


# 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 fází pevná látka - chromatografie plyn-pevná látka (GSC)  
adsorpční vlastnosti stacionární fáze, vlastnosti nosného plynu
- stacionární fází kapalina - chromatografie plyn-kapalina (GLC).  
rozpuštění složky ve stacionární fází  
kapalina tvořící stacionární fází nanese na ve formě tenkého filmu 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  vytvoří se zóny složek
  - vliv tenze par (bodu varu), vliv polarity 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

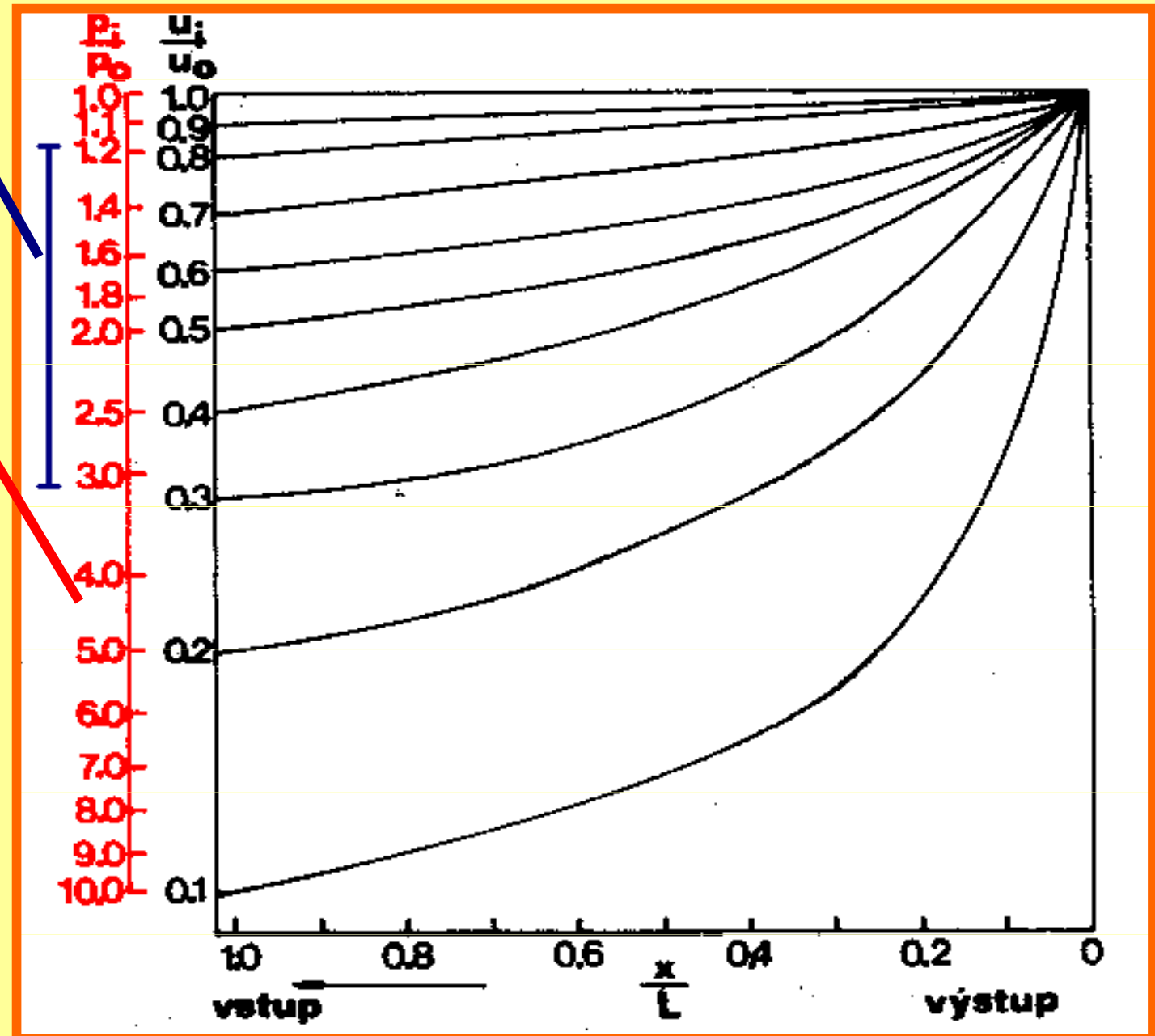
- MOBILNÍ FÁZE = NOSNÝ PLYN
  - transport látek
  - sám nepřechází do stacionární fáze
  - používají se „PERMANENTNÍ PLYNY“
    - helium, dusík, argon, vodík - vysoká čistota,  
bez kyslíku
- problém STLAČITELNOST PLYNŮ
  - **LINEÁRNÍ RYCHLOST** TOKU MOBILNÍ FÁZE  
**NENÍ KONSTATNÍ**
  - nelineární TLAKOVÝ 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

