

Luźne notatki

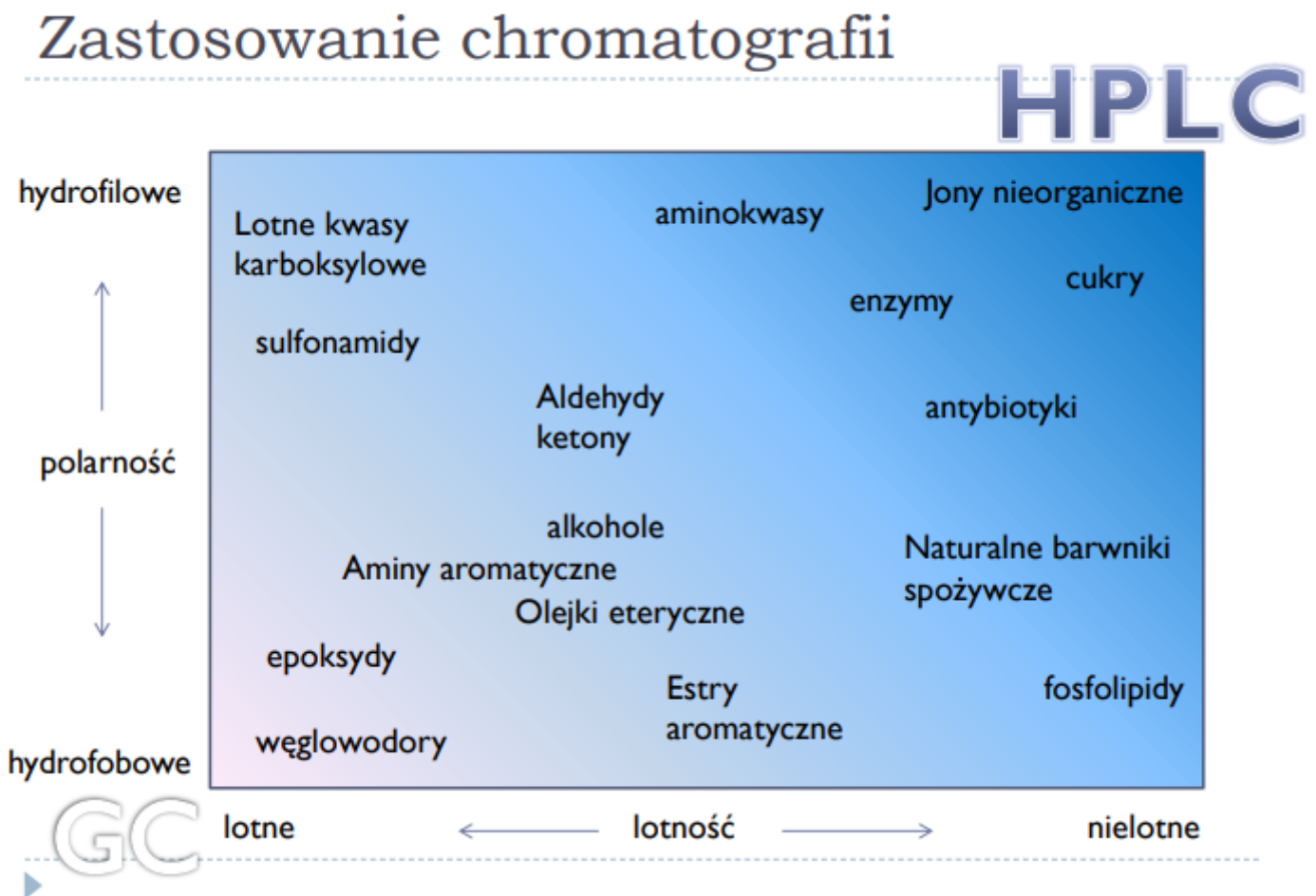
Stała podziału składnika "a"

