

# NÁSTŘIKOVÉ TECHNIKY V GC (KAPILÁRNÍ KOLONY)

## Bleskově vypařující nástřik (Flash vaporisation injection)

- **Split**
- **Splitless**
- **On-Column**

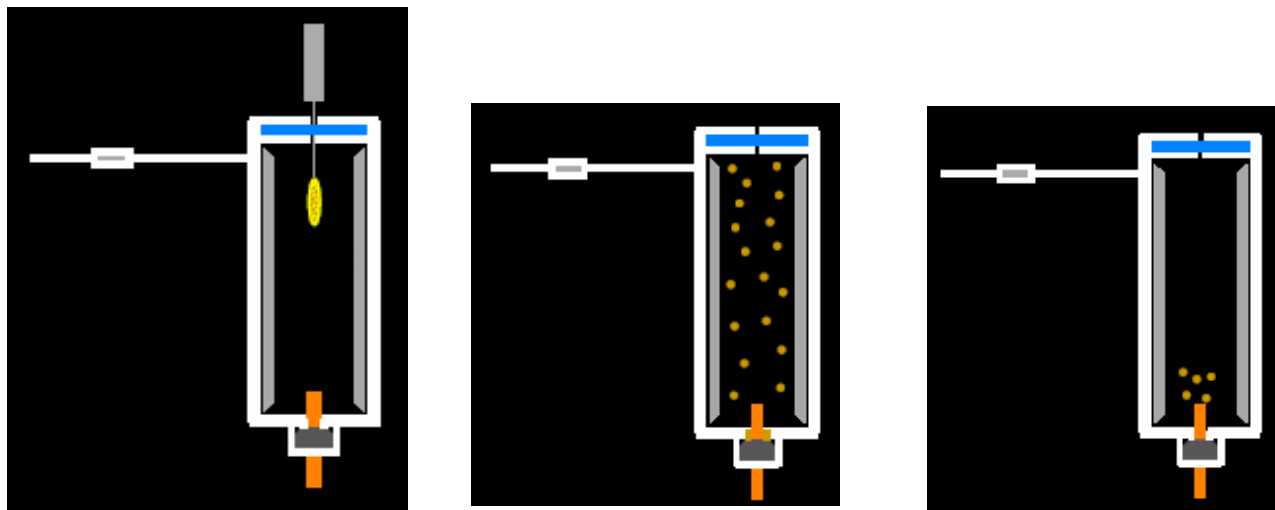
## Chladný nástřik (Cool injection)

## Nástřik velkých objemů – Large Volume Injection (LVI)

- **On-Column**
- **On-Column-SVE (with solvent vapour exit)**
- **PTV**



# Bleskově vypařující nástřík



*(Obrázek: Allen K. Vickers, Agilent Technologies)*

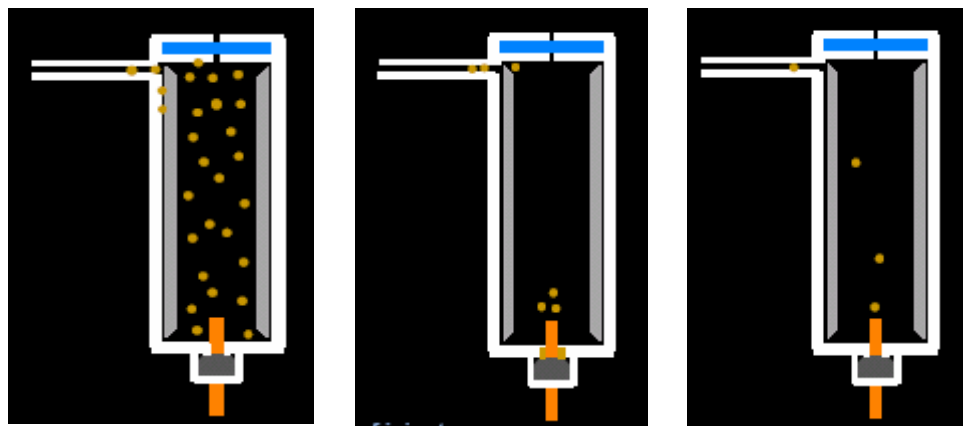
**RIZIKA: BACKFLASH a DISKRIMINACE**



# Bleskově vypařující nástřik

## BACKFLASH

- při vypaření nastříknutý vzorek expanduje 100 – 1000 x
- je-li objem par > objem lineru (přeplnění)



(Obrázek: Allen K. Vickers, Agilent Technologies)

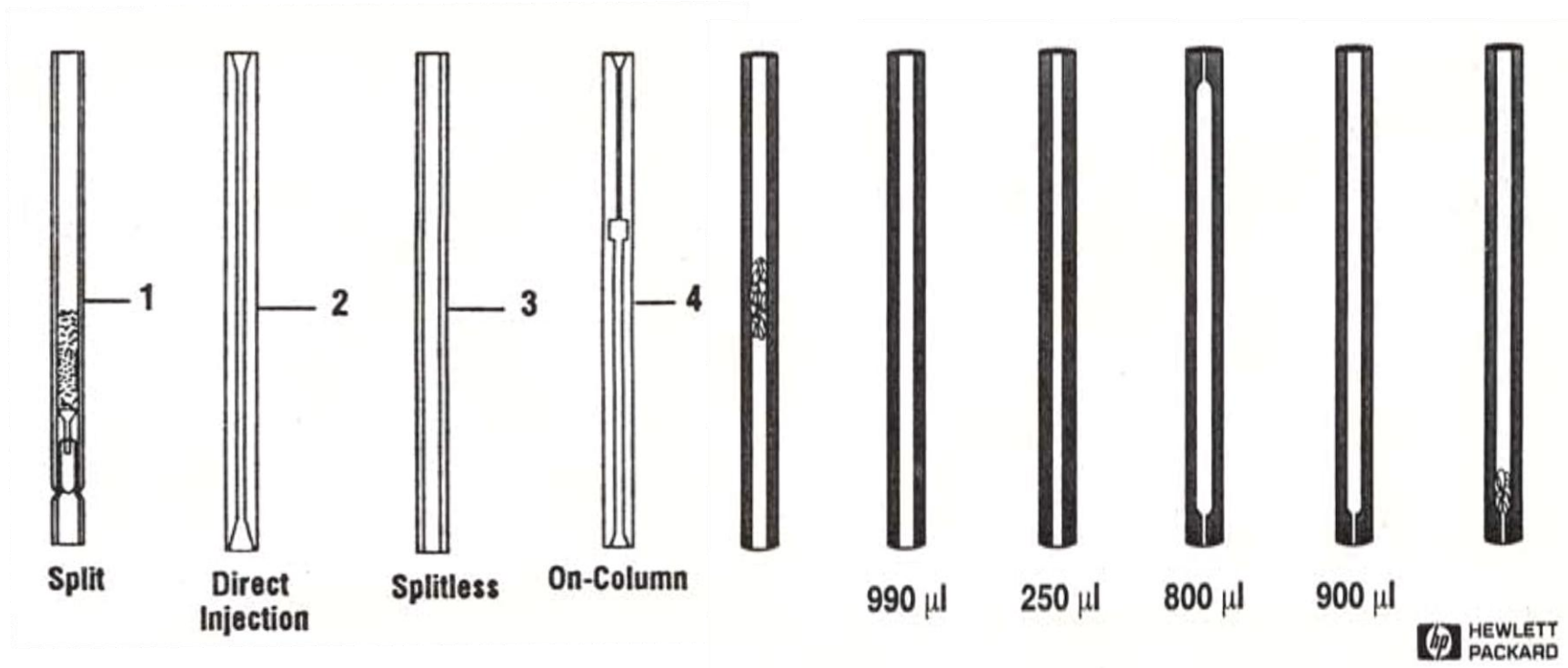
- ztráty analytů
- chvostující rozpouštědlo
- cizí píky ('ghost peaks')

## Minimalizace:

- ↑ objem lineru
- ↓ nástřik. objem
- ↓ expandující rozp.
- ↓ teplota nástřiku
- ↑ průtok nosného plynu
- ↑ tlak na hlavu kolony
- ↑ pulzní nástřik

# Bleskově vypařující nástřík

Používané linery (inserty, vložky do nástříku)  
- definujeme vnitřní objem a chování vzorku



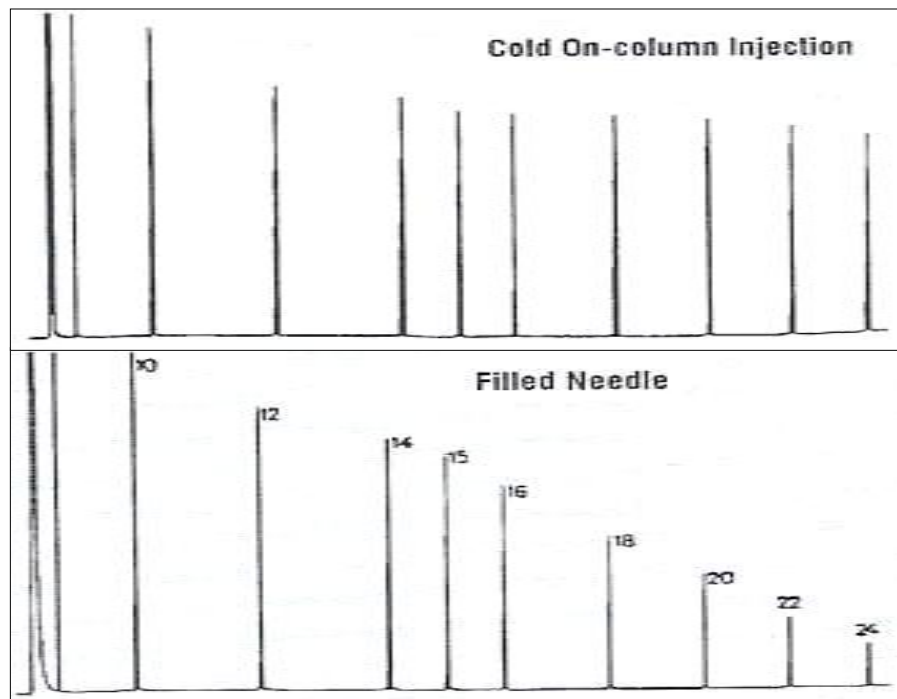
(Obrázek: Hewlett-Packard (Agilent Technologies))



# Bleskově vypařující nástřík

## DISKRIMINACE

- nastříknutý vzorek  $\neq$  vzorek vnesený na kolonu
- způsobeno rozdílnou těkavostí složek vzorku
- $\uparrow$ těkavost  $\Rightarrow \uparrow$ do kolony



