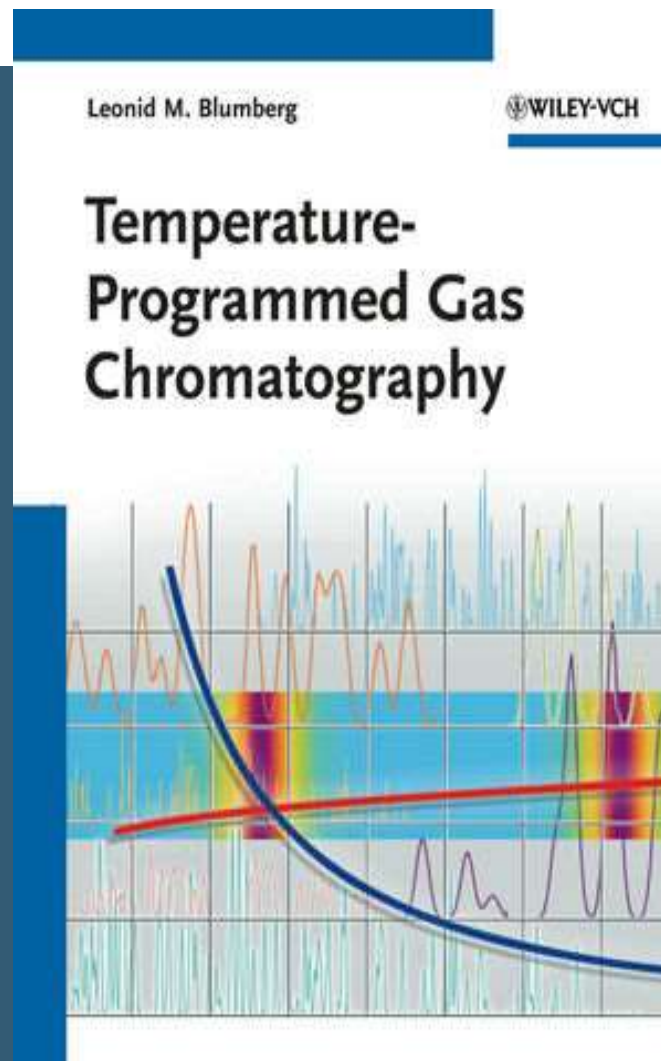
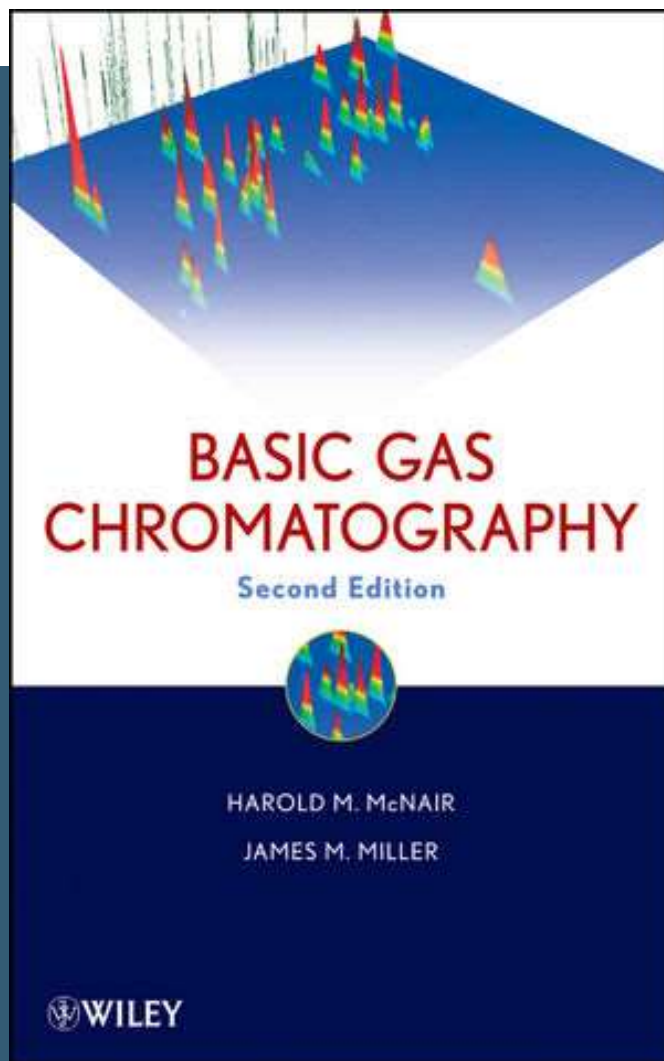


# CHROMATOGRAFICKÉ METODY III.

# APLIKAČNÍ ROZSAH CHROMATOGRRAFIE

Metoda	Přibližný rozsah $M_r$ analytů	Analyzované látky
GC	1- 400	plyny, látky těkavé a teplotně stabilní, po derivatizaci i netěkavé, po pyrolýze i makromolekulární
HPLC	3 -10 <sup>6</sup>	ionty, látky polární i nepolární, nízkomolekulární i polymery
PC, TLC	100 - 2000	ionty, látky polární i nepolární
CE (CZE, CEC, MEKC)	3 -10 <sup>6</sup>	ionty, látky polární i nepolární, nízkomolekulární i polymery

# PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE



# PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

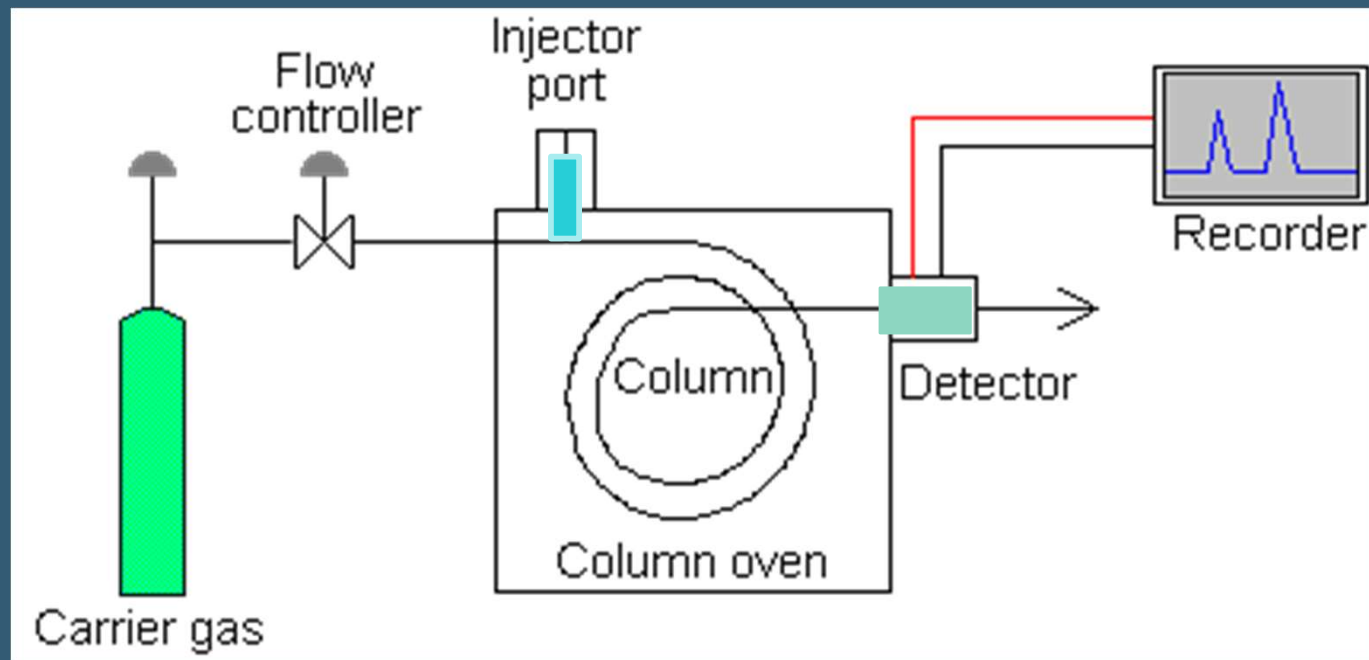
- Mobilní fáze - plyn
- Stacionární fáze - pevná fáze,  
kapalina

# VÝHODY

# NEVÝHODY

- Nižší viskozita mobilní fáze
  - Použitelné je pro těkavé látky
- Rychlejší difuze
  - Látky musí být termostabilní

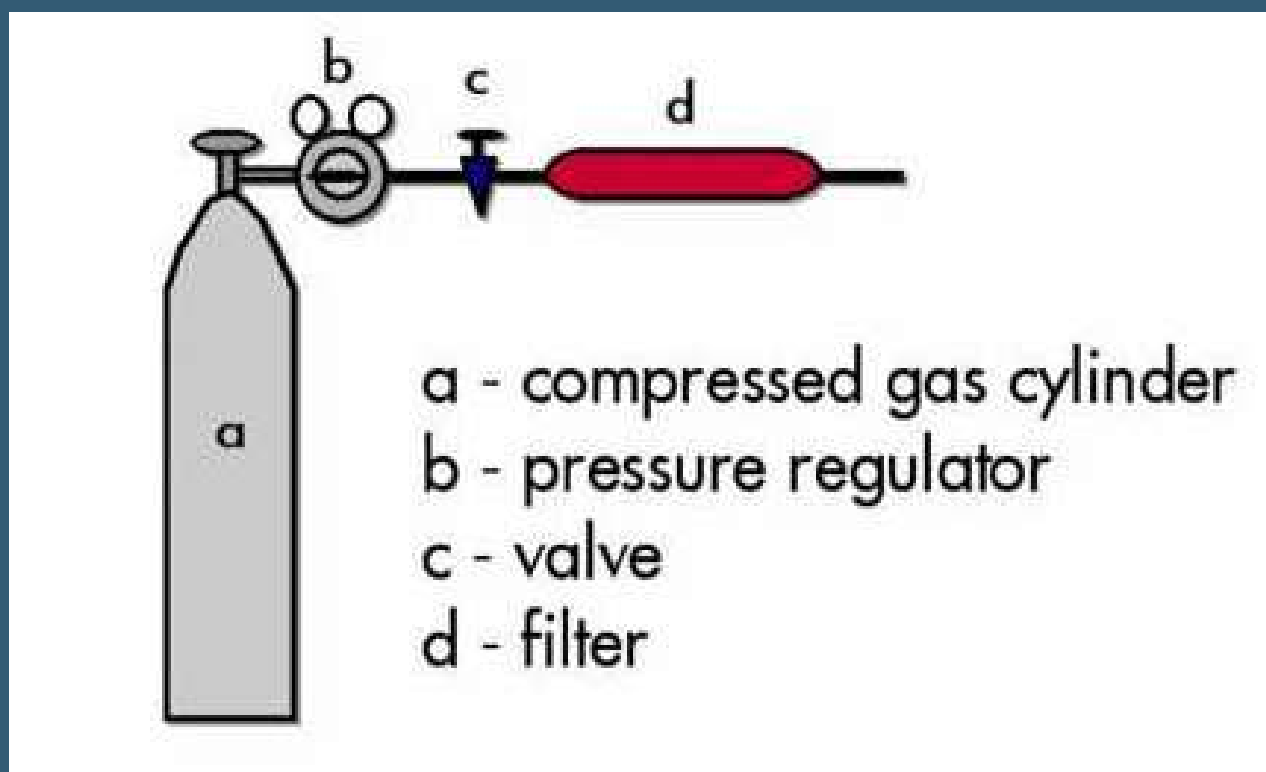
# SCHÉMA PLYNOVÉHO CHROMATOGRAFU



# PLYNOVÝ CHROMATOGRAF



# ZDROJ NOSNÉHO PLYNU

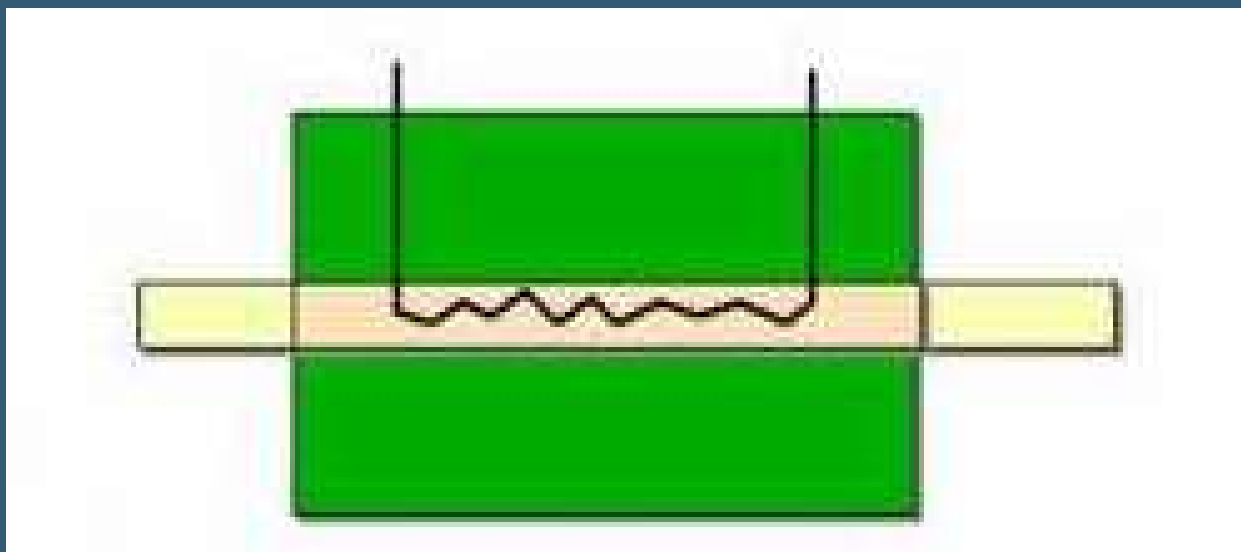


**nosný plyn musí být velmi čistý a suchý**

Filter- trubice s molekulovým sítem odstraňují  $\text{H}_2\text{O}$ ,  
uhlovodíky,  $\text{O}_2$



# ELEKTRICKÉ MĚŘENÍ PRŮTOKU



programovatelné elektronické regulační systémy

řízení rychlost průtoku nosného plynu

(pro získání reprodukovatelných retenčních časů)

náplňové kolony: průtok 10 - 60 ml/min

kapilární kolony: 1 - 2 ml/min, velké nároky na stabilitu

# NOSNÉ PLYNY

Plyn	Výhody	Nevýhody
$N_2$	levný, bezpečná práce	nízká tepelná vodivost
$H_2$	vysoká tepelná vodivost	explosivní
He	inertní	drahý
Ar	inertní	drahý

# PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO GC

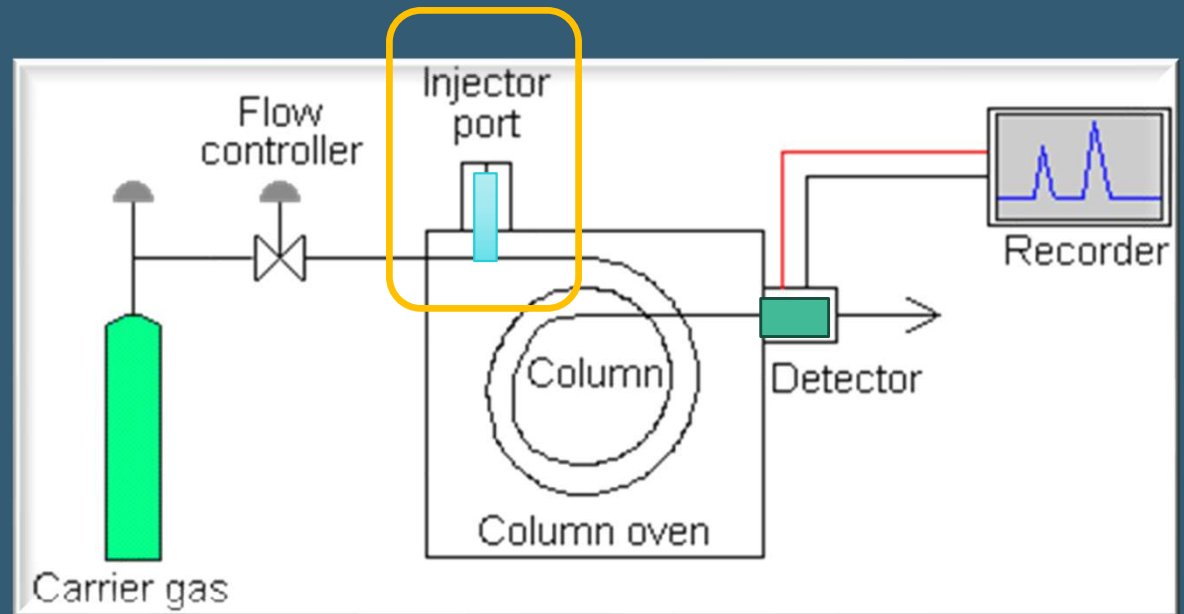
- Plyny, kapaliny - přímo
- Pevné látky - po derivatizaci

