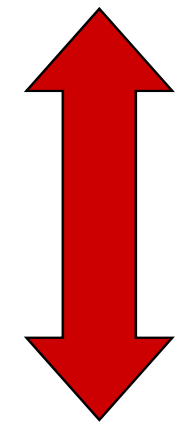
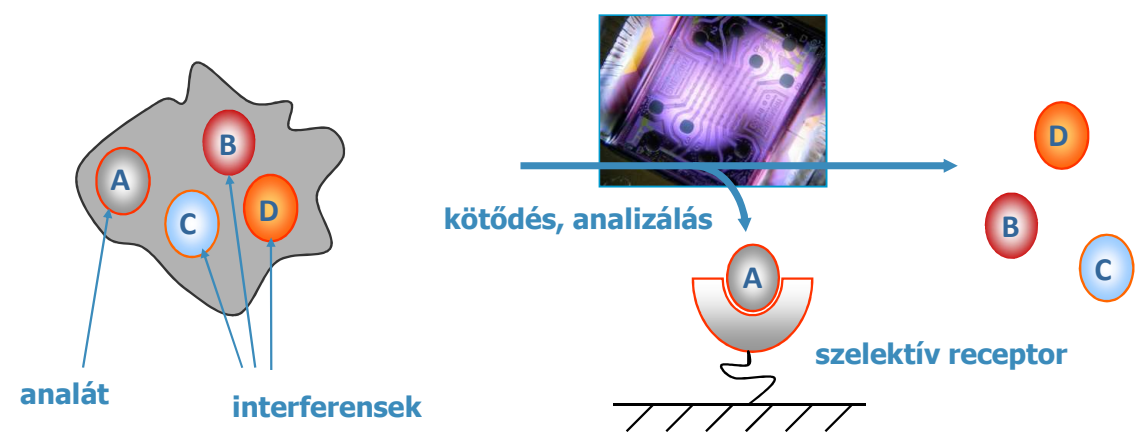
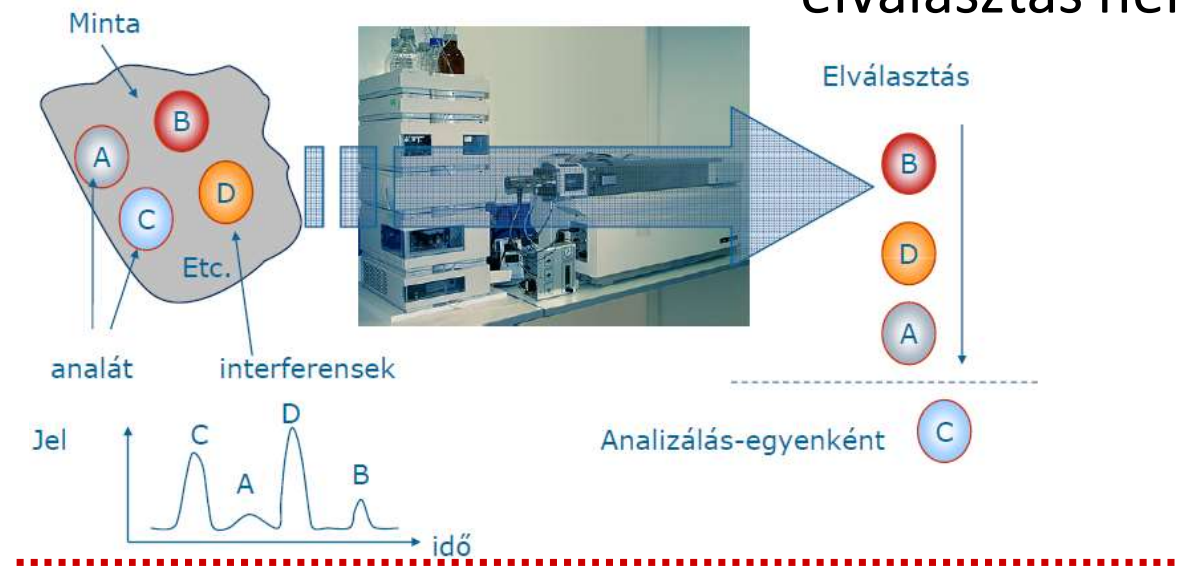
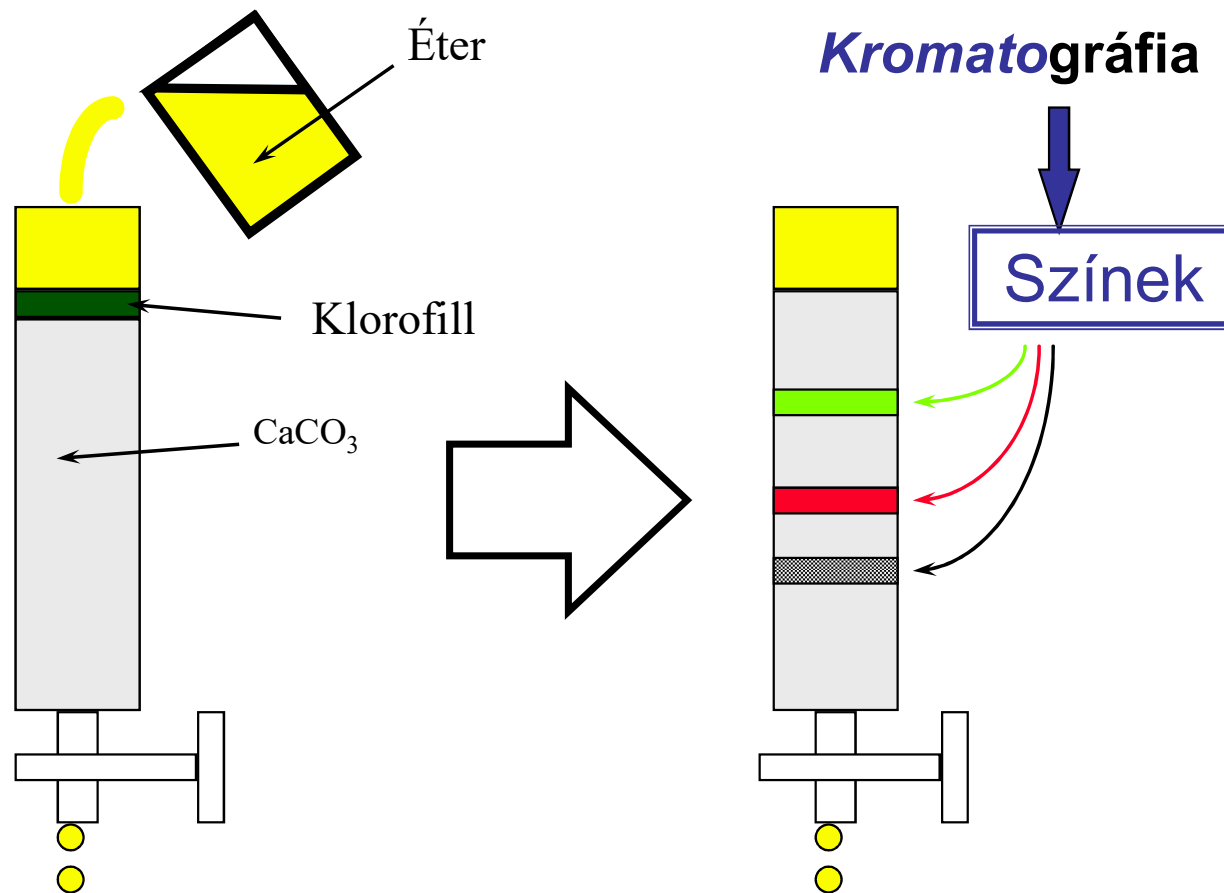


