

DÁVKOVANIE VEĽKÝCH OBJEMOV V KAPILÁRNEJ PLYNOVEJ CHROMATOGRAFII

EVA KORENKOVÁ^a, EVA MATISOVÁ^b
a JAROSLAV SLOBODNÍK^a

^a*Environmental Institute, Okružná 784/42, 972 41 Koš, bKatedra analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika*

Došlo dňa 23.I.2001

Kľúčové slová: kapilárna plynová chromatografia, eliminácia pár solventu, dávkovanie veľkých objemov, dávkovanie do kolóny, dávkovanie cez slučku, kombinácia LC-GC

Obsah

1. Úvod
2. Spôsoby eliminácie pár solventu
3. Techniky dávkovania veľkých objemov
 - 3.1. Dávkovanie cez „on-column“ injektor
 - 3.2. Dávkovanie cez slučku
 - 3.3. Dávkovanie do odparovacej komôrky
4. Záver

1. Úvod

Príprava vzorky je vo väčšine prípadov časovo najnáročnejší krok analýzy. Na konci komplikovanej procedúry zvyčajne dávkuje do plynového chromatografu 1–2 µl extraktu, čo znamená veľkú stratu citlivosti a neekonomické využitie vzorky. Zriedené extrakty sa musia často zakoncentrovať, aby sa dosiahli požadované medze detekcie. Tento proces je náročný nielen na čas a manuálnu prácu, ale nesie so sebou nebezpečenstvo straty prchavých látok, alebo kontaminácie vzorky. Dávkovaním veľkého objemu sa dá zakoncentrovanie vzorky nahradiť, čím sa zjednoduší celková procedúra prípravy vzorky. V prípade, že sa vzorka zakoncentruje, umožňuje dávkovanie veľkého objemu znížiť medzu detekcie daného analytu. Dávkovanie veľkých objemov predstavuje významný krok vpred v stopovej analýze. Cieľom tohto článku je uviesť základné techniky dávkovania veľkých objemov v kapilárnej plynovej chromatografii, vysvetlíť ich princíp a uviesť niektoré aplikácie.

V podstate existujú tri spôsoby, akými možno dávkovať veľké objemy vzorky v kapilárnej GC:

1. dávkovanie priamo do kolóny (on-column injection/interface),
2. dávkovanie cez slučku (loop-type injection/interface),
3. dávkovanie do odparovacej komôrky (vaporizing chamber).

Na čistenie vzorky, predseparáciu analytov, alebo ich obohatenie sa často používa kvapalinová chromatografia. Jej spo-

jenie s plynovou chromatografiou, ktorá poskytuje vysokú separačnú účinnosť a selektívnu a citlivú detekciu, je preto zvlášť výhodné a žiaduce. Uvedené techniky dávkovania veľkých objemov sa používajú aj ako medzičlánok pre on-line kombináciu LC-GC.

Ideálny injektor pre dávkovanie veľkých objemov by mal spĺňať tieto kritériá:

- schopnosť odstrániť prevažnú časť solventu s minimálnymi stratami analytov,
- schopnosť znovu sfokusovať počiatočnú zónu, aby sa dosiahli úzke píky v GC chromatograme,
- v prípade kombinácie LC-GC, medzičlánok by mal reprodukovateľne a úplne prenášať danú LC frakciu.

V tabuľke I sú zhrnuté a vysvetlené termíny bežne používané v súvislosti s dávkovaním veľkých objemov v kapilárnej GC.

2. Spôsoby eliminácie pár solventu

Prvým predpokladom pre úspešnú chromatografickú separáciu analytov pri dávkovaní veľkých objemov, či už do „on-column“ injektora, alebo do odparovacej komôrky, je odstránenie nadmerného množstva solventu. Veľký objem pár pozostávajúci prevažne zo solventu je možné odstrániť ich zmiešaním s nosným plynom a následným vypustením cez ventil (gas discharge) alebo samoexpanziou nezriedených pár cez ventil (vapour overflow)¹.

„Gas discharge“

V tomto prípade sa solvent odparuje v prúde nosného plynu pri teplote pod teplotou varu solventu. Rýchlosť odparovania je určená množstvom pary, ktorá nasýti nosný plyn pri danej teplote. Týmto spôsobom sa odstraňuje solvent napríklad pri dávkovaní do injektora s deliacim ventilom a programovateľnou teplotou (PTV injektor). Ak je teplota termostatu nižšia ako je rosný bod zmesi nosný plyn/pary solventu, nosný plyn je presýtený parami solventu a v predkolóne dochádza k rekondenzácii. Eliminácia pár solventu v prúde nosného plynu umožňuje čiastočné odparovanie (v odparovacej komôrke), alebo čiastočnú rekondenzáciu (v predkolóne, resp. v zadržiavacej predkolóne) solventu. Podiel odparovania/rekondenzácie solventu sa dá optimalizovať nastavením prietoku nosného plynu, alebo teploty termostatu. Väčším zriedením pár nosným plynom (tj. zvýšením prietoku nosného plynu) sa zníži rosný bod, takže sa môže znížiť teplota pre odparovanie, alebo rekondenzáciu v predkolóne. Nižšia teplota v predkolóne vedie k vyššej retencii látok v stacionárnej fáze. Čiastočné odparovanie, alebo rekondenzácia solventu umožňujú využiť solvent efekt na zachytenie prchavých látok.

„Vapour overflow“

Počas odstraňovania pár solventu týmto spôsobom je prívod nosného plynu vypnutý. Pary opúšťajú systém v dôsledku

