

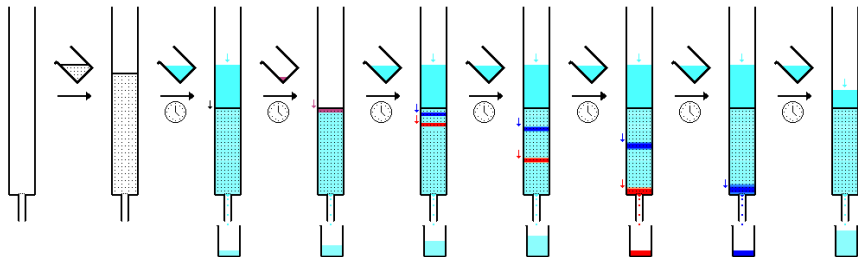
Cvičení z analytické chemie

Tereza Uhlíková

April 25, 2024

Chromatografie

separace látek na základě různé přilnavosti ke stacionární fázi



Chromatografie

Distribuční konstanta $K_D = \frac{[A]_{\text{mob}}}{[A]_{\text{stac}}}$

Retenční čas - doba, kterou potřebovala daná látka k průchodu od nástřikového zařízení k detektoru $t'_R = t_R - t_M$

Retenční faktor (kapacitní poměr) $k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M}$

Retenční objem $V_R = t_R \cdot F_M$, kde F_M je průtok mobilní fáze

Počet pater (=účinnost kolony) $N = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{\frac{h}{2}}} \right)^2$

W – šířka píku: b – u základny; $\frac{h}{2}$ – v polovině výšky píku

Výška patra $H = \frac{L}{N}$, L – délka kolony

Chromatografie

Separační faktor, nebo retenční poměr

$$\alpha = \frac{K_{D,2}}{K_{D,1}} = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_{R,2}}{t'_{R,1}}$$

Rozlišení a) odečtením z experimentálně naměřeného chromatogramu

$$R_S = \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{0,5 \cdot (W_{b,2} + W_{b,1})}$$

b) odvozený teoretický vztah

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k_2}{k_2 + 1}$$

Výsledky rozlišení z obou vztahů se mohou mírně lišit.

Retenční index

$$I = 100 \left[z + \frac{\log t'_R(A) - \log t'_R(z)}{\log t'_R(z+1) - \log t'_R(z)} \right]$$

Příklad 1

Kapalinovou chromatografií byly na koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy $t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. Za stejných podmínek byl zjištěn retenční čas nezadržované složky $t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

Vypočítejte:

- počet pater N pro obě složky a průměrnou hodnotu,
- výšku patra H ,
- rozlišení složek A a B (ze vztahu uvažujícího počet pater),
- délku kolony 2 potřebou k dosažení rozlišení $R_S = 1,5$,
- čas potřebný k eluci látky B na koloně 2.

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy
 $t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky
 $t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.
a) účinnost kolony se vyjadřuje jako počet pater (bezrozměrná veličina)

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy $t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky $t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

a) účinnost kolony se vyjadřuje jako počet pater (bezrozměrná veličina)

$$N(A) = 16 \cdot \left(\frac{t_R(A)}{W_b(A)} \right)^2 =$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

a) účinnost kolony se vyjadřuje jako počet pater (bezrozměrná veličina)

$$N(A) = 16 \cdot \left(\frac{t_R(A)}{W_b(A)} \right)^2 = 16 \cdot \left(\frac{16,4}{1,11} \right)^2 = 3493$$

$$N(B) = 16 \cdot \left(\frac{t_R(B)}{W_b(B)} \right)^2 =$$

koloně délky $L = 30 \text{ cm}$ (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4 \text{ min}$ a $t_R(B) = 17,6 \text{ min}$. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30 \text{ min}$. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11 \text{ min}$ a $W_b(B) = 1,12 \text{ min}$.

a) účinnost kolony se vyjadřuje jako počet pater (bezrozměrná veličina)

$$N(A) = 16 \cdot \left(\frac{t_R(A)}{W_b(A)} \right)^2 = 16 \cdot \left(\frac{16,4}{1,11} \right)^2 = 3493$$

$$N(B) = 16 \cdot \left(\frac{t_R(B)}{W_b(B)} \right)^2 = 16 \cdot \left(\frac{17,6}{1,12} \right)^2 = 3951$$

$$\varnothing N = 3722$$

b) výška patra - udává se zpravidla v mm a vypočítá se z délky kolony L (mm) dělené počtem pater

koloně délky $L = 30 \text{ cm}$ (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4 \text{ min}$ a $t_R(B) = 17,6 \text{ min}$. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30 \text{ min}$. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11 \text{ min}$ a $W_b(B) = 1,12 \text{ min}$.

