



Metody separace přírodních látek

(5)

Chromatografie; základní definice a klasifikace různých metod; kapalinová chromatografie, plynová chromatografie, přístrojová technika.

Chromatografie

« F(+)*d* »

- | | |
|------|---|
| 1897 | D.T.Day
-chromatografie LS frontální |
| 1903 | M.S.Cvet
-chromatografie LS eluční |
| 1931 | A.Winterstein a E.Lederer |
| 1941 | A.J.P.Martin a R.L.M.Synge
-chromatografie LL eluční |
| 1952 | -A.T.James a A.J.P.Martin |



DEFINICE CHROMATOGRAFIE

Fenomenologická definice:

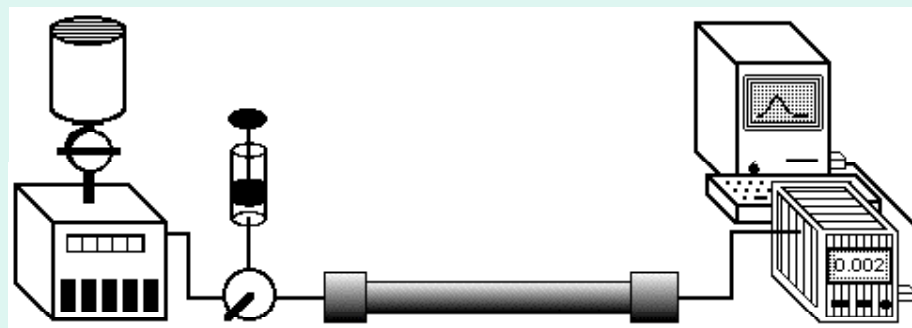
Diferenciální migrace (selektivní transport) separovaných molekul (solutu) v systému dvou fází, z nichž jedna fáze je stacionární a druhá mobilní.

Kinetická definice:

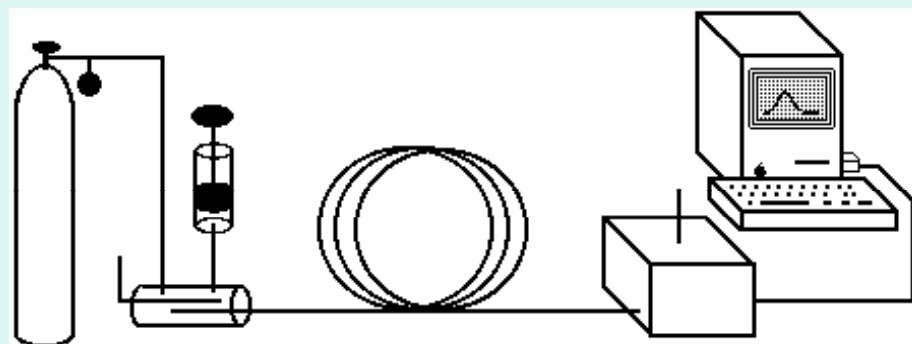
Kontinuální proces založený na konvektivním narušování a difuzivním obnovování rovnovážného stavu mezi koncentrací (aktivitou) solutu v mobilní a stacionární fázi.

Princip, teorie a aplikace chromatografických metod

Schema přístroje pro chromatografii v kapalně fázi (LC)



Schema přístroje pro chromatografii v plynné fázi (GC)





Komponenty přístroje pro kapalinovou chromatografii

Zásobníky rozpouštědla: -termostatovany zasobnik

-odplyňovač

Čerpadla:

-hydrostatický tlak

-tlak plynu

-lineární dávkovač

-peristaltické

-pístové

-rotační

Nastřikovače:

-typ stříkačka-septum

-nástřikový ventil

Kolony:

-analytické

-preparativní

Detektory:

-optické

-elektrochemické

-

Sběrače frakcí:

-rotační

-lineární

Záznam signálu detektoru

Zpracování experimentálních dat



Komponenty přístroje pro plynovou chromatografii

Zásobník stlačeného plynu:

-tlakové láhve

Redukční ventil:

-regulace vstupního tlaku nosného plynu

Nastřikovače vzorku:

-stříkačka-septum

-nástríkový ventil

-splitter

Kolony:

-analytické

-(preparativní)