Nem-szelektív, elválasztáson alapuló mérési technikák vs. elválasztás nélküli, szelektív módszerek



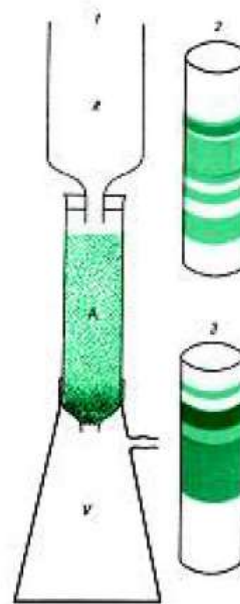
A kromatográfia felfedezése: M. Czett



Cvet laboratóriumi naplójából

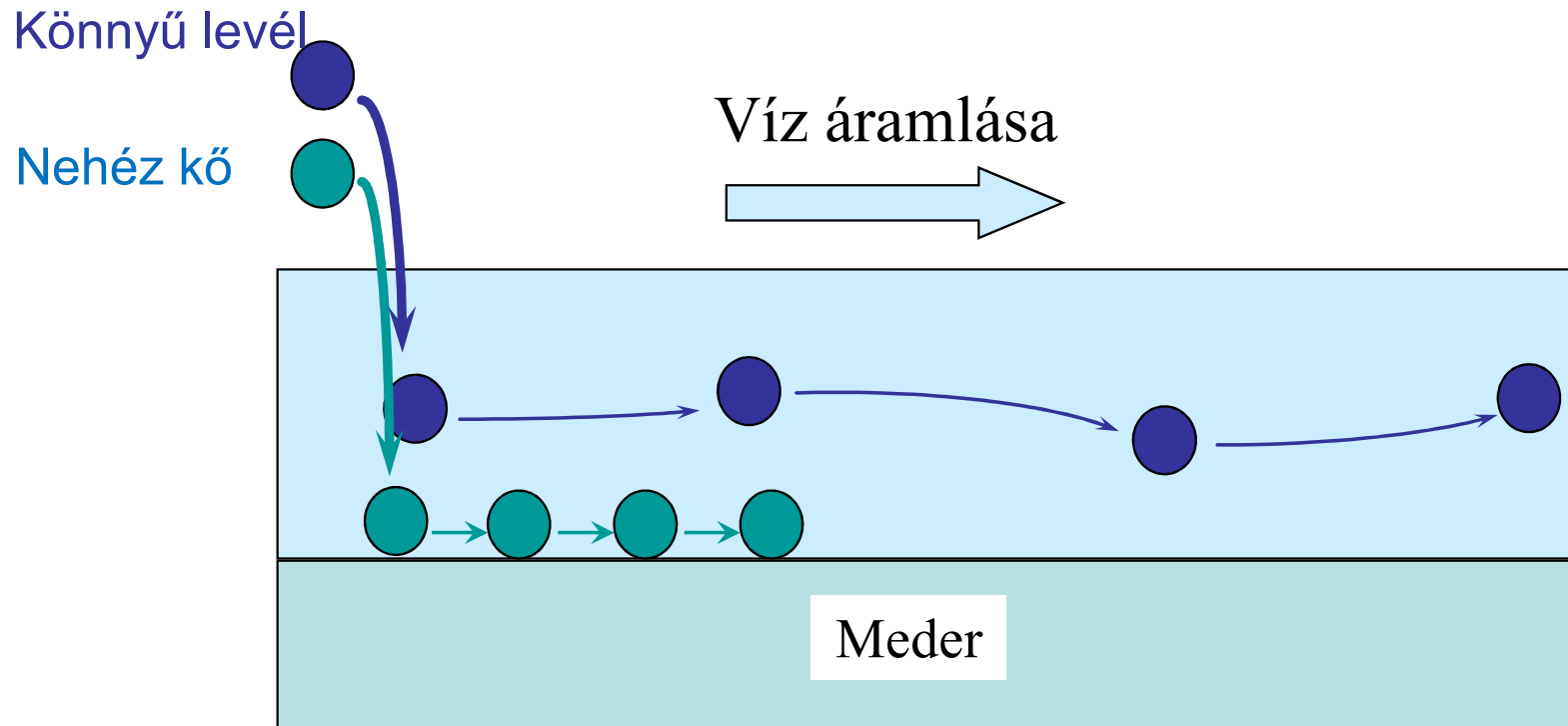


Russian Botanist
Mikhail Tswett (1872-1919)

