

CHROMATOGRRAFIE

- **Plynová chromatografie - GC**
- **Fyzikálně-chemická metoda dělení plynů a par využívající rozdělování složky mezi dvě nestejnorodé fáze, nepohyblivou (stacionární) a pohyblivou (mobilní), přičemž pohyblivou fází je plyn.**
 - dělení nejen plynů, ale i obecně všech **těkavých látek**, bez ohledu na jejich skupenství při laboratorní teplotě (bod varu do 400°C)
 - **NESMÍ DOCHÁZET K ROZKLADU LÁTEK**
 - stacionární fázi pevná látka - chromatografie plyn-pevná látka (GSC)
adsorpční vlastnosti stacionární fáze, vlastnosti nosného plynu
 - stacionární fázi kapalina - chromatografie plyn-kapalina (GLC).
rozpuštění složky ve stacionární fázi
kapalina tvořící stacionární fázi nanese na vhodném nosiči s velkým povrchem

Plynová chromatografie - GC

- při separaci dělené složky nesený kolonou inertním nosným plynem
- složky se dělí mezi nosný plyn a stacionární fázi
- stacionární fáze selektivně zadržuje určité komponenty na základě jejich rozdílných distribučních konstant dělení na koloně \Rightarrow vytvoří se zóny složek
 - vliv tenze par (bodu varu), vliv polaritý látek
 - („PODOBNÉ SE ROZPOUŠTÍ V PODOBNÉM“)
 - nepolární látky zadržovány nepolární stacionární fází
- více či méně rozdělené komponenty postupně opouští kolonu v proudu nosného plynu
- výstup z kolony sledován detektorem jako závislost odezvy detektoru na čase