Detektory

-tepelně vodivostní

-FID

-

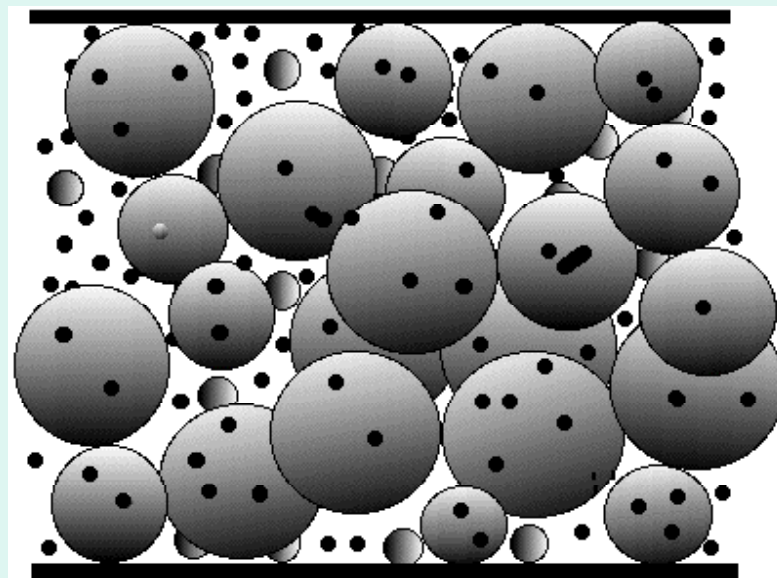
Záznam signálu detektoru

Zpracování experimentálních dat

Struktura chromatografické kolony

Plněná kolona

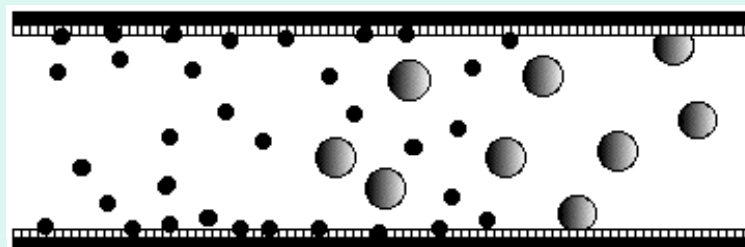
GC,
 $d=10-200 \mu\text{m}$



LC,
 $d=1-20 \mu\text{m}$

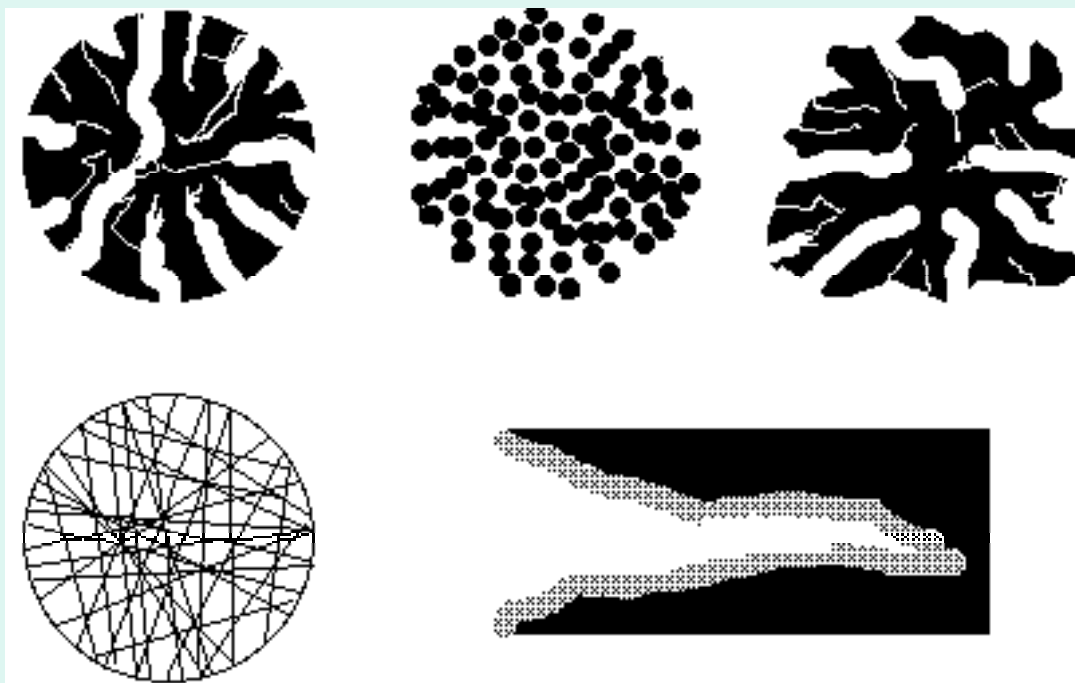
Kapilární kolona

GC,
 $d=20-100 \mu\text{m}$



LC,
 $d=1-5 \mu\text{m}$

Vnitřní struktura (porozita) částic náplně chromatografické kolony



Mikropóry a makropóry

Celkový objem naplněné kolony:

$$V_T = V_0 + V_m + V_i$$

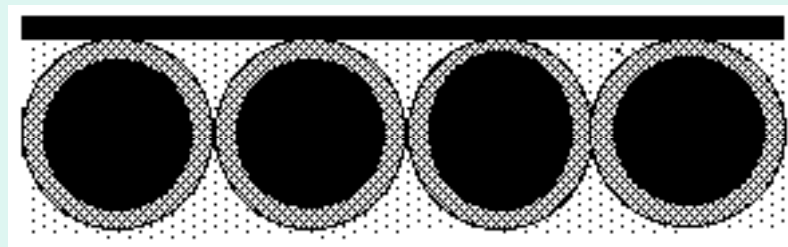
$$V_p = V_m + V_i$$

$$V_0 = (0,35 - 0,5) * V_T$$

$$V_i = (0,3 - 0,8) * V_p$$

Klasifikace chromatografických systémů

Stav koexistujících fází



Chromatografické systémy:

Stacionární fáze

Mobilní fáze

kapalina
(LC)

plyn
(GC)

pevná

LSC

GSC

pevná+kapalná

LSLC

GSLC

kapalná

LLC

GLC

Fyzikální fáze je homogenní částí systému

Chromatografická fáze může sestávat z více fyzikálních fází

Experimentální techniky:

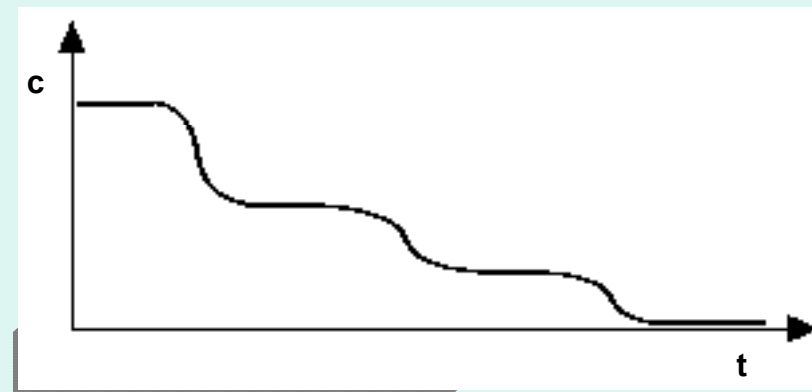
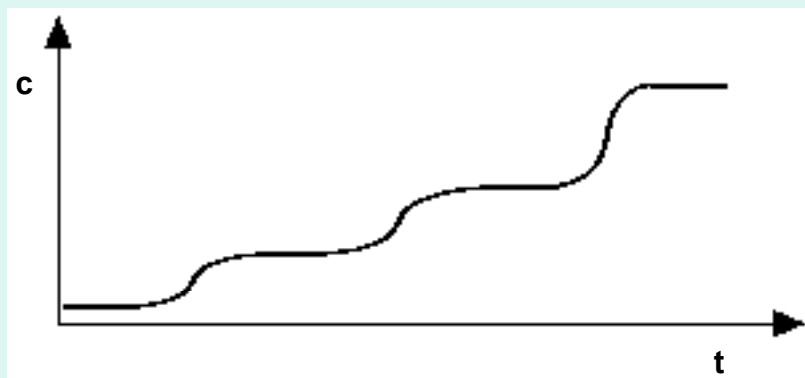
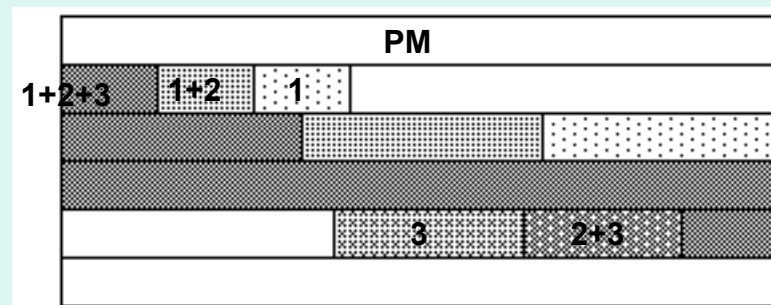
Planární chromatografie

