (mrtvý čas)



Určení termodynamických vlastností

- retenční objem souvisí s distribucí plynu v pevné fázi (jak na povrchu tak v objemu)

$$V_R^o = K_s A + K_b V$$

K_s a K_b je povrchový a objemový rozdělovací koeficient pro plochu (A) a objem (V) stacionární fáze (= zkoumaná látka)

- pro experiment s nekonečným zředěním může být tato rovnice redukována na tvar

$$V_R^o = K_s A$$



Určení povrchových energií

- Gibbsovu energii adsorpce a související adheze lze vyjádřit z retenčního objemu pomocí následující rovnice

$$-\Delta G^{\circ} = RT \ln V_R^{\circ} + K = N_A \cdot a \cdot W_A$$

kde R je univerzální plynová konstanta

K je konstanta

N_A je Avogadrova konstanta

a je průřez plochy adsorbované molekuly ($= k \cdot (M/\rho)^{2/3}$)

W_A práce vykonaná adhezí molekuly

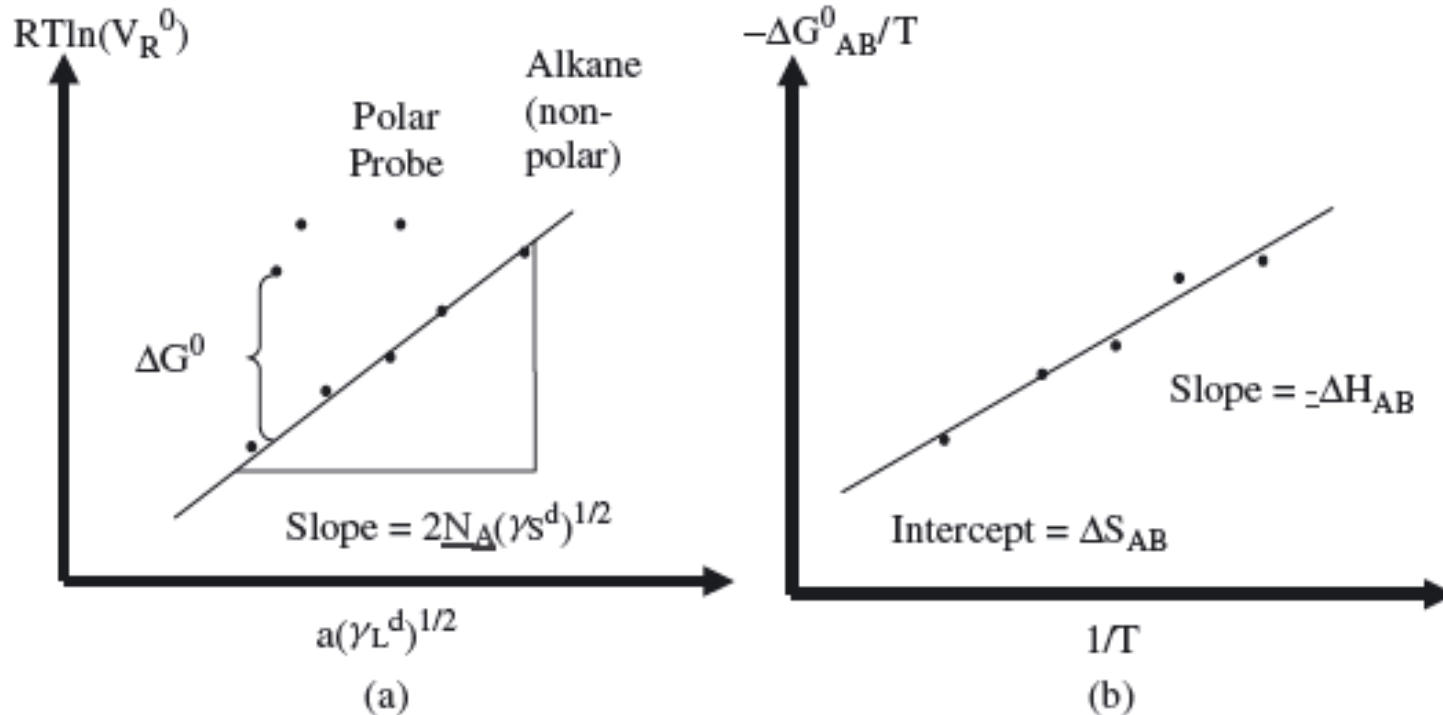
- pokud se jako molekulární sondy použijí nepolární molekuly, lze rovnici přepsat za použití disperzních energií na:

$$RT \ln V_R^{\circ} = 2N_A \cdot a \cdot \sqrt{\gamma_L^d \cdot \gamma_S^d} + K$$

