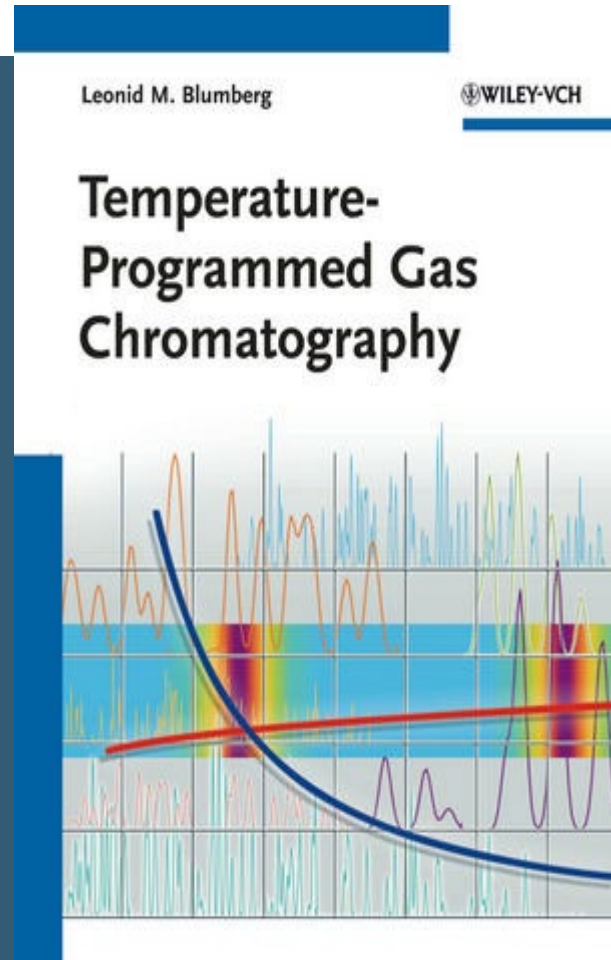
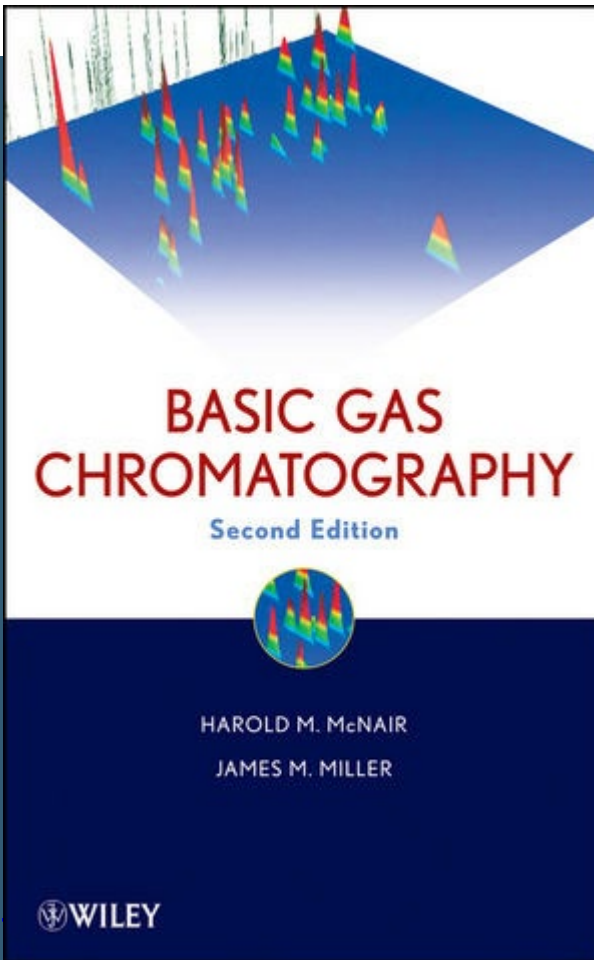


CHROMATOGRAFICKÉ METODY III.

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 ⁶	ionty, látky polární i nepolární, nízkomolekulární i polymery
PC, TLC	100 - 2000	ionty, látky polární i nepolární
CE (CZE, CEC, MEKC)	3 -10 ⁶	ionty, látky polární i nepolární, nízkomolekulární i polymery

PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE



PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE

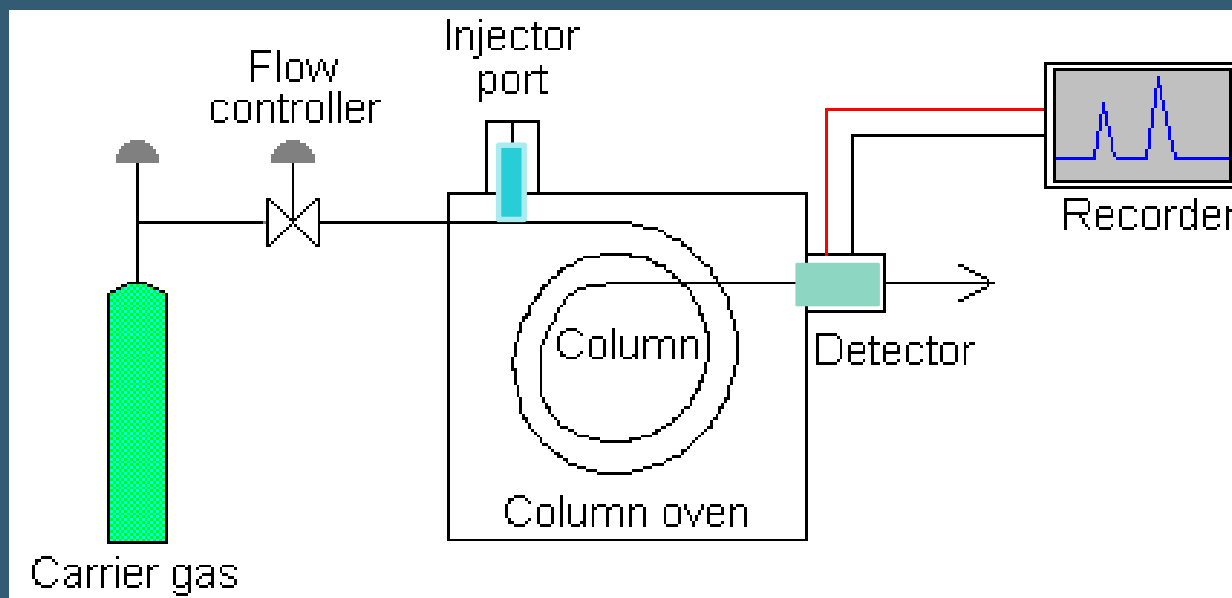
- Mobilní fáze - plyn
- Stacionární fáze pevná fáze,
kapalina

VÝHODY

NEVÝHODY

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

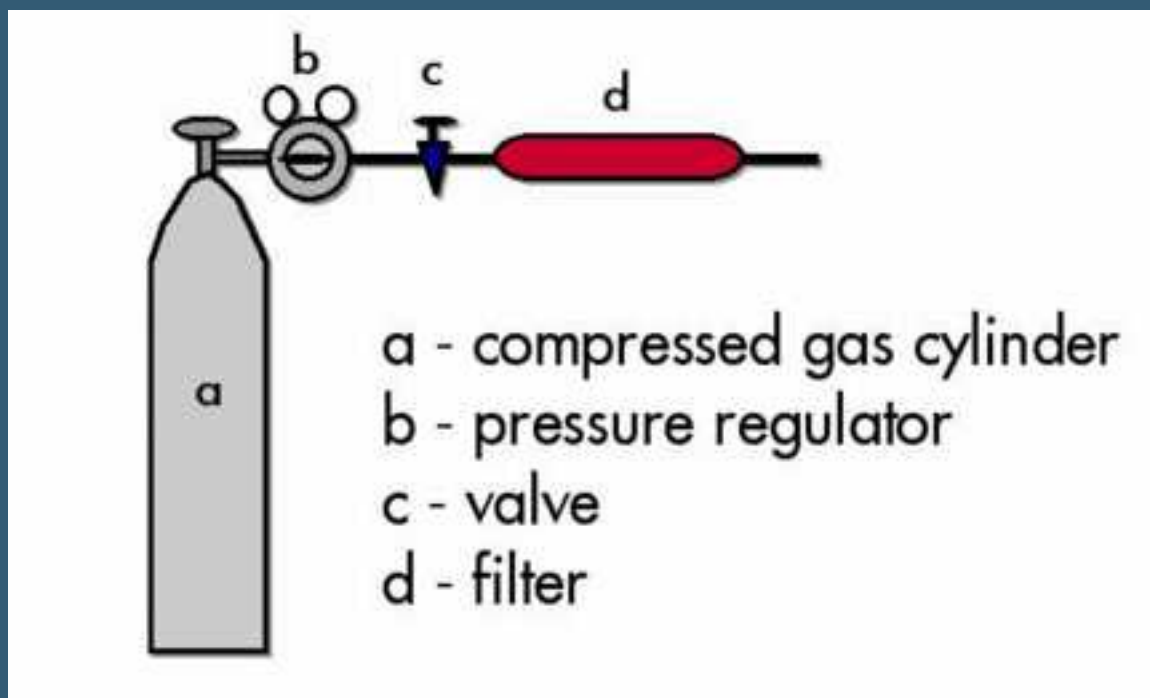
SCHÉMA PLYNOVÉHO CHROMATOGRAFU



PLYNOVÝ CHROMATOGRAF



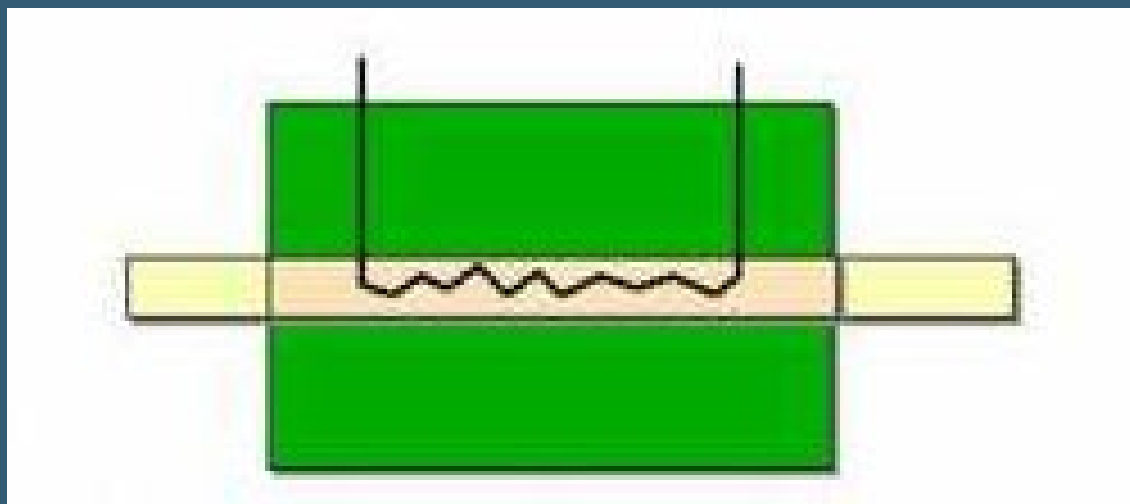
ZDROJ NOSNÉHO PLYNU



nosný plyn musí být velmi čistý a suchý

Filter- trubice s molekulovým sítem odstraňují H₂O,
uhlovodíky, O₂

ELEKTRICKÉ MĚŘENÍ PRŮTOKU



programovatelné elektronické regulační systémy
řízení rychlost průtoku nosného plynu
(pro získání reprodukovatelných retenčních časů
průtok 10 - 60 ml/min

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

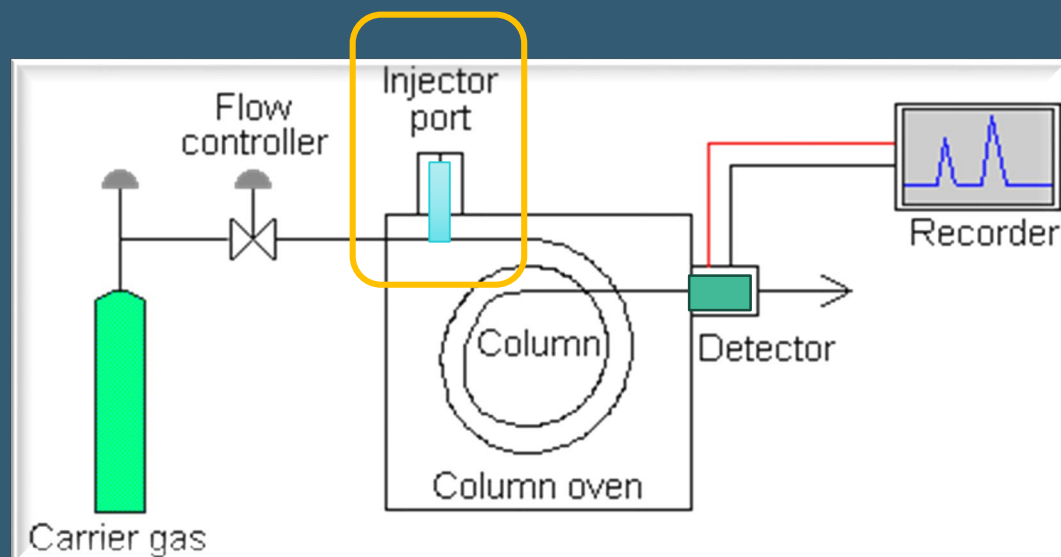
- Plyny, kapaliny - přímo
- Pevné látky - po derivatizaci