### Důležité faktory:

- efektivní záhřev vzorku
- efektivní míchání par vzorku s MF
- poloha začátku kolony v lineru
- diskriminace v nástříku nebo ve stříkačce
- nutnost dodržovat stejné podmínky

# Bleskově vypařující nástřik - manuální techniky

**FILLED NEEDLE**

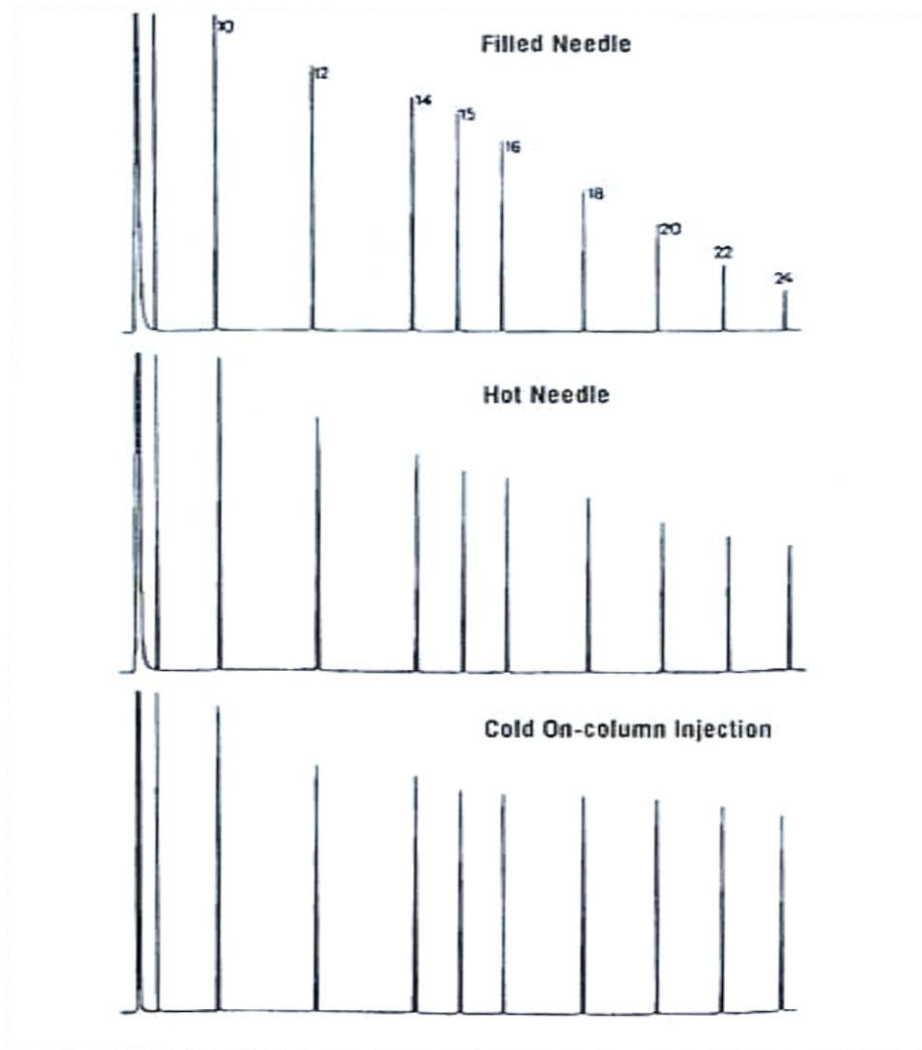
**COLD NEEDLE**

**HOT NEEDLE \***

**SOLVENT FLUSH \***

**AIR FLUSH \***

**\*.....nediskriminační  
(ve stříkačce)**



(Obrázek: Allen K. Vickers, Agilent Technologies)

# Bleskově vypařující nástřik

## - manuální vs. automatický (hot needle)

	MANUÁLNÍ		AUTOMATICKÝ	
PCB	Plocha	RSD (%)	Plocha	RSD (%)
<b>28</b>	47896	12	48347	3
<b>52</b>	41066	5	41658	2
<b>101</b>	51353	7	52223	6
<b>153</b>	53425	14	57166	1
<b>138</b>	52353	18	58862	1
<b>180</b>	54007	23	61942	1

**Průměr**

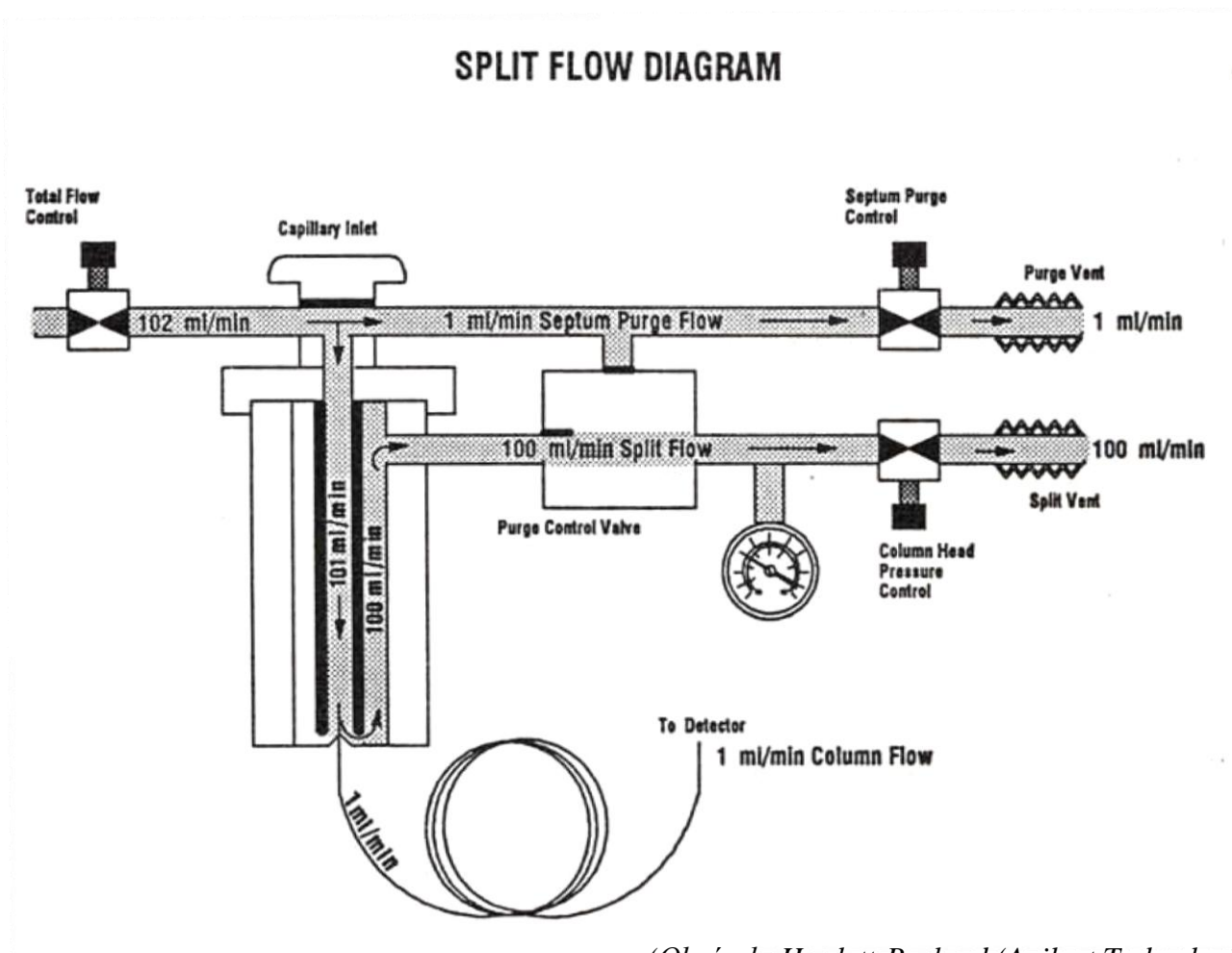
**13**

**2**



# Parametry nástřikových technik

## SPLIT



(Obrázek: Hewlett-Packard (Agilent Technologies))



# Parametry nástřikových technik

## SPLIT

**SPLIT = nástřiková technika s dělením toku nosného plynu**

**Nastavujeme split(ovací) = dělicí poměr mezi kolonou a odtokem plynu (ze systému)**

**Split poměr vhodný podle i.d. kolony a koncentrace vzorku**

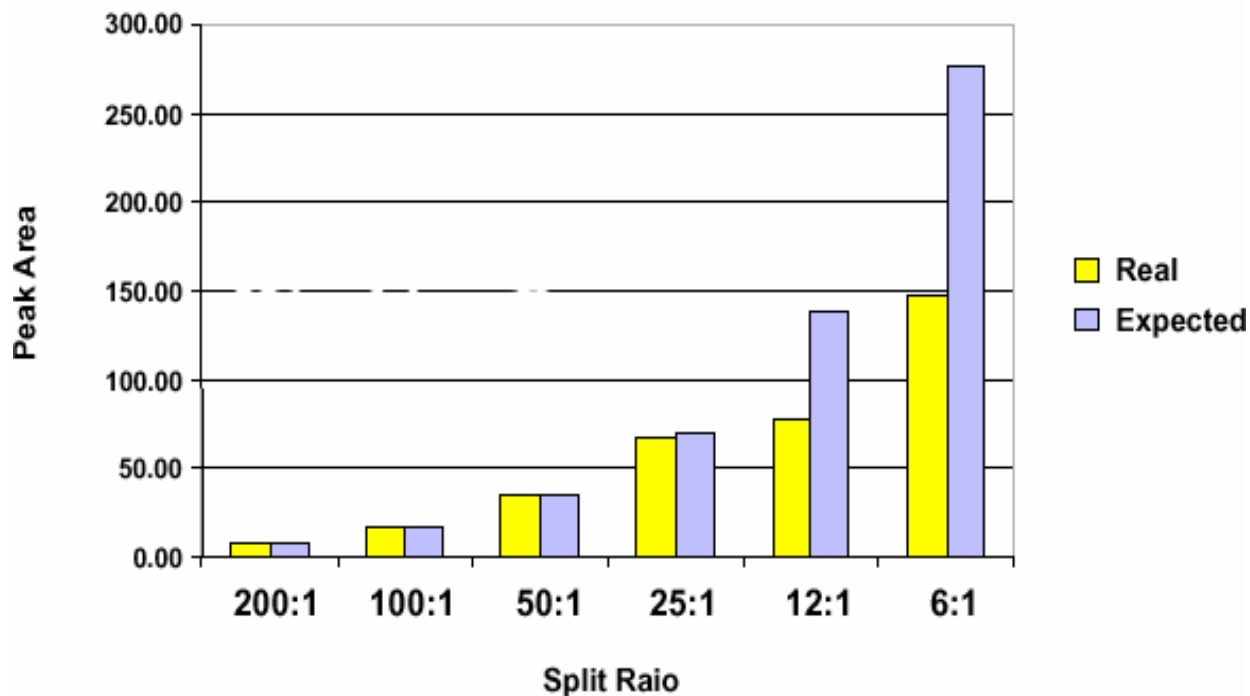
0.1 mm:	1 : 1000	<i>min: 1 : 50</i>
0.2 – 0.32 mm:	1 : 50 - 1 : 500	<i>min: 1 : 10</i>
0.53 mm:	1 : 5 - 1 : 50	<i>min: 1 : 2</i>