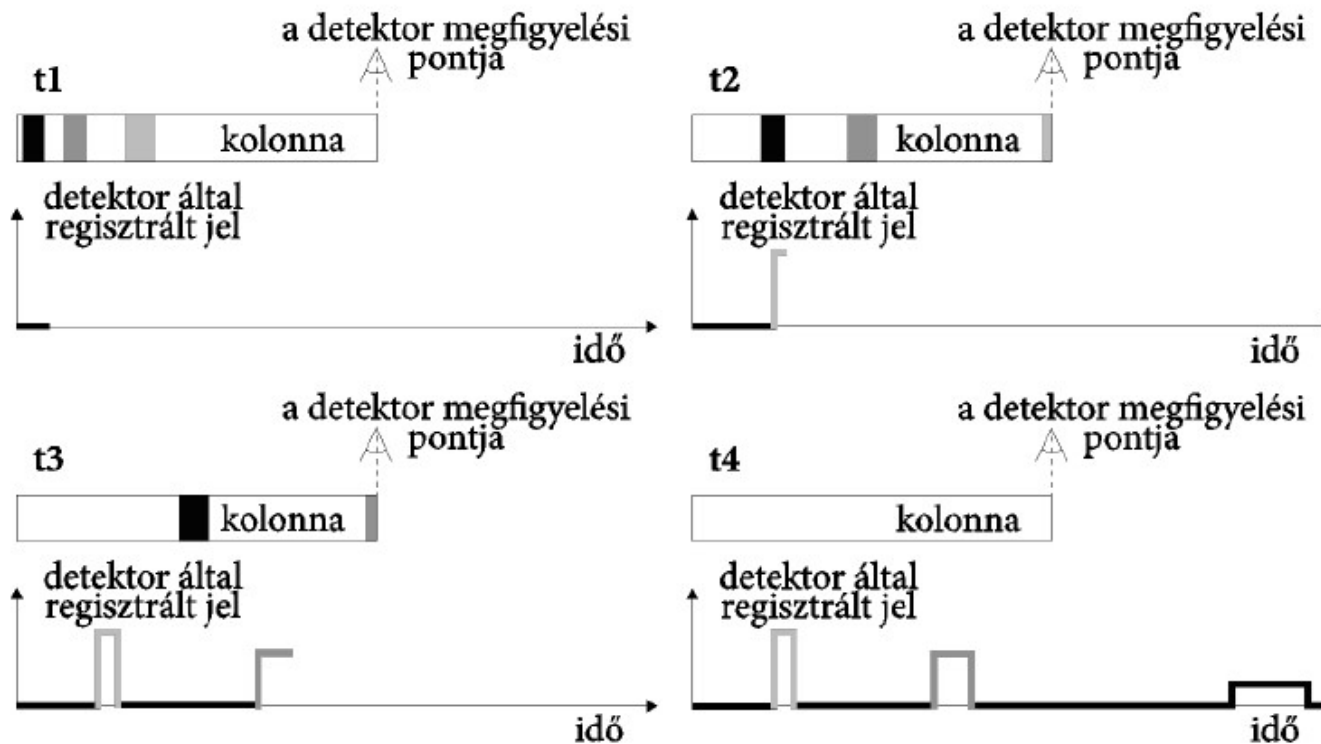


From Tswett's notebook (1910) on early
chromatographic experiments

A kromatográfia egy folyóhoz hasonlít



Az elválasztás folyamata és a kromatogram



Megoszlási hányados

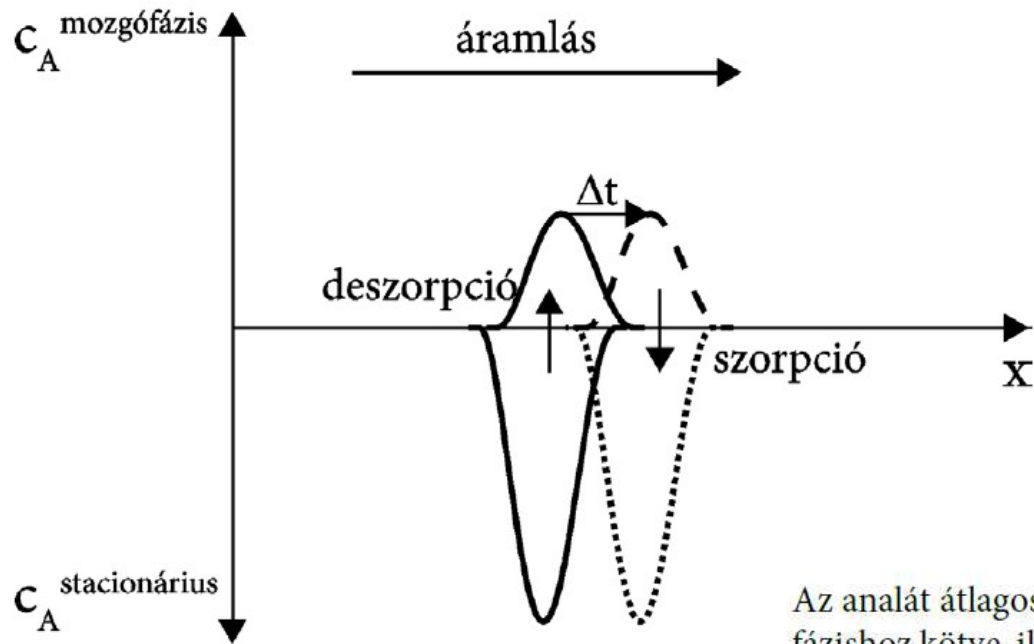
$$K_i = c_{si}/c_{mi}$$

ahol K_i : az i -dik komponens megoszlási hányadosa,

c_{si} : az i -edik komponens állófázison adszorbeálódott (vagy az álló folyadékfázisban oldódott) koncentrációja,

c_{mi} : az i -edik komponens koncentrációja a mozgófázisban.

A zónák haladási sebessége a megoszlási hányadostól függ. Ennek oka az, hogy a megoszlás következtében az állófázishoz éppen kötődő molekulák áramlási sebessége nulla.



- A mozgófázisban haladó analít a mozgófázis sebességével halad, jelöljük ezt u -val.
- Az állófázison kötött analít sebessége pedig éppen nulla (0)

Az analít átlagos sebessége (v) tehát attól függ, hogy hány %-ban van az állófázishoz kötve, illetve milyen arányban mozog a mozgófázissal. Az analít átlagos sebességét így írhatjuk le:

$$v = (\text{állófázisban lévő hányad}) \cdot 0 + (\text{mozgófázisban lévő hányad}) \cdot u.$$

Tehát mindig igaz, hogy $v \leq u$.

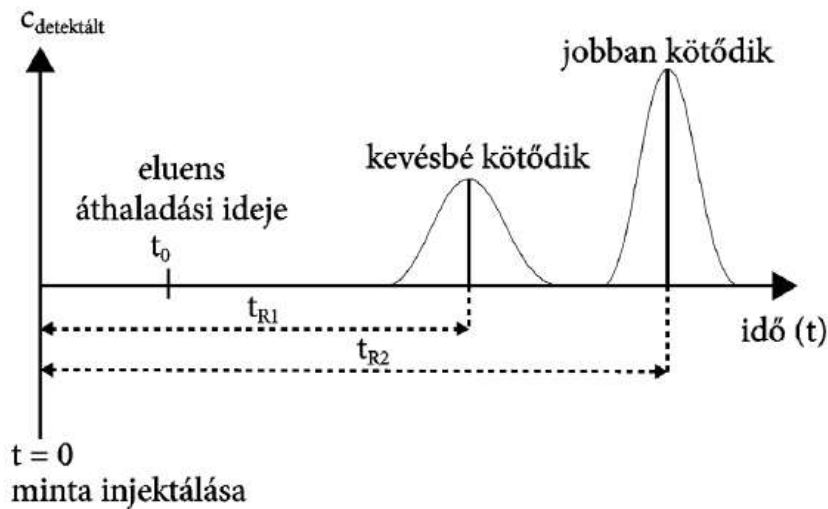
$$v = \frac{n_s}{n_s + n_m} \cdot 0 + \frac{n_m}{n_s + n_m} \cdot u = \frac{n_m}{n_s + n_m} \cdot u,$$

ahol n_s : állófázisban lévő mennyiség és

n_m : mozgófázisban lévő mennyiség

Kromatogram

Kromatogram: regisztrált detektorjel az idő függvényében.