- na papíře
- na tenké vrstvě

Kolonová chromatografie

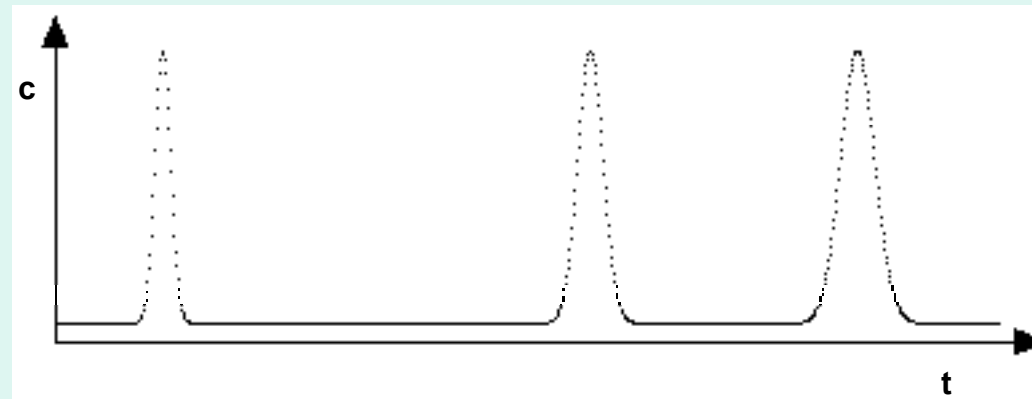
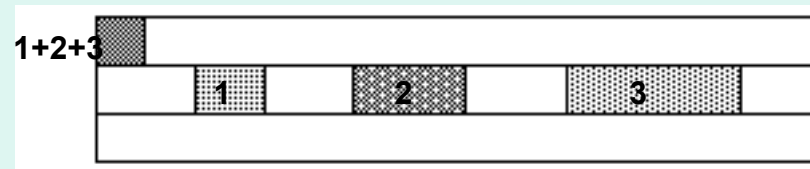
Frontální chromatografie:

- vzorek je kontinuálně dávkován na kolonu



Eluční chromatografie

-vzorek je nastříknut na kolonu jako pulz v malém objemu mobilní fáze



Chromatogram tří separovaných solutů
Souřadnice $\underline{c}, \underline{t}$ mohou být nahrazeny $\underline{c}, \underline{V}$; $\underline{m}, \underline{t}$; nebo $\underline{m}, \underline{V}$.



Mechanismy interakcí mezi soluty a stacionárními fázemi

- 1. Rozpouštění (absorpce, extrakce) molekul solutu ve stacionární fázi**
- 2. Adsorpce molekul solutu na povrchu stacionární fáze**
- 3. Chemické reakce molekul solutu ve hmotě nebo na povrchu stacionární fáze (acido-bazické rovnováhy, tvorba komplexů, výměna iontů, asociace iontových párů, srážení, hydrofobní interakce, atd.)**
- 4. Sterická exkluze**
- 5. Iontová exkluze**
- 6. Bioafinita**

Všechny uvedené interakce mohou být kombinovány a určují tak typ chromatografické techniky.

Klasické mechanismy chromatografických separací je možné posílit současným působením fyzikálních polí.

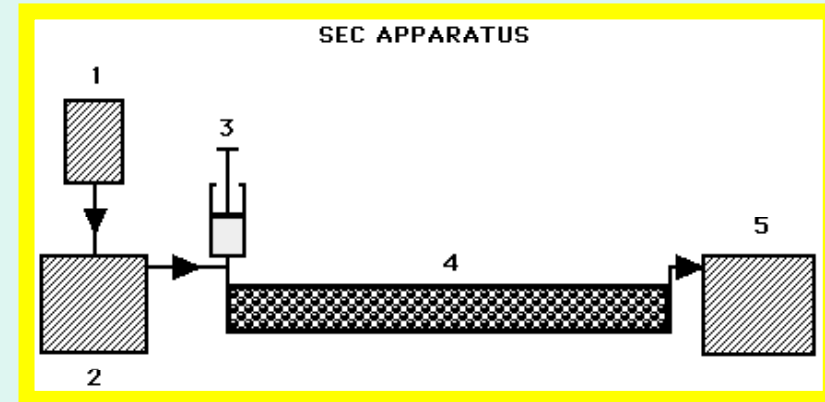
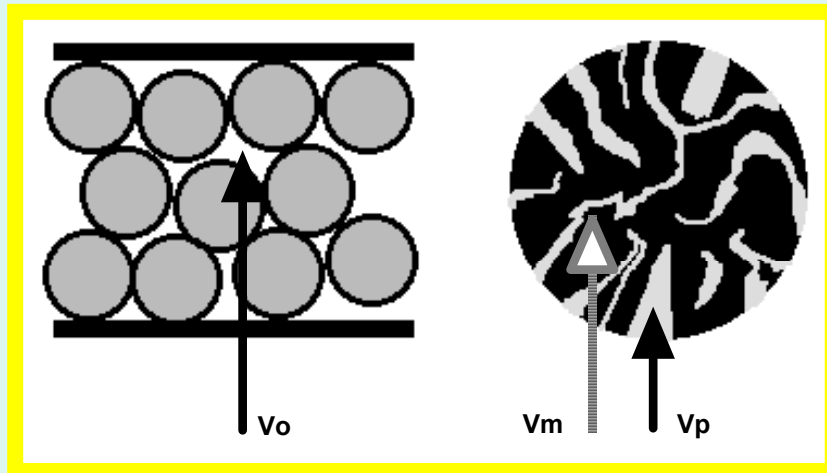


Metody separace přírodních látek

(6)

Sterická exkluzní chromatografie, separační modely a mechanismy, sekundární interakce, inverze retence v kritickém bodě, adsorpční chromatografie, multidetekční systémy.