# Parametry nástřikových technik

## SPLIT

Split poměr určuje množství vzorku vnesené na kolonu  
Split poměr  $\neq$  skutečný poměr rozdělení vzorku



(Obrázek: SGE, [www.sge.com](http://www.sge.com))

# Parametry nástřikových technik

## SPLIT

### SPLIT POMĚR

#### Ideální případ

- vzorek zcela v plynné fázi a homogenně smíchán s nosným plynem

#### Reálný případ

- vzorek se složkami nestejně těkavosti
- neúplné odpaření
- různá difúzní rychlost složek vzorku
- kolísající split poměr

⇒ **DISKRIMINACE** (zkreslení složení)

⇒ **NÍZKÁ OPAKOVATELNOST**

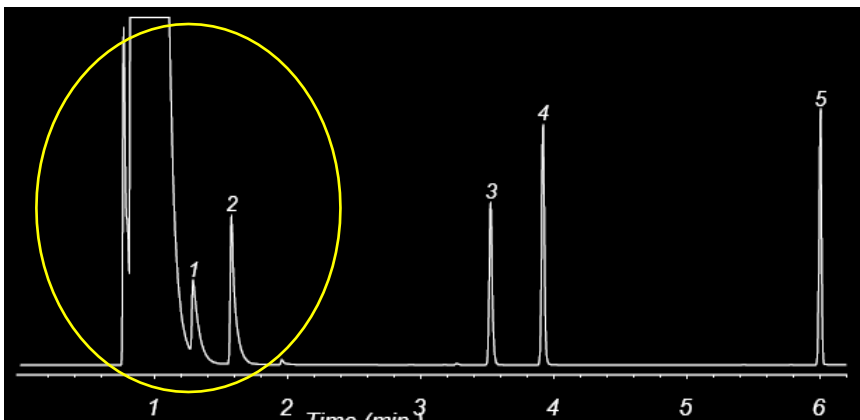
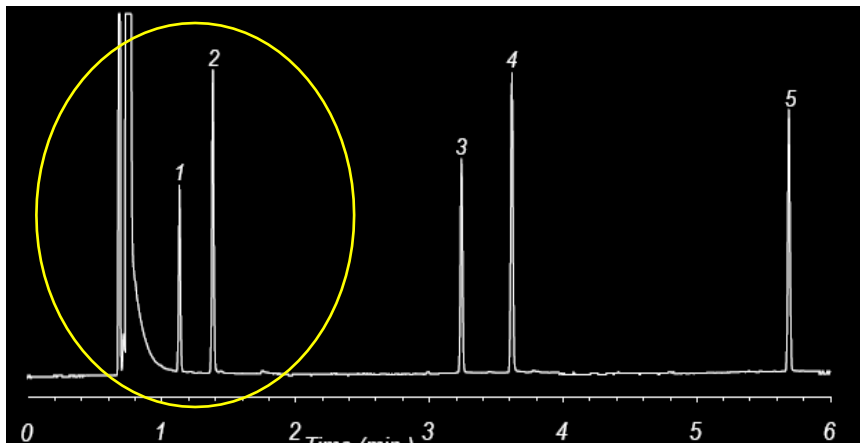


# Parametry nástřikových technik

## SPLIT

SPLIT POMĚR

1:200



1:5

DB-1 (15m x 0.25mm x 0.25 $\mu$ m)

(Obrázek: Hewlett-Packard (Agilent Technologies))



# Parametry nástřikových technik

## SPLIT

### NA SPLIT POMĚR MÁ VLIV

- **těkavost vzorku**
- **typ rozpouštědla**
- **nastřikovaný objem**
- **objem injektoru**
- **technika nástřiku stříkačkou**
- **teplota nástřiku**
- **teplota kolony (rekondenzace vzorku)**
  - \* **zóna sníženého tlaku**
  - \* **nasátí dalších par vzorku**



# Parametry nástřikových technik

## SPLIT

### OMEZENÍ DISKRIMINACE

- linery (skelná vata)
- zvýšená teplota nástřiku
- rychlý hotneedle

### ZVÝŠENÍ OPAKOVATELNOSTI / REPRODUKOVATELNOSTI

- stejný nástřikovaný objem
- stejné rozpouštědlo
- technika vnitřního standardu
- stejná počáteční teplota kolony

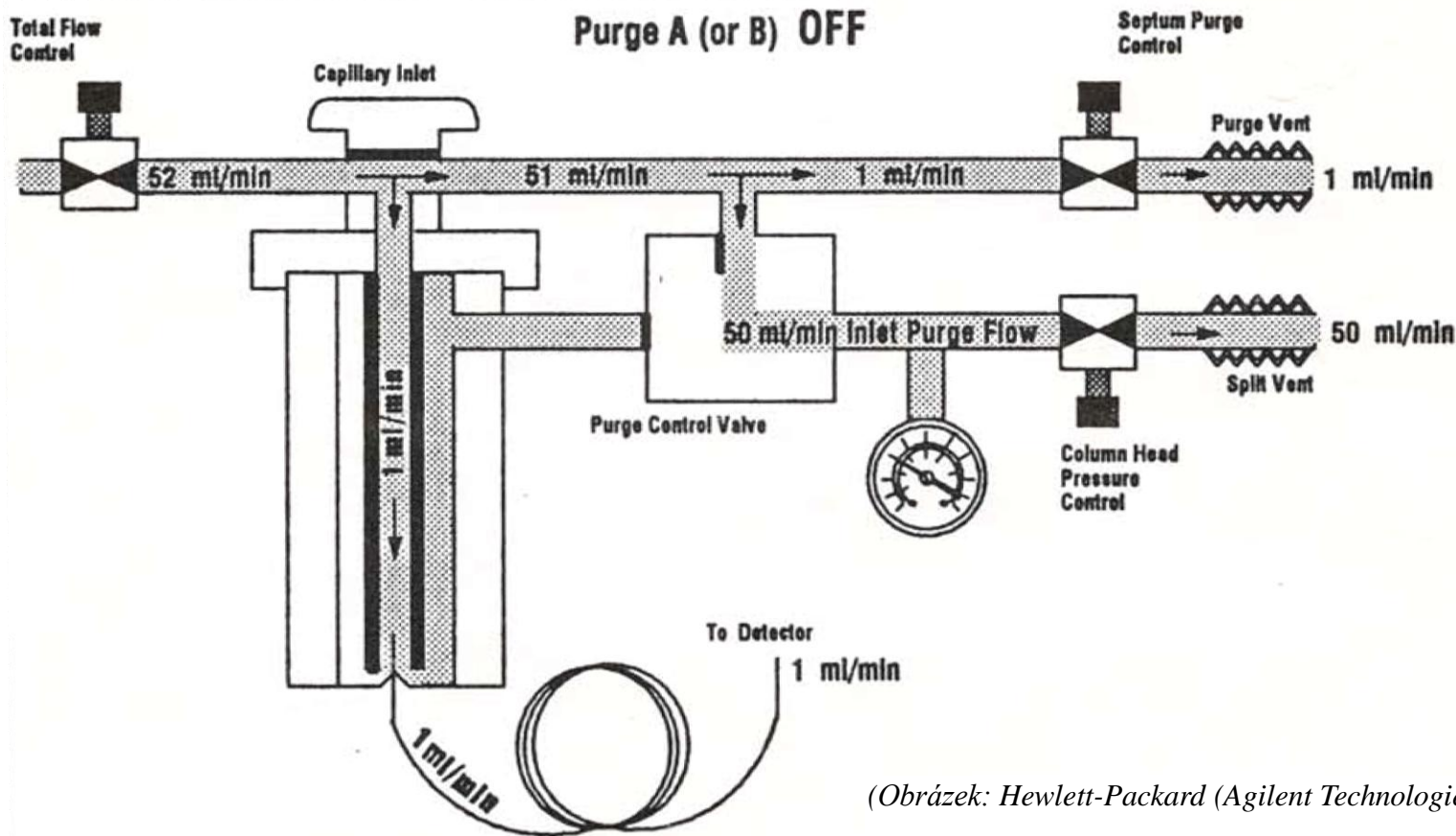
### POUŽITELNOST

- analyty eluující se před rozpouštědlem
- vzorky „znečištěné“ - vysoké koncentrace analytů
- při použití kolon s velmi malým i.d.