Plynová chromatografie - GC

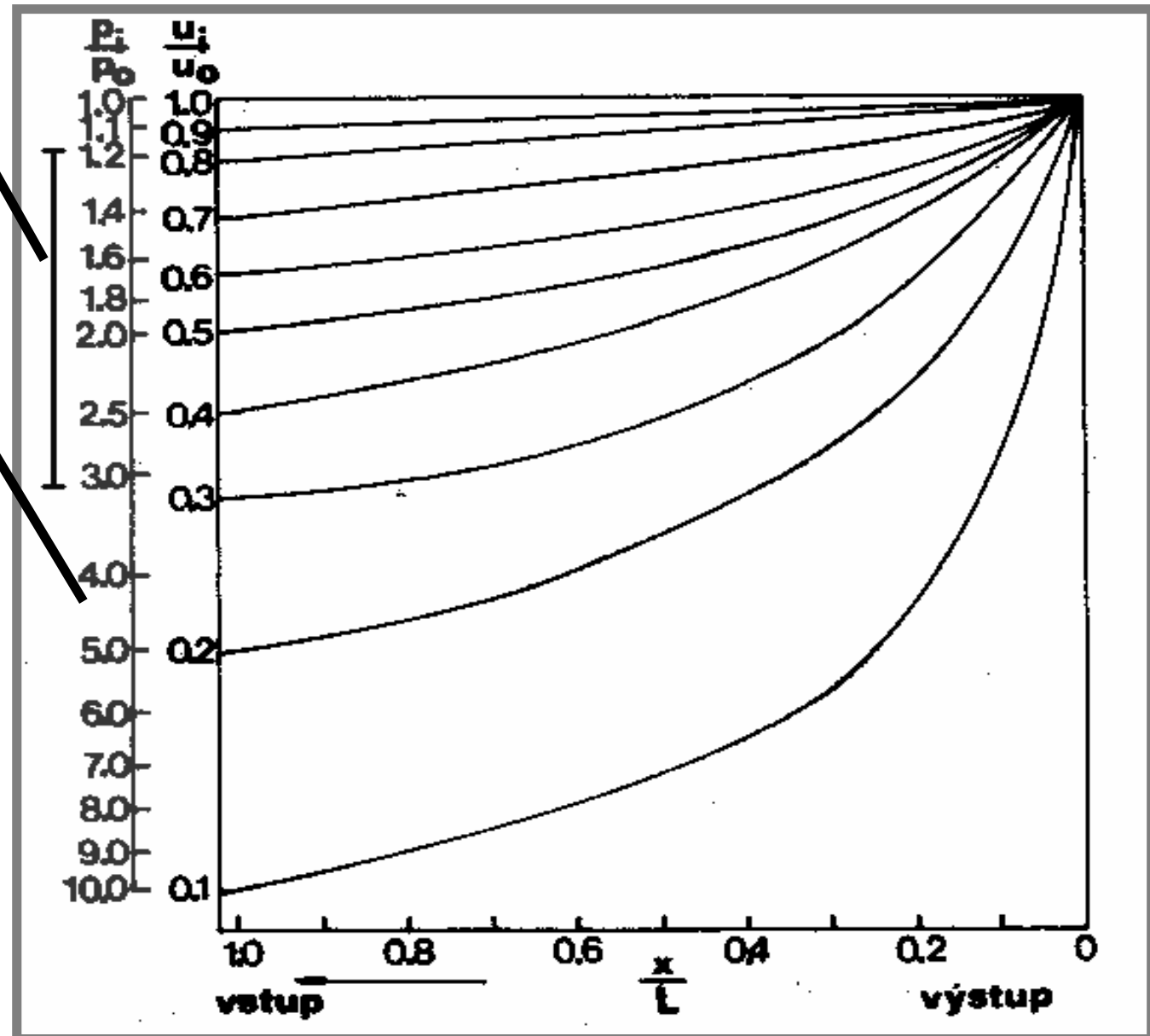
- **MOBILNÍ FÁZE = NOSNÝ PLYN**
 - **transport látek**
 - **sám nepřechází do stacionární fáze**
 - **používají se „PERMANENTNÍ PLYNY“**
 - **helium, dusík, argon, vodík - vysoká čistota, bez kyslíku**
- **problém STLAČITELNOST PLYNŮ**
 - **LINEÁRNÍ RYCHLOST TOKU MOBILNÍ FÁZE NENÍ KONSTATNÍ**
 - **nelineární TLAKOVÝ SPÁD na koloně**
 - **pokles tlaku na koloně - na výstupu běžně atmosférický tlak**
 - **zvýšení lineární rychlosti**

- **nelineární TLAKOVÝ SPÁD na koloně**
 - pokles tlaku na koloně, zvýšení lineární rychlosti