Princip SEC



$$V_t = V_0 + V_m + V_p$$

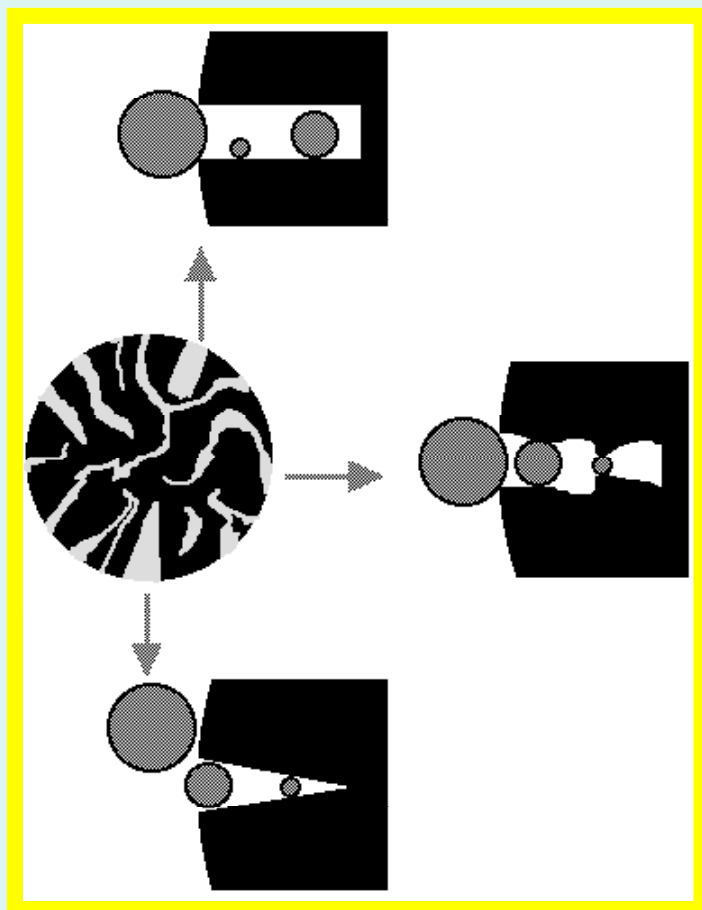
Retenční objem je determinován dostupností části objemu jednotlivých pórů a distribucí rozměrů pórů celého systému.

