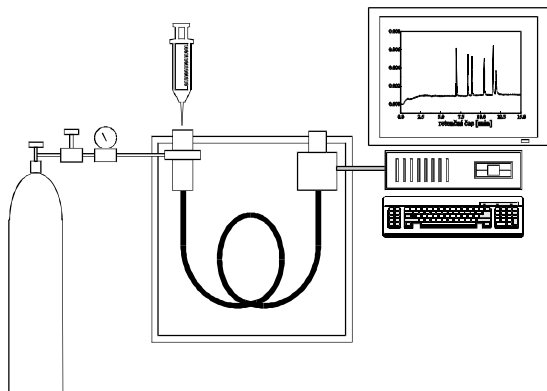


PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE, GC

Plynový CHROMATOGRAF



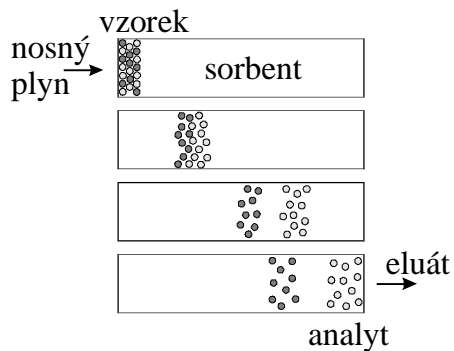
SEPARACE v GC

probíhá v kapilární nebo náplňové koloně, která obsahuje **stacionární** (nepohyblivou) **fázi** (sorbent) a **mobilní** (pohyblivou) **fázi** (nosný plyn, inertní plyn či eluent).

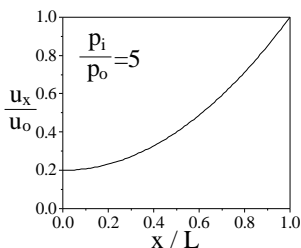
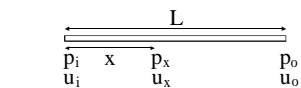
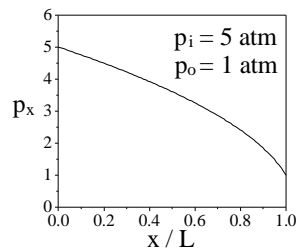
Rozdílné analyty mají rozdílnou **afinitu** k sorbentu.

Různé analyty vykazují různou **distribuci** mezi sorbentem a eluentem nebo **adsorpci** na sorbentu.

Rozdílné analyty jsou rozdílně **zadržovány** a rozdílně **zpožd'ovány** (retardovány).



LINEÁRNÍ RYCHLOST NOSNÉHO PLYNU



KOMPRESIBILNÍ FAKTOR , j

$$j = \frac{3}{2} \cdot \frac{\left(\frac{p_i}{p_o}\right)^2 - 1}{\left(\frac{p_i}{p_o}\right)^3 - 1}$$

p_i tlak na vstupu do kolny
 p_o tlak na výstupu z kolony

průměrná lineární rychlost mobilní fáze

$$\bar{u} = \frac{B_o \cdot \Delta p}{\eta \cdot \varepsilon \cdot L} = \frac{B_o \cdot (p_i - p_o)}{\eta \cdot \varepsilon \cdot L}$$

$$\bar{u} = j \cdot u_o$$

B_o specifická permeabilita kolony [m^2]
 Δp tlakový spád [Pa]
 η dynamická viskozita [Pa s]
 ε vnitřní porozita sorbentu
 L délka kolony [m]

RETENČNÍ OBJEMY v GC

mrtvý retenční objem

$$V_M = t_M \cdot F_m$$

retenční objem

$$V_{R,i} = t_{R,i} \cdot F_m$$

redukovaný retenční objem

$$V'_{R,i} = t'_{R,i} \cdot F_m = V_{R,i} - V_M$$

čistý retenční objem je redukovaný retenční objem korigovaný na stlačitelnost nosného plynu

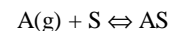
$$V_N = t'_{R,i} \cdot F_m \cdot j = V'_{R,i} \cdot j$$

specifický retenční objem je čistý retenční objem vztažený na 1 g nebo 1 m^2 stacionární fáze a vztažený na 0 °C (tj. 273,15 K)

$$V_g = \frac{273,15 \cdot V_N}{w_L \cdot T_c}$$

$$V_s = \frac{273,15 \cdot V_N}{S \cdot T_c}$$

ADSORPCE



$$K_{D,A} = \frac{(a_A)_{AS}}{(a_A)_g} = \frac{(c_A)_{AS} \cdot (\gamma_A)_{AS}}{(c_A)_g \cdot (\gamma_A)_g}$$

