

# Analizna kemija III

doc. dr. Mitja Kolar

FKKT ULJ, kabinet 2100 ,

[mitja.kolar@fkkt.uni-lj.si](mailto:mitja.kolar@fkkt.uni-lj.si)

govorilne ure sreda med 10 in 12h

## UČNI NAČRT PREDMETA / COURSE SYLLABUS

**Predmet:** ANALIZNA KEMIJA 3  
**Course Title:** ANALYTICAL CHEMISTRY 3

**Study Programme and Level**      **Študijska smer**      **Letnik**      **Semester**

<b>VSŠP Kemijska tehnologija,</b>	1. stopnja	/	3.	5.
<b>PSP Chemical Technology,</b>	1 <sup>st</sup> Cycle	/	3 <sup>rd</sup>	5 <sup>th</sup>
<b>Vrsta predmeta / Course Type:</b>	obvezni / Mandatory			
<b>Univerzitetna koda predmeta / University Course Code:</b>	KT131			
<b>Predavanja Seminar Vaje</b>	<b>Druge oblike študija</b>	<b>Samost. delo</b>	<b>ECTS</b>	
30 30 15 LV	/	/	75	5

**Nosilec predmeta / Lecturer:** izr. prof. dr. Nataša Gros, doc. dr. Mitja Kolar

**Jeziki / Languages:** **Predavanja / Lectures:** slovenski / Slovenian  
**Vaje / Tutorial:** slovenski / Slovenian

**Pogoji za vključitev v delo oz. za opravljanje študijskih obveznosti:**  
Študent oz. kandidat mora imeti predmet opredeljen kot študijsko obveznost.

**Prerequisites:** The course has to be assigned to the student.

## Vsebina:

- Temeljni kromatografije in delitev kromatografskih tehnik.
- Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (enote HPLC sistema, vrste polnitev kolon, normalno-fazna, reverzno-fazna, velikostno izključitvena kromatografija, vrste detektorjev, analizne aplikacije).
- Ionska kromatografija (delitve ionske kromatografije, enote ionskega kromatografa, polnitve kolon, analizne aplikacije).
- Tenkoplastna kromatografija (temeljni pojmi in izvedbe, identifikacija in kvantifikacija ločenih komponent, analizne aplikacije).
- Plinska kromatografija (enote plinskega kromatografa, različne izvedbe injektorjev, vrste kolon, detektorji, analizne aplikacije).
- Kapilarna elektroforeza (elektroforezne tehnike, elektro-osmotski tok, elektroferogram, analizne aplikacije).
- Sklopitve kromatografskih tehnik z masnim spektrometrom.

**Vsebina:**

Prikaz, vrednotenje in interpretacija analiznih rezultatov.

- Box and Whisker graf, histogramski in poligonski prikazi, test normalne porazdelitve
- Interval zaupanja in statistični testi (F-test, različne izvedbe t-testa, Q-test)
- Uporaba linearne regresije za primerjavo rezultatov dveh metod.

Vaje nadgradijo in razširijo nabor instrumentalnih analiznih metod, ki so jih študentje uporabljali pri vajah v drugem letniku in vključijo dodatne vidike vrednotenja in interpretacije rezultatov.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Content (Syllabus outline):****Separation methods:**

- Fundamentals of chromatography, different chromatographic methods – an overview.
- High performance liquid chromatography (HPLC system, chromatographic columns, different techniques in HPLC, detection, analytical applications).
- Ion chromatography (classification in ion chromatography, ion chromatographic systems, chromatographic columns, analytical applications).
- Thin layer chromatography (terminology, designs, identification and quantification, analytical applications).
- Gas chromatography (instrumentation, columns, detectors, analytical applications).
- Capillary electrophoresis (techniques, electroosmotic flow, electroferogram, analytical applications).
- Hyphenation of chromatographic techniques with mass spectrometry.

**Presentation, evaluation and interpretation of analytical results**

- Box and Whisker graph, histogram, polygon, test of normal distribution
- Confidence interval, statistical tests (F-test, t-test, Q-test)
- Use of linear regression for a comparison of the results of two analytical methods.

Laboratory class: Instrumental analytical methods and evaluation and interpretation of results.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Izbrana oz. posamezna poglavja iz:**

- Francis, Rouessac, Annick Rouessac, Chemical Analysis - Modern Instrumental Methods, Wiley, 2000, Chichester. Or later editions. Chapters 1 to 5 and 8. 106 pages.
- James N. Miller, Jane C. Miller, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 6th Edition, Pearson Education, 2010, Harlow. Chapters 2, 3, 5, 10, 6.2. 65 pages.

V navedenih učbenikih so tudi rešeni računski primeri in naloge!

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Dodatni viri

Fundamentals of Analytical Chemistry, D.A.Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, Thomson Learning ARC-Brooks/Cole, 2012.

Gary D. Christian, Analytical Chemistry, Wiley, 5th edition.

Analytical Chemistry, G.D. Christian, P.K. Dasgupta, K.A. Schug, Wiley 2014.

Modern Practise of Gas Chromatography, R. L. Grob, E. F. Barry, Wiley, 2004.

Encyclopedia of Chromatography, J. Cazes, Marcel Dekker, 2004.

Kemometija in obdelava eksperimentalnih podatkov, J. Zupan, Inštitut nove revije, Zavod za humanistiko in kemijski inštitut Ljubljana, 2009.

### Cilji in kompetence:

Pri predmetu študent pridobi znanja o separacijskih analiznih metodah. Pri vajah se usposobi za praktično izvedbo dodatnega nabora instrumentalnih analiznih metod. Zmožnost predstavitev, vrednotenja in interpretacije rezultatov osvojene v drugem letniku študent razširi z dodatnimi statističnimi prijemi.

### Predvideni študijski rezultati / Intended Learning Outcomes:

#### Znanje in razumevanje

Študent razume temelje in uporabo obravnavanih analiznih metod. Študent osvoji dodatna znanja za predstavitev, vrednotenje in interpretacijo analiznih rezultatov.

#### Knowledge and Comprehension

Student fosters understanding of fundamentals and applications of analytical methods. Ability of evaluating, presenting and interpreting analytical results.

### Objectives and Competences:

Understanding and knowledge of separation methods.  
Experimental skills and ability of using instrumental analytical methods.  
Upgraded knowledge in interpretation and evaluation of analytical results.

### Uporaba

Študent zna izvesti analize postopke in meritve vezane na obravnavane analize metode ter ovrednotiti dobijene rezultate.

#### Application

Student is able to perform analyses and evaluate analytical results.

#### Refleksija

Študent je kritičen do dobjenih rezultatov in se zaveda omejitev analiznih metod.

#### Analysis

Student develops a critical attitude towards analytical result and is aware of the limitation of analytical methods.

#### Prenosljive spretnosti

Laboratorijske spretnosti, statistično vrednotenje in interpretacija rezultatov.

*Skill-transference Ability* Laboratory skills, statistical methods, interpretation of analytical results.

### Metode poučevanja in učenja / Learning and Teaching Methods:

Predavanja, vodeni razgovor, sodelovalno učenje, reševanje problemov.

Lectures, guided discussions, cooperative learning, problem solving.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Načini ocenjevanja:** Delež (v %)

**Končna ocena:**

**Vaje 33,3 %**

**Izpit 66,7 %**

Vaje: Esej: »Ovrednotenje kakovosti naravne vode«.

Predmet: Pisni izpit.

Predpogoj za izpit so uspešno zaključene vaje.