Tabuľka I

Terminológia spojená s dávkovaním veľkých objemov v GC

Predkolóna (retention gap)	Deaktivovaná kapilára z taveného kremeňa bez stacionárnej fázy, ktorá sa používa na rekoncentráciu zón rozšírených difúziou v priestore.
Zmáčateľnosť (wettability)	Schopnosť solventu vytvoriť súvislý film na vnútorných stenách predkolóny.
Zaplavená zóna (flooded zone)	Dĺžka kapiláry pokrytá vrstvou kvapalnej vzorky. Zvyčajne sa vyjadruje ako dĺžka kapiláry, ktorú zaplaví jednotkový objem vzorky ($\text{cm} \cdot \mu\text{l}^{-1}$).
Úplné súčasné odparovanie solventu (fully concurrent solvent evaporation, FCSE)	Úplné odparenie solventu počas jeho dávkovania do GC, tj. rýchlosť dávkovania sa rovná rýchlosti odparovania.
Čiastočné súčasné odparovanie solventu (partially concurrent solvent evaporation, PCSE)	Podmienky dávkovania do GC, pri ktorých sa väčšina solventu odparuje už počas dávkovania, tj. rýchlosť dávkovania je vyššia ako rýchlosť odparovania. Neodparený zvyšok zaplavuje predkolónu a zachytáva prchavé analyty účinkom „solvent“ efektu.
„Solvent“ efekt	Rekoncentrácia prchavých látok rozpustením v kvapalnom filme, pri odparovaní solventu smerom od konca zaplavenej zóny k jej čelu.
Fokusačný účinok zmáčania stacionárnej fázy (phase soaking focusing effect)	Rekoncentrácia analytov v dôsledku zvýšenej retencie na stacionárnej fáze zmáčanej solventom (zmáčanie spôsobuje nárast hrúbky stacionárnej fázy, a teda zvýšenú retenciu).
Fokusačný účinok pomerom stacionárnych fáz (phase-ratio focusing effect)	Rekoncentrácia menej prchavých látok v dôsledku spomalenia ich migrácie pri prechode z predkolóny s nízkou retenciou do separačnej kolóny s vysokou retenciou.
Ventil pre skorú elimináciu pár solventu (early solvent vapour exit, SVE)	Kus kapiláry s veľkým vnútorným priemerom medzi predkolónou a separačnou kolónou, ktorým sa eliminujú prebytočné pary solventu.
Ko-solvent (cosolvent)	Solvent s vyššou teplotou varu, ako má hlavný solvent, ktorý sa v malých množstvách pridáva k hlavnému solventu na zníženie strát prchavých látok. Používa sa napr. pri dávkovaní veľkých objemov za podmienok úplného súčasného odparovania rozpúšťadla.
Zadržiavacia predkolóna (retaining precolumn)	Krátka kapilára so stacionárnou fázou (zvyčajne tou istou, akú má separačná kolóna), ktorá sa vsúva medzi predkolónu a separačnú kolónu, aby sa zabránilo stratám prchavých látok cez ventil pre skorú elimináciu pár solventu.
Odparovacia komôrka s programovateľnou teplotou (programmable temperature vaporizer, PTV)	Injektor pre dávkovanie do studeného lineru s následným rýchlym zahriatím a prenosom analytov do predkolóny/kolóny.

Tabuľka II

Porovnanie eliminácie pár solventu v prúde nosného plynu a bez prietoku nosného plynu

Eliminácia pár solventu v prúde nosného plynu (gas discharge)

- + nižšia teplota počas odparovania v odparovacej komôrke aj v predkolóne => silnejšia retencia prchavých látok
- + čiastočné odparovanie/rekondenzácia solventu je možné a regulovateľné
- + zachytenie prchavých látok účinkom „solvent“ efektu
- komplikovanejší dizajn a fungovanie

Eliminácia pár solventu samoexpanziou bez prietoku nosného plynu (vapour overflow)

- + ľahká optimalizácia (len jeden parameter – teplota)
- + prietok pár samoregulovateľný (kolapsuje na konci odparovacieho procesu)
- + pokles tlaku cez náplň vo vyparovacej komôrke nie je kritický
- potrebná pomerne vysoká teplota termostatu, aby sa zabránilo rekondenzácii
- možné jedine úplné odparenie rozpúšťadla počas dávkovania (neexistuje čiastočné odparovanie rozpúšťadla)
- zachytenie prchavých látok účinkom „solvent“ efektu je možné len s pridaním ko-solventu

+ pozitívum, – negatívum

ich samoexpanzie počas vyparovania. Pri eliminácii nezriedených pár solventu musí byť teplota injektora počas odparovania minimálne na úrovni teploty varu solventu. Aby sa zabránilo rekondenzácii pár na vstupe do predkolóny/kolóny,

teplota termostatu musí byť tiež vyššia, ako je teplota varu solventu (korigovaná na daný tlak). V opačnom prípade dochádza k úplnej rekondenzácii a predkolóna musí mať schopnosť zadržať celý objem rekondenzovanej kvapaliny, inak do-

Tabuľka III

Rôzne techniky dávkovania vzoriek v kapilárnej GC s elimináciou pár solventu v prúde nosného plynu, alebo samoexpanziou nezriedených pár

Eliminácia pár v prúde nosného plynu	Eliminácia nezriedených pár samoexpanziou
Dávkovanie s deličom	dávkovanie bez delenia s pretekaním pár solventu (Splitless overflow)
Dávkovanie bez delenia	
„On-column“ dávkovanie	dávkovanie cez slučku (v kombinácii LC-GC)
PTV s ventilom na elimináciu pár solventu	PTV bez delenia s pretekaním pár solventu (PTV splitless overflow)
Dávkovanie do systému odparovania	
komôrka-predkolóna-ventil pre elimináciu pár	

Techniky dávkovania veľkých objemov sú hrubo vytlačené

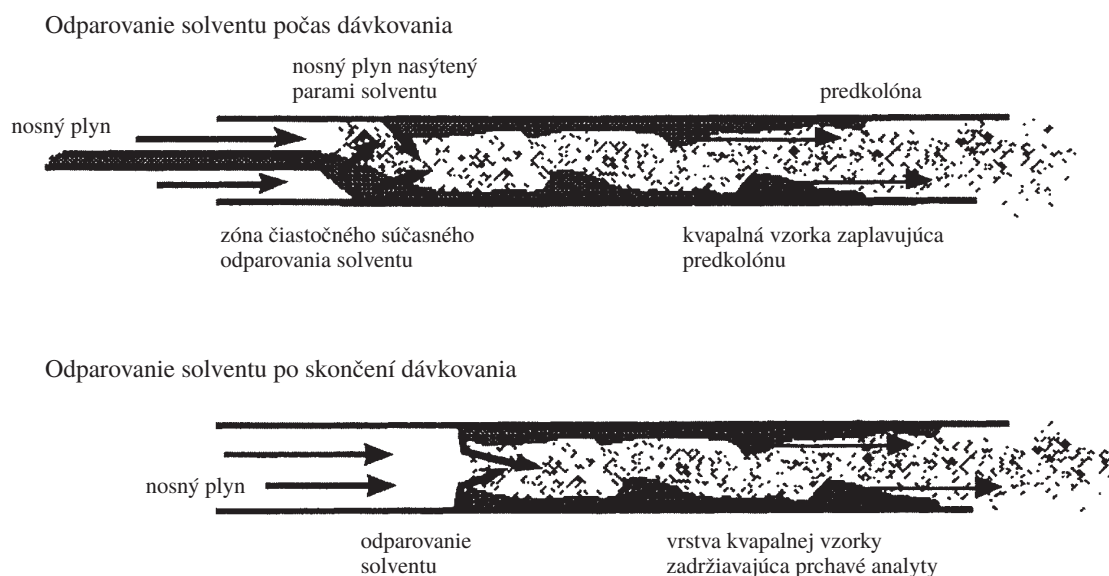
chádza k zaplaveniu separačnej kolóny. Čiastočnú rekondenzáciu pár solventu je možné dosiahnuť len zmiešaním hlavného solventu s vyššie vrúcim ko-solventom. Odstraňovanie pár solventu samoexpanziou je jednoduchšie ako eliminácia pár v prúde nosného plynu. Jedinou premennou veličinou je teplota, ktorá sa dá ľahko odhadnúť z teploty varu korigovanej na daný tlak. Čas zatvorenia ventilu pre skorú elimináciu pár (SVE) nie je kritický, pretože tok pár prestáva na konci odparovacieho procesu. Nevýhodou tohto spôsobu eliminácie pár solventu sú možné straty prchavých látok v prípade, že predkolóna nie je schopná zadržať celé množstvo rekondenzovanej kvapaliny. Ďalej, teplota termostatu musí byť vyššia ako pri eliminácii pár v prúde plynu, čo znižuje retenciu látok na stacionárnej fáze (menší stupeň zakonzentrovania prchavých látok).

