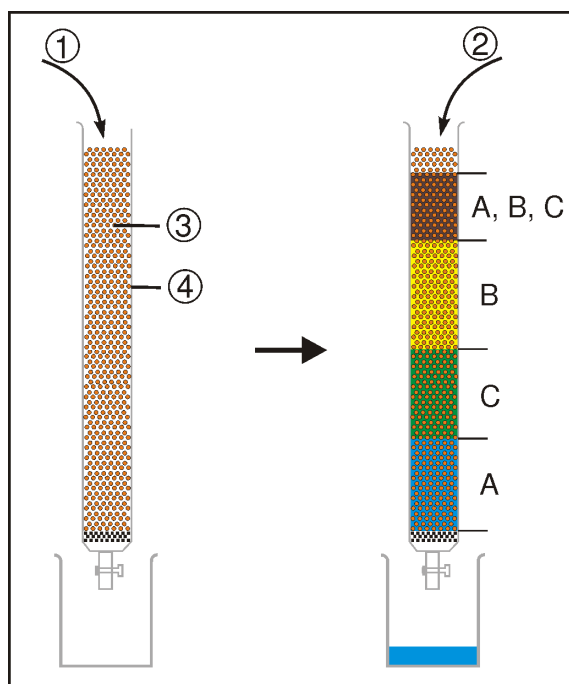


PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIA AKO ANALYTICKÁ METÓDA A JEJ VYUŽITIE

Chromatografia (z gréckeho *chroma* = farba a *grafein* = písať) je fyzikálno-chemická separačná metóda. Jej podstatou je rozdeľovanie zložiek zmesi medzi dvoma fázami: nepohyblivou (stacionárnou) a pohyblivou (mobilnou), ktoré sa od seba odlišujú niektorou základnou fyzikálno-chemickou vlastnosťou (napr. polaritou). Rozdelenie jednotlivých zložiek zmesi je dôsledkom ich rôznej afinity k týmto dvom fázam.

Zakladateľom chromatografie je ruský botanik Michail Semjonovič Cvet, ktorý v roku 1901 rozseparoval rastlinné farbivá v petroléterovom extrakte. Použil sklenú kolónu naplnenú adsorbentom CaCO_3 (stacionárna fáza). Na čelo kolóny postupne privádzal extrakt farbív (vzorku) a súčasne aj čistý petroléter (mobilná fáza). Po určitom čase sa jednotlivé zložky v kolóne oddelili a ďalším premývaním mobilnou fázou postupne opúšťali kolónu. Cvet takto získal oddelené petroléterové roztoky všetkých farbív, ktoré boli predtým v zmesi [1,2].

Znázornenie Cvetovho pokusu:



Obr.1 1-extrakt rastlinných farbív v petroléteri; 2-čistý petroléter; 3-stacionárna fáza (uhličitan vápenatý); 4-sklená kolóna; A, B, C-zložky separovanej zmesi [1].



Obr. 2 Separácia zložiek chlorofylu tenkovrstvovou chromatografiou [2].

Chromatografické metódy sa dajú klasifikovať z rôznych hľadísk (z hľadiska mobilnej fázy, mechanizmu separácie, fyzického usporiadania systému, spôsobu vyvíjania chromatogramu). Z hľadiska mobilnej fázy rozlišujeme plynovú chromatografiu GC (*gas chromatography*), kde mobilnou fázou je plyn a kvapalinovú chromatografiu LC (*liquid chromatography*), kde mobilnou fázou je kvapalina [1,3].

Plynová chromatografia GC

Vznik GC sa datuje rokom 1952, keď A. T. James a A. J. P. Martin publikovali delenie nižších mastných kyselín použitím plynu ako mobilnej fázy a kvapaliny, ako stacionárnej fázy. Použitie plynovej chromatografie v chemickej analýze viedlo k značnému pokroku v mnohých oblastiach analytickej chémie a k zásadným zmenám v organickej analýze. Mnohé analýzy, ktoré sa predtým nedali uskutočniť, alebo boli značne prácne, sa stali pomocou plynovej chromatografie bežnými. Pomocou GC možno získať úplnejšie informácie o kvalitatívnom a kvantitatívnom zložení mnohozložkových zmesí. Plynovou chromatografiou možno analyzovať všetky plynné, kvapalné i tuhé látky, ktoré sú v chromatografických podmienkach prchavé a stabilné, ako i látky, ktoré možno chemickými premenami na takéto upraviť. Plynová chromatografia sa používa najmä ako analytická metóda, umožňuje však uskutočniť i separácie v preparatívnom, resp. výrobnom meradle [3].