**Več informacij o poteku študijskega programa z opisi predmetov najdete na [www.fkkt.uni-lj.si/](http://www.fkkt.uni-lj.si/) pod:**

**<http://www.fkkt.uni-lj.si/sl/studij/bolonjski-studijski-programi-1-stopnje/visokosolski-studijski-program-kemijska-tehnologija-20152016/#c760>**

**Kromatografija**

doc. dr. Mitja Kolar

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Identifikacija in določanje organskih spojin

#### Sočasno določanje več organskih spojin

- Kromatografija: ločevanje spojin  
identifikacija-kvalitativna  
kvantitativna analiza

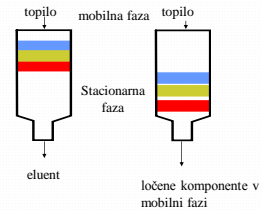
1903 - Cvet ločil listna barvila na koloni iz  $\text{CaCO}_3$   
topilo -petrolej

1937 - Ismailov, Shraiber začetki papirne  
in tankoplastne kromatografije

1952 - plinska kromatografija

### Kromatografija

Interakcija med molekulami topljenca in stacionarno fazo-  
fizikalni procesi



### Kromatografske metode delimo:

- glede na prevladujočo interakcijo,
  - porazdelitev,
  - ionska izmenjava,
  - adsorpcija,
  - izključitev...
- glede na agregatno stanje mobilne faze,
  - tekoča,
  - plinasta,
  - superkritični fluid npr.  $\text{CO}_2$ ,
- glede na lego, vrsto in nanos stacionarne faze,
- glede na način izvedbe:
  - preparativno delo,
  - analitsko delo.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Princip kromatografskih separacij

- Porazdelitvena kromatografija (topljenci se porazdelijo med dve topili, ki se ne mešata)
- Adsorptivna kromatografija (topljenci se različno adsorbirajo na površino trdnega adsorbenta)
- Velikostna izključitvena kromatografija (ločevanje na osnovi velikosti molekul; makromolekule-polimeri, proteini )
- Ionska izmenjava (ločevanje nabitih zvrsti npr. kationov, anionov)
- Kolonska kromatografija, tankoplastna kromatografija

---

---

---

---

---

---

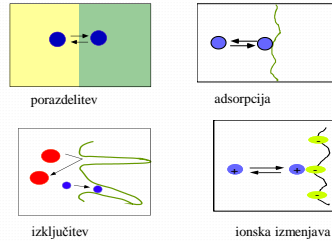
---

---

---

---

### Princip kromatografskih separacij




---

---

---

---

---

---

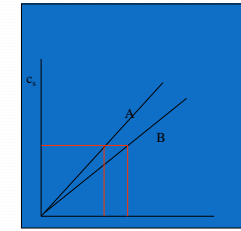
---

---

---

---

### Porazdelitvene/adsorpcijske izoterme



Spojine se različno porazdeljujejo med dve fazi zaradi različnih  $K$

$K = c_s / c_m$  (porazdelitveni ali adsorpcijski koeficient)

Linearno

Nelinearno področje izoterm

Vpliv na  $K_D$

Večja interakcija s stacionarno/mobilno fazo




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Delitev kromatografskih metod

- Delitev glede na lego, vrsto in nanos stacionarne faze:

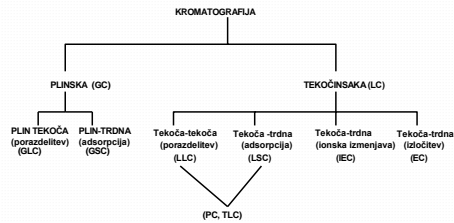
- stacionarna faza je v koloni-kolonska kromatografija (GC, HPLC) - instrumentalne metode

- stacionarna faza je nanešena v tanki plasti-tankoplastna kromatografija - delno avtomatizirane

### Delitev kromatografskih metod

1. Agregatno stanje mobilne faze: plin - GC; tekoče - HPLC, SF

2. Princip ločevanja: adsorpcija, porazdelitev



### Kromatografska ločba pri tankoplastni kromatografiji

- Mobilna faza potuje zaradi kapilarnih sil med porami delcev velikosti 60-100 Angströmov.
- Spojine so raztopljene v mobilni fazi in potujejo do določene razdalje.
- Zaradi različnega razmerja med adsorpcijo in / ali porazdelitvijo je čas zadrževanja spojin v stacionarni fazi različen.

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

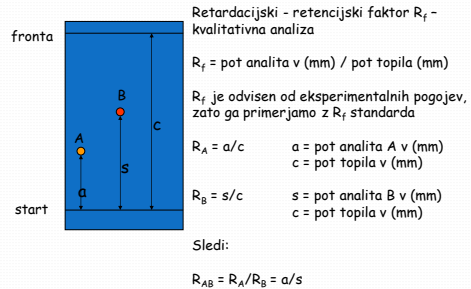
---

---

---

---

### Tankoplastna in papirna kromatografija



### Plošče z nanešenim sorbentom (stac.f.)

- **Izbor:** različni tipi sorbenta na različnih nosilcih v različnih velikostih
- **Vrste sorbentov:** splošno uporabni in posebni za določene probleme
- **Nosilci:** steklo (za neposredno vrednotenje kromatogramov)  
 plastična folija, aluminijasta folija (cenejši, lahko se režejo s škarjami)

### Sorbenti-stacionarna faza

- Silikageli (90% aplikacij!)
- Aluminijev oksid
- RP- plasti (RP-2, RP-8, RP-18)
- Amino-, ciano- in diol faze
- Poliamidi
- Celuloze
- Kieselguhr
- Impregvirane plasti
- Plasti za ionsko izmenjavo

Polarnost sorbenta: Polarne stacionarne faze  
 zadržujejo polarne spojine

$\text{Si} > \text{NH}_2 > \text{CN} / \text{Diol} > \text{RP-2} > \text{RP-8} > \text{RP-18}$

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

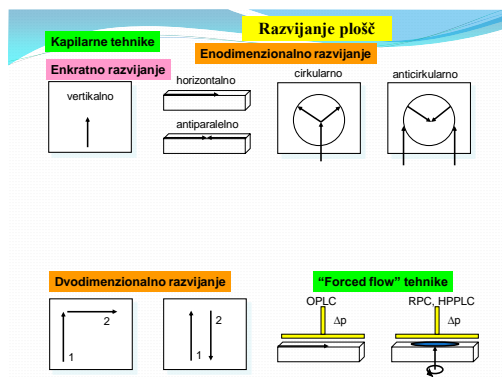
---

---

---

---





#### Detekcija spojin na ploščah

- Ločevanje obarvanih spojin: na plošči vidimo po razvijanju različne barvne lise.
- Ločevanje brezbarvnih spojin: ploščo po razvijanju orosimo z različnimi reagenti, ki tvorijo obarvane produkte.
- Opazovanje plošče po razvijanju pod UV svetlobo za spojine, ki absorbirajo svetlobo.

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

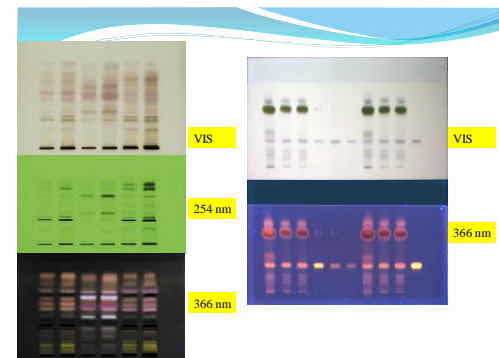
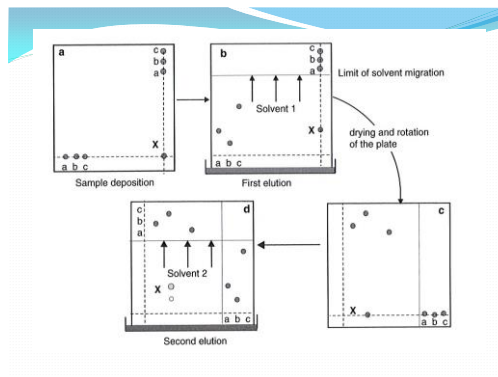
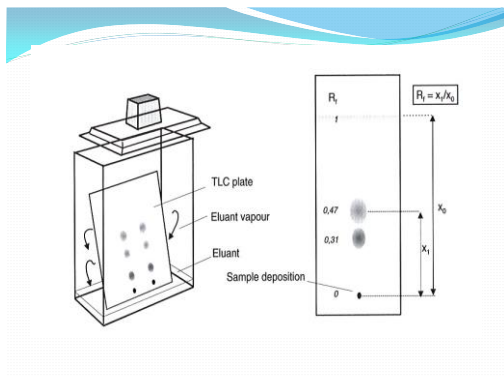
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

### Kvantitativna analiza

- Liso s spojino odpraskamo s plošče, jo raztopimo v primernem topilu in določimo spektrofotometrično.
- Na ploščo nanašamo različne množine spojine in primerjamo velikost lis.
- Denzitometrija: S posebno opremo izmerimo velikost-intenziteto lise, dobimo zapis v obliki kromatograma.