Retenció számszerűsítése

t_0 az eluens retenciósi ideje: Az eluensnek az oszlopon való áthaladási ideje, illetve bármely komponensnek a mozgással töltött ideje.

$$u = \frac{L}{t_0} \rightarrow t_0 = \frac{L}{u},$$

ahol L a kolonna hossza, u az eluens lineáris sebessége.

t_{Ri} az i -edik anyag retenciósi ideje: egy fajta molekula átlagos tartózkodási ideje az oszlopban = állás ideje + haladás ideje, megegyezik a csúcsmaximum regisztrálásának idejével, ha a csúcs szimmetrikus.

$$t_{Ri} = \frac{L}{v_i}$$

t_{si} a redukált retenciósi idő: A komponens állóideje (t_{si}) = a teljes átjutás ideje (t_{Ri}) – a haladási idő (t_0).

$$t_{si} = t_{Ri} - t_0$$

k_i a retenciósi tényező:

$$k_i = K_i \frac{V_s}{V_m}$$

$$t_{Ri} = \frac{L}{v_i} = \frac{L}{u} \left(K_i \frac{V_s}{V_m} + 1 \right) = t_0 \left(K_i \frac{V_s}{V_m} + 1 \right) = t_0 (k_i + 1) = t_{si} + t_0$$

V_{Ri} a retenciósi térfogat:

- \dot{V} : térfogat áram = keresztmetszet · sebesség
- V_{Ri} a retenciósi térfogat: t_{Ri} idő alatt az oszlopon átfolyó eluens térfogata.
- V_m eluens térfogata az oszlopban: t_0 idő alatt $V_m = V \cdot t_0$ térfogatú eluens halad át az oszlopon.

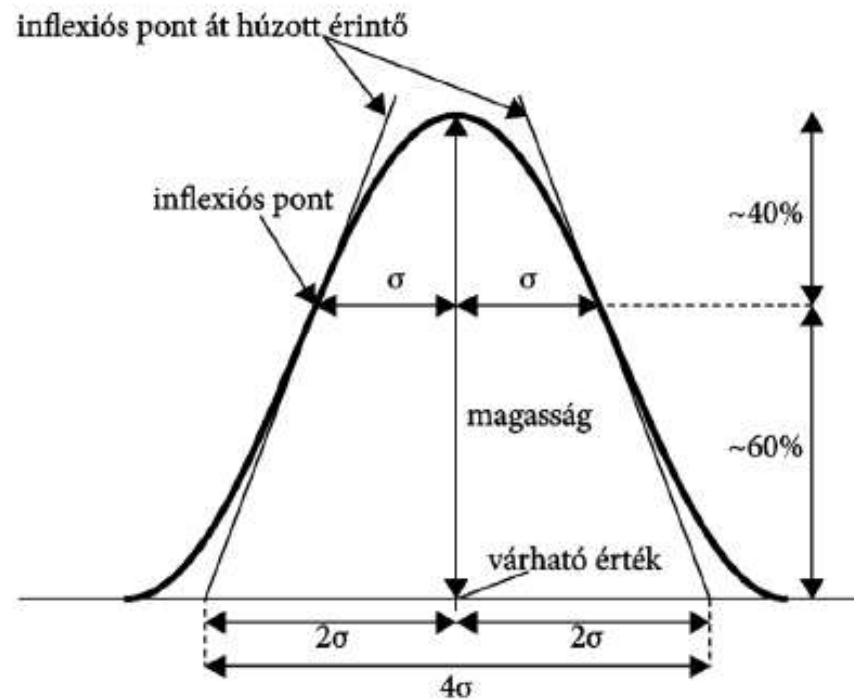
$$V_{Ri} = \dot{V} t_{Ri}$$

$$V_{Ri} = \dot{V} t_{Ri} = \dot{V} t_0 \left(K_i \frac{V_s}{V_m} + 1 \right) = K_i V_s + V_m$$

Ha két komponens megoszlási hányadosa közel van egymáshoz, pl. 9 és 10, ez már jelentős tartózkodási idő-, illetve retenciósi térfogat-különbséget jelenthet.

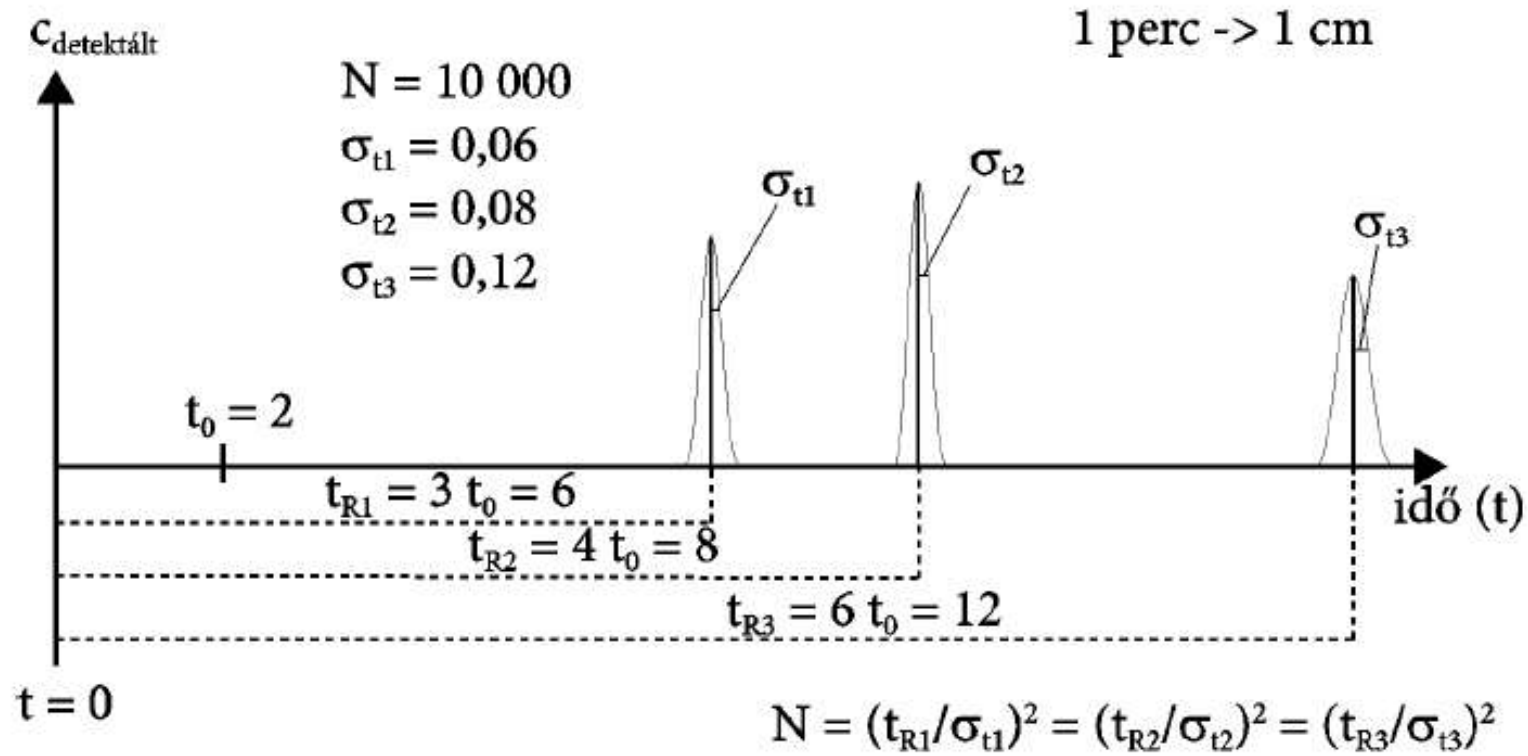
A csúcsok alakját közelíthetjük a Gauss-görbével

