

MIKRONÁPLŇOVÉ KAPILÁRNÍ KOLONY V SUPERKRITICKÉ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIÍ

JOSEF PLANETA, MILENA MIKEŠOVÁ
A JIŘÍ VEJROSTA

Ústav analytické chemie, Akademie věd České republiky, Ve-
veří 97, 61J 42 Brno

Došlo dne 5.II.1998

Klíčová slova: SFC, kolony

V superkritické fluidní chromatografii (SFC) se používá mobilní fáze (nejčastěji CO_2) při tlaku a teplotě vyšších, než jsou její příslušné kritické hodnoty. První práce v SFC byla publikována v roce 1962 Klesperem a spol., kteří separovali deriváty porfyriu¹. Poměrně nízké separační účinnosti vyplývaly z použití náplňových kolon, plněných sorbenty o velikosti částic 60-80 mesh.

Zavedením kapilárních kolon se stacionární fázi chemicky vázanou na povrchu kapiláry², nerozpustnou v nadkritickém CO_2 , se hlavní pozornost soustředila na kapilární SFC. Na těchto kolonách lze dosáhnout vysoce účinné separace (stovky tisíc teoretických pater), což je ovšem vyváženo dlouhými retenčními časy (i několik hodin) z důvodu nízké generace počtu teoretických pater za jednotku času. Problémem je malá kapacita kolon (přímou lze nastříknout jen objem několika nl), se kterou souvisí vyšší detekční limity eluovaných látek. Vzorek se do těchto kolon obvykle dávkuje pomocí děliče (splitteru), který je často zdrojem zhoršené reprodukovatelnosti z důvodů změny odporu srážení analytů na stěnách při poklesu rozpustnosti.

Tyto skutečnosti společně s pokroky v HPLC a GC vedly k útlumu zájmu o SFC. K novému oživení dochází právě díky vlastnostem mikronáplňových kolon. Tyto kolony o vnitřním průměru 100-500 μm a délce asi 10-100 cm jsou plněné sorbenty běžně používanými v HPLC. Díky nízké viskozitě mobilní fáze lze použít i částice o průměru 1-3 μm , které jsou prakticky nepoužitelné v HPLC pro vysoký tlakový spád na koloně.

Generace teoretických pater za jednotku času je v SFC na

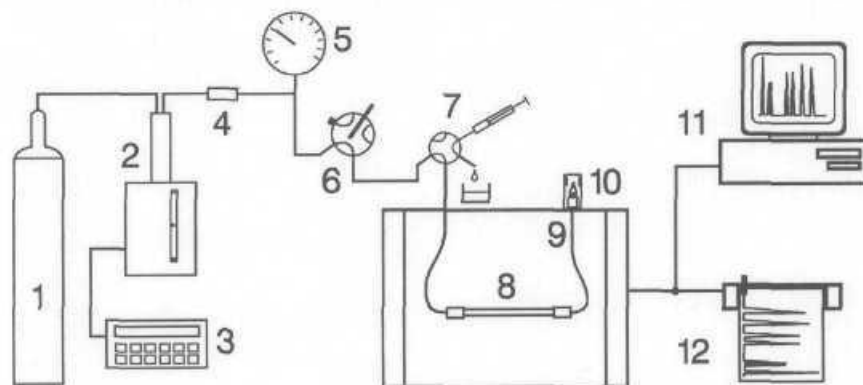
mikronáplňových kolonách několikanásobně vyšší než na kapilárních kolonách, což výrazně zkracuje dobu analýzy. Kapacita mikronáplňových kolon je výrazně vyšší a vzorek se dávkuje pomocí obvyklých dávkovacích ventilů bez použití děliče. Separovat lze látky, které spadají jak do oblasti GC tak i LC - především nepolární a mírně polární.

Přístroje pro SFC nabízelo několik firem, převážně se snahou využít této nové metody komerčně bez předcházejícího základního výzkumu. Nyní se ukazuje, že vhodnou alternativou k těmto nákladným přístrojům je úprava libovolného plynového chromatografu, protože možnost použití GC detektorů je jednou z hlavních výhod SFC. Celkové náklady na úpravu představují malou část ceny komerčních zařízení.

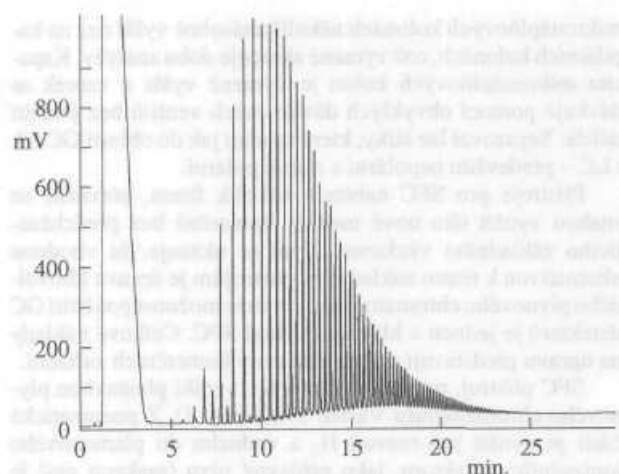
SFC přístroj, použitý v této práci, vznikl přestavbou plynového chromatografu Varian 3700 (obr. 1). Z pneumatické části je využit jen rozvod H_2 a vzduchu do plamenového ionizačního detektoru, jako přídavný plyn (makeup gas) je použit vzduch. Retence separovaných látek v SFC závisí na hustotě mobilní fáze. Analogicky k teplotním programům v GC je SFC analýza prováděna s gradientem hustoty mobilní fáze. Přesná regulace hustoty je obtížně realizovatelná, proto se často nahrazuje regulací tlaku mobilní fáze. V popsaném systému byl použit regulátor na bázi jednočipového mikroprocesoru 8051 s numerickou klávesnicí a LCD displejem, který umožňuje uložit v zálohované paměti několik tlakových programů. Regulátorem je řízena vysokotlaká pístová pumpa HPP5001 (Laboratorní přístroje, Praha), která je naplněna kapalným oxidem uhličitým.