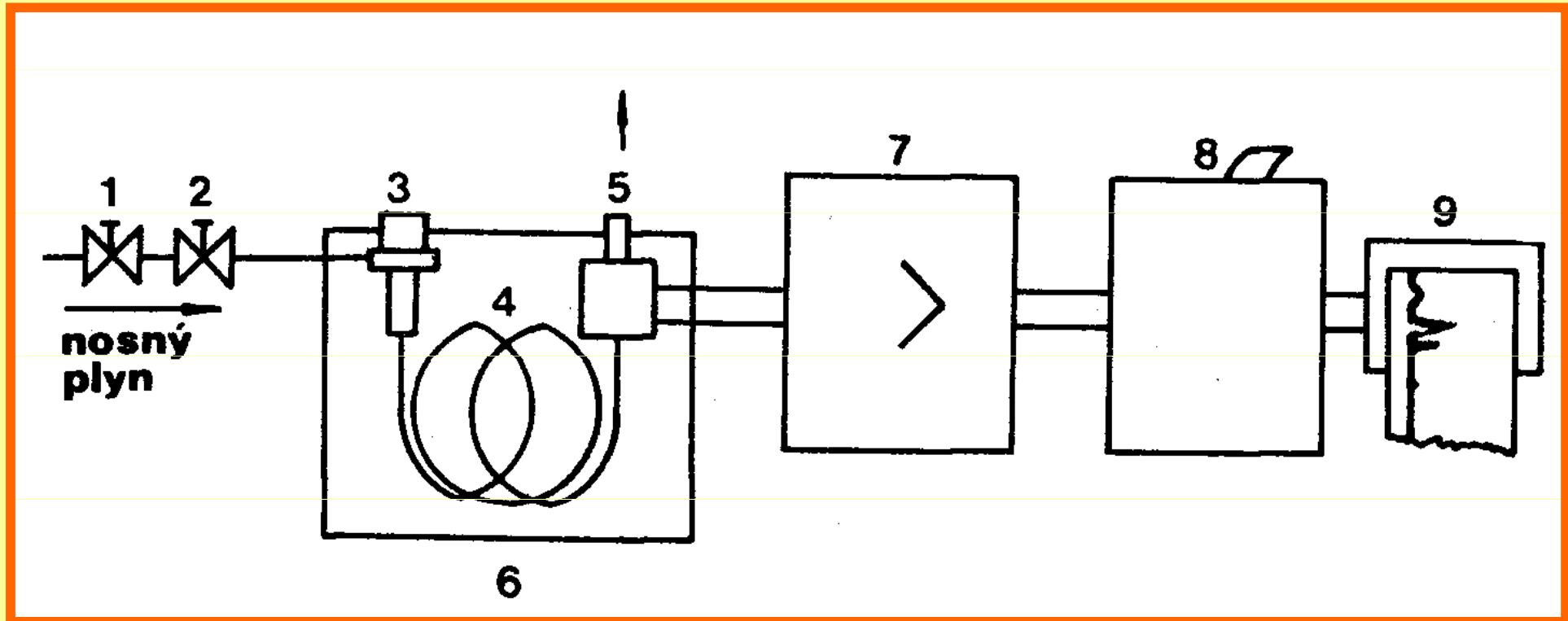
základ pro výpočet  
kompresibilitního  
faktoru