OBJEMY DÁVKOVANÝCH VZORKŮ

- Plyny 0,5 – 5 ml
- Kapaliny - 0,1 – 10 μ l

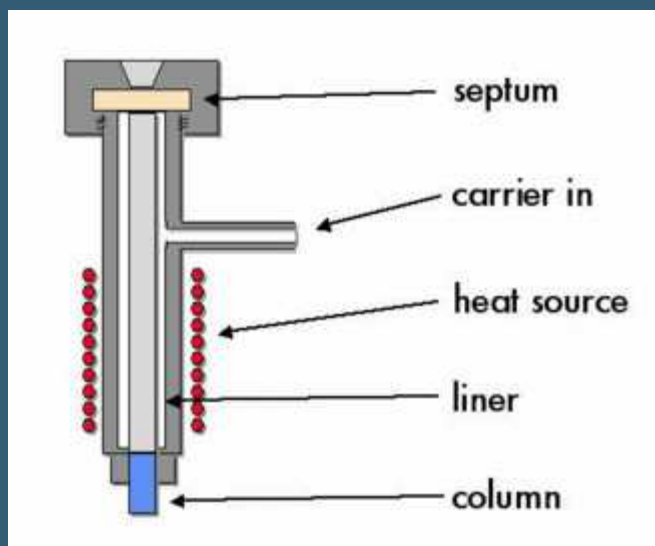
ZPŮSOBY DÁVKOVANÍ VZORKŮ

- Přes septum
- Ventilem
- Termální desorpcí

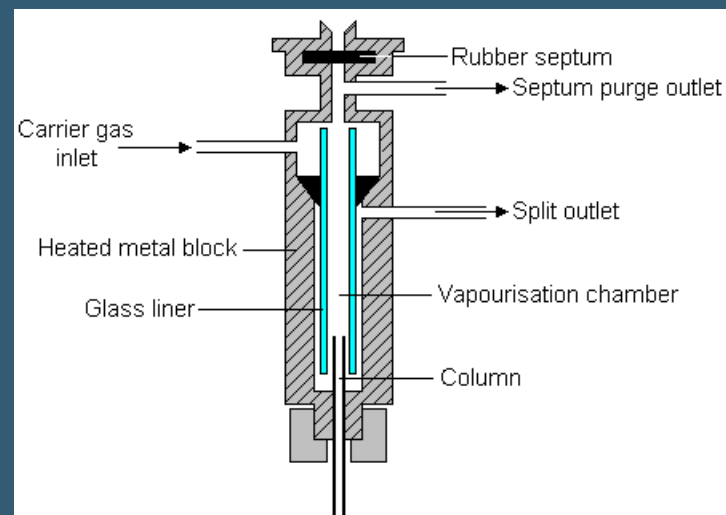


STŘÍKAČKOU

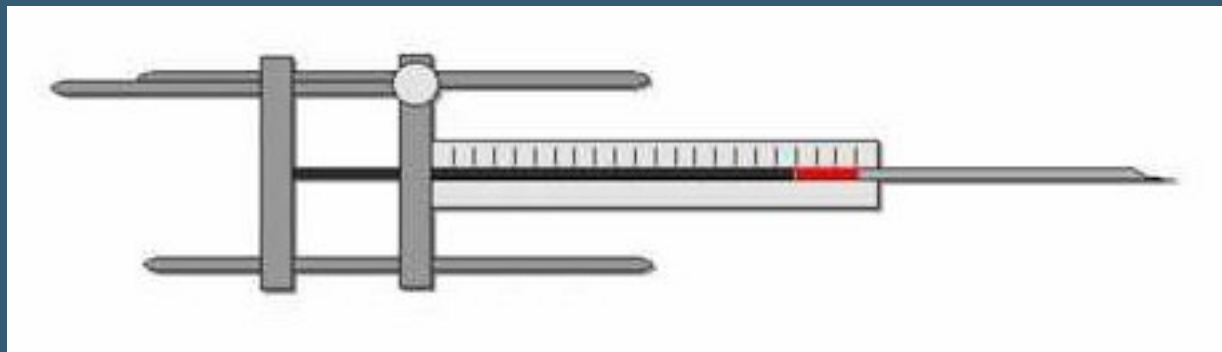
„splitless“



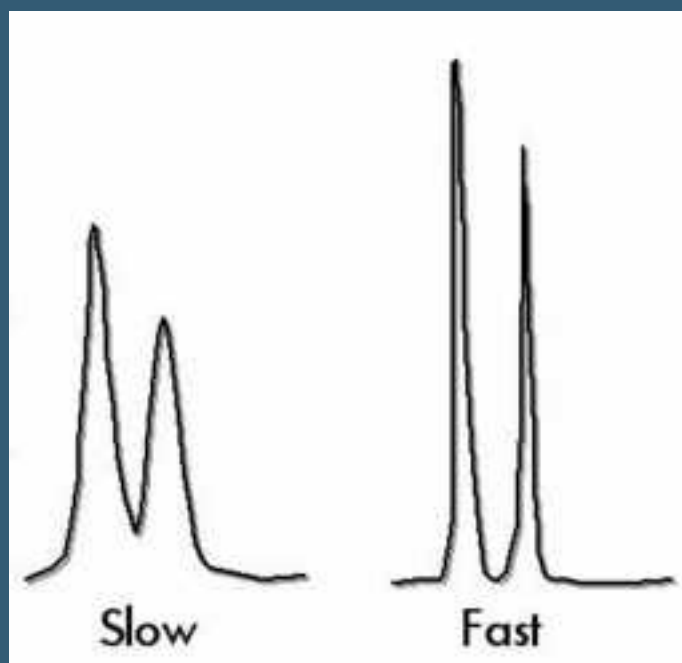
„split“



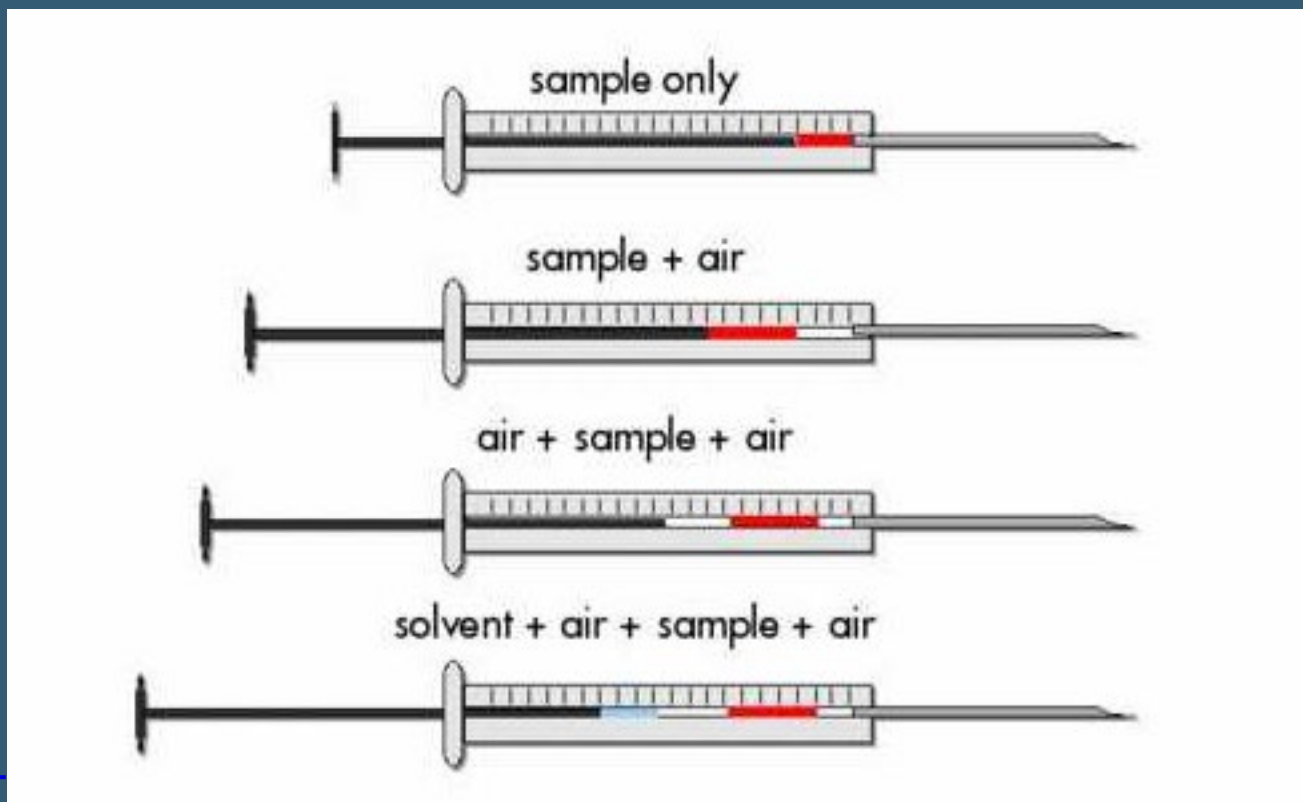
DÁVKOVACÍ STŘÍKAČKA



RYCHLOST DÁVKOVÁNÍ



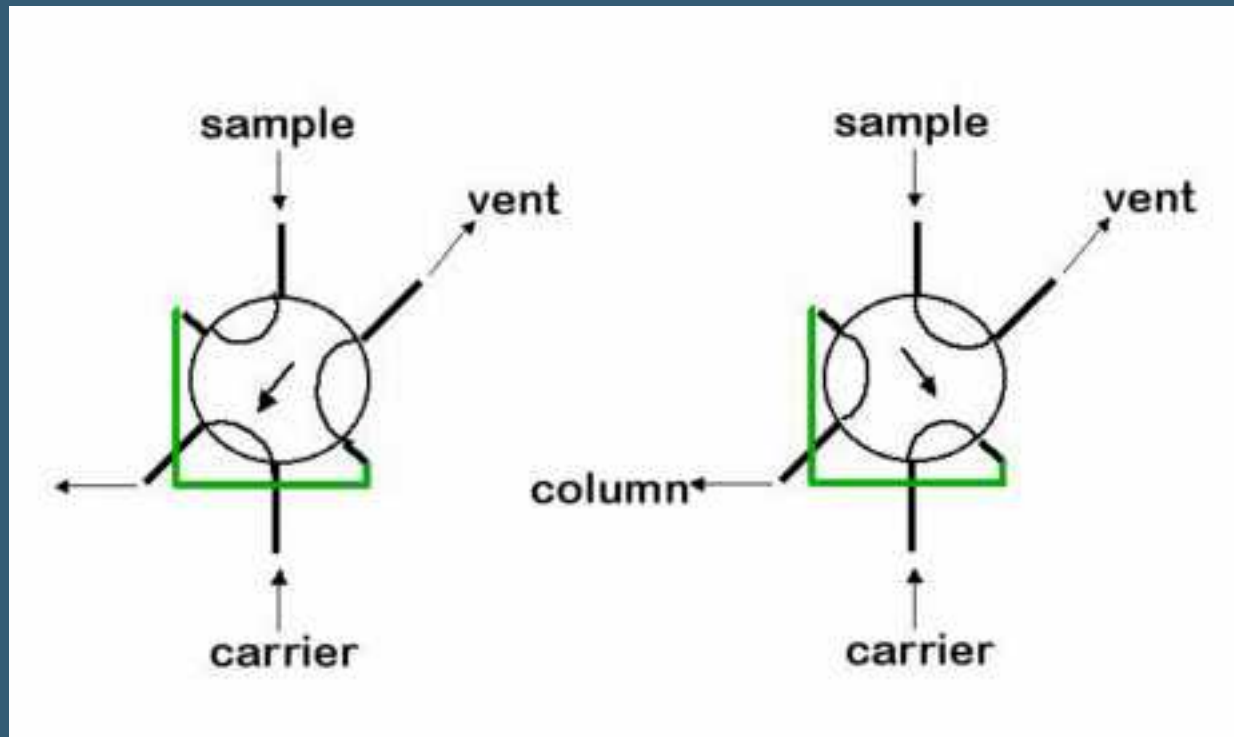
ZPŮSOB DÁVKOVÁNÍ



AUTOMATICKÉ DÁVKOVAČE



VENTILEM