# Parametry nástřikových technik **SPLITLESS**

## *SAMPLE INTRODUCTION INTO COLUMN – splitless period (1)*

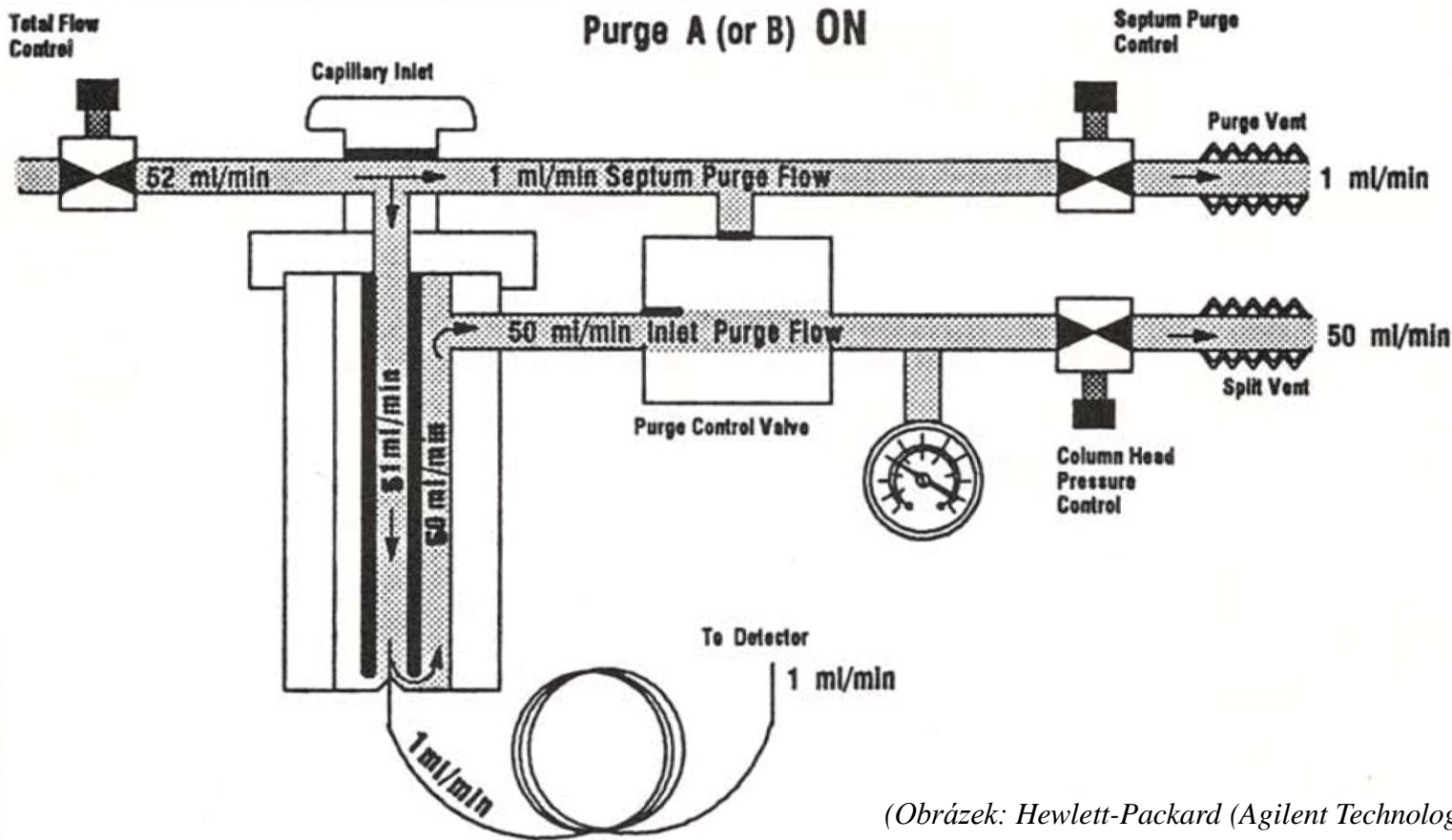


(Obrázek: Hewlett-Packard (Agilent Technologies))



# Parametry nástřikových technik **SPLITLESS**

## *SAMPLE INTRODUCTION INTO COLUMN – split period (2)*



(Obrázek: Hewlett-Packard (Agilent Technologies))





# Parametry nástřikových technik

## SPLITLESS

SPLITLESS PERIODA ( $t_s$ ) – experimentálně; závisí na:

- vlastnostech rozpouštědla
- vlastnostech analytů
- objemu nástřikového prostoru
- nástřikovaném objemu
- nástřikové rychlosti
- rychlosti nosného plynu

$$t_s = 2 \cdot \frac{V_l}{F}$$

$V_l$ ... objem lineru (ml)

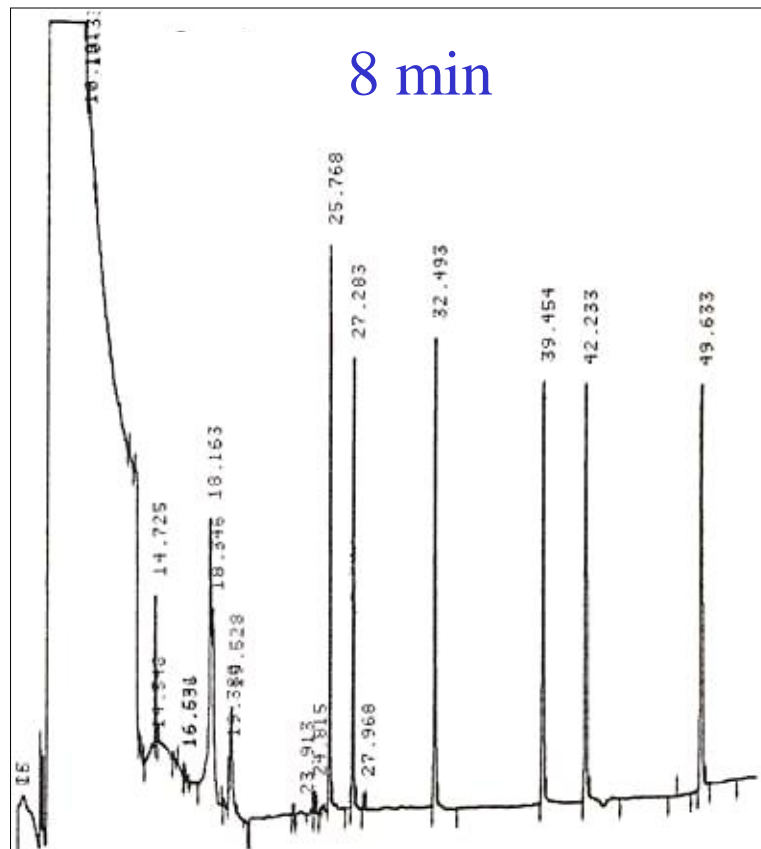
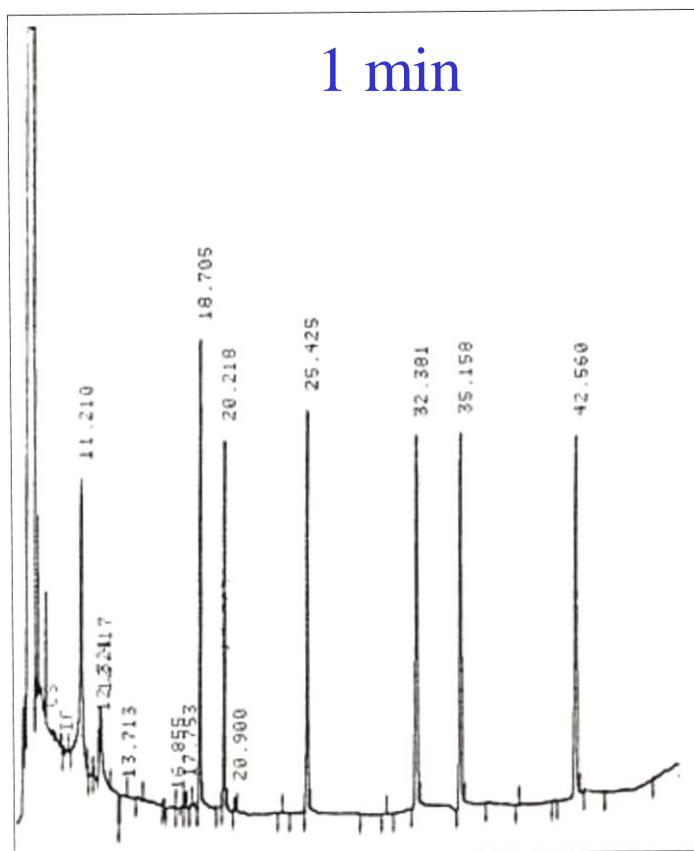
$F$ ... průtok nosného plynu (ml/min)

*Teoreticky 1,5 - 2 násobek času potřebného k protečení nosného plynu celým objemem nástřikového prostoru*

# Parametry nástřikových technik **SPLITLESS**

*Rozdílná splitless perioda - 1 vs. 8 min*

*Nárůst odezvy o 16%, rozšíření zóny rozpouštědla*



# Parametry nástřikových technik

## SPLITLESS

### ROZŠIŘOVÁNÍ NANÁŠENÉ ZÓNY

1. V ČASE – pomalý přenos par vzorku z inletu do kolony
2. V PROSTORU – důsledek migrace kapalného vzorku kolonou (1  $\mu$ l = 20 – 30 cm)

### ZAOSTŘENÍ NANÁŠENÉ ZÓNY

Jestliže  $k_{\text{front}} > k_{\text{rear}} \Rightarrow K_D$  vzroste,  $\beta$  klesne  
(Rozdělovací poměr  $k = K_D / \beta$ )



# Parametry nástřikových technik

## SPLITLESS

ZAOSTŘENÍ NANÁŠENÉ ZÓNY -  $k_{\text{front}} > k_{\text{rear}}$

**1. Pomocí SF** - kolona musí být zchlazena

**2. Rozpouštědlem** - teplota kolony 25-30 °C pod teplotou b.v. rozpouštědla; nastává kondenzace - vytváří se dočasná sekundární SF s tlustým filmem = oblast s  $\downarrow\beta$

