

Plynová chromatografie

Plynový chromatograf GC

TERMOSTAT

Separace metody 7.4.1996 © Pavel Coufal Plynová chromatografie

Separace v GC

probíhá v kapilární nebo náplňové separační koloně, která obsahuje nepohyblivou fázi (**sorbent**) a 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 **zpožďovány** (retardovány).

Separace metody 7.4.1996 © Pavel Coufal Plynová chromatografie

Lineární rychlost nosného plynu

$p_i = 5 \text{ atm}$
 $p_o = 1 \text{ atm}$

$\frac{p_i}{p_o} = 5$

$\frac{u_x}{u_o}$ vs. $\frac{x}{L}$

$\frac{p_i}{u_i}$ $\frac{p_x}{u_x}$ $\frac{p_o}{u_o}$

Separace metody 7.4.1996 © Pavel Coufal Plynová chromatografie

Kompresibilitní faktor, j

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

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

průměrná lineární rychlost mobilní fáze

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

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

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

Separace metody 7.4.1996 © Pavel Coufal Plynová chromatografie

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)

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

Separace metody 7.4.1996 © Pavel Coufal Plynová chromatografie

Adsorpce

Langmuirova adsorpční izoterma

$$A(g) + S \rightleftharpoons AS$$

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

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

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

Henryho adsorpční izoterma

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

Separace metody 7.4.1996 © Pavel Coufal Plynová chromatografie

Rozpuštění (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 kapalné směsi

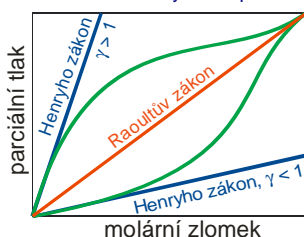
$$p_B = p_B^0 \cdot \gamma_B \cdot x_B$$

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

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

Henryho zákon

$$p_B = H_B \cdot x_B$$



Separace metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Vliv teploty na separaci

teplota nástřikové hlavy, T_{inj}
 teplota termostatu kolony, T_c
 teplota detektoru, T_d

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

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, $T_{c,1} \rightarrow T_{c,2}$

Separace metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Derivatizace analytu

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

kyselina benzoová (249 °C), anilin (184 °C),
 benzanilid (117 °C)

derivatizace aminokyselin

aminokyselina

- + isopropylalkohol → isopropylester
- + trifluoracetanhydrid → trifluoracetamid

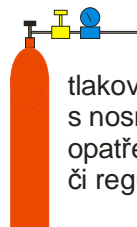
Separace metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

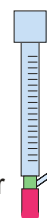
Nosný plyn

N_2 , H_2 , He, Ar



tlaková láhev
 s nosným plynem
 opatřená regulátorem tlaku
 či regulátorem průtoku

bublinkový
 průtokoměr



Separace metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

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

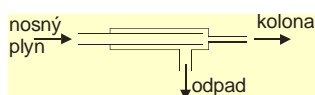
kapalné vzorky

injekční stříkačky o objemu 1 až 100 μ l

tuhé vzorky

roztok ve vhodném rozpouštědle

split/splitless dávkovač



Separace metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

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) nebo 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



Separace metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Adsorbenty v GC

aktivní uhlí, grafitizované uhlí
dělení plynů a lehkých uhlovodíků

silikagel
dělení anorganických plynů a nízkovroucích kapalin

molekulová síta (krystalické hliníkokřemičitany)
5A dělení plynů a lehčích uhlovodíků
4A jako sušidla

porézní polymery (vinylbenzenové kopolymery)
komerčně tzv. Porapaky
dělení nízkomolekulárních uhlovodíků,
anorganických plynů, alkoholů, esterů a ketonů

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

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

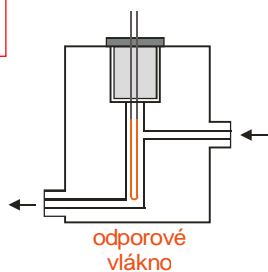
Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Tepelně vodivostní detektor, TCD

univerzální,
nedestruktivní,
středně citlivý



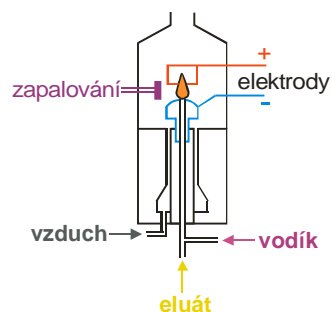
Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Plamenový ionizační detektor, FID

selektivní,
destruktivní,
velmi citlivý



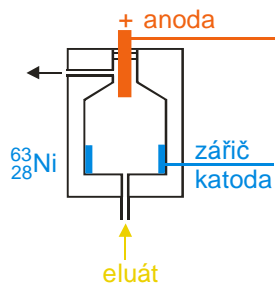
Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Detektor elektronového záchytu, ECD

selektivní,
nedestruktivní,
středně citlivý



Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Detektory pro GC

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
MS:
téměř všechny organické látky

