

## CHROMATOGRAFIA WIELOWYMIAROWA

Magdalena Kupska<sup>1</sup>, Tomasz Chmiel<sup>1</sup>,  
Tomasz Dymerski<sup>1</sup>, Tadeusz Górecki<sup>2</sup>  
**JACEK NAMIEŚNIK<sup>1</sup>**



1. Katedra Chemii Analitycznej,  
Wydział Chemiczny,  
Politechnika Gdańska



2. Department of Chemistry,  
Faculty of Science,  
University of Waterloo, Canada

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

## Techniki chromatograficzne i pokrewne

### Podstawowe narzędzie do:

- Rozdzielania złożonych mieszanin na poszczególne składniki
- Identyfikacji i ilościowego oznaczania śladowych składników próbki

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

2

## Możliwości zwiększania potencjału rozdzielczego w technikach chromatograficznych

### 1. Parametry kolumny

- zwiększenie długości kolumny,
- zmniejszenie średnicy kolumny,
- zmniejszenie grubości filmu fazy stacjonarnej / średnicy ziaren wypełnienia,

### 2. Optymalizacja warunków rozdzielania

- odpowiedni dobór fazy stacjonarnej,
- odpowiedni dobór fazy ruchomej,
- możliwość zastosowania odpowiedniego programu temperaturowego / elucji gradientowej

### 3. Odpowiednie przygotowanie próbek do analizy

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

3

## Efektywność rozdzielania chromatograficznego

$$N = \frac{L}{H}$$

N - liczba pólk teoretycznych

L - długość kolumny

H - wysokość równoważna półce teoretycznej

### ■ Chromatografia gazowa:

- kolumny kapilarne
- mała wartość liczbowej wysokości równoważnej półce teoretycznej
- duża długość kolumny

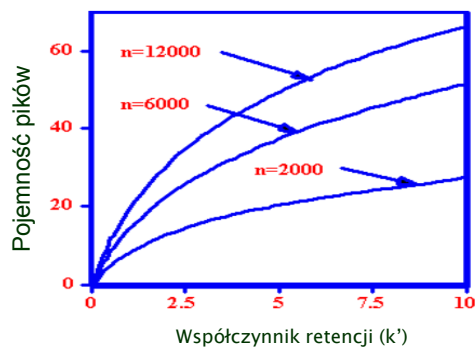
### ■ Chromatografia cieczowa:

- kolumny monolityczne
- mała średnica ziaren wypełnienia kolumny

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

4

## Pojemność pików a liczba póltek teoretycznych



**Pojemność pików** jest to ilość pików chromatograficznych, która mieści się na chromatogramie w jednostce czasu uzyskanym przy wykorzystaniu danej kolumny.

**Wzrost liczby póltek teoretycznych** → **wzrost pojemności pików chromatograficznych**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

5

## Pojemność pików

		n	Pojemność pików
Kapilarna GC	25 m x 0,25 mm	100 000	316 - 632
	50 m x 0,25 mm	200 000	447 - 894
	100 m x 0,25 mm	400 000	632 - 1264
	<b>80 m x 0,1 mm</b>	<b>800 000</b>	<b>895 - 1790</b>
HPLC	15 cm x 4,6 mm x 5 μm	15 000	122 - 244
	15 cm x 2 mm x 1,7 μm	44 000	209 - 418
	300 cm x 2 mm x 5 μm	300 000	547 - 1094
	100 cm x 0,1 mm x 5 μm	100 000	316 - 632
	<b>400 cm x 0,1 mm</b>	<b>580 000</b>	<b>761 - 1522</b>

→ kolumny monolityczne

Pojemności pików nie można zwiększać w nieskończoność !

↓  
wydłużenie czasu analizy

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

6

## Dlaczego analiza w układzie 1D jest niewystarczająca ?

analiza 1D – rozdzielanie na podstawie jednej właściwości

różne związki o podobnych właściwościach

podobna właściwość = zbliżony czas retencji

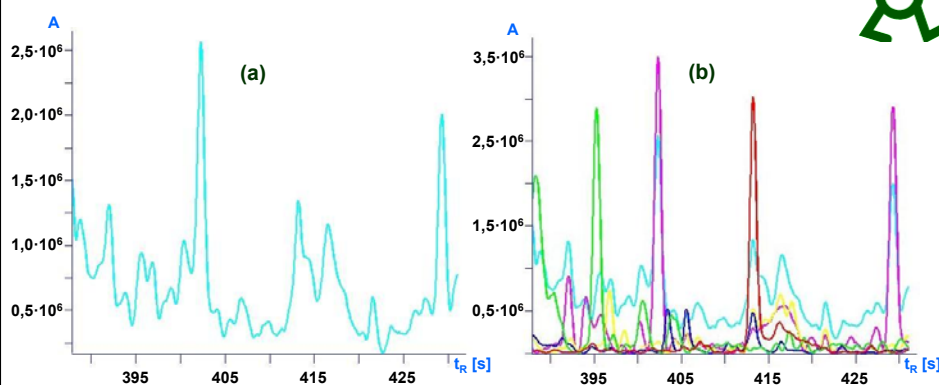
analiza próbek zawierających dużą liczbę analitów o podobnych właściwościach = koelucja analitów

**konieczność zastosowania techniki wielowymiarowej – rozdzielanie na podstawie kilku właściwości**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

7

## Dlaczego analiza w układzie 1D jest niewystarczająca



### Analiza próbki osadu dennego za pomocą GC-TOFMS:

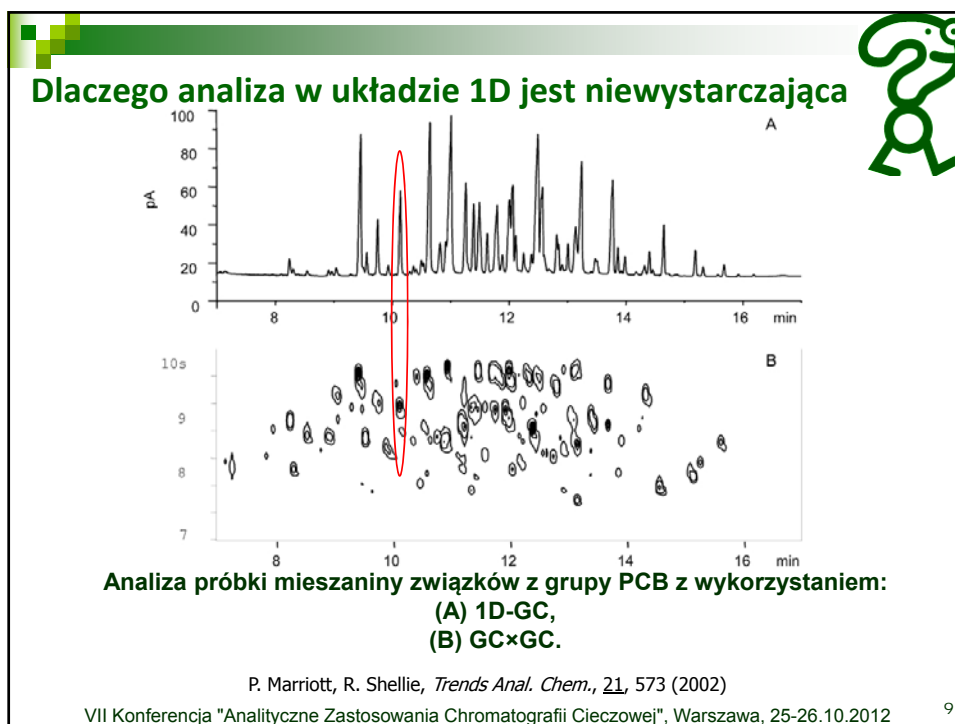
(a) chromatogram TIC – bez wykorzystania spektralnej dekonwolucji pików widoczne jest jedynie 27 pików

(b) chromatogram dla wybranych jonów fragmentacyjnych

T. Górecki, VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Kraków, 4-9.07.2010

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

8



## Twierdzenia J.C. Giddings'a

**... zgodnie ze statystyczną teorią koelucji pików ...**

**... rozdzielanie pików chromatograficznych może ulec znacznemu pogorszeniu, jeżeli liczba składników próbki przekracza 1/3 wartości pojemności pików**

*J.M. Davis, J.C. Giddings, *Anal. Chem.* **55**, 418 (1983)*

**...w celu całkowitego rozdzielania 98% pików chromatograficznych pojemność pików powinna być 100 razy większa od liczby składników próbki**

*J.C. Giddings, *J. Chromatogr. A* **703**, 3 (1995)*

**W celu całkowitego rozdzielania 100 peptydów pojemność pików powinna wynosić:  $100 \times 100 = 10.000$ , lub  $N \text{ ok. } 100.000.000$  póltek teoretycznych !!!**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012 10

## Rozdzielanie wielowymiarowe

### ■ J.C. Giddings – koncepcja i porównanie technik wielowymiarowych (1984-1987)

- przewidział, że poddanie składników próbki rozdzielaniu w dwóch niezależnych wymiarach znacznie przyczyni się do zwiększenia wartości liczbowej pojemności pików
- stworzył główne założenia dla procesu kompletnego wielowymiarowego rozdzielania składników mieszanin:
  - **wszystkie składniki próbki** muszą być poddane rozdzielaniu we wszystkich wymiarach
  - **rozdzielanie składników** próbki w każdym wymiarze musi być zachowane do momentu zakończenia całego wielowymiarowego procesu rozdzielania
- opracował podstawy teoretyczne obecnie stosowanych technik wielowymiarowych oraz innych, które mogą zostać opracowane w przyszłości

J.C. Giddings, *Anal. Chem.* **56**, 1258 (1984)

J.C. Giddings, *J. High. Resolut. Chrom. Comm.* **10**, 319 (1987)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

11

## Właściwości fizyczne i fizykochemiczne, które mogą stanowić podstawę mechanizmu rozdzielania wielowymiarowego

SPOSÓB ROZDZIELANIA	AKRONIM	SYMBOL	WŁAŚCIWOŚĆ
Wielkość cząsteczek	BLK	N	Kilka właściwości
Objętościowe natężenie przepływu	FLO	N	Kilka właściwości
Chromatograficzny	CHR	K	Współczynnik podziału
Fracjonowanie przez przepływ w polu	FFF	$\sigma$	Współczynnik interakcji pola
Elektroforetyczny	ELP	$\mu$	Ruchliwość jonowa
Izoelektryczny	IEL	I	Punkt izoelektryczny
Izotachforetyczny	ITP	$\mu$	<b>Ruchliwość jonowa</b>
Dielektroforetyczny	DEL	$\kappa$	Stała dielektryczna
Sedymentacyjny	SED	s	Współczynnik sedymentacji
Sedymentacja izofoniczna	IPY	$\rho$	<b>Gęstość</b>
Gradient pola magnetycznego	MAG	$\psi$	Podatność magnetyczna
Dyfuzja termiczna	THD	D'	Współczynnik dyfuzji termicznej
Termograwimetryczny	THG	$\alpha$	Współczynnik dyfuzji termicznej
Dyfuzjoforetyczny	DIF	$\gamma$	Energia międzyfazowa
Fotoforetyczny	PHO	$\sigma$	Ruchliwość fotoforetyczna