oblast
běžných hodnot
poměrů tlaku
na koloně

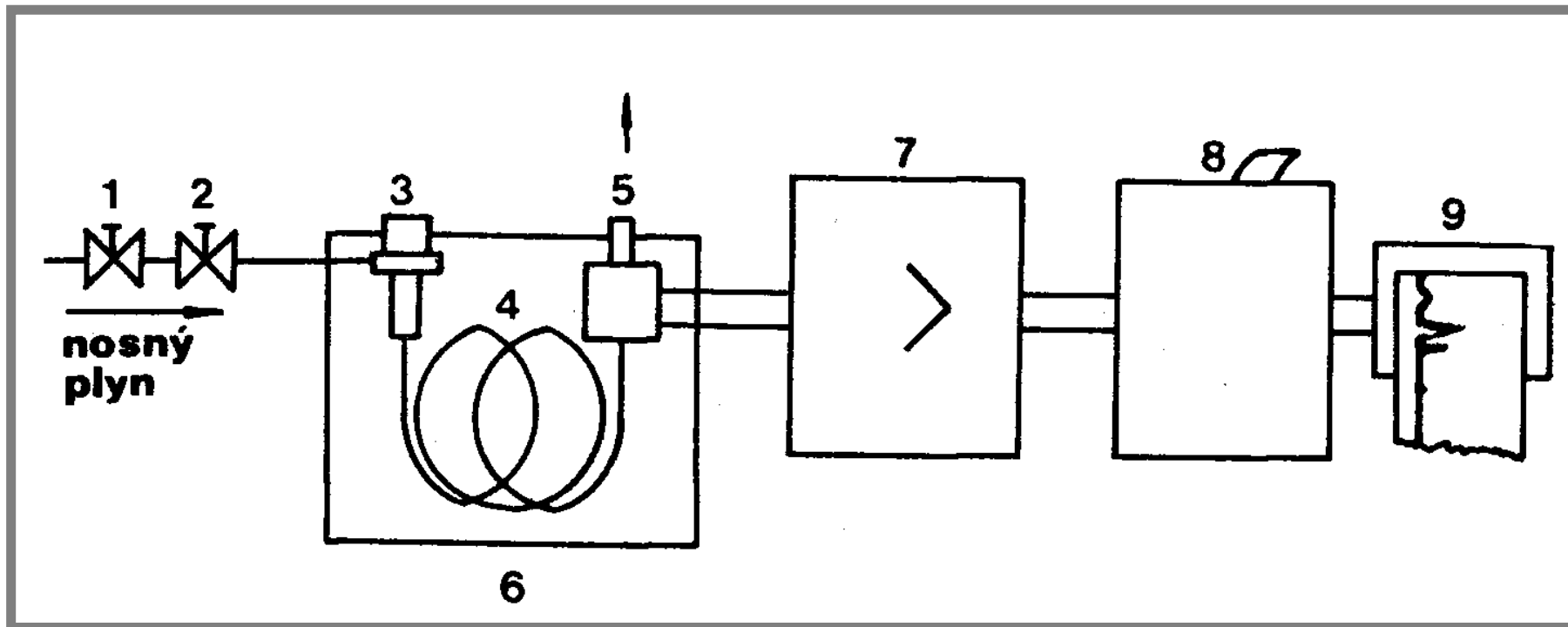
základ pro výpočet
kompresibilitního
faktoru

$$j = \frac{3}{2} \left[\frac{\left(\frac{p_i}{p_0}\right)^2 - 1}{\left(\frac{p_i}{p_0}\right)^3 - 1} \right]$$



Plynová chromatografie - GC

- zařízení - PLYNOVÝ CHROMATOGRAF



1. Regulace tlaku nosného plynu
2. Regulace průtoku nosného plynu
3. Dávkovač s vyhříváním-NÁSTRĚIK
4. Chromatografická kolona
5. Detektor s vyhříváním
6. Termostat
7. Zesilovač signálu detektoru
8. Integrátor
9. Zapisovač (datastanice)

Plynová chromatografie - GC

• zařízení - PLYNOVÝ CHROMATOGRAF

1. Regulace tlaku nosného plynu
2. Regulace průtoku nosného plynu - JEHLOVÉ VENTILY
3. Dávkovač s vyhříváním - dávkování 0,1 až 5 μl vzorku
 - vyšší teplota než je bod varu nejméně těkavé složky vzorku - do cca 350°C
 - dokonale proplachován nosným plynem
4. Chromatografická kolona - náplňová, kapilární
5. Detektor s vyhříváním - různá odezva na nosný plyn a na eluované složky
6. Termostat
7. Zesilovač signálu detektoru
8. Integrátor
9. Zapisovač (datastanice)

Plynová chromatografie - GC

- **Kolony pro plynovou chromatografii**
 - náplňové - trubice naplněné granulovaným materiálem
 - kapilární - OTEVŘENÉ - nosičem stěny kapiláry
 - PLNĚNÉ - stacionární fáze zakotvena na stěnách i na náplňovém nosiči

	Náplňové		Kapilární	
	Analytické	Preparativní	Otevřené	Plněné
Vnitřní průměr d [mm]	2 - 6	6 a více	0.1 – 0.5	0.3 – 1.0
Délka L [m]	0.5 - 6	2 - 6	10 - 100	0.5 - 50
H [mm]	1	1 - 5	0.3 – 0.5	0.5