Určení povrchových energií

$$RT \ln V_R^0 = 2N_A \cdot a \cdot \sqrt{\gamma_L^d \cdot \gamma_S^d} + K$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$



- a) retenční objem vs. vlastnosti plynu pro určení disperzní energie povrchu (γ_s^d)
- b) určení entalpie adsorpce (ΔH)

Určení povrchových energií



- při použití polární sondy, jako např. ethanol, je retenční objem složen z disperzních a acidobazických komponent
- ze znalosti disperzní energie plynné sondy lze na základě měření retenčního objemu vynést do grafu disperzní energii povrchu
- rozdíl mezi naměřenou Gibbsovou energií pro polární a nepolární sondu odpovídá energetickému příspěvku acidobazické adsorpce
- měřením za různých teplot lze určit entalpii adsorpce
- specifické interakce polárních sond se známými elektroakceptorními a elektrodonorními čísly se používají pro stanovení acidobazických vlastností pevných látek

IGC technika



- v nekonečném zředění by měla být hodnota povrchové energie nezávislá na experimentálních podmínkách
- IGC může být prováděna za specifických podmínek relativní vlhkosti (RH %) a teploty (T)
- v závislosti na RH % a typu materiálu se mohou jednotlivé příspěvky povrchové energie lišit, až o 10 %. Důvodem je fakt, že se mohou molekuly vody adsorbovat na povrch spolu s polárními molekulami a snižují tak energii adsorpce
- lze sledovat změny povrchu jinými metodami nezjistitelné (např. odlišení různých várek stejného amorfního materiálu, tj. nulová krystalinita, stejná T_g)



Určení vlastností různých krystalických forem

Polymorfy a optické formy

- IGC byla použita pro stanovení různých povrchových vlastností řady krystalických forem
- např. bylo zjištěno, že energie povrchu různých polymorfů se liší, ale potom, co byly krystaly mlety, byly naměřeny stejné hodnoty (vyšší než před mletím), což vypovídá o vzniku amorfní fáze na povrchu
- IGC byla také použita pro studium povrchových vlastností manitolu. Pro zásaditou sondu byla naměřena vyšší energie povrchu pro racemát než pro jednotlivé enantiomery. Výsledky měření byly ověřeny pomocí molekulárního modelování, bylo zjištěno, že koncentrace „kyselých míst“ je vyšší pro racemát, zatímco koncentrace „disperzních míst“ je vyšší pro jednotlivé enantiomery



Určení vlastností řady krystalických forem

Polymorfy a optické formy

- obdobná studie byla pomocí IGC provedena i pro různé formy tokoferolu α , β , γ a δ , které jsou strukturně podobné, ale liší se polohou a počtem methylových substituentů na fenylovém kruhu
- pomocí IGC bylo možné na základě měření polarity, polarizovatelnosti, acidity, bazicity a vodíkových vazeb rozlišit jednotlivé isomery



Amorfní látky a skelný přechod

- IGC byla úspěšně použita pro rozlišení krystalického a amorfního obsahu řady prášků včetně určení jejich teploty skelného přechodu (T_g)
- nejdůležitější aplikací je stanovení amorfních fází, které vznikají při mletí krystalických látek
- amorfní složky vznikají převážně na povrchu, a proto je IGC mnohem vhodnější než jiné metody (RTG, DSC, Ramanova spektroskopie)
- energie povrchu mletých látek je v některých případech dokonce vyšší než 100% čistého amorfního materiálu, tj. je možné zjistit, zda je amorfní fáze přítomná na povrchu nebo v celém objemu vzorku