a) účinnost kolony se vyjadřuje jako počet pater (bezrozměrná veličina)

$$N(A) = 16 \cdot \left(\frac{t_R(A)}{W_b(A)} \right)^2 = 16 \cdot \left(\frac{16,4}{1,11} \right)^2 = 3493$$

$$N(B) = 16 \cdot \left(\frac{t_R(B)}{W_b(B)} \right)^2 = 16 \cdot \left(\frac{17,6}{1,12} \right)^2 = 3951$$

$$\varnothing N = 3722$$

b) výška patra - udává se zpravidla v mm a vypočítá se z délky kolony L (mm) dělené počtem pater

$$H = \frac{L}{N} = \frac{30}{3722} = 0,0081 \text{ cm} = 0,081 \text{ mm}$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

c) rozlišení je bezrozměrná veličina, která vyjadřuje kvantitativně do jaké míry jsou dvě, na chromatogramu sousedící složky A a B, rozlišeny

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

c) rozlišení je bezrozměrná veličina, která vyjadřuje kvantitativně do jaké míry jsou dvě, na chromatogramu sousedící složky A a B, rozlišeny

$$R_{B,A} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha_{B,A} - 1}{\alpha_{B,A}} \cdot \frac{k_B}{k_B + 1} =$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

c) rozlišení je bezrozměrná veličina, která vyjadřuje kvantitativně do jaké míry jsou dvě, na chromatogramu sousedící složky A a B, rozlišeny

$$R_{B,A} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha_{B,A} - 1}{\alpha_{B,A}} \cdot \frac{k_B}{k_B + 1} = \frac{\sqrt{3722}}{4} \cdot \frac{1,080 - 1}{1,080} \cdot \frac{12,54}{12,54 + 1} = 1,046$$

$$\text{kapacitní poměry } k_B = \frac{t_R(B) - t_M}{t_M} =$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

c) rozlišení je bezrozměrná veličina, která vyjadřuje kvantitativně do jaké míry jsou dvě, na chromatogramu sousedící složky A a B, rozlišeny

$$R_{B,A} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha_{B,A} - 1}{\alpha_{B,A}} \cdot \frac{k_B}{k_B + 1} = \frac{\sqrt{3722}}{4} \cdot \frac{1,080 - 1}{1,080} \cdot \frac{12,54}{12,54 + 1} = 1,046$$

kapacitní poměry $k_B = \frac{t_R(B) - t_M}{t_M} = \frac{17,6 - 1,30}{1,30} = 12,54$

$$k_A = \frac{t_R(A) - t_M}{t_M} =$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

c) rozlišení je bezrozměrná veličina, která vyjadřuje kvantitativně do jaké míry jsou dvě, na chromatogramu sousedící složky A a B, rozlišeny

$$R_{B,A} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha_{B,A} - 1}{\alpha_{B,A}} \cdot \frac{k_B}{k_B + 1} = \frac{\sqrt{3722}}{4} \cdot \frac{1,080 - 1}{1,080} \cdot \frac{12,54}{12,54 + 1} = 1,046$$

kapacitní poměry $k_B = \frac{t_R(B) - t_M}{t_M} = \frac{17,6 - 1,30}{1,30} = 12,54$

$$k_A = \frac{t_R(A) - t_M}{t_M} = \frac{16,4 - 1,30}{1,30} = 11,61$$

$$\alpha_{B,A} = \frac{k_B}{k_A} =$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy

$t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky

$t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

c) rozlišení je bezrozměrná veličina, která vyjadřuje kvantitativně do jaké míry jsou dvě, na chromatogramu sousedící složky A a B, rozlišeny

$$R_{B,A} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha_{B,A} - 1}{\alpha_{B,A}} \cdot \frac{k_B}{k_B + 1} = \frac{\sqrt{3722}}{4} \cdot \frac{1,080 - 1}{1,080} \cdot \frac{12,54}{12,54 + 1} = 1,046$$

kapacitní poměry $k_B = \frac{t_R(B) - t_M}{t_M} = \frac{17,6 - 1,30}{1,30} = 12,54$

$$k_A = \frac{t_R(A) - t_M}{t_M} = \frac{16,4 - 1,30}{1,30} = 11,61$$

$$\alpha_{B,A} = \frac{k_B}{k_A} = \frac{12,54}{11,61} = 1,080$$

S použitím vztahu zahrnující šířky u základny je

$$R_S = \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{0,5 \cdot (W_{b,2} + W_{b,1})} = 1,076,$$

jelikož dále chceme pokračovat se zjišťováním jak dlouhá má být kolona s vyšším rozlišením, použijeme vztah s počtem pater (nebo-li délkou kolony).