$$K_a = C_{sA}/C_{rA}$$

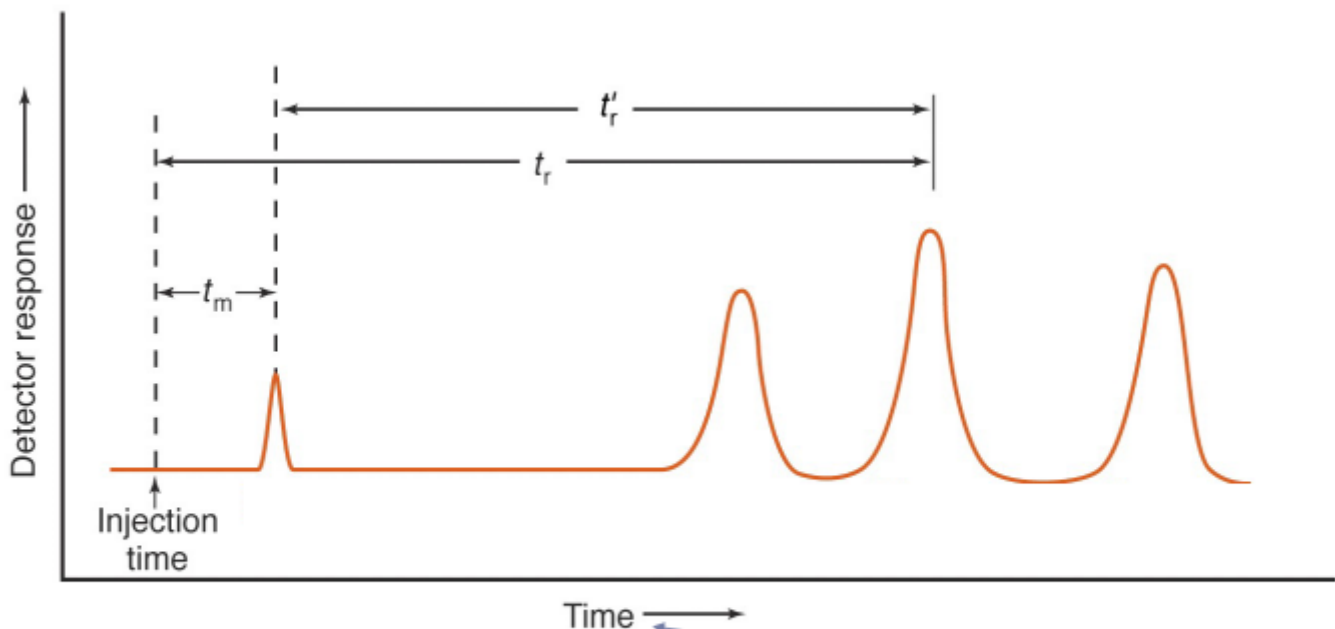
stosunek stężenia składnika A w fazie stacjonarnej do stężenia w fazie ruchomej

Rozdział chromatograficzny jest możliwy tylko, gdy stałe podziału składników różnią się.

Zastosowanie chromatografii



Zredukowany czas retencji



$$t'_r = t_r - t_m$$

$$V_R = t_r \cdot F$$

V_R - objętość retencji

F - przepływ

Współczynnik retencji k'

$$k' = \frac{t'_R}{t_M} = \frac{C_s V_s}{C_r V_r}$$

$$k \sim -B[\%]$$

współczynnik retencji zależy od składu fazy ruchomej - zawartości bardziej polarnego rozpuszczalnika. **Im więcej składnika polarnego w fazie ruchomej tym mniejszy współczynnik retencji**

Współczynnik rozdzielania α

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{k'_2}{k'_1}$$

Szerokości piku gaussowskiego

W zależności od tego co mamy na osi OX chromatogramu taki jest wymiar szerokości piku (objętość albo czas).

szerokość u podstawy $w_b = 4\sigma$

szerokość połówkowa $w_{1/2} = 2.35\sigma$

Rozdzielczość

stosunek różnicy czasów retencji dwóch substancji do średniej szerokości pików tych substancji na chromatogramie

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_{b1} + w_{b2}}$$

Jako, że szerokość piku gaussowskiego wnosi 4σ , rozdzielczość chromatogramu o dwóch podobnych pikach oddzielonych od siebie w czasie o $n\sigma$ wynosi $n/4$.