# OBJEMY DÁVKOVANÝCH VZORKŮ

- Plyny - 0,5 – 5 ml
- Kapaliny - 0,1 – 10  $\mu$ l

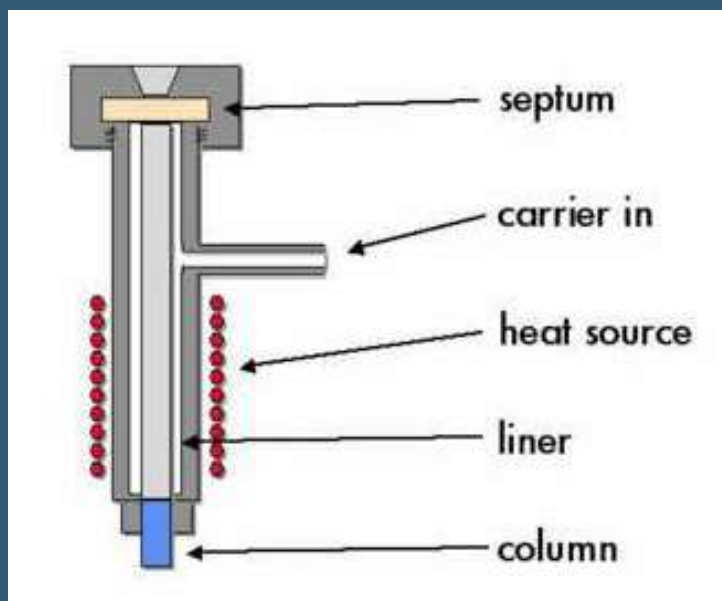
# ZPŮSOBY DÁVKOVANÍ VZORKŮ

- Přes septum
- Ventilem
- Termální desorpcí

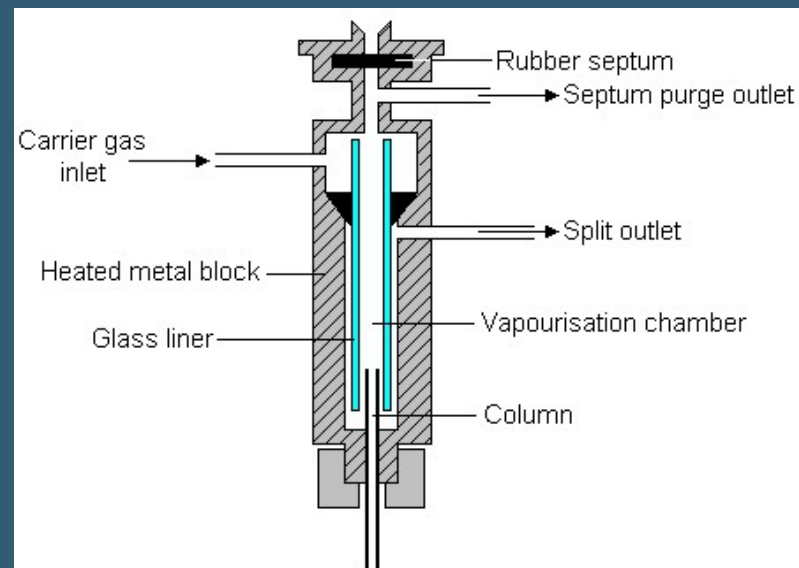


# STŘÍKAČKOU

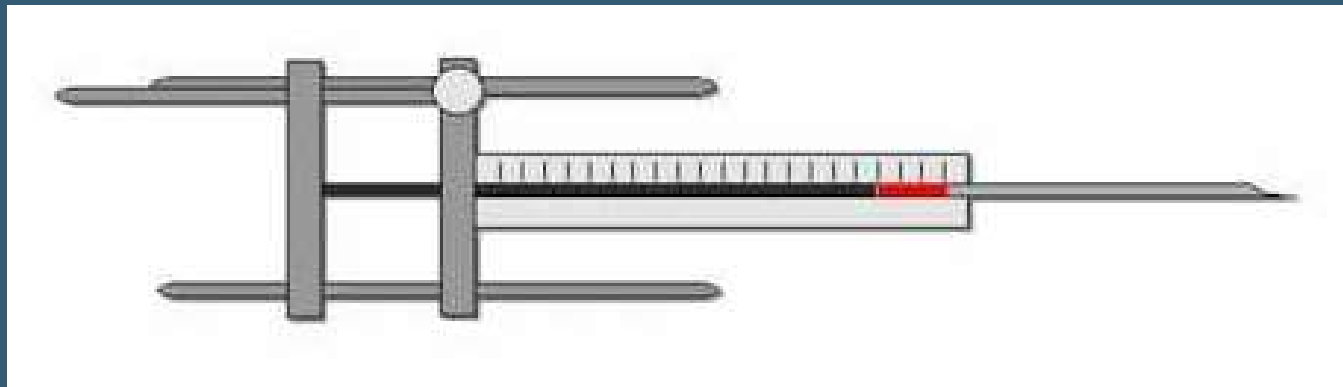
„splitless“



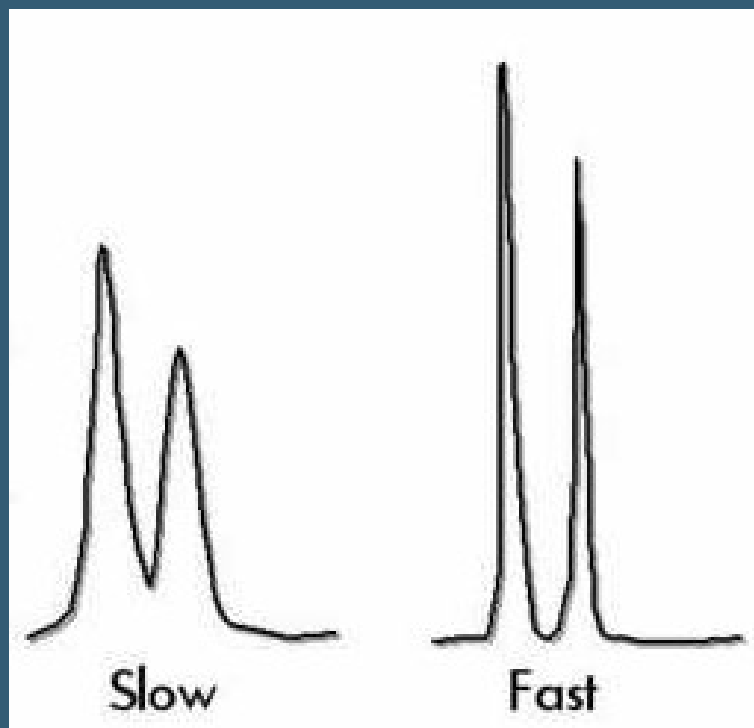
„split“



# DÁVKOVACÍ STŘÍKAČKA

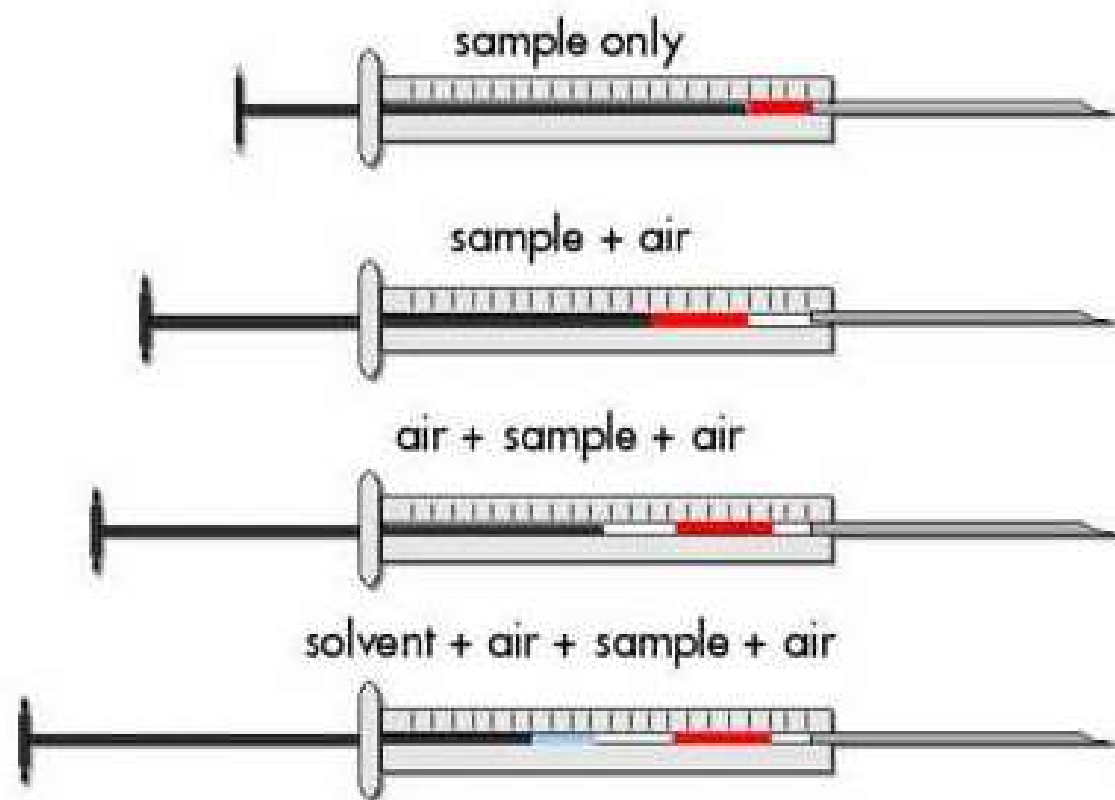


# RYCHLOST DÁVKOVÁNÍ





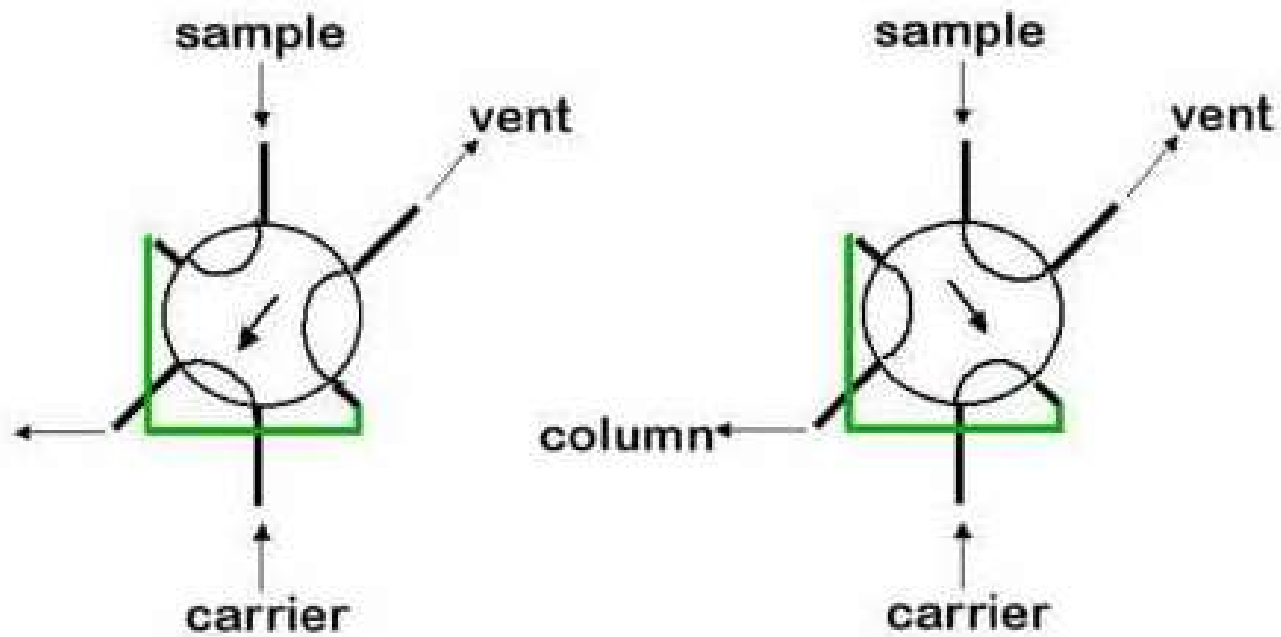
# ZPŮSOB DÁVKOVÁNÍ



# AUTOMATICKÉ DÁVKOVAČE



# VENTILEM



# VENTIL

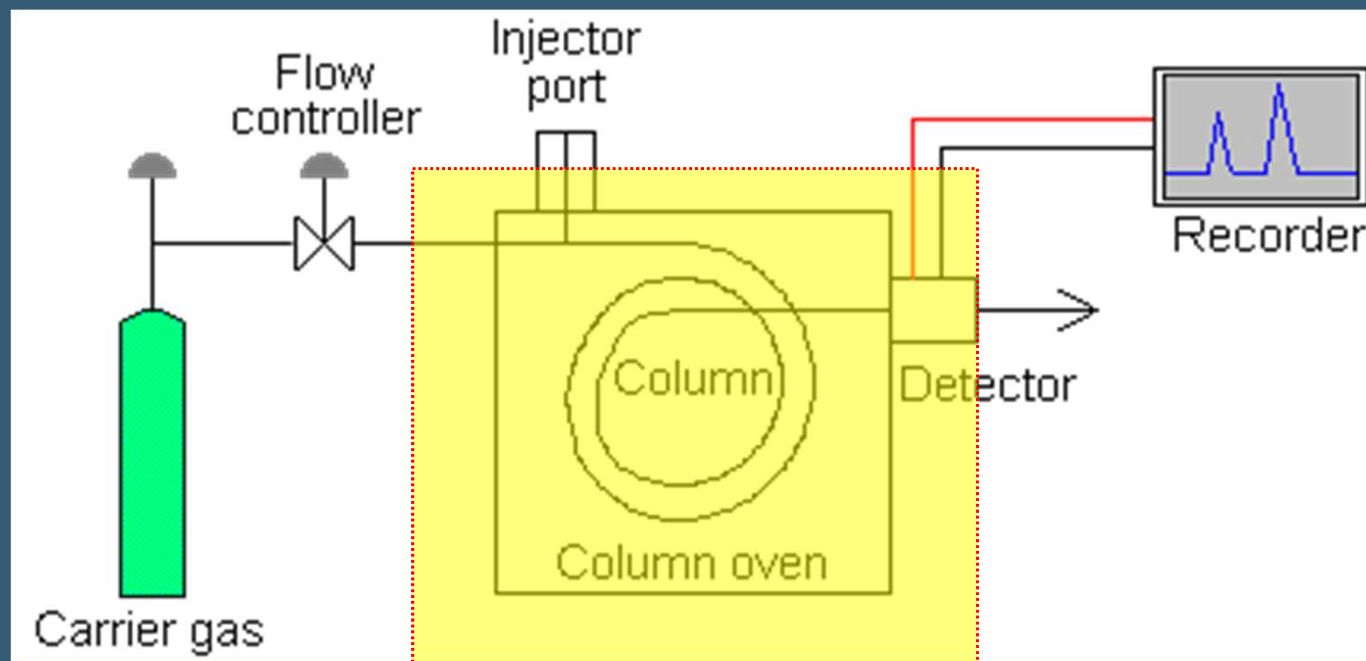


MUNI  
SCI

# DÁVKOVÁNÍ TERMÁLNÍ DESORPCÍ



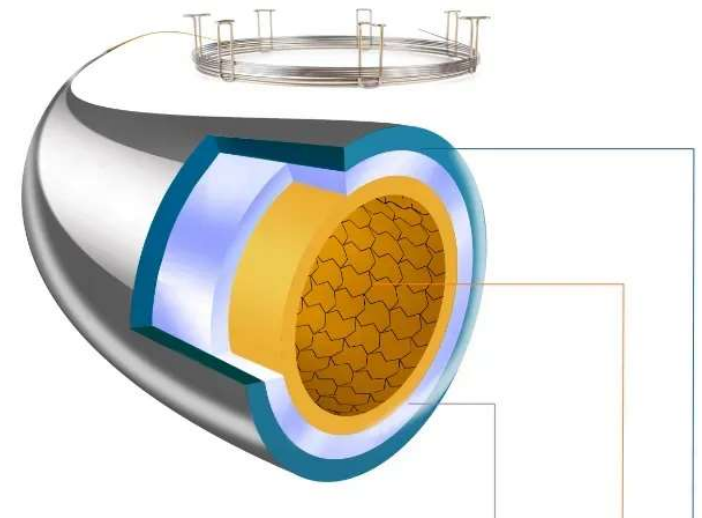
# TERMOSTATOVÁNÍ



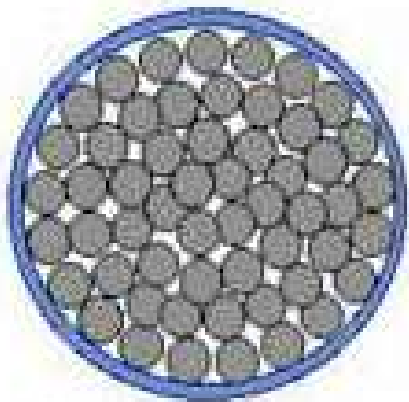
# KOLONY

- Náplňové – 1/4“ OD – ocel, sklo  
délka 1m
- Kapilární – 0,1 – 0,5 mm ID –  
křemen, ocel, sklo  
délka –10 - 100 metrů

# KOLONY



Packed

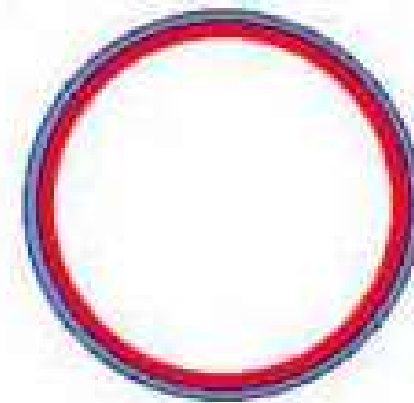


- bead column
- porous layer
- conventional

open (capillary)



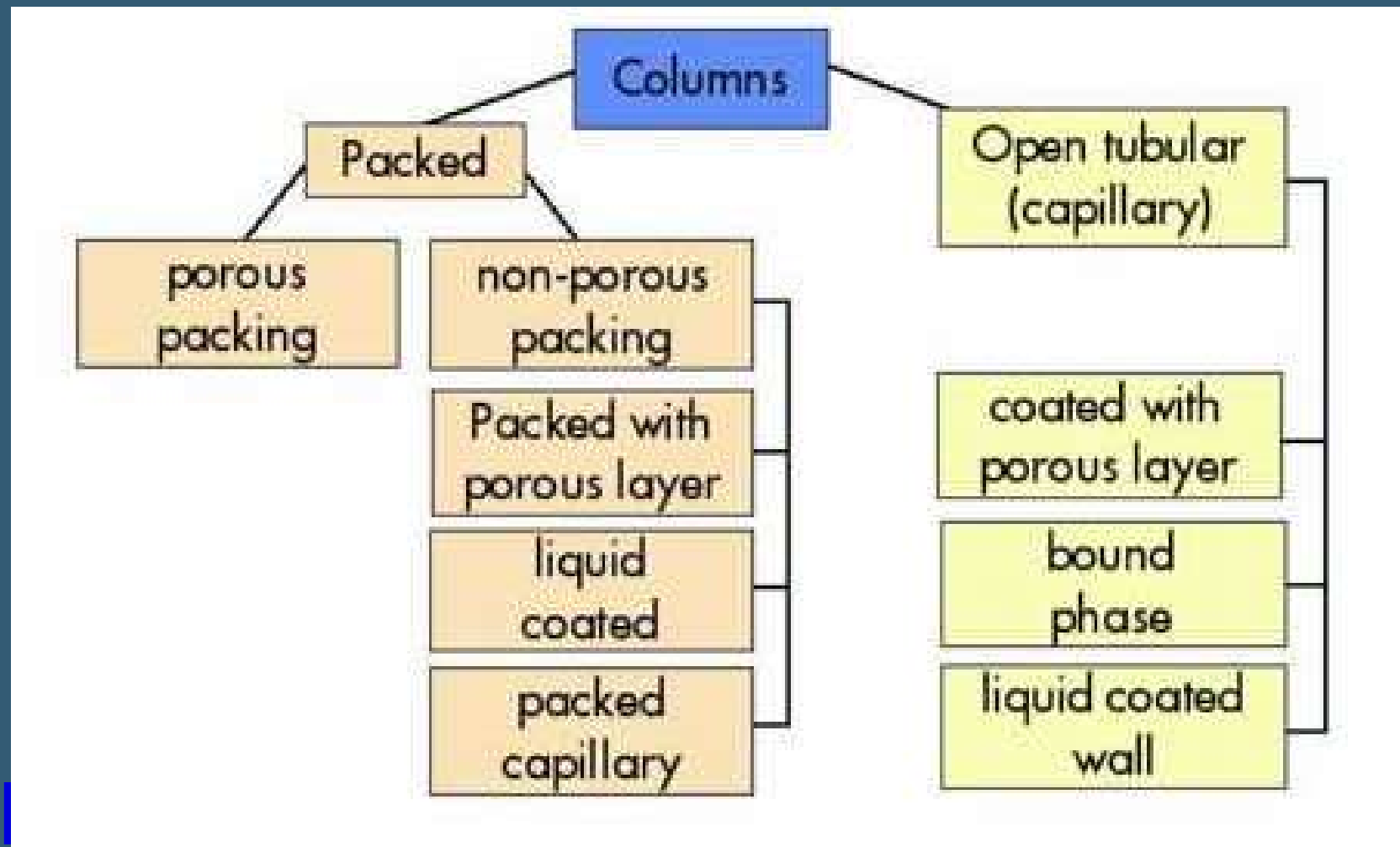
Porous  
Layer  
Open  
Tube



Wall  
Coated  
Open  
Tube



# KOLONY

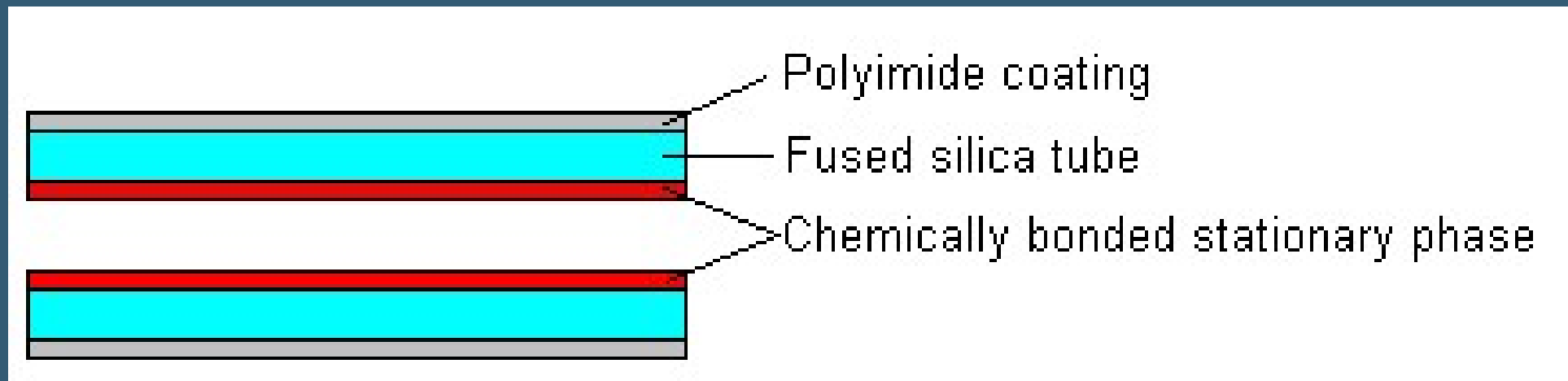


# NÁPLŇOVÁ KOLONA

# KAPILÁRNÍ KOLONA



# KAPILÁRNÍ KOLONA



# PEVNÉ STACIONÁRNÍ FÁZE

Aktivní uhlí, grafitizované uhlí

- dělení plynů a lehkých uhlovodíků

Silikagel

- dělení anorganických plynů a nízkovroucích kapalin

Molekulová síta (krystalické hlinitokřemičitany)

- dělení plynů a lehčích uhlovodíků

Porézní polymery (vinylbenzenové kopolymery)

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

# KAPALNÉ STACIONÁRNÍ FÁZE

Carbowaxy (polyethylenglykoly)

Ucony (polypropylenglykoly)

- polární stacionární fáze, s rostoucí  $M_r$  klesá polarita

Polyestery (např. polyethylenglykoladipáty)

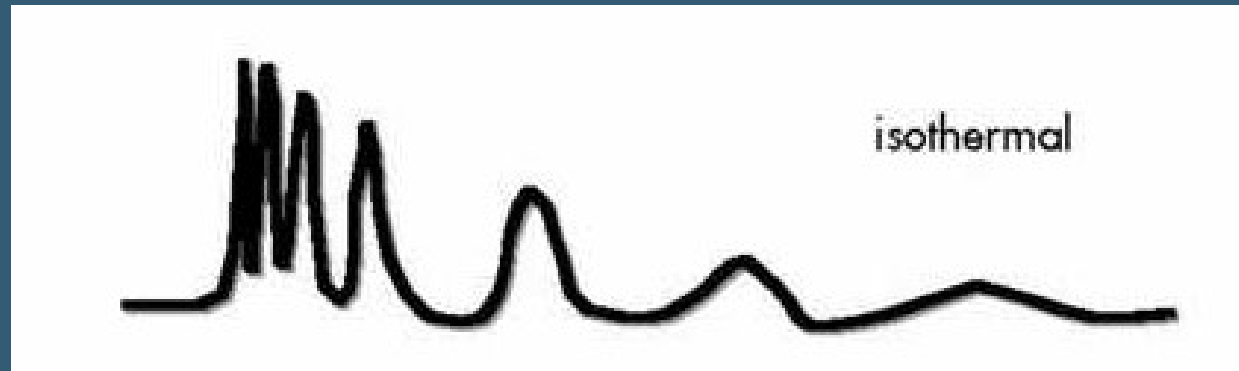
- polární stacionární fáze

Silikonové stacionární fáze (polysiloxany)

- často používané, široký rozsah polarity

# ELUCE

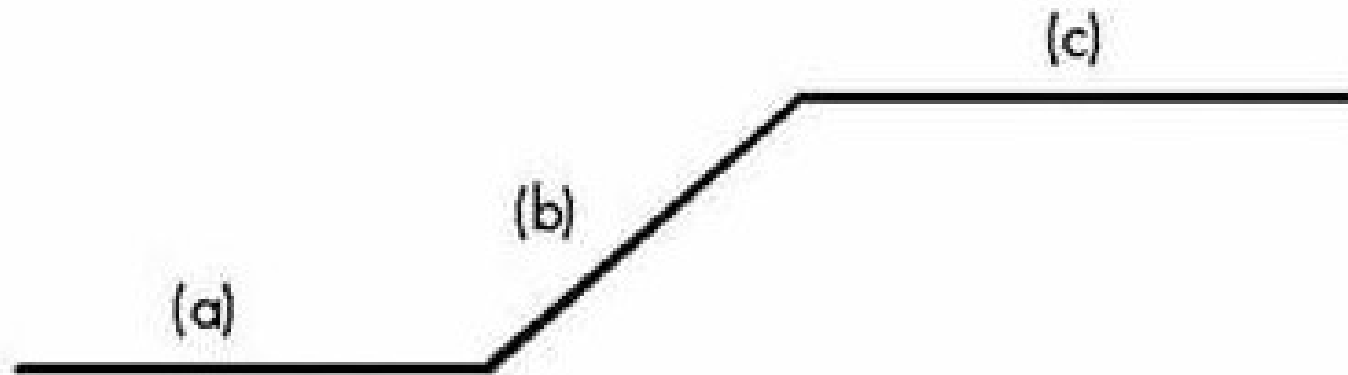
- Izotermální



- Gradientová – zvyšování teploty – 400 °C



# ELUCE



a - initial temperature and time

b - ramp ( $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )

c - final hold time and temperature

# DETEKTORY

Destruktivní x Nedestruktivní

Univerzální x Selektivní

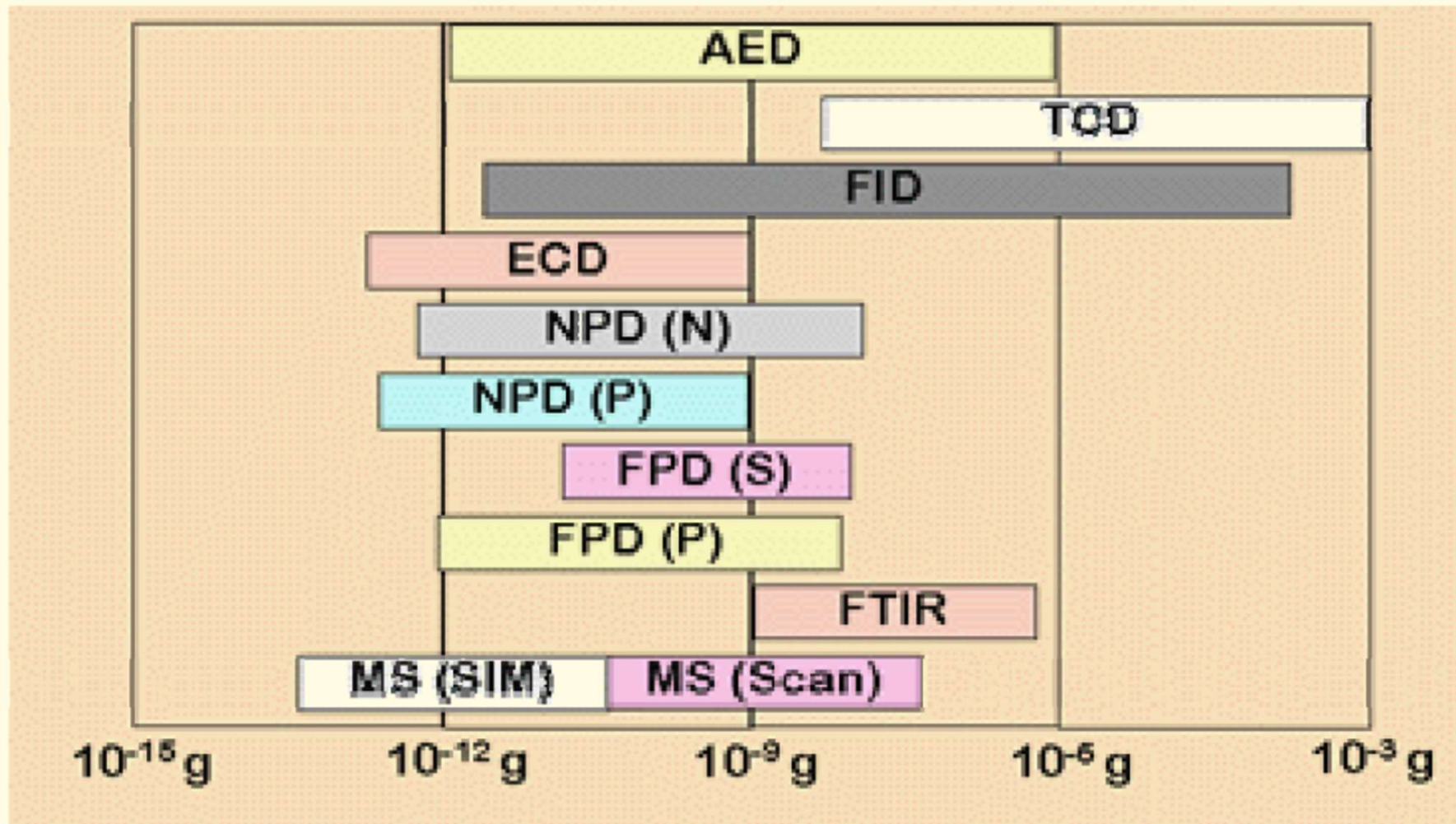


# DETEKTORY

<b>Tepelně-vodivostní</b>	<b>Tepelná vodivost</b>
<b>Plamenově-ionizační</b>	<b>Ionizace (uhlovodíky)</b>
<b>Dusíko-fosforový</b>	<b>N,P - určité formy</b>
<b>Elektronového záchytu</b>	<b>Elektronegativní struktury</b>
<b>Atomově-emisní</b>	<b>Emisní záření</b>
<b>Plamenově-fotometrický</b>	<b>P, S - určité formy</b>
<b>Fotoionizační</b>	<b>Absorbce UV</b>
<b>Chemiluminiscenční</b>	<b>Excitace (O<sub>3</sub>, F<sub>2</sub>)</b>
<b>FTIR</b>	<b>IČ + Fourierova transformace</b>
<b>Hmotnostní</b>	<b>Ionizace</b>

# DETEKTORY

## Citlivost a pracovní rozsah GC detektorů

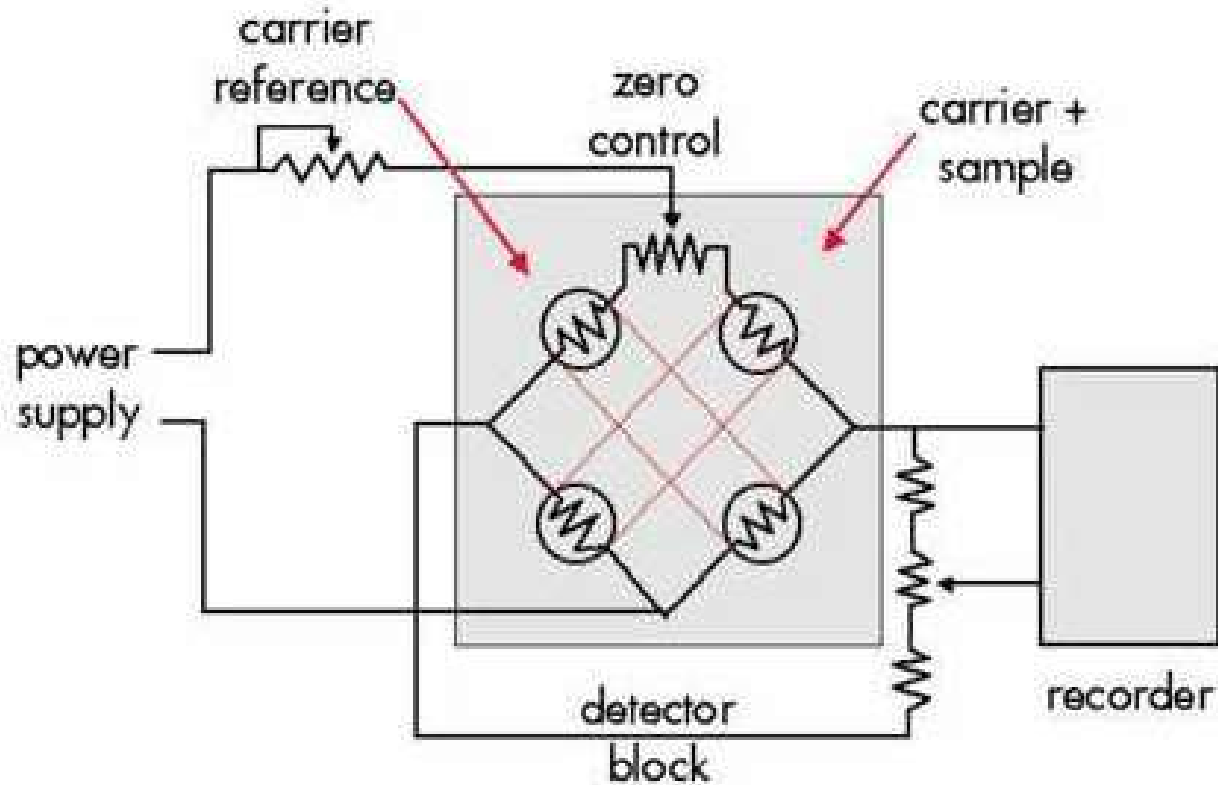


# TEPLOTNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR

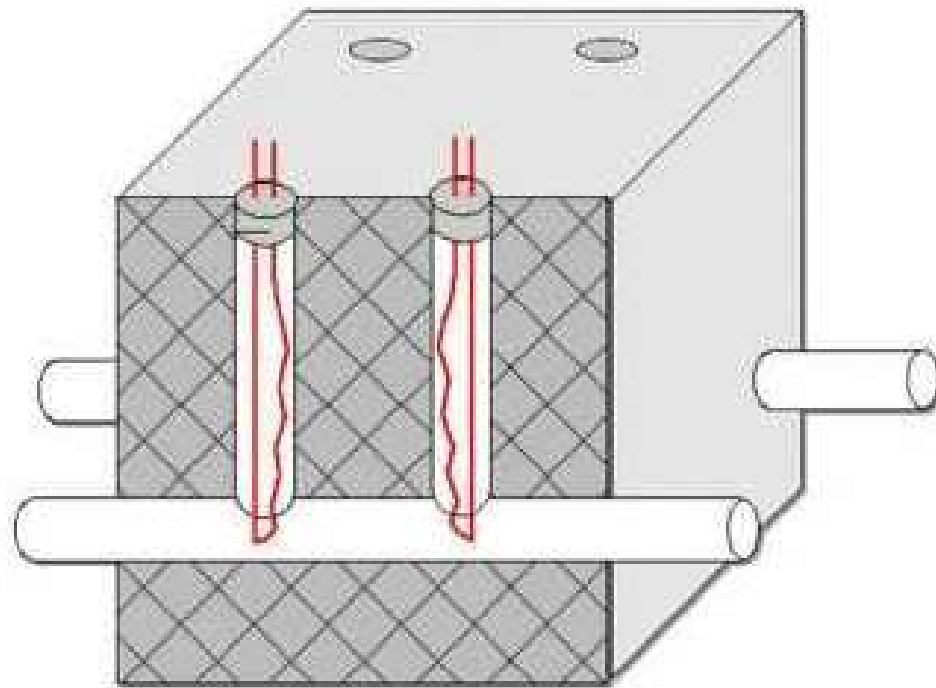
## TCD

- Universální detektor
- Nedestruktivní detektor
- Lineární rozsah –  $10^6$
- Princip – změna tepelné vodivosti eluentu  
v přítomnosti analytu v nosném plynu se zvyšuje tepelná vodivost plynu

# TEPLOTNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR TCD



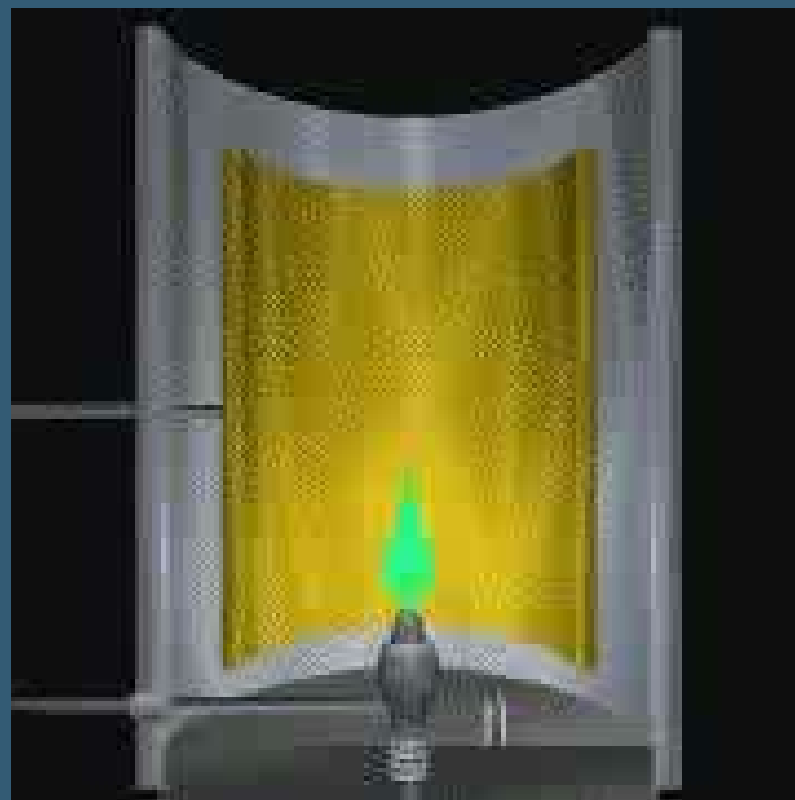
# TEPLOTNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR TCD



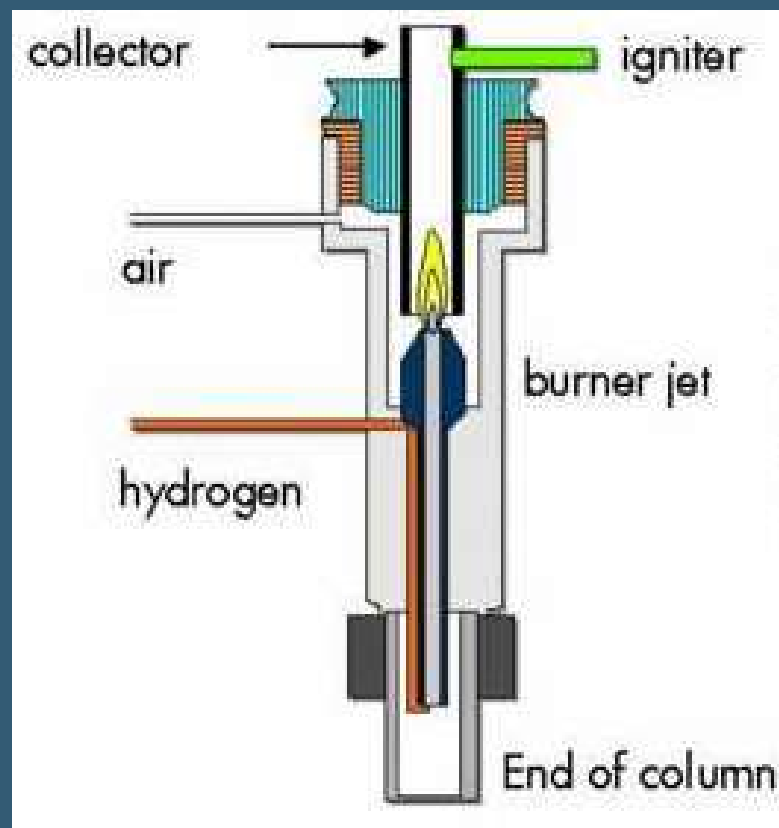
# PLAMENOVĚ IONIZAČNÍ DETEKTOR FID

- Specifický
- Destruktivní
- Lineární rozsah –  $10^7$
- Princip – ionty vznikající spalováním vzorku vyvolávají nárůst proudu