Porovnanie „gas discharge“ a „vapour overflow“ techník eliminácie pár solventu je uvedené v tabuľke II. Rôzne techniky dávkovania vzorky v kapilárnej GC a typický spôsob, akým sa eliminujú pary solventu, sú uvedené v tabuľke III.

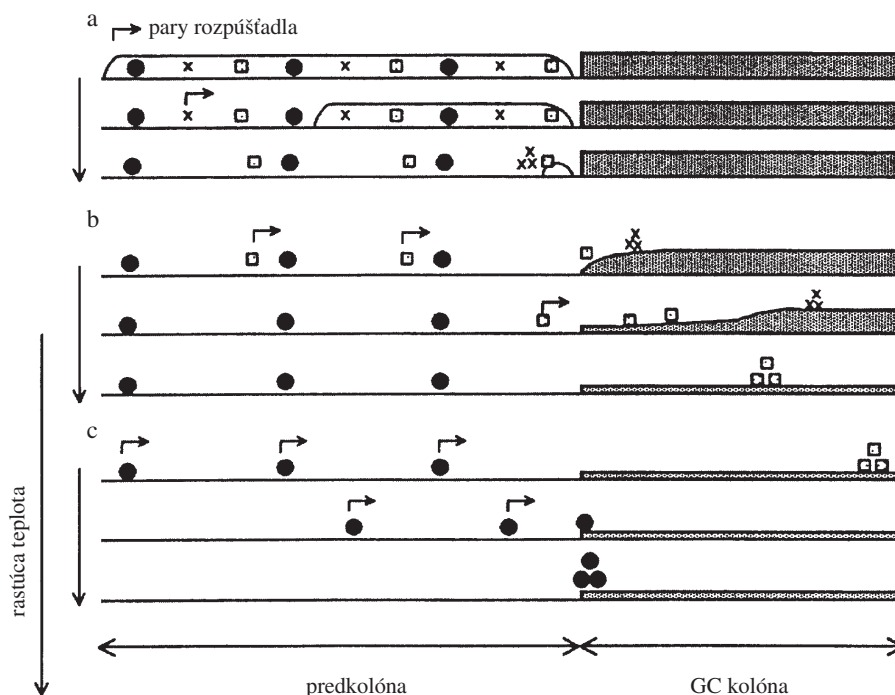
3. Techniky dávkovania veľkých objemov

3.1. Dávkovanie cez „on-column“ injektor

Prelom v dávkovaní veľkých objemov vzoriek v GC a v on-line spojení LC-GC nastal s vývinom „on-column“ injektora v kombinácii s veľmi dlhou (až do 50 m) deaktivovanou sklenou kapilárou, alebo kapilárou z taveného kremeňa bez stacionárnej fázy. Všetky variácie techniky dávkovania veľkých objemov cez „on-column“ injektor sú založené na dávkovaní vzorky pri teplote nižšej, ako je teplota varu solventu korigovaná na daný tlak. Teda vzorka sa nachádza v predkolóne vo forme kvapaliny. Účinkom nosného plynu sa kvapalina zanáša hlbšie do kapiláry. Ak solvent zmáča predkolónu, vytvorí sa súvislá tenká vrstva kvapaliny na vnútorných stenách predkolóny, tzv. zaplavená zóna (flooded zone)² (obr. 1). Nosný plyn prichádzajúci do styku so zaplavenou zónou sa nasycuje parami solventu. Solvent sa postupne odparuje vý-



Obr. 1. Proces vytvárania zaplavenej zóny a odparovania solventu v predkolóne počas a po skončení dávkovania

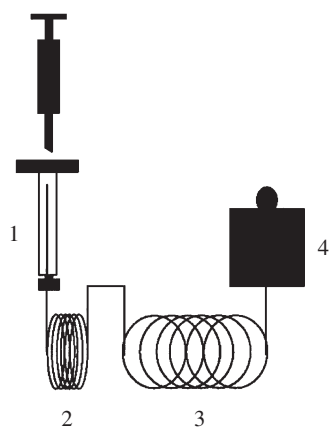


Obr. 2. **Rekoncentrácia prchavých a neprchavých zložiek vzorky účinkom** a) solventu, b) zmáčania stacionárnej fázy a c) rozdielu v pomere stacionárnych fáz analytickej kolóny a predkolóny. Obrázok 2a predstavuje situáciu hneď po ukončení nástreku vzorky do predkolóny; x prchavé látky, □ menej prchavé látky, ● neprchavé látky. Meniaci sa hrúbka sivo vyšráfovanej stacionárnej fázy znázorňuje proces jej zmáčania solventom, ktorý sa odparuje z ľava do prava

lučne smerom od injektora k detektoru a analyty sa zakoncentrovávajú účinkom solventu (solvent effect), zmáčania stacionárnej fázy v analytickej kolóne solventom (phase soaking effect) a v dôsledku rozdielu medzi pomerom stacionárnej fázy v analytickej kolóne a v predkolóne (phase-ratio focusing effect)³. Tieto efekty, ktoré vedú k zakoncentrovaniu analytov a k vytvoreniu úzkej počiatočnej zóny, sú znázornené na obr. 2. Relatívne prchavé analyty migrujú spolu so solventom, ktorý sa odparuje smerom k analytickej kolóne. Vzápätí sa však opäť rozpúšťajú v tenkej vrstve ešte neodpareného solventu nachádzajúcej sa vpred, ktorá funguje ako dočasná stacionárna fáza (temporary stationary phase). Týmto spôsobom sa prchavé látky koncentrujú na čele solventu a uvoľňujú sa ako úzka zóna v momente, keď sa odparia posledné zvyšky solventu (solvent effect, obr. 2a). Ak má odparujúci sa solvent schopnosť zmáčať stacionárnu fázu v analytickej kolóne, zakoncentrovávajú sa aj menej prchavé analyty (phase soaking effect, obr. 2b). Zmáčaním stacionárnej fázy sa zväčšuje jej hrúbka a následne sa zvyšuje retencia analytov. Menej prchavé zlúčeniny zostávajú aj po odparení solventu rozptýlené po celej dĺžke pôvodne zaplavenej zóny a začínajú migrovať až so zvyšujúcou sa teplotou. Rozdiel v rýchlosti migrácie analytov v analytickej kolóne so stacionárnou fázou a v predkolóne bez stacionárnej fázy vedie k ich zakoncentrovaniu. Migrácia analytov v analytickej kolóne sa výrazne spomalí v porovnaní s rýchlosťou migrácie pozdĺž predkolóny, v ktorej sa analyty pohybujú rýchlosťou nosného plynu. Teda zakoncentrovanie menej prchavých zlúčenín je dôsledkom rozdielu medzi pomerom stacionárnej fázy v analytickej kolóne a v predkolóne (phase-ratio focusing effect, obr. 2c).