- záchyt analytů (s těkavostí podobnou rozp.) v úzkém pásu

- následná programace teploty - postupné odpaření

**ROZŠIŘOVÁNÍ PÁSU V PROSTORU - retenční gap**



# Parametry nástřikových technik

## SPLITLESS

ZAOSTŘENÍ NANÁŠENÉ ZÓNY -  $k_{\text{front}} > k_{\text{rear}}$

**3. Teplotní zaostření** - teplota kolony min 150 °C pod teplotou

b.v. nejtěkavějšího analytu, rozpouštědlo prochází, analyty kondenzují

- programace teploty - postupné odpaření - často následuje zaostření pomocí SF

**4. Retenční gap** - kolona bez SF ( $k \rightarrow 0$ ) - minim. retence

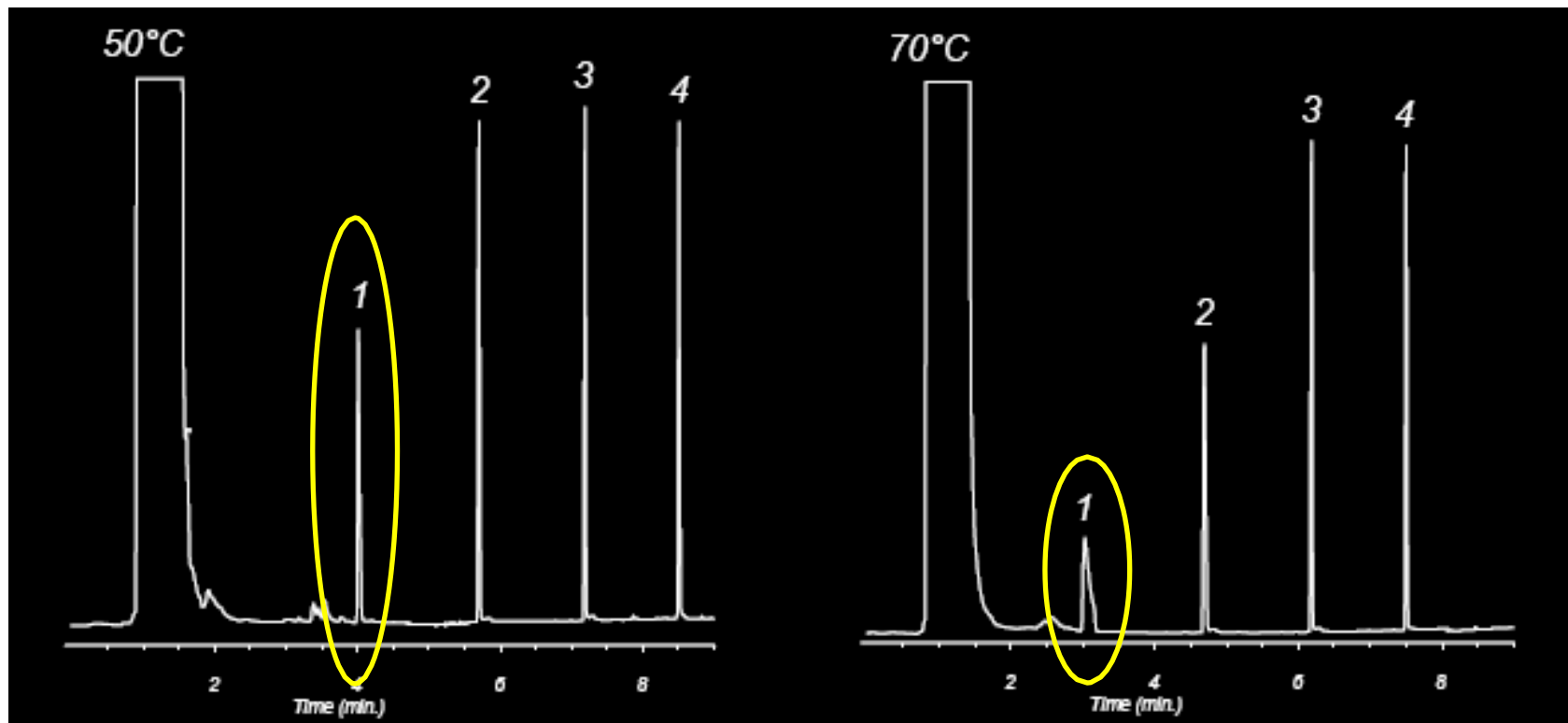
- redukce délky pásu (odpařování rozpouštědla)

- na hlavě kolony zaostření ROZPOUŠTĚDLEM a SF



# Parametry nástřikových technik **SPLITLESS**

## ZAOSTŘENÍ NANÁŠENÉ ZÓNY ROZPOUŠTĚDLEM



*(n-hexan, t.b.v. 68 °C)*

*(Obrázek: Allen K. Vickers, Agilent Technologies)*

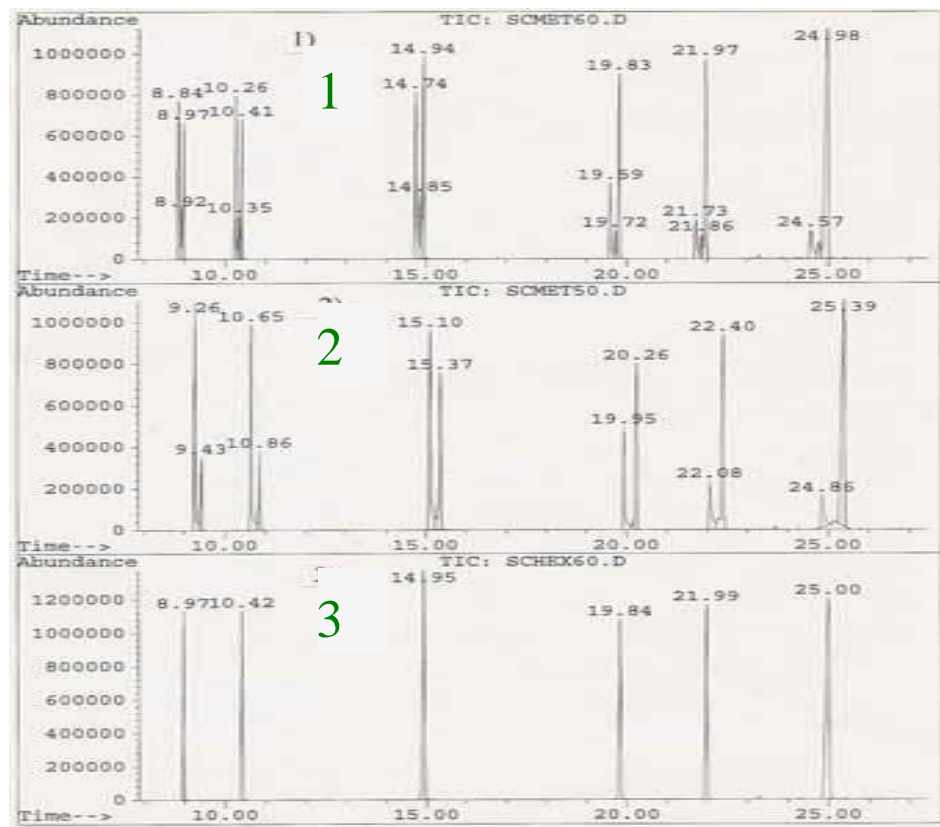
# Parametry nástřikových technik **SPLITLESS**

*POLARITA SF VS. POLARITA ROZPOUŠTĚDLA  
VS. POČÁTEČNÍ TEPLOTA KOLONY (DB-5, GC/MSD, FTALÁTY)*

1) MeOH, 60 °C

2) MeOH, 50 °C

3) n-Hexan, 60 °C



# Parametry nástřikových technik

## SPLITLESS

### OPTIMALIZACE

- t.b.v. rozpouštědla min o 25 °C < t.b.v. nejtěkavějšího analytu
- počáteční teplota kolony 25 – 30 °C pod t.b.v. rozpouštědla
- stejné nástřikované objemy

### POUŽITELNOST

- vzorky zředěné (koncentrace a počet analytů)
- vzorky relativně čisté (různé složky matrice vzorku)

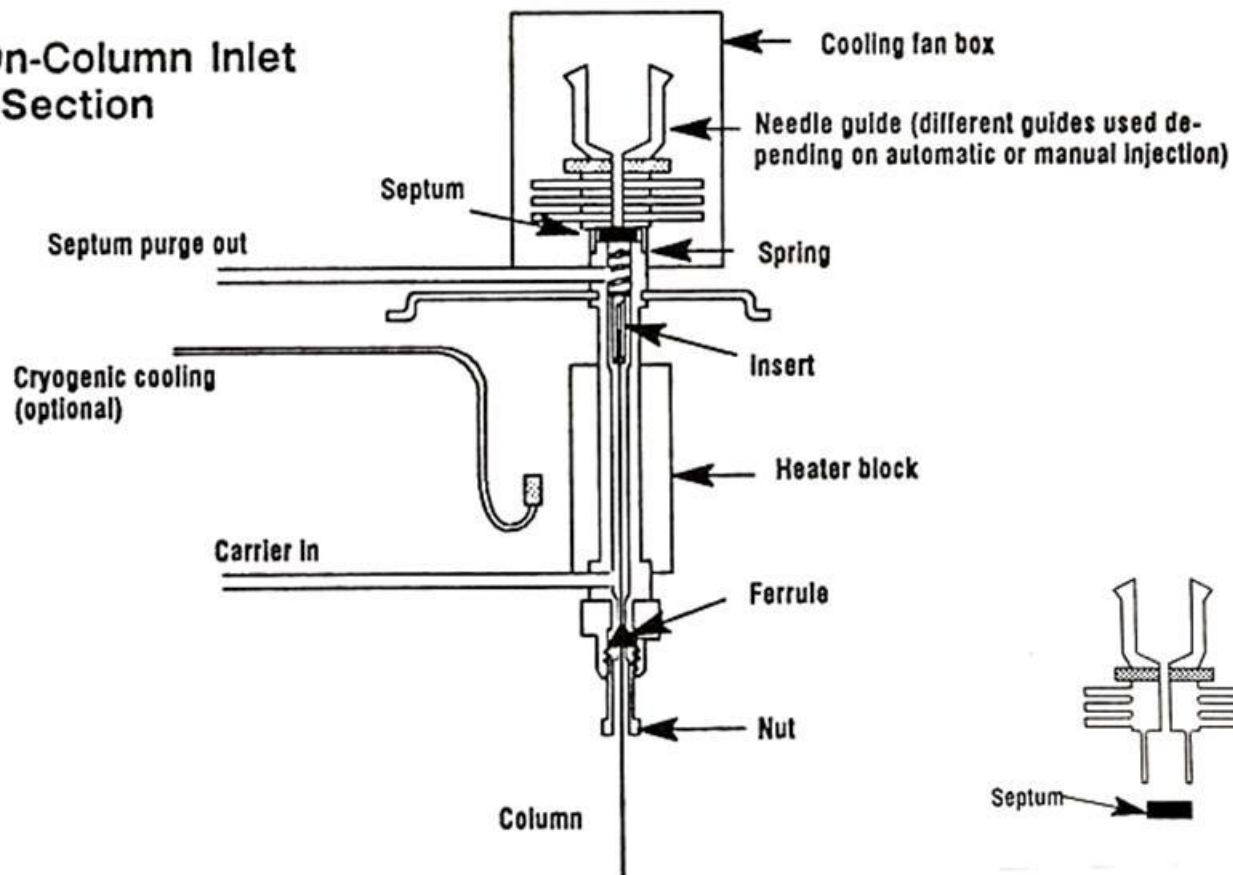




# Parametry nástřikových technik

## ON-COLUMN

### Cool On-Column Inlet Cross Section



(Obrázek: Hewlett-Packard (Agilent Technologies))



# Parametry nástřikových technik

## ON-COLUMN

*Kapalný vzorek je bez předeřtí a smíchání s nosným plynem nanášen přímo do kolony (stříkačkou se zúženou jehlou).*