# PLAMENOVĚ IONIZAČNÍ DETEKTOR FID



# PLAMENOVĚ IONIZAČNÍ DETEKTOR FID



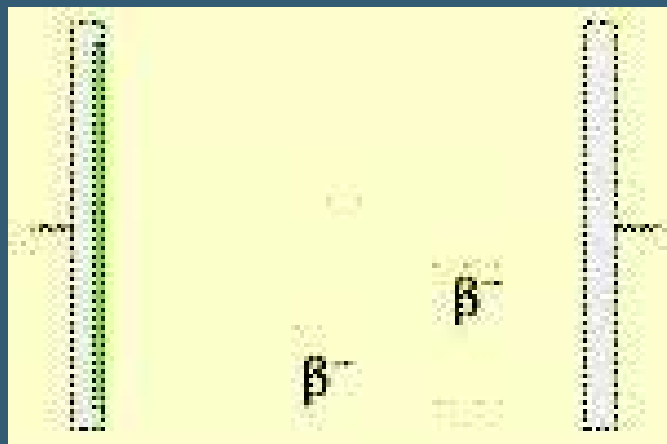


# DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU ECD

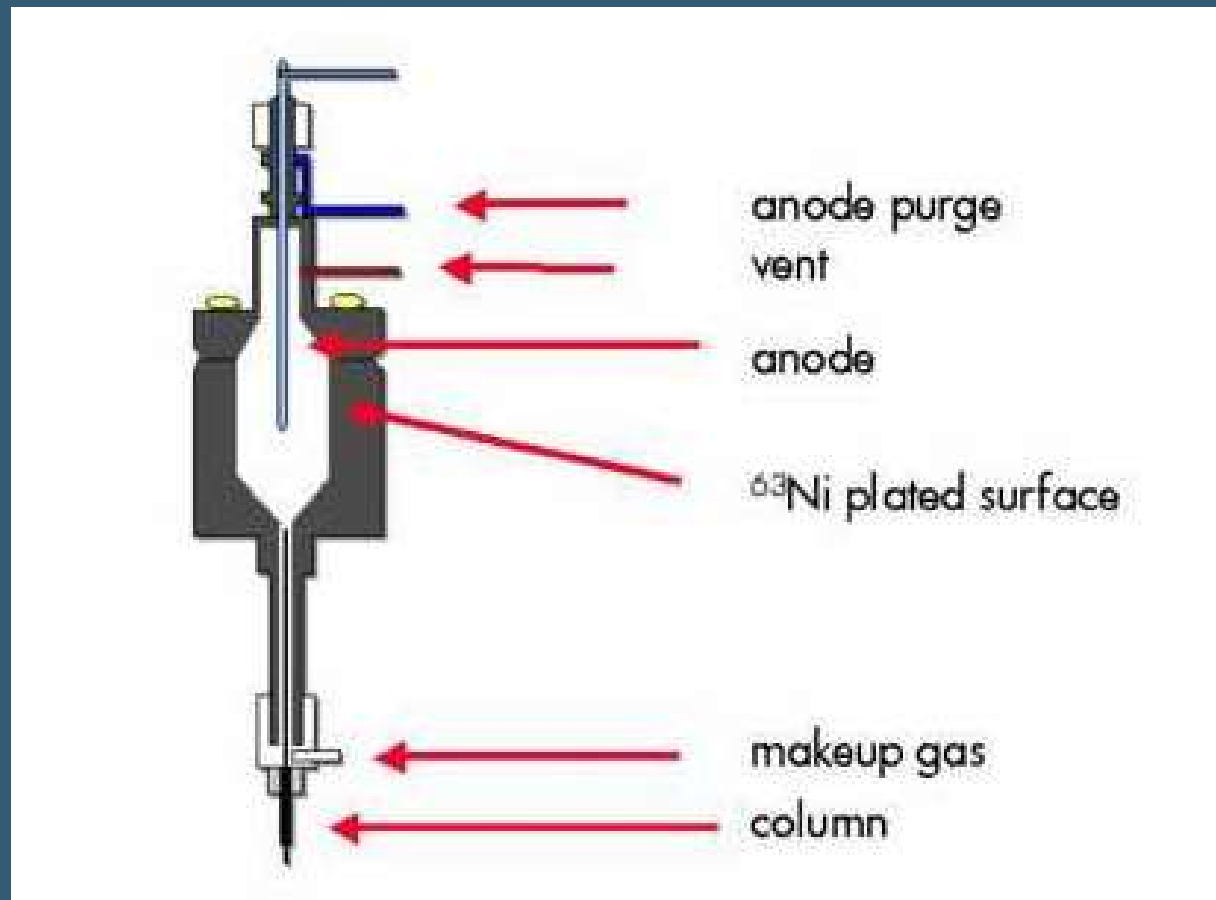
- Specifický
- Nedestruktivní
- Lineární rozsah –  $10^4$
- Princip – interakce  $\beta^-$  částic vzorkem vyvolává pokles proudu

# DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU ECD

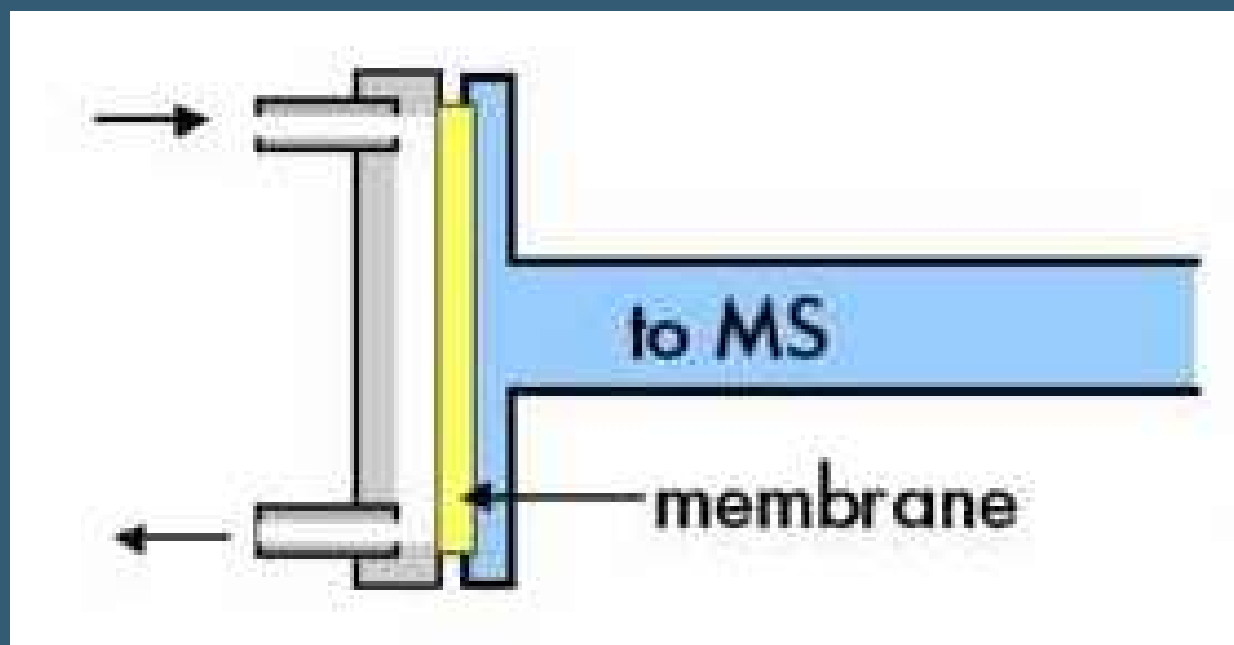
$\beta^- - {}_{63}\text{Ni}$



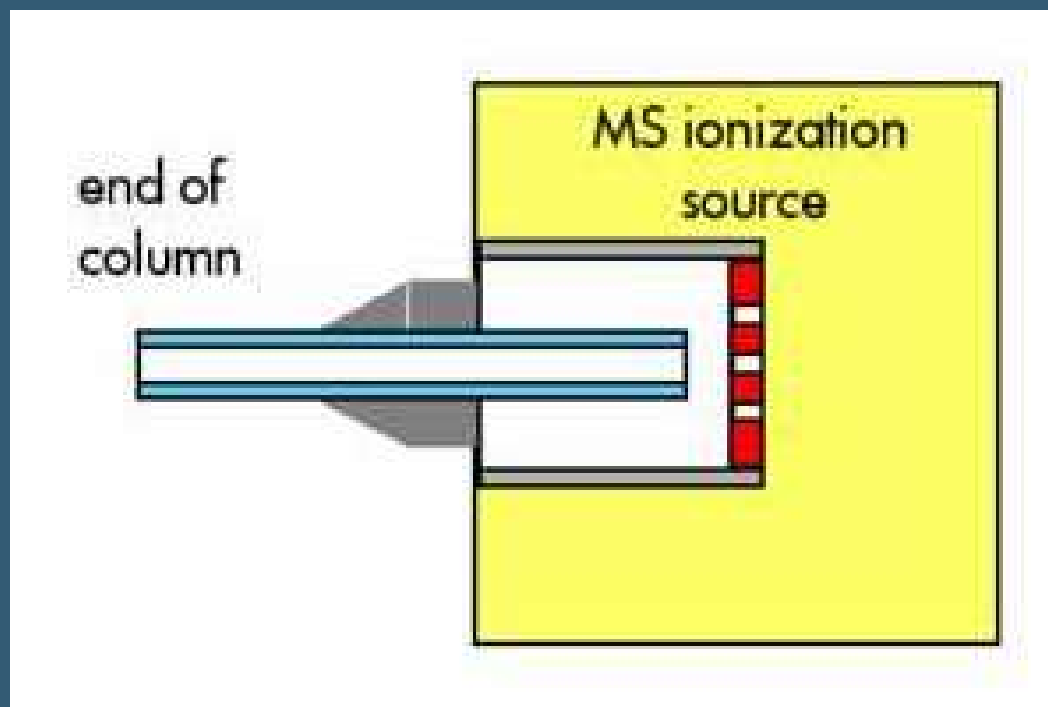
# DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU ECD