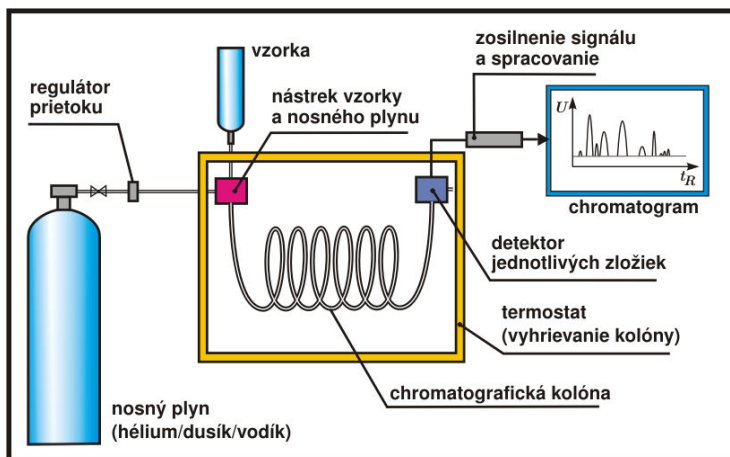
Schéma plynového chromatografu

Medzi hlavné časti plynového chromatografu patrí [3,4]:

- **injektor** – slúži na nástrek vzorky.
- **regulátor prietoku** – zabezpečuje konštantný prietok nosného plynu a vzorky v kolóne.
- **zásobník nosného plynu** – nosný plyn predstavuje mobilnú fázu. Najčastejšie býva nosným plynom hélium, vodík alebo dusík.
- **termostat** – vyhrieva kolónu a udržuje jej stálu teplotu.
- **kolóna** – oceľová, sklená alebo kremenná trubica, podstatná časť plynového chromatografu, kde dochádza k separácii plynnej zmesi. Rozoznávame *naplné* kolóny (dĺžka 0,5-5 m, priemer 2-5 mm), ktoré sú naplnené stacionárnou fázou

a kapilárne kolóny (dĺžka 10-150 m, priemer 0,1-0,5 mm), kde stacionárna fáza je nanosená na vnútornom povrchu kolóny.

- **detektor** – zaznamenáva elúciu (vyplavovanie) zložiek už rozseparovanej zmesi.
- **vyhodnocovacie zariadenie** – v súčasnosti osobný počítač s príslušným softvérovým vybavením.



Obr. 3 Schematický náčrt plynového chromatografu.

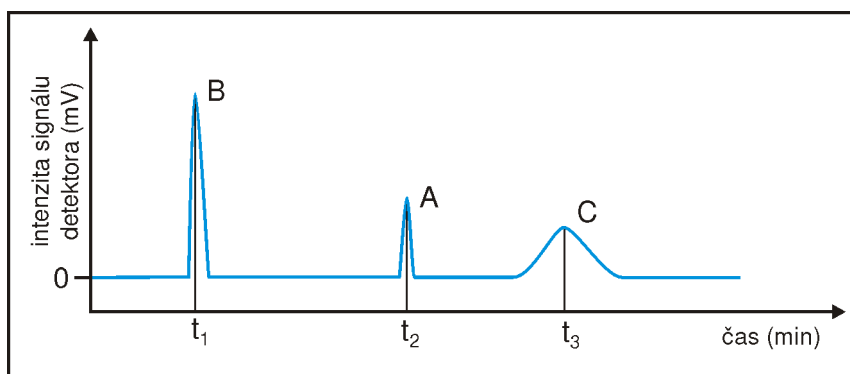


Obr. 4 Plynový chromatograf.