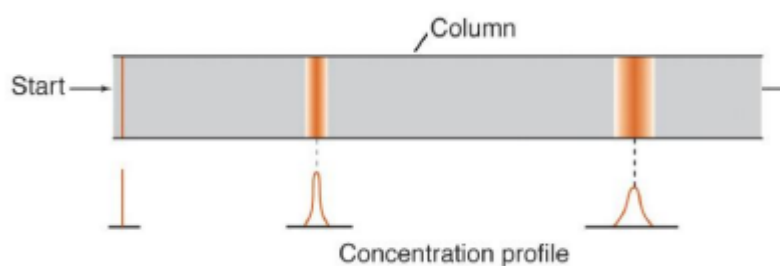
Dyfuzja

Pierwsze prawo Ficka

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x}$$

Dyfuzja powoduje rozmycie piku w zależności od czasu

$$\sigma = \sqrt{2Dt}$$



Półki teoretyczne

$$L = N \cdot H$$

L - długość kolumny

N - liczba półek

H - wysokość półki

$$N = 16 \left(\frac{V_R}{w_{b,obj}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{w_{b,czas}} \right)^2$$

Efektywna liczba półek

$$N = 16 \left(\frac{V'_R}{w_{b,obj}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t'_R}{w_{b,czas}} \right)^2$$

Jak sobie pożonglujemy to nam wyjdzie, że dla danej długości kolumny, szerokość piku zależy od pierwiastka z wysokości półki teoretycznej. Zaraz się to nam przyda.

Równanie Van Deemtera

$$H = A + B/u_x + Cu_x$$

H - wysokość półki teoretycznej

$A = 2\lambda d_p$ - dyfuzja wirowa (λ - stała charakteryzująca upakowanie d_p - wielkość ziarna)

B/u_x - dyfuzja podłużna

Cu_x - opór przenikania masy

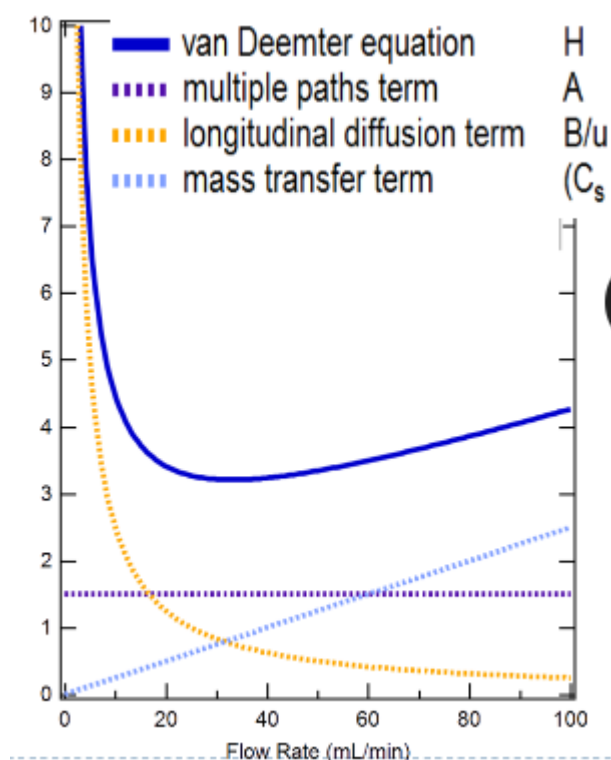
u_x - prędkość przepływu

Dyfuzja podłużna w fazie ruchomej spowodowana jest przypadkowym ruchem cząsteczek rozdzielanej substancji w fazie ruchomej. Im krócej substancja jest na kolumnie tym rozmycie jest mniejsze. Ponieważ dyfuzja w gazie jest znacznie szybsza niż w cieczy, w chromatografii gazowej przepływy powinny być większe niż w chromatografii ciekowej.

ALE

Parametr Cu_x zależny jest od oporów powstających przy przemieszczaniu się rozdzielanych substancji do i od fazy stacjonarnej. Czynnikiem ten wynika z czasu potrzebnego do równoważenia pomiędzy fazą ruchomą i stacjonarną. Niższy przepływ daje szansę na lepsze zrównoważenie, a to powoduje węższy pik.

Generalnie jest minimum w $\sqrt{\frac{B}{C}}$ (zadanie z matury z matematyki)



Równanie Purnella

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha-1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'}{k'+1} \right)$$

Układy chromatograficzne

Układ faz normalnych - faza stacjonarna jest **bardziej polarna** niż faza ruchoma.