Amorfy a skelný přechod

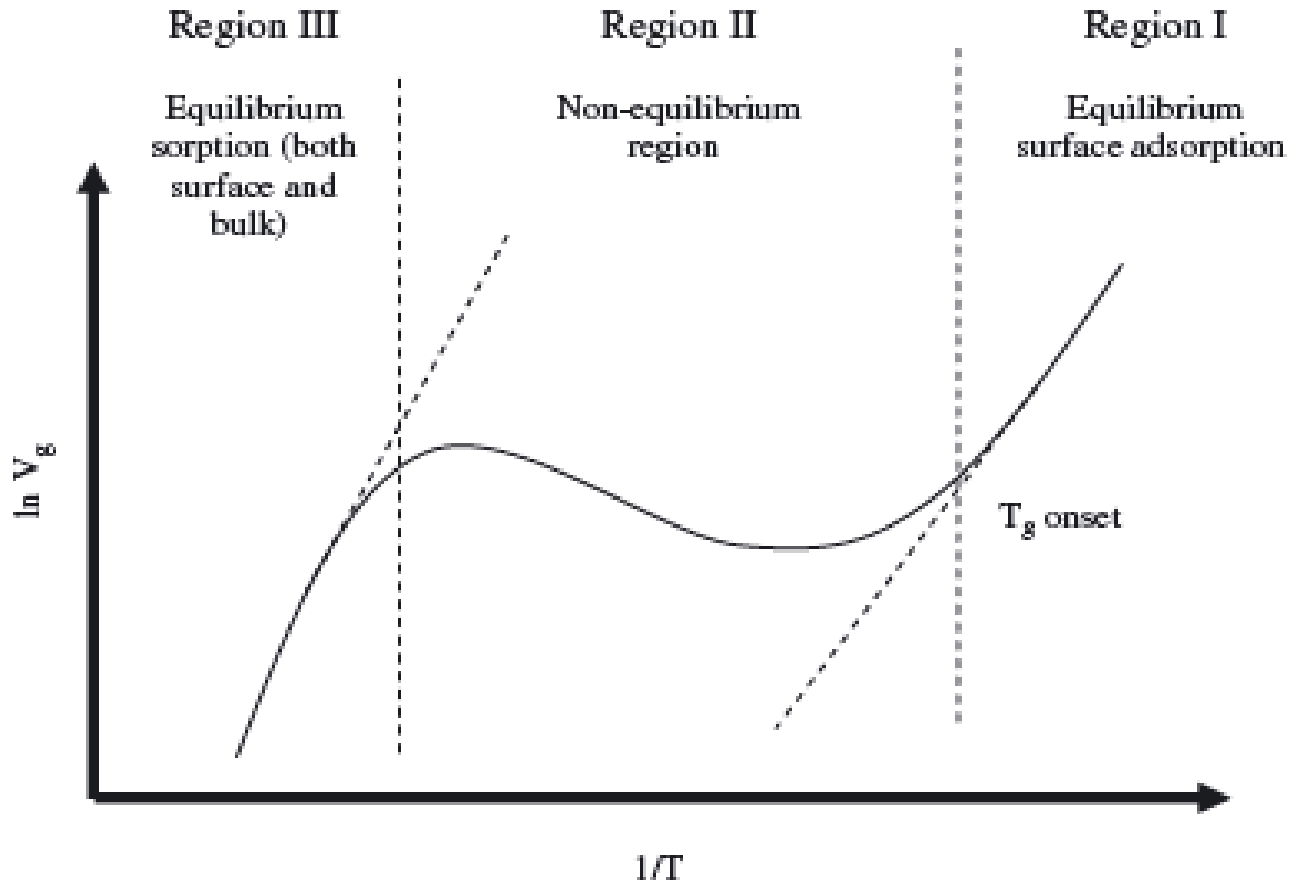


- mleté vzorky salbutamol síranu vykazují vyšší relativní bazicitu než krystalické, což je způsobeno amorfní fází na povrchu krystalů, tj. dochází ke kontaktu většího počtu polárních funkčních skupin (kvůli preferované rovině skluzu krystalové mřížky) s molekulami par
- byly studovány vlivy emulgátorů (lectinu a polyglycerol polyricinolátu) na povrchové vlastnosti sacharózy; pokrytí částic sacharózy (mletých i nemletých) vede ke stejné hodnotě energie povrchu, lze tedy sledovat pokrytí částic



