

KJ2050 Analytisk kjemi, GK

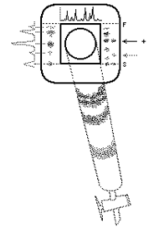
Kromatografi

(Analytiske separasjoner og kromatografi)

1. Innledning (og noe terminologi)
2. Noe generell teori
 - A. Retensjonsparametre
 - B. Sonespredning
 - C. Sonespredningsmekanismer
3. Korte innføringer til spesifikke teknikker
 - A. Væskeskromatografi (*Liquid Chromatography*, LC)
 - B. Gasskromatografi (*Gas Chromatography*, GC)
4. Kromatografi i analyser

2. (Noe generell) Teori

A. Douglas C. Skoog, Donald M. West, F. James Holler, Stanley R. Crouch: *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8th Ed., 2004.
Sider 920 - 1003 -- Kapitler 30E, 31, 32, 33B.



Teorien uttrykker (gjengir, forutsier) resultater fra kromatografi i grunnleggende prinsipper, og gjør det (helst) numerisk :

Teorien kan deles opp i :

- **A** : retensjonsparametere
 - hvor langt, hvor raskt vandrer stoffet/analytten ?
- **B** : sonespredning
 - hvor samlet holder stoffet seg ?
- **C** : faktorer, prosesser som forårsaker sonespredning
 - Hva er årsaken til spredningen
 - Modeller og kvantifisering, bl.a. Den forenklete VAN DEEMTER ligning)

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere

Grunnleggende parameter :

Fordelingskoeffisienten (eng.: *distribution coefficient*) for prøven X :

$$K_c(X) = c_{S,X} / c_{M,X}$$

$$= (W_{S,X} / V_S) / (W_{M,X} / V_M)$$

$c_{S,X}$, $c_{M,X}$: Kons. av X i hhv. SF og MF.
 $W_{S,X}$, $W_{M,X}$: Mengde X i hhv. SF and MF.
 V_S , V_M : Volum av hhv. SF og MF.

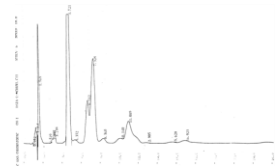
(tilsvarende for adsorpsjonskromatografi)

Koeffisienten(e) uttrykker **analytt-konsentrasjons-forhold** mellom fasene.

A.D.C. Skoog & al. : *F.o.An.Ch.* 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32 , 33B.

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere



Retensjon, og (indirekte, invers) vandrings- (eluerings-)hastighet ...

... er bestemt av mengde-forholdet av analytt X mellom de to fasene :

Mengdefordelingskoeffisient :

$$= W_{S,X} / W_{M,X} = (c_{S,X} \cdot V_S) / (c_{M,X} \cdot V_M)$$

... er i kromatografi den viktigste retensjonsparameteren =

A.D.C. Skoog & al. : *F.o.An.Ch.* 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32 , 33B.

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere

Mengdefordelingskoeffisient = ...

= **Retensjonsfaktor, k** :

tidligere: **kapasitetsfaktor** (engelsk : 'capacity factor', også 'mass distribution ratio'), (bl.a.!))

$$k = W_{S,X} / W_{M,X} = (c_{S,X} \cdot V_S) / (c_{M,X} \cdot V_M)$$

$$= K_c (V_S) / V_M$$

(= k'_X , tidligere. «merket" k - for å skille (liten) k lettere fra (stor) K (som er likevektskonstanten))

Stor k -verdi

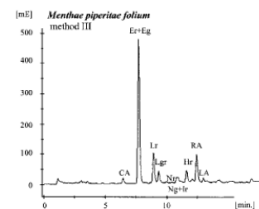
⇒ stor retensjon,

⇒ lav hastighet,

⇒ liten vandringslengde

⇒ lang retensjonstid.

k kan uttrykkes v.h.a. K_c og (volum-)forholdet mellom fasene (s.o.).



A.D.C. Skoog & al. : *F.o.An.Ch.* 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32 , 33B.

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere

Retensjon kan også uttrykkes som

R-verdi, retarderingsfaktor (eng.: *retardation factor*)

$$R = (\text{Mengde X i MF}) / (\text{Mengde X totalt i systemet})$$

$$= (\text{andel X som befinner seg i MF i bevegelse}) / (\text{hele X-mengden i begge fasene})$$

R = stor
 ⇒ hastigheten stor
 ⇒ retensjon liten (og omvendt)

Man kan vel si at navnet retarderingsfaktor er da litt 'kontra-intuitivt'.

A.D.C. Skoog & al. : F.o.An.Ch. 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32, 33B.