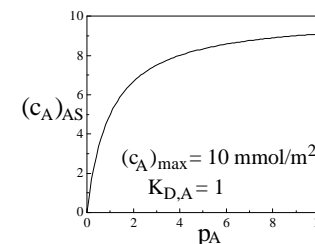
$$(c_A)_{AS} = \frac{K_{D,A}}{R \cdot T} \cdot p_A$$

Henryho adsorpční izoterma

$$(c_A)_{AS} = konst \cdot p_A$$

Langmuirova adsorpční izoterma

$$(c_A)_{AS} = (c_A)_{max} \cdot \frac{K_{D,A} \cdot p_A}{1 + K_{D,A} \cdot p_A}$$



ROZPOUŠTĚNÍ (ABSORPCE)

Raoultův zákon

$$p_B = p_B^0 \cdot x_B$$

p_B parciální tlak složky B nad směsí kapalin

p_B^0 tlak (tenze) nasycených par složky B

x_B molární zlomek složky B v kapalně směsi

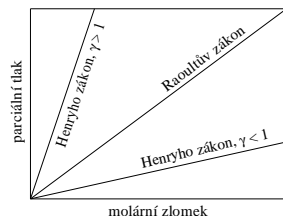
$$p_B = p_B^0 \cdot \gamma_B \cdot x_B$$

$$\gamma_B = \gamma_B(x_B)$$

pokud $x_B \ll 1$, pak γ_B je konstantní a platí

Henryho zákon

$$p_B = H_B \cdot x_B$$



VLIV TEPLOTY NA SEPARACI

teplota nástřikové hlavy, T_{inj}

teplota termostatu kolony, T_c

teplota detektoru, T_d

$$T_c > T_{var}, T_{inj} \geq T_c, T_d > T_c$$

Vyšší teplota kolony vede k rychlejší analýze.

Vyšší teplota kolony vyžaduje vyšší tlak nosného plynu na vstupu do kolony pro zachování jeho lineární rychlosti kolonou.

izotermická analýza, $T_c = konst.$

analýza s **teplotním gradientem**, $T_{c,1} \rightarrow T_{c,2}$

DERIVATIZACE ANALYTU

vede ke snížení jeho bodu varu (T_{var})

kyselina benzoová (249 °C), anilin (184 °C),

benzaniid (117 °C)

derivatizace aminokyseliny

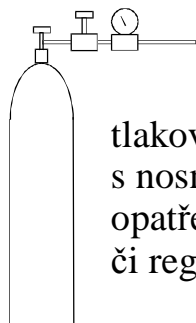
aminokyselina

+ isopropylalkohol \rightarrow isopropylester

+ trifluoracetanhydrid \rightarrow trifluoracetamid

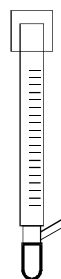
NOSNÝ PLYN

N_2, H_2, He, Ar



tlaková láhev
s nosným plynem
opatřená regulátorem tlaku
či regulátorem průtoku

bublínkový
průtokoměr



DÁVKOVÁNÍ VZORKU

se provádí do nástřikové hlavy opatřené **septem**, která je **vyhřívána** na zvolenou teplotu a **proplachována** nosným plynem

plynné vzorky

injekční stříkačky o objemu 10 až 1000 μ l

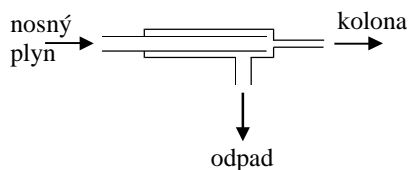
kapalné vzorky

injekční stříkačky o objemu 1 až 100 μ l

tuhé vzorky

roztok ve vhodném rozpouštědle

split/splitless dávkovač



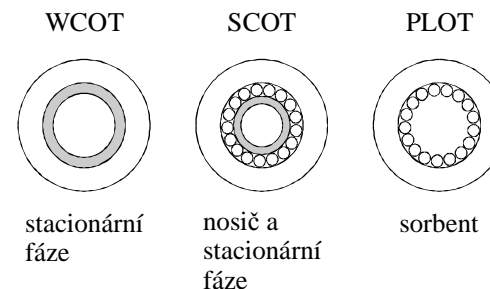
KOLONY

a) náplňové kolony

skleněné nebo z nerezové oceli
o průměru 1 až 6 mm a délce 0,5 až 5 m
s adsorbentem (GSC)
se stacionární fází na inertním nosiči (GLC)

b) kapilární kolony

dříve skleněné nebo z nerezové oceli
dnes výhradně křemenné s polyimidem
o průměru 0,1 až 0,5 mm
o délce 10 až 100 m
WCOT wall coated open tubular
SCOT support coated open tubular
PLOT porous layer open tubular
s chemicky vázanou stacionární fází