Amorfy a skelný přechod

- pro amorfní materiály je sorpční mechanismus nad a pod teplotou skelného přechodu rozdílný. Při zahřátí vzorku je pozorována teplotní křivka tvaru Z

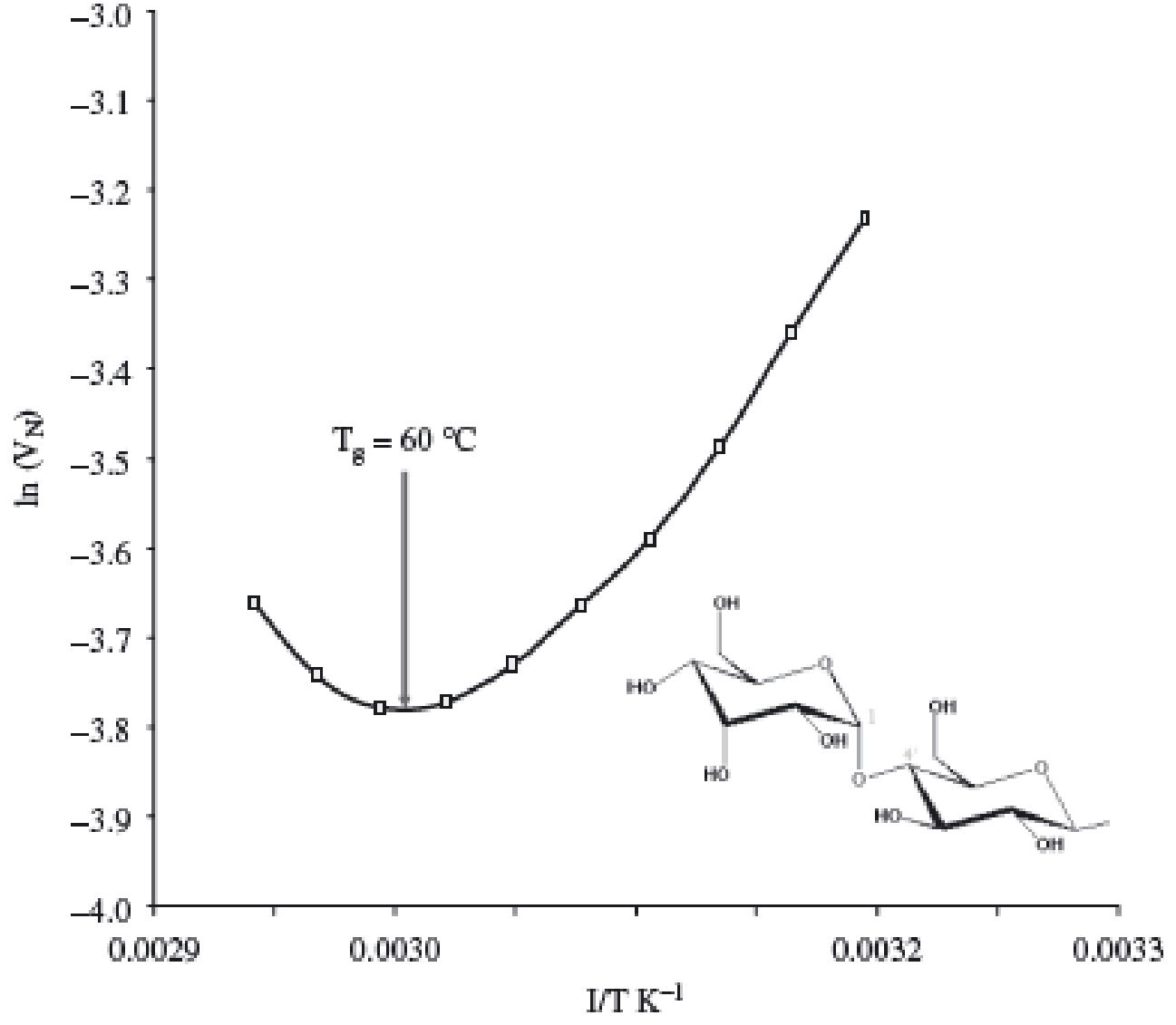


Amorfy a skelný přechod



- v oblasti I převládá adsorpce, v oblasti III objemová sorpce
- v oblasti II se vyskytuje skelný stav spolu se stavem kaučukovitým. Retenční mechanismus je kombinací povrchové adsorpce a objemové sorpce. Odchylka od linearity v oblasti I představuje T_g
