

TYPY KOLON A STACIONÁRNÍCH FÁZÍ V PLYNOVÉ CHROMATOGRAFII

Náplňové kolony - *historicky první kolony*

- skleněné, metalické, s metalickým povrchem
- snažší výroba, vysoká robustnost
- nižší účinnost
- nevhodné pro programování teploty a tlaku

Kapilární kolony - *novější typ vzniklý díky výrobě polymerů*

- vyrobené z taveného křemene pokrytého polyimidem
- náročnější výroba, menší robustnost
- vysoká účinnost
- vhodné pro programování teploty a tlaku



Náplňové kolony v GC

Typické rozměry a náplně

Délka: 0,6 - 10 m

Vnitřní průměr: 2 - 5 mm

Materiál: sklo, ocel, měď, nikel

Náplň - stacionární fáze (SF):

- **ADSORBENT** - přímá interakce
- **ABSORBENT** na nosiči
 - inertní nosič (Chromosorb, Carbopack, Tenax, Porapak apod.)
 - polymerní kapalná fáze (def. % SF smočené na nosiči)
 - * typické SF: modifik. polysiloxany, polyethyleneglykoly

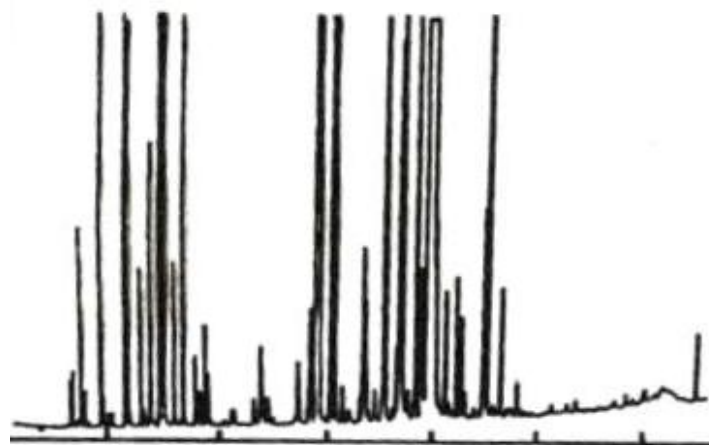
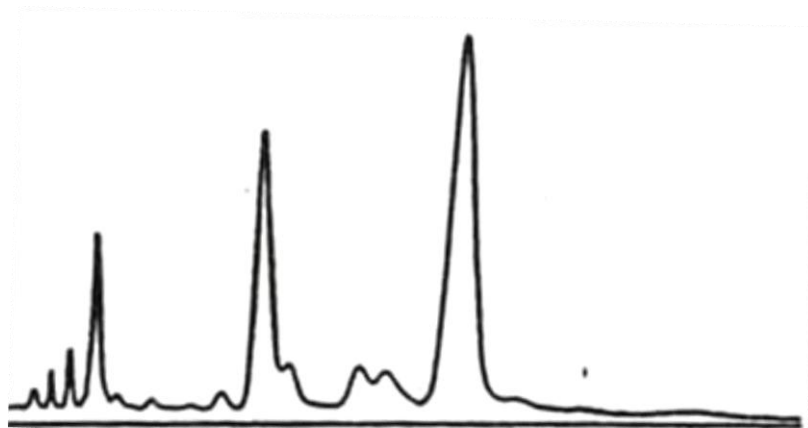


Přechod od náplňových kolon ke kapilárním

náplňová kolona



kapilární kolona



Separace mátové silice - Carbowax 20M

W. Jennings, J. Chromatogr. Sci. 17, 637 (1979)



Kapilární kolony v GC

Typické rozměry

Délka: 5 - 150 m

Vnitřní průměr: 0,1 - 0,75 mm

Tloušťka SF: 0,1 - 7 μm

Materiál:

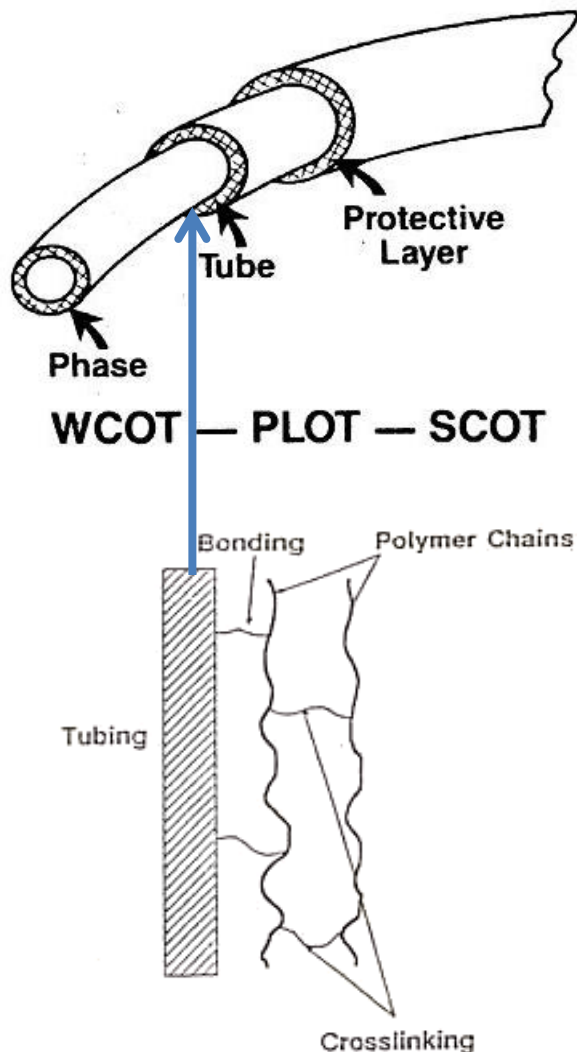
kov: tepelná stabilita, silné interakce s analyty

křemen potažený hliníkem: tepelná stabilita, špatná přilnavost,
teplotní roztažnost

křemen potažený polyimidem: max. teplota do 400 °C,
polyimid - pružný, chrání před vlhkostí



Typy kapilárních kolon v GC



WCOT (Wall-Coated Open Tubular column)
- kapalný polymer na vnitřní stěně kapiláry

SCOT (Support-Coated Open Tubular column)
- kapalný polymer zakotvený na nosiči zachyceném na vnitřní stěně kapiláry

PLOT (Porous-Layer Open Tubular column)
- adsorbent zachycený na kapiláře chemickou vazbou (Al_2O_3)
sep. mechan.: adsorpce, plyn-pevná l.
↑↑ retence

Parametry kapilárních kolon v GC

1) APLIKOVATELNÝ TEPLOTNÍ ROZSAH

Stabilita SF – (postupná) degradace SF = vyšší šum = vyšší LOD
a kratší životnost

⇒ aplikace vázaných zesíťovaných SF
(bonded cross-linked SF)

Stabilita výstavbového materiálu – polyimid max. 360 – 400 °C

Teplotní limity kolony:

- **spodní:** kolona ztrácí své chromatografické schopnosti (neseparuje)
- **horní:** a) *izotermní* – po neomezenou dobu
b) *programovaný* – po dobu 10-15 minut

Velké jednorázové nebo opakované mírné překračování
⇒ degradace SF, ztráta účinnosti a retence