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Charakterizace detektorů

základní linie, šum a drift, pik

odezva detektoru (signál detektoru), R $R = S \cdot c$ $R = S \cdot \frac{dm}{dt}$

diferenciální veličina (výška piku)

citlivost detektoru, S

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

plocha pod eluční křivkou, A

integrální veličina (plocha piku)

$$A = \int_{t_1}^{t_2} R dt = S \cdot m$$

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, LOQ 10σ

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

Analytická informace z chromatogramu

RESULTS

Peak	RT(min)	Height	Area	W50%
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 piku – retenční čas \rightarrow retenční faktor
- druh látky (metoda standardů nebo MS detekce)

kvantitativní informace :

plocha piku \rightarrow množství, koncentrace látky

a) metoda vnitřní normalizace

b) metoda absolutní kalibrace (kalibrační přímky)

c) metoda vnitřního standardu

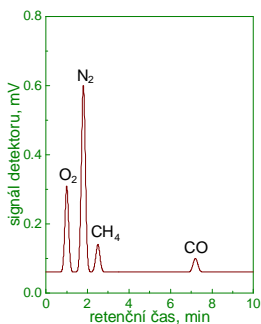
d) metoda standardního přidavku

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

GC plynů ze vzduchu



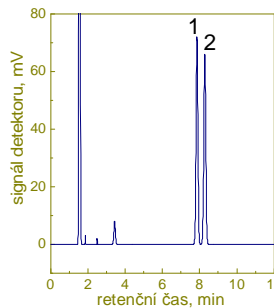
kolona:
náplňová, z nerezové oceli
6' x 1/8" (183 cm x 3,2 mm)
stacionární fáze:
molekulové síto 5A
nosný plyn: 30 ml/min He
dávkování: 100 μ l (35 °C)
teplota termostatu
kolony: 35 °C
detekce: TCD (140 °C)

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

GC isopropylesteru fenylalaninu (N-TFA)



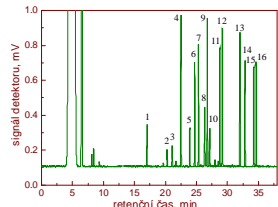
kolona: křemenná kapilární,
25 m x 0,250 mm
stacionární fáze:
PERMABOND® L-CHIRASIL-VAL
nosný plyn:
1,2 ml/min H₂ (0,6 bar)
dávkování: 0,5 μ l
(1% roztok v CH₂Cl₂)
splitter (dělič): 1:50
teplota termostatu
kolony: 150 °C
detekce: FID (260 °C)
1. D-fenylalanin
2. L-fenylalanin

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie

GC polychlorovaných bifenyly (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 μ l
(200 - 800 pg/ μ l v CH₂Cl₂)
splitter (dělič): 1:70
teplota kolony:
80 °C \rightarrow 280 °C, 8 °C/min
detekce: ECD (260 °C)

- 2-chlorbifenylyl, 2, 4-chlorbifenylyl, 3, 2,2'-dichlorbifenylyl,
- 4, 2,4-dichlorbifenylyl, 5, 4,4'-dichlorbifenylyl, 6, 3,5,3'-trichlorbifenylyl,
- 7, 2,4,4'-trichlorbifenylyl, 8, 2,5,2',5'-tetrachlorbifenylyl,
- 9, 2,4,6,4'-tetrachlorbifenylyl, 10, 3,4,4'-trichlorbifenylyl,
- 11, 2,3,4,6,2'-pentachlorbifenylyl, 12, 2,3,4,4'-tetrachlorbifenylyl,
- 13, 2,3,4,5,2'-pentachlorbifenylyl, 14, 2,4,5,2',4',5'-hexachlorbifenylyl,
- 15, 2,3,4,2',4',5'-hexachlorbifenylyl, 16, 2,3,4,5,2',3'-hexachlorbifenylyl

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

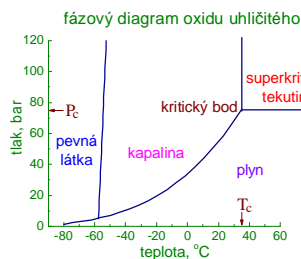
Plynová chromatografie

Superkritická fluidní chromatografie, SFC

mobilitní fáze je **superkritická tekutina**

CO₂: kritická teplota, $T_c = 35$ °C

kritický tlak, $P_c = 75$ bar (7,5 MPa)



oxid uhlíčitý

40 °C: 72 bar \rightarrow 0,22 g/ml
400 bar \rightarrow 0,96 g/ml
80 °C: 72 bar \rightarrow 0,14 g/ml
400 bar \rightarrow 0,82 g/ml

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

Separční metody

7.4.1996 © Pavel Coufal

Plynová chromatografie