Klasická „on-column“ technika

Schéma klasickej „on-column“ techniky dávkovania veľkých objemov je znázornená na obr. 3. Medzi „on-column“ injektorom a analyticou kolónou sa nachádza predkolóna rôznej dĺžky v závislosti od dávkovanej objemu. 1 µl solventu s dobrými zmáčacími vlastnosťami, teda schopný vytvárať súvislú vrstvu kvapaliny na stenách predkolóny, vytvorí v kapiláre s vnútorným priemerom 0,53 alebo 0,32 mm kvapalnú film s dĺžkou približne 10 cm a 15 cm. Inými slovami, 15 m × 0,32 mm i.d. kolóna bez stacionárnej fázy má schopnosť zadržať 80–100 µl zmáčacej kvapaliny⁴. V prípade kolóny s vnútorným priemerom 0,53 mm, stačí na zadržanie rovnakého objemu len 10 m, vzhľadom na jej väčší vnútorný priemer. Predkolóna je s analyticou kolónou zvyčajne spojená pomocou deaktivovanej sklennej spojky (press-fit). Ako je vyššie uvedené, odparovanie solventu sa začína pri injektore a pokračuje smerom k detektoru, pričom dochádza k zakoncentrovaniu analytov. Nevýhodou klasickej „on-column“ techniky je odparovanie celého objemu solventu cez analyticú kolónu a detektor. To vedie k rýchlejšej aktivácii analytickej kolóny, v prípade, že solvent obsahuje stopy vody, a spôsobuje problémy s detektorom (zhášanie plameňa v FID alebo tvorba fosgenu pri použití chlórovaných rozpúšťadiel). Zároveň je odparovanie solventu cez analyticú kolónu a detektor pomerne zdĺhavé, keďže prietok nosného plynu je obmedzený na 1–3 ml.min⁻¹. V prípade jednorázového („at-once“) nástreku je veľkosť dávkovanej objemu obmedzená dĺžkou predkolóny. Vzorka sa dávkuje oveľa rýchlejšie, ako sa stihne vyparovať, preto musí mať predkolóna primeranú dĺžku, aby bola



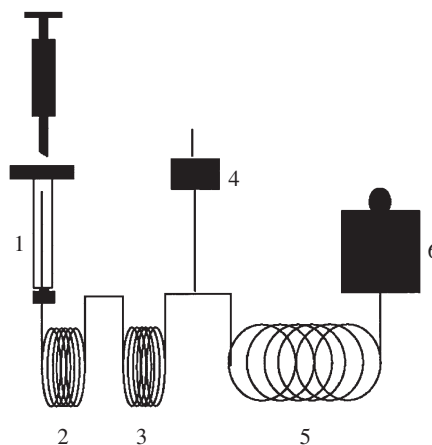
Obr. 3. Schéma klasickej „on-column“ techniky dávkovania veľkých objemov; 1 – „on-column“ injektor, 2 – predkolóna, 3 – analytická kolóna, 4 – detektor

schopná zadržať celý objem dávkovanej kvapaliny. Pri nástreku príliš veľkého objemu sa prekročí zadržiavacia kapacita (retaining capacity) predkolóny a solvent zaplaví aj analytickú kolónu. Vytvoria sa neprimerane široké počiatočné zóny a zníži sa separačná účinnosť kolóny. Ak je rýchlosť dávkovania kontrolovaná, môže sa dávkovaný objem zvýšiť, limitujúcim faktorom však naďalej ostáva neprimerane dlhý čas na odstránenie solventu. Pre dávkovanie, alebo prenos LC frakcií do GC s objemom väčším ako 50 μl sa uprednostňuje použitie ventilu pre skorú elimináciu pár solventu.

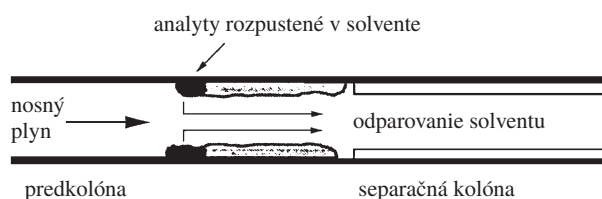
„On-column“ dávkovanie s využitím ventilu pre skorú elimináciu pár solventu

Veľkosť dávkovaného objemu možno výrazne zvýšiť zaradením ventilu pre skorú elimináciu pár solventu (early solvent vapour exit, SVE) medzi predkolónu a analytickú kolónu⁵ (obr. 4). Vo všeobecnosti sa medzi predkolónu a SVE zaraďuje ešte krátka analytická kolóna, tzv. zadržiavacia predkolóna (retaining precolumn), ktorá znižuje straty prchavých látok unikajúce cez ventil spolu s odparujúcim sa solventom. Rovnako ako pri klasickej spôsobe „on-column“ dávkovania sa vzorka nastrekuje pri teplote pod teplotou varu rozpúšťadla (korigovaná na daný tlak). S odparovaním solventu a so zvyšovaním teploty kolóny dochádza k zakonzentrovaniu analytov účinkom vyššie opísaných efektov. Pary solventu však neprechádzajú cez kolónu a detektor, ale sa vypúšťajú cez SVE ventil. Ten je počas odparovania solventu otvorený a počas chromatografickej analýzy sa preplachuje nízkym prietokom nosného plynu. Kolóna a detektor sú tak chránené pred nadmerným množstvom solventu a zabráňuje sa tvorbe toxických látok v detektore, ako je napríklad tvorba fosgénu v FID pri použití chlórovaných rozpúšťadiel. Rýchlosť nosného plynu cez ventil je až niekoľko desiatok $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ (30–200 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ v porovnaní s 1–3 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ pri odparovaní solventu cez analytickú kolónu), a teda aj proces odparovania solventu je výrazne rýchlejší. Šírka píku rozpúšťadla sa výrazne znižuje, keďže rýchlosť odparovania rozpúšťadla teraz dosahuje až 100–500 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ namiesto pôvodných 5–20 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, keď pary solventu prechádzali cez celú analytickú kolónu⁴.

Na rozdiel od klasickej „on-column“ techniky sa dávko-



Obr. 4. Schéma „on-column“ injektora s ventilom pre odstraňovanie pár solventu; 1 – „on-column“ injektor, 2 – predkolóna, 3 – zadržiavacia predkolóna, 4 – ventil pre elimináciu pár solventu (SVE), 5 – analytická kolóna, 6 – detektor



Obr. 5. Dávkovanie za podmienok čiastočného súčasného odparovania solventu (PCSE)

vanie vzorky uskutočňuje za podmienok súčasného čiastočného odparovania solventu (partially concurrent solvent evaporation, PCSE) (obr. 5). Až okolo 90 % solventu sa odparí cez SVE už počas dávkovania. Pretože len relatívne malá frakcia solventu sa nachádza v predkolóne vo forme kvapaliny, ktorá sa rozmyva pozdĺž stien, je možné jej dĺžku výrazne skrátiť, alebo zvýšiť dávkovaný objem, prípadne zvýšiť rýchlosť dávkovania pri danej dĺžke predkolóny. Použitie ventilu pre skorú elimináciu pár solventu má veľký význam aj pri kombinácii LC-GC. Prenos LC frakcie do GC za podmienok súčasného čiastočného odparovania solventu si vyžaduje, aby rýchlosť odparovania solventu bola len o čosi menšia ako rýchlosť dávkovania, tj. prietok mobilnej fázy v LC. Pre LC kolóny s vnútorným priemerom 2–3 mm sú typické prietoky mobilnej fázy 200–500 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, čo sa práve zhoduje s rozsahom rýchlostí odparovania solventu cez SVE.