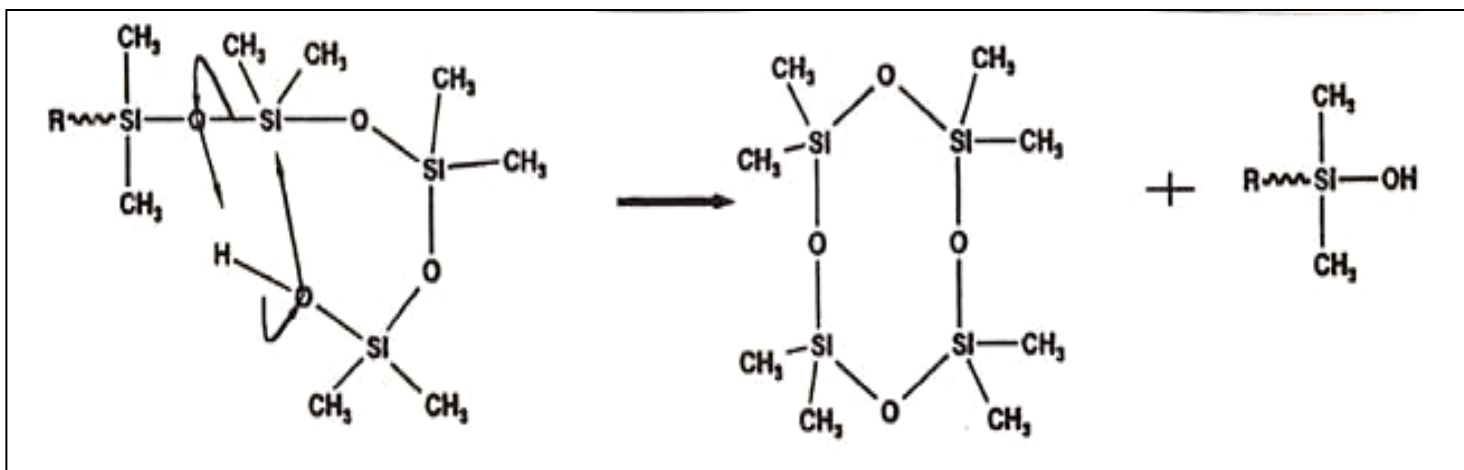


Parametry kapilárních kolon v GC

Hodnocení stability a stupně degradace SF

- sledujeme tzv. *column bleed(-ing)* neboli *krvácení kolony*, což je způsobeno degradací SF na těkavé fragmenty, které se uvolňují z kolony

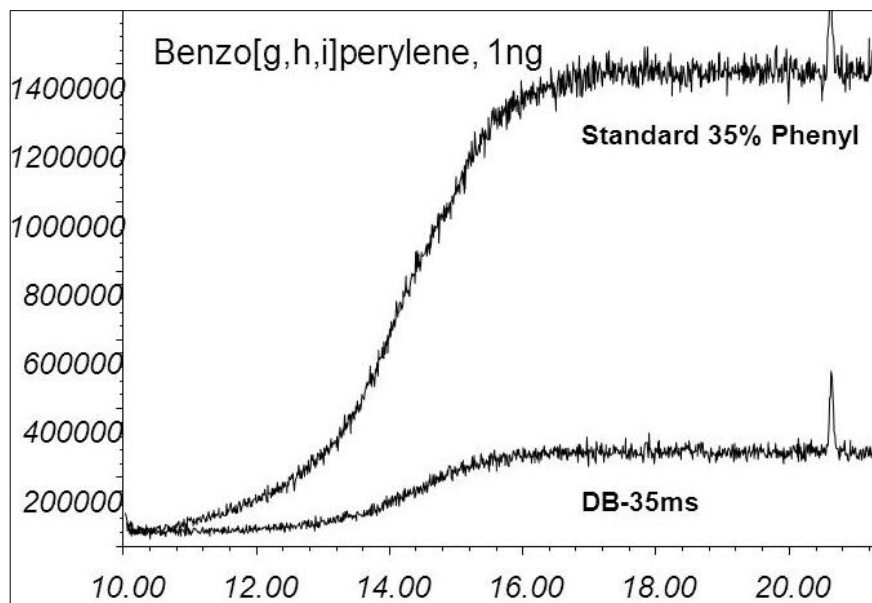
Pro polydimethylsiloxanové fáze je typický vznik tri- a tetra- cyklo- dimethyl-siloxanů ($m/z = 207$ a 281)



Parametry kapilárních kolon v GC

Hodnocení stability a stupně degradace SF

Column bleed(-ing) neboli krvácení kolony se projevuje se typicky zvýšenou základní linií chromatogramu u GC/MS



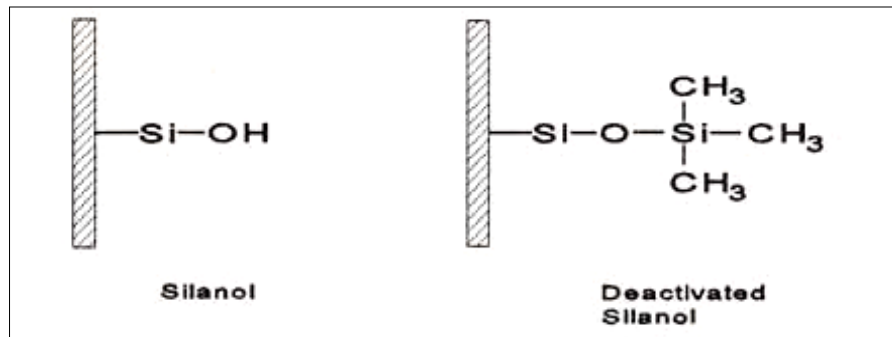
*Column bleed(-ing) se zvyšuje s teplotou a obsahem kyslíku
- detektory jsou na tento jev různě citlivé
(NPD x kyanopropyl, nevadí pro FID, problematické pro MS)*