J.C. Giddings, *Anal. Chem.* **56**, 1258 (1984)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

12

## Możliwości łączenia technik 1D i tworzenia nowych technik 2D

	BLK	FLO	CHR	FFF	ELP	IEL	ITP	DEL	SED	IPY	MAG	THD	THG	DIF	PHO
BLK	N×N	N×N	N×K	N×φ	N×μ	N×I	N×μ	N×κ	N×s	N×ρ	N×ψ	N×D'	N×α	N×γ	N×σ
FLO	N×N	N×N	N×K	N×φ	N×μ	N×I	N×μ	N×κ	N×s	N×ρ	N×ψ	N×D'	N×α	N×γ	N×σ
CHR	K×N	K×N	K×K	K×φ	K×μ	K×I	K×μ	K×κ	K×s	K×ρ	K×ψ	K×D'	K×α	K×γ	K×σ
FFF	φ×N	φ×N	φ×K	φ×φ	φ×μ	φ×I	φ×μ	φ×κ	φ×s	φ×ρ	φ×ψ	φ×D'	φ×α	φ×γ	φ×σ
ELP	μ×N	μ×N	μ×K	μ×φ	μ×μ	μ×I	μ×μ	μ×κ	μ×s	μ×ρ	μ×ψ	μ×D'	μ×α	μ×γ	μ×σ
IEL	I×N	I×N	I×K	I×φ	I×μ	I×I	I×μ	I×κ	I×s	I×ρ	I×ψ	I×D'	I×α	I×γ	I×σ
ITP	μ×N	μ×N	μ×K	μ×φ	μ×μ	μ×I	μ×μ	μ×κ	μ×s	μ×ρ	μ×ψ	μ×D'	μ×α	μ×γ	μ×σ
DEL	κ×N	κ×N	κ×K	κ×φ	κ×μ	κ×I	κ×μ	κ×κ	κ×s	κ×ρ	κ×ψ	κ×D'	κ×α	κ×γ	κ×σ
SED	s×N	s×N	s×K	s×φ	s×μ	s×I	s×μ	s×κ	s×s	s×ρ	s×ψ	s×D'	s×α	s×γ	s×σ
IPY	ρ×N	ρ×N	ρ×K	ρ×φ	ρ×μ	ρ×I	ρ×μ	ρ×κ	ρ×s	ρ×ρ	ρ×ψ	ρ×D'	ρ×α	ρ×γ	ρ×σ
MAG	ψ×N	ψ×N	ψ×K	ψ×φ	ψ×μ	ψ×I	ψ×μ	ψ×κ	ψ×s	ψ×ρ	ψ×ψ	ψ×D'	ψ×α	ψ×γ	ψ×σ
THD	D'×N	D'×N	D'×K	D'×φ	D'×μ	D'×I	D'×μ	D'×κ	D'×s	D'×ρ	D'×ψ	D'×D'	D'×α	D'×γ	D'×σ
THG	α×N	α×N	α×K	α×φ	α×μ	α×I	α×μ	α×κ	α×s	α×ρ	α×ψ	α×D'	α×α	α×γ	α×σ
DIF	γ×N	γ×N	γ×K	γ×φ	γ×μ	γ×I	γ×μ	γ×κ	γ×s	γ×ρ	γ×ψ	γ×D'	γ×α	γ×γ	γ×σ
PHO	σ×N	σ×N	σ×K	σ×φ	σ×μ	σ×I	σ×μ	σ×κ	σ×s	σ×ρ	σ×ψ	σ×D'	σ×α	σ×γ	σ×σ

J.C. Giddings, *Anal. Chem.* **56**, 1258 (1984)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

13

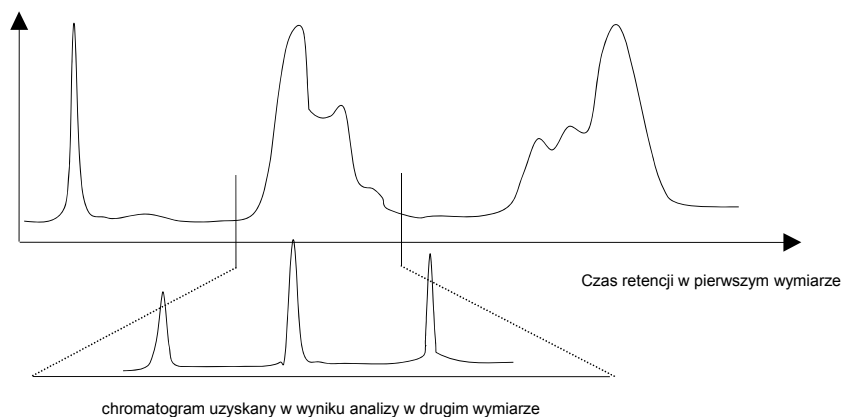
## Etapy rozwoju wielowymiarowych technik chromatograficznych

- 2D-TLC (rozdzielanie 22 aminokwasów),
- zbieranie i analiza wybranych frakcji (wszystkie typy technik chromatograficznych),
- rozwój LC×LC i technologii modulatorów zaworowych,
- opracowanie pierwszego modulatora do GC×GC,
- rozwój technologii modulatorów (kriogenicznych i przepływowych) w GC×GC,
- opracowanie nowych systemów GC×GC, w których wykorzystuje się modulatory kriogeniczne bez stosowania czynników chłodzących (tzw. „consumable free modulator”)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

14

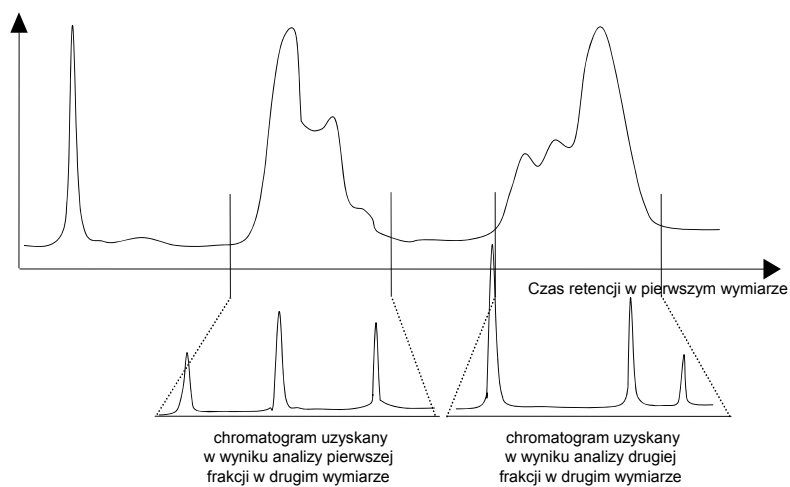
## Analiza wybranej frakcji (*heart-cut chromatography*)



VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

15

## Analiza wybranych frakcji (*multiple heart-cut chromatography*)

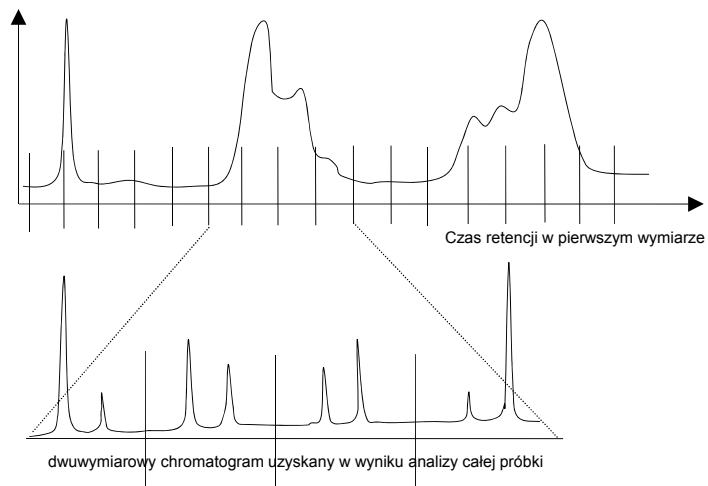


VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

16



## Kompletna analiza dwuwymiarowa (comprehensive two-dimensional chromatography)



VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

17

Chromatografia  
dwuwymiarowa

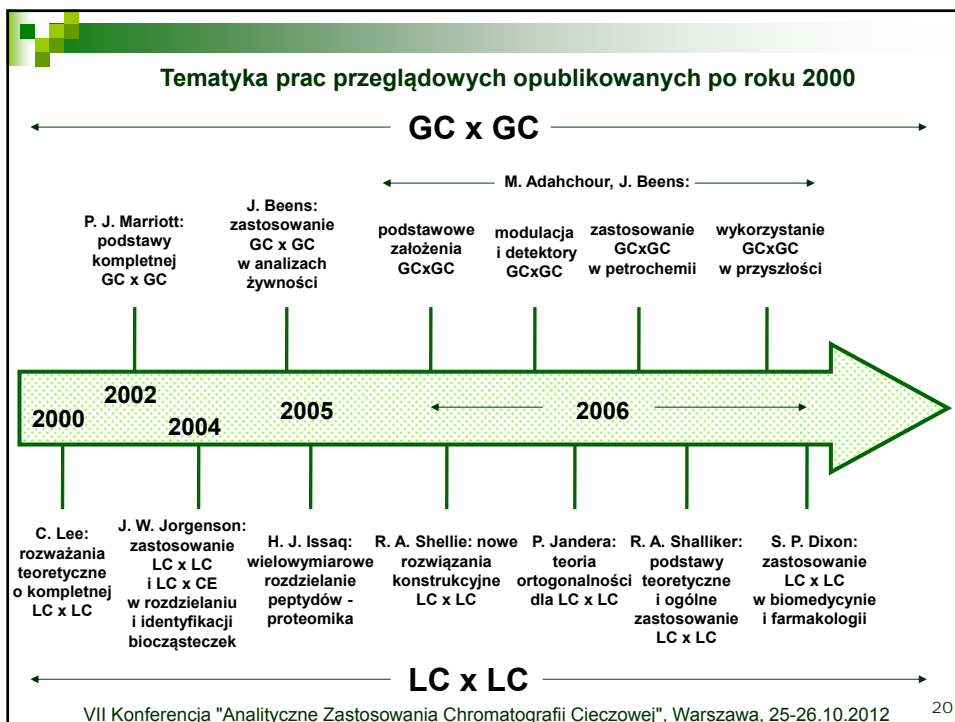
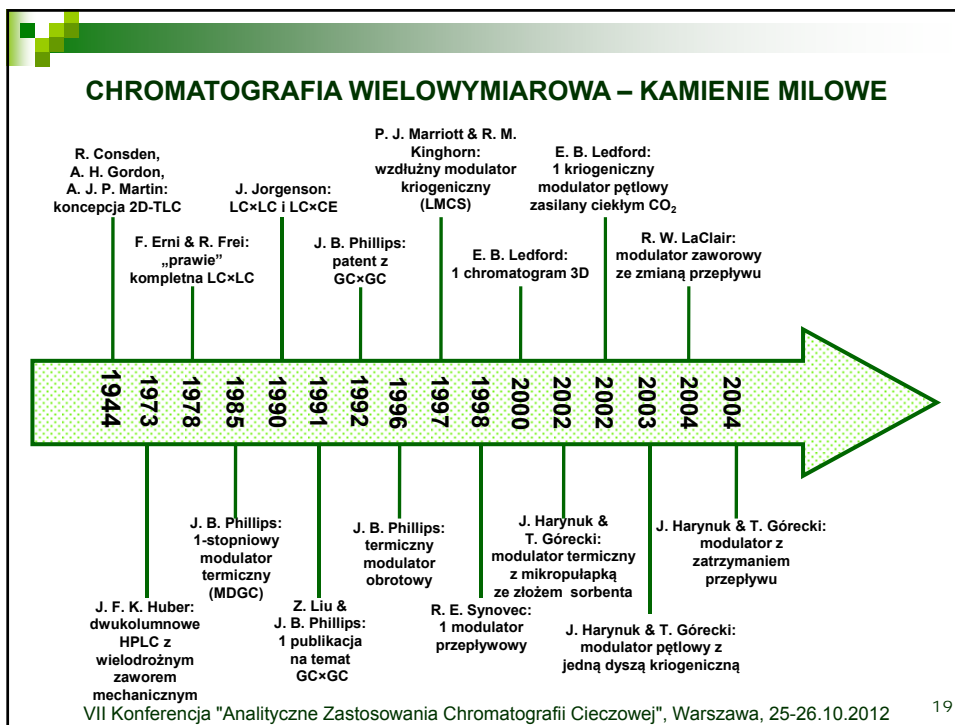