### Področja uporabe TLC



#### Uporaba za klinične preiskave:

- Lipidi
- Študij metabolizma (prirojene okvare, L/M test)
- Doping kontrola



#### Uporaba za preiskave v industriji

- Razvijanje in optimizacija proizvodnih procesov
- Monitoring proizvodnih procesov
- "Validacije čiščenja"



#### Prehrana in živalska krma:

- Kontrola kvalitete
- Aditivi (npr. vitamini)
- Pesticidi
- Testiranje stabilnosti (rok uporabe)

Vir: CAMAG

### Področja uporabe TLC (nadaljevanje)



#### V farmaceutiki:

- Kontrola kvalitete
- Identifikacija in kontrola čistote
- Preverjanje stabilnosti
- Izolacija biološko aktivnih spojin iz rastlinskih materialov



#### Forenzične preiskave:

- Detektiranje ponarejenih dokumentov
- Raziskave zastrupitev
- Analiza barvil



#### Okolje:

- Voda
- Zemlja
- Analize ostankov

Vir: CAMAG

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Papirna kromatografija

- Stacionarna faza je celuloza
- Princip ločevanja je adsorpcija in porazdelitev
- Poceni
- Filter papir manj stabilen, zato celulozo nanesejo na nosilec in se potem uporablja kot TLC

---

---

---

---

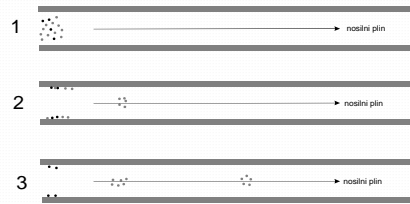
---

---

---

---

Kolonske kromatografije - stacionarna faza je v koloni  
Kako in zakaj se spojine ločujejo na kromatografski koloni?




---

---

---

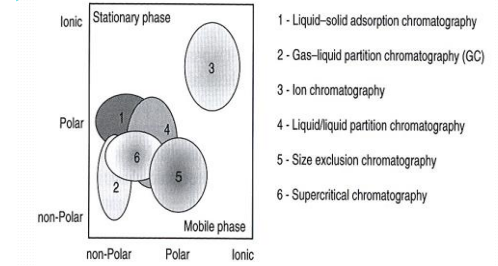
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

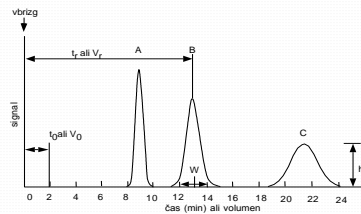
---

---

---

### Rezultat kromatografske analize = kromatogram

Iz kromatograma določimo število spojin v mešanici, identificiramo spojine in jih kvantitativno določimo.



### Kromatografski parametri - kromatogram

- Retencijski čas -  $t_r$  - uporabimo za identifikacijo, primerjamo ga s  $t_r$  znane spojine (standarda)
- Mrtvi čas -  $t_m$  - čas, ki je potreben za zamenjavo mobilne faze v koloni
- Korigiran retencijski čas
- Mrtvi volumen -  $V_m$
- Retencijski volumen -  $V_r$

### Kromatografski parametri - retencijski čas

Retencijski čas ( $t_r$ ) je čas, ki ga določena spojina potrebuje, da se pri izbranih pogojih eluira skozi kolono. To je čas, ko se komponenta zadržuje v koloni ter je konstanten za vsako spojino pri določenih kromatografskih pogojih, kot so dimenzija kolone, tip stacionarne faze, pretok in vrsta mobilne faze, velikost delcev v koloni in temperatura. Da sta dve komponenti ločeni, se morata njuna retencijska časa razlikovati.

Retencijski čas sestavljata dva dela; čas, ki ga spojina prebije v mobilni fazi ( $t_m$ ) ter čas, ko se nahaja na stacionarni fazi (retencijski čas  $t'_r$ ):

$$t_r = t_m + t'_r$$

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

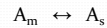
---

---

---

### Kromatografski parametri - porazdelitveni koeficient $K_D$

Vsaka komponenta – analit A, ki jo nanese na stacionarno fazo je pod vplivom procesov sorpcije in desorpcije. Porazdelitev med stacionarno fazo SF in mobilno fazo MF opišemo kot porazdelitev:



$$K_D = [A_s] / [A_m]$$

kjer je  $K_D$  porazdelitveni – termodinamski koeficient za analit A.

Višje vrednosti  $K_D$  pomenijo, da se analit bolj zadržuje v SF in posledično počasneje potuje skozi kolono!

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Koncept števila teoretskih podov

Število teoretskih podov ( $N$ ) je privzeto iz teorije destilacije (frakcionirna destilacija), pri kateri privzamemo, da je kolona za takšno destilacijo sestavljena iz velikega števila podov ali platojev, kjer je vzpostavljeno ravnotežje med fazama:

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

$N$  predstavlja potencialno zmožnost kolone za separacijo, večji kot je  $N$  večja je učinkovitost.

$N$  je proporcionalen z dolžino kolone, zato lahko s primerjavo  $H$  - višino poda, primerjamo učinkovitost različno dolgih kolon.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Kromatografski parametri - število teoretskih podov

Število teoretskih podov ( $N$ ) je merilo učinkovitosti kolone. Definirano je kot razmerje med dolžino kolone ( $L$ ) in višino poda ( $H$ ), kar prikazuje enačba:

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

Učinkovitost kolone narašča, ko se višina poda zmanjšuje. Število teoretskih podov lahko določimo iz kromatograma z merjenjem retencijskega časa spojine in širine vrha pri bazni liniji:

$$N = 16 \left( \frac{t_r}{w} \right)^2$$

Boljše rezultate dobimo, če namesto širine vrha pri bazni liniji uporabimo širino vrha na polovični višini vrha, takrat enačbo zapišemo:

$$N = 5.54 \left( \frac{t_r}{w_{1/2}} \right)^2 \quad \text{kjer je: } w_{1/2} \text{ širina vrha na polovični višini vrha.}$$

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Kromatografski parametri - kapacitivni faktor

Razmerje med  $t'_r$  in  $t_m$  opisuje termodinamsko povezavo med topljencem v določenem kromatografskem sistemu, pri ravnotežnih pogojih nam to razmerje pove relativno število molekul topljenca v stacionarni oziroma mobilni fazi. Temu razmerju pravimo **kapacitivni faktor** -  $k'$ , ki ga izračunamo:

$$k' = \frac{t'_r}{t_m}$$

Kapacitivni faktor in retencijski čas sta odvisna od dolžine kolone in pretoka mobilne faze. Če je pretok mobilne faze nizek ali če uporabimo daljšo kolono, je daljši retencijski čas in posledično višji kapacitivni faktor. Idealne vrednosti kapacitivnega faktorja so v območju med 1 in 5. Kadar je kapacitivni faktor mnogo manjši od 1, so se spojine eluirale prehitro, če pa je večji od 20, so retencijski časi zelo dolgi oz. predolgi.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Kromatografski parametri - selektivnost

Selektivnost ( $\alpha$ ), predstavlja razmerje kapacitivnih faktorjev dveh spojin A in B.

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{t_{rB} - t_m}{t_{rA} - t_m}$$

Spojina A mora imeti vedno krajši retencijski čas od spojine B. V skladu s tem je selektivnost enaka 1, ko se analita med sabo ne ločita, večja od 1 pa je takrat, ko je  $t_{rB}$  večji od  $t_{rA}$  in sta komponenti ločeni.

Selektivnost je odvisna od narave stacionarne faze, sestave mobilne faze in lastnosti analitov.

Za izboljšanje selektivnosti spreminjamo oz. menjamo stacionarno fazo ali mobilno fazo ali obe.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Kromatografski parametri - ločljivost

Ločljivost ( $R_s$ ) predstavlja sposobnost kromatografske kolone, da loči dva analita. Definirana je kot razmerje med razliko v retencijskih časih dveh vrhov in povprečno širino teh vrhov. Idealno ločljivost na bazni liniji dosežemo takrat, ko so vrednost  $R_s$  med 1,5 in 2,0.

$$R_s = \frac{t_{r2} - t_{r1}}{w_{b2} + w_{b1}}$$

kjer je:

- $t_r$  retencijski čas komponente,
- $w_b$  širina vrha pri bazni liniji v časovni enoti.