Parametry kapilárních kolon v GC

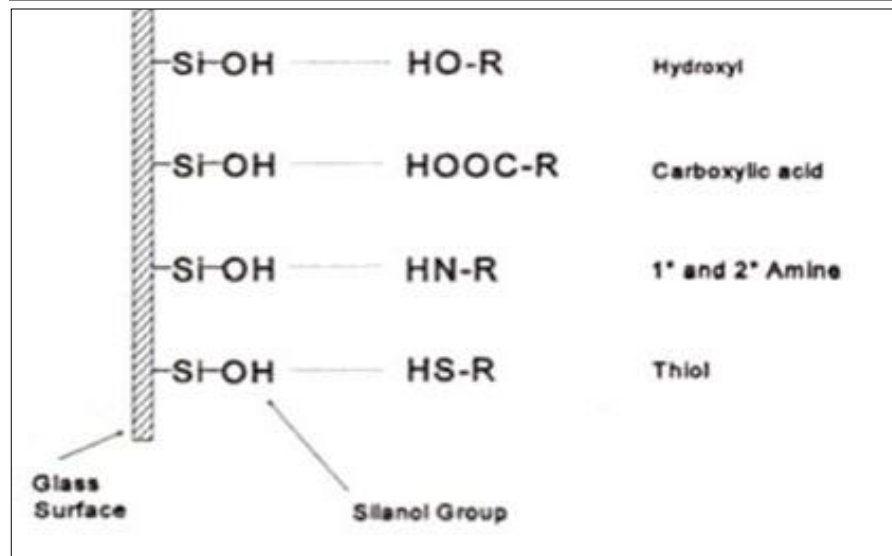
2) AKTIVITA / INERTNOST

Vliv na symetrii a šířku píku \Rightarrow širší píky, chvostování = vyšší LOD

Deaktivace
výstavbového materiálu
(stěn taveného křemene)



Různé interakce silanolů

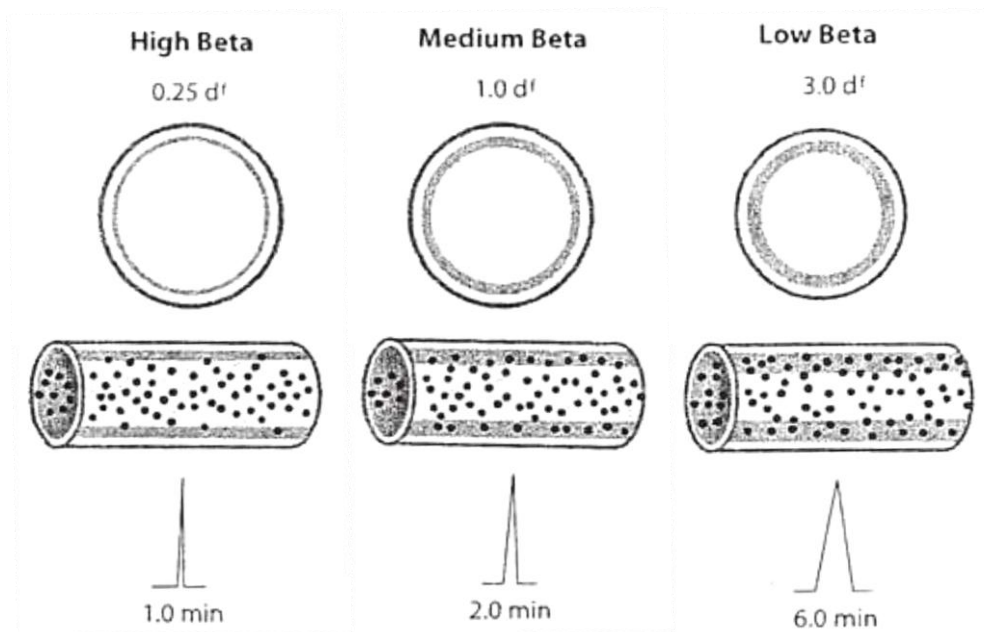


Parametry kapilárních kolon v GC

3) KAPACITA KOLONY

Vliv na symetrii a šířku píku \Rightarrow širší píky, chvostování = vyšší LOD

\uparrow rozpustnost v SF, i.d., $d_f \Rightarrow \uparrow$ kapacita



Parametry kapilárních kolon v GC

4) POLARITA SF

Dána množstvím a polaritou každé funkční skupiny
(podobné rozpouští podobné \Rightarrow větší kapacita)