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



# Plynová chromatografie - GC

## • zařízení - PLYNOVÝ CHROMATOGRAF



1. Regulace tlaku nosného plynu

2. Regulace průtoku nosného plynu

3. Dávkovač s vyhříváním-NÁSTRĚK

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  $\mu\text{l}$  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]	<b>2 - 6</b>	6 a více	<b>0.1 – 0.5</b>	0.3 – 1.0
Délka $L$ [m]	<b>0.5 - 6</b>	2 - 6	<b>10 - 100</b>	0.5 - 50
$H$ [mm]	1	1 - 5	<b>0.3 – 0.5</b>	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 -  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CN}$ ,  $\text{-CH=CH-CN}$
  - **skvalan** (isoalkan  $\text{C}_{30}$ ) - 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**

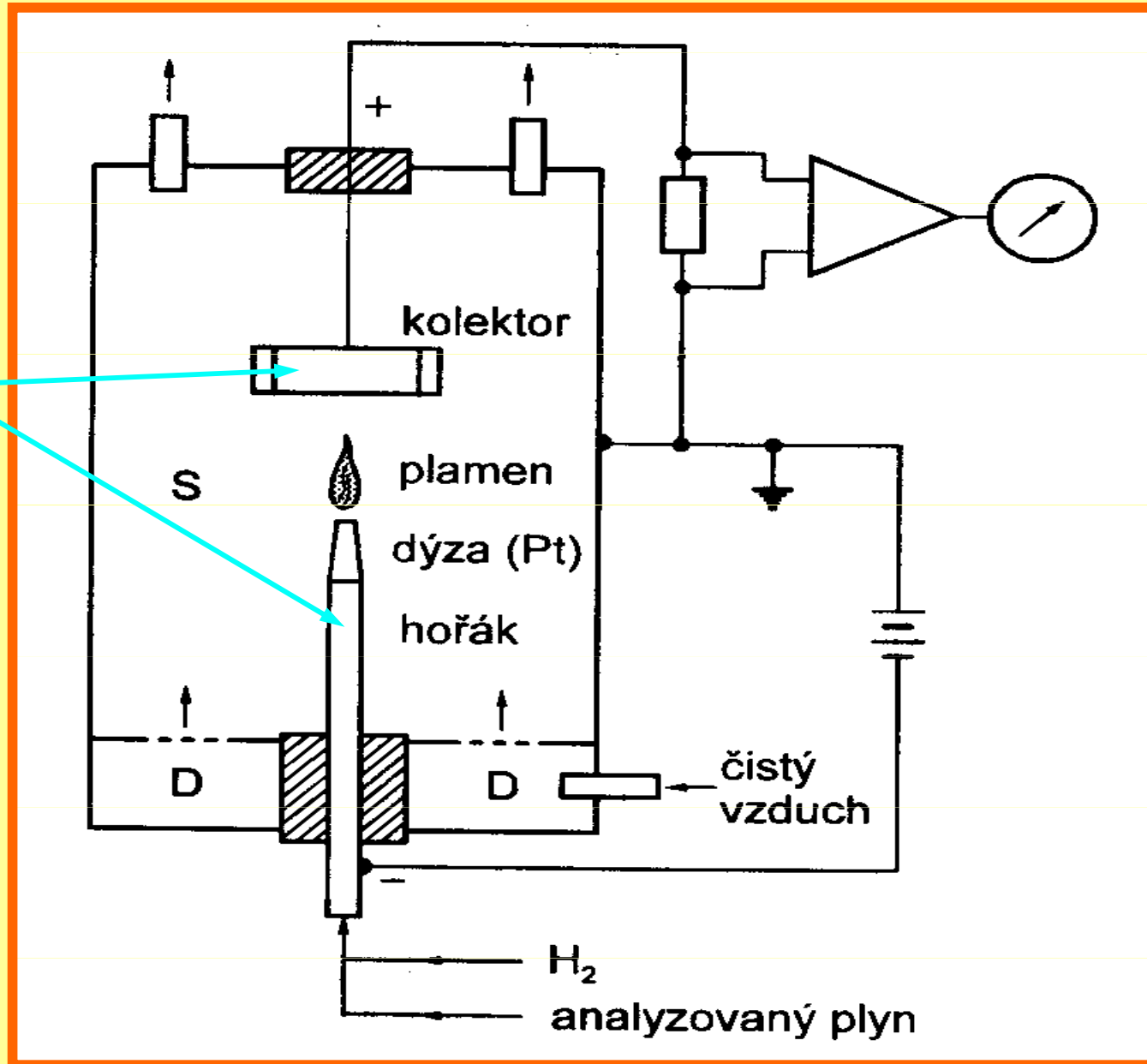
- (Flame Ionization Detector)