Plynová chromatografie - GC

- **Kolony pro plynovou chromatografii**
 - náplňové - trubice naplněné granulovaným materiálem
 - sklo, nerezová ocel, měď, polymery
 - náplň - nosič křemelina, na ni zakotvena stacionární fáze - GLC
 - náplň - adsorbent - silikagel, alumina, aktivní uhlí, zeolity, mikroporézní polymery (kopolymery) - GSC
 - kapilární - až statisíce pater na délku kolony
 - **zvýšení povrchu stěn naleptáním**
 - **stěny - tavený křemen** (vnější povlak polyimid pro potlačení křehkosti křemene)
 - WCOT (WALL COATED OPEN TUBULAR)
 - PLOT (POROUS LAYER OPEN TUBULAR)
 - **mechanicky nanesená či chemicky vázaná stacionární fáze**

Plynová chromatografie - GC

- Kolony pro plynovou chromatografii
 - stacionární fáze
 - **substituované polysiloxany**
 - » nepolární - substituce methylovými skupinami
 - » středně polární - substituce fenylovými skupinami
 - » silně polární - $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CN}$, -CH=CH-CN
 - **skvalan** (isoalkan C_{30}) - velmi nepolární
 - **Carbowax 20 M** (na bázi polyethylenglykolu) - silně polární stacionární fáze

Plynová chromatografie - GC

- **Detektory**

- stabilita signálu v čase
- velká citlivost
- rychlá odezva na změnu složení eluentu

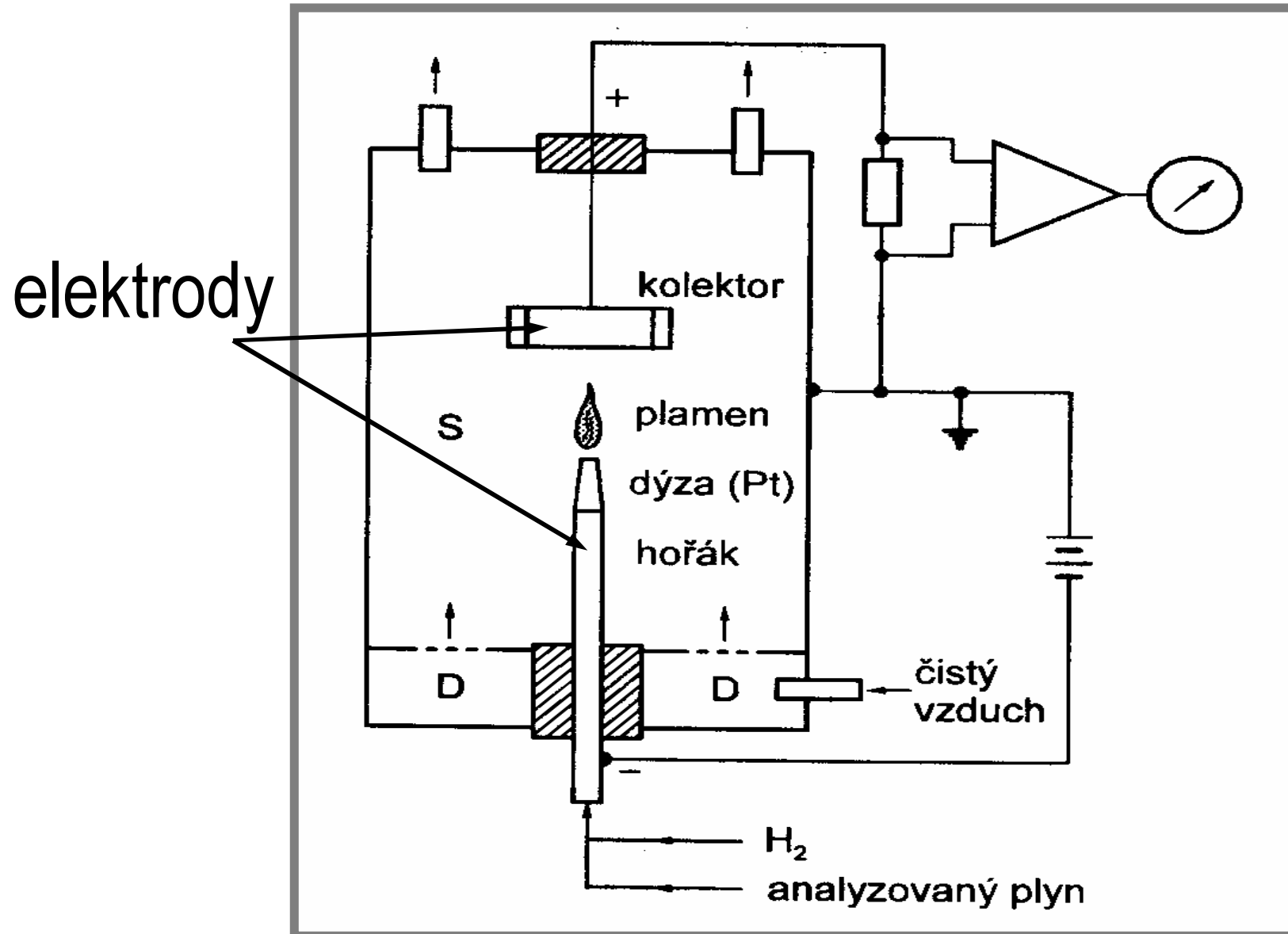
- **PLAMENOVÝ IONIZAČNÍ DETEKTOR - FID**