Kompletna  
chromatografia  
dwuwymiarowa

Odstęp czasowy między kolejnymi  
frakcjami dozowanymi do kolumny nr 2

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

18



## Renesans LC×LC

### Tematyka najczęściej cytowanych prac przeglądowych

#### 2000

- „Comprehensive two-dimensional separations using microcolumns” (48)  
[Z. Liu, M. L. Lee, J Microcolumn Sep, 12, 241 (2000)]

#### 2004

- „Multidimensional LC–LC and LC–CE for high-resolution separations of biological molecules” (76)  
[C. R. Evans, J. W. Jorgenson, Anal Bioanal Chem, 378, 1952 (2004)]

#### 2005

- „Multidimensional separation of peptides for effective proteomic analysis” (109)  
[H. J. Issaq, K. C. Chan, G. M. Janini, T. P. Conrads, T. D. Veenstra, J Chromatogr B, 817, 35 (2005)]

#### 2006

- „Comprehensive two-dimensional liquid chromatography” (36)  
[R. A. Shellie, P. R. Haddad, Anal Bioanal Chem, 386, 405 (2006)]
- „Column selectivity for two-dimensional liquid chromatography” (156)  
[P. Jandera, J Sep Sci, 29, 1763 (2006)]
- „Concepts and practice of multi-dimensional high-performance liquid chromatography” (103)  
[R. A. Shalliker, M. J. Gray, Adv Chromatogr, 44, 177 (2006)]
- „Comprehensive multi-dimensional liquid chromatographic separation in biomedical and pharmaceutical analysis: a review” (97)  
[S. P. Dixon, I. D. Pitfield, D. Perrett, Biomed Chromatogr, 20, 508 (2006)]

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

21

## Renesans GC×GC

### Tematyka najczęściej cytowanych prac przeglądowych

#### 2002

- „A review of basic concepts in comprehensive two-dimensional gas chromatography” (100)  
[R. C. Y. Ong, P. J. Marriott, J Chromatogr Sci, 40, 276 (2002)]

#### 2003

- „Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool” (255)  
[J. Dalluge, J. Beens, U. A. Th. Brinkman, J Chromatogr A, 1000, 69 (2003)]

#### 2004

- „The evolution of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC)” (88)  
[T. Górecki, J. Harynuk, O. Panić, J Sep Sci, 27, 359 (2004)]

#### 2006

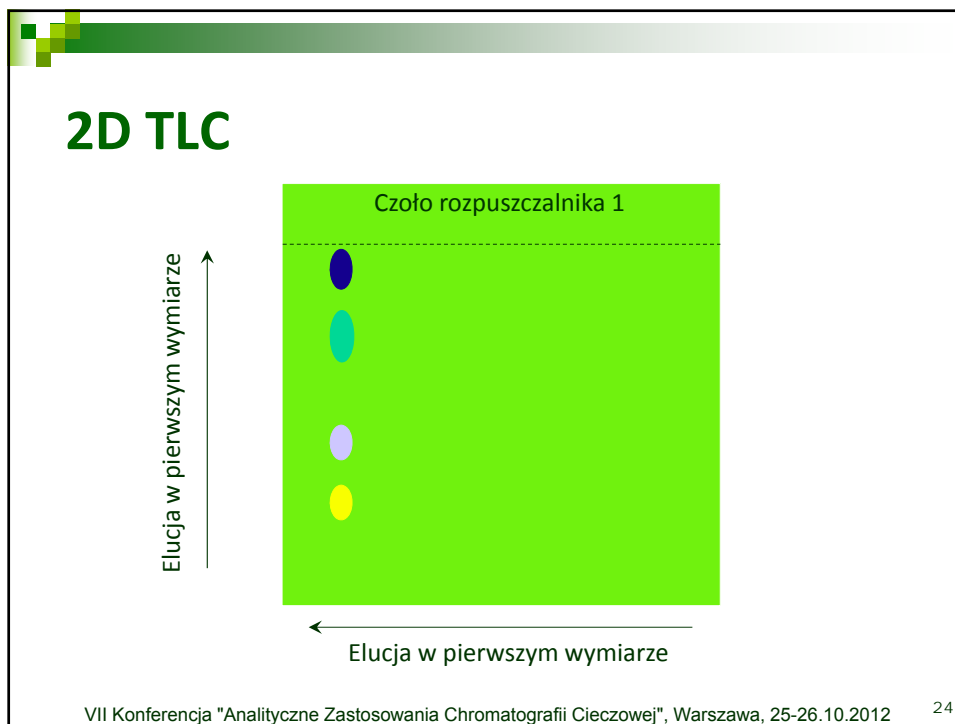
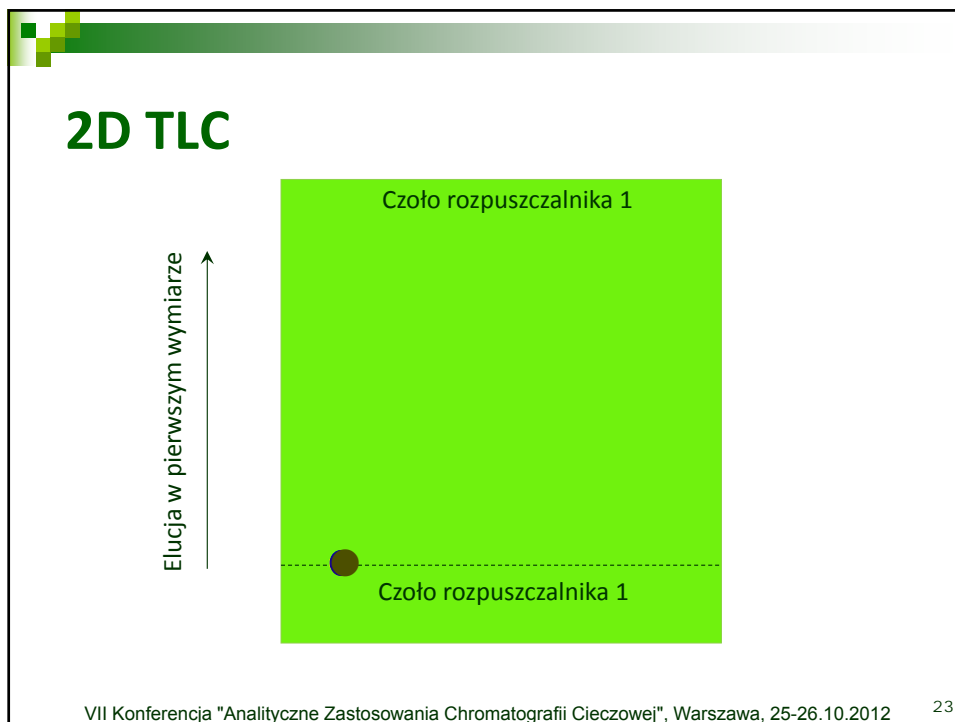
- „Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC). Part I – IV” (280)  
[M. Adahchour, J. Beens, R.R. J. J. Vreuls, U. A. Th. Brinkman, Trends Anal Chem, 25, 438 (2006)]

#### 2008

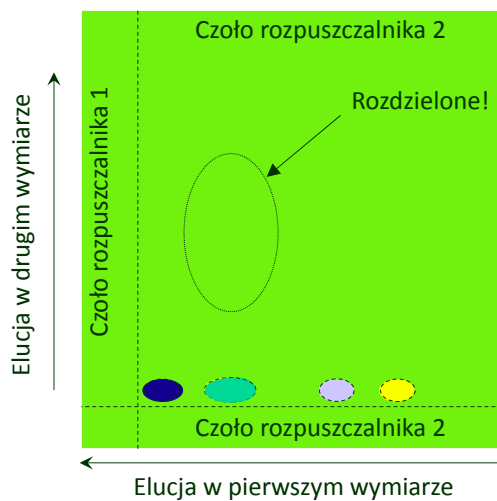
- „Recent developments in the application of comprehensive two-dimensional gas chromatography” (99)  
[M. Adahchour, J. Beens, U. A. Th. Brinkman, J Chromatogr A, 1186, 67 (2008)]