Princíp plynovej chromatografie

Podmienkou pre separáciu zložiek zmesi pomocou plynovej chromatografie je, že analyzovaná zmes musí byť plyná, alebo ľahko odpariteľná kvapalná (teplota varu do 300°C). Malé množstvo vzorky (1-10 μ l kvapalnej vzorky, 1-10 ml plynnej vzorky) sa jednorázovo dávkuje cez injektor do prúdu nosného plynu. V injektore sa vzorka zohreje, prípadne odparí a nosným plynom je unášaná do kolóny. V kolóne dochádza k separácii zložiek zmesi podľa toho, akú afinitu vykazujú tieto zložky k stacionárnej fáze. Prvá

vychádza z kolóny zložka, ktorá má k nej najnižšiu afinitu (je najslabšie zadržovaná stacionárnou fázou). Ako posledná vychádza zložka, ktorá má k stacionárnej fáze najvyššiu afinitu (je najsilnejšie zadržovaná v kolóne). Výstup už rozdelených zložiek zmesi z kolóny zaznamenáva detektor. Z detektora vychádza elektrický signál, ktorý je spracovaný vyhodnocovacím zariadením (PC). Konečným výstupom je chromatografický záznam (chromatogram), ktorý obsahuje tzv. píky, prislúchajúce jednotlivým zložkám zmesi. Poloha píku na časovej osi chromatogramu (os x) je mierou kvality zložky (identifikuje zložku), hovorí o tom ČO JE TO za zlúčeninu. Výška resp. plocha píku je mierou kvantity zložky v separovanej zmesi, hovorí o tom KOLKO je danej zložky v zmesi [3,4].



Obr. 5 Vzorový chromatogram z delenia trojzložkovej zmesi (zložky A, B, C). Časy t_1 , t_2 a t_3 sú tzv. retenčné časy zložiek a sú pre každú kolónu a zložku charakteristické. Súčet plôch všetkých troch píkov je v podstate 100 % zmesi. Plocha konkrétneho píku zložky delená plochou všetkých píkov je obsahovým zlomkom danej zložky v zmesi. Najväčšiu afinitu ku stacionárnej fáze mala zložka C, najnižšiu zložka B. Časová os reprezentuje retenčný čas [4].

Využitie plynovej chromatografie

Najvýznamnejšou oblasťou je použitie plynovej chromatografie ako analytickej metódy. Predstavuje ideálny prostriedok analýzy organických zlúčenín. Vysoká deliaca účinnosť kapilárnej plynovej chromatografie umožňuje analýzu mnohozložkových zmesí látok i s veľmi blízkymi vlastnosťami. Vysoká citlivosť detekcie dovoľuje použitie plynovej chromatografie ako stopovej analýzy [3].

Plynová chromatografia sa využíva vo veľkej miere pri analýze kontaminantov životného prostredia. V jednotlivých zložkách životného prostredia (voda, pôda, ovzdušie, biologický materiál) je možné stanoviť veľmi nízke obsahy škodlivých látok, častokrát s toxickým a karcinogénnym účinkom, ako sú napríklad pesticídy, dioxíny, polychlórované bifenyly, chloroform vznikajúci pri dezinfekcii vody, ropné znečistenie a iné. Významné je tiež využitie GC vo farmaceutickom priemysle pri výrobe liečiv, v potravinárskom priemysle

pri kontrole potravín, taktiež pri kontrole spotrebných produktov z hľadiska emisie škodlivín do okolitého ovzdušia, najmä tých, čo obsahujú lepidlá a rôzne náterové hmoty. Rovnako je významné využitie GC v chemickom priemysle pri výrobe vysoko čistých chemikálií, ako aj v medicínskych aplikáciách pri diagnostike ochorení na základe zistenej prítomnosti či neprítomnosti určitých látok v telesných tekutinách. Plynová chromatografia je tiež nenahraditeľná pri dopingovej a drogovej kontrole, kde sa zisťuje prítomnosť týchto látok alebo ich metabolitov hlavne v moči a krvi, prípadne inom biologickom materiáli (sliny, vlasy...). A samozrejme mnohé iné aplikácie.

Je zrejmé, že plynová chromatografia ako analytická metóda má široké využitie v rôznych odvetviach a jej využiteľnosť sa ďalej rozširuje, najmä skúmaním nových možností úpravy vzoriek do stavu vhodného pre plynovochromatografickú analýzu.

Použitá literatúra:

- [1] <http://sk.wikipedia.org/wiki/Chromatografia>
- [2] <http://en.wikipedia.org/wiki/Chromatography>
- [3] Ladislav Soják a kolektív: Separčné metódy v organickej chémii. Univerzita Komenského v Bratislave (1989).
- [4] http://sk.wikipedia.org/wiki/Plynov%C3%A1_chromatografia