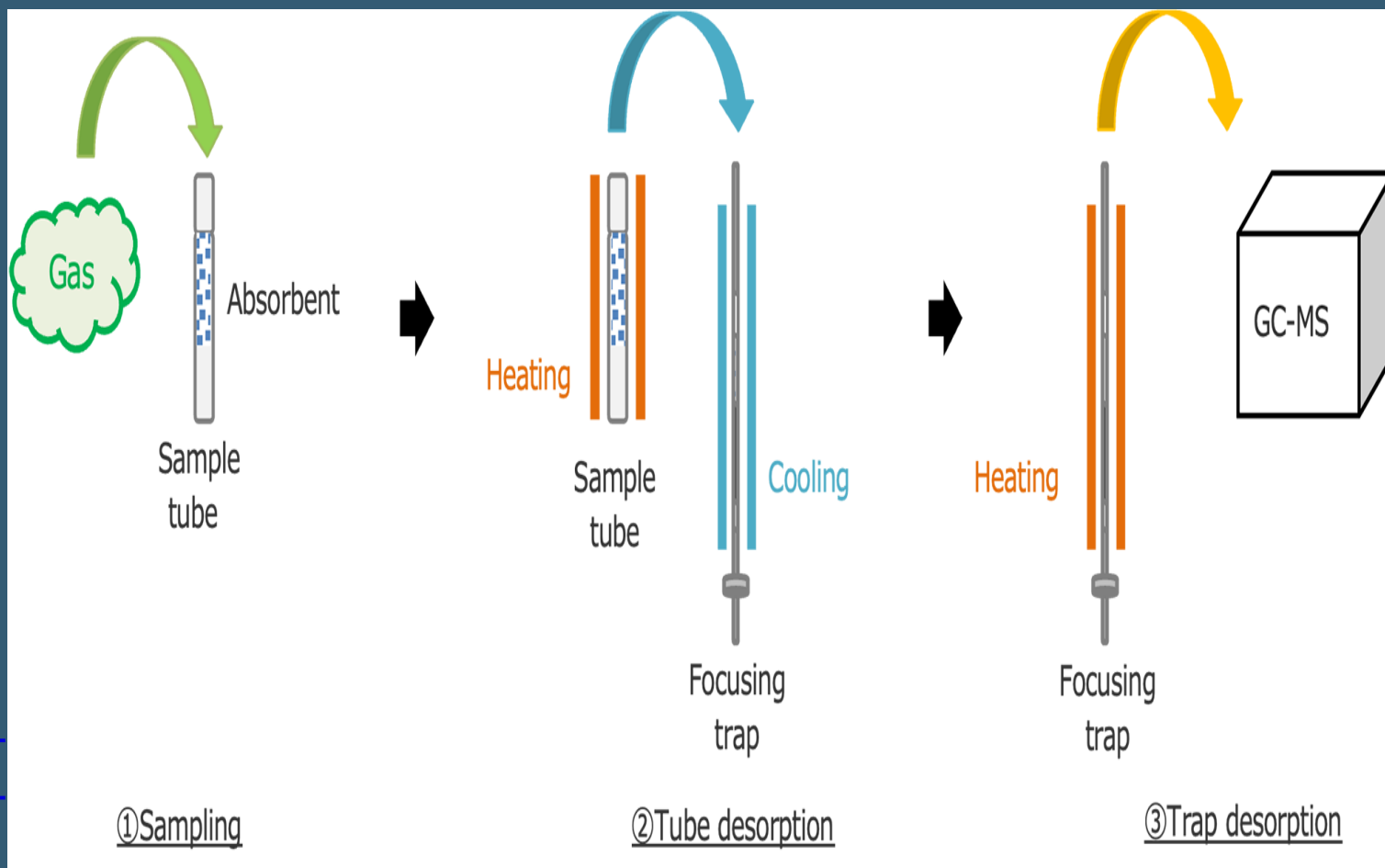


VENTIL

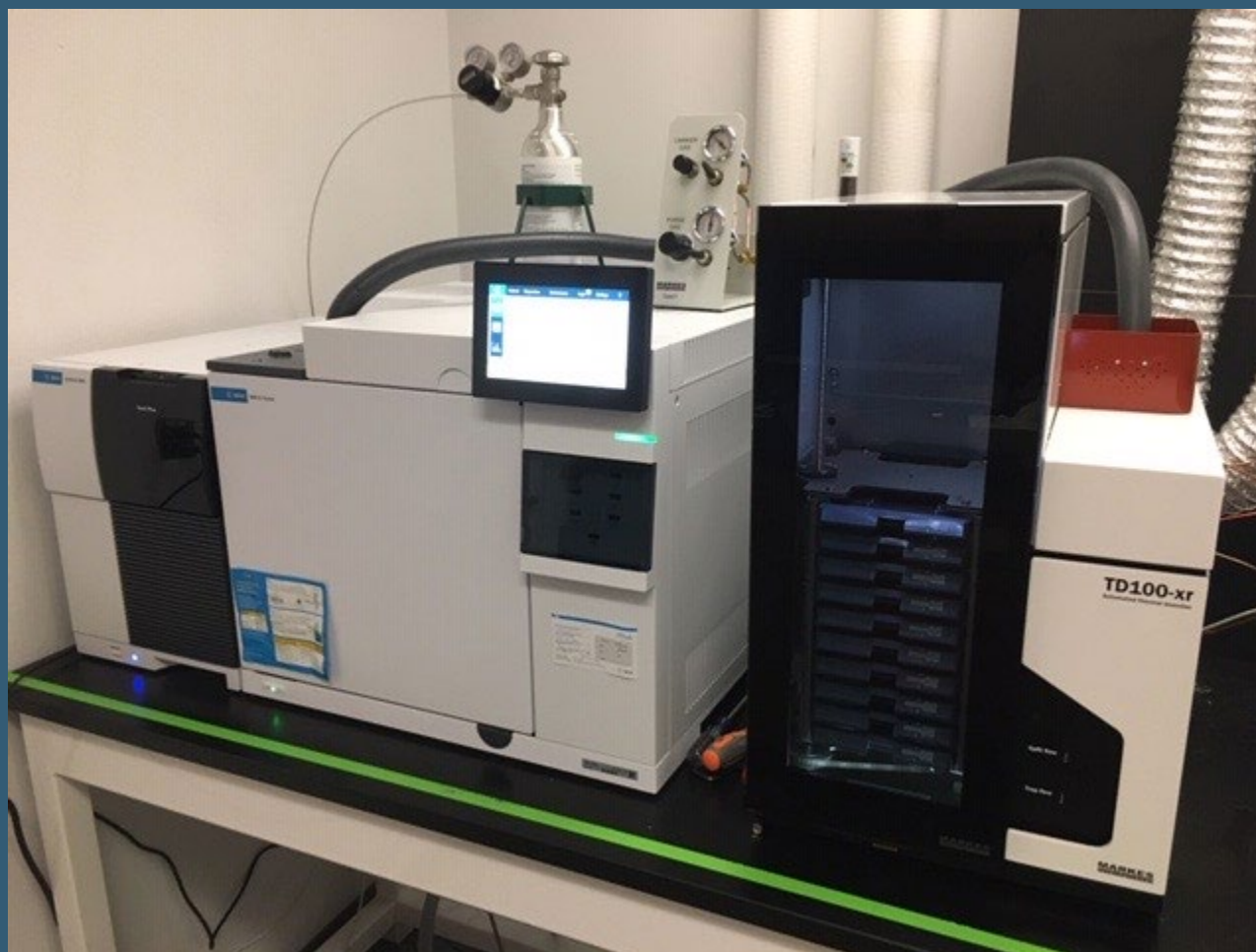


M U N I
S C I

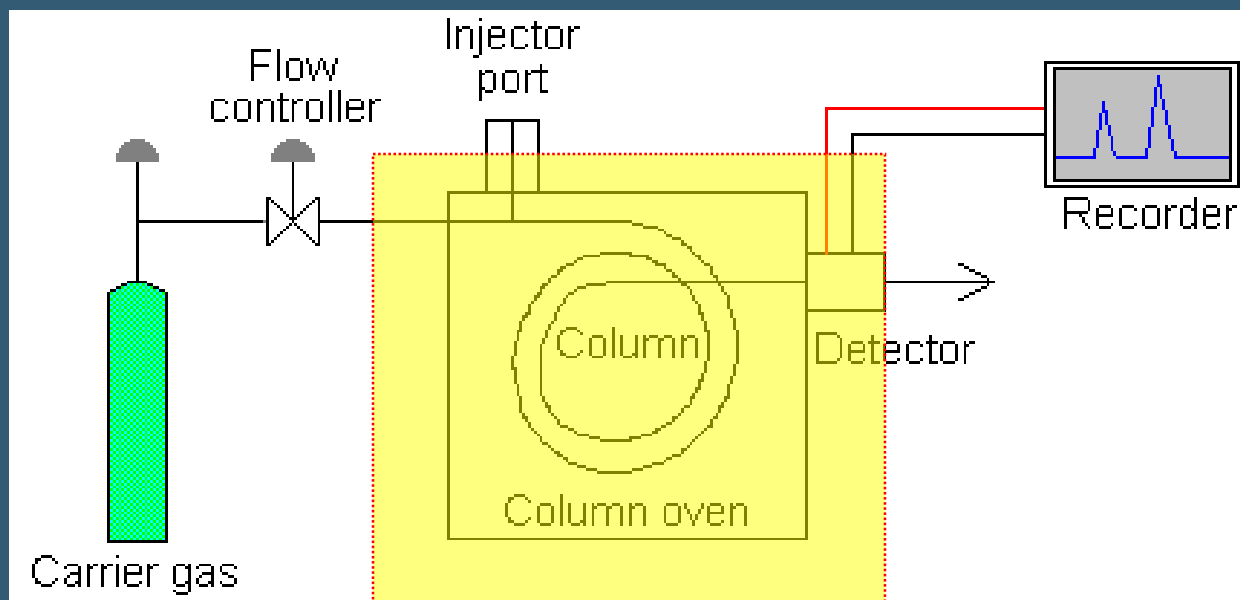
DÁVKOVÁNÍ TERMÁLNÍ DESORPCÍ



TERMOSTATOVÁNÍ



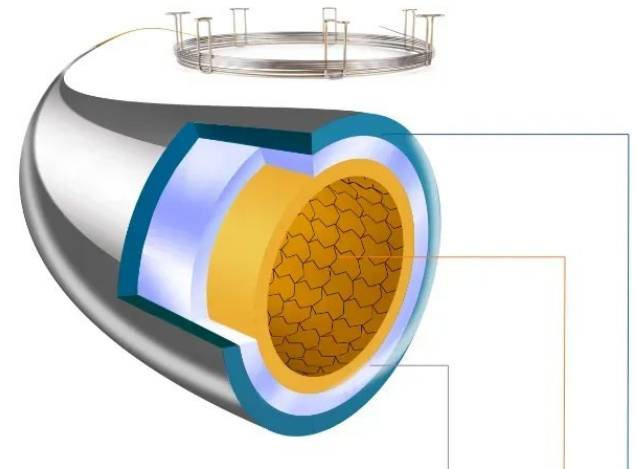
TERMOSTATOVÁNÍ



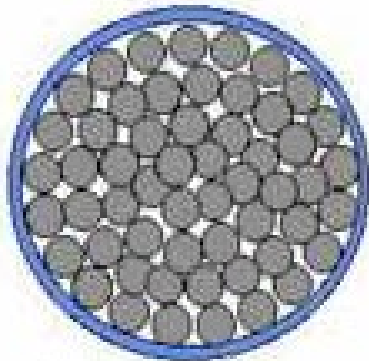
KOLONY


- Náplňové – ¼“ OD – ocel, sklo
délka 1m
- Kapilární – 0,1 – 0,5 mm ID –
křemen, ocel, sklo
délka –10 - 100 metrů

KOLONY



Packed

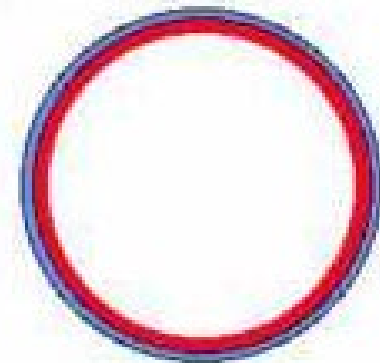


-  bead column
-  porous layer
-  conventional

open (capillary)