Przykłady:

- kolumnowa grawitacyjna
- typu flash

Faza stacjonarna:

- sole nieorganiczne
- tlenki nieorganiczne
 - tlenek krzemu
 - **żel krzemionkowy**
 - krzemionka
 - tlenek glinu - alumina

Faza ruchoma:

Im bardziej polarny związek, tym wolniej będzie eluował

Szereg polarności (od najmniej polarnych)

1. Alkany
2. Zw. aromatyczne
3. etery
4. estry, aldehydy
5. alkohole
6. kwasy karboksylowe
7. woda

Układ faz odwróconych - faza stacjonarna jest **mniej polarna** niż faza ruchoma.

Przykład: RP-HPLC

Faza stacjonarna:

- modyfikowany żel krzemionkowy **C18**

Elucja

Wzrost udziału wody (%) – wzrost czasu retencji analitów.



Zagadnienia

1. Chromatografia gazowa

1. Typy kolumn

1. Pakowane analityczne
2. Mikropakowane
3. Pakowane preparatywne
4. Kapilarne

1. WCOT (en. wall coated open tube): faza stacjonarna jest ciekła
2. PLOT (en. porous layer open tube): fazą stacjonarną jest polarna warstwa ziaren adsorbenta.
3. SCOT (en. support coated open tube): fazą stacjonarną są ziarna adsorbenta z osadzoną na nich fazą ciekłą

5. mikrokapilarne

2. Rodzaje GC:

1. GSC, chromatografia adsorpcyjna gaz-ciało stałe.

1. Adsorbenty węglowe, nieorganiczne (żele krzemionkowe, sита molekularne - naturalne lub syntetyczne zeolity), polimerowe (polimery porowate)
2. Stosuje się do analiz związków o niskich masach cząsteczkowych
2. GLC, chromatografia podziałowa gaz-ciecz
 1. Złoża różnej polarności
 1. niepolarne: alkany; do rozdziału substancji niepolarnych; rozdział zależy od temperatury wrzenia analitu
 2. średniopolarne: siloksany; do rozdziału mieszanin związków różnej polarności
 3. polarne: glikole polietylenowe i estry; do polarnych; rozdział zależy od polarności złoży
3. Ciekła faza stacjonarna
 1. 90% wszystkich analiz
 2. Rozdzielenie następuje na skutek różnic w rozpuszczalności składników mieszaniny

3. Typy detektorów

1. FID - en.flame ionisation detector, **destrukcyjny**
2. TCD - en.thermal conductivity detector, katarometr, **nieinwazyjny**
3. ECD - en.electron-capture detector
4. Inne detektory jonizacyjne

4. Parametry procesu:

1. rodzaj gazu nośnego
 1. nie ma wpływu w kolumnach pakowych
 2. w kapilarnych może być tylko wodór lub hel
2. prędkość liniowa gazu nośnego
 1. $\mu = L/t_m$
 2. $\mu \sim$ lepkość, temperatura kolumny, ciśnienie
3. temperatura kolumny - musi być optymalna
 1. wzrost = gorszy rozdział
 2. spadek = poszerzenie i niesymetryczność pików

2. Metoda normalizacji pola

$X[\%] = \frac{A_x f_x}{\sum_i (A_i f_i)}$, gdzie A to procentowy udział sygnału chromatogramu a f to współczynnik odpowiedzi

3. Rozdzielczość i selektywność

1. Selektywność (współczynnik rozdzielania)

Stosunek zredukowanych czasów retencji lub współczynników retencji ($k' = \frac{t'_R}{t_M}$)

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{k'_2}{k'_1}$$

2. Rozdzielczość

stosunek różnicy czasów retencji dwóch substancji do średniej szerokości pików tych substancji na chromatogramie.

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_{b1} + w_{b2}}$$

Jako, że szerokość pików gaussowskiego wnosi 4σ , rozdzielczość chromatogramu o dwóch podobnych pikach oddzielonych od siebie w czasie o $n\sigma$ wynosi $n/4$.

3. Związane są równaniem Purnella: $R_s = \frac{1}{4}\sqrt{N}\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)\left(\frac{k'}{k'+1}\right)$

4. Elektroforeza kapilarna

1. Elektroforeza – migracja jonów pod wpływem przyłożonego napięcia

2. Techniki

1. Kapilarna elektroforeza strefowa

2. Żelowa elektroforeza kapilarna

3. Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne

4. Izotachoforeza kapilarna

3. Kapilary się nagrzewają co powoduje poszerzenie pików

4. Detektory

1. UV-Vis

2. Fluorescencji

3. Przewodnictwa

4. Elektrochemiczny

5. Prędkość i ruchliwość elektroforetyczna

$$\mu_{ep} = \frac{v_{ep}}{E} = \frac{q}{6\pi\eta r} \quad , \quad q - \text{ładunek}, \quad r - \text{średnica cząsteczki}, \quad \eta - \text{lepkość}$$