- A görbe magasságának körülbelül 60%-án van az úgynevezett csúcsszélesség, amely a görbe két inflexiós pontját összekötő szakasz hossza.
- A csúcsszélesség fele a σ (szórás).
- Az inflexiós pontokba húzott érintők az alapvonalból éppen 4σ hosszúságú szakaszt metszenek ki. (Más jelöléssel: $4\sigma = W$.)



A Gauss-görbe tulajdonságai

Elméleti tányérszám



*Az elméleti tányérszám bemutatása kromatogramon
(három különböző komponens csúcsai) $N = 10\ 000$*

A zónaszélesedés áramlási sebesség függése - A van Deemter egyenlet

$$H = A + \frac{B}{u} + C u$$

H elméleti tányérmagasság

A az örvénydiffúzióra jellemző tag

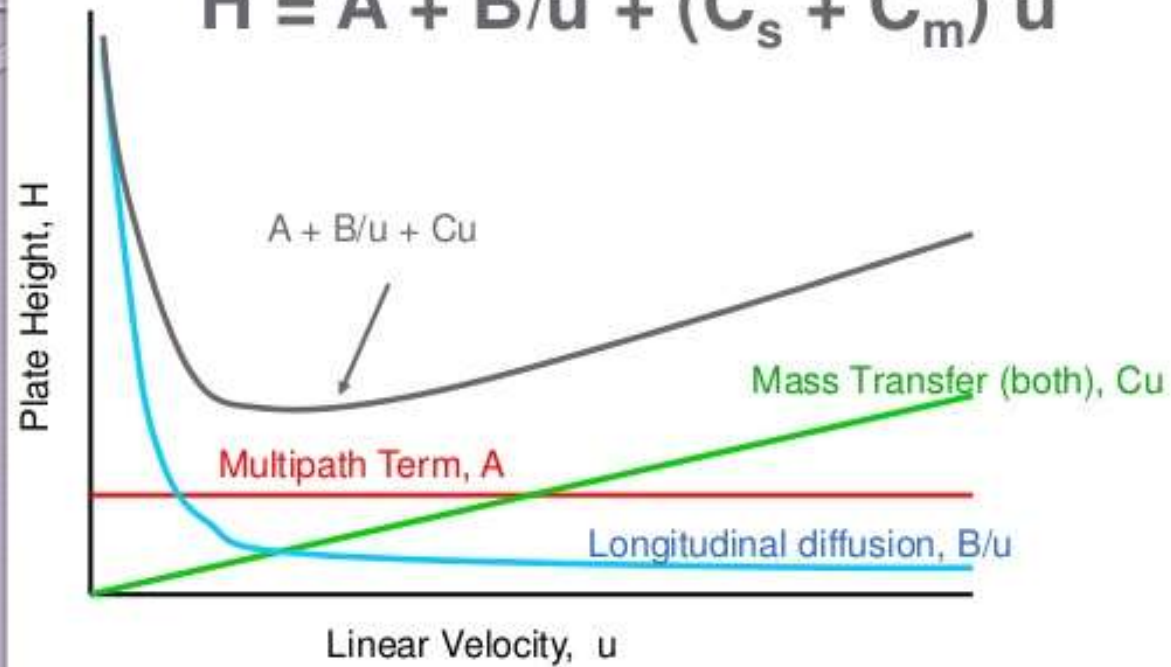
B a hosszirányú diffúzióra jellemző tag

C az anygaátadási ellenállásra jellemző tag

u lineáris áramlási sebesség (pl. cm/perc)

van Deemter Plot

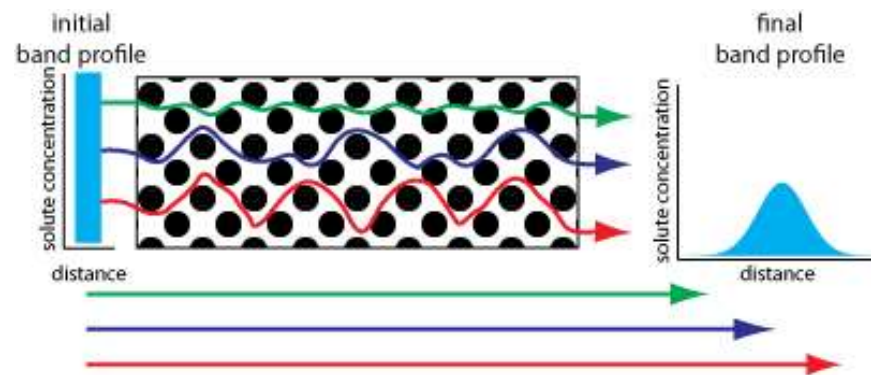
$$H = A + B/u + (C_s + C_m) u$$



Mi okoz zónaszélesedést?