---

---

---

---

---

---

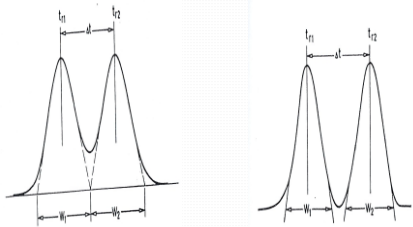
---

---

---

---

## Kromatografski parametri - ločljivost



Nepopolno ločena vrhova

Popolnoma ločena vrhova

$$R = 1,5$$

## Kromatografski parametri - simetričnost

Pri idealnih pogojih bi morali biti kromatografski vrhovi popolnoma simetrični, njihova oblika pa bi morala biti podobna Gaussovi krivulji. Toda v realnosti mnogo vrhov ni popolnoma simetričnih, pojavlja se lahko "fronting" ali "tailing" kromatografskega vrha. Asimetrijski faktor ( $A_f$ ) se uporablja za določanje stopnje simetrije in je definiran pri 10 % višini vrha:

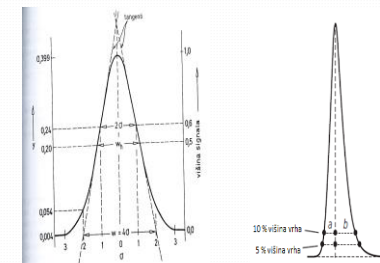
$$A_f = \frac{b}{a}$$

Faktor simetrije ( $T_f$ ), ki se uporablja predvsem v farmacevtski industriji, se izračuna nekoliko drugače v tem primeru sta  $a$  in  $b$  leva in desna širina vrha na 5 % višini vrha.

$$T_f = \frac{a+b}{2a}$$

Sprejemljive vrednosti za  $A_f$  in  $T_f$  so do 2. Kadar je vrednost  $T_f = 1$ , to pomeni, da je vrh popolnoma simetričen, če pa je ta vrednost nižja od 1 govorimo o "frontingu" kromatografskega vrha.

## Kromatografski parametri - simetričnost



Popolnoma simetričen vrh

Nesimetričen vrh

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

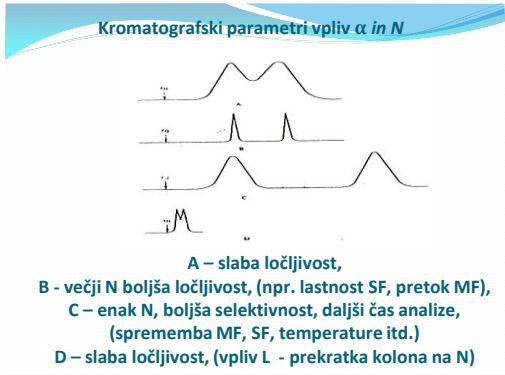
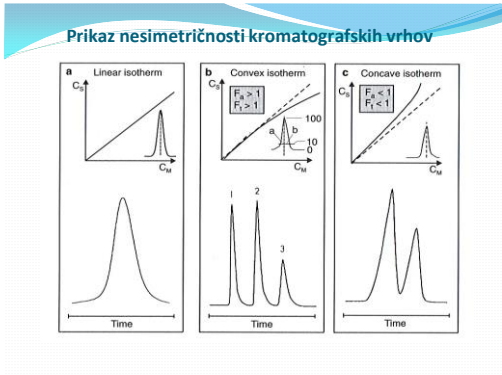
---

---

---

---





### Van Deemterjeva enačba

Klasična teorija podov ne razlaga vpliva:

- velikosti delcev,
- difuzije,
- pretoka,
- temperature,
- nekaterih drugih dejavnikov na širitev kromatografskih vrhov.

Pri kromatografskih določitvah sočasno poteka več različnih **kinetičnih** in **termodinamsko** kontroliranih procesov:

- motnje v pretoku mobilne faze,
- difuzija v mobilni fazi,
- nepopolno medfazno ravnotežje.

Zato zapišemo  $H$  kot vsoto:

$$H = H_s + H_m + H_p + H_d + H_{sm}$$

kjer je:  $H_s$  in  $H_m$  - učinek zaradi prenosa SF in MF,  $H_p$  - vpliv vrtnčastega toka,  $H_d$  - vpliv vzdolžne difuzije po koloni in  $H_{sm}$  - vpliv MF v porah SF.

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

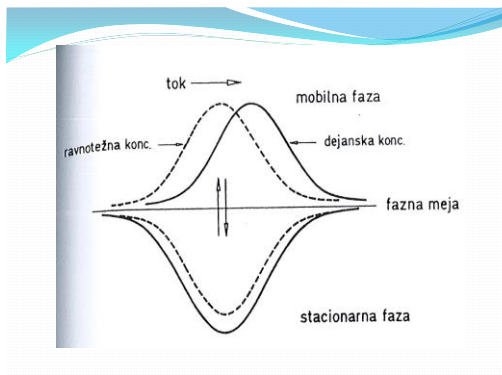
---

---

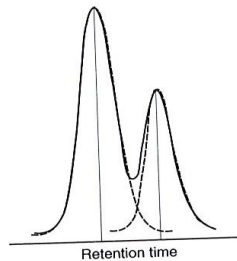
---

---

---



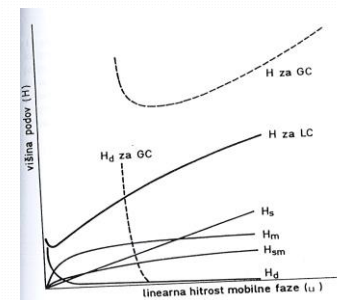
### Kaj je dekonvolucija kromatografskih vrhov?



Dekonvolucija kromatografskih vrhov s programsko opremo je **pristop, ki** ga uporabimo samo v primerih, ko kljub optimizaciji kromatografskih pogojev ne uspemo ustrezno ločiti vrhov.

### Odvisnost $H$ vs. $u$ s prikazanimi posameznimi prispevki:

$H_s$ ,  $H_m$ ,  $H_d$ ,  $H_{sm}$  – eksperimentalne vrednosti




---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

### Van Deemterjeva enačba za GC

Van Deemterjeva enačba

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

kjer je A vrtnčast pretok,  
u hitrost MF,

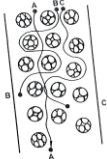
B aksialna difuzija,

$C_s$  in  $C_m$  masni prenos na fazni meji.

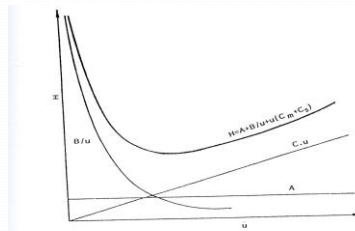
A - Vpliv vrtnčastega pretoka t.i. Eddy diffusion, velikost delcev, polnjenje in geometrija kolone. Manjši delci – višji tlaki a bolj enakomerno polnjenje kolone.

B/u – aksialna difuzija, prispevek je večji pri GC, posebno pri kapilarnih kolonah, medtem ko pri HPLC postane opazen pri zelo nizkih pretokih MF.

$u(C_s + C_m)$  – prenos snovi na fazni meji, vpliv pretoka MF in debeline ter lastnosti SF.

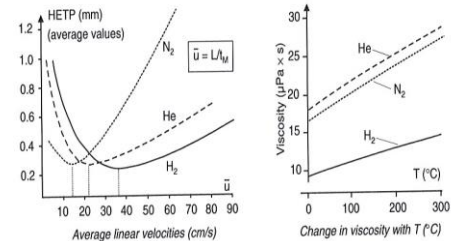


### Značilni H/u diagrami pri plinski kromatografiji



Vrednost  $u$  – linearna hitrost določimo iz zveze  $u=L/t_r$ , tako, da na kolono dolžine  $L$  injiciramo spojino, ki se na koloni ne zadržuje in izmerimo čas njenega potovanja skozi kolono.

### Primerjava H/u diagramov za He, H<sub>2</sub> in N<sub>2</sub> pri GC




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Kromatografija - povzetek**

- Ločljivost ali resolucija  $R = \frac{2 \cdot (t_{r1} - t_{r2})}{W_1 + W_2}$  Selektivnost  $\alpha = \frac{k'_2}{k'_1}$
- Število teoretskih podov  $N = L / H$  (dolžina kolone, H višina pada)
- Teorija podov je osnova separacije na koloni (NN 1952 Martin, Symeg), ki pa ne pojasni vpliva velikosti delcev, difuzije, pretoka in temperature na širitev vrhov. Gre za vrsto kinetičnih in termodinamskih parametrov, ki so difuzijsko kontrolirani. Vsi so posledica: motenj v pretoku mobilne faze, difuzije mobilne faze in nepopolnega ravnotežja med fazama.  
 $H = H_s + H_m + H_p + H_d + H_{sm}$
- Van Demterjeva enačba  $H = A + B/u + u(C_s + C_m)$  kjer je A vrtinčast pretok, u hitrost MF, B aksialna difuzija,  $C_s$  in  $C_m$  masni prenos na fazni meji.