- pomocí IGC byly zjištěny T_g řady amorfních látek jako např. sacharózy lyofilizované s PVP nebo indomethacinu. Výsledky byly v dobré shodě s daty získanými pomocí DSC
- výhodou je, že lze provádět měření za definovaných podmínek (rel. vlhkost, teplota) a zjišťovat tak T_g a amorfní obsah v různých prostředích

IGC



Závislost retenčního objemu dekanu na převrácené hodnotě teploty pro stacionární fázi tvořenou částečně amorfni maltózou při 15 % RH 40

IGC



- IGC řeší také některé nevýhody DSC jako je změna rozsahu absorpce vody díky ohřevu vzorku
- malé změny podmínek při výrobě materiálů mohou často vést k výrazné změně výsledných vlastností, zejména povrchových, které lze je obtížně detekovat běžně používanými metodami (XRPD, DSC, Ramanova spektroskopie)
- pomocí IGC byly studovány povrchové vlastnosti paracetamolu, aspirinu a ibuprofenu a výsledky byly srovnány s kapilárními měřeními a metodou přisedlé kapky (viz tabulka)

IGC



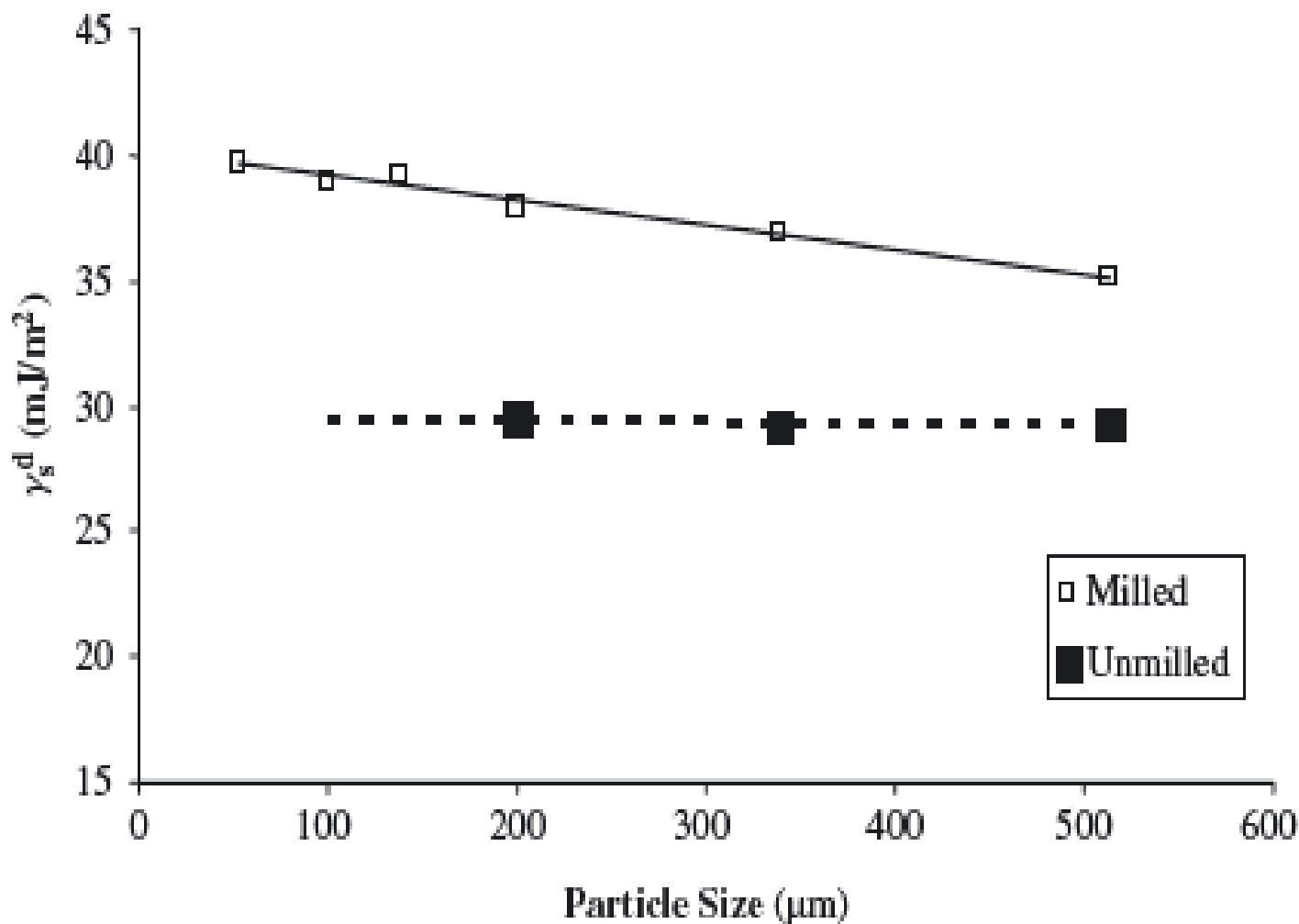
Table 8.2 γ_s^d of paracetamol, aspirin and ibuprofen determined by capillary rise, IGC and contact angle on its preferred cleavage plane