$$V_R = V_0 + K_{SEC} * V_p$$

$$K(R, r)_{SEC} = \frac{c_p}{c_0}$$

$$V_{R=} V_0 + \int_R^{r_{\max}} K(R, r)_{SEC} \phi(r) dr$$

Geometrický model separačního mechanismu



$$K_{SEC} = \left(1 - \frac{R}{r}\right)^2$$

pro

$$R \leq r$$

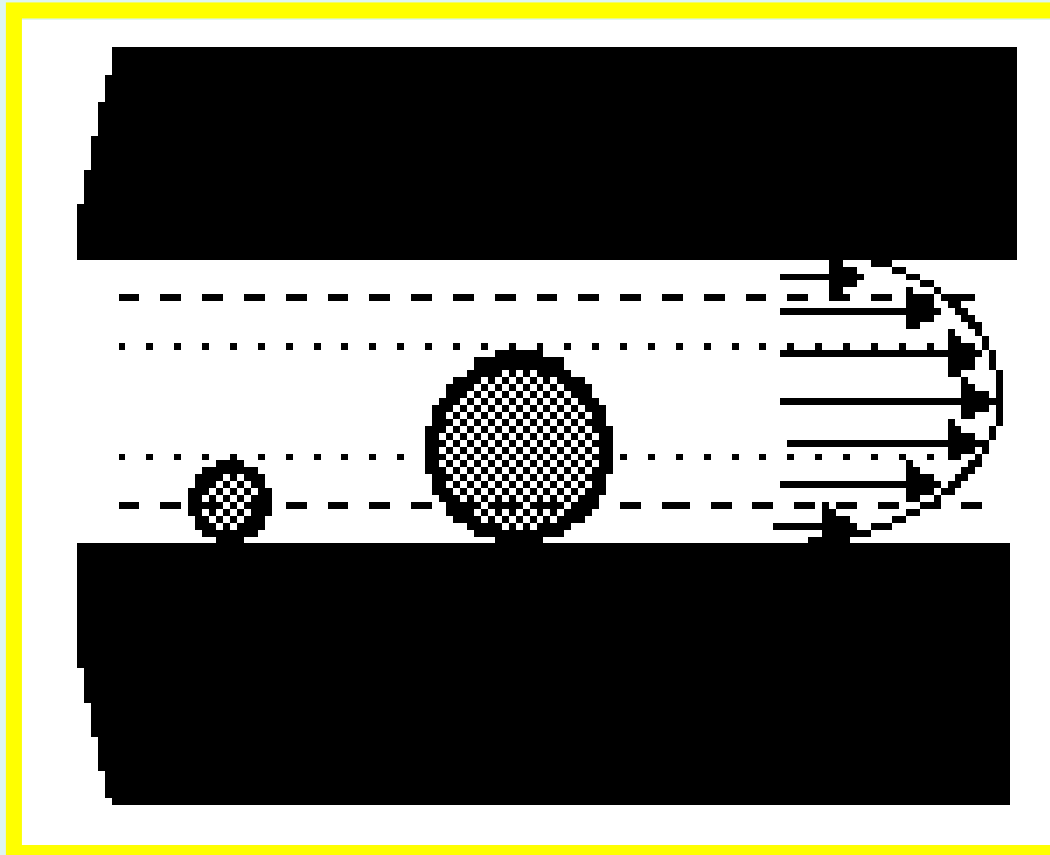
a

$$K_{SEC} = 0$$

pro

$$R \geq r$$

Hydrodynamický model separačního mechanismu



$$K_{SEC} = k \left(1 - \frac{2R}{R_{\max}} \right)^3$$

Termodynamický model separačního mechanismu

$$dG = dH - TdS$$

$$\mu_i = \mu_i^\circ + RT \ln c_i$$

$$dG = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{T, P, n_{j \neq i}} dn_i$$

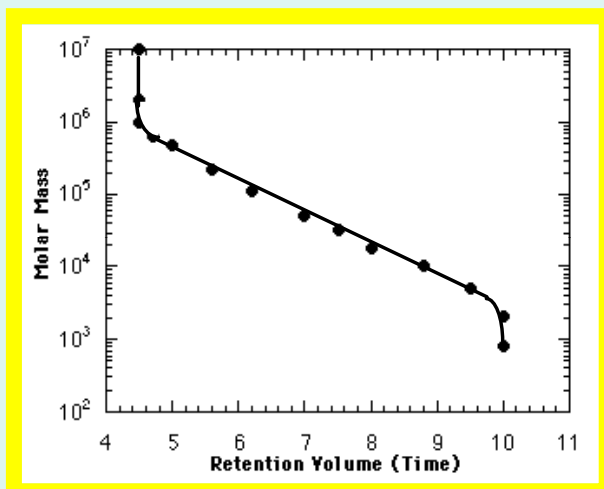
$$\mu_i^m = \mu_i^s$$

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{T, P, n_{j \neq i}}$$

$$\frac{c_{si}}{c_{mi}} = \exp\left(\frac{\Delta\mu_i^\circ}{RT}\right) = K_{SEC}$$

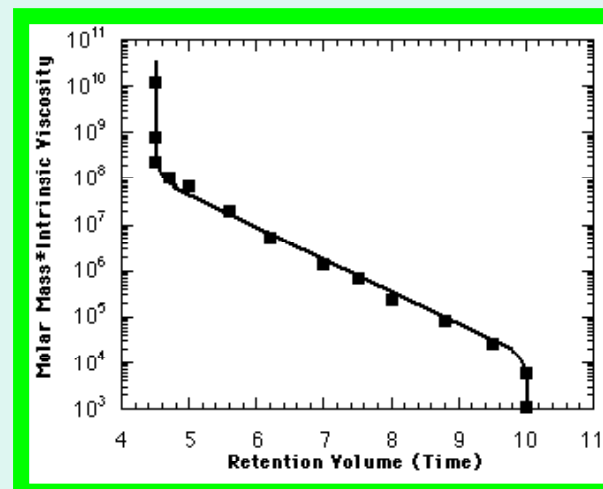
$$K_{SEC} = \exp\left(\frac{-\Delta H^\circ}{RT}\right) \exp\left(\frac{\Delta S^\circ}{R}\right)$$

SEC je pouze separační technika. Střední hodnoty MH a DMH musí být vypočítány z experimentálních dat s využitím kalibrace.