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy $t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky $t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

d) počítáme-li s relativními retenčními časy, lze napsat poměr

$$\frac{R_{1B,A}}{R_{2B,A}} = \frac{\sqrt{N_1}}{\sqrt{N_2}}$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy $t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky $t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

d) počítáme-li s relativními retenčními časy, lze napsat poměr

$$\frac{R1_{B,A}}{R2_{B,A}} = \frac{\sqrt{N_1}}{\sqrt{N_2}} \quad \Rightarrow \quad \frac{1,046}{1,5} = \frac{\sqrt{3722}}{\sqrt{N_2}}$$

$N_2 = 7654$ a $L_2 = H \cdot N_2 = 0,081 \cdot 7654 = 62$ cm

e) absolutní čas, kdy projde složka B je však různý a závisí na délce kolony.

$$\frac{t1_R(B)}{t2_R(B)} = \frac{L_1}{L_2}$$

koloně délky $L = 30$ cm (kolona 1) pro látky A a B zjištěny retenční časy $t_R(A) = 16,4$ min a $t_R(B) = 17,6$ min. retenční čas nezadržované složky $t_M = 1,30$ min. Šířky píků na základně byly $W_b(A) = 1,11$ min a $W_b(B) = 1,12$ min.

d) počítáme-li s relativními retenčními časy, lze napsat poměr

$$\frac{R1_{B,A}}{R2_{B,A}} = \frac{\sqrt{N_1}}{\sqrt{N_2}} \implies \frac{1,046}{1,5} = \frac{\sqrt{3722}}{\sqrt{N_2}}$$

$N_2 = 7654$ a $L_2 = H \cdot N_2 = 0,081 \cdot 7654 = 62$ cm

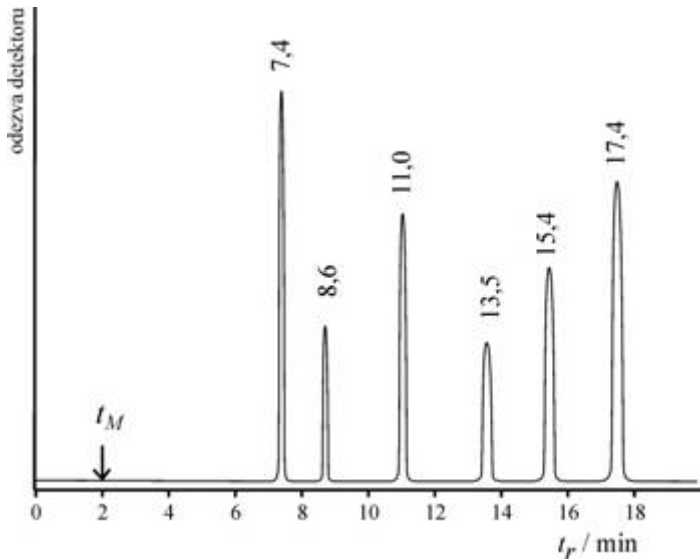
e) absolutní čas, kdy projde složka B je však různý a závisí na délce kolony.

$$\frac{t1_R(B)}{t2_R(B)} = \frac{L_1}{L_2} \implies \frac{17,6}{t2_R(B)} = \frac{30}{62}$$

$$t2_R(B) = 36,37 \text{ min}$$

Příklad 2

Na obr. je uveden chromatogram směsi složené z nerozvětvených alkanů



Příklad 2

Na obr. je uveden chromatogram směsi složené z nerozvětvených alkanů C_{15} ($t_R = 7,4$ min), C_{16} ($t_R = 11,0$ min) a C_{17} ($t_R = 17,4$ min) a ze vzorku obsahujícího tři deriváty naftalenu (t_R : 8,6; 13,5; 15,4 min). Separace byla provedena na kapilární koloně o délce 50 m a vnitřním průměru 0,2 mm se stacionární fází polyfenyletherem při 180 °C; mrtvý retenční čas byl 2,0 min. Z hodnot retenčních časů odečtených na chromatogramu vypočítejte pro složky 1, 2 a 3 retenční indexy a identifikujte tyto složky na základě dat v tabulce.

látka	I	látka	I
naftalen	1539	2,6-dimethylnaftalen	1749
2-methylnaftalen	1646	1,6-dimethylnaftalen	1764
1-methylnaftalen	1674	2,3-dimethylnaftalen	1800

směsi složené z nerozvětvených alkanů C_{15} ($t_R = 7,4$ min), C_{16} ($t_R = 11,0$ min) a C_{17} ($t_R = 17,4$ min) a ze vzorku obsahujícího tři deriváty naftalenu (t_R : 8,6; 13,5; 15,4 min).