Sample	$\gamma^d(\text{mJ}/\text{m}^2)$		
	<i>Sessile drop*</i>	<i>Capillary rise</i>	<i>IGC</i>
Paracetamol	39.6	40.0	39.9
Aspirin	32.0	–	31.4
Ibuprofen	36.7	32.5	31.6

*Liquid sessile drop contact angle measurement results on weakest attachment energy facet.

- bylo pozorováno zvýšení povrchové energie se zmenšující se velikostí částic z důvodu vzniku amorfní fáze.

IGC



Energie povrchu mletého a nemletého paracetamolu v závislosti na velikosti částic

IGC



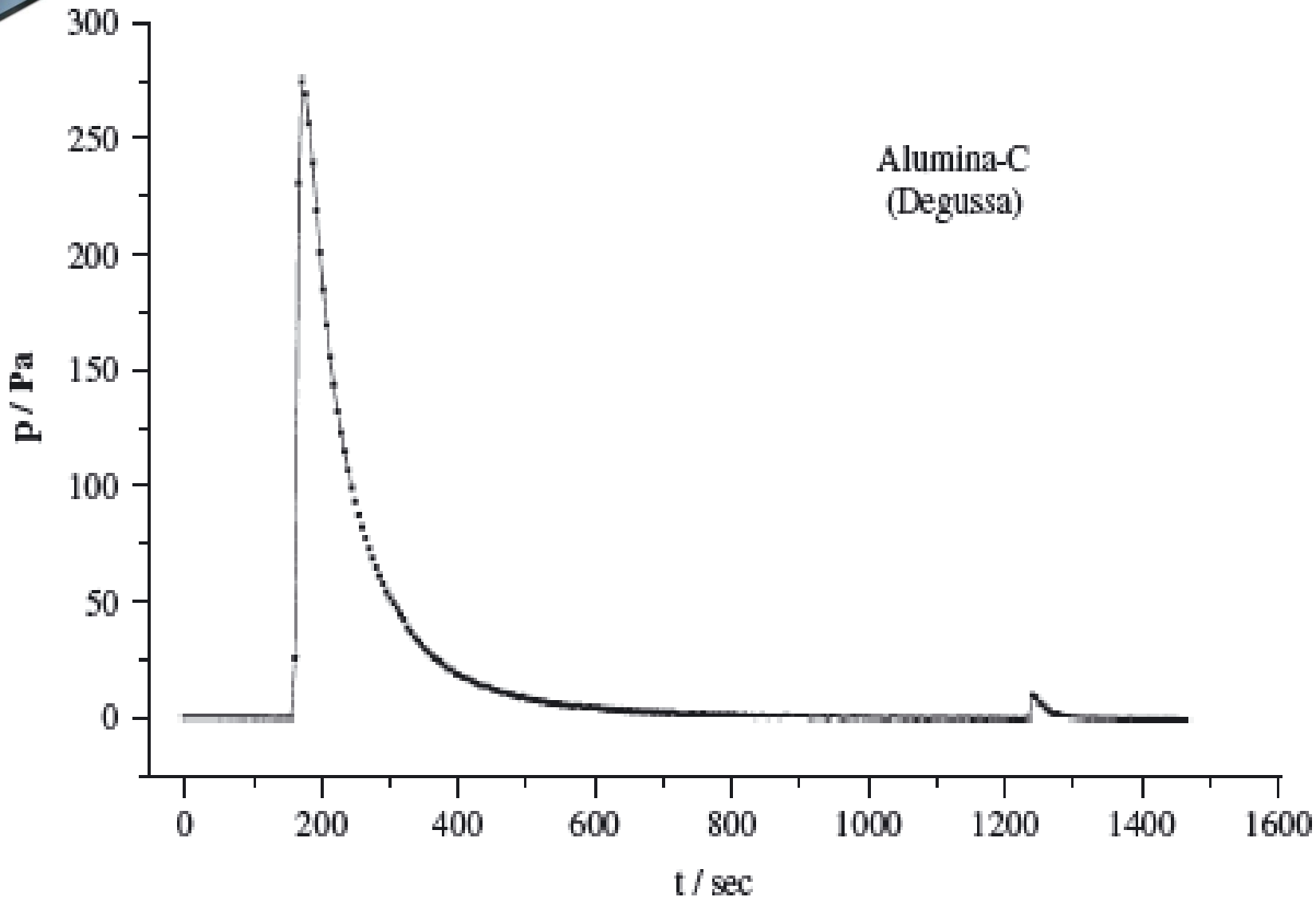
- krystaly mohou mít různé tvary, které jsou ovlivněny rychlostí růstu jednotlivých krystalových rovin nukleačních center
- tvary krystalů lze popsat Millerovými indexy a pozice atomů a chemických skupin ovlivňuje reaktivitu povrchu
- tvar krystalu je často ovlivňován krystalizačním rozpouštědlem, stupněm přesycení roztoku a přítomností příměsí
- jiný tvar krystalů nemusí nutně znamenat nový polymorf
- např. rekrystalizací ibuprofenu v různých nepolárních rozpouštědlech se podařilo získat různé krystalické formy toho léčiva s identickými RTG spektry, ale různými energiemi povrchu a různými acidobazickými vlastnostmi povrchů