ADSORBENTY v GC

aktivní uhlí, grafitizované uhlí

dělení plynů a lehkých uhlovodíků

silikagel

dělení anorganických plynů a nízkovroucích kapalin

molekulová síta (krystalické hlinitokřemičitany)

5A dělení plynů a lehkých uhlovodíků
4A jako sušidla

porézní polymery (vinylbenzenové kopolymery) komerčně tzv. Porapaky

dělení nízkomolekulárních uhlovodíků,
anorganických plynů, alkoholů,
esterů a ketonů

KAPALNÉ STACIONÁRNÍ FÁZE v GC

Carbowaxy (polyethylenglykoly)

Ucony (polypropylenglykoly)

polární stacionární fáze
s rostoucí M_r , klesá polarita

Polyestery (např. polyethylenglykoladipáty,
polypropylenglykoladipáty,
polyethylenglykolsukcináty)

polární stacionární fáze

Silikonové stacionární fáze (polysiloxany)

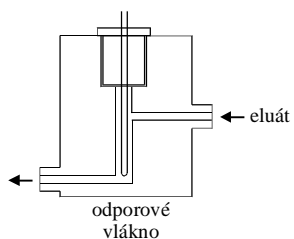
(např. methylpolysiloxan SE-30,
fenylmethylpolysiloxan OV-17,
fenylpolysiloxan SE-54,
kyanopropylpolysiloxan SP-2340)

často používané
široký rozsah polarit

DETEKTORY

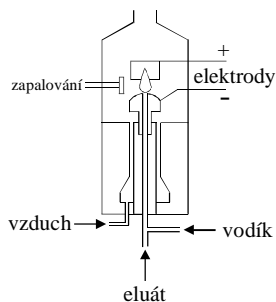
a) tepelně vodivostní detektor, TCD

univerzální, nedestruktivní, středně citlivý

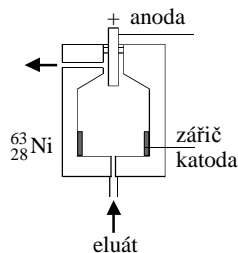


b) plamenový ionizační detektor, FID

selektivní, destruktivní, velmi citlivý



c) detektor elektronového záchytu, ECD
selektivní, nedestruktivní, středně citlivý



d) hmotnostní spektrometr, MS

vysoce specifický, destruktivní, velmi citlivý

TCD : všechny látky lišící se tepelnou
vodivostí od nosného plynu

FID : uhlovodíky

ECD : halogenderiváty (pesticidy) a
nitroderiváty

CHARAKTERIZACE DETEKTORŮ

základní linie, šum a drift, píků

odezva detektoru (signál detektoru), R
diferenciální veličina (výška píku)

$$R = S \cdot c \quad \text{nebo} \quad R = S \cdot \frac{dm}{dt}$$

citlivost detektoru, S

plocha pod eluční křivkou, A

integrální veličina (plocha píku)

$$A = \int_{t_1}^{t_2} R dt = \frac{S}{Mh} \cdot \frac{m}{F_m} \quad \text{nebo} \quad A = \int_{t_1}^{t_2} R dt = S \cdot m$$

časová konstanta, τ ($3\tau \rightarrow 95\%$)

$$R_t = R_\infty \cdot (1 - e^{-t/\tau})$$

lineární dynamický rozsah

$$A = b \cdot c$$

detekční limit, LOD 3σ

limit stanovení, LOS 10σ

ANALYTICKÁ INFORMACE Z CHROMATOGRAMU

RESULTS

Peak	RT(min)	Height	Area	W0.5
1	5.723	1.957	8.872	0.023
2	12.561	5.457	96.121	0.048
3	15.887	2.827	73.266	0.073
4	22.975	0.773	6.001	0.102

kvalitativní informace :

poloha píku - retenční čas
→ retenční faktor - druh látky

(metoda standardů nebo MS detekce)

kvantitativní informace :

plocha píku → množství, koncentrace látky

- metoda vnitřní normalizace
- metoda absolutní kalibrace (kalibrační přímky)
- metoda vnitřního standardu
- metoda standardního přídatku

GC PLYNŮ ze VZDUCHU

kolona : náplňová, z nerezové oceli

6' x 1/8" (183 cm x 3,2 mm)

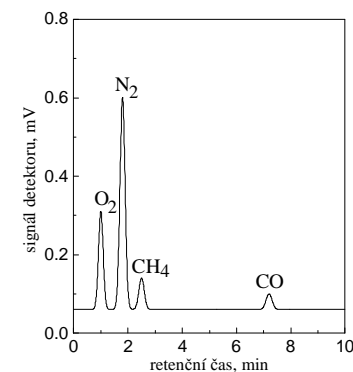
stacionární fáze : molekulové síto 5A

nosný plyn : 30 ml/min He

dávkování : 100 μ l (35 °C)

teplota termostatu kolony : 35 °C

detekce : TCD (140 °C)