NEPOLÁRNÍ fáze: dělení na základě tenze par (těkavosti)
- širší teplotní rozsah - odolnější, menší bleed

STŘEDNĚ POLÁRNÍ fáze: separační účinnost se mění s teplotou
- \downarrow teplota \Rightarrow jako nepolární fáze
- \uparrow teplota \Rightarrow jako polární fáze

POLÁRNÍ fáze: separaci dominantně ovlivňují specifické interakce



Parametry kapilárních kolon v GC

5) TYPY INTERAKCÍ SF - ANALYTY

DISPERZNÍ INTERAKCE

- univerzální, primární separační mechanismus všech sloučenin -
mezimolekulová přitažlivost analyt – SF

(důležitá je polarizovatelnost)

- sloučeniny s nízkou tenzí par jsou silněji zadržovány

DIPÓLOVÉ INTERAKCE (kyanopropyl, PEG)

- SF a analyty s dipól momentem (nerovnoměrně rozmístěný náboj –
heteroatom, halogen, -OH skupina, = vazba, estery, apod.)

INTERAKCE VODÍKOVOU VAZBOU (kyanopropyl, PEG)

silná vazba: -OH, -NH skupina

mírná vazba: estery, ethery, ketony

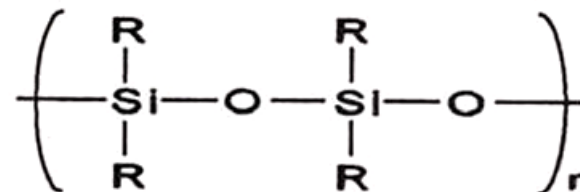
žádná vazba: uhlovodíky, halogeny



Parametry kapilárních kolon v GC

6) TYPY SF - I

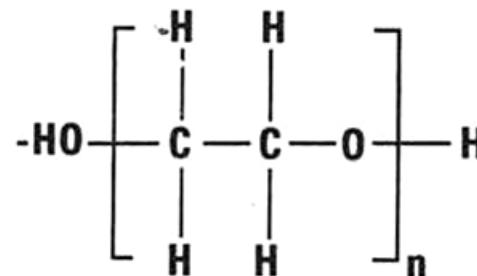
POLYSILOXANY (SILIKONY):



- velmi odolné, různé funkční skupiny
např. 5 % fenylmethylpolysiloxan (R = 5 % fenylu a 95 % methylu)
- cca 1 % silikonové páteře má vinylovou skupinu pro zesílení

POLYETHYLENGLYKOLY:

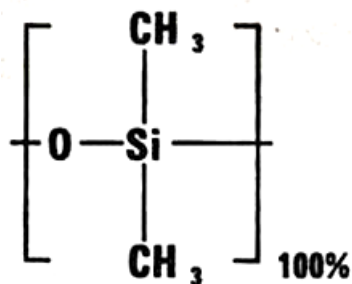
- extrémní citlivost ke kyslíku
- užší teplotní rozsah



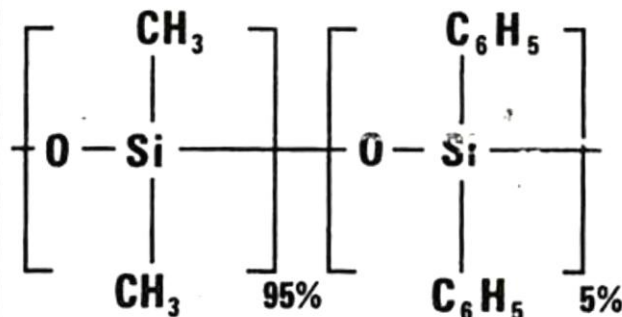
Parametry kapilárních kolon v GC

6) TYPY SF - II

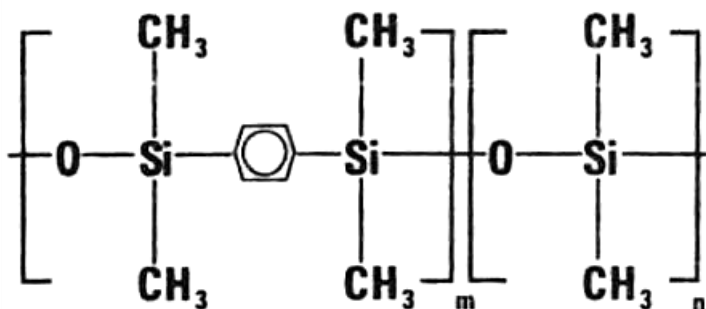
POLYSILOXANY (SILIKONY):