IGC



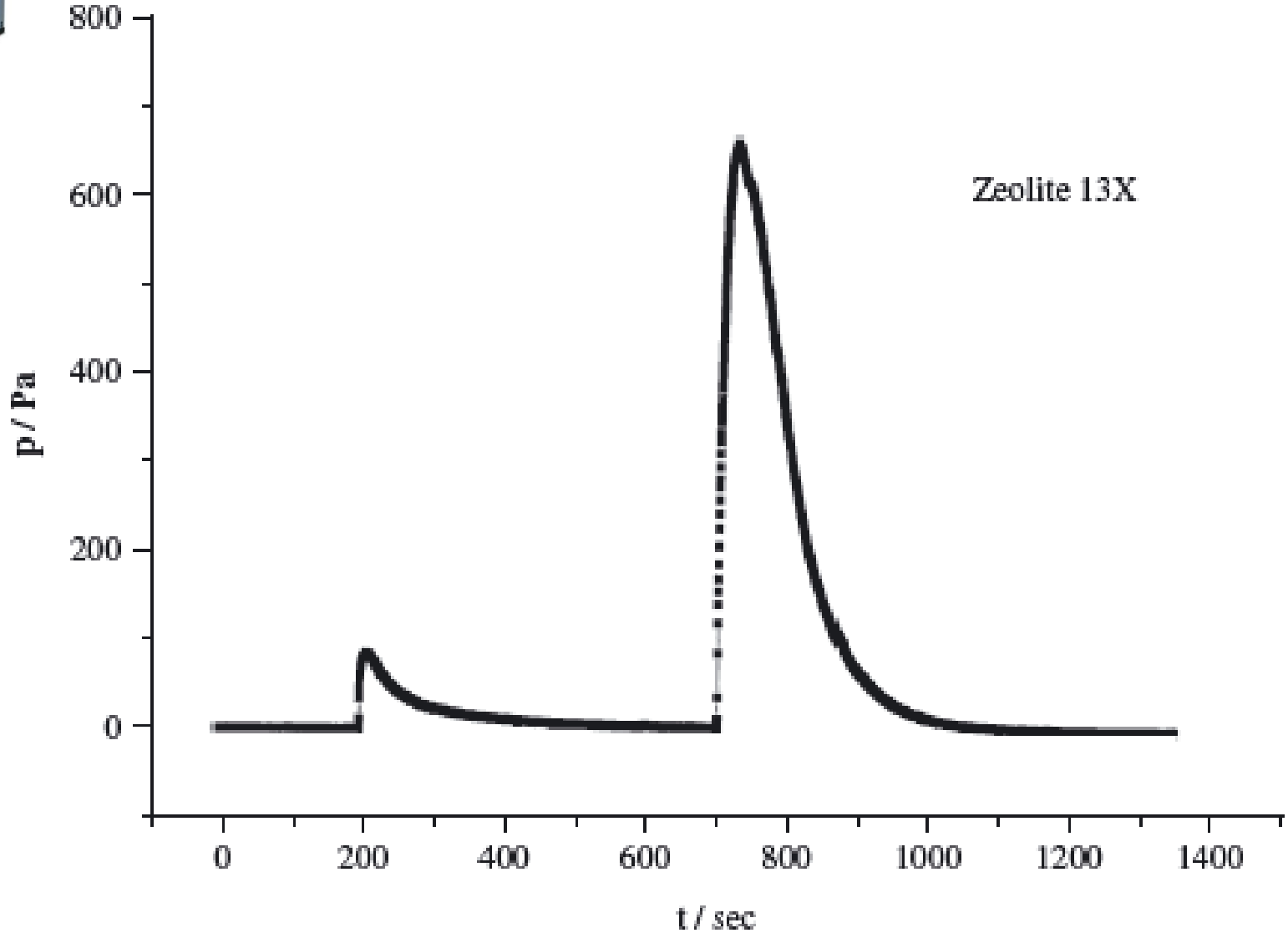
- IGC může být použita pro zjišťování vlastností formulací pro inhalaci suchého prášku (DPI)
- tímto způsobem byla zjišťována *in vitro* účinnost DPI aktivní formy albuterolu a ipatropium bromidu s laktózou monohydrátem, trehalozou nebo manitolem jako nosičem
- v případě různě připravených krystalů téhož léčiva byly zjištěny různé izotermy, ze kterých bylo vypočteno množství potřebné pro monomolekulární pokrytí, teplo adsorpce a kondenzační teplo
- v některých případech je obtížné rozlišit mezi povrchovou adsorpcí a plněním pórů
- adsorpce cyklohexanu byla studována za vyššího tlaku a nižší teploty, při které nastává rychlá desorpce. Protože je povrchová adsorpce a plnění póru založeno na různých mechanismech mající jiné entalpie, je jiný retenční čas známkou jiného mechanismu

IGC



Desorpce cyklohexanu z aluminy C při postupném zvyšování teploty 46

IGC



Desorpce cyklohexanu ze Zeolitu 13X při postupném zvyšování teploty; vyšší čas u Zeolitu 13X je dán jeho vyšší mikro-porozitou 47

Literatura

<https://www.youtube.com/watch?v=VhyMvGiawsQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=d1eFPIOOS40>