- 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** -  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , oxidy dusíku, síry atp.

# Plynová chromatografie - GC

## PLAMENOVÝ IONIZAČNÍ DETEKTOR - FID

elektrody

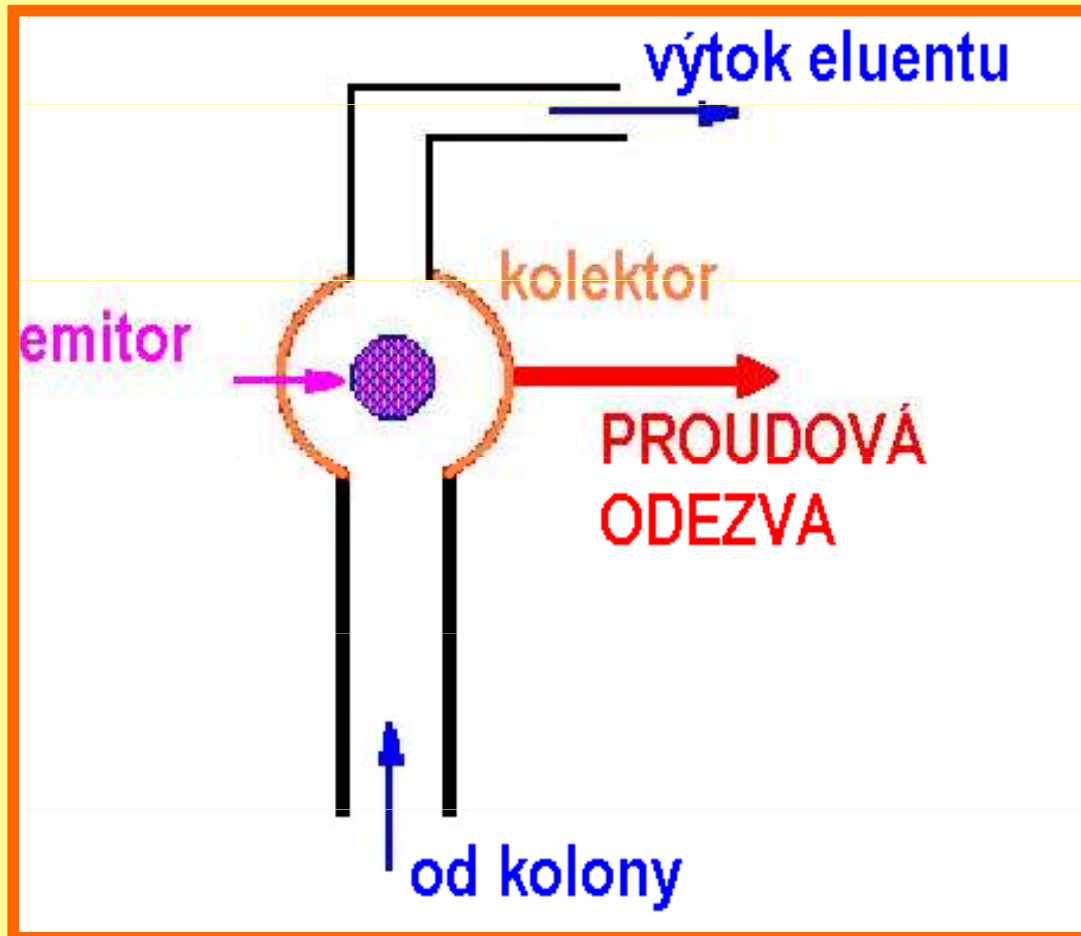


# Plynová chromatografie - GC

- Detektory

- DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU - ECD

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



## EMITOR -

zdroj měkkého radioaktivního záření -  $^{63}\text{Ni}$  - záření  $\beta$