- (Flame Ionization Detector)

- hořáček s přívodem nosného plynu (eluentu) a vodíku
 - » spálením složek - ionty a elektrony - elektrický tok mezi elektrodami (max. 300 V)
 - » citlivé na uhlovodíkové skupiny
 - » **NECITLIVÉ** - NH_3 , H_2O , H_2S , oxidy dusíku, síry atp.

Plynová chromatografie - GC

PLAMENOVÝ IONIZAČNÍ DETEKTOR - FID

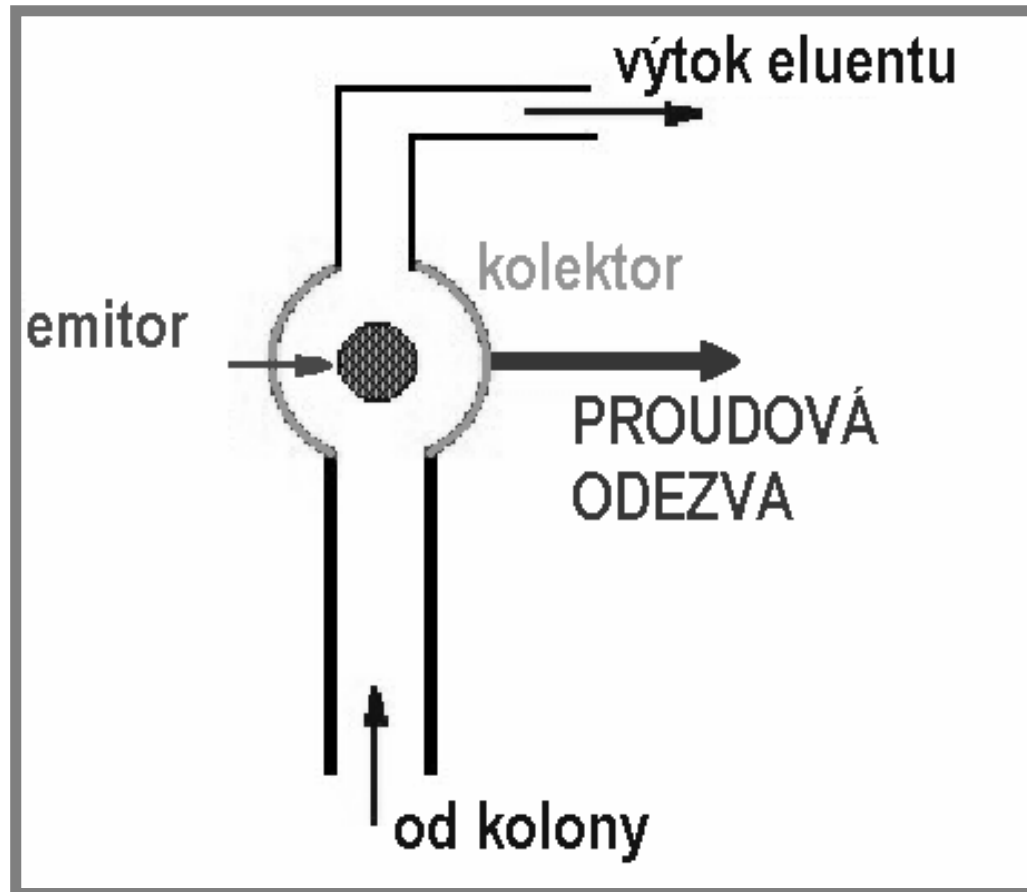


Plynová chromatografie - GC

- **Detektory**

- **DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU - ECD**

- (Electron Capture Detector) - dvě elektrody s vloženým napětím



EMITOR -