6. Prędkość i ruchliwość elektroosmotyczna

$$\mu_{EOF} = \frac{v_{EOF}}{E} = \frac{\epsilon\zeta}{4\pi\eta} \quad , \quad \text{gdzie } \epsilon - \text{stała dielektryczna buforu a } \zeta - \text{potencjał elektrokinetyczny}$$

5. TLC

1. Typy płytek

1. Szklane, aluminiowe, z tworzywa sztucznego (tereftalan polietylowy)

1. TLC - rozdział analityczny; 0.1-0.25mm sorbentu

2. PLC - rozdział preparatywny; 0.5-2mm sorbentu

3. HPTLC - 0.2mm sorbentu, adsorbenty o mniejszych rozmiarach, rozrzut tych rozmiarów też mniejszy

2. Zalety

1. równoczesny rozdział kilku różnych próbek
2. proces rozdzielania można zatrzymać
3. próbki nie muszą być oczyszczone
4. różne, selektywne sposoby realizacji
5. tania i mało pracochłonna

3. Wady

1. wyniki nie są powtarzalne
2. im dalej w las tym szersze pasma

4. Adsorbenty

1. żel krzemionkowy (90% analiz)
2. tlenki glinu
3. **celuloza i jej pochodne**
4. poliamidy

5. Rozwijanie chromatogramu

1. liniowe
2. liniowe z dwóch stron
3. kołowe
4. dośrodkowe kołowe
5. **dwukierunkowe prostopadłe** - najpierw normalnie linowo, potem obracamy płytkę o 90 stopni i rozwijamy innym eluentem. Może się okazać, że pozornie pojedyncze plamki się jeszcze rozdzielą.

6. Wizualizacja chromatogramu

1. UV
2. wskaźniki fluoryzujące (F_{254} , F_{366})
3. komora jodowa
4. zasadowy, wodny roztwór $KMnO_4$
5. różne inne na podstawie reakcji chemicznych

7. $R_f = z/l$, stosunek odległości środka danej plamki do odległości linii mety (czoła rozpuszczalnika)

6. Żel krzemionkowy

polarny adsorbent. Może być modyfikowany grupami alkilowymi, ew. innymi. Dla grup alkilowych korzystamy ze skrótów według wzoru: C_n gdzie n to liczba atomów węgla w grupie. Np. $-CH_2(CH_2)_2CH_3$ to C_4 .

7. Zależności

1. $d_p \uparrow H \uparrow w_b \uparrow N \downarrow t'_R \downarrow p_{req} \downarrow$

2. $u_x \uparrow H \uparrow w_b \uparrow N \downarrow p_{req} \downarrow$
(gdy u_x jest większe niż $\sqrt{\frac{B}{C}}$)

8. Przepływ elektroosmotyczny

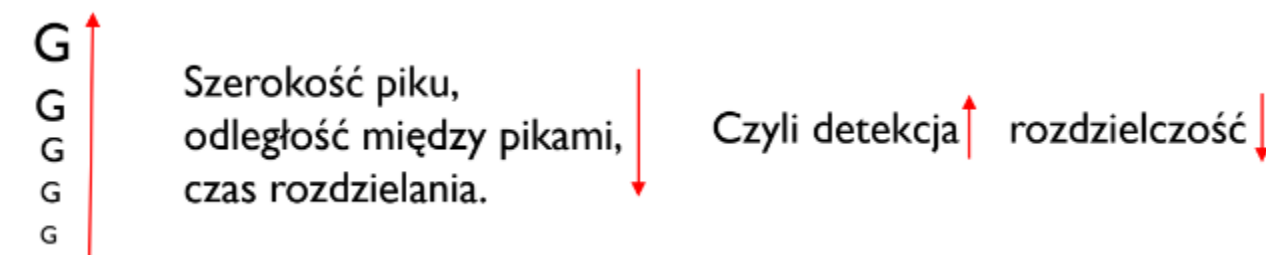
1. Elektroosmoza – zjawisko związane z przepływem buforu w kapilarze pod wpływem przyłożonego napięcia.
2. Przepływ elektroosmotyczny (EOF) to migracja buforu w kierunku katody. Jest spowodowany tworzeniem się dwuwarstwy na ścianie kapilary (warstwa wodorów grupy OH i druga warstwa wodorów z wiązań wodorowych). **Obniżenie pH powoduje zmniejszenie przepływu elektroosmotycznego.**