Najdôležitejším parametrom pri optimalizácii dávkovania veľkého objemu „on-column“ technikou za podmienok súčasného čiastočného odparovania solventu je dĺžka zaplavenej zóny. Tá je určená rýchlosťou dávkovania vzorky a rýchlosťou odparovania solventu, ktorá je zase daná teplotou kapiláry (musí byť nižšia, ako je teplota varu rozpúšťadla korigovaná na tlak v kolóne), prietokom nosného plynu a vstupným tlakom. Solvent nesmie zaplavíť aj stacionárnu fázu separačnej kolóny, teda zaplavená zóna nesmie prekročiť dĺžku predkolóny. Prítomnosť SVE spôsobuje, že proces odparovania solventu zo zaplavenej zóny je komplexnejší a v niektorých bodoch sa líši od opisu, ktorý je uvedený v úvode kapitoly 3.

Tabuľka IV
Aplikácie „on-column“ techniky dávkovania veľkých objemov vzorky v GC a LC-GC analýze

Analyt ^a	Vzorka	Príprava vzorky ^b	Objem dávkovaný do LC [μl]	Rozmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^c [μl]	GC Detektor ^d	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
Fluorantén, pyrén/ chlórované fenoly	riečna voda	„in-vial“ extrakcia 8 ml vody s 2 ml <i>n</i> -hexánu	–	–	150	MSD/FID	0,01	8
Herbicidy kyseliny	voda	<i>in situ</i> esterifikácia	–	–	200	MS-SIM	0,01–0,06	9
chlórofenoxi octovej		a „in-vial“ extrakcia						
Benzonitril, nitrobenzén, <i>m</i> -krezol, 2-metyl naftalén, acenaftén, 2,3-dinitro- benzén, tributyl fosfát	riečna voda	predkoncentrácia 9,5 ml vody na LC kolóne, elúcia s EtAc	9,5	10 × 2 PLRP-S, 10 μm	75	FID	0,05	10
Karboxylové kyseliny a chlórované anilíny	voda	25 ml vzorky, on-line alkylácia/ acylácia, LLE do izooktánu	–	–	100	FID/ECD	1000/100	11
29 Organofosforečných pesticidov	olivový olej	filtrácia, 250 mg oleja doplnené do 5 ml cyklohexánom, GPC	20	250 × 4,6 PLGel, 5 μm, 50 Å póry	1300	FPD	0,001–0,003 mg.kg ⁻¹	12
PAU (EPA metóda 625)	odpadová voda	20 ml vody „in-vial“ extrakcia s 2 ml hexánu	–	–	100	FID	nízke μg.l ⁻¹	13
Organochlórované a organofosforečné pesticidy	podzemná voda	off-line LLE, 100 ml vzorka/ 1 ml hexán	–	–	100	MS full scan	0,01	14
Organochlórované pesticidy/PCBs	materské mlieko	extrakcia 100 g vzorky MeOH/dietyl éter/petroleum éter (1:1:1) a čistenie	35/100	50 × 1 Hypersil silica, 3 μm/30 × 2,1	240	ECD	0,3–2 μg.kg ⁻¹ tuku	15
<i>p,p'</i> -DDE/PCBs	podkožné tkanivo	saponifikácia	50	Spherisorb 5 μm	180	ECD	–	16
Organosírové zlúčeniny (tioly, sulfidy, tiofény, benzotiofény, dibenzotio- fény, benzo-naftotiofény)	ťažké a stredné ropné destiláty (150–450 °C)	10–25-násobné zriedenie vzorky heptánom	10	50 × 1 Hypersil silica, 3 μm	–	FID-SCD	–	17
Polycyklické aromatické zlúčeniny (PAU, hetero- cyklické-, nitro-, oxy-polyaromáty)	nafta; častice (mestského vzduchu a z výfukov dieslových motorov); uhľové dechty	off-line LLE, SFE	20	250 × 2 aminosilane- -bonded silica, 5 μm	500/350	MS/AED	–	18
Chlórované alkány a benzény	priemyselná odpadová voda	off-line LLE 30 ml vzorky s 5 ml hexánu	–	–	100	MS-SIM	0,0008– 0,0085	19

Tabuľka IV – pokračovanie

Analyt ^a	Vzorka	Príprava vzorky ^b	Objem dávkovany do LC [μl]	Rozmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^c [μl]	GC Detektor ^d	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
Nasytené a aromatické uhľovodíky	dieslové palivá	zriedenie 1:1000 pentánom	2,5	220 × 2,1 silica 5 μm a amino- -bonded silica 5 μm	260	FID	–	20
Alifatické aldehydy, sesqui- a monoterpénové aldehydy	pomarančový olej	zriedenie éterického oleja v pentáne, 1 %, (v/v)	20	100 × 2 Spherisorb, 5 μm	do 200	MS full scan	–	21
Metyl izobutyryát, metyl metakrylát, metyl α-formyl izobutyryát, metyl β-formyl izobutyryát	kontrola reakčnej zmesi	zriedenie dichlórmetánom a pentánom	24	100 × 2,1 cyano Spherisorb, 5 μm	200	FID	–	22
Organofosforečné pesticidy, triazíny	pitná a povr- chová voda	off-line SPE	–	–	100	FPD/ MS-SIM	0,001–10	23
Triazíny	povrchová voda	off-line mikroextrakcia, SPE	–	–	100–150	NPD	0,1	24
Triazíny	riečna a odpadová voda; pomaran- čový džús	on-line imunoafinitná SPE-SPE 10 ml vzorky, desorpcia so 100 μl etylacetátu	–	–	100	FID NPD	0,015– 0,025 0,0015	25
Chlórované fenoly	voda	acetylácia, off line/on-line SPE	2200	10 × 2 PLRP-S pre on-line SPE	110/85	FID	0,1	26
Atrazín, diazinon, simetrín, metolachlor, triazofos, dietyl ftalát, sulfotep, kofeín	voda	on-line SPE 20 ml vody	–	–	100	IR	0,1–1	27
Triazíny, organofosforečné pesticidy	povrchová voda	on-line SPE, PLRP-S	–	–	50	FID/MS	0,2–0,7/ 0,02–0,04	28
Alifatické a aromatické uhľovodíky	benzín	zriedenie	–	100 × 2 silica	100	FID	–	29
Chlórované benzény PCBs	palivový olej uhľový decht	zriedenie	0,06	1050 × 0,25 silica 960 × 0,25 ODS silica	22 40	FID FID	1000 –	30 31
Kyslíkaté PAU	častice z výfukov dieslových motorov	SFE s CO ₂ a modifikátorom	50	150 × 2 silica	200	FID	–	32
PAU	častice z výfukov dieslových motorov	–	–	100 × 2 silica	300–450	FID	–	33