### Výhody:

- \* NÍZKÉ RIZIKO DEGRADACE analytů během nástřiku
- \* ELIMINACE DISKRIMINACE

### Nevýhody:

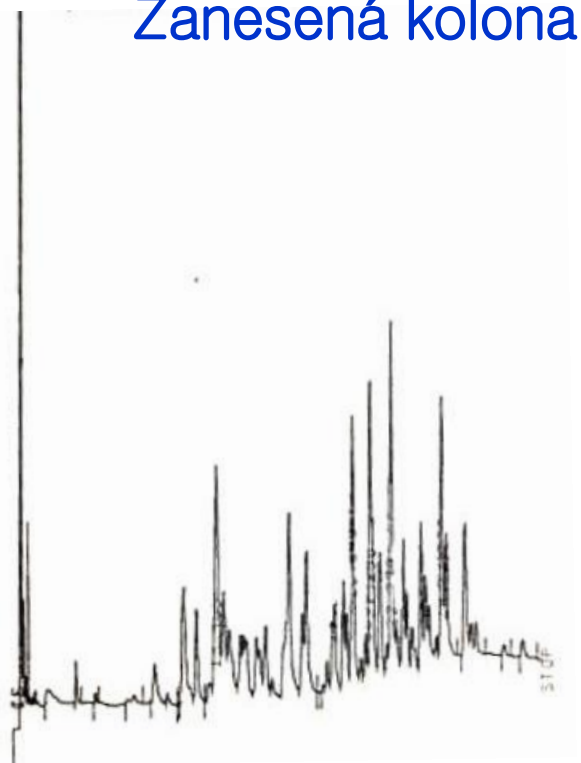
- \* KONTAMINACE systému netěkavými látkami
- \* ROZŠÍŘOVÁNÍ ZÓN V PROSTORU
- \* riziko „BACKFLASH“-  $\uparrow$  teplota kolony  
 $\Rightarrow$  tlak par  $>$  tlak nosného plynu  $\Rightarrow$  expanze v obou směrech  
 $\Rightarrow$  široký pík rozpouštědla, riziko memory efektů



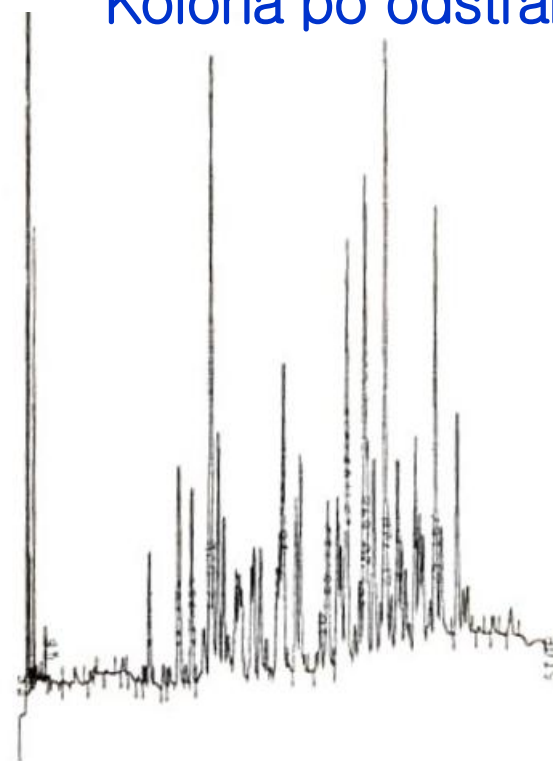
# Parametry nástřikových technik ON-COLUMN

## DEPOZICE NETĚKAVÝCH LÁTEK V KOLONĚ

Zanesená kolona



Kolona po odstranění 1 m



⇒ **RETENČNÍ GAP** (možnost nástřiku větších objemů)

# Parametry nástřikových technik

## ON-COLUMN

### SNÍŽENÍ RIZIKA "BACKFLUSH":

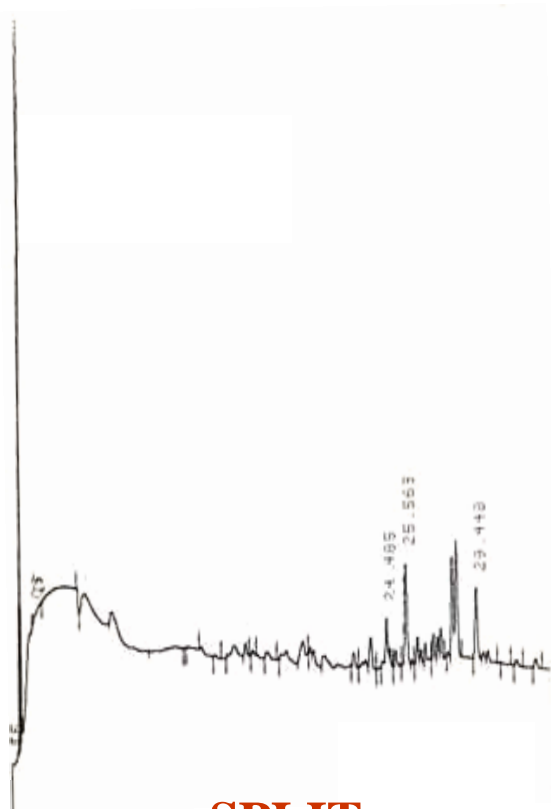
- teplota kolony  $\leq$  t.b.v. rozpouštědla
- nástřik rychlý, nepřerušovaný
- nástřik malých objemů
- větší průtok
- přídatné chlazení v místě nástřiku
- po nástřiku prudce zvýšit teplotu kolony
- **kombinace chlazení a pulzního nástřiku**

### POUŽITELNOST:

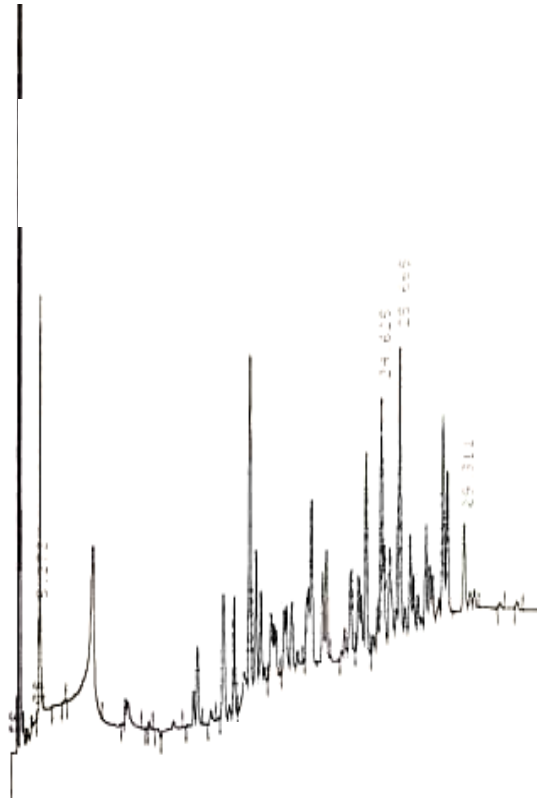
- vzorky zředěné, „čisté“
- analyty eluující se před rozpouštědlem nemohou být zaostřeny
- **vysoká odezva  $\Rightarrow$  nízké LOD**



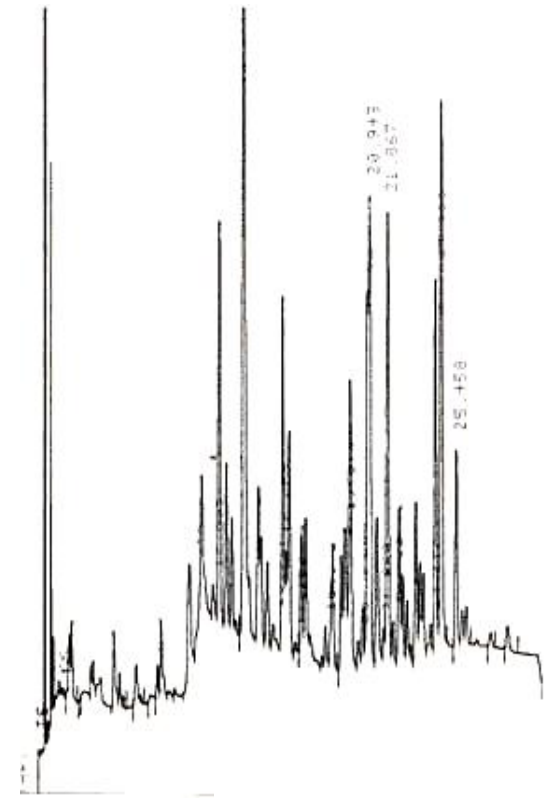
# POROVNÁNÍ NÁSTŘIKOVÝCH TECHNIK



**SPLIT**  
**21 %**



**SPLITLESS**  
**52 %**



**ON-COLUMN**  
**100 %**

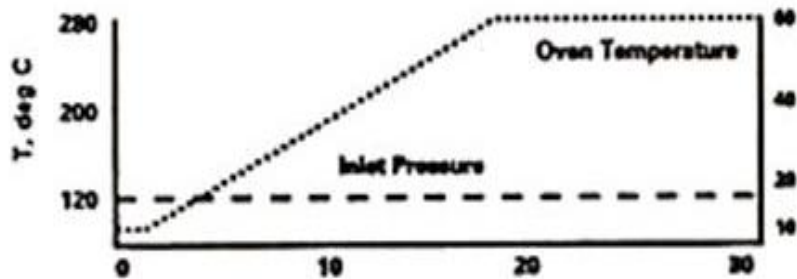


# ELEKTRONICKÉ ŘÍZENÍ TLAKU

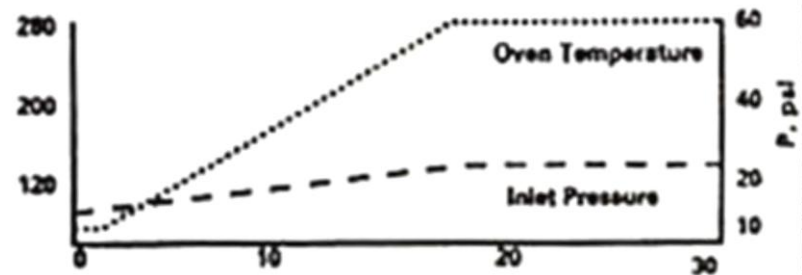
## ELECTRONIC PRESSURE CONTROL (EPC)