9. Siła elucji:

- charakteryzuje energię oddziaływania rozpuszczalnika z fazą stacjonarną
- jest proporcjonalna do polarności rozpuszczalnika
- zależy od adsorbentu
- dla oddziaływania pentanu z adsorbentem przyjęto **parametr** siły elucji $\varepsilon^0 = 0$. Parametr siły elucji to nie to samo co siła elucji.
- szereg eluotropowy: pentan < etery < octan etylu < acetylonitryl < metanol < kwas octowy < woda

10. Elucja izokratyczna i gradientowa:

1. Izokratyczna - stały skład eluentu
2. Gradientowa - ciągła zmiana składu eluentu, zwiększenie siły elucji



11. Rozdział enancjomerów

1. Metody chromatograficzne

1. metoda pośrednia - przeprowadzenie enancjomerów w pochodne diastereoizomeryczne przed analizą
2. metoda bezpośrednia - niekwalencyjne oddziaływania z chiralnym selektorem
 1. chiralna faza stacjonarna (**HPLC, GC, TLC**)
 2. chiralna faza ruchoma

2. Nadmiar enancjomeryczny $ee\%$

$$ee\% = \frac{[E_{major}] - [E_{minor}]}{[E_{major}] + [E_{minor}]} [\%]$$

3. Stosunek enancjomeryczny er

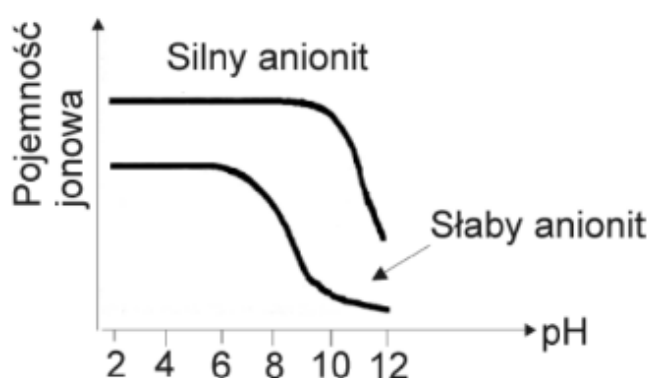
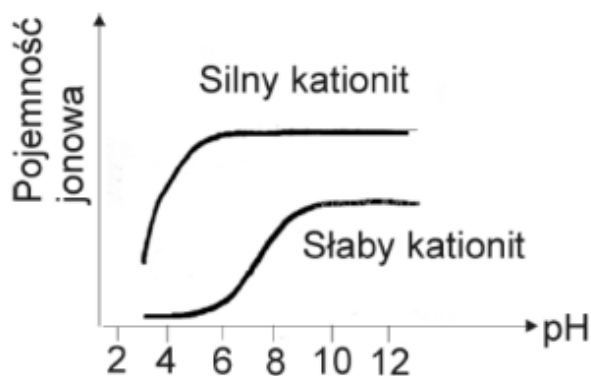
$$er = \frac{[E_{minor}]}{[E_{major}]}$$

4. Typy faz i główne oddziaływania

1. Pochodne cyklodekstryn (polimerów D-glukozy) - inkluzja
2. Pochodne aminokwasów - wiązania wodorowe
3. Chiralne kompleksy metali - wiązania kowalencyjne

12. Jonity

1. Anionit to zasada na trwałe związana z powierzchnią ziarna stałej substancji
2. Kationit to kwas na trwałe związany z powierzchnią ziarna stałej substancji
3. Pojemność jonowa - liczba moli jonów, które jonit jest zdolny zatrzymać w jednostce swojej masy. Powinna być raczej niewielka - bardziej symetryczne, wąskie piki.