Tabuľka IV – vysvetlivky

^a PAU – polycyklické aromatické uhľovodíky, PCBs – polychlórované bifényly; ^b LLE – extrakcia kvapalina–kvapalina, GPC – gélová permeačná chromatografia, SPE – extrakcia superkritickou kvapalinou, SPE – extrakcia tuhou fázou; ^c GC – objem dávkovaný do GC, LC – objem LC frakcie; ^d MS – hmotnostný spektrometer, MSD – hmotnostný detektor, FID – plameňovoionizačný detektor, SIM – selektívne monitorovanie iónov, ECD – detektor elektrónového záhytu, FPD – plameňovofotometrický detektor, SCD – chemiluminiscenčný (S – síra) detektor, AED – atómový emisný detektor, IR – infračervený detektor

Tabuľka V

Aplikácie dávkovania veľkých objemov cez slučku v GC a LC-GC analýze

Analyt	Vzorka	Príprava vzorky ^a	Objem dávkovaný do LC [μl]	Rozmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^b [μl]	Detektor ^c	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
α-, β-, γ-, δ- -Hexachlórocyclohexán Acinatrín, pyreteroidný insekticíd	podzemná voda ovocie	on-line LLE 10 ml vody izooktánom extrakcia ovocia	– 20	– 100 × 2,1 Lichrosorb Diol, 5 μm	100 280–420	ECD ECD	0,1 –	36 37
β-Blokátory (metoprolol, oxpremolol, propranolol, timolol) a kodeín	moč	filtrácia, on-line RPLC čistenie alebo LLE, silanizácia	–	20 × 2,1 C18, 5 μm	420	FID	–	38
Mono-, di-, triacylglyceroly	rastlinný olej, dieslové palivo	off-line acetylácia, on-line NPLC-GC	20	100 × 2 silica Spherisorb S5W, 5 μm	1000	FID	–	39
Alifatické alkoholy a steroly	olivový olej	off-line transesterifikácia	10	200 × 21 Hypersil silica, 5 μm	alkoholy 250 a steroly 450	FID	–	40
Hexachlórobutadién, hexachlórobenzén Organochlórované pesticídy/NCC-éter a ACC-éter	povrchová voda podzemná voda/testy akútnej toxicity s rybami a blchami	„in-vial“ extrakcia 1 ml vzorky, 1 ml pentán on-line LLE 10 ml vzorky do izooktánu	– –	– –	140 100, 250	MS-SIM ECD/FID	0,006 0,1–10	41 42

Tabuľka V – pokračovanie

Analyt	Vzorka	Príprava vzorky ^a	Objem dávkovany do LC [μl]	Rozmery LC kolóny [mm × mm i.d.]	GC/LC ^b [μl]	Detektor ^c	Medza detekcie [μg.l ⁻¹]	Cit.
Polycyklické aromatické zlúčeniny (PAU, heterocyklické-, nitro-, oxy-polyaromáty)	nafta, častice (mestského vzduchu a z výfukov dieslových motorov); uholné dechty	off-line LLE, SPE	20	100 × 2 Spherisorb, 5 μm	500/350	MS/AED	–	18
Nasýtené a aromatické uhlíkovodíky	dieslové palivá	zriedenie 1:1000 pentánom	2,5	220 × 2,1 silica 5 μm a amino- -bonded silica, 5 μm	260	FID	–	20
PCBs	krvná plazma	off-line extrakcia a čistenie	125–175	100 × 3 dinitro- anilinopropyl silica, 5 μm	1000	MS-SIM	–	43
2,6-Dichlórobenzén nitril, tetradifon, tetrasul, lindán	podzemná voda	on-line LLE	–	–	100	AED	10–500	44
Chlórované fenoly	voda	acetylácia, off line/on-line SPE	2200	10 × 2 PLRP-S, pre on-line SPE	110/85	FID	0,1	26
31 Organofosforečných a dusíkatých pesticídov	voda	on-line SPE	2000	10 × 2 PLRP-S, 15–25 μm	500 s ko- -solventom	NPD	0,01–0,17	45
Organochlórované a pyretroidné pesticídy	voda	off-line LLE	–	–	200	ECD	0,004–0,3 ^e , 0,05–0,1 ^f	46
PAU	častice z výfukov dieslových motorov			250 × 1 aminosilán/ silica v sérii	350	FID	–	47
PAU	mazací olej kerosén, surový olej	zriedenie	200	600 × 6 350 × 0,32 DNPMP-silica	1000 50 s ko- -solventom	FID MS	200 –	48 49
PAU	komínové sadze	soxhlet extrakcia	10	250 × 2 aminosilán	500	FID	–	50

^a NPLC – kvapalinová chromatografia na normálnych fázach; RPLC – kvapalinová chromatografia na reverzných fázach, ^b GC/LC viz ^c v tab IV, ^d ostatné použité skratky ako v tab. IV, ^e pre organochlórované pesticídy, ^f pre pyretroidy

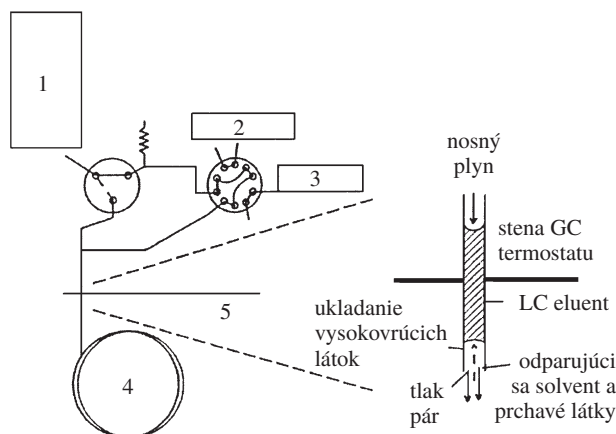
Čelo zaplavenej zóny sa môže nachádzať blízko SVE, kde je takmer atmosferický tlak. Teda medzi vstupom do predkolóny a čelom zaplavenej zóny existuje pokles tlaku, v dôsledku ktorého dochádza k zmenám v procese vyparovania solventu^{6,7}.