zdroj měkkého radioaktivního záření - ^{63}Ni - záření β

KOLEKTOR -

záznam proudu mezi elektrodami

Plynová chromatografie - GC

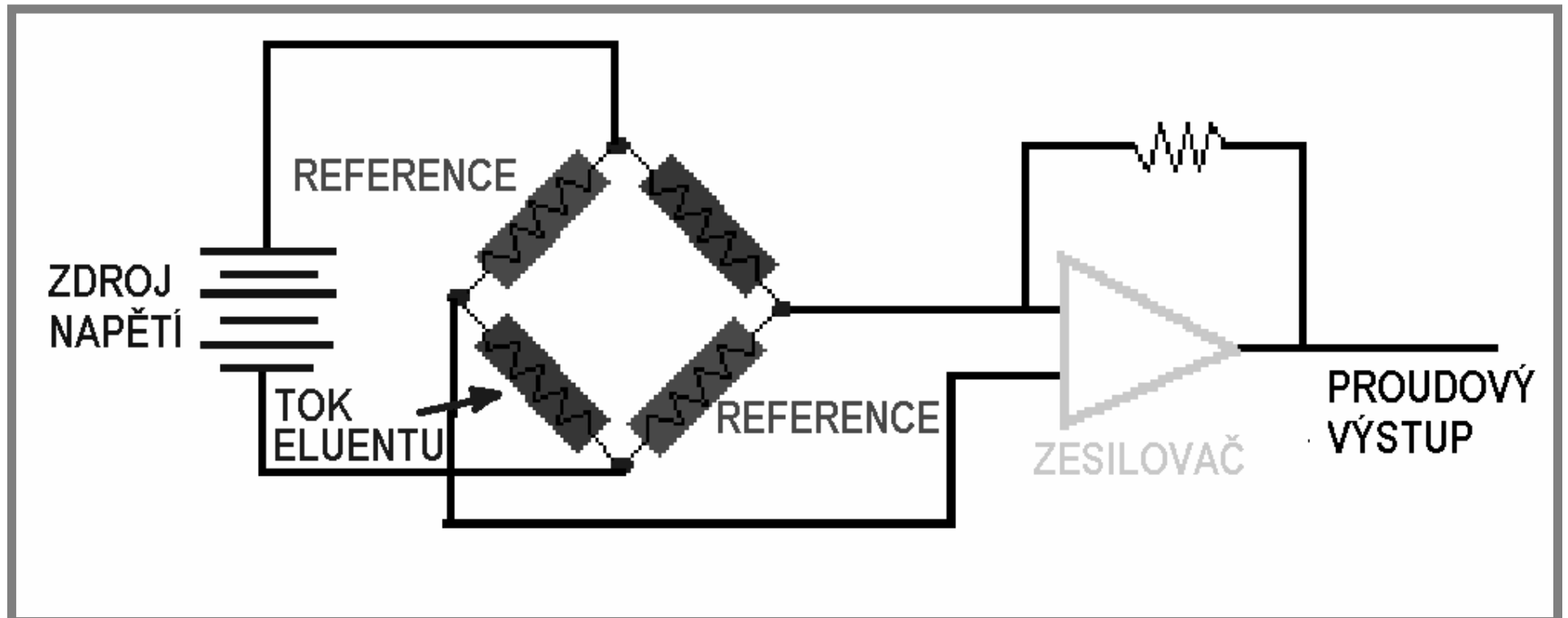
- **DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU - ECD**
 - ionizace nosného plynu zářením β
 - vhodné nosné plyny - N_2 , $Ar+CH_4$
 - záchyt elektronů β záření molekulami složek
 - ▲ snížení hodnoty ionizačního proudu
 - vyhodnocují se změny proudu při průtoku eluentu detektorem
 - vhodný pro - konjugované karbonylové sloučeniny,
 - nitrily, organokovové sloučeniny
 - sloučeniny obsahující více atomů halogenů - např. pesticidy