4. Podział

1. jonity syntetyczne

1. żywice jonowymienne - wielkocząsteczkowe związki nierozpuszczalne w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych, zawierające grupy funkcyjne zdolne do wymiany jonów
 1. żywice kationowymienne (od najmocniejszych)
 1. sulfonowe
 2. fosfonowe
 3. karboksylowe
 4. aminodioctanowe
 5. fosfinowe
 6. fenolowe
 2. żywice anionowymienne (od najmocniejszych)
 1. aminy czwartorzędowe
 2. inne aminy

3. grupy dialkylsulfoniowe

3. żywice amfoteryczne

2. żele krzemionkowe

2. jonity półsyntetyczne - np. węgle sulfonowane

3. jonity naturalne - kationity glinokrzemianowe (zeolity)

13. Chromatografia jonowymienna i jonowa

1. Czynniki wpływające na retencje

1. typ jonitu

2. pH eluentu

3. siła jonowa eluentu

4. rodzaj przeciwjonu w eluencie

5.

14. HPLC

1. Detektory

1. UV-Vis

2. matryca fotodiodowa

3. FT-IR

4. MS

5. refraktometryczny

6. fluorescencyjny

7. elektrochemiczny

8. przewodnictwa

Galeria

W układzie faz odwróconych (RP) faza ruchoma jest bardziej polarna niż faza stacjonarna.

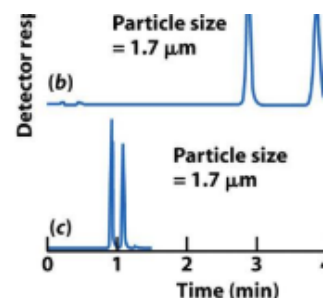
Im więcej składnika polarnego w fazie ruchomej tym mniejszy współczynnik retencji.

Im bardziej polarny związek tym wolniej będzie eluował.

Najbardziej polarny rozpuszczalnik – **woda** ma najmniejszą siłę elucji.

- ▶ **Elucja izokratyczna** – wykonana z użyciem eluentu o stałym składzie (np. mieszanina metanolu i wody w stosunku 6/4)
- ▶ **Elucja gradientowa** – ciągła zmiana składu eluentu w celu zwiększania siły elucji np. skład fazy ruchomej w trakcie rozdzielania zmienia się od 10% metanolu w wodzie do 90% metanolu w wodzie)

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'}{k' + 1} \right)$$



Efektywność

- ▶ Długość kolumny
- ▶ Prędkość przepływu
- ▶ Wielkości ziarna

Selektywność

- ▶ Zmiana fazy ruchomej
- ▶ Zmiana pH fazy ruchomej
- ▶ Zmiana fazy stacjonarnej
- ▶ Zmiana temperatury

Retencja

- ▶ Zmiana siły elucji fazy ruchomej

Chromatografia nadkrytyczna

▶ Optymalizacja parametrów:

- ▶ Temperatura
- ▶ Ciśnienie
- ▶ Gęstość fazy ruchomej
- ▶ Dodatki polarne

Chromatografia gazowa

▶ Można analizować substancje, które w warunkach chromatografowania mają postać **gazów** lub **par** (ok. 20% związków chemicznych)

Są to substancje: **gazowe** oraz **ciekłe** i **stałe**, których **temperatura wrzenia** lub sublimacji (bez rozkładu) **nie przekracza 350 - 400°C**

- ▶ Czynnikiem wpływającym na rozdzielanie substancji na **fazach polarnych** jest **polarność** ciekłej fazy stacjonarnej
- ▶ Czynnikiem wpływającym na rozdzielanie substancji na **fazach niepolarnych** jest **temperatura wrzenia** analitu

Rodzaj gazu nośnego ma bardzo mały wpływ na efektywność separacji w kolumnach pakowanych, natomiast w kapilarnych zalecany jest wodór lub hel

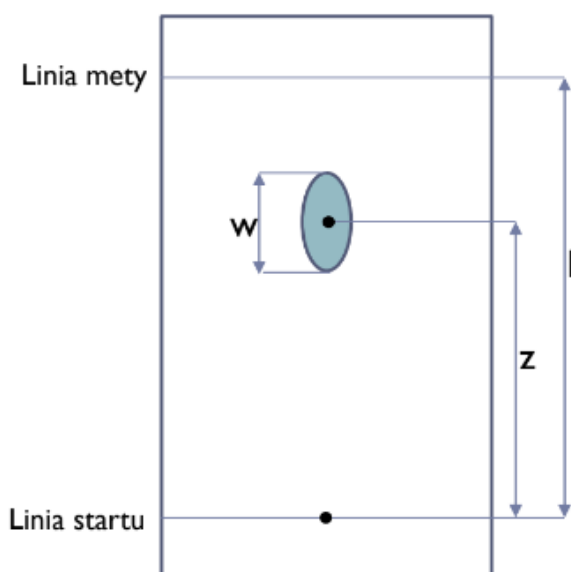
- ▶ **FID** (płomieniowo-jonizacyjny, ogólnego zastosowania, węglowodory [ale nie woda], destrukcyjny)
- ▶ **TCD** (katarometr, *thermal-conductivity detector*, ogólnego zastosowania **NIEINWAZYJNY**)