---

---

---

---

---

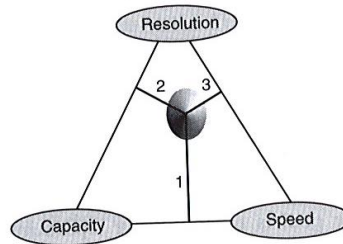
---

---

---

---

---

**Kromatografski trikotnik –  
kromatografske ločbe so vedno kompromis glede  
ločljivosti, hitrosti in kapacitete – množine  
analiziranega vzorca!!!**



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Kvantitativna kromatografska analiza – pristopi**

Osnova kvantitativne analize je **površina kromatografskega vrha.**

**Površino določimo s pomočjo integratorja ali programske opreme in je odvisna od eksperimentalnih pogojev analize, zato vedno primerjamo površine kromatografskih vrhov standardnih raztopin in vzorcev!**

**Odziv detektorja mora biti linearen, posebej pomemben je signal bazne linije, še posebej pri nizkih koncentracijah analitov.**

**Pri sodobni kvantitativni analizi uporabljamo metode: eksterne standarda, večtočkovne kalibracije, metodo standardnega dodatka in metodo internega standarda.**

---

---

---

---

---

---

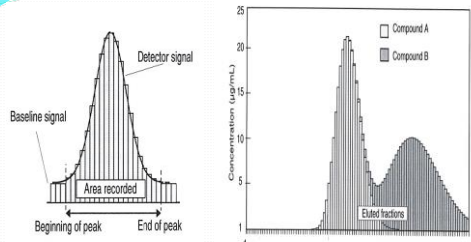
---

---

---

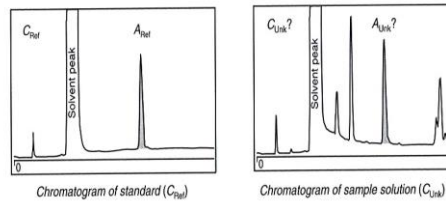
---

### Kvantitativna kromatografska analiza



Pazimo na: linearno območje detektorja, zveznost signala, bazno linijo, definicijo vrha – razmerje signal/šum, začetek oz. konec krom. vrha, koelucijo oz. dekonvolucijo vrhov itd...

### Metoda zunanega standarda



$$C_{ref} = C_s = K A_{ref} = K A_s \quad \text{in} \quad C_{vz} = C_x = K A_{vz} = K A_x$$

$$\text{sledi: } C_{vz} = C_{ref} \cdot A_{vz} / A_{ref}$$

$$\text{ozioroma } C_x = C_s \cdot A_x / A_s$$

### Metoda internega standarda

**Interni standard je spojina, ki jo dodamo v vzorec in mora biti:**

- čist,
- inerten, stabilen in
- ne sme biti predhodno prisoten v vzorcu.

**Imeti mora podobne kemijske lastnosti kot analit a ne sme vplivati na samo ločbo.**

**Koncentracijsko območje mora biti ustrezno izbrano – prilagojeno, prav tako območje elucije oz.  $R_f$ .**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

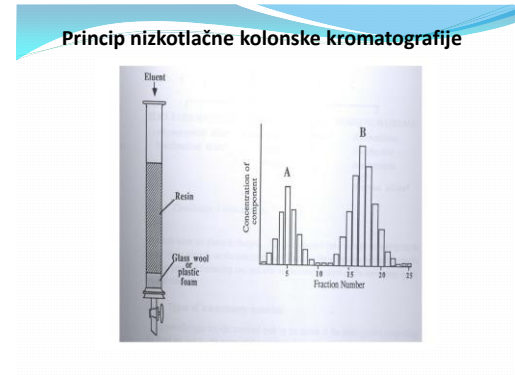
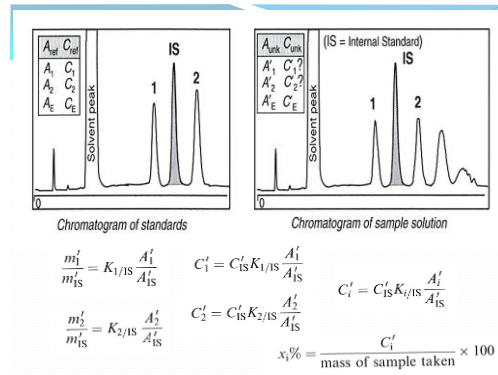
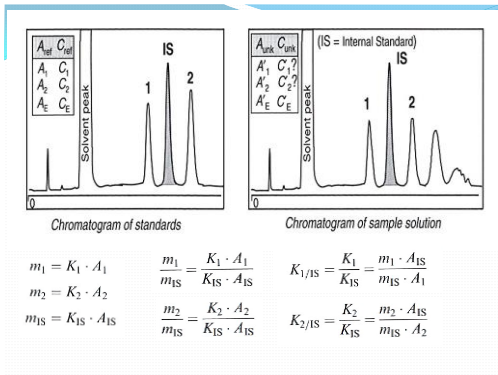
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

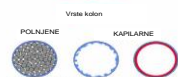
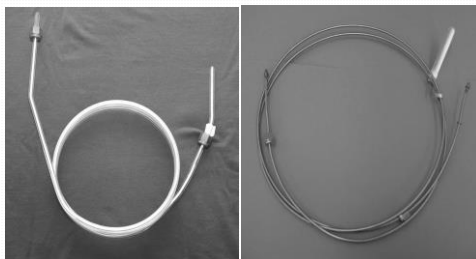
---

---

---

---

### Polnjene kolone



### Kapilarna kolona



### Načini injiciranja

ročno z brizgo (siringo)



desorpcija s pasti ipd.

s plinsko brizgo iz  
plinske faze nad  
vzorcem (angl. *headspace*)

avtomatski vzorčevalnik




---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

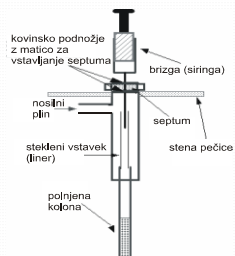
---

---

---

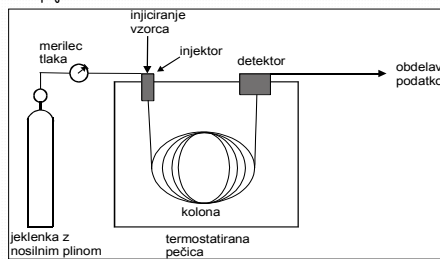
---

### Nanašanje vzorca v polnjene kolone



### Plinska kromatografija - GC (GLC, GSC)

Uporablja se za ločevanje in določanje hlapnih termično stabilnih spojin



### Kolone in polnila

Polnjena: iz stekla, kovine;  
polnilo: adsorbenti, silikagel, diatomske zemlje...  
(kot nosilci tekoče SF)

Kapilarna: (ali: odprta; angl. *open tubular, OT*):  
adsorpcijska SF: PLOT (angl. *porous layer OT*),  
tekoča SF na nosilcu: SCOT (angl. *support-coated OT*),  
tekoča SF na steni: WCOT (angl. *wall-coated OT*),  
iz kremenčevega stekla: FSOT (angl. *fused-silica OT*).

Važno še: dolžina, notranji premer, debelina SF.

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

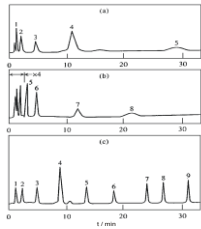
---

---

---



**Temperaturno programirana analiza**



a) izotermno, nizka T

b) izotermno, visoka T

c) temperaturno programiranje - nevarnosti

$$H = A + B/T + CT$$

Vplivamo na topnost v stacionarni fazi

---

---

---

---

---

---

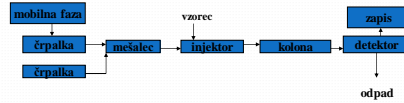
---

---

---

---

**HPLC**



Izokratska - kdaj?

Gradientna analiza - za ločevanje več spojin različnih polarnosti

Črpalke kontinuirne batne s kombinacijo ventilov

diskontinuirne batne za majhne pretoke

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Kolone**

Material: nerjaveče jeklo, steklene kolone

Dimenzije: premer: 2-5mm, večji preparativne

dolžina: 5-25cm

polnilo: delci sferični, pod 10µm

**Stacionarne faze**

NP - normalno fazna kromatografija

Polarna stacionarna faza

Mobilna faza nepolarna (ogljikovodiki) 5%

RP - reverzno fazna kromatografija - kromatografija z obrnjeno fazo

Nepolarna stacionarna faza

Mobilna faza polarna (voda/metanol/acetonitril) 94%

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Izbira topila za raztapljanje vzorca

- Topilo naj bo enako kot je sestava mobilne faze v začetku analize
- Polarne vzorce raztopimo v vodi (dodatek metanola/acetonnitrila, pH) in analiziramo na nepolarnih (RP) kolonah
- Popačenje kromatogramov zaradi spremembe mobilne faze!

---

---

---

---

---

---

---

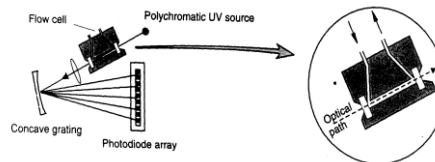
---

---

---

### Spektrofotometrični detektorji

Standardni UV-VIS, z nizom dinod (volumen celice do 20 $\mu$ L), mikrocelice?