1. Örvénydiffúzió - A

- eltérő áramlási csatornahosszak és keresztmetszetek
 - kolonna töltés inhomogenitásai
 - szemcseátmérő nem teljesen egyforma
- a kolonnában az áramlási sebesség sugárirányban változik – lamináris áramlási profil



az áramlási sebességtől független

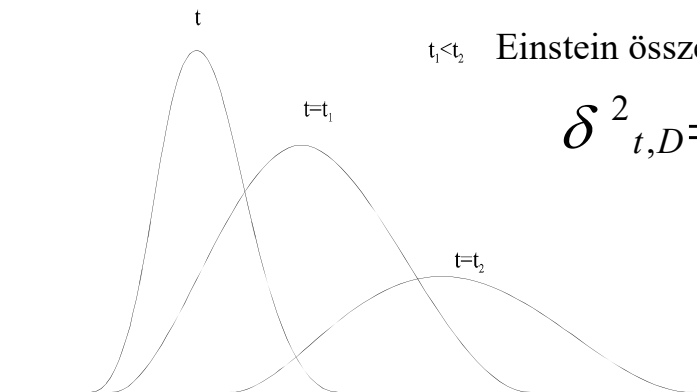
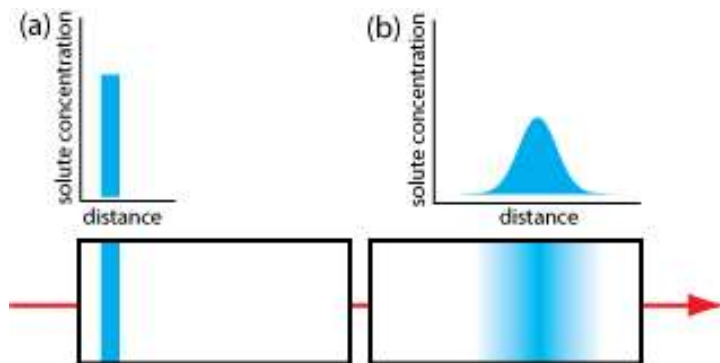
$H \sim A$

Mi okoz zónaszélesedést? 2. Hosszirányú diffúzió - B

a beinjektált mintadugó szélein a koncentrációgradiens miatt longitudinális (hosszirányú) diffúzió történik

- legerősebb az oszlopon
- oszlopon kívül is

túl hosszú, vagy túl nagy átmérőjű kapillárisok
csatlakozások
detektor cella



$t_1 < t_2$ Einstein összefüggés

$$\sigma^2_{t,D} = 2Dt$$

az áramlási sebességgel fordítottan arányos

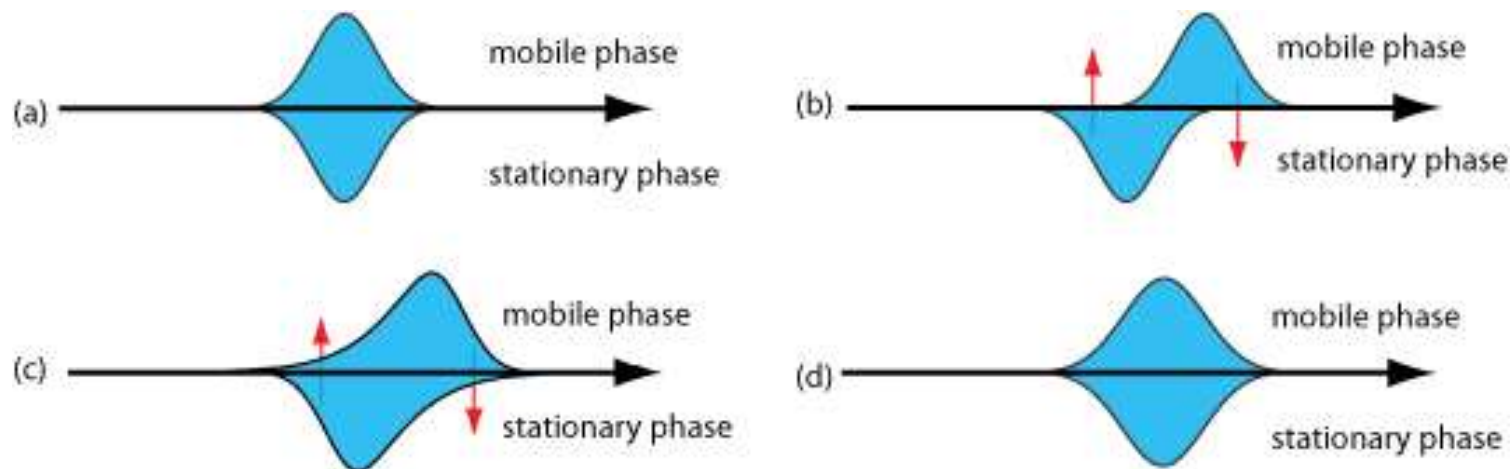
$H \sim B/u$

Mi okoz zónaszélesedést?

3. Anyagátadási ellenállás - C

az állófázisból a mozgófázisba történő anyagátmenet nem pillanatszerű (kvázi-egyensúly kialakulása)

- a pórusokon belül diffúzióval jut a felületre a molekula $\rightarrow C_m$
- a molekula az állófázisban/ból is diffundál $\rightarrow C_s$

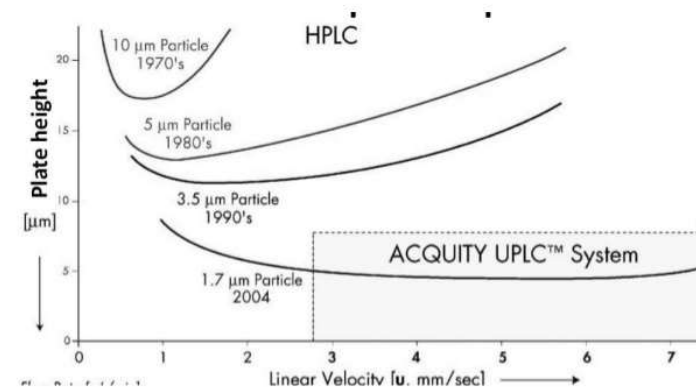


az áramlási sebességgel egyenesen arányos

$H \sim C_u$

Anyagátadási ellenállás csökkentése

- kisebb szemcseméretű állófázis
- áramlási sebesség csökkentése
- kolonnahőmérséklet emelése (gyorsabb diffúzió)