Aplikácie

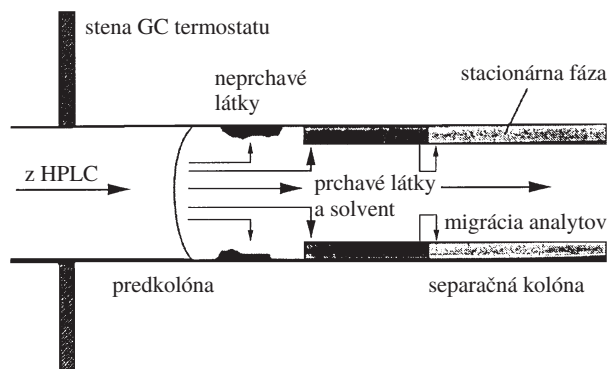
„On-column“ techniky dávkovania sú vhodné hlavne pri analýze termolabilných a prchavých analytov. Využívajú sa predovšetkým na spájanie LC-GC, on-line extrakcie kvapalina–kvapalina–GC alebo on-line extrakcie na tuhej fáze (SPE)–GC. Ich nevýhodou je menšia robustnosť v porovnaní s inými technikami pri nástreku vzoriek s vysokou koncentráciou vysoko vrúcich nečistôt (humínové kyseliny v environmentálnych vzorkách, tuky a oleje v biologickom materiáli a potravinách) alebo rozpúšťadiel obsahujúcich stopy vody, prípadne iné agresívne látky. Dochádza k deaktivácii predkolóny a k vzniku adsorpčných miest. „On-column“ techniky sú takisto nevhodné pre priamu analýzu vodných vzoriek. Voda a jej zmesi s inými rozpúšťadlami nemajú schopnosť zmáčat steny predkolóny, teda nemajú schopnosť vytvárať súvislú vrstvu kvapaliny. Pre takéto vzorky sa výrazne znižuje zadržiavacia kapacita predkolóny a neuplatňujú sa efekty solventu, teda rekoncentrácia prchavých látok a zmáčanie stacionárnej fázy v zadržiavacej predkolóne, alebo v separačnej kolóne. Pre silne znečistené a agresívne vzorky sa využíva dávkovanie do odparovacej komôrky. Príklady aplikácií GC analýzy, alebo LC-GC analýzy s využitím „on-column“ techník pre dávkovanie veľkých objemov sú uvedené v tabuľke IV.

3.2. Dávkovanie cez slučku

Druhý spôsob, akým možno dávkovať veľké objemy vzorky, je cez slučku s úplným odparením solventu (obr. 6). Tento spôsob bol pôvodne vyvinutý pre on-line kombináciu LC-GC. Vzorka sa dávkuje cez slučku, ktorá je súčasťou 10-kanálového ventilu³⁴. Ďalšími kanálmi je k nemu pripojená ešte slučka pre vnútorný štandard alebo premývací solvent, prívod nosného plynu a predkolóna. Po naplnení oboch slučiek a otočení ventilu sa vzorka vytlačí nosným plynom zo slučky do predkolóny. Na rozdiel od dávkovania „on-column“ technikou je teplota termostatu mierne nad teplotou varu solventu. Všetok solvent sa okamžite vyparuje a tlak vytvorený odparujúcim sa solventom zabraňuje, aby kvapalina prenikala hlbšie do predkolóny. Na jej stenách sa teda nevytvára žiadna súvislá vrstva kvapaliny, ktorá by mohla zachytávať prchavé látky. Tie sa odparujú spolu so solventom. Dávkovanie prebieha za podmienok úplného súčasného odparovania solventu (fully concurrent solvent evaporation) (obr. 7). Táto metóda je preto vhodná len na analýzu látok s relatívne vysokými GC elučnými teplotami, tj. len pre zlúčeniny, ktoré eluujú pri teplote aspoň o 100–120 °C vyššej, ako je teplota počas dávkovania. Z toho istého dôvodu (absencia zaplavenej zóny) postačujú aj veľmi krátke predkolóny (1–2 m). Pary solventu a prchavé látky sa eliminujú buď cez kolónu a detektor, alebo rýchlejšie cez SVE. Za podmienok úplného súčasného odparovania rozpúšťadla môžu byť v relatívne krátkom čase dávkované objemy až niekoľko mililitrov. Doposiaľ zaznamenané maximum bolo 20 ml za menej ako 20 minút³⁵. Zaoštrovanie počiatkových zón analytov sa uskutočňuje len v dôsledku rozdielnych



Obr. 6. Schéma dávkovania veľkých objemov cez slučku; 1 – nosný plyn, 2 – slučka pre vnútorný štandard alebo premývací solvent, 3 – slučka na zachytenie LC frakcie, 4 – predkolóna, 5 – stena GC



Obr. 7. Dávkovanie za podmienok úplného súčasného odparovania solventu (FCSE); na stenách predkolóny sa nevytvára kvapalný film a prchavé látky unikajú spolu so solventom

pomerov stacionárnych fáz v predkolóne (bez stacionárnej fázy) a v separačnej kolóne.

V podstate je potrebné optimalizovať jediný parameter, a tým je počiatková teplota, pri ktorej sa dávkuje vzorka. Príliš nízka teplota spôsobuje nežiadúcu opätovnú kondenzáciu solventu na stenách predkolóny. Kondenzovaná kvapalina môže preniknúť až do separačnej kolóny, čo vedie k širokému a deformovanému píkom. Na druhej strane, príliš vysoká počiatková teplota vedie k nadmerným stratám prchavejších analytov, čo ešte viac zužuje aplikačný rozsah metódy. Na zníženie strát nižšie vrúcich analytov sa k hlavnému solventu pridáva ko-solvent. Ko-solvent musí mať vyššiu teplotu varu ako hlavný solvent, musí sa s ním miešať a dobre zmáčat predkolónu. Zatiaľ čo sa hlavný solvent počas dávkovania okamžite odparuje, ko-solvent vytvára na stenách predkolóny tenký film, ktorý slúži ako dočasná stacionárna fáza zachytávajúca prchavé analyty. Možnosti použitia tejto techniky v GC a v kombinácii LC-GC sú zhrnuté v tabuľke V.

3.3. Dávkovanie do odparovacej komôrky

Vzorky obsahujúce neprchavé interferujúce látky, alebo vzorky rozpustené v solventoch s obmedzenými zmáčacími schopnosťami (zmes organických rozpúšťadiel s vodou) sa musia dávkovať do odparovacej komôrky. Vzorka sa dávkuje do studeného injektora (pri teplote pod teplotou varu rozpúšťadla), alebo do horúceho injektora. K odparovaniu solventu a k separácii analytov od solventu dochádza buď v tej istej časti injektora, alebo sú jednotlivé kroky od seba priestorovo oddelené. Odparovacia komôrka môže byť plnená vhodným sorbentom na zvýšenie jej zadržiavacej kapacity pre kvapalinu. Rôzny dizajn odparovacích komôriek, použitie rôznej počiatkovej teploty injektora pri dávkovaní, rôzne spôsoby odstránenia solventu a separovania solventu od analytov umožňujú rôzne kombinácie pre nástrek veľkých objemov, s nomenklatúrou, ktorá zdánlivo ešte zväčšuje tento počet a zvyšuje ich neprehľadnosť⁵¹.