Jednoduchá
kalibrace

$$V_R = f(M)$$

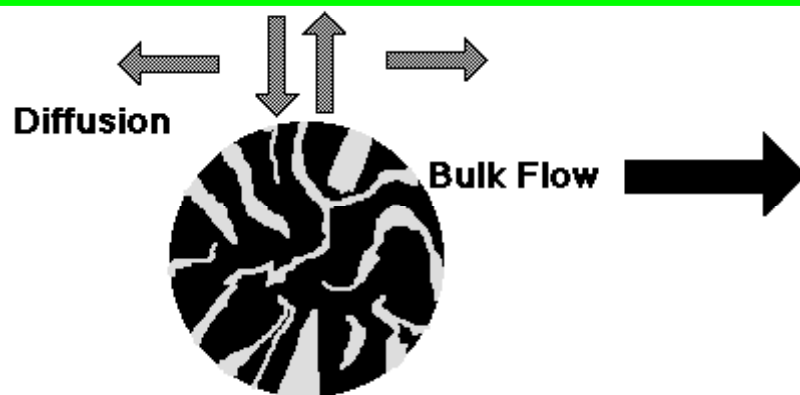
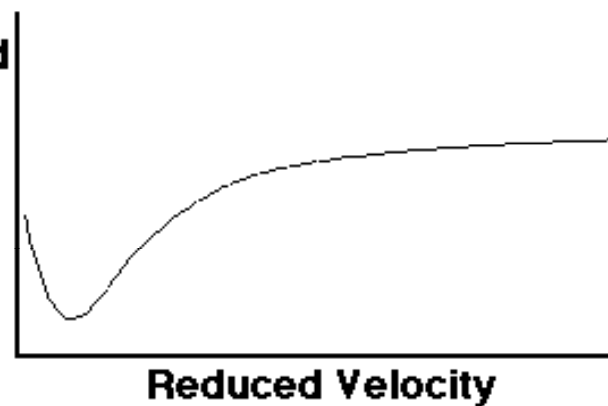


Univerzální kalibrace

$$V_R = f(V_h = [\eta]M)$$

Účinnost separačního systému závisí na průtoku

Reduced HETP

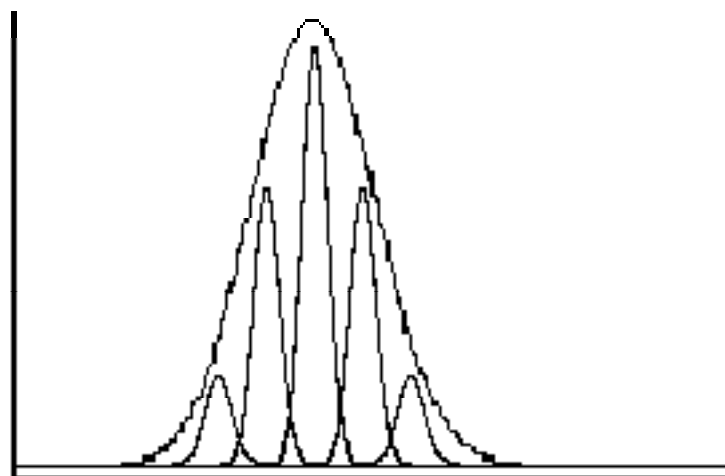


Difuze a konvektivní transport

Pro polymerizační stupeň $n > 30$, je rozdíl mezi efektivním rozměrem polymerních řetězců n a $n+1$ příliš malý. Výsledkem je, že píky jednotlivých merů jsou superponovány.

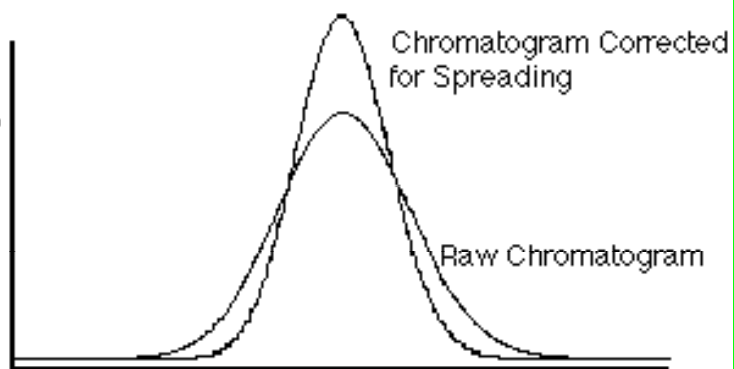
Rozlišení separační kolony musí být dostatečné aby nebylo nutné korigovat výsledek na rozmytí zóny.