## KOLEKTOR -

záznam proudu mezi elektrodami

# Plynová chromatografie - GC

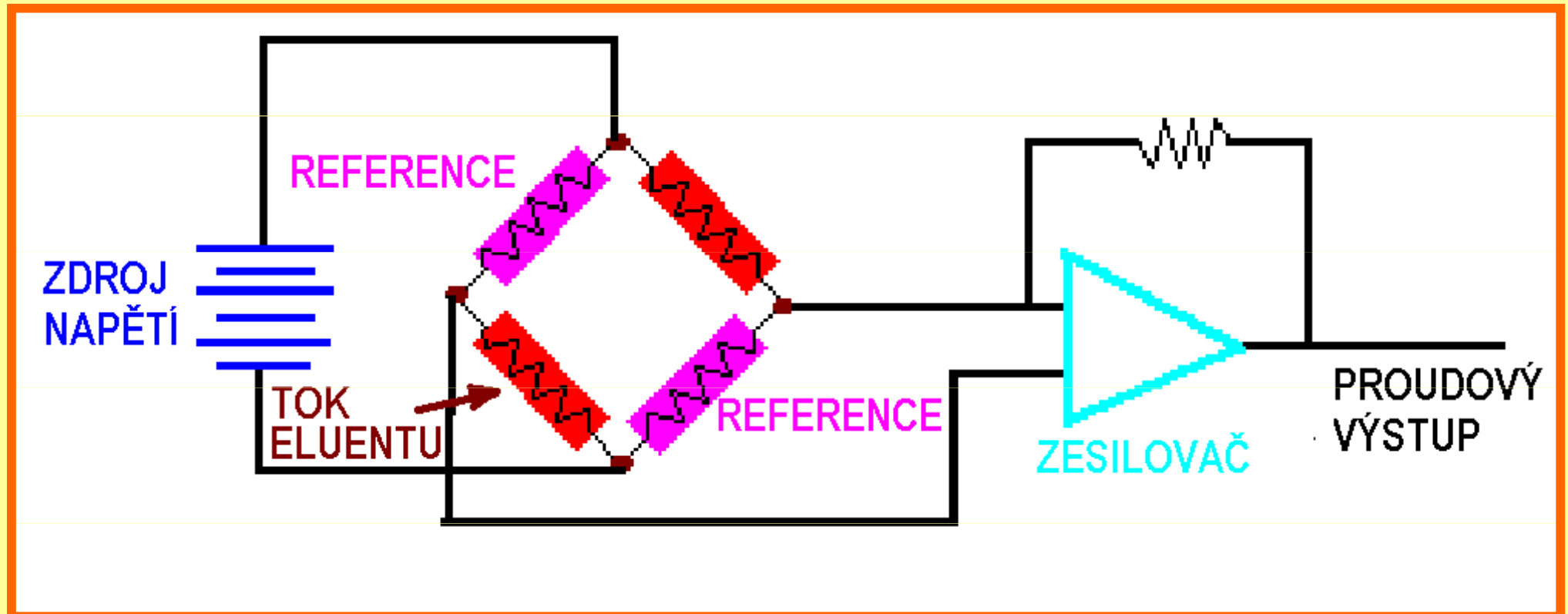
- **DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU - ECD**
  - ionizace nosného plynu zářením  $\beta$ 
    - vhodné nosné plyny -  $N_2$ ,  $Ar+CH_4$
  - záchyt elektronů  $\beta$  záření molekulami složek
    - ▲ snížení hodnoty ionizačního proudu
  - vyhodnocují se změny proudu při průtoku eluentu detektorem
  -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