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere

R-verdi, retarderingsfaktor

For en gitt analytt X:

$$R(X) = (c_{M,X} \cdot V_M) / \{(c_{M,X} \cdot V_M) / (c_{S,X} \cdot V_S)\}$$

$$= W_{M,X} / (W_{S,X} + W_{M,X}) = V_M / (V_M + K_c V_S)$$

Gjennomsnittshastighet av X, u_X , blir da :

$$u_X = u_M \cdot R \quad \Rightarrow \quad R = \text{relativ hastighet av X i forhold til MF.}$$

Vandringslengden er proporsjonalt med vandringshastigheten :

$$L_X = t \cdot u_X = R_X \cdot L_M \quad \text{i et kromatogram.}$$

L_X og L_M er vandringslengdene av hhv. X og MF i løpet av denne tidsperioden t.

Omregning mellom retensjonsparameterne, k og R
(rel. lett å utlede fra de grunnleggende relasjonene)

$$k_X = \frac{(1 - R_X)}{R_X} \quad \text{og} \quad R_X = \frac{1}{(1 + k_X)}$$

A.D.C. Skoog & al. : F.o.An.Ch. 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32 , 33B.

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere

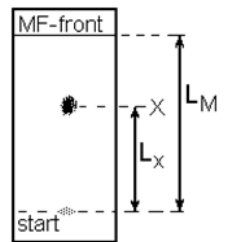
R-verdi, retarderingsfaktor

Innen **planar kromatografi** (tynnsljikt- og papir-kromatografi) beskrives retensjonen med

R_F -verdien (engelsk: også kalt *retardation factor* (!)) av et stoff (en flekk, et bånd).

$$R_F = L_X / L_M = L_X / L_F$$

$$= (\text{avstand (start - flekk X)} / (\text{avstand (start - MF-front)})$$



Under helt ideelle forhold er $R_X = R_{F_X}$!

Merk :

R er en fysikalsk-kjemisk parameter som beskriver mengde-fordelinger av analytter mellom de to kromatografiske fasene.

R_F er en **eksperimentell (empirisk)** parameter som beskriver vandringslengder til analytter i et gitt eksperiment.

Omregning mellom k og R :

$$k_X = \frac{(1 - R_X)}{R_X} \quad \text{og} \quad R_X = \frac{1}{(1 + k_X)} \quad (\text{rel. lett å utlede fra de grunnleggende relasjonene})$$



A.D.C. Skoog & al. : F.o.An.Ch. 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32 , 33B.

2. (Noe generell) Teori

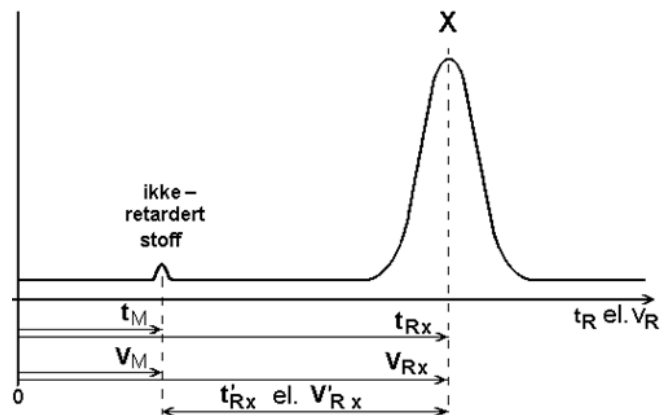
2.A. Retensjonsparametere

Resultat av en kromatografisk prosess / separasjon er et

'kromatogram' :

Typisk grafisk fremstilling av et kromatogram fra kolonnekromatografi

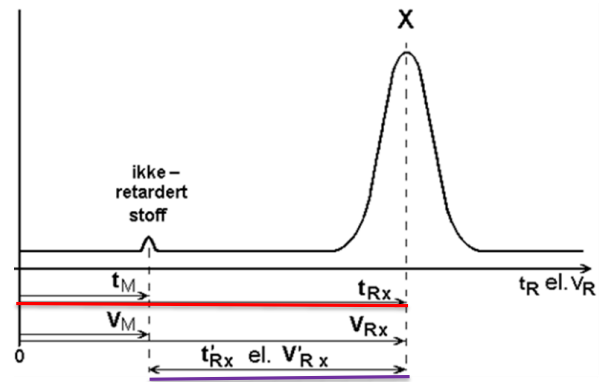
(Viser signal (fra detektor) som funksjon av tid, eller volum) :



A.D.C. Skoog & al. : *F.o.An.Ch.* 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32 , 33B.