SPLIT, SPLITLESS, ON-COLUMN, detektorové plyny

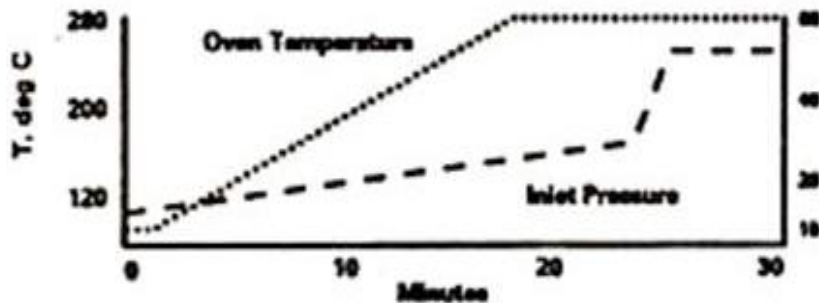
Konstantní tlak



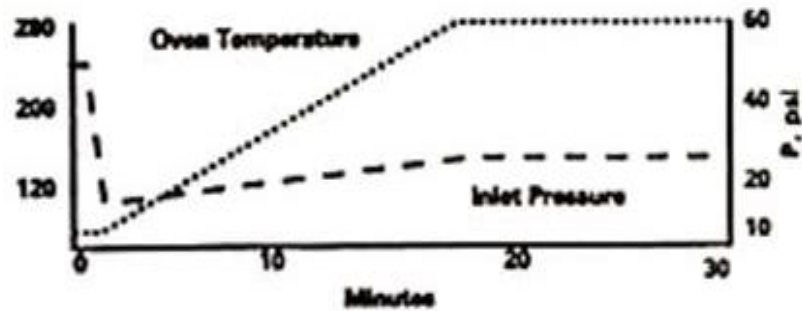
Konstantní průtok



Programování tlaku



Tlakový pulz + konst. průtok



# ELEKTRONICKÉ ŘÍZENÍ TLAKU

## ELECTRONIC PRESSURE CONTROL (EPC)

**Při aplikaci teplotního programu:**

↑ **Teplota** ⇒ ↓ **retence**

↑ **DIFFUZIVITA** ⇒ ↑ **OPTIMUM LINEÁRNÍ RYCHLOSTI**  
(udržení konstantní účinnosti)

↑ **Teplota** ⇒ ↓ **lineární rychlost u** ⇒ **programování tlaku = udržení u**

**Výhody EPC:**

- zlepšení reprodukovatelnosti RT
- zkrácení analýz
- snížení diskriminace a rozkladu termolabilních látek
- nástřik větších objemů (do 5  $\mu$ l s tlakovým pulzem)
- zlepšení rozlišení (užší píky) i pro později se eluující analyty



# ELEKTRONICKÉ ŘÍZENÍ TLAKU

## ELECTRONIC PRESSURE CONTROL (EPC)

### Porovnání nástřiku různých objemů

Objem: 1, 3, 5  $\mu\text{l}$  (= 10, 30, 50 pg PCB v nástřiku)

Kolona: DB-5 (60 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ )

$$\text{Relativní odezva (\%)} = (A_{n \mu\text{l}} / n * A_{1 \mu\text{l}}) * 100$$

a) Konstantní tlak:

16 psi = 0.74 ml/min při 60 °C  
= 0.33 ml/min při 270 °C

PCB	1 $\mu\text{l}$	3 $\mu\text{l}$	5 $\mu\text{l}$
28	100	93	91
180	100	78	52

b) Konstantní průtok:

0.74 ml/min = 16 psi při 60 °C  
= 28.2 psi při 270 °C

PCB	1 $\mu\text{l}$	3 $\mu\text{l}$	5 $\mu\text{l}$
28	100	85	94
180	100	89	118





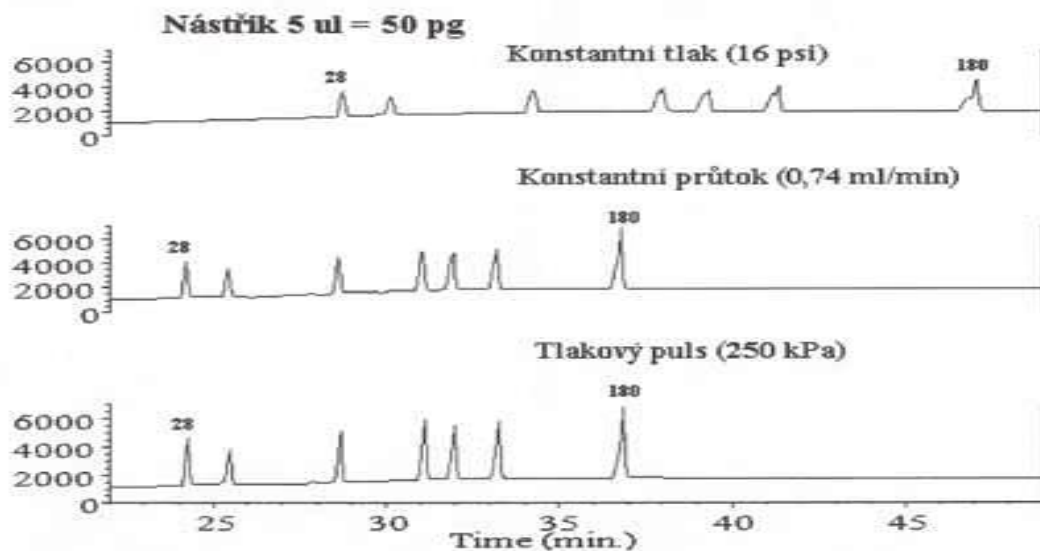
# ELEKTRONICKÉ ŘÍZENÍ TLAKU

## ELECTRONIC PRESSURE CONTROL (EPC)

### Porovnání nástřiku různých objemů

- c) Tlakový pulz: 150, 200 a 250 kPa po dobu splitless periody,  
dále konstantní průtok 0.74 ml/min

	150 kPa			200 kPa			250 kPa		
PCB	1 $\mu$ L	3 $\mu$ L	5 $\mu$ L	1 $\mu$ L	3 $\mu$ L	5 $\mu$ L	1 $\mu$ L	3 $\mu$ L	5 $\mu$ L
28	100	89	91	100	88	95	100	97	97
180	100	85	94	100	99	100	100	96	100



# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

### Důvody pro aplikaci:

- Možnost snížení LOD/LOQ
  - např. 1  $\mu$ l roztoku o konc. 1 mg/kg = 50  $\mu$ l roztoku o konc. 20  $\mu$ g/kg  
 $\Rightarrow$  50 x nižší LOD/LOQ
- Možnost zjednodušení přípravy vzorku
  - lze vynechat zakoncentraci vzorku (RVO, N2)
  - lze snížit poměr navážka vzorku / konečný objem extraktu (příprava zředěných extraktů)
- Možnost on-line spojení metod
  - extrakce vzorku + GC nebo LC - např. SPE + GC/MS nebo LC/MS
  - LC separace + GC separace



# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

### Realizace

- problémem je velké množství nastříkovaného rozpouštědla, které způsobuje rozšíření nanášené zóny a zatěžuje detektory
- jsou aplikovány různé technické varianty řešení založené na odstranění (odvedení par) rozpouštědla před analytickou kolonou

### Aplikované technické varianty

- COOL ON-COLUMN NÁSTŘIK - **COC**
- COC S VÝSTUPEM PAR ROZPOUŠTĚDLA  
(COC - solvent vapor exit, **COC-SVE**)
- TEPLTNĚ PROGRAMOVANÝ SPLIT/SPLITLESS NÁSTŘIK  
(Programmed Temperature Vaporizing Injector - **PTV**)



# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

TECHNIKA	REALIZACE	OBJEM	NEVÝHODY
COC	předkolona $\approx$ 5 - 10 m	do 100 $\mu$ L	akumulace netěkavých látek
COC-SVE	předkolona + SVE	do 1 ml	akumulace netěkavých látek
PTV	- řízená rychlost nástřiku - upravený liner (popř. s náplní) - kryogenní chlazení (CO <sub>2</sub> )	do 1 ml	zráta těkavých látek

# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

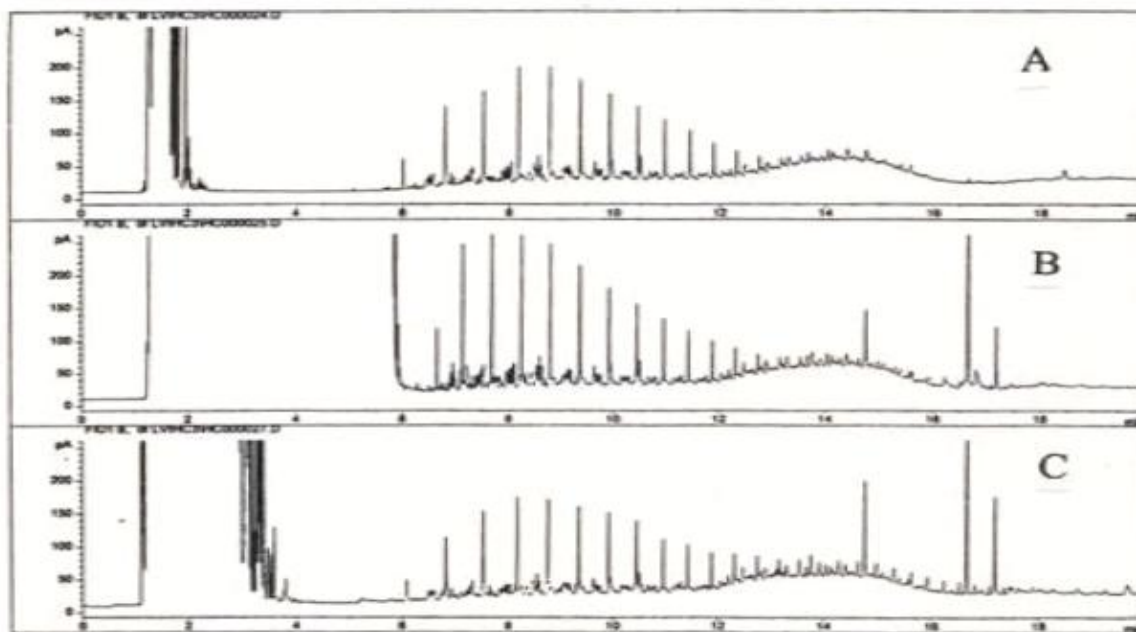
### Porovnání COC technik

*Referenční vzorek minerálního oleje v hexanu, GC/FID*

A) COC - koncentrace 1 mg/ml, nástřik 1  $\mu$ l

B) COC-předkolona - zředěno 50x (=0,02 mg/ml), nástřik 50  $\mu$ l

C) COC-SVE - zředěno 50x (=0,02 mg/ml), nástřik 50  $\mu$ l



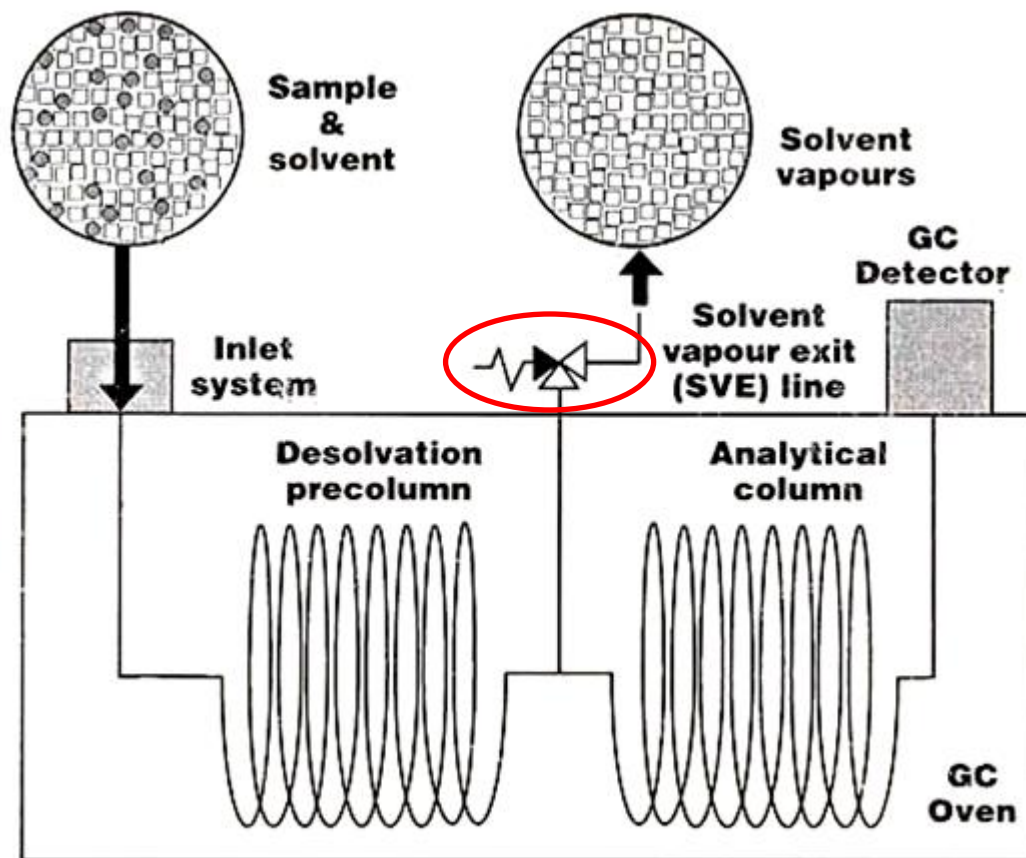
# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

### REALIZACE COC-SVE

1. *Odstranění  
(odvětvení)  
rozpouštědla  
za předkolumnou*

2. *Programování  
teploty po  
odstranění  
rozpouštědla  
(senzor, FID)*

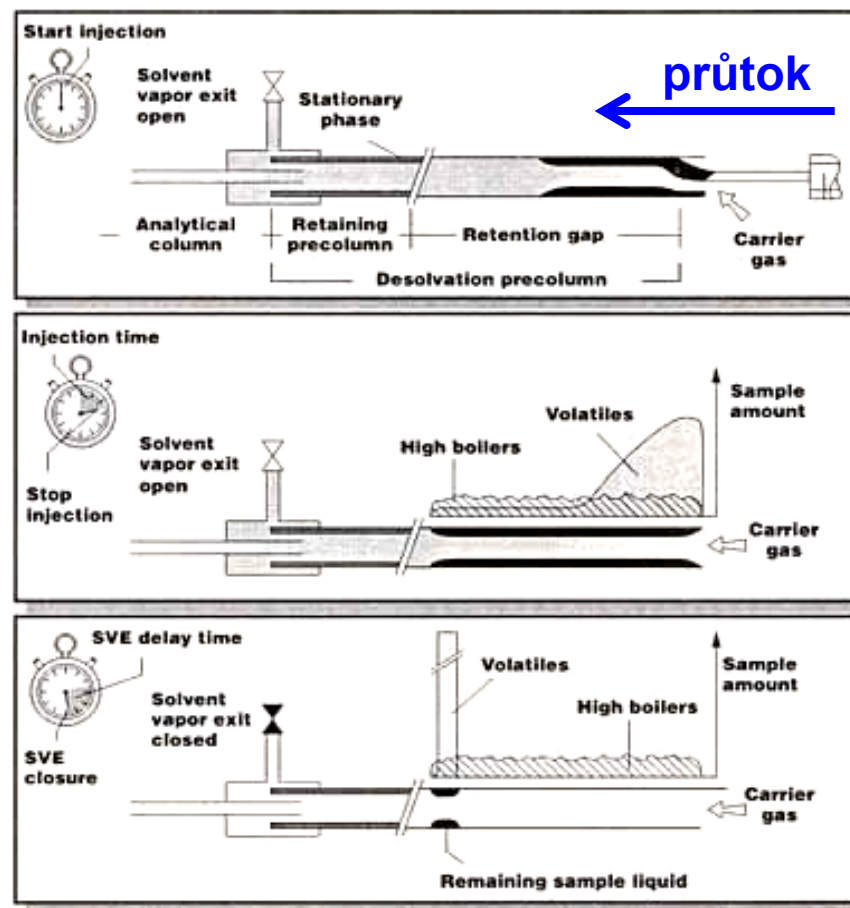


# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

## COC-SVE: DETAILNÍ POHLED NA NÁSTŘIK

\* *Minimální ztráty  
těkavých látek*

\* *Kontaminovaná  
předkolona může způsobit  
chvostování píků  
(projevuje se např.  
u čistých roztoků STD)*

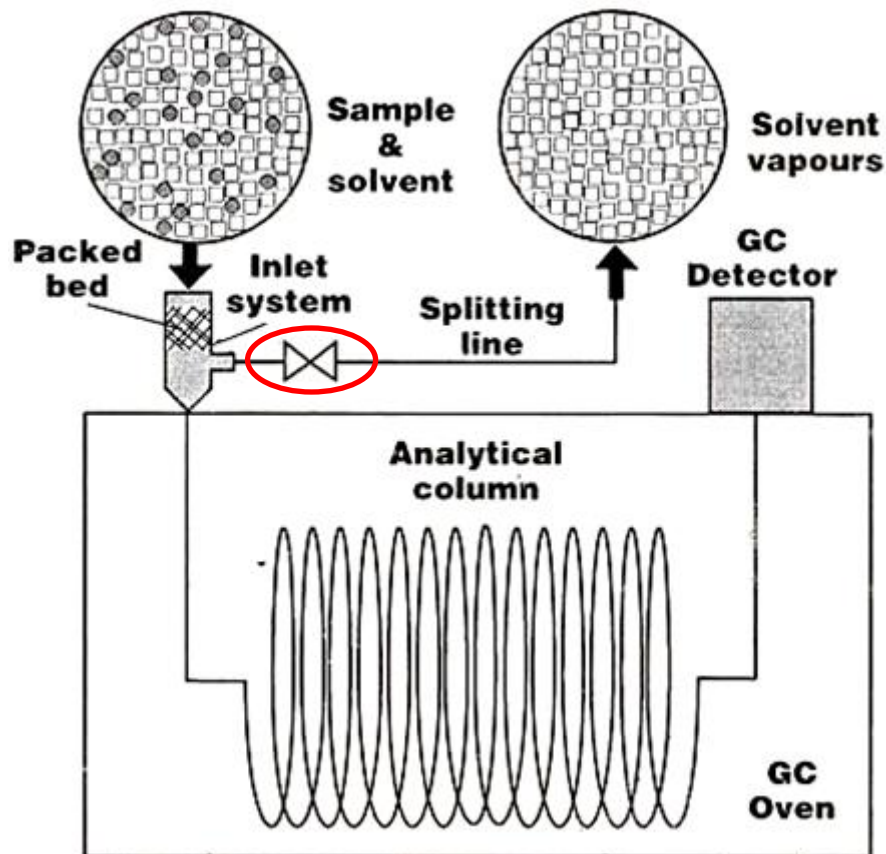


# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

## REALIZACE PTV

*1. Odstranění  
(odvětvení)  
rozpuštědla  
přes splitovou  
linii nástríku*

*2. Programování  
teploty nástríku  
po odstranění  
rozpuštědla  
(senzor, FID)*





# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

### REALIZACE PTV - požadavky na technickou realizaci

- \* Malý vnitřní objem injektoru pro usnadnění rychlého záhřevu
- \* Malý vnitřní objem insertu (stejný důvod), cca 15 -150  $\mu$ l
- \* Insert (liner) naplněný skelnou vatou či jiným nosičem  
(zádrž kapalného vzorku - minimalizace ztrát vysoce těkavých l.)

*Jestliže rychlost nástřiku = rychlosti odpařování rozpouštědla,  
je teoreticky možné nástřikovat jakékoliv množství vzorku*

### *Automatizované řešení*

1. Aplikace senzoru na splitové linii - umožňuje optimalizaci podmínek odpařování rozpouštědla (rychlost, teplota, průtok), nastavení procenta odstranění rozpouštědla
2. Nastavitelná rychlost nástřiku



# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

### PTV nástřik - SPLIT/SPLITLESS

1. Nástřik kapalného vzorku - do chladného injektoru s otevřeným splitem
2. Rozpouštědlo je unášeno do splitové linie společně s velmi těkavými látkami
3. Split je uzavřen a injektor prudce vyhřát - látky jsou přeneseny do kolony

### Výhody a nedostatky

Nedochází k diskriminaci v jehle a nástřiku a případné tepelné degradaci sloučenin (oproti klasickému SPLIT/SPLITLESS)

Minimální problémy s kontaminací kolony (nutnost pravidelně měnit náplň insertu)

Ztráty velmi těkavých analytů (nutná kompromisní optimalizace: volba náplně insertu, teploty a průtoku)



# NÁSTŘIK VELKÝCH OBJEMŮ

## LARGE VOLUME INJECTION (LVI)

### POROVNÁNÍ COC A PTV

Počet nástřiků:

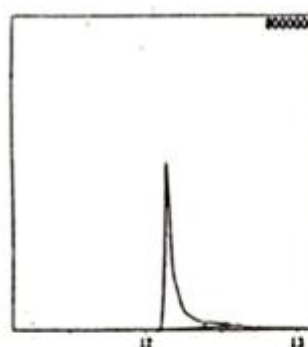
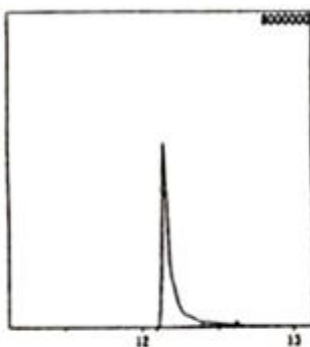
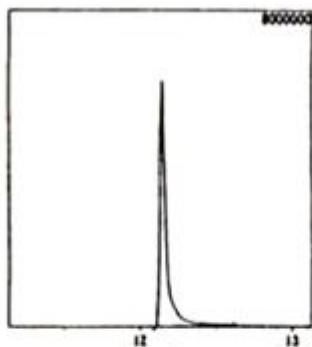
20

30

40

50

COC



PTV