Mobilní fáze je z pumpy čerpána přes filtry, kontrolní manometr a šesticečný ventil do dávkovacího ventilu VALCO s 60 nl vnitřní smyčkou. Nástřik vzorku se provádí technikou „time delay“⁴, která spočívá v rychlém přepnutí ventilu do pozice INJECT a zpět. Tím dojde pouze k částečnému výplachu vnitřní smyčky ventilu a k nadávkování užší zóny vzorku. Pro zajištění reprodukovatelného přepínání byl ventil doplněn elektronickým časovačem na bázi jednočipového mikroprocesoru 8051.

Z ventilu je mobilní fáze vedena křemennou kapilárou o průměru 50 μm do termostátového prostoru GC, kde je VALCO spojkou s minimálním mrtvým objemem připojena mikronáplňová kolona. Metodika přípravy těchto kolon je popsána v několika pracích³⁴. Kvalitně naplněná kolona poskytuje asi 70 000-100 000 pater/metr. Pro běžné separace



Obr. 1. Schéma SFC zařízení; 1 - tlaková láhev s CO_2 ; 2 - pumpa pro HPLC; 3 - regulátor tlaku; 4 - filtry; 5 - kontrolní manometr; 6 - hlavní ventil/odtlakování systému; 7 - dávkovací ventil VALCO; 8 - kolona; 9 - restriktor; 10 - FID detektor; 11 - mikropočítač pro sběr dat; 12 - zapisovač



Obr. 2. SFC separace silikonového oleje na mikronáplňové koloně

postačuje délka kolony asi 10–20 cm s vnitřním průměrem 320 μm .

Ke druhému konci kolony je stejnou spojkou připojen restriktor, který slouží k udržení tlaku v systému (7–40 MPa) a nastavení lineární rychlosti. K restrikci se používá obvykle křemenná kapilára s malým výstupním otvorem. Je popsáno několik typů restriktorů: lineární, integrální, vytahovaný, fritový nebo vícekanálový^{5–7}, v přístroji je použit integrální restriktor. Konec restriktoru je vsunut do trysky plamenového ionizačního detektoru, který je vyhříván na teplotu 250–350 °C. Důležité je, aby výustění restriktoru bylo těsně pod plamenem v detektoru. Tímto uspořádáním se zabrání tvorbě pevných částic analytů při expanzi mobilní fáze a následným poruchám signálu z detektoru (spiking).

Optimální průtok výše uvedenými kolonami je asi 15–30 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ plynného CO_2 , lineární rychlost se pohybuje (v závislosti na tlaku) v rozmezí 2–13 $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Výstupní signál je zpracován chromatografickou stanicí APEX EXTRA.

Obr. 2 demonstuje separační možnosti SFC na mikro-

náplňových kolonách. Silikonový olej (Lukoil, složení polydimethylsiloxan, výrobce Lučební závody Kolín) rozpuštěný v dichlormethanu byl separován na mikronáplňové koloně délky 150 mm, plněné 5 μm ODS za použití integrálního restriktoru. Analýza byla provedena při 70 °C s gradientem tlaku od 8 do 36 MPa. Ve vzorku bylo během 25 minut separováno okolo 90 silikonových oligomerů v rozsahu molekulových hmotností asi 370 až 6700. Ze symetrie chromatografických píků je zřejmé, že v systému jsou jen minimální mrtvé prostory.

Práce je součástí řešení grantů GA AV ČR A 4031802 a A 4031603.

LITERATURA

1. Klesper E.: J. Org. Chem. 27, 700 (1962).
2. Novotný M., Springston S. R., Peaden P. A., Fjeldsted J. C., Lee M. L.: Anal. Chem. 53, 407A (1981).
3. Malik A., Li W., Lee M.: J. Microcol. Sep. 5, 361 (1993).
4. Tong D., Bartle K. D., Clifford A. A.: J. Microcol. Sep. 6, 249 (1994).
5. Guthrie E. J., Schwartz N. E.: J. Chromatogr. Sci. 24, 236 (1986).
6. Vejrosta J., Janda V., Bartle K. D.: J. High Resolut. Chrom. 16, 624 (1993).
7. Pinkston J. D., Hentschel R. T.: J. High Resolut. Chrom. 16, 269 (1993).

J. Planeta, M. Mikešová, and J. Vejrosta (Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno): **Micropacked Capillary Columns in Supercritical Fluid Chromatography**

Preferences of micropacked capillary columns over open tubular columns in SFC are discussed. The adaptation of a gas chromatograph Varian 3700 to an SFC unit is described. The efficiency of the device is demonstrated by the separation of silicone oil.