Identifikace členů homologických řad - separační faktor po sobě jdoucích dvou členů v homologické řadě je konstantní.

Retenční index složky A se vypočítá ze vztahu

$$I_A = 100z + 100 \frac{\log t'_R(A) - \log t'_R(z)}{\log t'_R(z+1) - \log t'_R(z)},$$

kde t'_R je redukovaný retenční čas, A značí neznámou složku, z značí nerozvětvený alkan se z uhlíkovými atomy a $z + 1$ alkan se $z + 1$ uhlíkovými atomy. Přitom se dva uhlíkové standardy volí tak, aby platilo:

$$t'_R(z) \leq t'_R(A) \leq t'_R(z+1)$$

potřebné redukované parametry jsou:

$$\begin{aligned} t'_R(1) &= t_R(1) - t_M = 8,6 - 2 = 6,6 \text{ min} \\ t'_R(2) &= t_R(2) - t_M = 13,5 - 2 = 11,5 \text{ min} \\ t'_R(3) &= t_R(3) - t_M = 15,4 - 2 = 13,4 \text{ min} \\ t'_R(15) &= t_R(15) - t_M = 7,4 - 2 = 5,4 \text{ min} \\ t'_R(16) &= t_R(16) - t_M = 11,0 - 2 = 9,0 \text{ min} \end{aligned}$$

směsi složené z nerozvětvených alkanů C_{15} ($t_R = 7,4$ min), C_{16} ($t_R = 11,0$ min) a C_{17} ($t_R = 17,4$ min) a ze vzorku obsahujícího tři deriváty naftalenu (t_R : 8,6; 13,5; 15,4 min)

postupně dosazujeme do výrazu pro retenční indexy

$$\begin{aligned} I_A &= 100z + 100 \frac{\log t'_R(A) - \log t'_R(z)}{\log t'_R(z+1) - \log t'_R(z)} = \\ &= 100 \cdot 15 + 100 \cdot \frac{\log 6,6 - \log 5,4}{\log 9,0 - \log 5,4} = 1539,3 \end{aligned}$$

porovnáním získané hodnoty s tabulkovými hodnotami identifikujeme neznámou složku č. 1 jako naftalen. Stejným způsobem se postupuje i u složek č. 2 (2-methylnaftalen) a č. 3 (1-methylnaftalen).

Příklad 3

Směs obsahující metanol, etanol a další neznámou složku byla analyzována na plynovém chromatografu s kolonou plněnou Inertonem s 3% (m/m) Carbowaxu 400 při teplotě 80 °C a průtoku nosného plynu 20 ml/min. Na chromatogramu byly odečteny retenční časy (t_R) a šířky píků u základny (W).

	nezadrž.složka	metanol	etanol	neznámá složka
t_R (min)	0,50	2,00	2,70	5,23
W (min)		0,43	0,68	0,56

- Určete, s jakým rozlišením byly metanol a etanol separovány.
- Určete jejich separační faktor.
- Zjistěte, zda neznámá složka je nerozvětvený primární alkohol obsahující 4 uhlíky.

(Nápověda: logaritmus redukovaného retenčního času látky je úměrný počtu atomů uhlíku z , tedy $\log t'_R = a + bz$, kde a a b jsou konstanty).

a)

$$R_s = \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{0,5 \cdot (W_2 + W_1)} = \frac{2,7 - 2,0}{0,5 \cdot (0,68 + 0,43)} = 1,216$$

b)

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_R(2)}{t'_R(1)} = \frac{t_R(2) - t_M}{t_R(1) - t_M} = \frac{2,7 - 0,5}{2,0 - 0,5} = 1,467$$

c) platí tyto 2 rovnice

$$\log(t_R(\text{metanol}) - t_M) = a + b \cdot 1 \Rightarrow \log 1,5 = a + b$$

$$\log(t_R(\text{etanol}) - t_M) = a + b \cdot 2 \Rightarrow \log 2,2 = a + b \cdot 2$$

řešit tuto soustavu rovnic a dostávám hodnoty koeficientů a a b

$$a = 0,00976$$

$$b = 0,166331$$

pomocí konstant a a b určím počet uhlíků z

$$z = 4$$

ANO, je to butanol