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

22



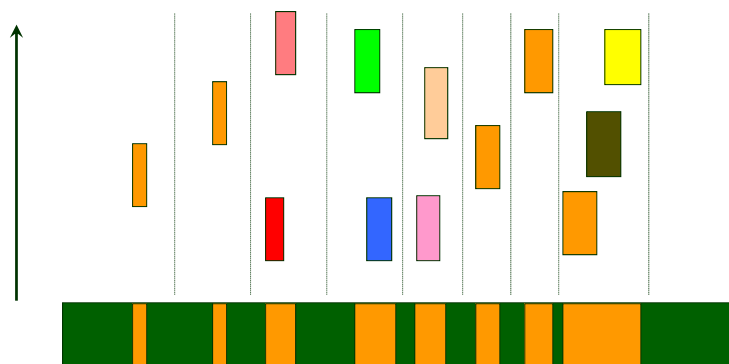
## 2D TLC

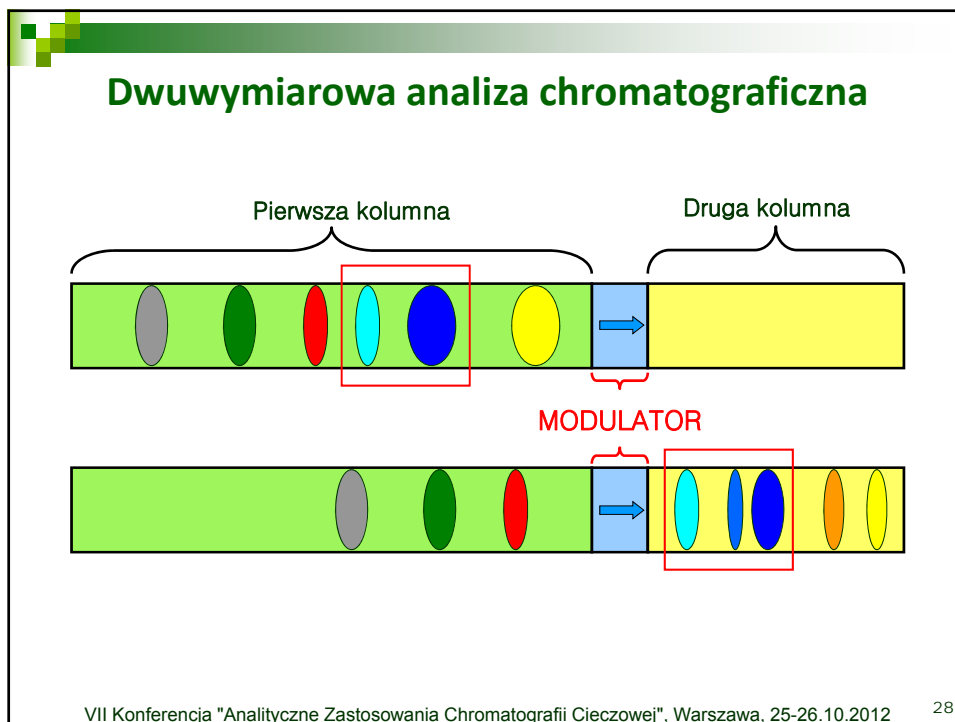
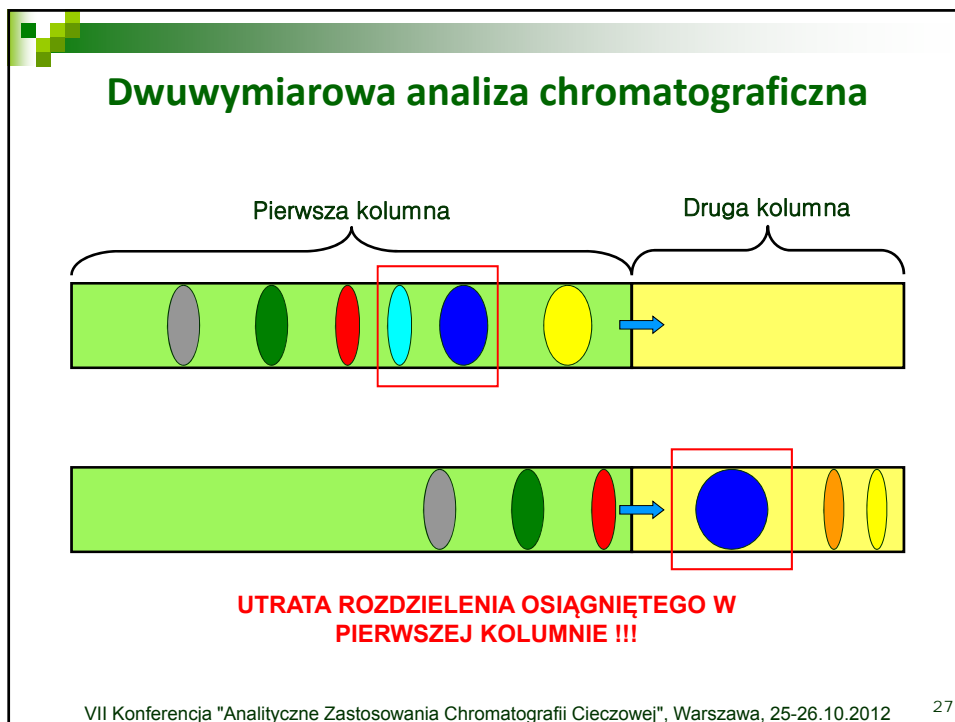


VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

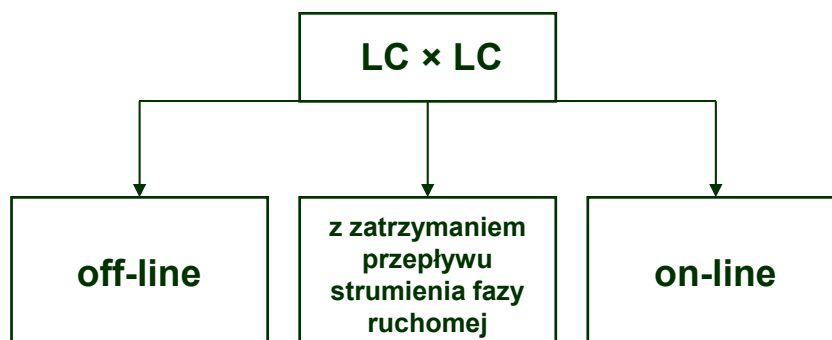
25

Jak prowadzić analizę dwuwymiarową w przypadku chromatografii kolumnowej ?





## Typy technik LC×LC



VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

29

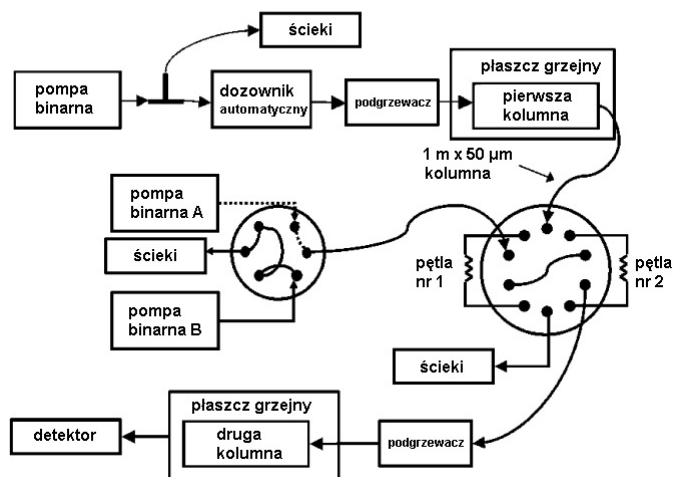
## Typy technik LC×LC

- **Off-line:** frakcje z pierwszej kolumny są zbierane i ponownie dozowane do drugiej kolumny
- **Z zatrzymaniem przepływu strumienia fazy ruchomej:**
  - przepływ strumienia fazy ruchomej jest zatrzymywany w pierwszej kolumnie do momentu całkowitej elucji analitów z drugiej kolumny
  - **brak przechowywania frakcji na etapie modulacji**
  - **dłuższy czas analizy**
- **On-line:**
  - rozdzielenie składników próbki odbywa się w czasie rzeczywistym
  - **następuje wzrost pojemności pików bez znaczącego wydłużenia czasu analizy**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

30

## Schemat budowy zestawu do LC×LC



**SERCE UKŁADU: 10-droźny zawór z dwiema pętlami dozującymi**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

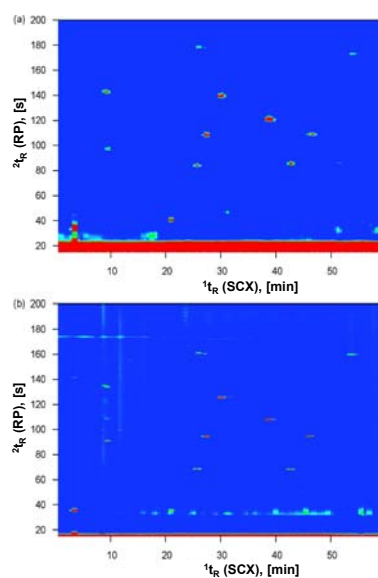
31

## LC×LC w układzie off-line – rozdzielanie produktów trawienia mioglobiny

**druga kolumna** wypełniona krzemionką ze związaną fazą stacjonarną C18 (w pełni porowatą)

**druga kolumna** wypełniona krzemionką ze związaną fazą stacjonarną C18 (niecałkowicie porowatą)

**pierwsza kolumna** taka sama w obu przypadkach



N. Marchetti, N. Jacob, N. Fairchild, G. Guiochon, *Anal. Chem.* **80**, 2756 (2008)

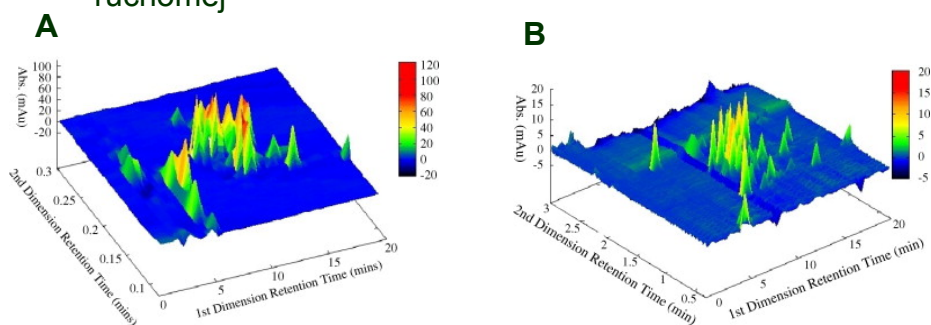
VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

32



## Porównanie dwóch typów technik LC×LC

- ⇒ **A** – LC×LC w układzie on-line
- ⇒ **B** – LC×LC z zatrzymaniem przepływu strumienia fazy ruchomej



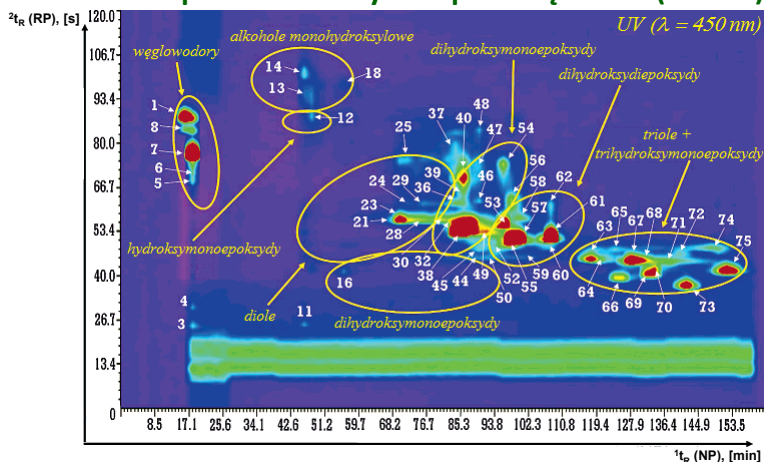
Chromatogramy trójwymiarowe otrzymane w wyniku analizy próbki produktów trawienia białka (mioglobiny)