11/1/2014

6

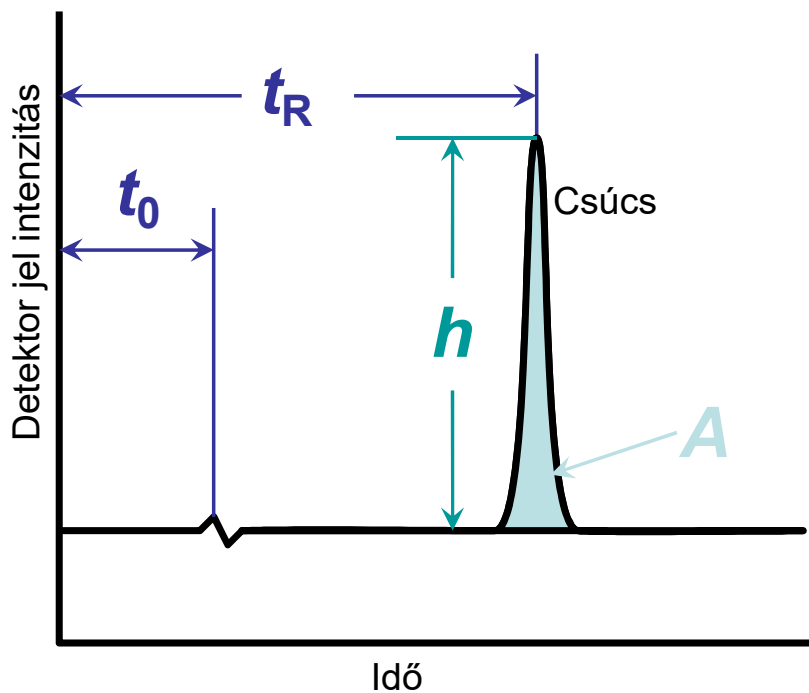
$$H = A + \frac{B}{u} + (C_s + C_m)u$$

Anyagátadási ellenállás

A folyadékkromatográfiában az anyagátadási ellenállás vagy másképp a **kvázi-egyensúly eltérése az egyensúlyi állapottól** okozza a legnagyobb zónakiszélesítő hatást.

- tapadó réteg a szemcsék felületén
- pórusokon belüli nem áramló, de a mozgófázis összetételével megegyező folyadék
- adszorpciós felületi rétegek a pórusokon belül és a szemcséken kívül, ebből több mint 99,9% a belső felület.

A kromatogram



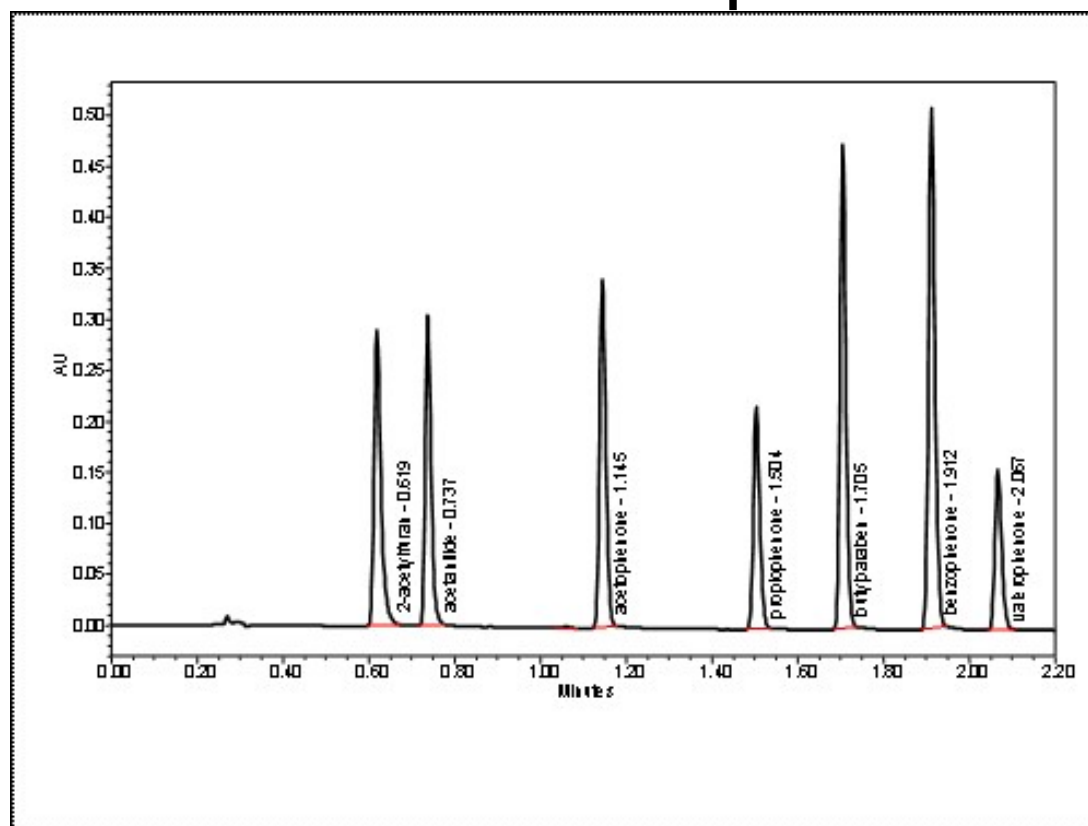
t_R : Retenciós idő

t_0 : Holtidő

A : Csúcs terület

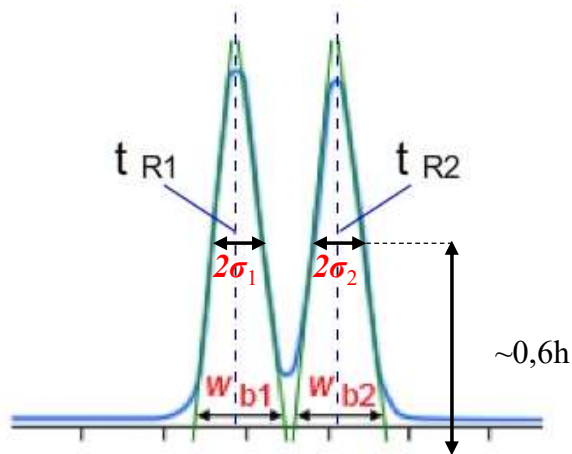
h : Csúcs magasság

Cél: a legrövidebb idő alatt megfelelően elválasztani a komponenseket



A megfelelő elválasztás a kromatográfiás felbontással jellemezhető

A kromatográfiás felbontás (R_s – resolution)



$$w_b = 4\sigma$$

$$w_{1/2} = 2,35482\sigma$$

$$R_s = \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{2(\sigma_1 + \sigma_2)}$$