4. Záver

Dávkovanie veľkých objemov vzorky v kapilárnej GC umožňuje znížiť medze detekcie v stopovej analýze alebo eliminovať zakoncentrovací krok odparovaním, čo zároveň umožňuje skrátenie a zjednodušenie prípravy vzorky pri dosiahnutí tej istej medze detekcie ako s použitím samostatného obohacovacieho stupňa. Medzi základné techniky dávkovania veľkých objemov patrí dávkovanie do „on-column“ injektora, dávkovanie cez slučku a dávkovanie do odparovacej komôrky. Dávkovanie do „on-column“ injektora je vhodné pre relatívne čisté vzorky a pre prchavé analyty. Objemy do 50 µl je možné dávkovať klasickou „on-column“ technikou, pri dávkovaní väčších objemov je nutné eliminovať pary solventu cez ventil pre elimináciu pár solventu. Optimalizácia parametrov je pomerne náročná, kritický parameter, ktorý ovplyvňuje straty prchavých látok a kvalitu chromatografickej separácie, je moment zatvorenia ventilu. Pri dávkovaní cez slučku je potrebné optimalizovať jediný parameter, a to teplotu GC termostatu počas prenosu vzorky zo slučky do predkolóny. Táto technika je vhodná najmä pre vyššie vrúce analyty, jej rozsah použitia sa dá rozšíriť na prchavejšie látky použitím ko-solventu s teplotou varu vyššou ako má hlavný solvent. Dávkovanie do odparovacej komôrky je vhodné pre matrice obsahujúce neprchavé rušivé látky.

LITERATÚRA

- Grob K., Biedermann M.: *J. Chromatogr.*, A 750, 11 (1996).
- Boselli E., Grob K., Lercker G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 327 (1999).
- Vreuls R. J. J.: *PhD Thesis*. Free University of Amsterdam, Amsterdam 1993.
- Boselli E., Grolimund B., Grob K., Lercker G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 149 (1999).
- Mol H. G. J., Janssen H. G. M., Cramers C. A., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 703, 277 (1995).
- Boselli E., Grolimund B., Grob K., Lercker G., Amadò R.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 355 (1998).
- Grolimund B., Boselli E., Grob K., Amadò R., Lercker G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 378 (1998).
- Magni P., Munari F., Trisciani A., Trestianu S.: *20th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda 1998*.
- Catalina M.I., Dallüge J., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 877, 153 (2000).
- Vreuls R. J. J., Cuppen W. J. G. M., De Jong G. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 13, 157 (1990).
- Goosens E. C., Broekman M. H., Wolters M. H., Strijker R. E., De Jong D., De Jong G. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 242 (1992).
- Jongenotter G. A., Kerkhoff M. A. T., van der Knaap H. C. M., Vandeginste B. G. M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 17 (1999).
- Morabito P. L., McCabe T., Hiller J. F., Zakett D.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 90 (1993).
- Termonia A., Termonia M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 447 (1997).
- van der Hoff G. R., Baumann R. A., van Zoonen P., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 222 (1997).
- Gort S. M., van der Hoff R., Baumann A., van Zoonen P., Martin-Moreno J. M., van't Veer P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 138 (1997).
- Beens J., Tijssen R.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 131 (1997).
- Lewis A. C., Askey S. A., Holden K. M., Bartle K. D., Pilling M. J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 109 (1997).
- Tamilarasan R., Morabito P. L., Lamparski L., Hazelwood P., Butt A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 17, 689 (1994).
- Trisciani A., Munari F.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 17, 452 (1994).
- Mondello L., Bartle K. D., Dugo G., Dugo P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 17, 312 (1994).
- Andersson T., Hyötyläinen T., Riekkola M. L.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 261 (1999).
- Ramalhó S., Hankemeier T., De Jong M., Brinkman U. A. T.: *J. Microcol. Sep.* 7, 383 (1995).
- Beltran J., López F.J., Forcada M., Hernández F.: *Anal. Chim. Acta* 356, 125 (1997).
- Dallüge J., Hankemeier T., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 830, 377 (1999).
- Louter A. J. H., Jones P. A., Jorritsma J. D., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 363 (1997).
- Hankemeier T., Hooijschuur E., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 341 (1998).
- Hankemeier T., Steketee P. C., Vreuls R. J. J., Brinkman U. A. T.: *J. Chromatogr.*, A 750, 161 (1996).
- Munari F., Trisciani A., Mapelli G., Trestianu S., Grob K., Colin J. M.: *J. High Resolut. Chromatogr.*, Chromatogr. Commun. 8, 601 (1985).
- Cortes H. J., Richter B. E., Pfeiffer C. D., Jensen D. E.: *J. Chromatogr. Commun.* 11, 706 (1988).
- Cortes H. J., Pfeiffer C. D., Richter B. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 8, 469 (1985).

32. Kelly G. W., Bartle K. D., Clifford A. A., Robinson R. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **15**, 526 (1992).
33. Kelly G. W., Bartle K. D., Clifford A. A., Scammells D.: *J. Chromatogr. Sci.* **31**, 73 (1993).
34. Kelly G. W., Bartle K. D.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **17**, 390 (1994).
35. Grob K., Schmarr H.-G., Mosandl A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **12**, 375 (1989).
36. Goosens E. C., Bunschoten R. G., Engelen V., De Jong D., van den Berg J. H. M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **13**, 438 (1990).
37. Modeste F., Caude M., Devaux P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **19**, 535 (1996).
38. Hyötyläinen T., Pilviö R., Riekkola M. L.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **19**, 439 (1996).
39. Lechner M., Bauer-Plank Ch., Lorbeer E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **20**, 581 (1997).
40. Lanuzza F., Micali G., Calabrò G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **19**, 444 (1996).
41. Venema A., Jelink J. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **19**, 234 (1996).
42. Goosens E. C., De Jong D., De Jong G. J., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **20**, 352 (1997).
43. Grimvall E., Östman C., Nilsson U.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **18**, 685 (1995).
44. Goosens E. C., De Jong D., De Jong G. J., Rinkema F. D., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **18**, 38 (1995).
45. Noij T. H. M., van der Kooi M. M. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **18**, 535 (1995).
46. van der Hoff G. R., Gort S. M., Baumann R. A., van Zoonen P., Brinkman U. A. T.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **14**, 465 (1991).
47. Kelly G. W., Bartle K. D., Breen D. G., Clifford A. A.: *Proceedings of the 15th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, May 1993.*
48. Ostman C., Bemgard A., Colmsjo A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **15**, 437 (1992).
49. Welch K. J., Hoffman N. E.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **15**, 170 (1992).
50. Heo G. S., Suh J. K.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **13**, 748 (1990).
51. Engewald W., Teske J., Efer J.: *J. Chromatogr., A* **842**, 143 (1999).

E. Korenková^a, E. Matisová^b, and J. Slobodník^a (^a*Environmental Institute, Koš*, ^b*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic*): **Large-Volume Injection in Capillary Gas Chromatography**

The review deals with large-volume injection techniques in capillary GC. Basic principles, advantages and limitations of cool on-column injection in standard setup and with the use of solvent vapour exit, as well as of loop-type injection are described. An overview of applications is summarized.