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Spektrofotometrični detektorji

- Beerov zakon
- $A = a \cdot l \cdot c$  izvedba celice za nizke koncentracije  
izvedba za preparativno ločevanje

Problem: absorpcija svetlobe v mobilni fazi:  
UV-čista topila

Vsa topila in dodatki problematični, če merimo absorbanco pri  $\lambda$  pod 220nm (acetatni pufril) primerni fosfatni pufril

#### Kvantitativna analiza

- Priprava umeritvene krivulje (standarne raztopine)  
ploščina kromatografskega vrha-množina

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

# Kromatografske metode - ionska kromatografija (IC)

doc. dr. Mitja Kolar

## Vsebina predavanja

- Osnove in vrste IC kromatografije
- Vrednotenje kromatogramov
- Razvoj, merilni sistem in teorija ionske izmenjave pri ionski kromatografiji
- Uporabnost IC kromatografije s primeri
  - Dodatna literatura

## KAJ JE IONSKA KROMATOGRFIJA?

Kromatografska separacija je posledica razlik v potovanju posameznih komponent pod vplivom mobilne faze, zaradi selektivnega zadrževanja ali retencije komponent na stacionarni fazi.

Ionska kromatografija zajema postopke separacije kemijskih spojin - prevladujoča interakcija je ionska izmenjava.

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

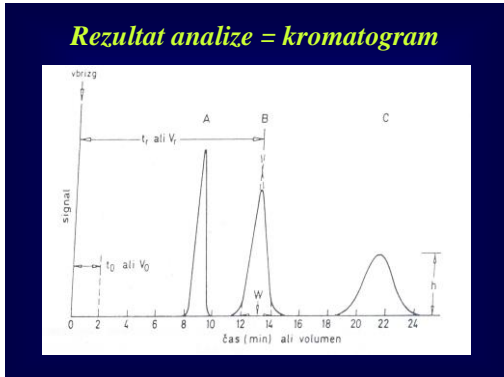
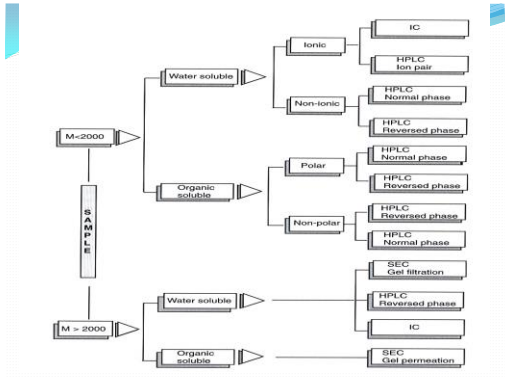
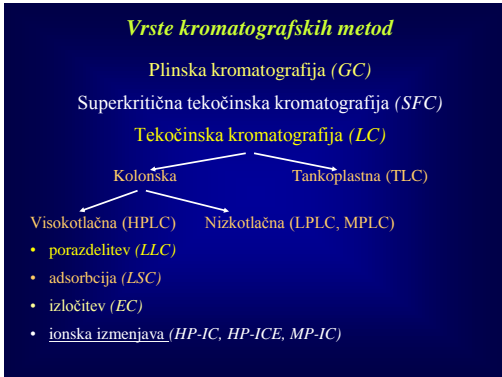
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Kromatogram

- $t_R$  - retencijski čas, je definiran kot čas, zadrževanja merjene komponente – analita na koloni.

$t_R$  je **identifikacija** za vrsto eluirane zvrsti, a je odvisen od dimenzije kolone, vrste stacionarne in mobilne faze, pretoka, velikosti delcev v koloni in temperature.

Kvantitativno merilo za koncentracijo eluirano zvrsti je:

- površina kromatografskega vrha
- višina kromatografskega vrha
- širina kromatografskega vrha na polovični višini.

### Kromatografija - osnovni pojmi

- Ločljivost ali resolucija  $R = \frac{2 \cdot (t_{r1} - t_{r2})}{W_1 + W_2}$  Selektivnost  $\alpha = \frac{k'_2}{k'_1}$
- Število teoretskih podov  $N = L / H$  (dolžina kolone, H višina poda)
- Teorija podov je osnova separacije na koloni (NN 1952 Martin, Synneg), ki pa ne pojasni vpliva velikosti delcev, difuzije, pretoka in temperature na širitve vrhov. Gre za vrsto kinetičnih in termodinamskih parametrov, ki so difuzijsko kontrolirani. Vsi so posledica: motenj v pretoku mobilne faze, difuzije mobilne faze in nepopolnega ravnotežja med fazama.  
 $H = H_s + H_m + H_p + H_d + H_{sm}$
- Van Demterjeva enačba  $H = A + B/u + u(C_s + C_m)$  kjer je A vrtinčast pretok, u hitrost MF, B aksialna difuzija,  $C_s$  in  $C_m$  masni prenos na fazni meji.

### MEDNARODNA OZNAKA ZA IONSKO KROMATOGRAFIJO = IC

- IONSKA KROMATOGRAFIJA (SLO)
- ION CHROMATOGRAPHY (ANG)
- IONENCHROMATOGRAPHIE (D)

ION (gr. ion – potujoči) naelektren delec  
KROMATOGRAFIJA (gr. chroma – barva; gr. graphein – pisati)

Danes je IC ločevanje in določevanje koncentracij nabitih zvrsti na trdi stacionarni fazi v koloni, ki poteka pretežno zaradi procesa ionske izmenjave.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Ionska kromatografija skozi čas I

- Ruski botanik Mihail Cvet na koloni, poljnjeni s  $\text{CaCO}_3$  loči rastlinske pigmente klorofile in ksantofile – začetek kromatografij (1903).
- Gline in zeoliti predstavljata večji skupini naravnih ionskih izmenjevalcev. Prvi sintetični ionski izmenjevalci so se sprva uporabljali za mehčanje vode, deionizacijo in čiščenje raztopin (1930).
- Raziskave v okviru "Projekta Manhattan" postavijo teoretske osnove ionske izmenjave (1945).

### Ionska kromatografija skozi čas II

- Razvoj sodobne tekočinske kromatografije (s teorijo porazdelitvene kromatografije Martin in Synge leta 1952 prejmeta Nobelovo nagrado za kemijo).
- 1975 začetek sodobne IC (Small, Stevens in Baumann) uporabijo ionsko izmenjavo na koloni in detektor za merjenje prevodnosti za določanje anionov in kationov.
  - Hiter razvoj ionske kromatografije do danes ne preseneča saj predstavlja hitro, sočasno, zanesljivo in natančno analitsko metodo.

### Ionska kromatografija

*HP-IC (High Performance Ion Chromatography) Ionska izmenjevalna kromatografija visoke ločljivosti*  
*Proces na koloni: ionska izmenjava in adsorpcija.*  
*Analiza anionov in kationov.*

*HP-ICE (High Performance Ion Chromatography Estimation) Ionska izključitvena kromatografija visoke ločljivosti*  
*Proces na koloni: izključitev, adsorpcija.*  
*Analiza sibihih organskih kislin, alkoholov, aminokislin, aldehydov in ogljikovih hidratov.*

*MP-IC (Mobile Phase Ion Chromatography) Kromatografija ionskih parov*  
*Proces na koloni: adsorpcija.*  
*Analiza kationskih, anionskih površinsko aktivnih snovi, kovinskih kompleksov in maščobnih kislin.*

*Neodvisno od vrste ionske kromatografije le te delimo na:*  
*enokolonsko ali nesupresirano ionsko kromatografijo,*  
*dvokolonsko ali supresirano ionsko kromatografijo.*

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

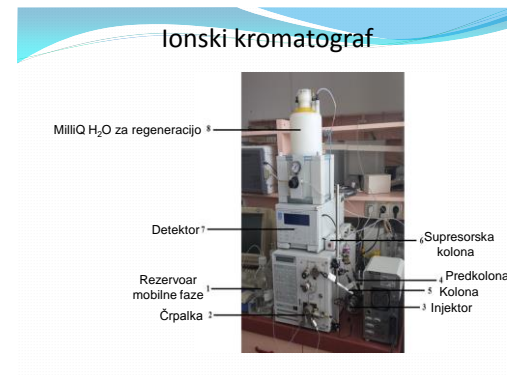
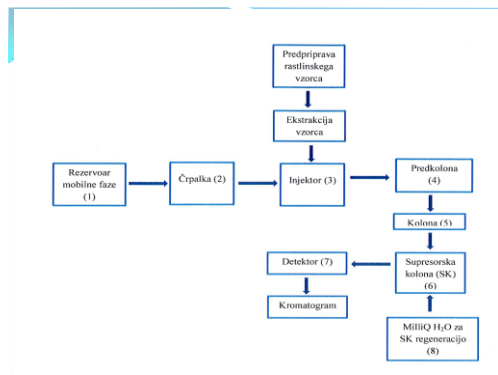
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### *Mobilne faze*

S spreminjanjem sestave mobilne faze v IC najbolj učinkovito vplivamo na ločitev komponent in na njihove zadrževalne čase.