# Plynová chromatografie - GC

- **Detektory**

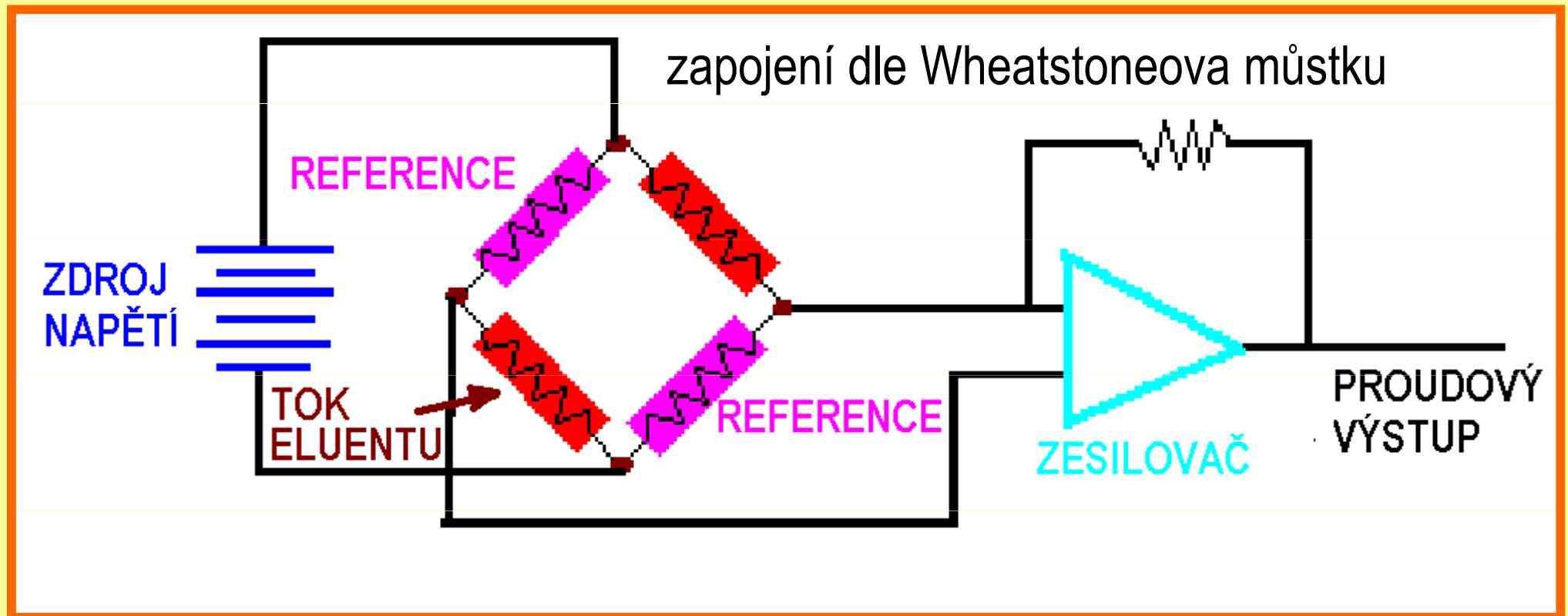
- **TEPELNĚ VODIVOSTNÍ DETEKTOR - TCD**

- (Thermal Conductivity Detector) - odporové vlákno umístěné v proudu eluentu - vyhřáté na určitou teplotu, a to o cca  $100^{\circ}\text{C}$  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, H<sub>2</sub>



# **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

- otázkou 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**