# GC MS PERMEAČNÍ INTERFACE



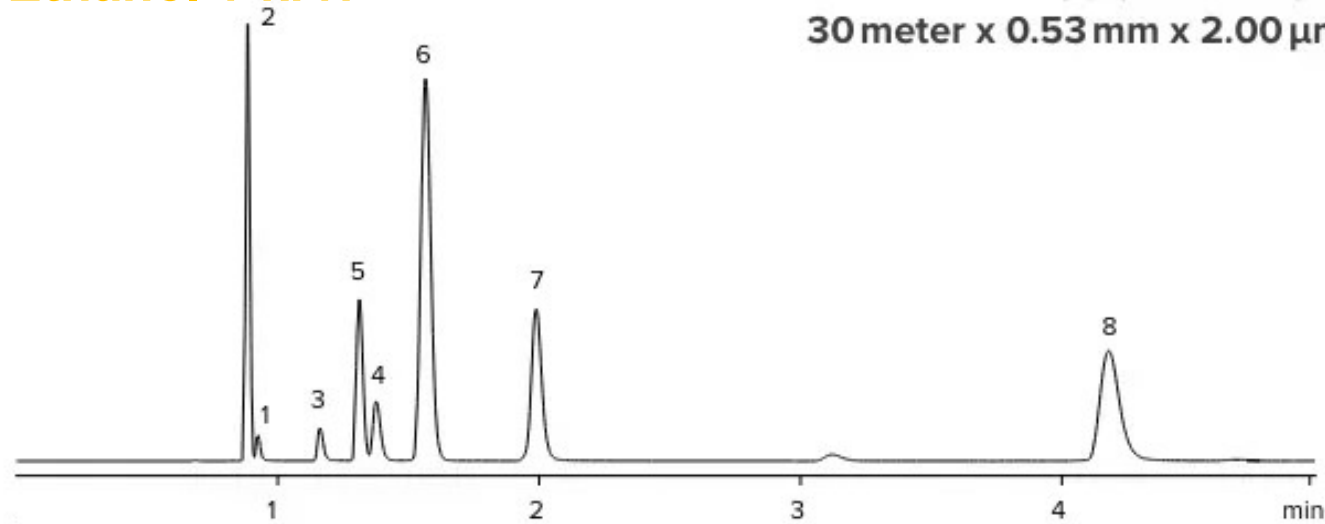
# GC MS PŘÍMÉ SPOJENÍ



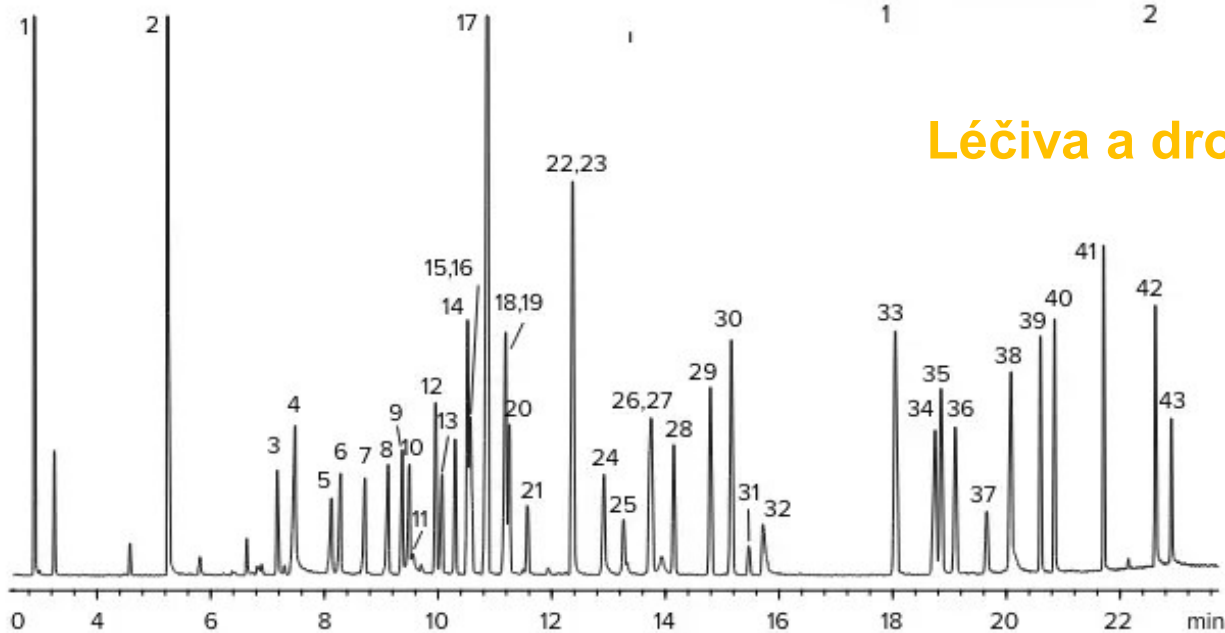
# GC ANALYSA

## Ethanol v krvi

Zebtron ZB-BAC-2  
30 meter x 0.53 mm x 2.00 µm



App ID 17983

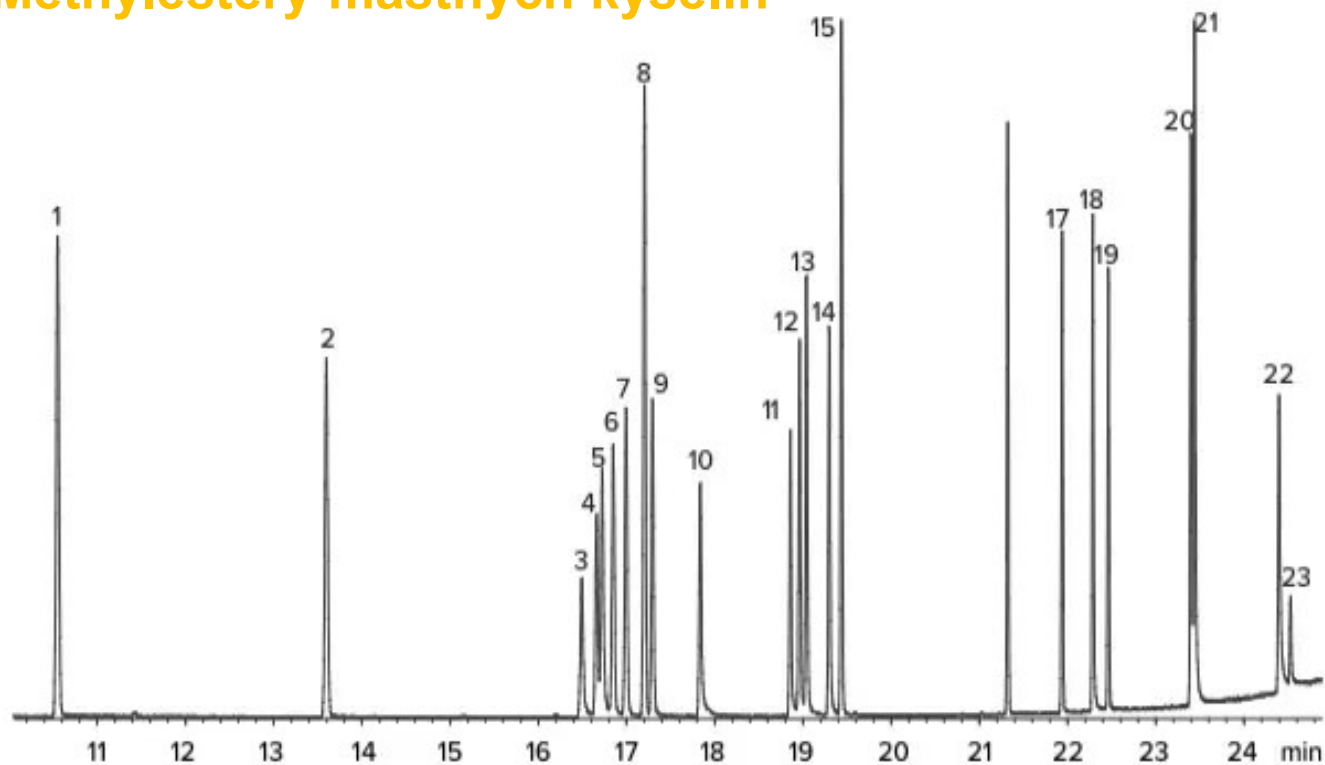


## Léčiva a drogy

App ID 18175

# GC ANALYSA

## Methylestery mastných kyselin



App ID 24539

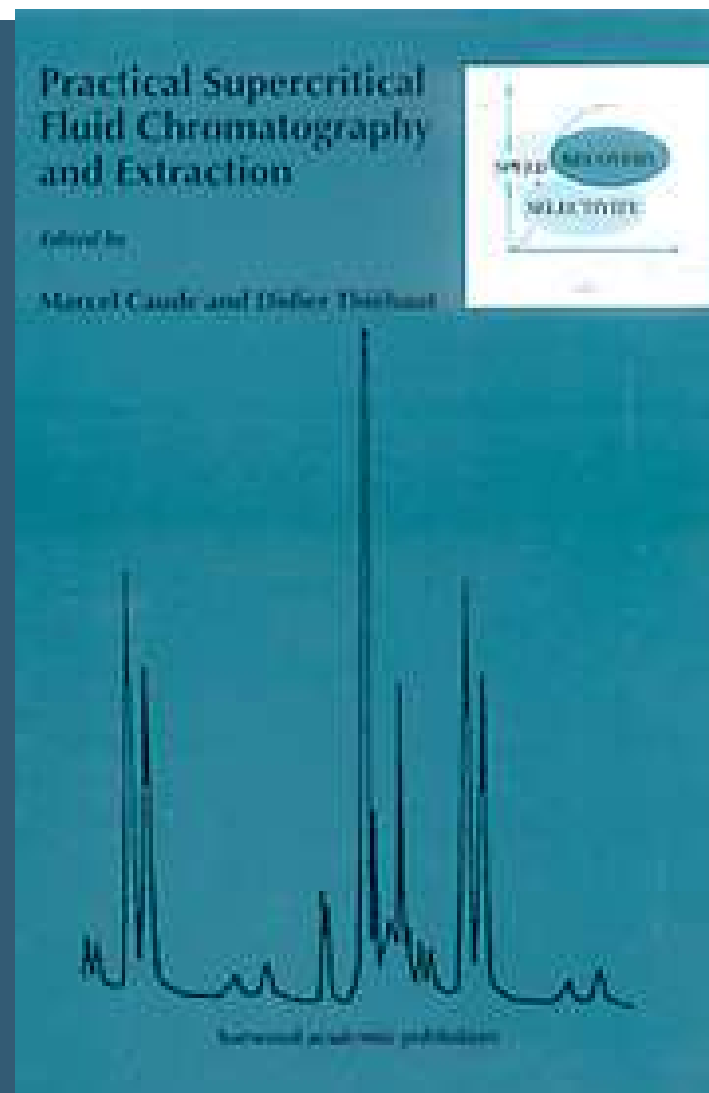
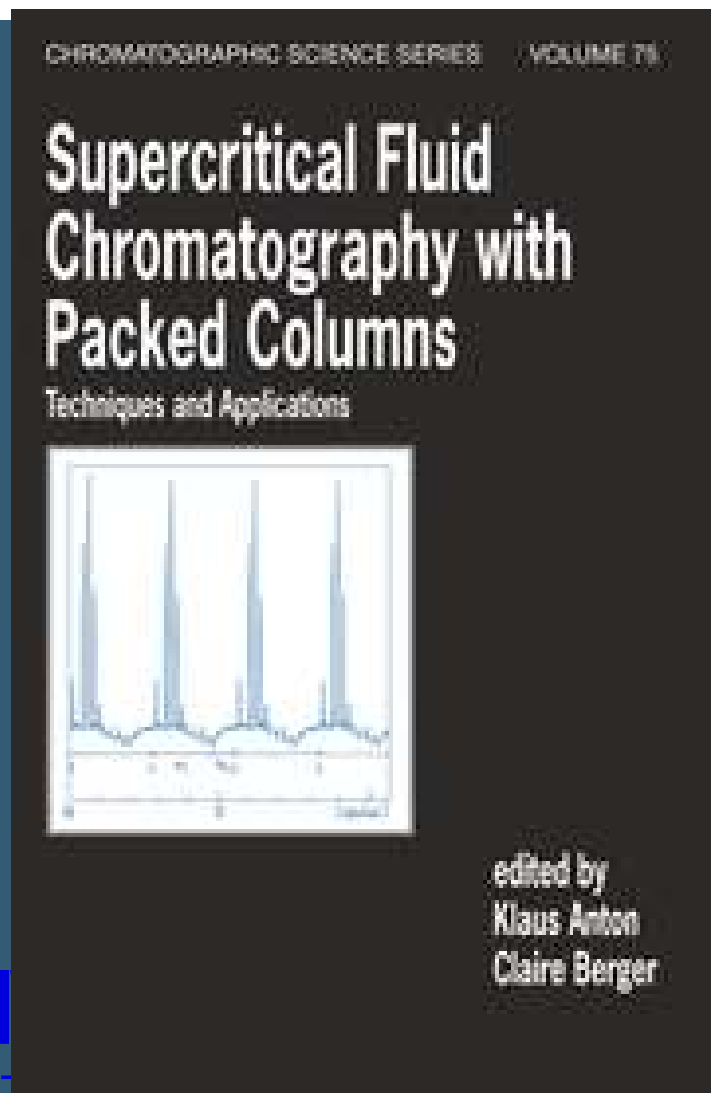
MUNI  
SCI

Kolona: Zebron ZB-FAME

Rozměry: 20 meter x 0.18 mm x 0.15  $\mu$ m, helium, 1 ml/min

Detekce: FID

# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE

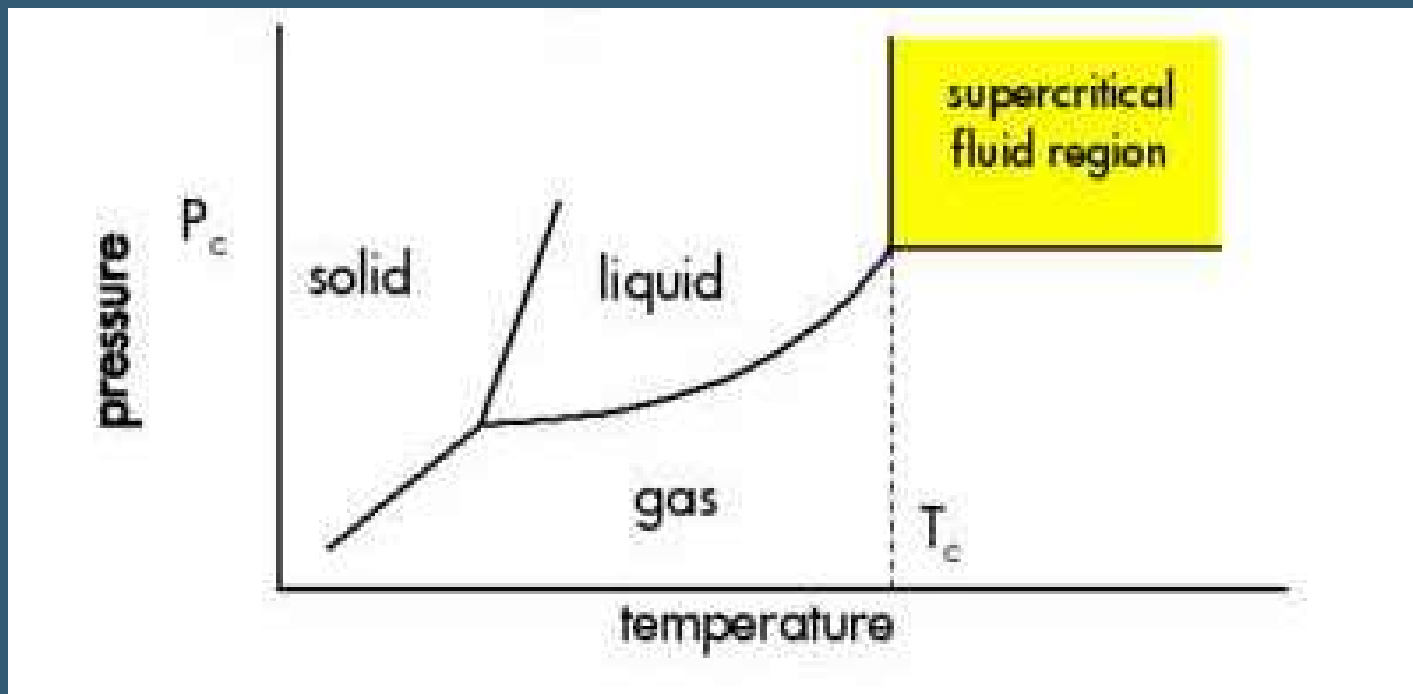




# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRRAFIE

- Mobilní fáze - superkritická kapalina
- Stacionární fáze - pevná fáze,  
kapalina

# SUPERKRITICKÁ KAPALINA



# SUPERKRITICKÁ KAPALINA

Fluid	$T_{c'}$ , °C	$P_{c'}$ , atm	$d^*$
CO <sub>2</sub>	31.3	72.9	0.96
N <sub>2</sub> O	36.5	72.5	0.94
NH <sub>3</sub>	132.5	112.5	0.40
n-C <sub>5</sub>	196.6	33.3	0.51
n-C <sub>4</sub>	152.0	37.5	0.50
CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	111.8	40.7	1.12
CHF <sub>3</sub>	25.9	46.9	-----

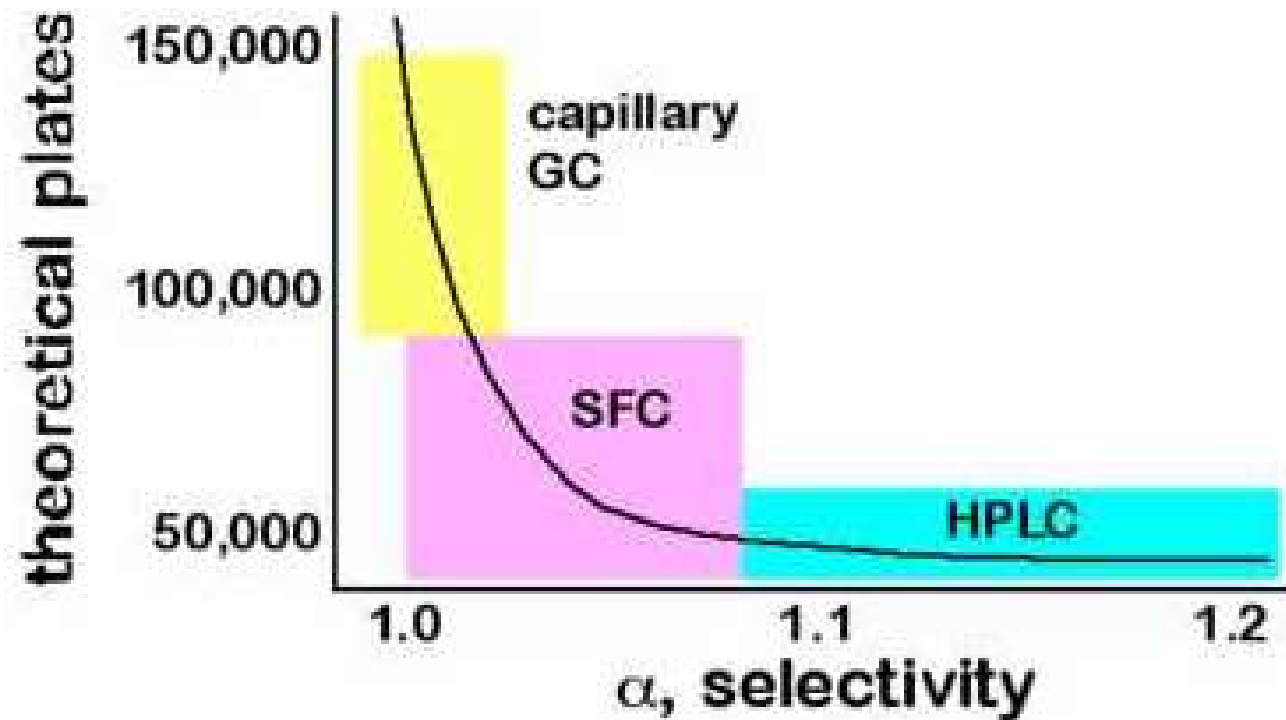
\*density in g/ml at 400 atm

# SFC X KOMPROMIS MEZI GC A HPLC

GC    + vysoká difuze                    - vysoká teplota  
          + nízká viskozita                - těkavé látky

HPLC                    + nízká teplota                    - nízká difuze  
                                  + kapacita                            - rychlost analýz

# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE



Number of plates required to achieve a separation with  $R_s = 1.5$  and  $k' = 2$

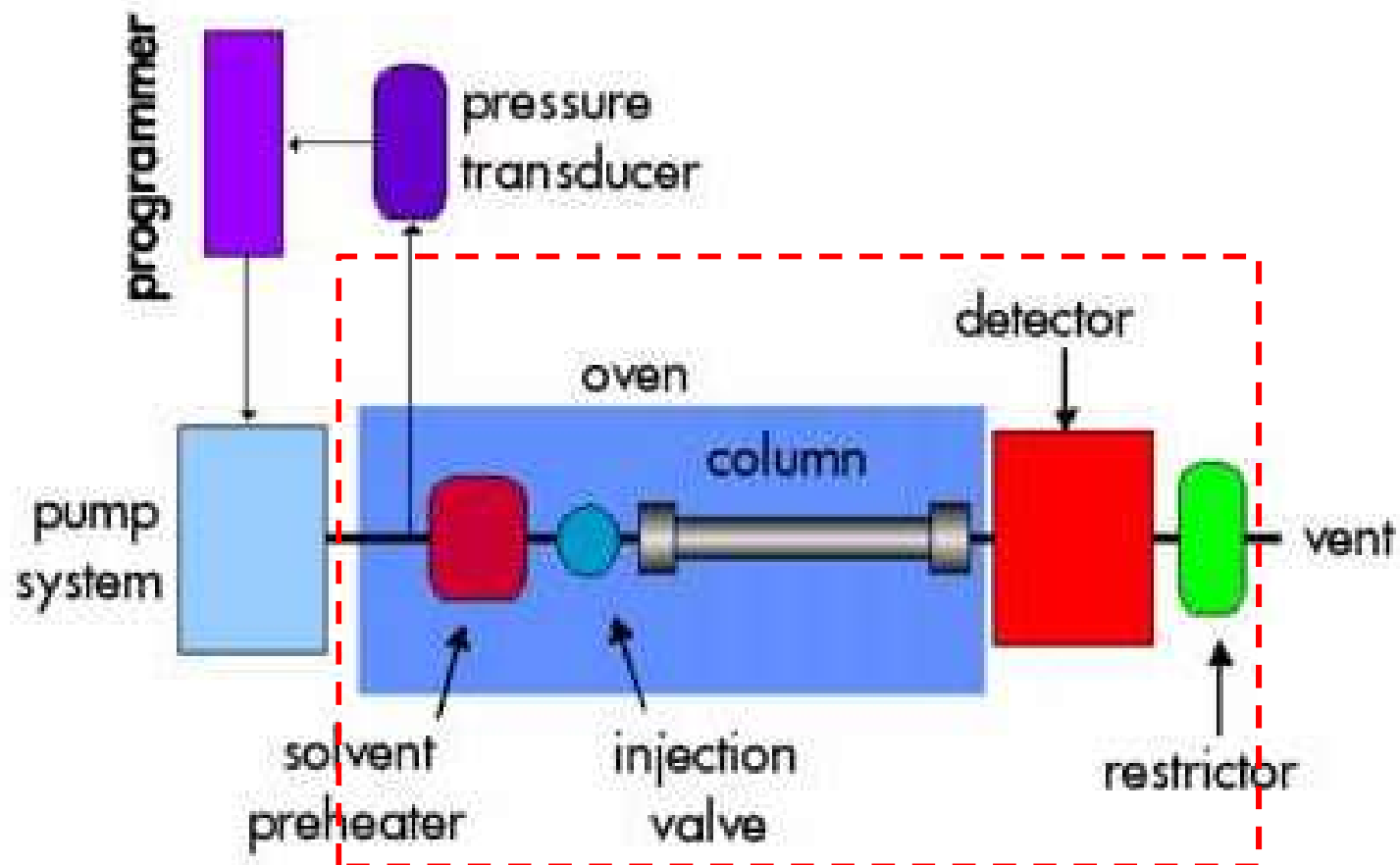
# VÝHODY

- Superkritická kapalina se viskozitou blíží fázi plynné, hustotou fázi kapalné
- Účinnosti srovnatelné s GC
- Rychlost větší než u LC
- Dobrá rozpouštěcí schopnost MF