Pri izbiri mobilne faze upoštevamo:

- združljivost z detektorjem,
- naravo, topnost in koncentracijo analita,
- pH, puferno kapaciteto, kompleksacijske vplive,
- mešanje z organskimi topili.

### *Mobilne faze glede na vrsto IC*

- Anionska:  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$
- Kationska: HCl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , oksalat/citrat
- HPICE: HCl, heksansulfonska kislina
  - MPIC-A:  $\text{NH}_4\text{OH}$ , TMAOH
- MPIC-B: HCl, heksansulfonska kislina

### *Selektivnost pri ionski izmenjavi*

- Ionski radij
- Naboj hidratiziranega iona
- Vrsta ionskega izmenjevalca in topila
  - Sposobnost vezave monovalentnih kationov (K) na izmenjalna mesta pada od  $\text{Ti}^+ \succ \text{Ag}^+ \succ \text{Cs}^+ \succ \text{Rb}^+ \succ \text{K}^+ \succ \text{NH}_4^+ \succ \text{Na}^+ \succ \text{H}^+ \succ \text{Li}^+$  in za divalentne katione  $\text{UO}_2^{2+} \succ \text{Pb}^{2+} \succ \text{Sr}^{2+} \succ \text{Ca}^{2+} \succ \text{Ni}^{2+} \succ \text{Cd}^{2+} \succ \text{Cu}^{2+} \succ \text{Co}^{2+} \succ \text{Zn}^{2+} \succ \text{Mg}^{2+}$ .
- Za anione sposobnost vezave na izmenjalna mesta pada od  $\text{SO}_4^{2-} \succ \text{C}_2\text{O}_4^{2-} \succ \text{I}^- \succ \text{NO}_3^- \succ \text{Br}^- \succ \text{Cl}^- \succ \text{HCO}_2^- \succ \text{CH}_3\text{CO}_2^- \succ \text{OH}^- \succ \text{F}^-$ .

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



### Črpalke v ionski kromatografiji

- Hitro doseganje visokih tlakov (do 400 atm)
  - Nepulzirajoče delovanje
- Pretoki med 0,1 in 10 ml/min
- Ponovljivost in nadzor pretoka (pod 0,5%)
  - Odpornost proti koroziji
  - Gradientno črpanje

### Vrste črpalk v ionski kromatografiji

- Recipročne črpalke  
(z eno, dvema ali več črpalnimi glavami)
- Membranske črpalke
- Črpalke z rezervoarjem in batom
- Črpalke, ki delujejo s pomočjo plina pod tlakom

### Injektorji v ionski kromatografiji

- Ponovljivost injiciranja
- Vnos različnih volumnov
- Minimalna kontaminacija med injiciranjem
- Enostavnost, robustnost in avtomatizacija

V IC porabljamo injektorje z dozirnimi zankami ali "loop" injektorje, kjer lahko zanko z analitom napolnimo delno ali v celoti.

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

### Kaj je ionska izmenjava?

- Ionski izmenjevalci so snovi, ki so pri stiku z raztopino elektrolita sposobni tega vezati, sočasno pa oddati ekvivalentno množino drugega iona, ki je bil vezan na izmenjalnih mestih.
- Izmenjava poteka do vzpostavitve ravnotežja, na katerega vpliva vrsta eksperimentalnih parametrov (selektivnost, koncentracija, temperatura, izmenjalna kapaciteta...).

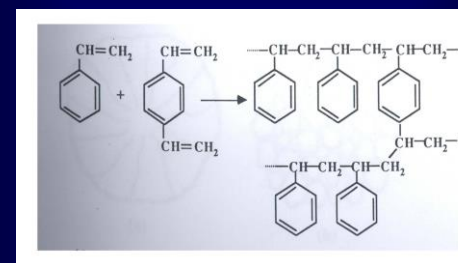
### Stacionarne faze

Razlikujejo se po aktivnih funkcionalnih skupinah, ki so vezane na trdnem polimernem nosilcu (polistiren, polimetakrilat).

Za določanje kationov se uporabljata močno kisl sulfonska ( $-\text{SO}_3\text{H}^+$ ) in šibko kisl karboksilna ( $-\text{COO}^-\text{H}^+$ ) funkcionalna skupina.

Za določanje anionov se najpogosteje uporabljata močno alkalna kvarтерна ( $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-$ ) ali šibko alkalna primarna aminska ( $-\text{NH}_3^+\text{OH}^-$ ) funkcionalna skupina.

### Stacionarne faze I – sinteza polimernega nosilca



Reakcija stirena in divinenilbenzena vodi do nastanka stiren-divenilbenzenskega polimera

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

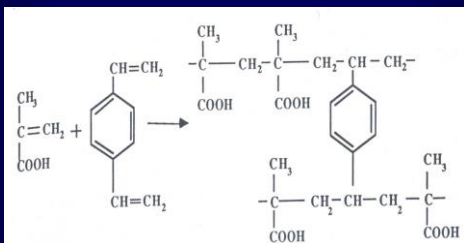
---

---

---

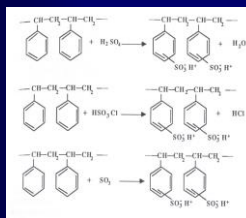
---

### Stacionarne faze I - sinteza polimernega nosilca

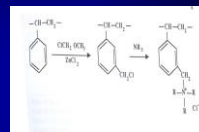


Reakcija metakrilne kisline in divenilbenzena, ki vodi do nastanka metakrilat-divenilbenzenovega polimera

### Stacionarne faze II – vezava funkcionalnih skupin



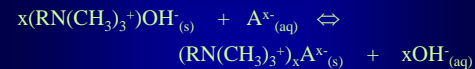
Reakcijski mehanizem vezave (-SO<sub>3</sub>H) funkcionalnih skupin na stiren-divenilbenzenski polimer.



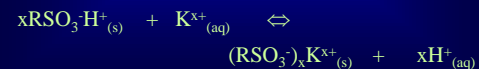
Reakcijski mehanizem vezave (-NR<sub>2</sub>/OH) funkcionalnih skupin na stiren-divenilbenzenski polimer.

### Teorija separacije na koloni I

Pri potovanju anionske zvrsti A<sup>x-</sup> v mobilni fazi skozi kolono, na kateri so vezane -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>OH<sup>-</sup> skupine, pride do ionske izmenjave



Pri potovanju kationske zvrsti K<sup>x+</sup> v mobilni fazi skozi kolono, na kateri so vezane -RSO<sub>3</sub>H<sup>+</sup> skupine, pride do ionske izmenjave



**Teorija separacije na koloni II**

$$K = \frac{[(RN(CH_3)_3^+)A^{x-}_{(s)}] [OH^-_{(aq)}]}{[(RN(CH_3)_3^+)OH^-_{(s)}] [A^{x-}_{(aq)}]}$$

Zapisana konstanta ravnotežja (K) nam pove, kako se bo nek anion zadrževal med stacionarno in mobilno fazo.

Večje vrednosti K kažejo, da se bo anion bolj zadrževal na stacionarni fazi in bo njegov zadrževalni čas na koloni daljši.

**Teorija separacije na koloni III**

$$\frac{[(RN(CH_3)_3^+)A^{x-}_{(s)}]}{[A^{x-}_{(aq)}]} = \frac{K [(RN(CH_3)_3^+)OH^-_{(s)}]}{[OH^-_{(aq)}]}$$

Ker je koncentracija  $[OH^-_{(aq)}] \gg [A^{x-}_{(aq)}]$  in  $[(RN(CH_3)_3^+)OH^-_{(s)}] \gg [(RN(CH_3)_3^+)A^{x-}_{(s)}]$ , lahko enačbo zapišemo v obliki

$$\frac{[(RN(CH_3)_3^+)A^{x-}_{(s)}]}{[A^{x-}_{(aq)}]} = \frac{c_s}{c_m} = K_D$$

kjer je  $K_D$  porazdelitveni koeficient,  $c_s$  koncentracija analita v stacionarni fazi in  $c_m$  koncentracija analita v mobilni fazi.