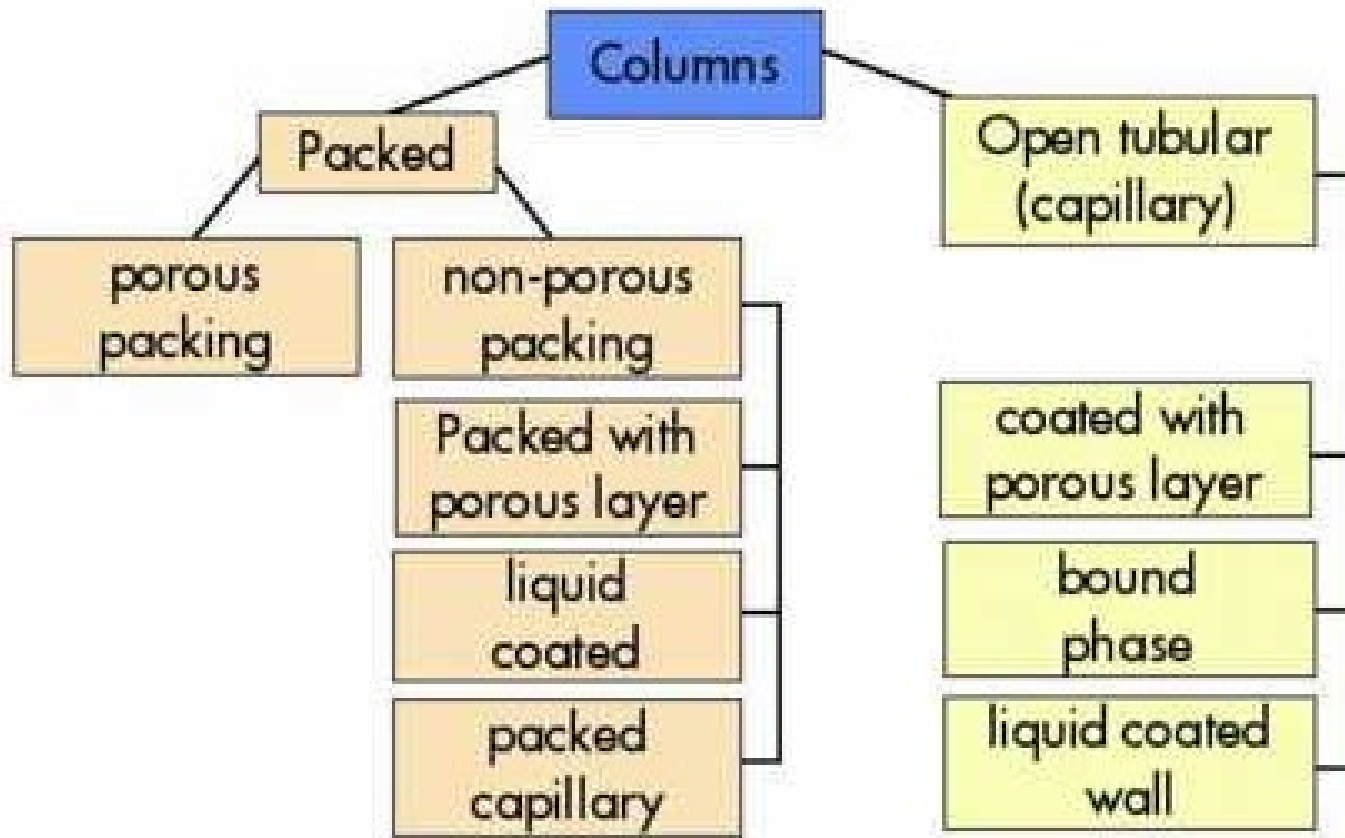


Porous
Layer
Open
Tube



Wall
Coated
Open
Tube

KOLONY



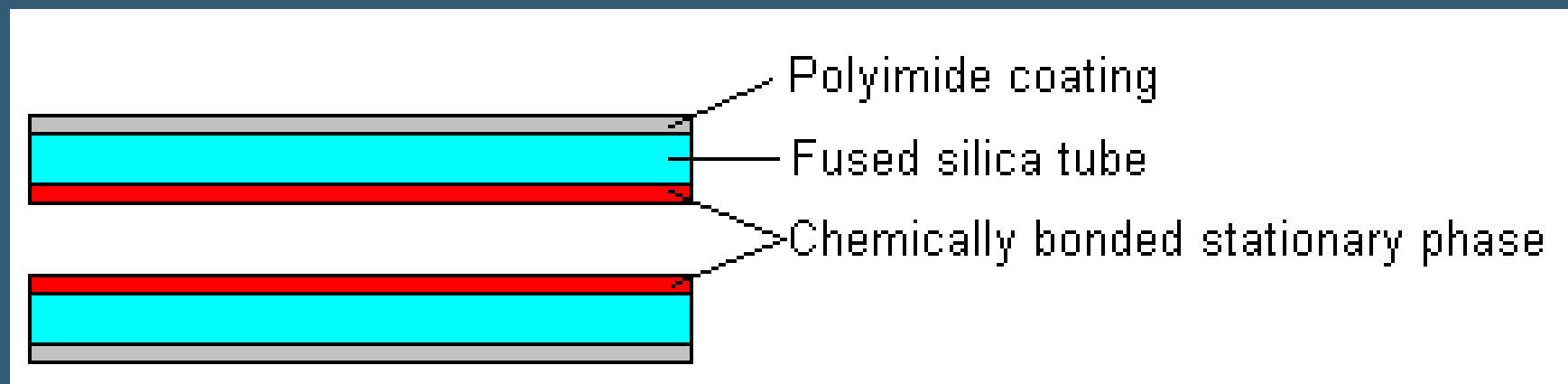
NÁPLŇOVÁ KOLONA

KAPILÁRNÍ KOLONA



MUNI
SCI

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

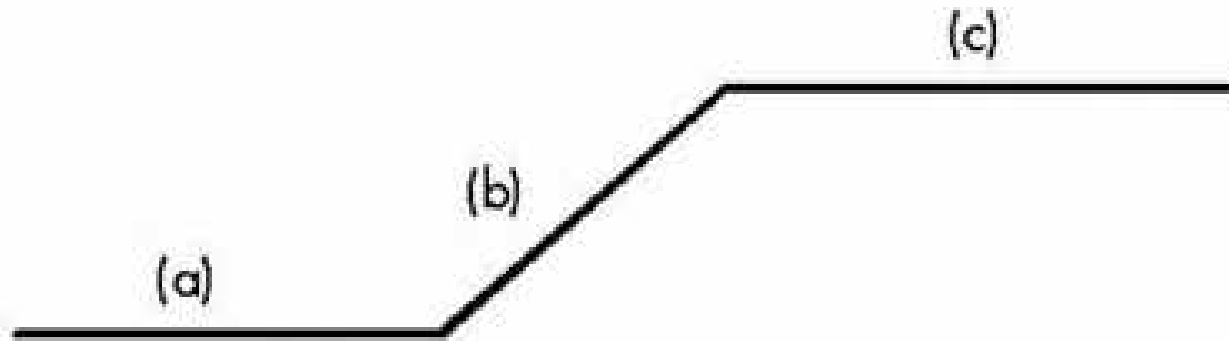
- Izotermální



- 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

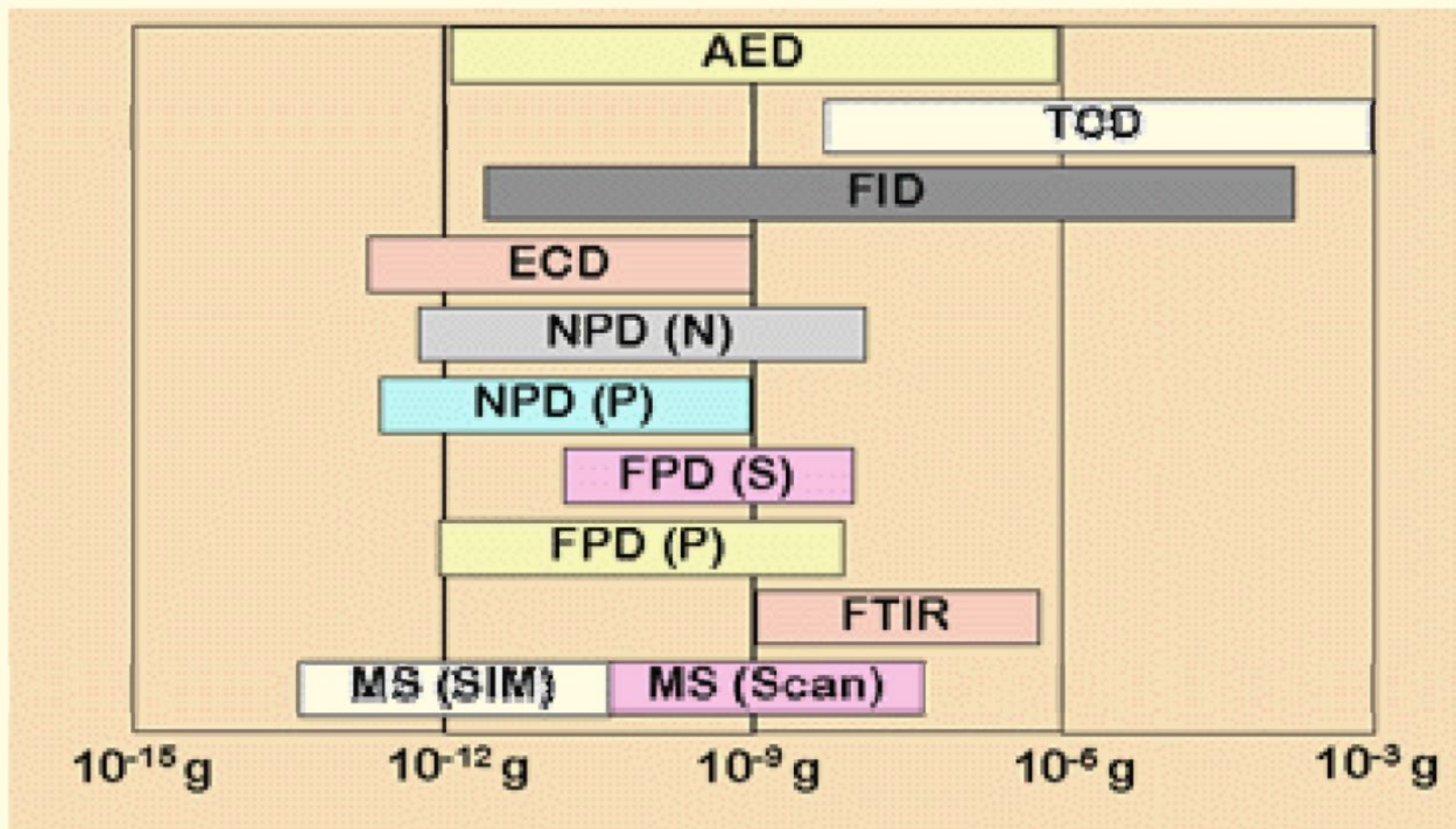
Univerzální x Selektivní

DETEKTORY

Tepelně-vodivostní	Tepelná vodivost
Plamenově-ionizační	Ionizace (uhlovodíky)
Dusíko-fosforový	N,P - určité formy
Elektronového záchytu	Elektronegativní struktury
Atomově-emisní	Emisní záření
Plamenově-fotometrický	P, S - určité formy
Fotoionizační	Absorbce UV
Chemiluminiscenční	Excitace (O₃, F₂)
FTIR	IČ + Fourierova transformace
Hmotnostní	Ionizace

DETEKTORY

Citlivost a pracovní rozsah GC detektorů

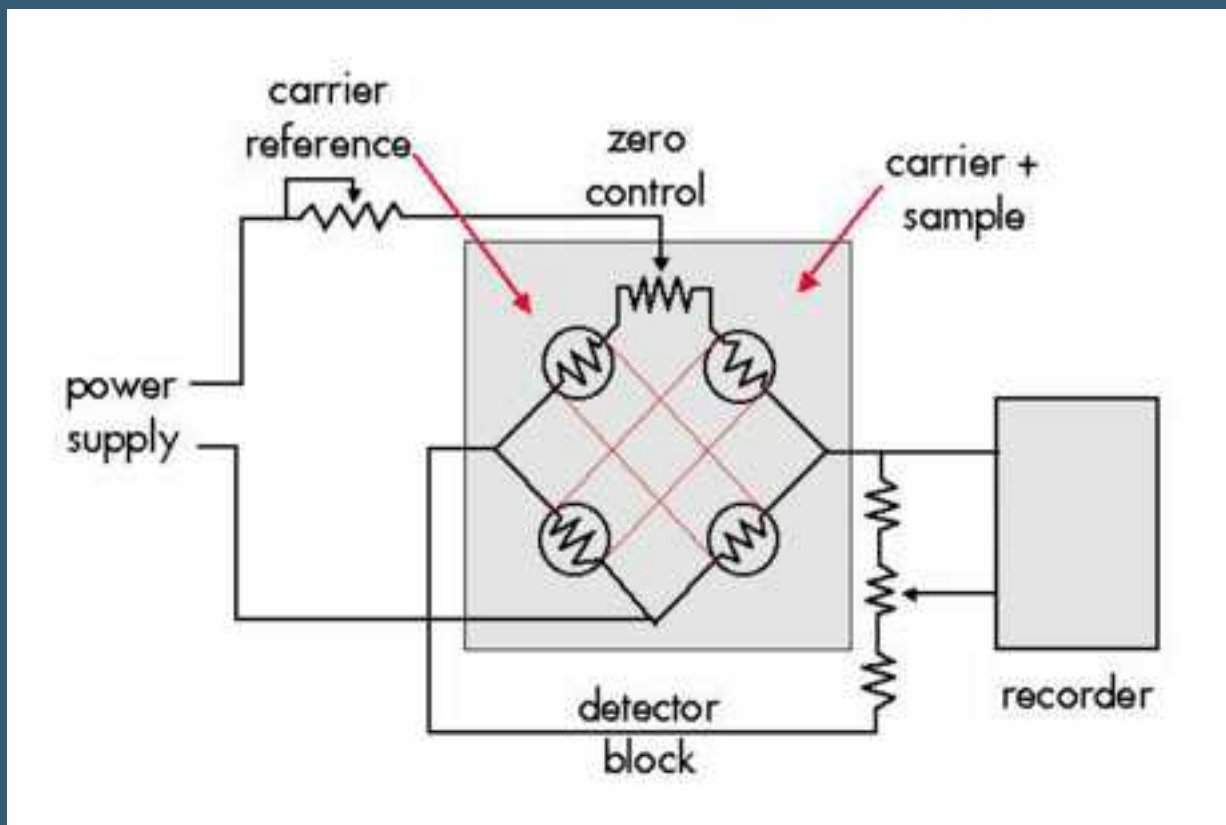


TEPLOTNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR

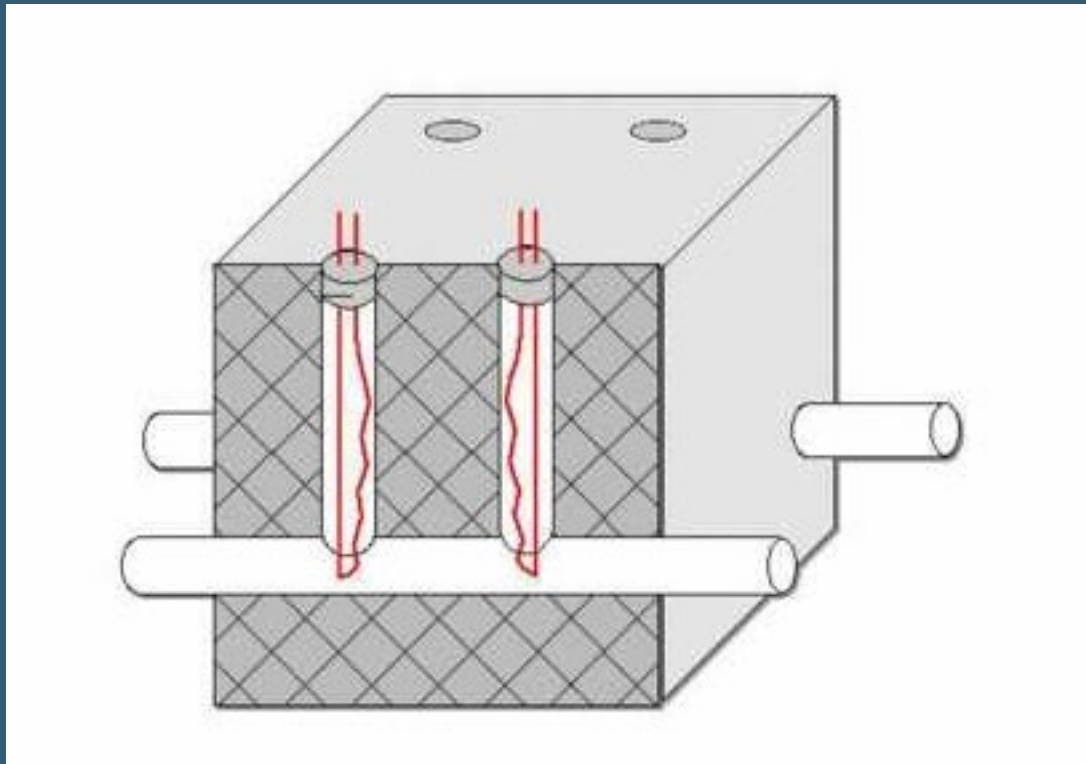
TCD

- 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

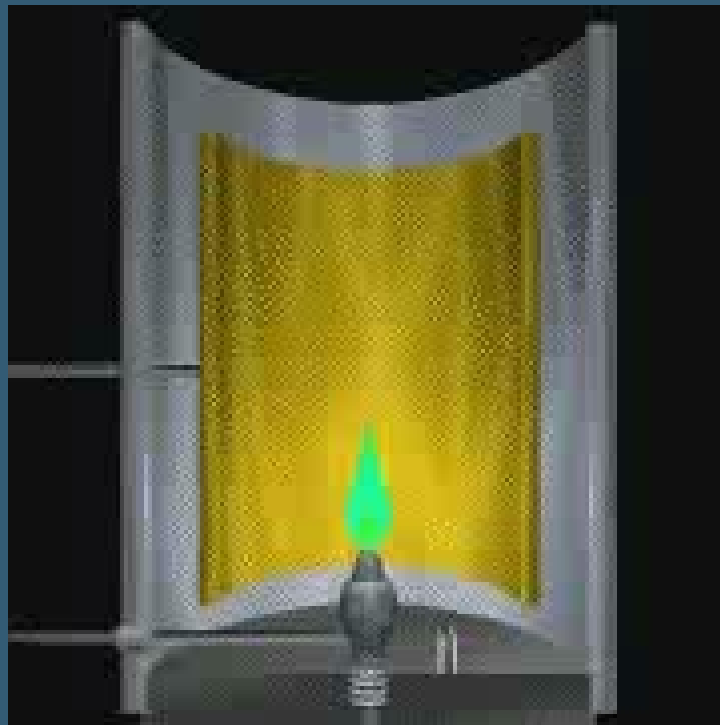


PLAMENOVĚ IONIZAČNÍ DETEKTOR FID

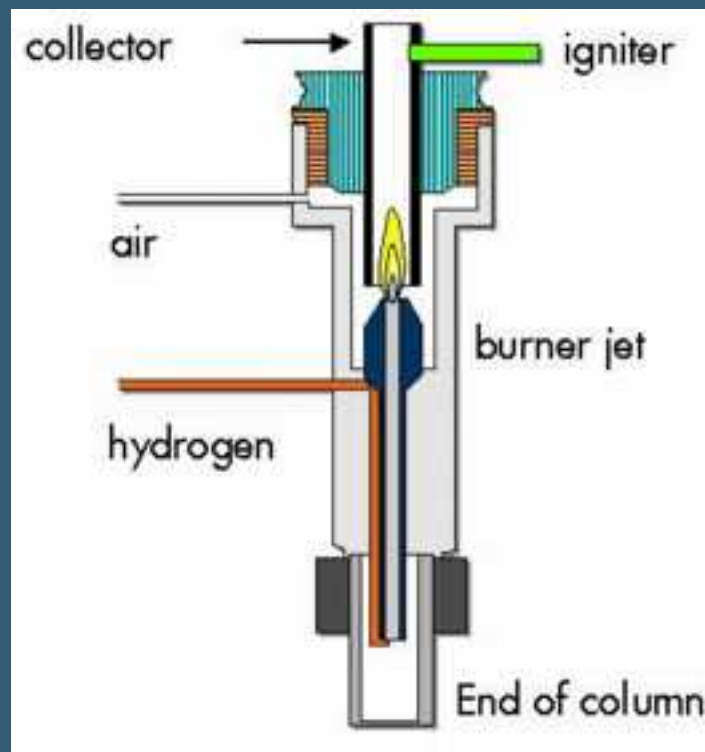
- Specifický
- Destruktivní
- Lineární rozsah – 10^7