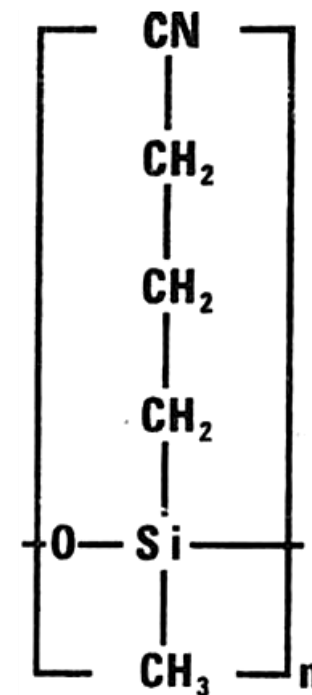
Polydimethylsiloxan



Polydiphenyldimethylsiloxan

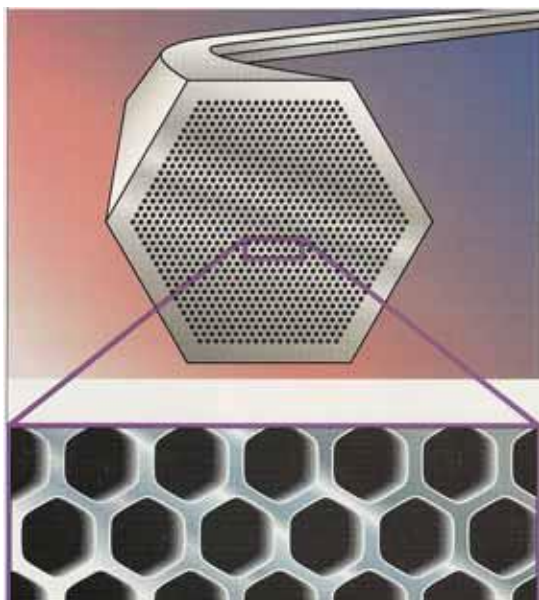


Poly(dimethylsiloxo)poly(1,4-bis(dimethylsiloxo)phenylsiloxan



Polykyanopropylmethylsiloxan

Multikapilární kolony



Alltech Bulletin 328, (1995)



919 kapilár v jedné skleněné koloně o délce **1 m**,
1 kapilára: i.d. 40 μm , $d_f = 0,2 \mu\text{m}$ (SE-30, SE-54, Carbowax-20M)

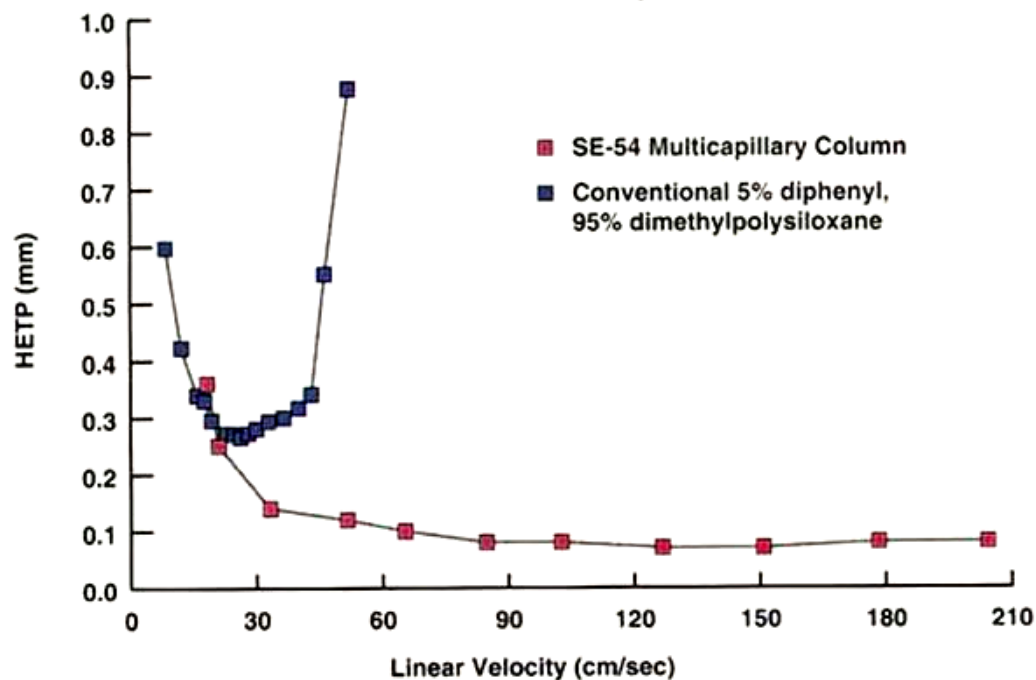
Pro zachování stejné délky a geometrie jsou kapiláry přetočeny,
na obou koncích standardní deaktivovaná kapilára (i.d. 0,53 mm)