J. N. Fairchild, K. Horvath, G. Guiochon, *J Chromatogr A* **1216**, 1363 (2009)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

33

## Identyfikacja związków z grupy karotenoidów w soku pomarańczowym za pomocą LC×LC (NP×RP)



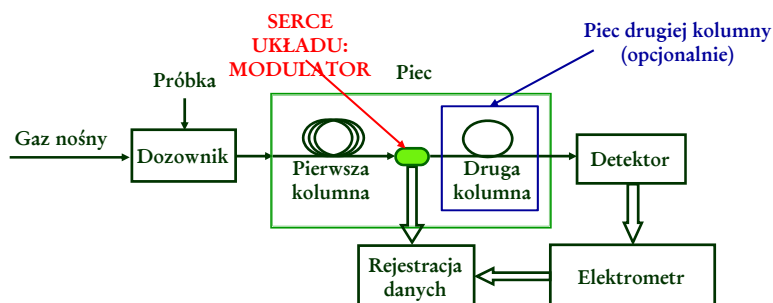
- Kolumna nr 1: Silica gel, 300x1mm, 5µm, elucja gradientowa (EtOH w heksanie), 10 µl/min, 160 min
- Kolumna nr 2: Chromolith RP-18, 100x4,6 mm, elucja gradientowa (PrOH w wodzie), 4,7 ml/min, 160 min

P. Dugo, V. Skerikova, T. Kumm, A. Trozzi, P. Jandera, L. Mondello, *Anal. Chem.* **78**, 7743 (2006)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

34

## Budowa zestawu do GC×GC



- W modulatorze następuje czasowe zatrzymanie porcji eluatu z kolumny nr 1 i jej dozowanie do kolumny nr 2 w regularnych odstępach czasu (tzw. okres modulacji)
- Czasy dozowania porcji eluatu są rejestrowane
- Krótki czas analizy w drugim wymiarze (0,5 – 10 s)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

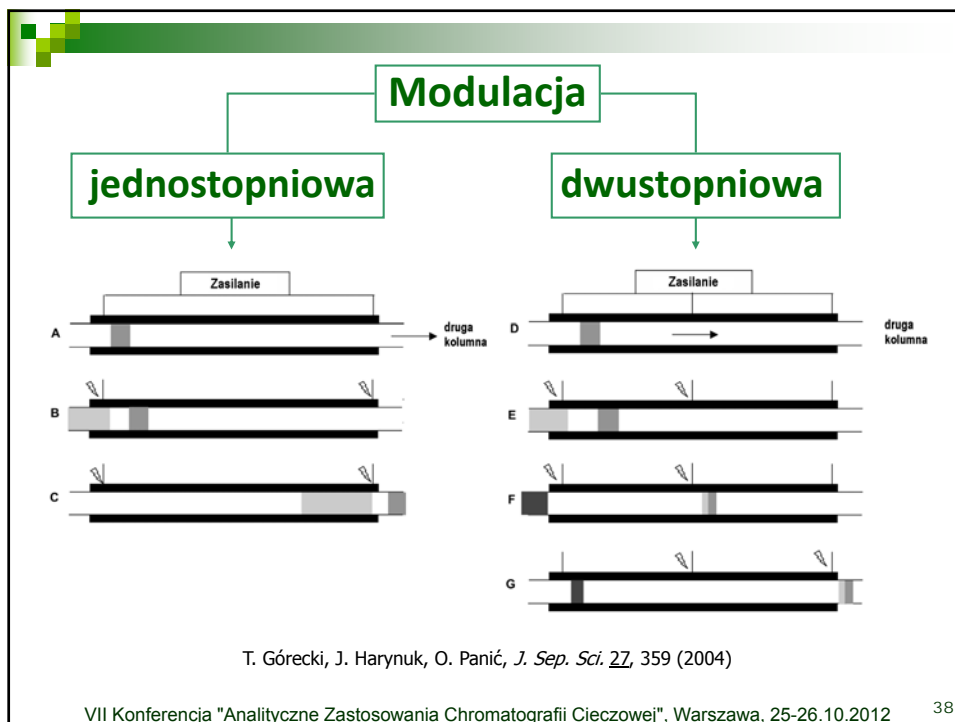
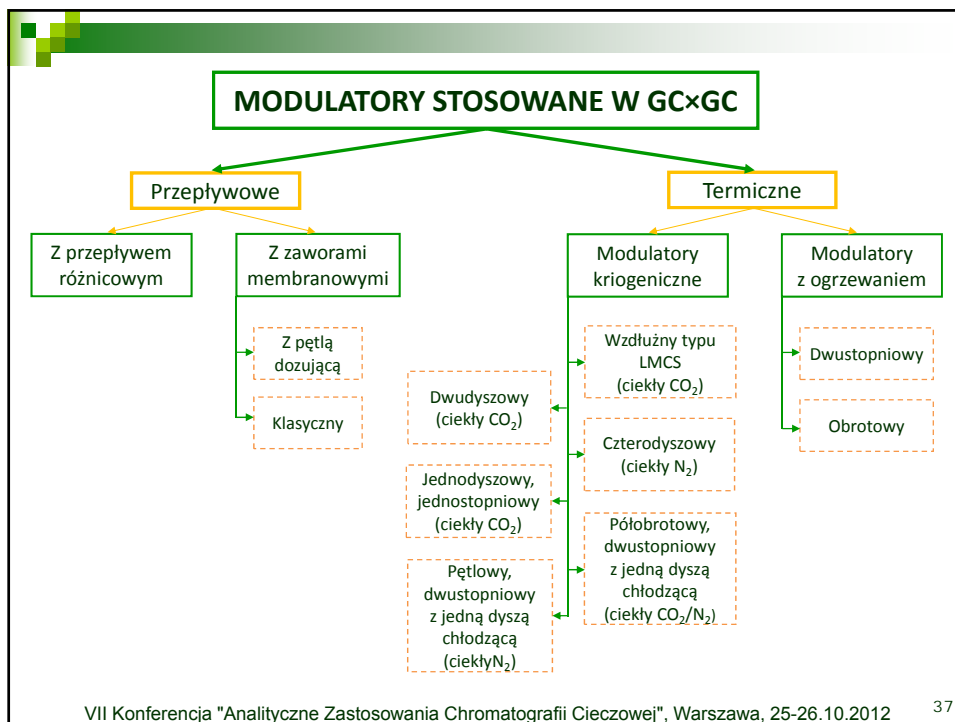
35

## Wymogi aparaturowe GC×GC

- **Dwie różne kolumny:**
  - ❖ pierwsza - niepolarna (30 – 60 m),
  - ❖ druga - polarna/średniopolarna (1 – 2 m),
  - ❖ średnice wewnętrzne kolumn: porównywalne,
  - ❖ grubość filmu fazy stacjonarnej: większa grubość filmu w pierwszej kolumnie
- **Modulator:**
  - ❖ zapobiega utracie rozdzielenia osiągniętego w kolumnie nr 1,
- **Detektor:**
  - ❖ bardzo wąskie piki (100 – 400 ms) ➔ system do szybkiego gromadzenia danych (próbkowanie min. 50 – 100 Hz, min. 10 – 20 punktów pomiarowych na pik),
  - ❖ najczęściej stosowane:
    - ➔ FID (maks. 300 Hz),
    - ➔ TOFMS (maks. 500 Hz),
    - ➔ μ-ECD (50 – 100 Hz).

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

36



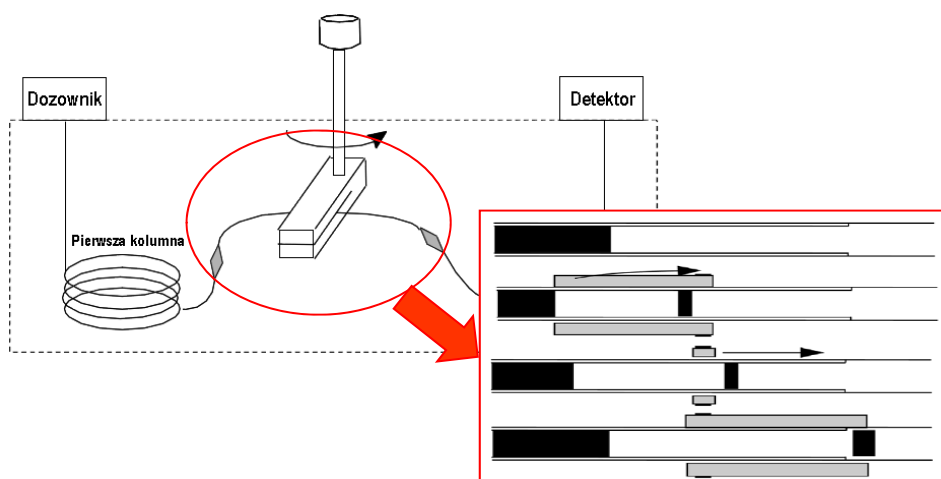
## Zalety modulacji dwustopniowej

- Pełne skupienie frakcji,
- Możliwość dozowania frakcji w postaci wąskich pasm (do drugiej kolumny),
- Eliminacja zjawiska przebiccia.