- Princip – ionty vznikající spalováním vzorku vyvolávají nárůst proudu

PLAMENOVĚ IONIZAČNÍ DETEKTOR FID



PLAMENOVĚ IONIZAČNÍ DETEKTOR FID

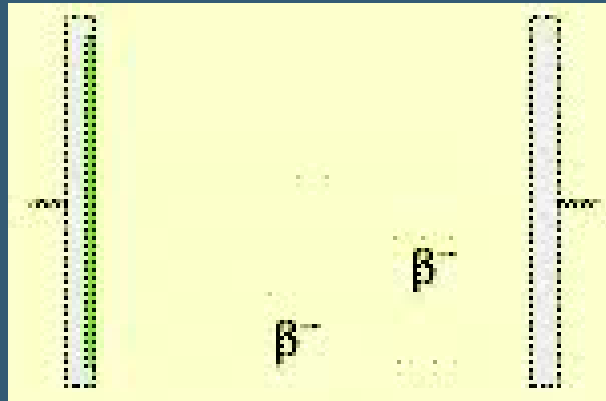


DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU ECD

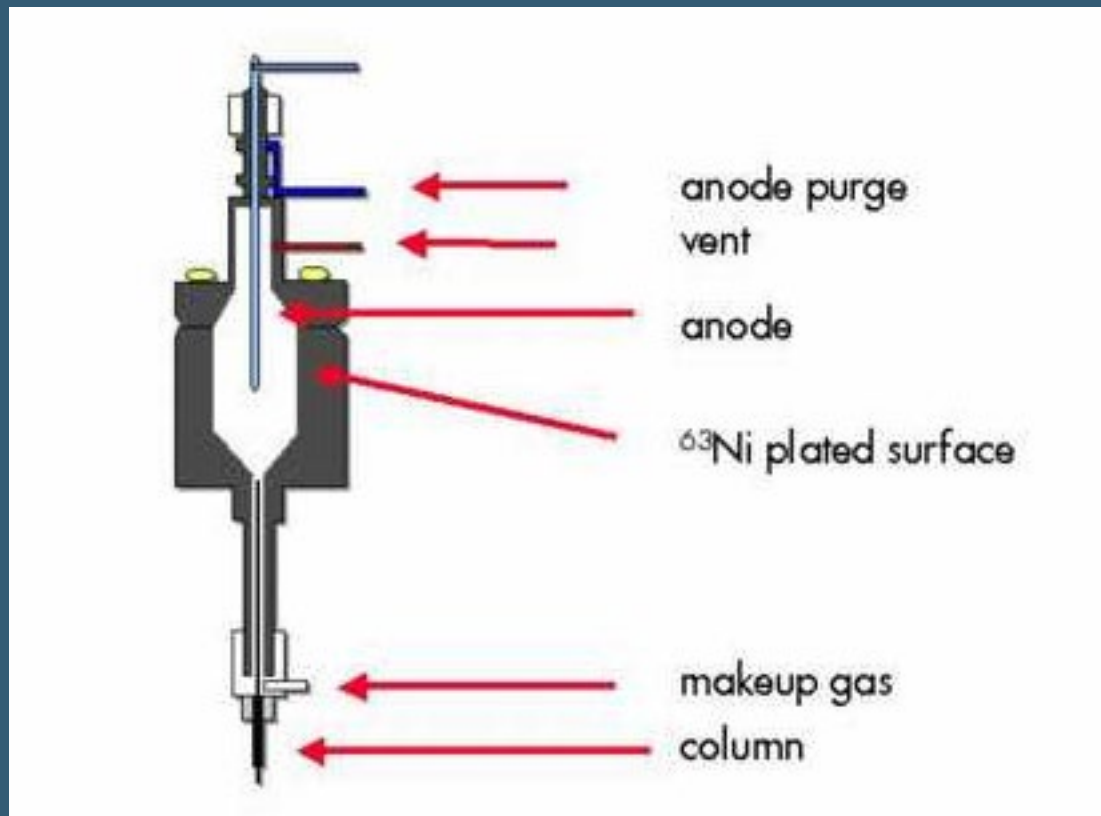
- Specifický
- Nedestruktivní
- Lineární rozsah – 10^4
- Princip – interakce β^- částic vzorkem vyvolává pokles proudu

DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU ECD

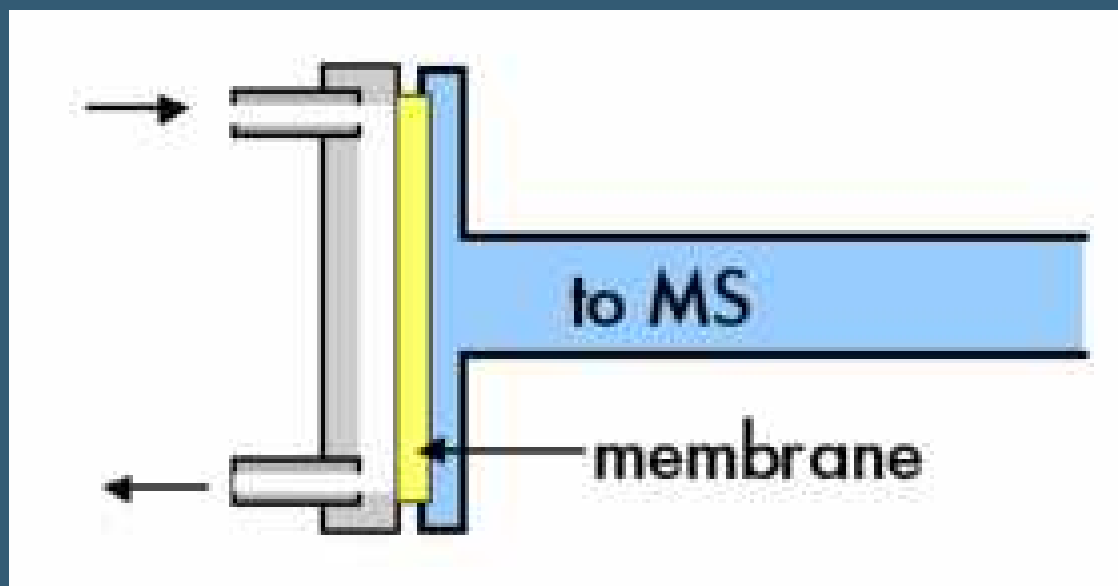
$\beta^- - {}_{63}\text{Ni}$



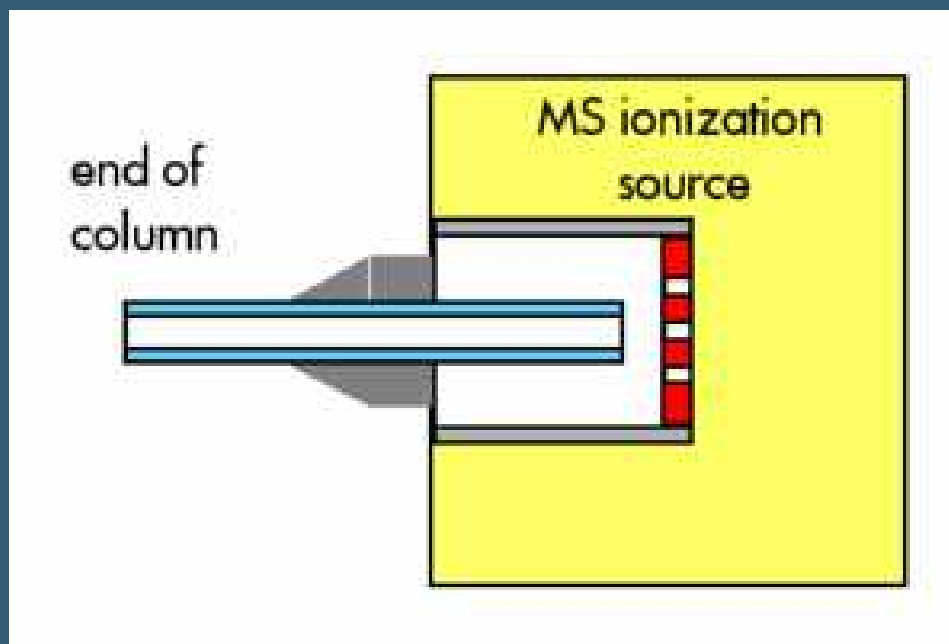
DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU ECD