**Vloga supresorske kolone**

- Mobilno fazo pretvori v nediisocirano obliko.
- Analit pretvori v popolnoma diisocirano - visokoprevodno obliko.
  - Kontinuirna regeneracija,
  - minimalna disperzija v supresorju,
  - minimalna kontaminacija v supresorju (nizka bazna linija),
- pH obstojnost, odpornost na organska topila in mehanska odpornost.
- Vrste supresorjev: kemijski in elektrokemijski.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

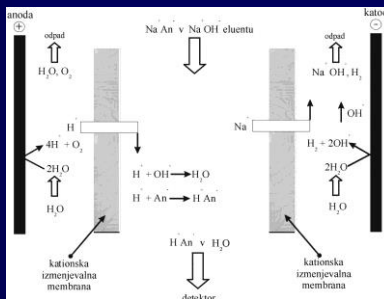
---

---

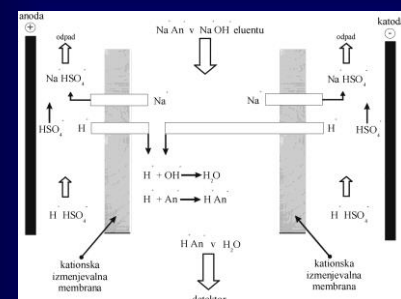
### Delovanje supresorske kolone in reakcije

- V raztopini se natrijevi ioni izmenjajo s protoni in tako prevedejo močno prevoden natrijev hidrogenkarbonat v malo disociirano ogljikovo kislino
- Po izmenjavi natrijevega nitrata (V) iz vzorca nastane dušikova (V) kislina
- V primeru določanja anionov in uporabe karbonatnega pufru kot eluenta se v supresorski koloni kationi (običajno  $\text{Na}^+$ ) vežejo na ionski izmenjevalec, sprosti se ekvivalentna količina  $\text{H}_3\text{O}^+$  ionov, ki pretvorijo  $\text{HCO}_3^-$  in  $\text{CO}_3^{2-}$  ione v  $\text{CO}_2$  in vodo, kar bistveno zniža električno prevodnost eluenta. Obenem pa se protiioni merjenih anionov zamenjajo s  $\text{H}_3\text{O}^+$  ioni in na ta način se bistveno poveša prevodnost merjenega ionskega para ( $\text{H}_3\text{O}^+$  / ustrezní anion).

### Delovanje elektrokemijskega supresorja



### Delovanje kemijskega supresorja




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Detektor za merjenje prevodnosti

Električna prevodnost je sposobnost elektrolitov, da prevajajo električni tok med dvema paroma koncentričnih Pt elektrod, ki so v električnem polju.

Koncentracija - število ionov, njihov naboj, velikost, hitrost in temperatura vplivajo na prevodnost raztopin.

- Upornost, Ohmov zakon  $R = U / I$  [ $\Omega$ ]
- Prevodnost  $G = 1 / R$  [ $\Omega^{-1}$ , S - Siemens]
- Specifična upornost  $\rho$  ( $R = \rho l / A$ ) [ $\Omega\text{m}$ ,  $\Omega\text{cm}$ ]
- Specifična prevodnost  $\chi = (1 / \rho)$  [ $\Omega^{-1}\text{m}^{-1}$ ,  $\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ ]
- Molska prevodnost  $\Lambda = \chi / c$  [ $\text{Sm}^2\text{mol}^{-1}$ ]

### Princip merjenja prevodnosti

- Z višanjem potenciala med elektrodama se večja tudi hitrost ionov v raztopini, zato je odziv detektorja odvisen od uporabljenega potenciala.
- Uporabljamo oscilirajoče sinusoidne ali pulzirajoče napetosti "square", ki znižujejo moteče procese zaradi nastanka kapacitivne dvojne plasti ali Faradayskih elektrolitskih procesov.

Uporabljene napetosti imajo v med 100 in 10 000 Hz, zgornja meja je 1 MHz. Moteče procese lahko uspešno zmanjšamo tudi z uporabo štiri elektrodne celice za merjenje prevodnosti (med dvema notranjima referenčnima elektrodama je konstanten E, tok teče med zunanijima elektrodama, ko se prevodnost začne spreminjati beležimo tok, ki je potreben za vzdrževanje E in je proporcionalen prevodnosti.

### Detektor za merjenje prevodnosti

- + Visoka občutljivost
  - + Univerzalnost za vse nabite analite
  - + Odziv na spremembe koncentracij
  - + Enostaven za izdelavo in miniaturizacijo
  - + Nizka cena in enostavno vzdrževanje
- 
- Ni občutljiv za šibko disociirane zvrsti
  - Odziva se tudi na sestavo mobilne faze

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Drugi detektorji v IC

- Spektrofotometrija UV/VIS, AES, AAS
- Spektrometrija z induktivno sklopljeno plazmo ICP-AES
- Masna spektrometrija z induktivno sklopljeno plazmo ICP-MS
- Elektrokemijska detekcija (amperometrija, voltometrija, kulometrija in potenciometrija)

Uporabimo lahko vsak detektor, ki omogoča pretočno izvedbo!

### Določanje koncentracij v IC

IC je relativna tehnika saj rezultate primerjamo s standardom!

- Umeritvena krivulja, naj zajema interval pričakovanih koncentracij vzorcev in naj vsebuje najmanj 6 točk.
  - Uvedemo lahko interni standard in uporabimo umeritveno krivuljo kar minimizira merilno napako, vendar idealnega internega standarda pogosto nimamo.
- Standardni dodatek uporabimo, kadar imamo na voljo malo vzorca. Analizo ponovimo z več standardnimi dodatki različnih koncentracij.

### Primeri uporabe IC

- Okolje analiza pitnih, površinskih in industrijskih vod (anioni, kationi, površinsko aktivne snovi)
- Živilska industrija (pijače, mleko, meso, ribe, sir, konzervirana hrana, olja)
- Industrija polprevodnikov (topila, kisline, baze)
  - Klinična kemija
  - Kmetijstvo
  - Papirna industrija
  - Gradbeništvo
  - Naftna industrija

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

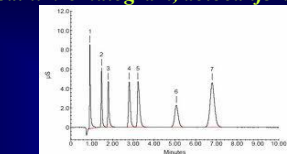
---

---

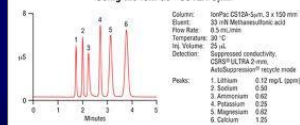
---

---

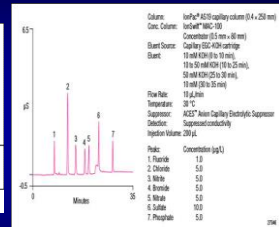
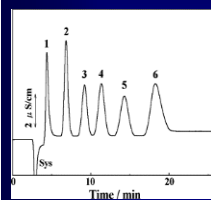
### Realni kromatogram, določanje kationov



#### Fast Isocratic Separation of the Common Inorganic Cations Using the IonPac® CS12A-5µm



### Realni kromatogram, določanje anionov



### Analiza anionov – IC primer

- Vzorčenje pitne vode 500 mL po ustreznem protokolu, hranjenje, filtracija.
- Sušenje soli in priprava standardnih raztopin Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> v mill-Q vodi (10 mg/L, 20 mg/L, 40 mg/L, 50 mg/L, 60 mg/L)
- Kalibracija in priprava umeritvenih krivulj za anione
  - Analiza realnih vzorcev
  - Interpretacija rezultatov s komentarji

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

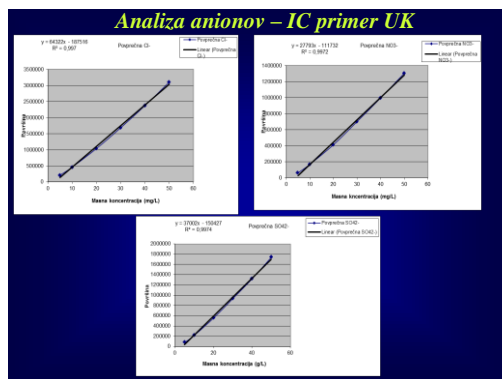
---

---

---

---





### *Dodatna literatura in viri*

Principles of Instrumental Analysis, D.A. Skoog, J.J. Leary.

Analytical Chemistry, D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holer.

Ion Chromatography A. Huthig.

Ion Chromatography, P.R. Haddad, P.E. Jackson.

Handbook of Ion Chromatography, J. Weiss.

- [www.dionex.com](http://www.dionex.com) [www.dionex.de](http://www.dionex.de)

- [www.metrohm.com](http://www.metrohm.com)

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---