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

39

## Termiczny modulator obrotowy

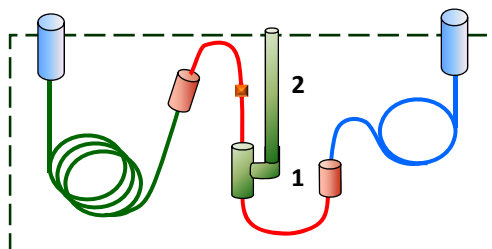


Z. Liu, J.B. Phillips, *J. Chromatogr. Sci.* **29**, 227 (1991)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

40

## Kriogeniczny modulator wzdłużny (LMCS)



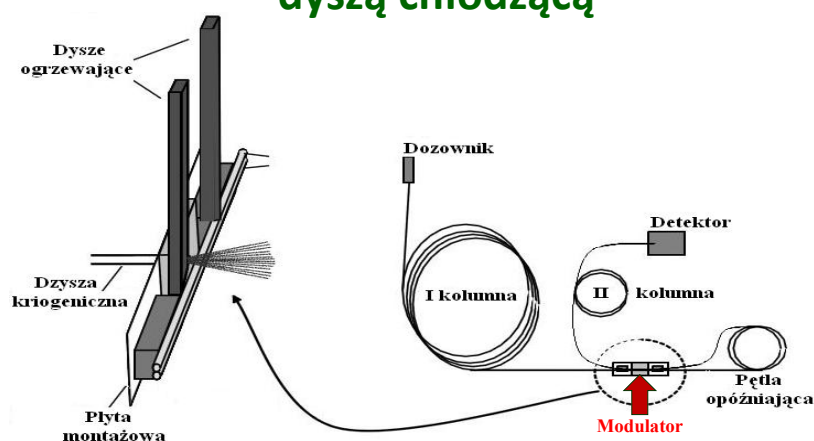
- 1 – zatrzymywanie porcji eluatu frakcji z kolumny nr 1,  
2 – uwalnianie i wprowadzanie tej porcji eluatu do kolumny nr 2

R.M. Kinghorn, P.J. Marriott, *J. High Res. Chromatogr.* **21**, 620 (1998)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

41

## Kriogeniczny modulator pętlowy z jedną dyszą chłodzącą



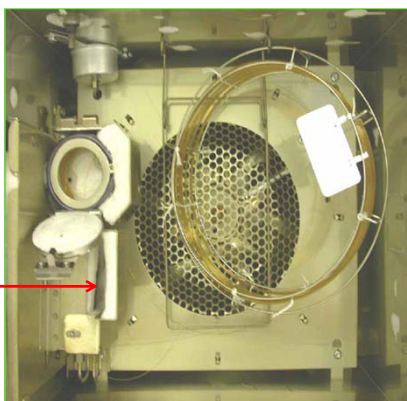
J. Harynuk, T. Górecki, *J. Chromatogr. A* **1019**, 53 (2003)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

42

## Czterodyszowy modulator kriogeniczny

M  
O  
D  
U  
L  
A  
T  
O  
R



Oferowany przez firmę LECO (na podstawie licencji Zoex Corporation)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

43

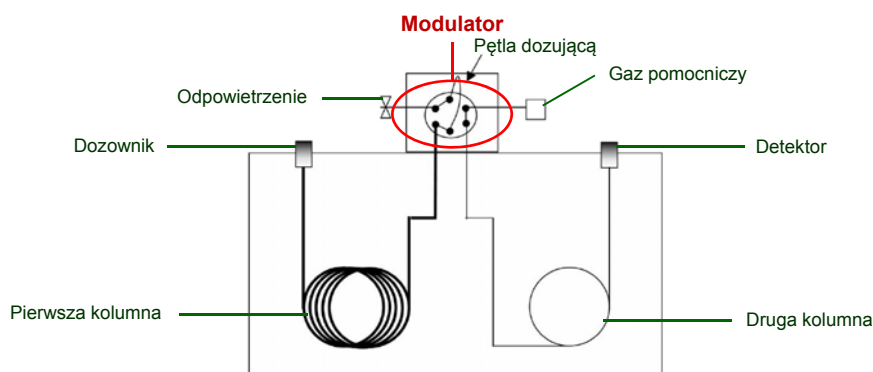
## Typy modulatorów przepływowych

- ⇒ pierwszy modulator przepływowy [1998; C. A. Bruckner]
- ⇒ modulator przepływowy z pętlą dozującą [2000; J. V. Seeley]
- ⇒ system wysokotemperaturowy [2003; A.E. Sinha]
- ⇒ system z zatrzymaniem przepływu strumienia gazu nośnego [2004; T. Górecki]
- ⇒ system całkowitego przeniesienia [2006; R. E. Mohler]
- ⇒ system przełączania typu Dean [2007; J. V. Seeley]

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

44

## Modulator przepływowy z pętlą dozującą



T. Górecki, J. Harynuk, O. Panić, *J. Sep. Sci.*, **27**, 359 (2004)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

45

## Kompromis w GC×GC

- Częstotliwość modulacji eluatu z kolumny nr 1 definiuje czas pojedynczej analizy w drugim wymiarze.
  - ↳ **A:** OKRES MODULACJI powinien być KRÓTKI aby zachować rozdzielenie osiągnięte w pierwszym wymiarze,
  - ↳ **B:** CZAS pojedynczej ANALIZY w drugim wymiarze często powinien być DŁUŻSZY aby zapobiec zjawisku „zawijania” pików na chromatogramie.
- **Warunki „A” i „B” nie mogą być spełnione jednocześnie przy użyciu konwencjonalnych modulatorów**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

46

## Konsekwencje kompromisu

- Proces rozdzielania w kolumnie nr 1 jest często prowadzony przy bardzo małym natężeniu przepływu strumienia gazu nośnego i przy wolnym wzroście temperatury kolumny.
- Kolumna nr 2 jest zazwyczaj bardzo krótka (ok. 1 m) i o małej średnicy wewnętrznej (rzędu 0,1 mm) ⇒ bardzo duża liniowa prędkość przepływu strumienia gazu nośnego.

**WARUNKI ANALIZY W OBU WYMIARACH SĄ DALEKIE OD OPTYMALNYCH !!!**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

47

## Modulator przepływowy z zatrzymaniem przepływu strumienia gazu nośnego (*stop-flow modulator*)

- Kolumny połączone za pomocą modulatora, który zapewnia NIEZALEŻNĄ REGULACJĘ NATĘŻENIA PRZEPŁYWU STRUMIENIA GAZU NOŚNEGO w każdej z kolumn.



### ZASTOSOWANIE ZAWORU TRÓJDROŻNEGO

- Przepływ strumienia gazu nośnego w kolumnie nr 1 jest okresowo zatrzymywany,
- Okres modulacji niezależny od czasu analizy w drugim wymiarze.

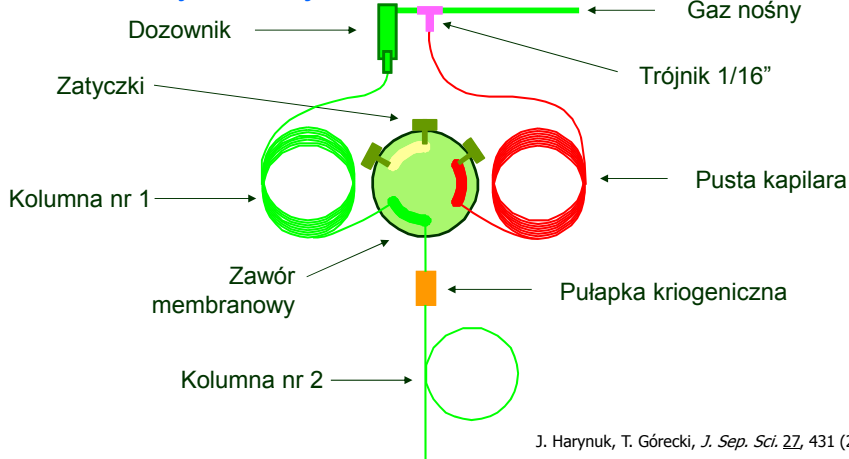
VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

48



## Modulator przepływu z zatrzymaniem przepływu strumienia gazu nośnego

### 1. Dozowanie frakcji z kolumny nr 1

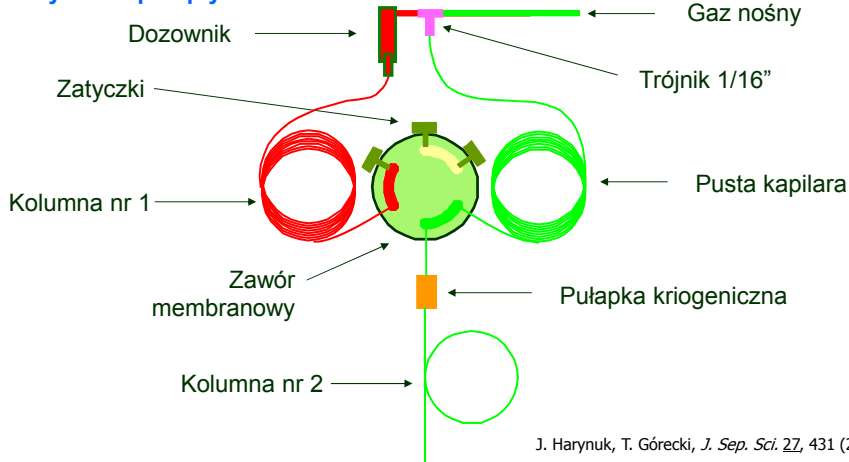


VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

49

## Modulator przepływu z zatrzymaniem przepływu strumienia gazu nośnego

### 2. Zatrzymanie przepływu

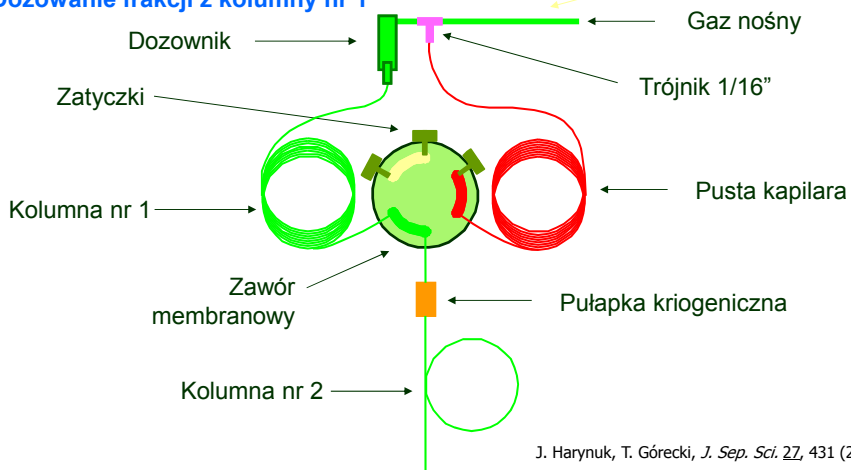


VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

50

## Modulator przepływu z zatrzymaniem przepływu strumienia gazu nośnego

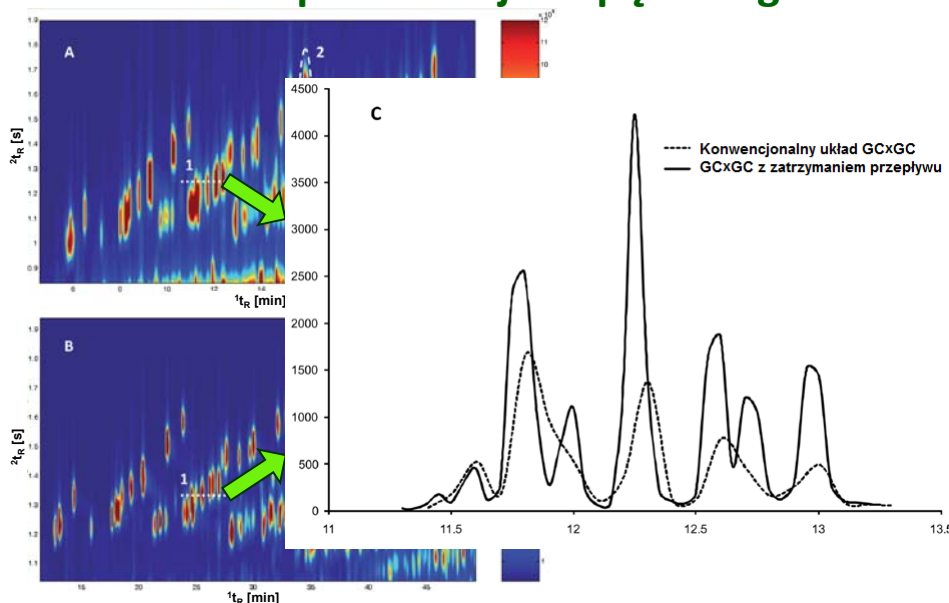
### 3. Dozowanie frakcji z kolumny nr 1



VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

51

## Analiza próbki oleju napędowego



VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

52

## Zastosowania techniki GC×GC

- Analiza próbek o złożonym składzie matrycy:

- Oznaczanie związków występujących w badanych próbkach na śladowych/ultraśladowych poziomach zawartości

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

53

## Zastosowania techniki GC×GC – przemysł petrochemiczny

Rodzaj próbki	Metoda przygotowania próbki	Anality	1 kolumna [m × mm × μm]	2 kolumna [m × mm × μm]	Typ modulatora	Detektor
Ropa naftowa	-	Parafiny, nafteny, olefiny, związki aromatyczne	DB-1 (25×0,25×0,25)	OV-1701 (1,5×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyskowy (LN <sub>2</sub> )	FID
Olej napędowy	PTV (sposób dozowania próbki)	Parafiny, nafteny, węglowodory aromatyczne, WWA oraz ich naftenowe pochodne	DB-1 (10×0,25×0,25)	DPT-MDS (2×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator pętlowy (Zoex)	FID
Benzyna	-	Węglowodory C6-C12	HP-1 (60×0,53×5,0)	DB-WAX (60×0,53×1,0)	8-drożny modulator zaworowy (ValcoDC8WT)	FID, MS
Paliwo lotnicze (syntetyczne i naturalne)	-	Parafiny, acykliczne i cykliczne alkilowe pochodne benzenu, naftaleny, WWA	StabilWax (60×0,25×0,25)	Rxi-5ms (2×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator dwudyskowy (LN <sub>2</sub> )	FID, TOFMS

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

54

### Zastosowania techniki GC×GC – ochrona i monitoring środowiska

Rodzaj próbki	Metoda przygotowania próbki	Anality	1 kolumna [m × mm × μm]	2 kolumna [m × mm × μm]	Typ modulatora	Detektor
Miejskie aerozole	UAE	WWA, WWA zawierające atomy tlenu	ZB-5 (20×0,25×0,25)	BGB-1701 (1×0,1×0,1)	Dwustopniowy, półobrotowy modulator kriogeniczny; CO <sub>2</sub> (własnej konstrukcji)	FID, qMS
Pył miejski	PLE	WWA	BPX5 (30×0,25×0,25)	BPX50 (1×0,1×0,1)	LMCS	TOFMS
Wody rzeczne	SBSE	Pestycydy chloroorganiczne	DB-5 (10×0,18×0,18)	BPX-50 (1×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator pętlowy; LN <sub>2</sub> (Zoex)	HR-TOFMS
Osady morskie	UAE, ekstrakcja cieczą w aparacie Soxhlet'a	WWA, surfaktanty, dialkilowane benzeny	DB-5 (20×0,25×0,25)	BGB-1701 (1×0,1×0,1)	Dwustopniowy modulator kriogeniczny; CO <sub>2</sub>	TOFMS
Osady	UAE	Pestycydy	DB-5 (30×0,25×0,25)	DB-17ms (1,7×0,18×0,18)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub>	μECD

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

55

### Zastosowania techniki GC×GC – medycyna i analiza kliniczna

Rodzaj próbki	Metoda przygotowania próbki	Anality	1 kolumna [m × mm × μm]	2 kolumna [m × mm × μm]	Typ modulatora	Detektor
Włosy	SPE, derywatywacja (MTBSTFA, TFAA)	Środki odurzające	DB-5ms (30×0,25×0,25)	BPX50 (2×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub> (Leco)	TOFMS
Krew	LLE	Środki odurzające	HP-5MS (30×0,25×0,25)	BPX50 (1×0,1×0,1)	LMCS	TOFMS, FID
Mocz	LLE, derywatywacja (TMS)	WWA zawierające atomy tlenu	DB-5 (30×0,25×0,25)	RTX-50 (1×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub> (Leco)	FID
Mocz	DLLME, derywatywacja (bezwodnik kwasu octowego)	Bisfenol A Bisfenol B	DB-5HT (5×0,32×0,1)	DB-5MS (20×0,18×0,18)	Zaworowy (typu Deans'a)	qMS
Mocz i surowica krwi	derywatywacja (MeOH/MCF)	Aminokwasy	Rt-γDEXsa (30×0,25×0,25)	RTx-1701 (2×0,1×0,1) lub ZB-AAA (2×0,25×0,25)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub> (Leco)	TOFMS

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

56

### Zastosowania techniki GC×GC – analiza żywności

Rodzaj próbki	Metoda przygotowania próbki	Anality	1 kolumna [m × mm × μm]	2 kolumna [m × mm × μm]	Typ modulatora	Detektor
Winogrona	HS-SPME (CW/DVB)	Monoterpenoidy	Equity-5 (60×0,25×1)	Supelcowax-10 (2,5×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub> (Zoex)	TOFMS
Oliwa i oleje słonecznikowe	SPME (Carbopack Z/ PDMS)	WWA	BPX5 (30×0,25×0,25)	BPX50 (1×0,1×0,1)	LMCS	TOFMS
Wina	HS-SPME (PDMS/DVB)	Metoksypirazyny	BPX5 (30×0,25×0,25)	BP-20 (1×0,1×0,1)	LMCS	NPD, TOFMS
Rostbef wołowy	SPME (PDMS)	Związki siarki	DB-1 (20×0,18×0,18)	DB-225 (1×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub> (Zoex)	TOFMS
Powłoki puszek do żywności	LLE	Żywice fenolowe	PS-255 (30×0,25×0,25)	SOP-50 (1,5×0,1×0,1)	Dwustopniowy kriogeniczny; CO <sub>2</sub> (Thermo Electron)	FID
Wina afrykańskie (Pinotage)	HS-SPME (CAR/PDMS)	Związki lotne	VF-1 (30×0,25×1)	SolGel-Wax (1,5×0,25×0,25)	Pętlowy z jedną dyszą kriogeniczną (własnej konstrukcji)	TOFMS

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

57

### Zastosowania techniki GC×GC – przemysł kosmetyczny i perfumeryjny

Rodzaj próbki	Metoda przygotowania próbki	Anality	1 kolumna [m × mm × μm]	2 kolumna [m × mm × μm]	Typ modulatora	Detektor
Perfumy	-	Alergeny	OV1 (30×0,25×0,25)	OV1701 (1×0,1×0,1)	Dwustopniowy modulator kriogeniczny; CO <sub>2</sub>	qMS, FID
Lanolina	Derywatywacja (TMSH, BSTFA)	Kwasy tłuszczowe	XTI-5 (10×0,25×0,25)	BPX-50 (1×0,1×0,1)	Modulator termiczny chłodzony powietrzem (własnej konstrukcji)	TOFMS
			ZB-5 (30×0,25×0,25)	BPX-50 (1×0,1×0,1)		
			DB-Wax (25×0,32×0,25)	BPX35 (1×0,1×0,1)		
Perfumy	-	Olejki eteryczne	HP-5 (30×0,25×0,25)	Supelcowax 10 (1×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy (własnej konstrukcji)	FID
Perfumy	-	Substancje zapachowe, węglowodory C8-C36	BPX-5 (30×0,25×0,25)	Supelcowax-10 (1×0,25×0,25)	LMCS	qMS

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

58

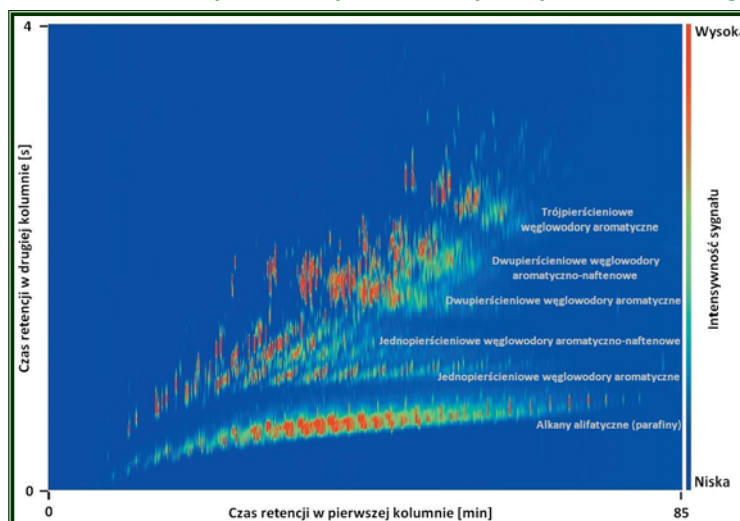
### Zastosowania techniki GC×GC – kryminalistyka, badania kosmiczne, archeologia

Rodzaj próbki	Metoda przygotowania próbki	Anality	1 kolumna [m × mm × μm]	2 kolumna [m × mm × μm]	Typ modulatora	Detektor
Osady dennie (Morze Śródziemne)	Piroliza w 600°C	Produkty pirolizy: alkany, alkeny, furany, tiofeny, pirole, naftaleny, alkilowe związki aromatyczne	RTX-1 (30×0,25×0,1)	RTX-Wax (2×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub> (Leco)	TOFMS
"tholin" – złożona matryca organiczna występująca w wyższych warstwach azotowo-metanowych atmosfery Tytana (księżyc Saturna)	Piroliza w strumieniu H <sub>2</sub> w temperaturach: 250°C, 400°C, 600°C i 900°C	Produkty pirolizy: nityle, alkilowe pochodne pirolu, liniowe i rozgałęzione węglowodory, alkilowe pochodne benzenu, WWA	DB-1 (30×0,25×0,1)	RTX-Wax (2×0,1×0,1)	Kriogeniczny modulator czterodyszowy; LN <sub>2</sub> (Leco)	TOFMS
Mocz (badania antydopingowe prowadzone na zwierzętach)	SPE, derywatywacja (pirydyna/bezwodnik kwasu octowego)	Związki dopingujące (np. prolintan, morfina)	BPX-5 (30×0,25×0,25)	BPX-50 (0,4×0,1×0,2)	LMCS (Chromatography Concepts)	FID

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

59

### Analiza próbki oleju napędowego z krakingu katalicznego w układzie GC×GC-FID (modulacja dwustopniowa z wykorzystaniem ciepłego CO<sub>2</sub>)