GC MS PERMEAČNÍ INTERFACE

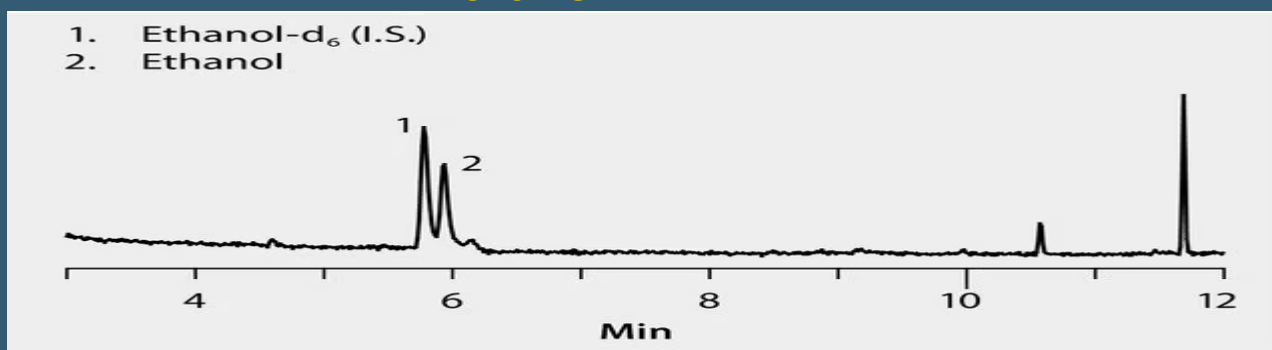


GC MS PŘÍMÉ SPOJENÍ

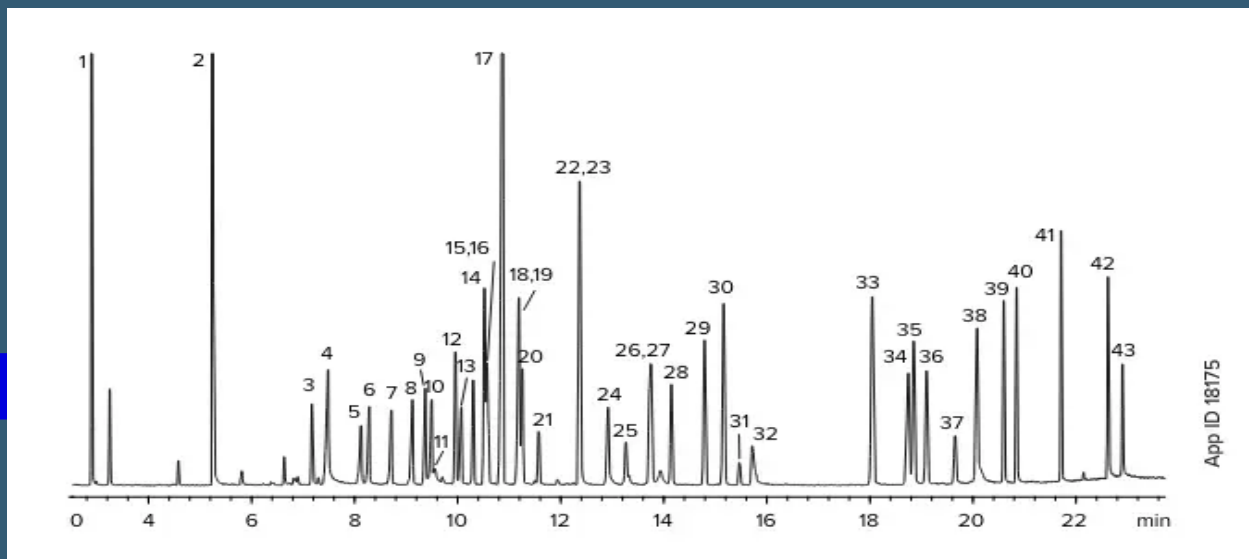


GC ANALYSA

Ethanol v krvi

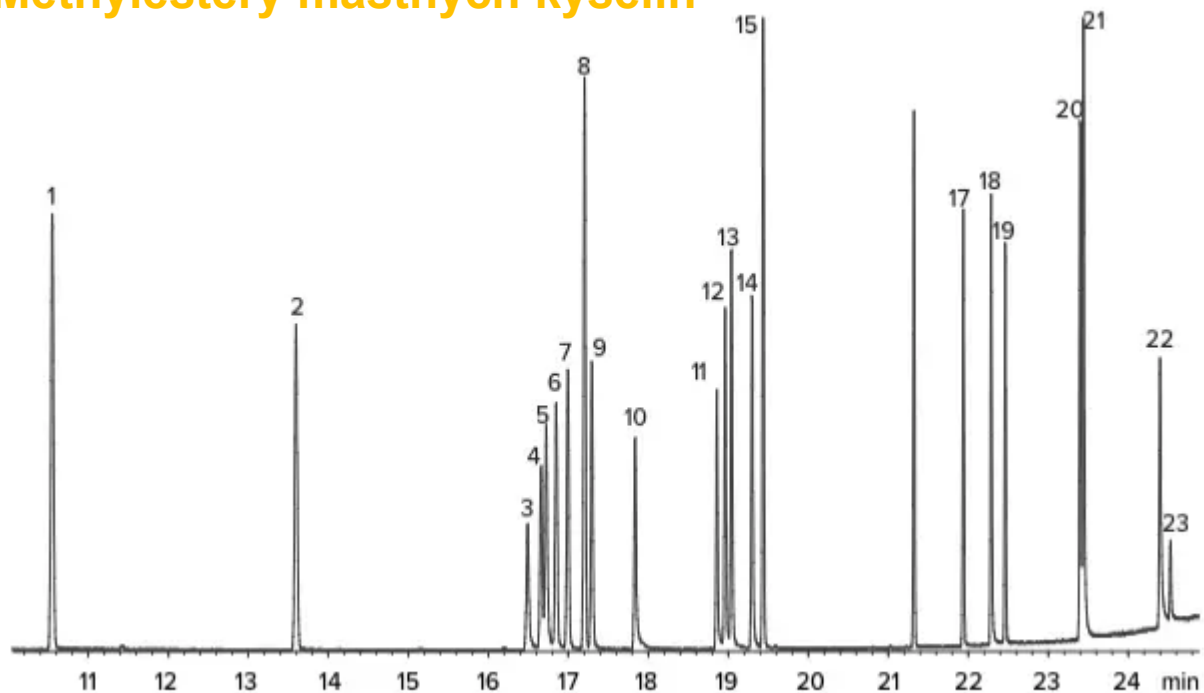


Léčiva a drogy



GC ANALYSA

Methylestery mastných kyselin



App ID 24539

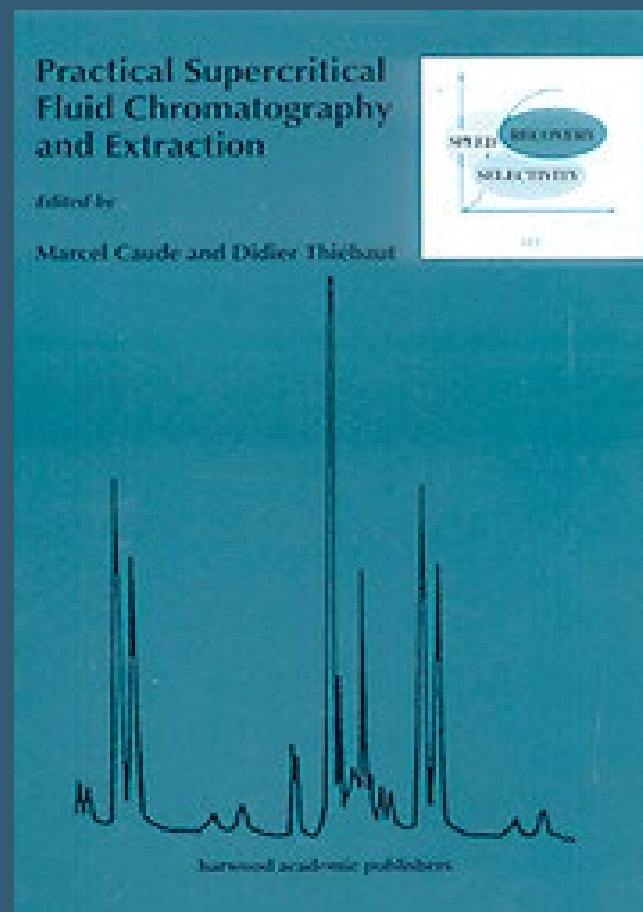
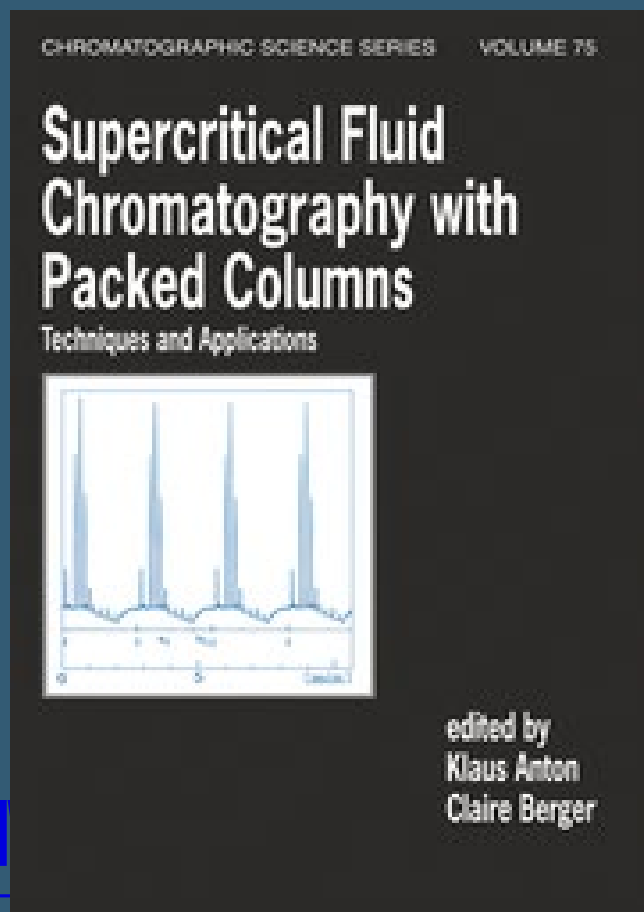
M U N
S C I

Kolona: Zebron ZB-FAME

Rozměry: 20 meter x 0.18 mm x 0.15 μ m, helium, 1 ml/min

Detekce: FID

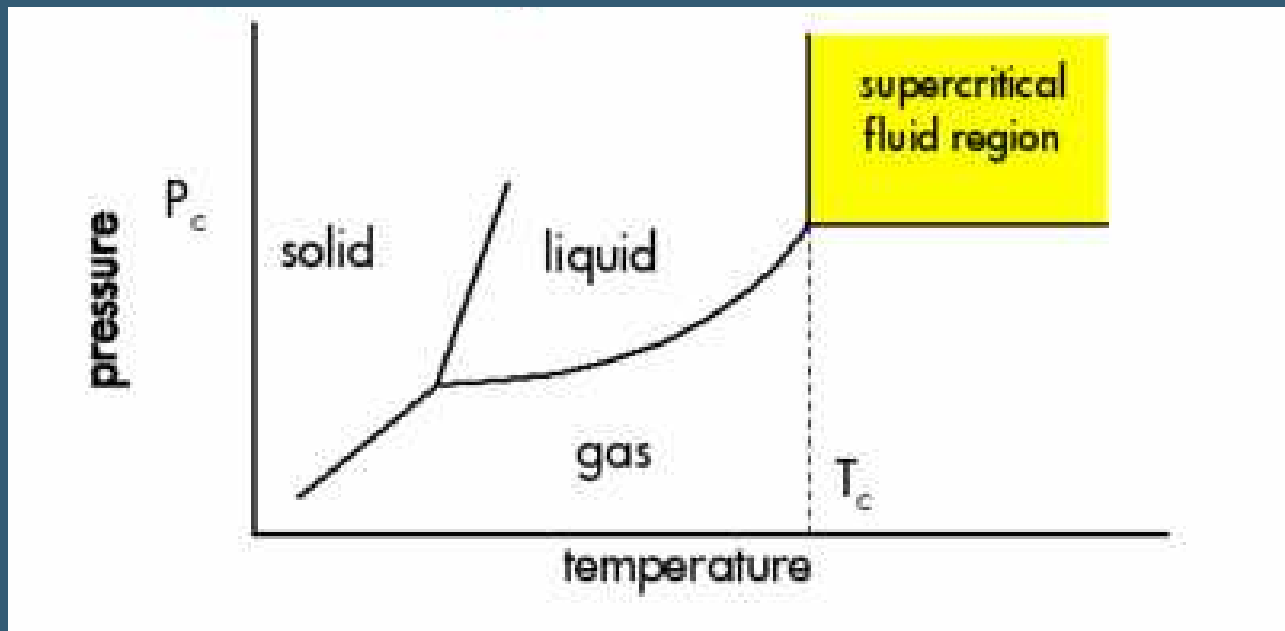
SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE



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 ₂	31.3	72.9	0.96
N ₂ O	36.5	72.5	0.94
NH ₃	132.5	112.5	0.40
n-C ₅	196.6	33.3	0.51
n-C ₄	152.0	37.5	0.50
CCl ₂ F ₂	111.8	40.7	1.12
CHF ₃	25.9	46.9	-----