Detector
Response



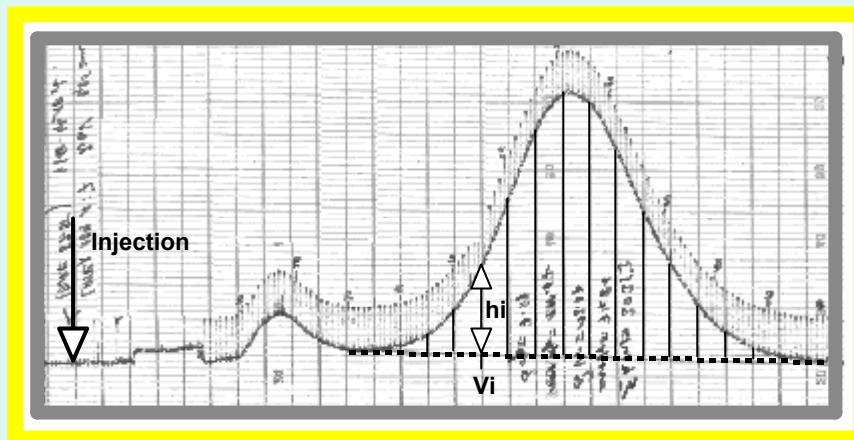
Retention Volume

Detector
Response



Retention Volume

Zpracování dat



$$\bar{M}_n = \frac{\sum h_i}{\sum_i \frac{h_i}{M_i}}$$

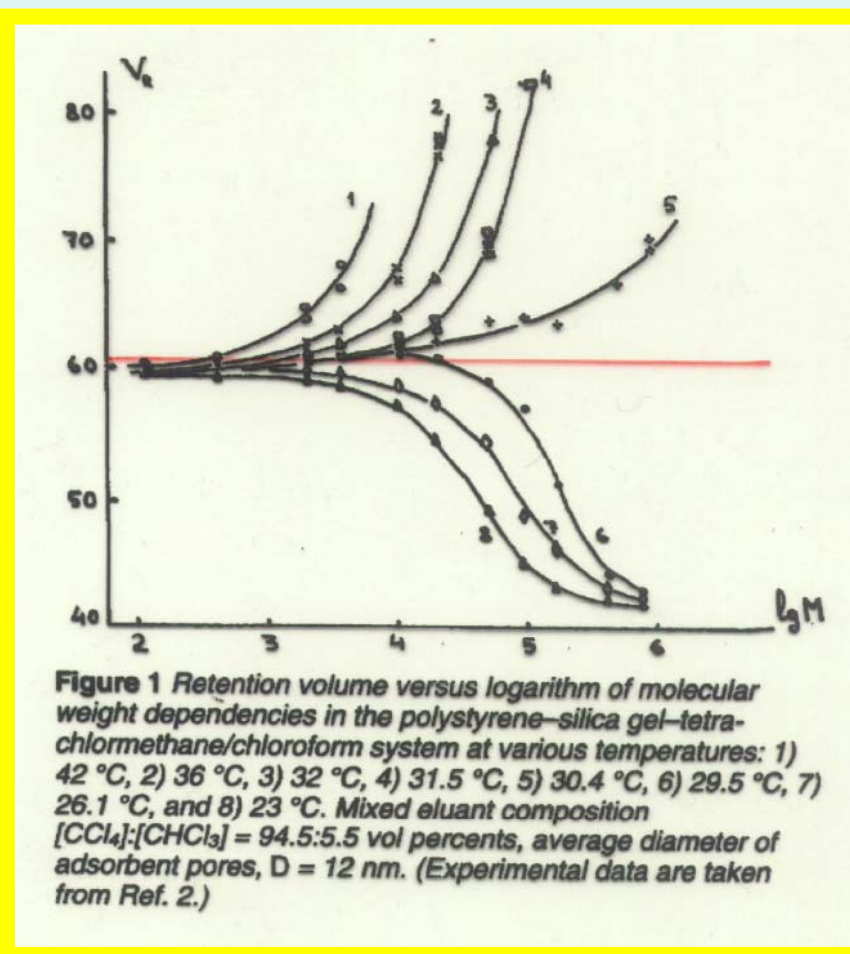
$$\bar{M}_w = \frac{\sum h_i M_i}{\sum_i h_i}$$

$$\bar{M}_z = \frac{\sum h_i M_i^2}{\sum_i h_i M_i}$$

$$\bar{M}_v = \left[\frac{\sum h_i M_i^a}{\sum_i h_i} \right]^{1/a}$$

$$[\eta] = KM^a$$

Sekundární interakce





Sekundární interakce

1. Adsorpce, rozdělování, srážení
2. Nekompatibilita
3. Hydrodynamické jevy
4. Koncentrační efekty
5. Elektrostatické interakce, iontová exkluze a inkluze