Plynová chromatografie - GC

- **Detektory**

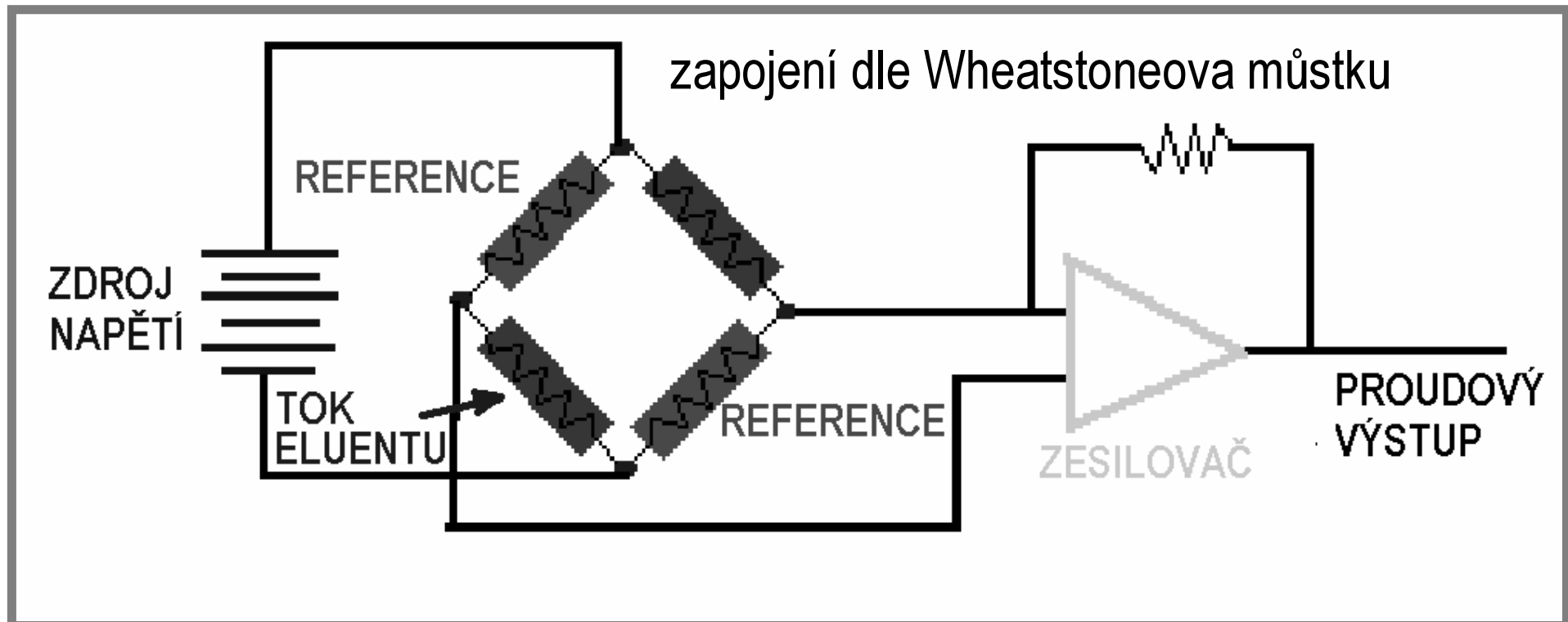
- **TEPELNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR - TCD**