GC isopropylesteru FENYLALANINU
(N-TFA)

kolona: křemenná kapilární, 25 m x 0,250 mm
stacionární fáze :

PERMABOND® L-CHIRASIL-VAL

nosný plyn : 1,2 ml/min H₂ (0,6 bar)

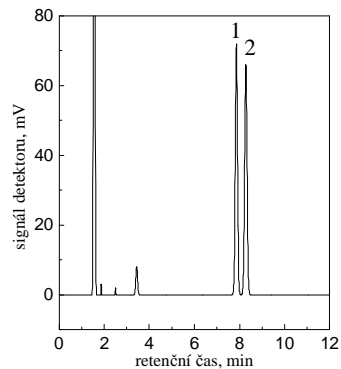
dávkování : 0,5 µl (1% roztok v CH₂Cl₂)

splitter (dělič) : 1:50

teplota termostatu kolony : 150 °C

detekce : FID (260 °C)

1. D-fenylalanin, 2. L-fenylalanin



GC polychlorovaných bifenyľů (PCB)

kolona: FS-SE-54-DF-0,35; 50 m x 0,25 mm ID

stacionární fáze: SE-54 (*fenylpolysiloxan*)

nosný plyn: N₂ (1,2 bar)

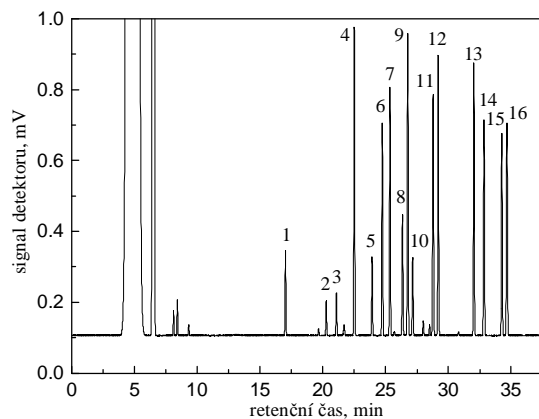
dávkování: 1 µl (200 - 800 pg/µl v CH₂Cl₂)

splitter (dělič): 1:70

teplota kolony: 80 °C → 280 °C, 8 °C/min

detekce : ECD (260 °C)

1. 2-chlorbifenyľ, 2. 4-chlorbifenyľ, 3. 2,2'-dichlorbifenyľ,
4. 2,4-dichlorbifenyľ, 5. 4,4'-dichlorbifenyľ, 6. 3,5,3'-trichlorbifenyľ,
7. 2,4,4'-trichlorbifenyľ, 8. 2,5,2',5'-tetrachlorbifenyľ,
9. 2,4,6,4'-tetrachlorbifenyľ, 10. 3,4,4'-trichlorbifenyľ,
11. 2,3,4,6,2'-pentachlorbifenyľ, 12. 2,3,4,4'-tetrachlorbifenyľ,
13. 2,3,4,5,2'-pentachlorbifenyľ, 14. 2,4,5,2',4',5'-hexachlorbifenyľ,
15. 2,3,4,2',4',5'-hexachlorbifenyľ, 16. 2,3,4,5,2',3'-hexachlorbifenyľ



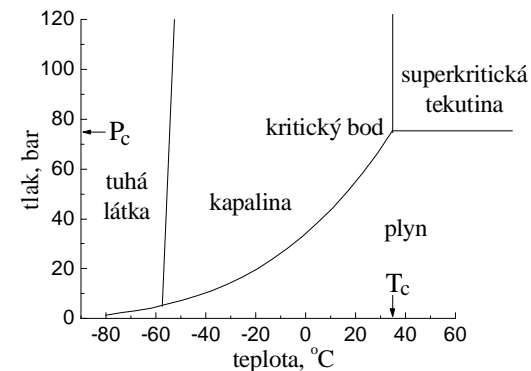
SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE, SFC

mobilní fáze je **superkritická tekutina**

CO₂ : kritická teplota, T_c = 35 °C

kritický tlak, P_c = 75 bar (7,5 MPa)

fázový diagram oxidu uhličitého



oxid uhličitý

40 °C : 72 bar → 0,22 g/ml , 400 bar → 0,96 g/ml

80 °C : 72 bar → 0,14 g/ml , 400 bar → 0,82 g/ml

Hustota a rozpouštěcí schopnost superkritické tekutiny se blíží hustotě a rozpouštěcí schopnosti kapalin. Viskozita superkritické tekutiny se blíží viskozitě plynů.