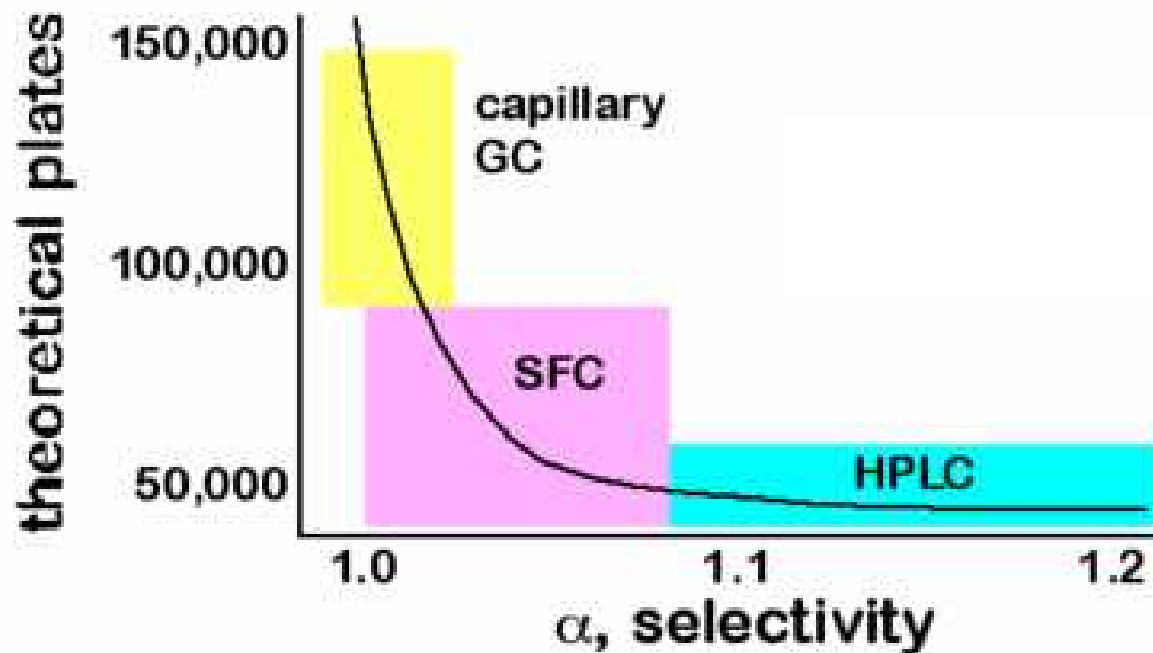
*density in g/ml at 400 atm

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 $k' = 2$

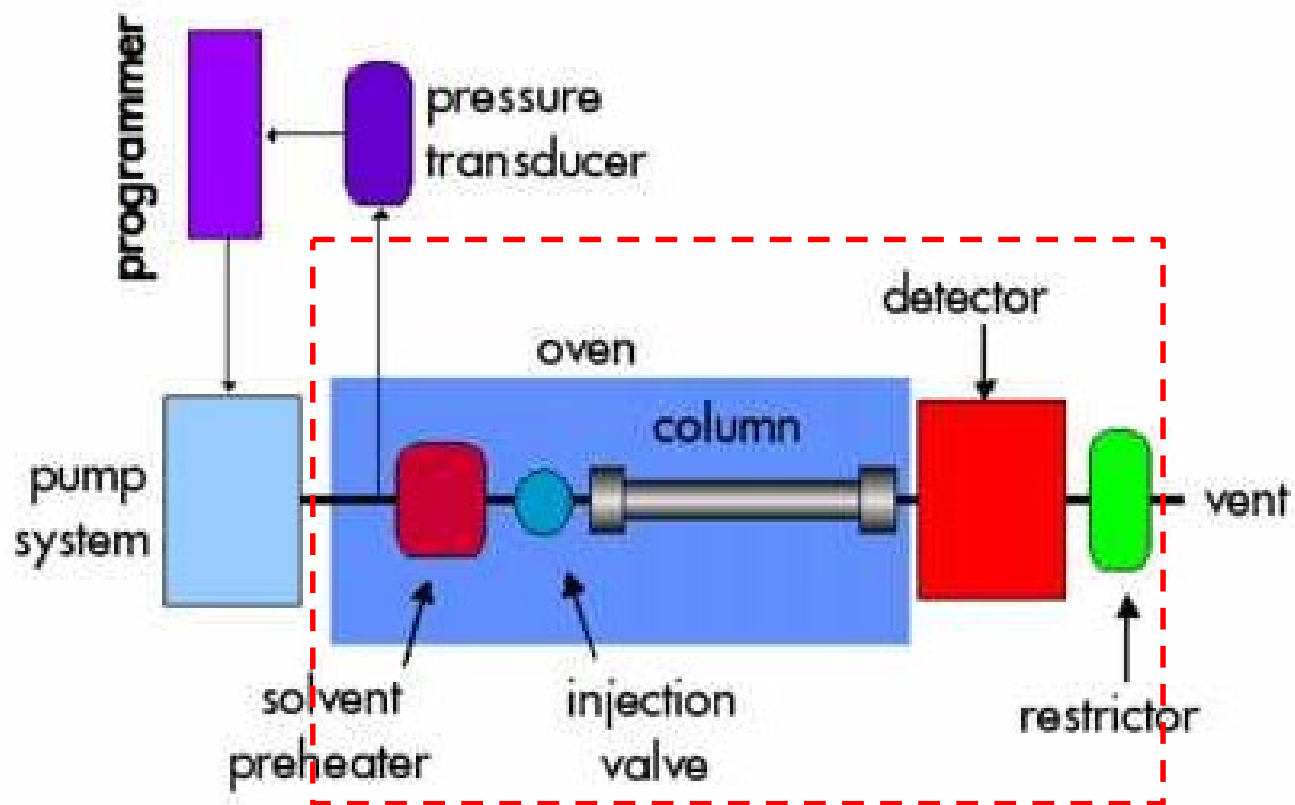
VÝHODY

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

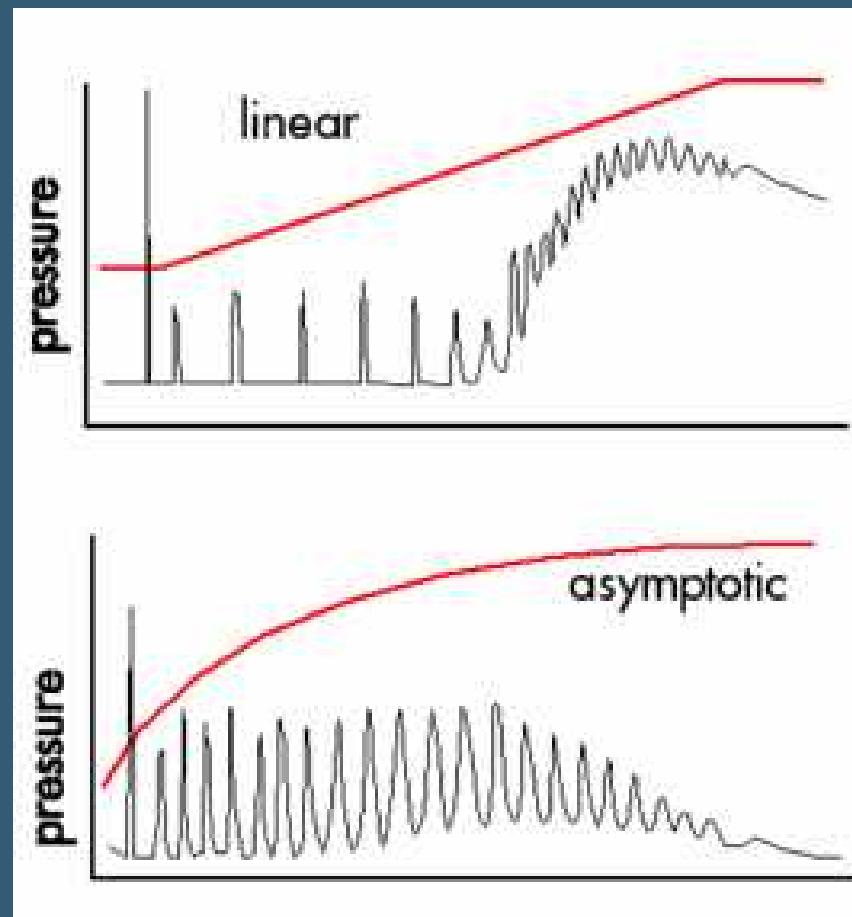
NEVÝHODY

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

SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE



SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRRAFIE



SFC ANALYSA

Bioanalýza (tokoferoly),

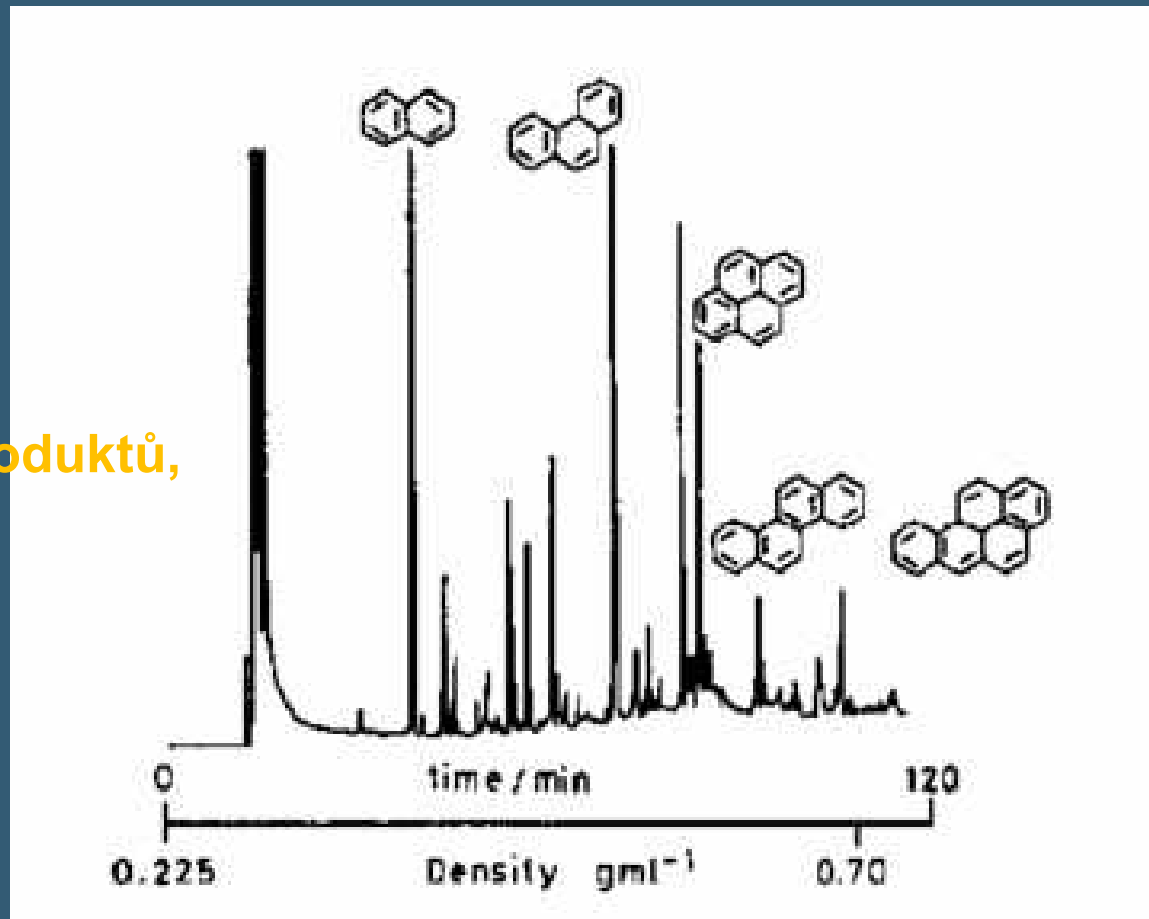
Lipidomika

Dopingová kontrola

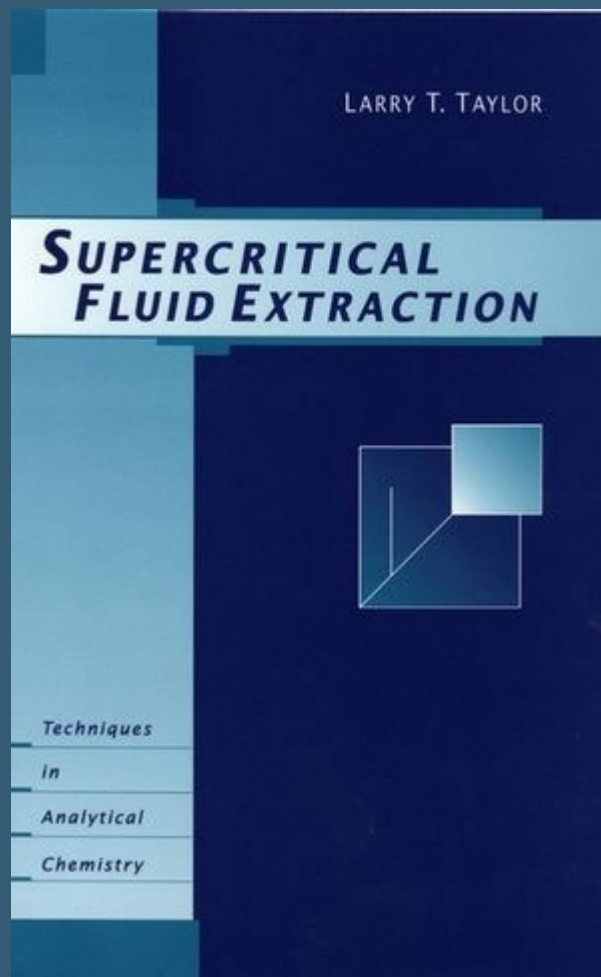
Analýza potravin

Kontrola průmyslových produktů,

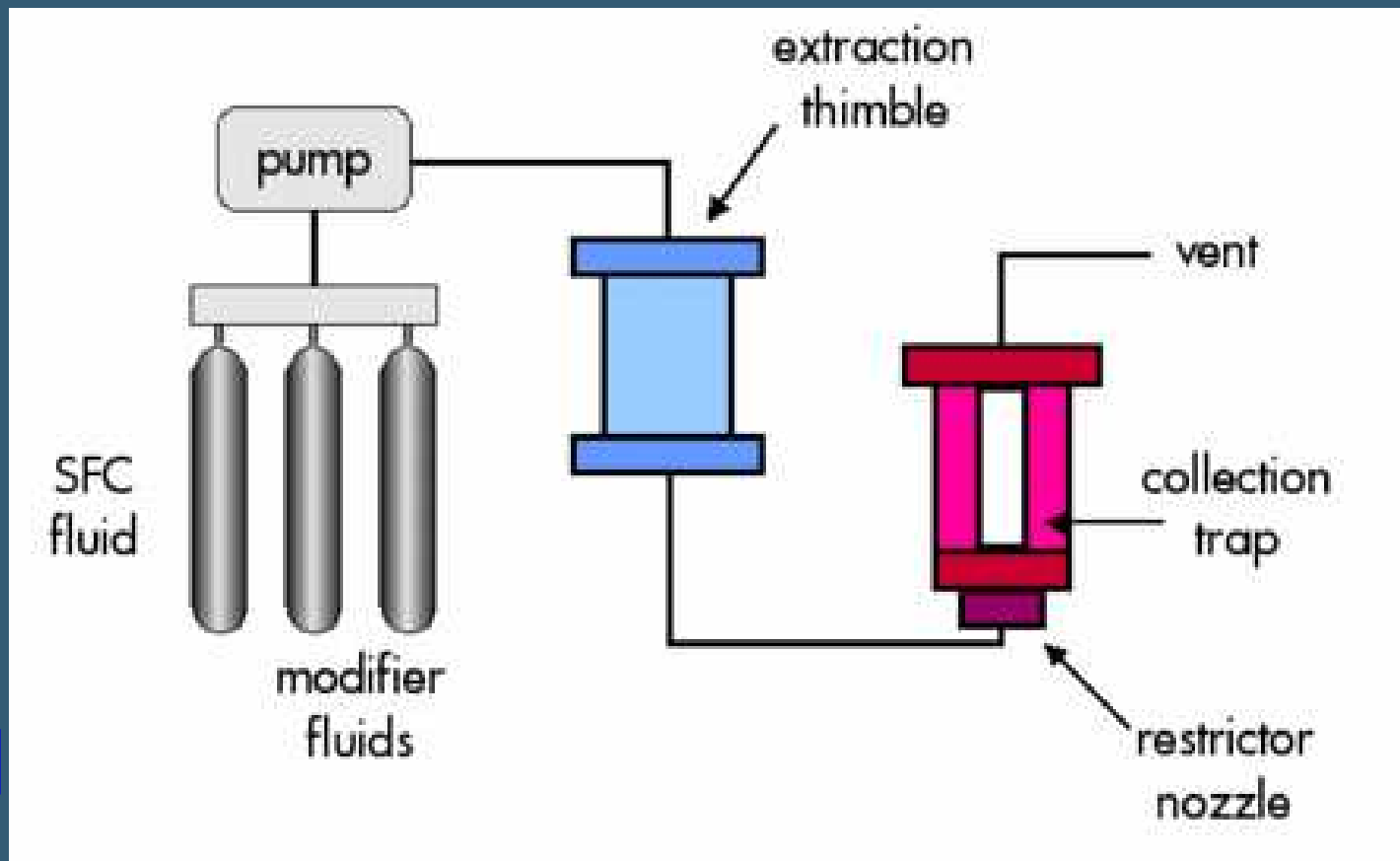
Životní prostředí



SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE



SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE



SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE

- Používané kapaliny - CO_2
 - levný,
 - netoxický
 - nízká kritická teplota

- Požívané modifikátory
 - HCl – kyselé prostředí
 - NH_3 – 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 (CO_2) \Rightarrow jednoduché odpaření

SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE

- Nevýhody

- maticové efekty – neg. vliv matric;
interakce se vzorkem
i extrakční tekutinou

- složitá instrumentace – vysoké teploty a tlaky; práce s plyny
(restriktor)