GC-analiza ilościowa

- ▶ Polega na ustaleniu zależności pomiędzy sygnałem detektora (powierzchnia pod pikiem, wysokość piku), a stężeniem lub masą oznaczanego składnika
 - ▶ Normalizacja powierzchni
 - ▶ **Analiza normalizacyjna powierzchni ze współczynnikiem odpowiedzi**
 - ▶ Metoda wzorca zewnętrznego (metoda krzywej kalibracyjnej)
 - ▶ **Metoda wzorca wewnętrznego**
 - ▶ Metoda dodatku wzorca (metoda fortyfikacji)

(Normalizacja pola)

- ▶ **Wszystkie składniki mieszaniny muszą dawać tą samą odpowiedź w stosunku do masy** (np. detektor FID dla węglowodorów)



$$R_f = \frac{z}{l}$$

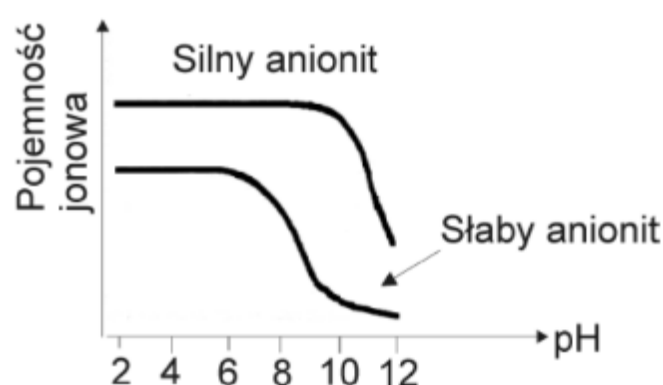
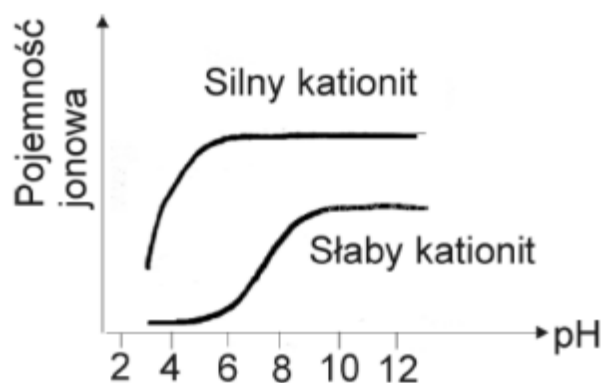
$$R_f = \frac{t_m}{t_m + t_s} = \frac{1}{1 + k}$$

$$0,2 < R_f < 0,8$$

t_m, t_s – czas przebywania substancji w fazie ruchomej
i w fazie stacjonarnej
 k – współczynnik retencji

Chiralne fazy stacjonarne GC

- ▶ Fazy stacjonarne chiralne w GC bazują na polisiloksanach (Chiralsil type)
- ▶ Kolumny kapilarne (open tubular)
- ▶ Typy faz stacjonarnych chiralnych oraz główne oddziaływania selektor - analit:
 - ▶ Pochodne cyklodekstryn – inkluzja (Chiralsil-Dex)
 - ▶ Pochodne aminokwasów – wiązania wodorowe (Chiralsil-Val)
 - ▶ Chiralne kompleksy metali – wiązania koordynacyjne (Chirasil-Metal)
 - ▶ Chiralne ciecze jonowe, polisacharysy, cyklopeptydy, cyklofruktany i inne – niekomercyjne, do specjalistycznych zastosowań.
- Obecność interakcji pomiędzy cząsteczkami nie gwarantuje, że zapewnią one chiralne rozpoznawanie jednej cząsteczki przez drugą



Interesujący jest zakres, gdzie zależność pojemności jonowej od pH nie zmienia się gwałtownie lecz stopniowo.