- (Thermal Conductivity Detector) - odporové vlákno umístěné v proudu eluentu - vyhřáté na určitou teplotu, a to o cca 100°C vyšší než teplota okolního termostatovaného bloku



• TEPELNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR - TCD

- při průchodu čistého nosného plynu o stálém průtoku - žádná změna teploty vlákna (žádná změna jeho odporu)
- při průchodu eluentu se složkami - změna tepelně vodivostních vlastností plynu - změna teploty vlákna - změna jeho odporu
- vhodný nosný plyn s velkou tepelnou vodivostí - He, H₂



Plynová chromatografie - GC

- **TEPELNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR - TCD**
 - **KATAROMETR**
 - **teplota bloku a vlákna volena tak, aby nedocházelo ke kondenzaci složek eluentu**
 - **univerzální detektor - odezva prakticky na všechny látky**
 - **široký lineární dynamický rozsah**
 - **MALÁ CITLIVOST**
 - **VHODNÝ PRO ANALÝZU NEUHLOVODÍKOVÝCH PLYNŮ**

Plynová chromatografie - GC

- **VLIV TEPLoty**

- **S ROSTOUcí TEPLotOU SE RETENČNí ČASy ZKRACUJí**

- otázka je změna enthalpie při přenosu složky ze stacionární do plynné mobilní fáze (výparné teplo)

- otázka teploty varu analyzovaných složek a jejich vzájemných rozdílů

- málo těkavé složky - dlouhé retenční časy, široké píky
 - hodně těkavé složky - krátké retenční časy, více těkavých látek eluováno zároveň

- » **PROGRAMOVANÁ TEPLota TERMOSTATU**

- » **TEPLotNí PROGRAM - lineární růst teploty a isothermické prodlevy**

Plynová chromatografie - GC

- **KVALITATIVNÍ ANALÝZA**

- **IDENTIFIKACE SLOŽEK**

- k detekci využít metodu umožňující identifikaci látek - MS, IČ, UV - detekce
 - porovnání retenčních časů složek s retenčními časy standardů za stejných podmínek chromatografického dělení
 - takové porovnání je třeba provést opakovaně při opakované analýze směsi na kolonách s odlišnou stacionární fází
 - » způsoby vyjádření retenčních dat pro porovnání
 - > specifické retenční objemy V_g
 - > relativní retence vzhledem ke standardu
 - > retenční indexy

Plynová chromatografie - GC

- **KVANTITATIVNÍ ANALÝZA**
 - **1. krok - MĚŘENÍ PLOCH PÍKŮ**
 - » **INTEGRACE, KOREKCE NA PRŮBĚH POZADÍ**
 - **DALŠÍ ZPRACOVÁNÍ**
 - **METODA VNITŘNÍ NORMALIZACE**
 - **METODA ABSOLUTNÍ KALIBRACE**
 - **METODA VNITŘNÍHO STANDARDU**
 - **METODA STANDARDNÍHO PŘÍDAVKU**