# NEVÝHODY

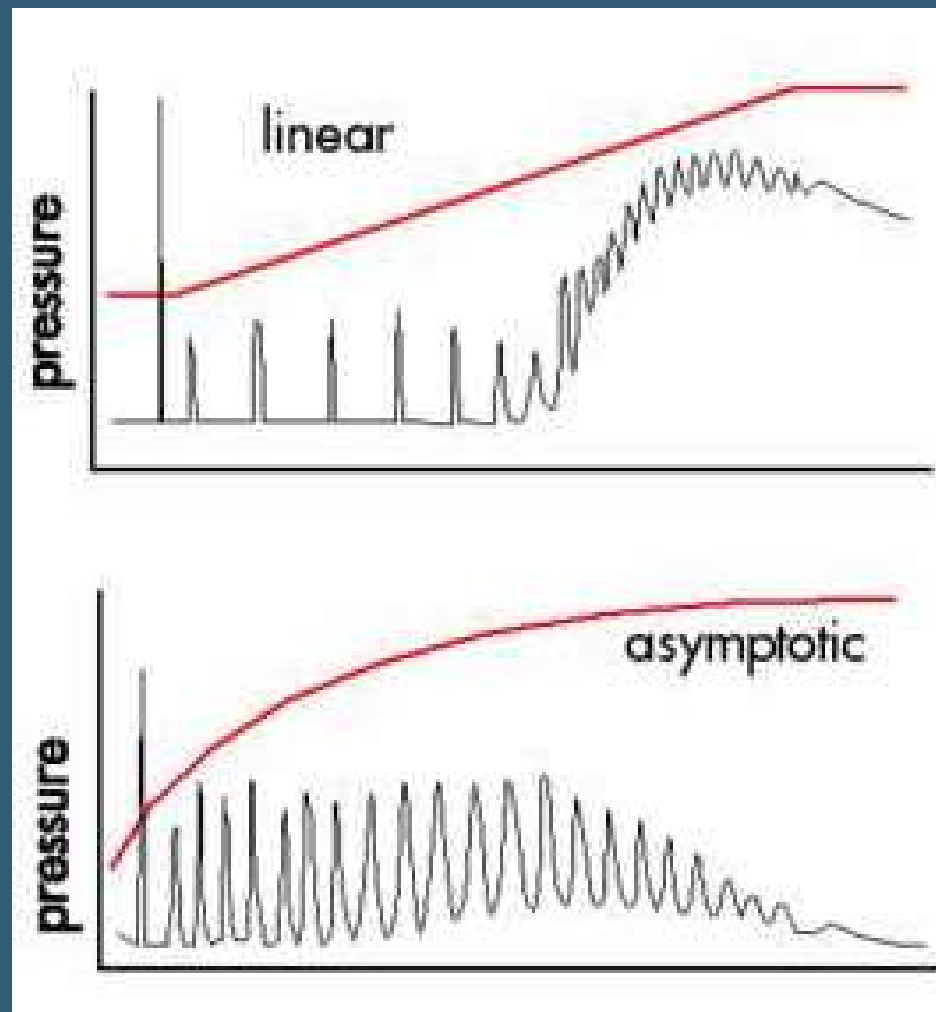
- Zařízení musí odolávat větším tlakům
- Vyšší cenová náročnost při srovnání s GC a LC

# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRRAFIE





# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRRAFIE



# SFC ANALYSA

Bioanalýza ( tokoferoly ),

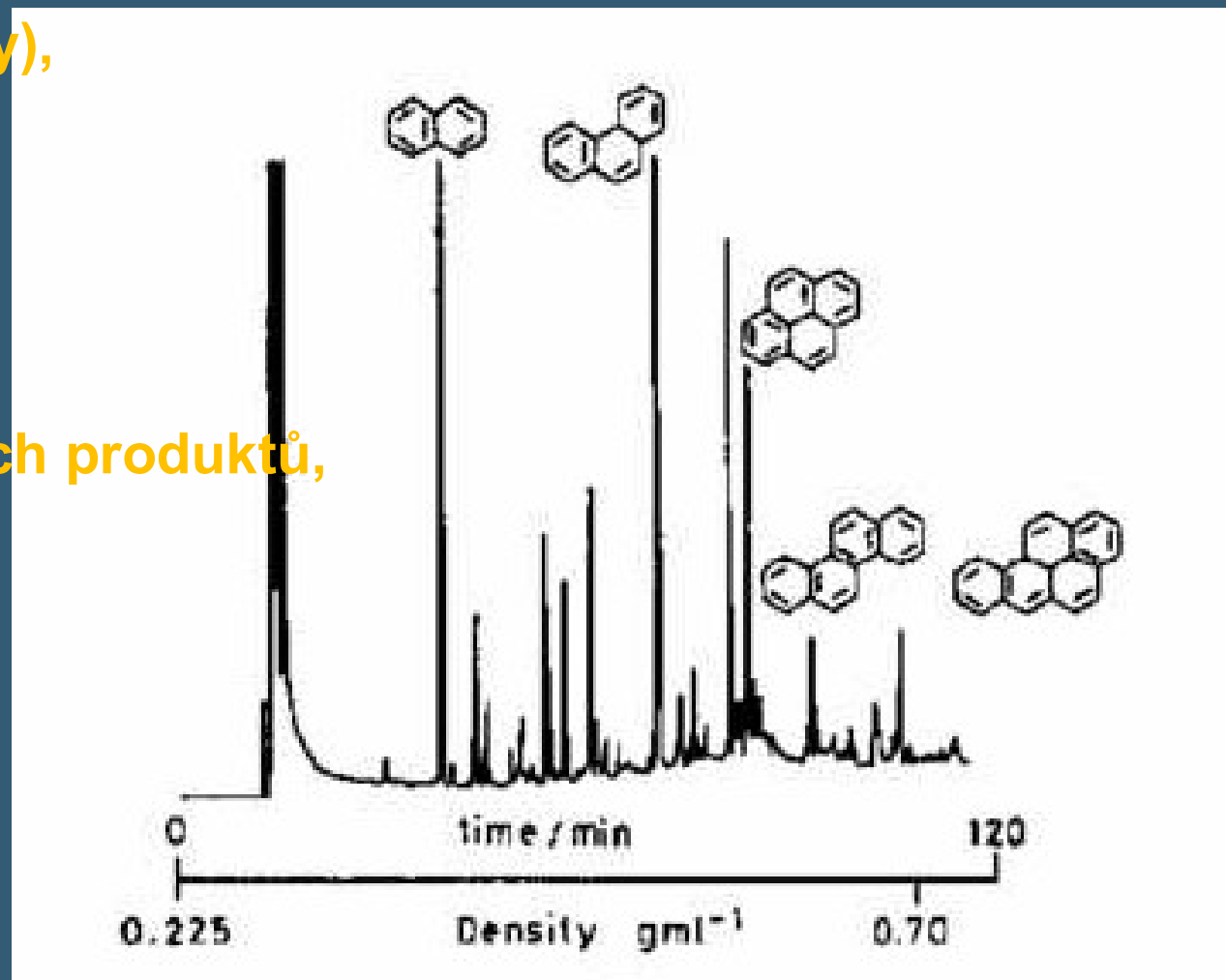
Lipidomika

Dopingová kontrola

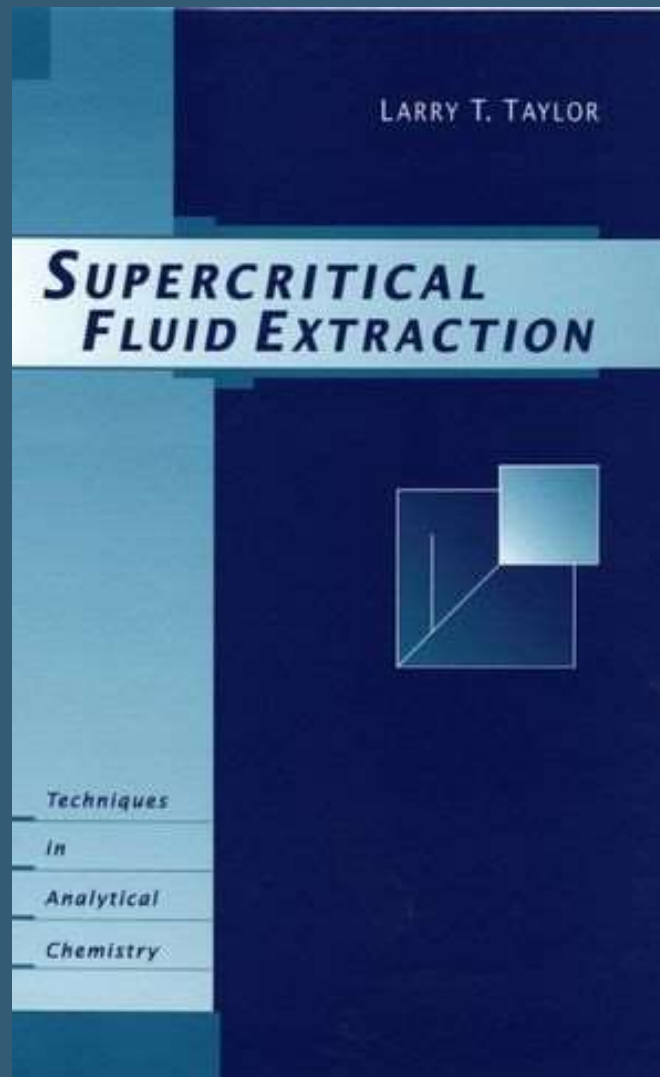
Analýza potravin

Kontrola průmyslových produktů,

Životní prostředí

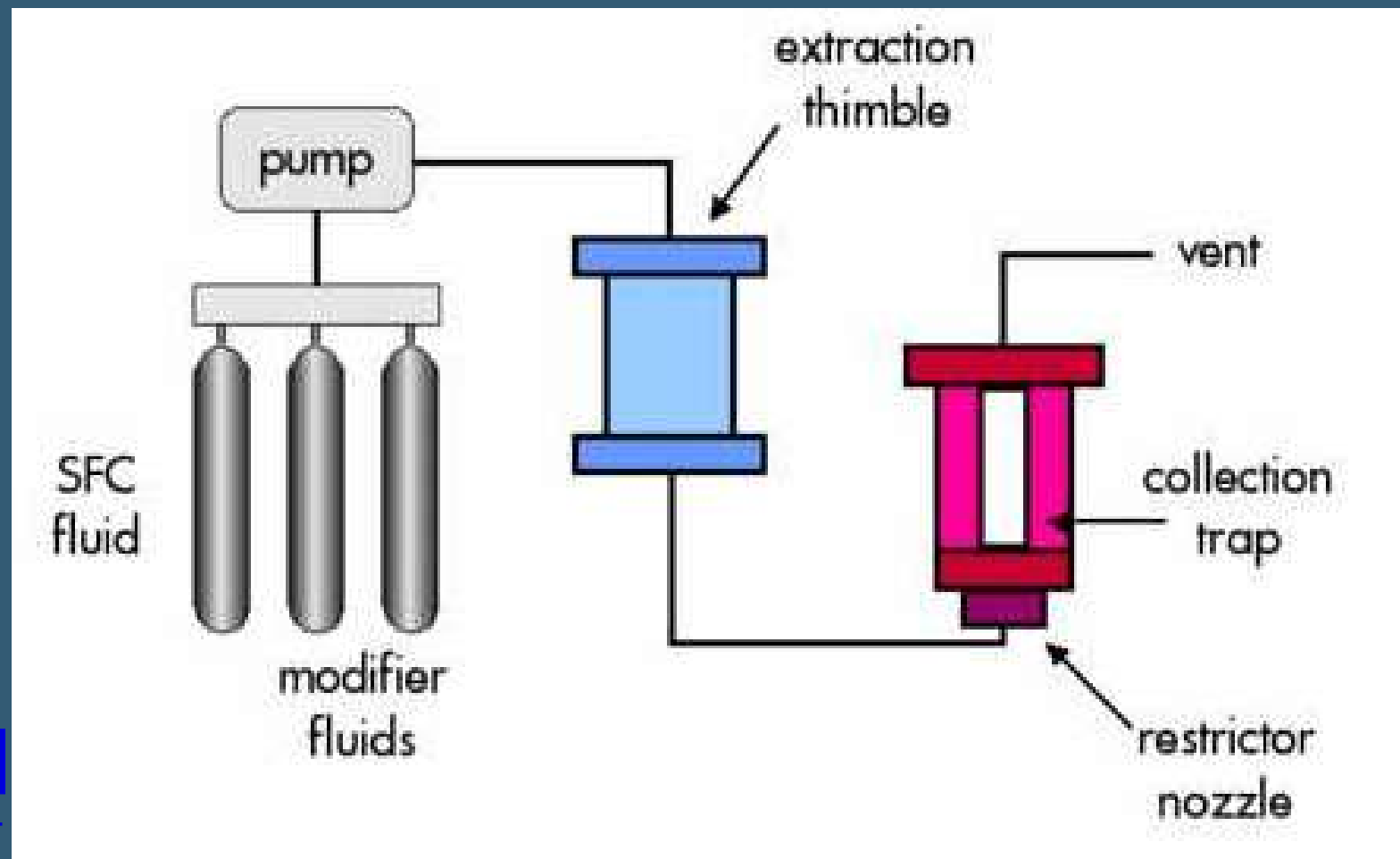


# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE



MUNI  
SCI

# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE



# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE

- Používané kapaliny - CO<sub>2</sub>
  - levný,
  - netoxický
  - nízká kritická teplota
- Používané modifikátory
  - HCl – kyselé prostředí
  - NH<sub>3</sub> – bazické prostředí

# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE

- Výhody
- 10-100x rychlejší přestup hmoty
- přímé ovlivnění extrakční síly měněním hustoty (změnou tlaku nebo teploty)
- velká redukce objemů extrahovadel
- některá SF-extrakční činidla jsou za normálních podmínek plyny ( $\text{CO}_2$ )  $\Rightarrow$  jednoduché odpaření

# SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE

- Nevýhody
- matricové efekty – neg. vliv matric;  
interakce se vzorkem  
i extrakční tekutinou
- složitá instrumentace – vysoké teploty a tlaky; práce s plyny  
(restriktor)