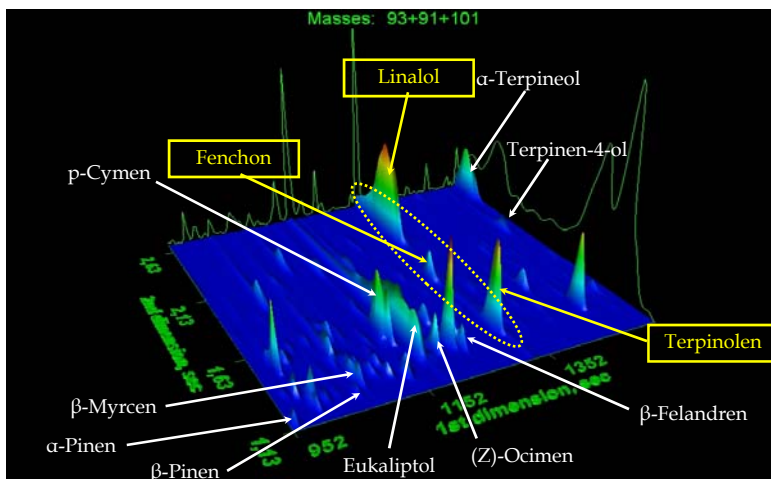


M. Adachhour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman, *Trends Anal. Chem.*, 25, 726 (2006)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

60

**Identyfikacja terpenów w próbkach ekstraktów z owoców jagody kamczackiej w układzie GC×GC-TOFMS – powiększony fragment chromatogramu obrazujący rozdzielanie składników koeluuujących w kolumnie nr 1**

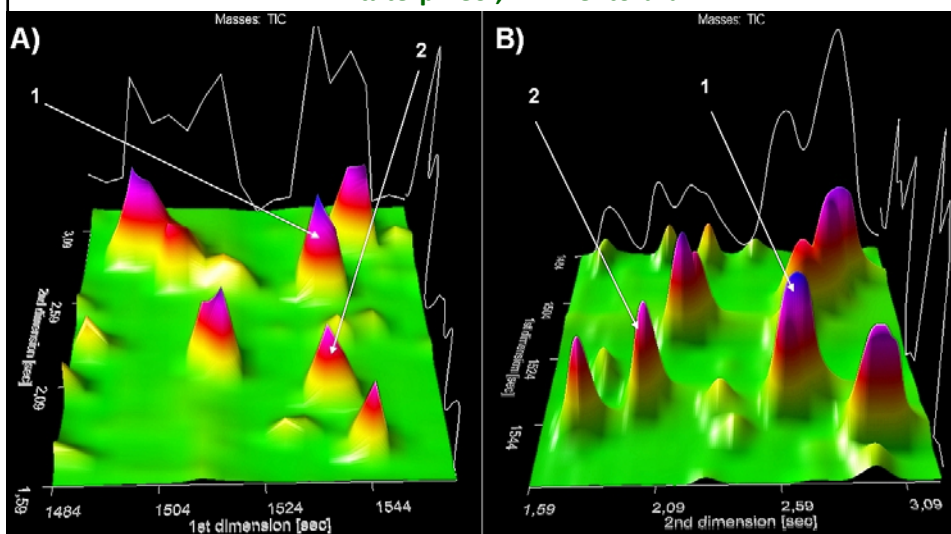


T. Chmiel, A. Mostafa, T. Górecki, T. Dymerski, W. Wardencki, Pittcon 2011, Atlanta, GA, USA, 13-18.03.2011

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

61

**Powiększone fragmenty chromatogramu trójwymiarowego obrazujące rozdzielanie składników śladowych w próbce ekstraktu z miodu lipowego: 1 – α-terpineol, 2 – mentofuran**



VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

62

## Podsumowanie

- wykorzystanie kompletnej chromatografii wielowymiarowej pozwala na znaczne zwiększenie pojemności pików chromatograficznych,
- wykorzystanie dwóch mechanizmów retencji zapewnia całkowite rozdzielenie większości związków obecnych w badanej próbce,
- okres modulacji powinien być krótki aby zachować rozdzielenie osiągnięte w pierwszym wymiarze,
- czas pojedynczej analizy w drugim wymiarze często powinien być dłuższy, aby zapobiec zjawisku „zawijania” pików na chromatogramie,

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

63

## Podsumowanie

- trudno spełnić oba warunki jednocześnie – konieczność dalszych prac badawczych ukierunkowanych na poprawę parametrów pracy modulatorów,
- Obiecujące wyniki daje zastosowanie modulatorów z zatrzymaniem przepływu strumienia fazy ruchomej (niezależność okresu modulacji od czasu analiz w drugim wymiarze),
- istnieje potrzeba udoskonalenia detektorów stosowanych w układach chromatografii wielowymiarowej – zwiększenie częstotliwości próbkowania (oznaczanie składników śladowych i ultraśladowych),

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

64



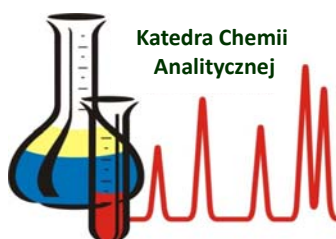
## Podsumowanie

- wielowymiarowe techniki chromatograficzne podlegają ciągłej ewolucji – nie wiadomo, która z nich jest „najlepsza”,
- sprawdzono wiele różnych kombinacji łączenia technik jednowymiarowych (np. LC×GC, SFC×LC) – efekt końcowy był zróżnicowany,
- istnieje wiele innych możliwości połączenia technik jednowymiarowych, które nie zostały jeszcze sprawdzone.

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

65

## Katedra Chemii Analitycznej Wydział Chemiczny Politechnika Gdańska



Katedra Chemii  
Analitycznej

Prezentacja jest również dostępna na stronie domowej Katedry Chemii Analitycznej

<http://www.pg.gda.pl/chem/Katedry/Analityczna/analit.html>



INNOVATIVE  
ECONOMY  
NATIONAL COHESION STRATEGY



NARODOWE CENTRUM NAUKI



FNP  
Foundation  
for Polish Science



EUROPEAN UNION  
EUROPEAN REGIONAL  
DEVELOPMENT FUND

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

66



**INNOVATIVE ECONOMY**  
NATIONAL COHESION STRATEGY



EUROPEAN UNION  
EUROPEAN REGIONAL  
DEVELOPMENT FUND

## Wykorzystanie kapusty białej na potrzeby fitoremediacji i biofumigacji gleby (AGROBIOKAP)

Oś priorytetowa: 1. Badania i rozwój nowoczesnych technologii  
 Działanie: 1.3. Wsparcie projektów B+R na rzecz przedsiębiorstw realizowanych przez jednostki naukowe  
 Poddziałanie: 1.3.1. Projekty rozwojowe

Rekomendowana kwota dofinansowania: 3 391 950,00 PLN  
 Termin realizacji projektu: 01.07.2007-01.07.2013

**Konsorcjum:**


- Politechnika Gdańska
- Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
- Instytut Chemii Przemysłowej im. Profesora Ignacego Mościckiego w Warszawie

**KONTAKT**  
**Politechnika Gdańska**  
**ul. G. Narutowicza 11/12**  
**80-233 Gdańsk**  
**tel. 0048 58 347 26 25**  
**fax.0048 58 347 26 25**  
**e-mail: [agrobiokap@chem.pg.gda.pl](mailto:agrobiokap@chem.pg.gda.pl)**  
**<http://www.chem.pg.gda.pl/agrobiokap/>**



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012 67



# MODAS

## „Opracowanie i atestacja nowych typów materiałów odniesienia niezbędnych do uzyskania akredytacji europejskiej przez polskie laboratoria zajmujące się analityką przemysłową - MODAS”

<http://www.pg.gda.pl/chem/modas/>

**Skład Konsorcjum**

<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ LGC Standards Sp. z o.o.</li> <li>▪ Politechnika Gdańska</li> <li>▪ Politechnika Śląska</li> <li>▪ Politechnika Warszawska</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Politechnika Wrocławska</li> <li>▪ Uniwersytet Mikołaja Kopernika</li> <li>▪ Uniwersytet Warszawski</li> <li>▪ Instytut Chemii i Techniki Jądrowej</li> </ul>
--	--

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012 68

  <http://www.pg.gda.pl/chem/Katedry/Analityczna/>

STRONA GŁÓWNA | BADANIA | PRACOWNICY | DZIAŁALNOŚĆ | DLA STUDENTÓW | LANGUAGE

## Katedra Chemii Analitycznej

Strona główna

**MENU WITRYNY**

- Strona główna
- Badania
- Pracownicy
- Działalność
- Dla studentów
- Language

Wiad. dla studentów

Kursy

Dydaktyka

Strona Wydziału

Serwisy chemiczne

**Kursy indywidualne „Na zamówienie”**  
*kierownik kursu: w zależności od tematyki*

**Chromatografia Gazowa - poziom podstawowy**  
*kierownik kursu: dr inż. Bożena Zabiegała*

**Aspekty praktyczne wykorzystania Chromatografii Gazowej**  
*kierownik kursu: dr hab. Lidia Wolska*

**Kontrola i jakość wyników pomiarów analitycznych**  
*kierownik kursu: dr hab. inż. Piotr Konieczka*

**Wysokosprawna Chromatografia Cieczowa – zakres ogólny, w tym poziom podstawowy**  
*kierownik kursu: dr hab. inż. Agata Kot-Wasik*

**Wysokosprawna Chromatografia Cieczowa - poziom zaawansowany**  
*kierownik kursu: dr hab. inż. Agata Kot-Wasik*

**Przygotowanie próbek do analizy**  
*kierownik kursu: dr hab. inż. Agata Kot-Wasik*

**ABC techniki SPE**  
*kierownik kursu: dr hab. inż. Agata Kot-Wasik*

**Technika Wysokosprawnej Chromatografii Cieczowej w analizie żywności**  
*kierownik kursu: dr hab. inż. Agata Kot-Wasik*

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012 69

## KSIĄŻKI

**Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory**  
*A Practical Approach*  
 Piotr Konieczka • Jacek Namieśnik  
 CRC Press

**ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych**  
 Wydawnictwa Naukowo-Techniczne

**Analytical Measurements in Aquatic Environments**  
 Edited by Jacek Namieśnik, Piotr Szefer  
 CRC Press Publishing

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012 70

## European Master in Quality in Analytical Laboratories - EMQAL



[http://eacea.ec.europa.eu/erasmus\\_mundus/](http://eacea.ec.europa.eu/erasmus_mundus/)

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

71

## Katedra Chemii Analitycznej (PG)

<http://www.pg.gda.pl/chem/Katedry/Analityczna>



VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012

72

**DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ**



**Gdańsk zaprasza!**

VII Konferencja "Analityczne Zastosowania Chromatografii Cieczowej", Warszawa, 25-26.10.2012 73