Multikapilární kolony

Provozní teplota: 20 – 200 °C

Průtok: 20 – 210 ml/min

RYCHLÉ ANALÝZY - bez ztráty účinnosti v širokém rozmezí průtoků



van Deemterovy křivky

Multikapilární kolony

Účinnost - n

Kolona	n / m	n pro celou kolonu
Náplňová	1316	2632 (2 m)
Multikapilára	13664	13664 (1 m)
Kapilára	3774	113220 (30 m)

Kapacita: kapilára < multikapilára < náplňová kolona

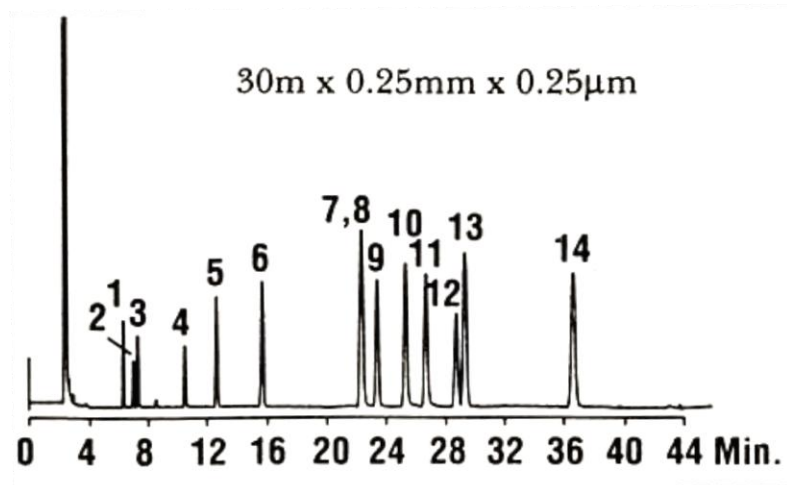
Rozlišení: kapilára > multikapilára > náplňová kolona

Použití: náhrada náplňových kolon
pro velmi rychlý screening

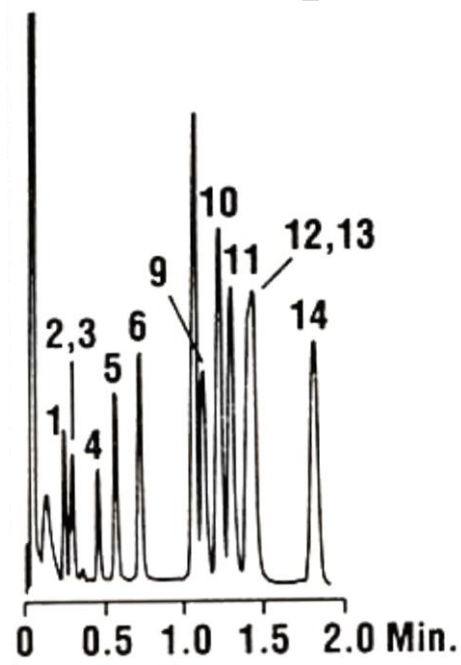
*Zatím pouze pro analyty s teplotou b. varu vyšší než pentan
(d_f dostupné pouze 0,2 μm)*

Multikapilární kolony

Běžná kapilára



Multikapilára



1. α -BHC
2. Lindane
3. β -BHC
4. Heptachlor
5. Aldrin
6. Heptachlor epoxide
7. p,p'-DDE
8. Dieldrin
9. o,p'-DDD
10. Endrin
11. o,p'-DDT
12. p,p'-DDD
13. β -Endosulfan
14. p,p'-DDT