2. (Noe generell) Teori

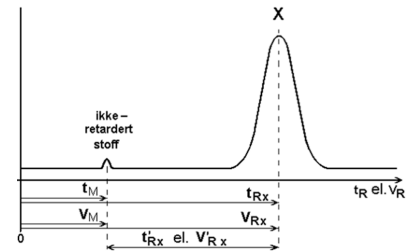
2.A. Retensjonsparametere



$t_M (= t_0)$:	- MF-oppholdstid, - elueringstid for ikke-retardert stoff ("dødtid" (uønsket navn)) - eng.: (mobile phase) hold-up time
$V_M (= V_0)$:	- Volum MF i kolonnen = elueringsvolum for ikke-retardert stoff ("dødvolum" (uønsket navn)) - eng.: (mobile phase) hold-up volume, void volume
t_R V_R	Retensjonstid, elueringstid Retensjonsvolum, (elueringsvolum)
t'_R V'_R	justert retensjonstid, elueringstid justert retensjonsvolum, (elueringsvolum)
Justert $t_R [V_R]$: korrigeret for den u-karakteristiske $t_M [V_M]$, som er lik for alle stoffer; $t'_R [V'_R]$ gjengir bare den tiden som skyldes retensjon (oppholdstiden i SF), som er karakteristisk for stoffet.	

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere



Utleddning av retensjonsfaktor **k** fra et gitt kromatogram
er rel. lett mulig:

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_R'}{t_M} \quad (t_M = t_0)$$

$$\text{or } k = \frac{V_R - V_M}{V_M} = \frac{V_R'}{V_M} \quad (V_M = V_0)$$

$$k = t_R'/t_0;$$

$$\text{her: } t_R' \approx 2 \cdot t_0$$

$$\rightarrow k \approx 2/1 \approx 2$$

V_R kan også regnes ut fra

- analyttens K_c og
- kolonne-"dimensjonene" V_{MF} og V_{SF} :

$$V_R = V_{MF} + K_c \cdot V_{SF}$$

$$V_R' = K_c \cdot V_{SF}$$

Erfaringsmessig :

Beste resultater i praksis ved $0,5 \leq k \leq 15$,
tilsv. $2/3 \geq R \geq 1/16$

A.D.C. Skoog & øl. : F.o.An.Ch. 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32, 33B.

2. (Noe generell) Teori

2.A. Retensjonsparametere

Kromatografi er for (separasjon av) flere enn én topp/analytt derfor for å sammenligne (relativ) retensjon av to, eller flere, analytter ...

Separasjonsfaktor α (tidligere: selektivitetsfaktor) :

Uttrykker forskjell i relativ affinitet av to prøvekomponenter til den stasjonære fasen, SF :

Når vi ser på 2 topper, hhv. topp 1 and 2, er α lik forholdet mellom retensjonsfaktorene, k_1 og k_2 :

$$\alpha = k_2 / k_1 = t'_{R,2} / t'_{R,1} \quad (= K_2 / K_1)$$

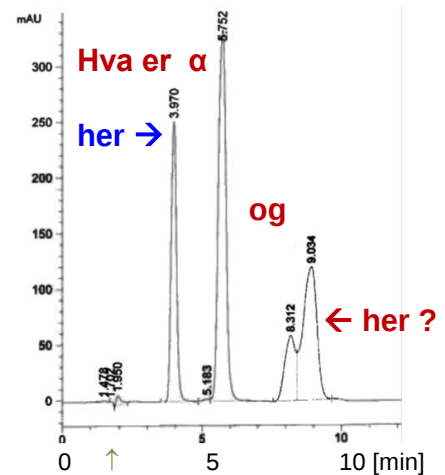
N.B.: alltid $k_2 < k_1$ og derfor $\alpha > 1,000$!

α er bare definert for kromatografi ved konstante "arbeidsbetingelser" (isotermisk og isokratisk eluering).

isotermisk : konstant temperatur

isokratisk : konstant MF-sammensetning

A.D.C. Skoog & al. : F.o.An.Ch. 8th: P. 920 – 1003 - Ch. 30E, 31, 32 , 33B.



Trenger først k_2 - og k_1 -verdiene

↑ ↑

Fordi $\alpha = k_2 / k_1$, for

$t_{R,1} = 3,97$ and $t_{R,2} = 5,75$ og $t_0 \approx 1,5$ min

$k_1 \approx 1,65$, $k_2 \approx 2,83$

$\alpha \approx 2,83 / 1,65 \approx \underline{1,7}$

Og for ↑ ↑

$t_{R,1} = 8,31$ og $t_{R,2} = 9,03$ min

$k_1 \approx 4,54$, $k_2 \approx 5,02$

$\alpha \approx 5,02 / 4,54 \approx \underline{1,11}$