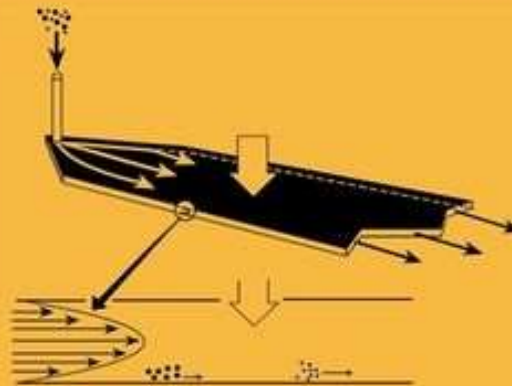
# FFF FIELD FLOW FRACTIONATION



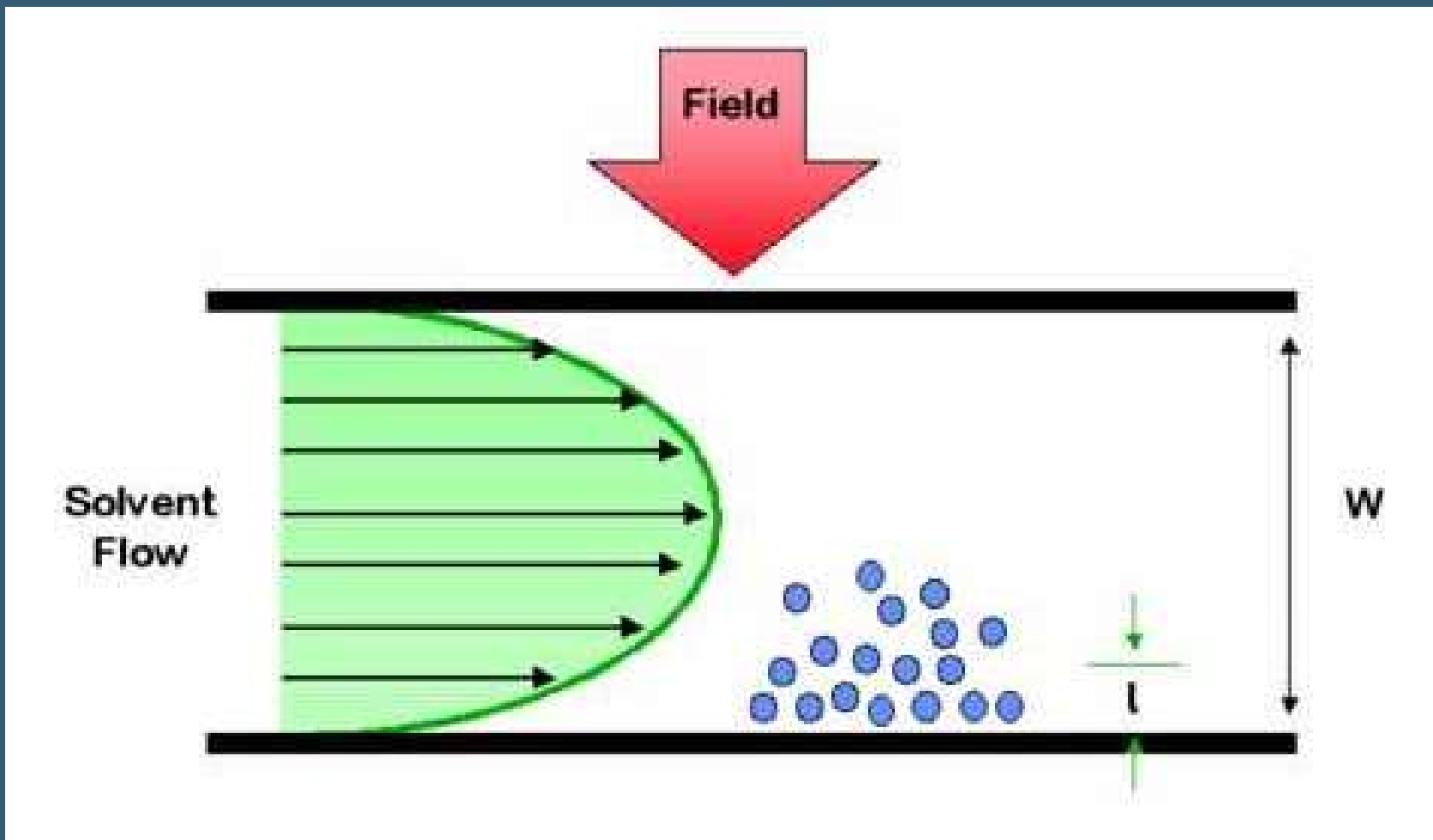
# FIELD FLOW FRACTIONATION PRINCIP

## FIELD-FLOW FRACTIONATION HANDBOOK

EDITED BY  
MARTIN SCHIMPF  
KARIN CALDWELL  
J. CALVIN GIDDINGS



# FIELD FLOW FRACTIONATION PRINCIP



# POUŽÍVANÁ POLE

- Sedimentační

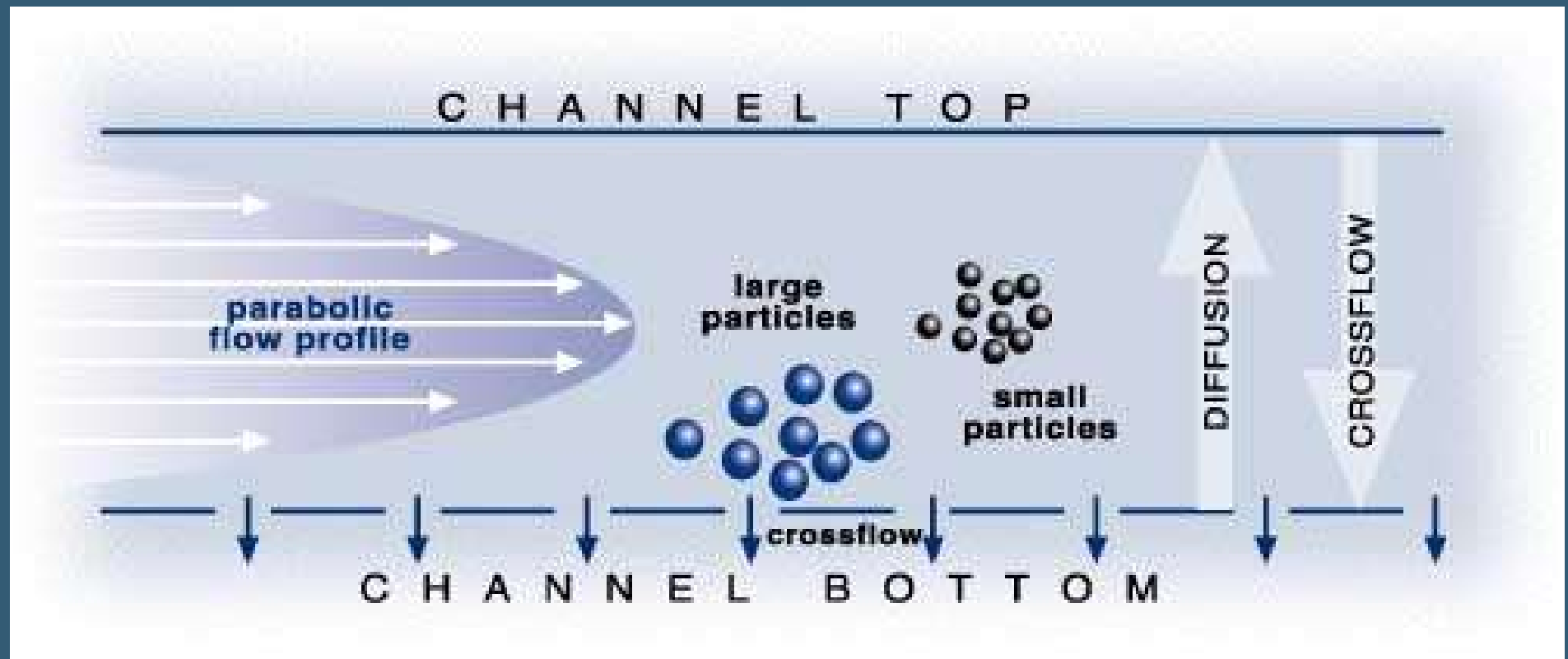
- Termální

- Hydraulické

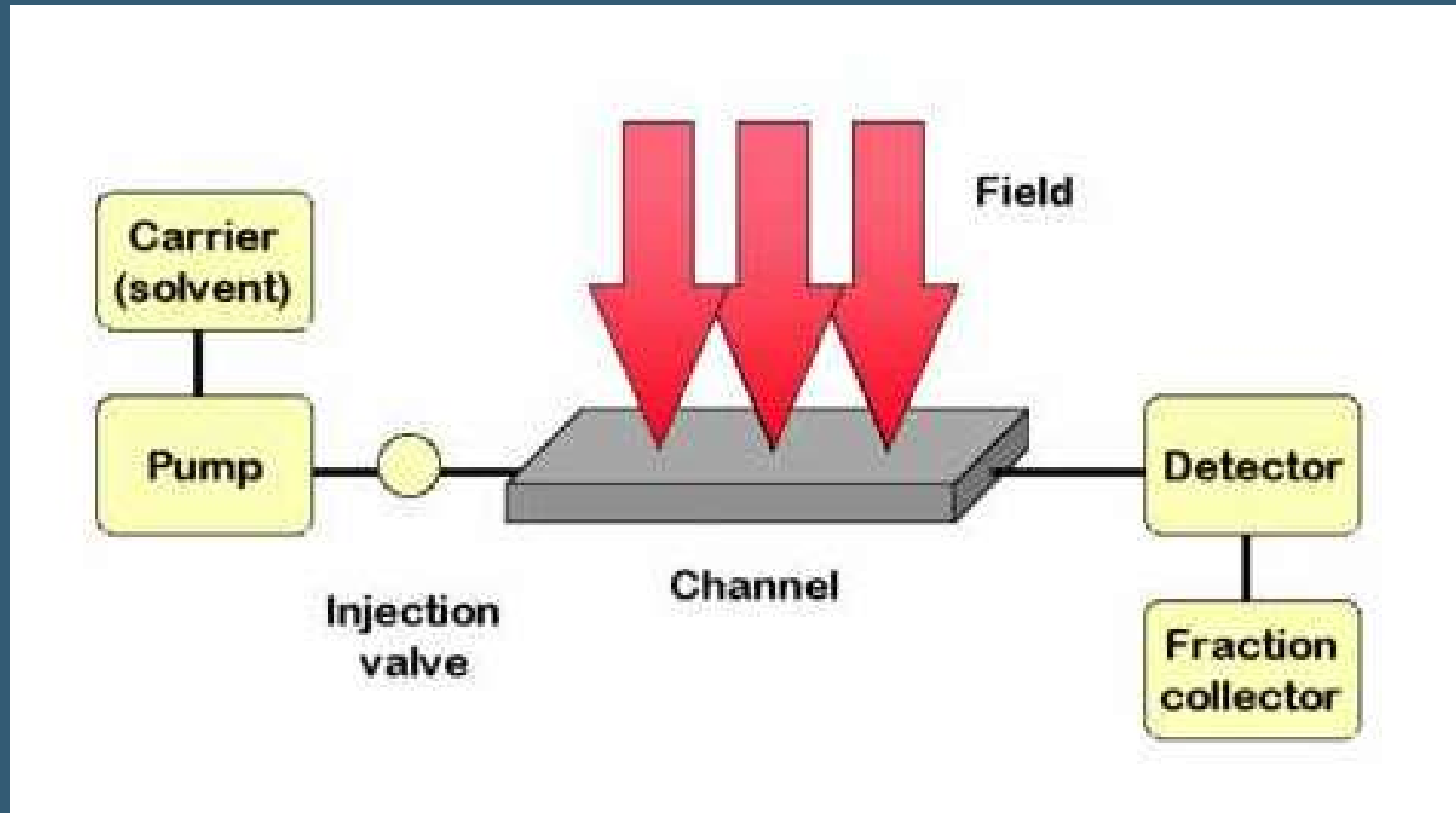
MUNI  
SCI

- Elektrické

# FIELD FLOW FRACTIONATION PRINCIP

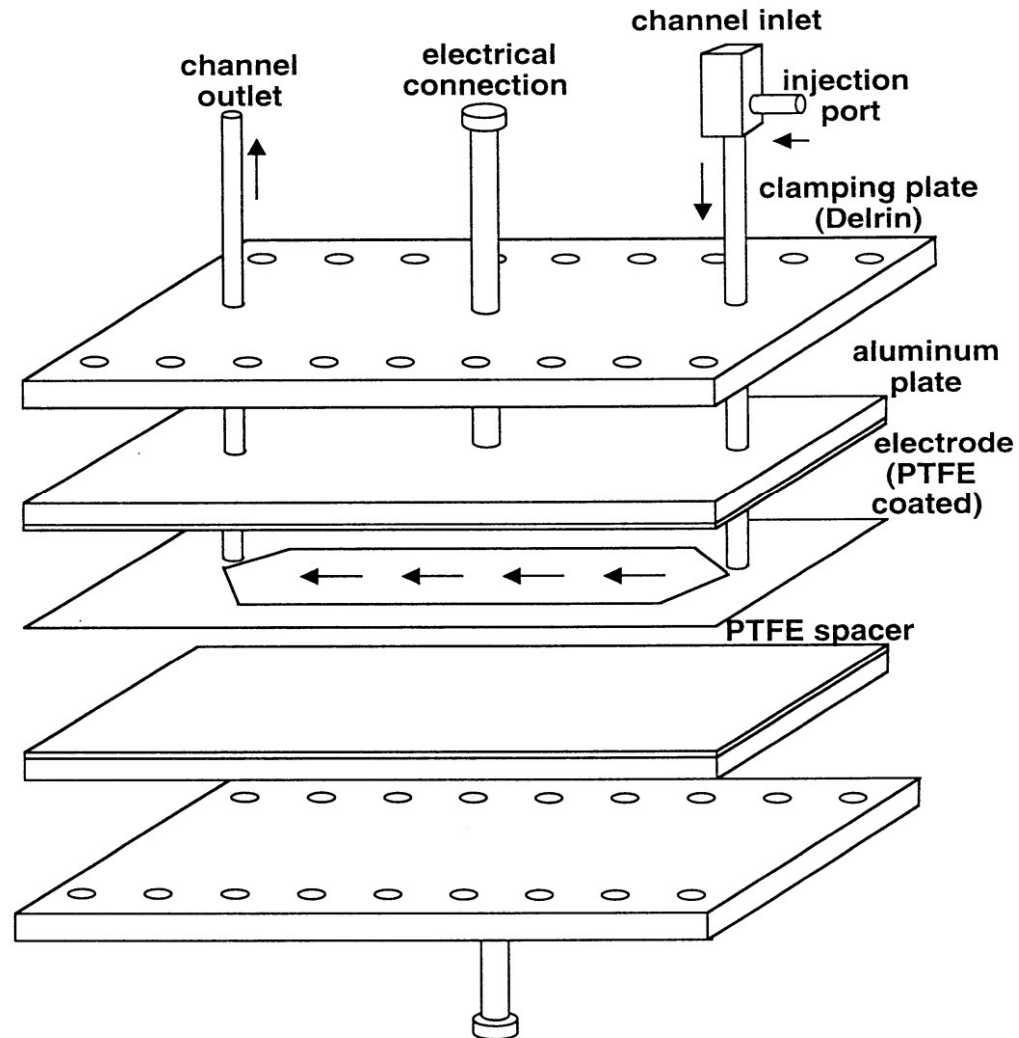


# FIELD FLOW FRACTIONATION INSTRUMENTACE



# FIELD FLOW FRACTIONATION INSTRUMENTACE

Schematic of Np-Eff Channel



# PREPARATIVNÍ FFF