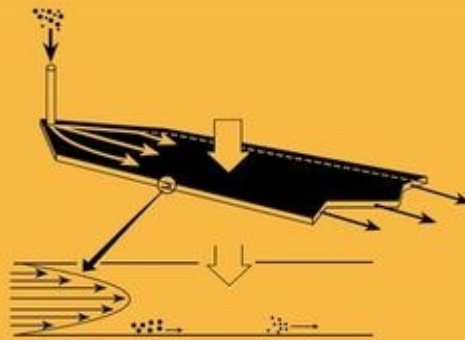


FFF FIELD FLOW FRACTIONATION

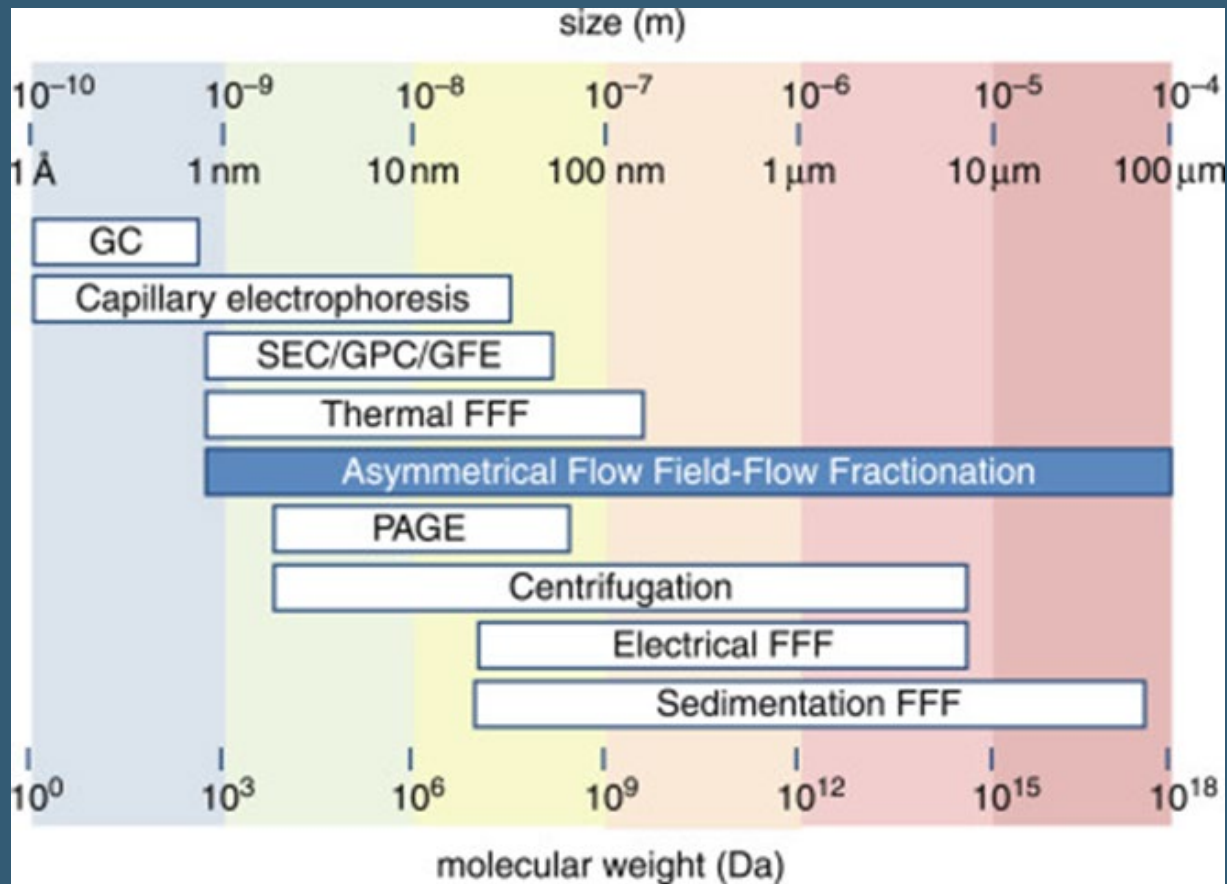
FIELD FLOW FRACTIONATION PRINCIP

FIELD-FLOW FRACTIONATION HANDBOOK

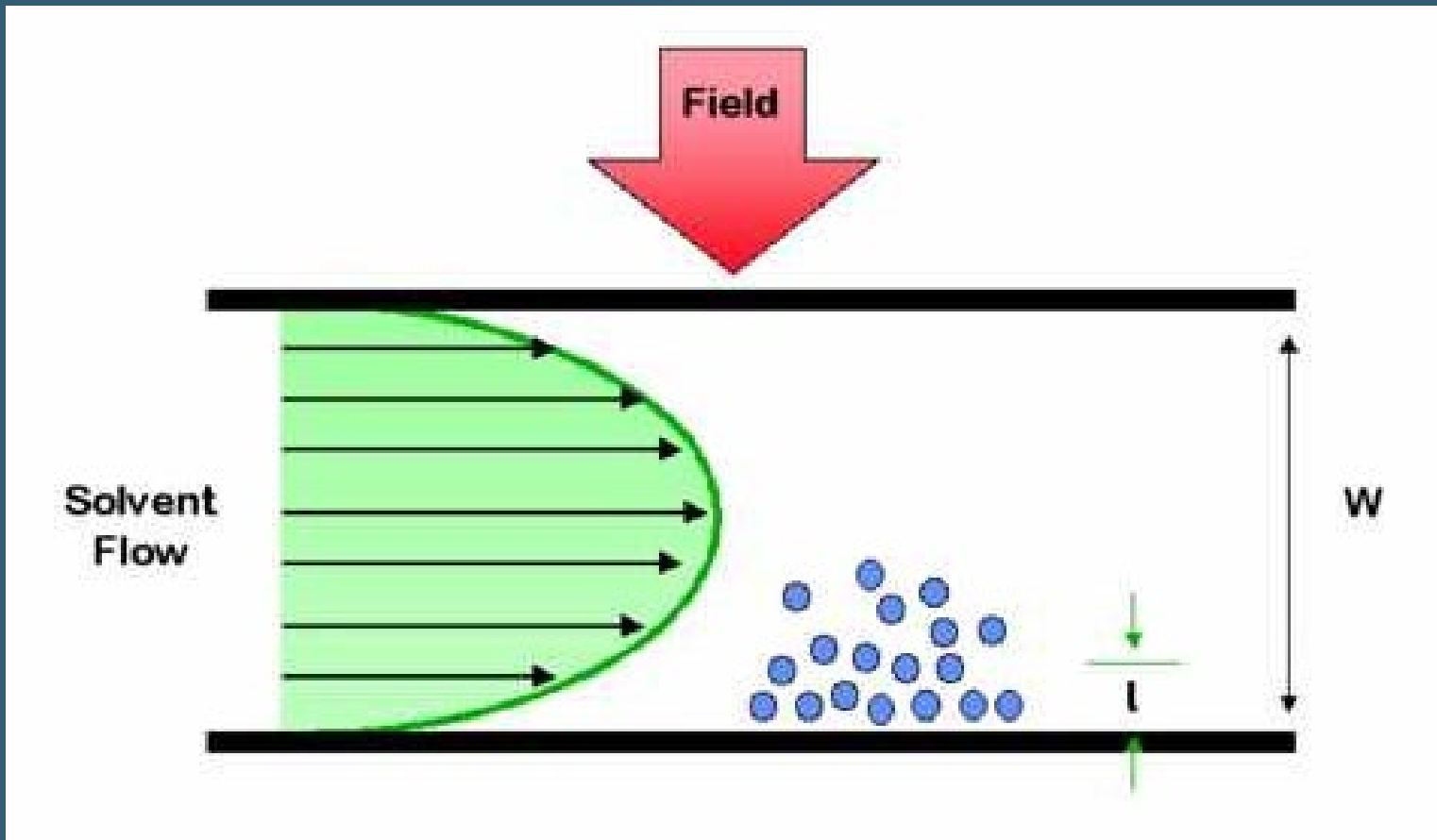
EDITED BY
MARTIN SCHIMPF
KARIN CALDWELL
J. CALVIN GIDDINGS



FIELD FLOW FRACTIONATION PRINCIP



FIELD FLOW FRACTIONATION PRINCIP



POUŽÍVANÁ POLE

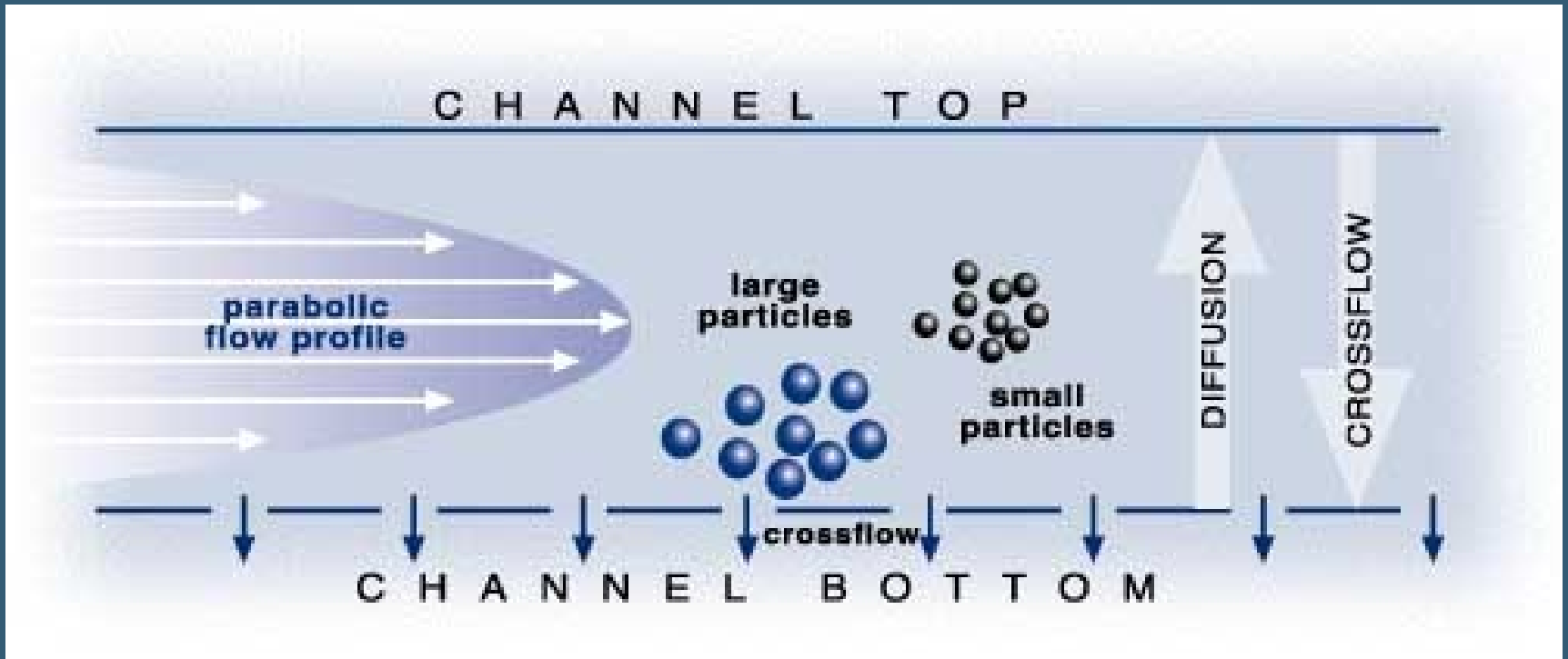
- Sedimentační

- Termální

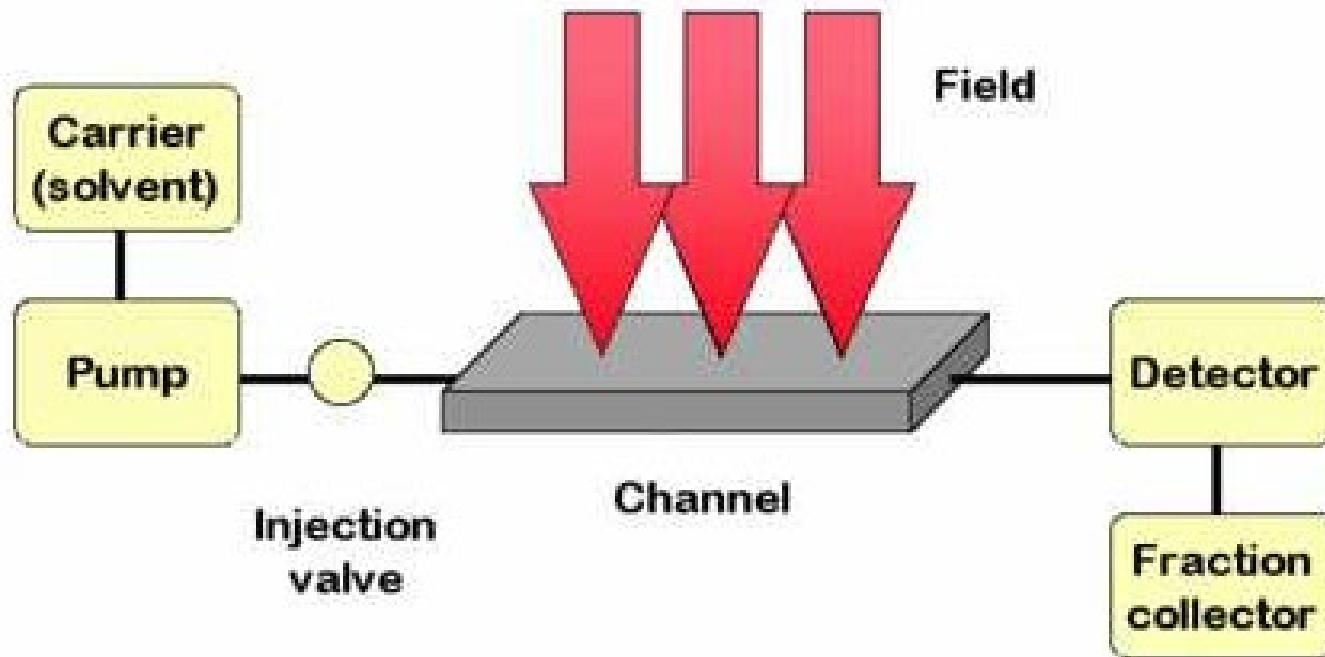
- Hydraulické

- Elektrické

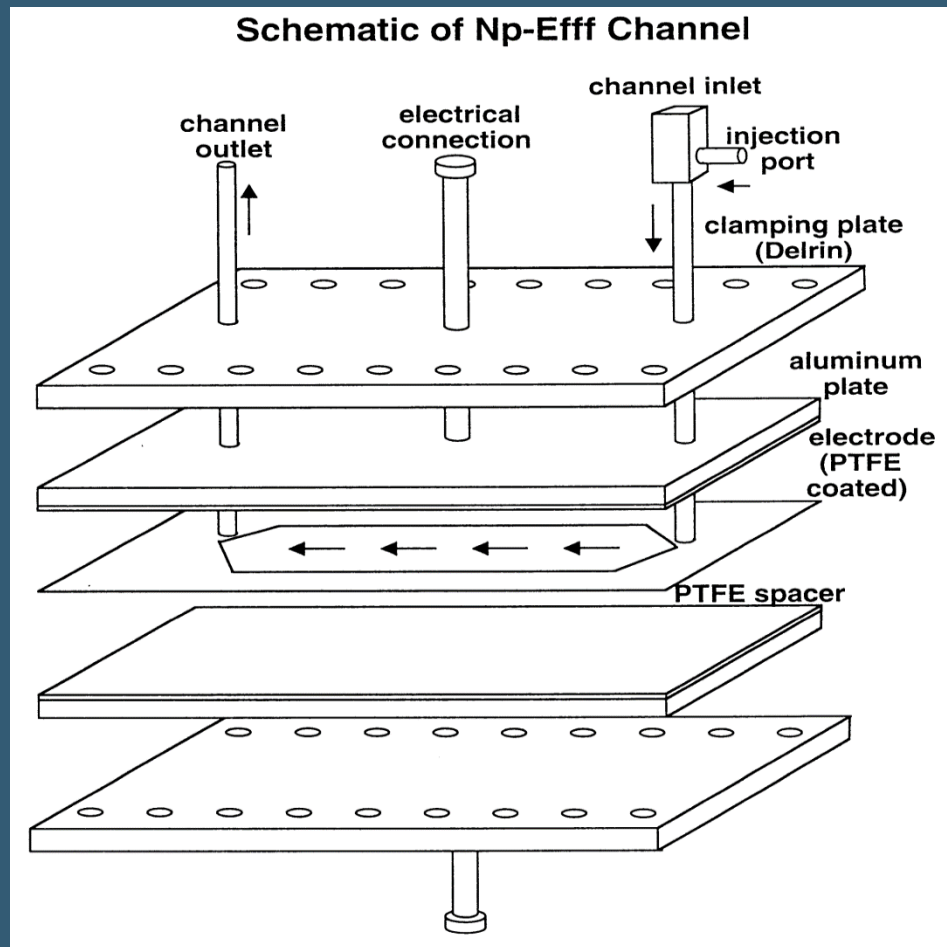
FIELD FLOW FRACTIONATION PRINCIP



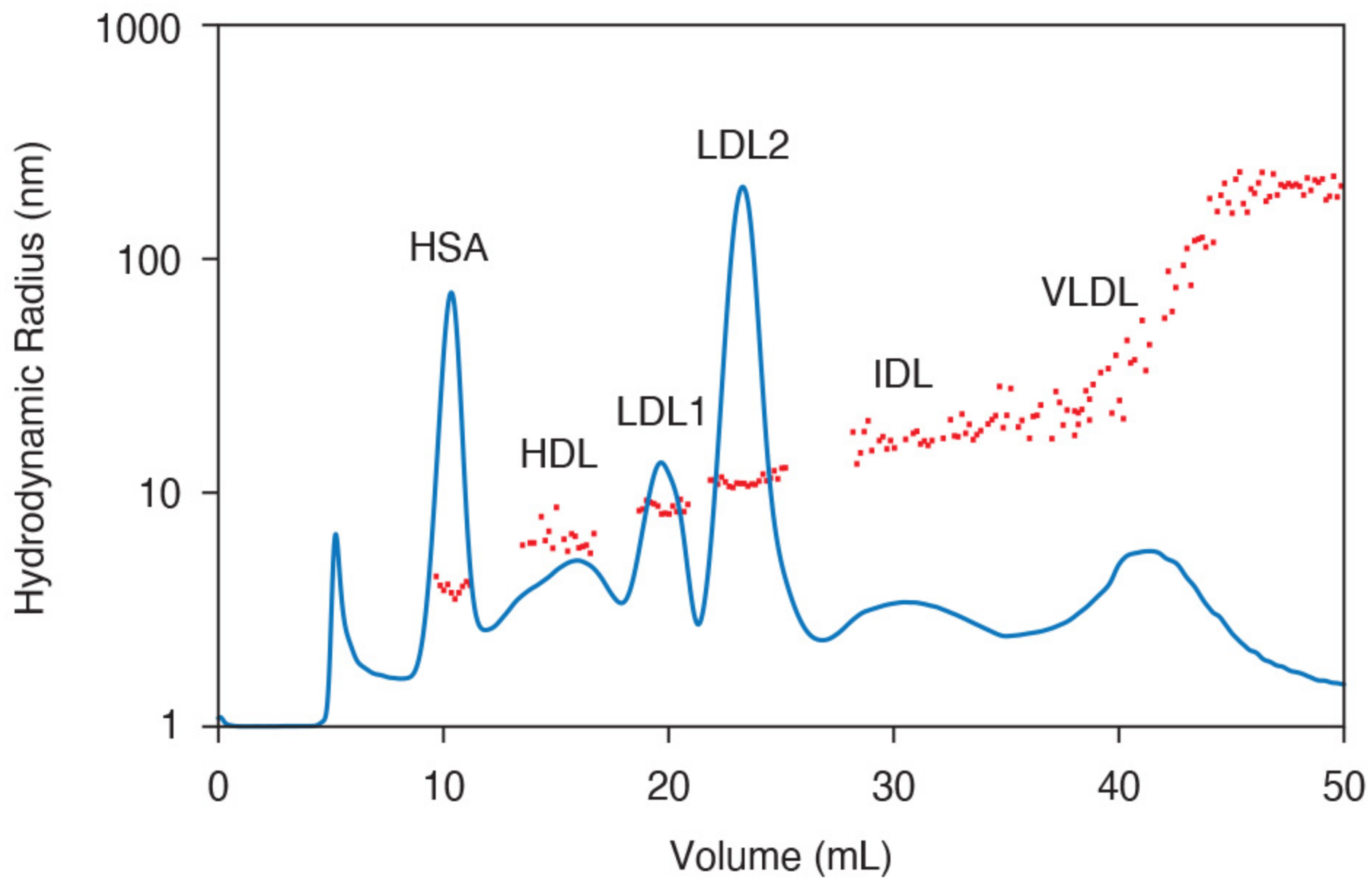
FIELD FLOW FRACTIONATION INSTRUMENTACE



FIELD FLOW FRACTIONATION INSTRUMENTACE







PREPARATIVNÍ FFF