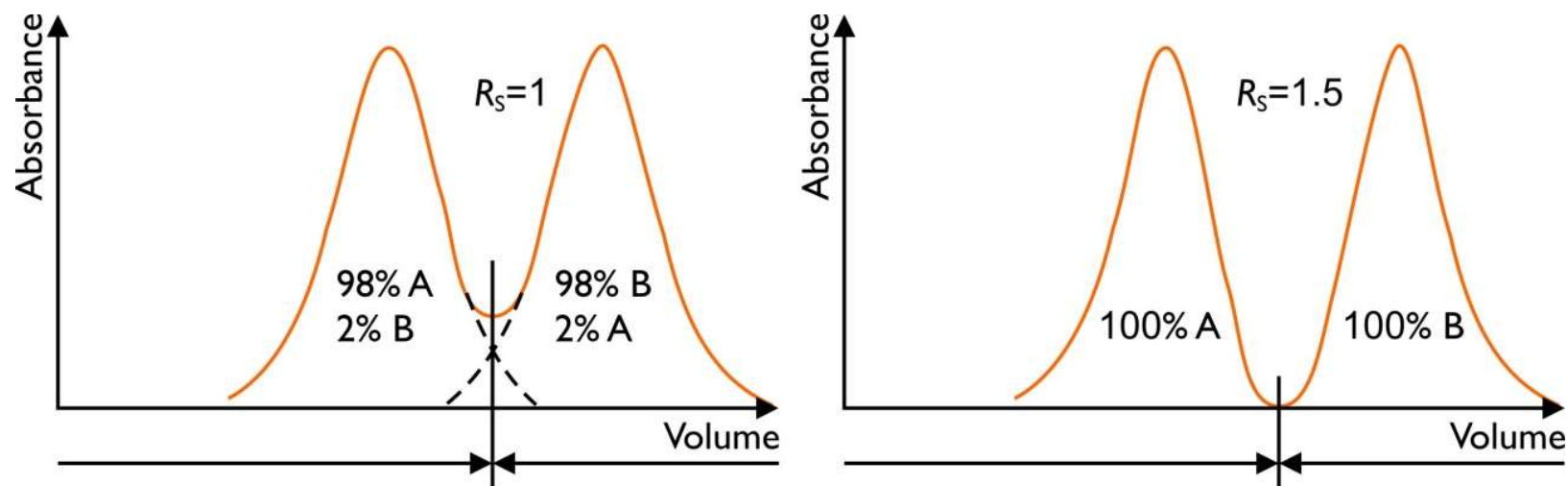
Alapvonalon mért csúcsszélességből:

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

Félérték szélességből:

$$R_s = \frac{1,177(t_{R2} - t_{R1})}{(w_{1/2(1)} + w_{1/2(2)})}$$

A kromatográfiás felbontás



$R_s = 1,5$ esetén alapvonal elválasztás (ha a csúcsok nagyjából egyformák)

A kromatográfiás elválasztást befolyásoló tényezők

Az elválasztás alapegyenlete:

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \frac{\alpha - 1}{\alpha} \frac{k}{k + 1}$$

ahol:

N = elméleti tányérszám

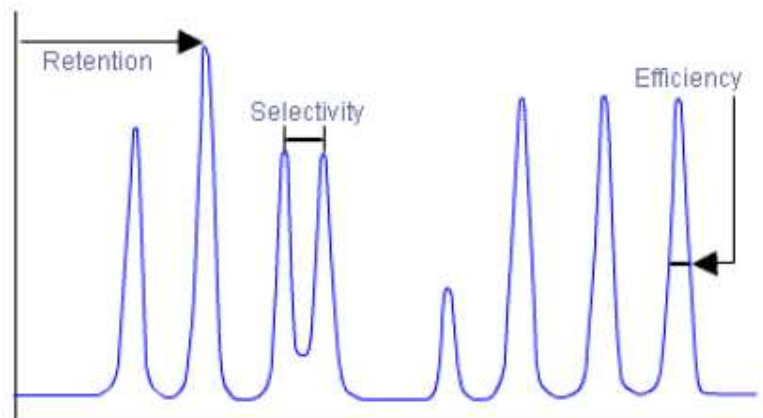
α = szelektivitási tényező

k = komponens visszatartása,
retenciós tényező

hatékonyság

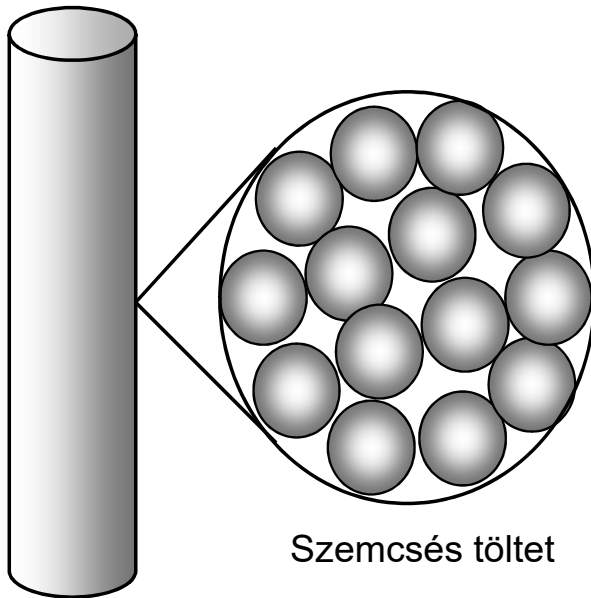
szelektivitás

visszatartás



Oszlop kromatográfia / Réteg kromatográfia

Elválasztó
oszlop



Oszlop kromatográfia



Papír, vagy
szemcsékkel
borított szubsztrát

Papír kromatográfia
Vékonyréteg kromatográfia (VRK)

A mozgó és állófázis állapota szerinti felosztás

		Mozgó fázis		
		Gáz	Folyadék	Szilárd
Álló fázis	Gáz			
	Folyadék	Gáz-kromatográfia	Folyadék kromatográfia	
	Szilárd			

GC összehasonlítása HPLC-vel I.



Tipikus GC kapilláris oszlop
30 m x 0,25 mm i.d.



Tipikus HPLC oszlop
15 cm x 4,6 mm x 5 μ m

Meghatározható anyagok

- illékonyág (250°C alatt megfelelő tenzió)
- derivatizálás hibát vihet be a kvantitatív mérésbe
- molekulatömeg: < 500 Da
- oldékonyság a mozgófázisban
- széles polaritási tartomány, ionos vegyületek is elemezhetők
- molekulatömeg: nincs felső korlát, fehérjék is

GC összehasonlítása HPLC-vel II.

Körülmények

magas hőmérséklet (akár 350°C)
→ hőstabilitás
sok GC detektor (pl. FID) destruktív
tipikus érzékenység: ng-pg

szobahőmérséklet (80°C-ig)
az UV detektor nem destruktív
tipikus érzékenység: ng

Kölcsönhatások

