



Uniwersytet
Gdański



Katedra Analizy Środowiska

Instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych

Ćwiczenie 1

Chromatografia gazowa

– wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

Gdańsk, 2023

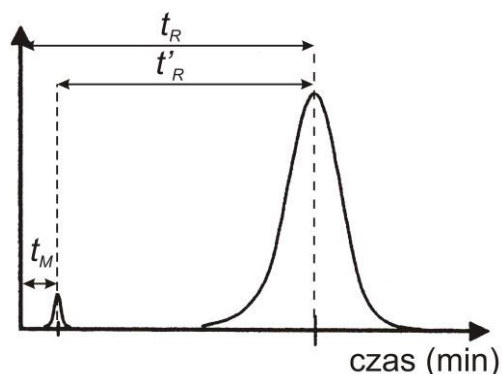


Metody Separacyjne

Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

1. Wprowadzenie

Chromatografia jest fizykochemiczną metodą rozdzielania składników jednorodnych mieszanin w wyniku ich różnego podziału między fazą ruchomą (poruszającą się w określonym kierunku) a fazą nieruchomą (stacjonarną) układu chromatograficznego. Różny podział składników mieszaniny pomiędzy obie fazy powoduje zróżnicowanie prędkości migracji i rozdzielanie składników. Faza ruchoma porusza się wewnątrz kolumny, natomiast faza stacjonarna stanowi wypełnienie kolumny lub jest osadzona na wewnętrznych ściankach kolumny. W chromatografii gazowej (GC - *gas chromatography*) **fazą ruchomą jest gaz**. Efekt rozdzielania chromatograficznego jest wykreślany w postaci chromatogramu, który przedstawia wykres wskazań sygnału uzyskanego w detektorze w funkcji czasu (rys. 1).



Rys. 1. Chromatogram i sposób pomiaru podstawowych wielkości chromatograficznych

Możemy określić na nim:

- całkowity czas retencji t_R ,
- czas retencji substancji niezatrzymywanej t_M poprzednio nazywany czasem martwym lub czasem zerowym,
- zredukowany czas retencji t'_R .

W trakcie analizy jakościowej porównuje się czas retencji pików identyfikowanej substancji z czasem retencji pików wzorca, chromatografowanych w jednakowych warunkach. Badania zwykle polegają na potwierdzeniu lub wykluczeniu obecności danego związku w analizowanej mieszaninie. Jeżeli na chromatogramie substancji badanej nie występuje pik o czasie retencji równym retencji substancji wzorcowej oznacza to iż związek wzorcowy jest nieobecny



Metody Separacyjne

Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

w analizowanej mieszaninie. Z kolei jeśli taki sygnał występuje obecność substancji wzorcowej nie jest przesądzona, gdyż wiele związków należących do różnych klas związków chemicznych może mieć identyczny lub prawie identyczny czas retencji. Wadą tej metody jest to, że niektóre wzorce mogą być trudno dostępne.

Często do analizy jakościowej używa się indeksów retencji zwanych indeksami Kováts'a. Indeks retencji Kováts'a substancji badanej jest równy $100 \times$ liczba atomów węgla hipotetycznego n-alkanu mającego taki sam zredukowany czas retencji jak badana substancja. Zgodnie z konwencją alkanany mają w każdej temperaturze i dla każdej fazy ciekłej indeks równy liczbie atomów węgla $\times 100$, a więc np. dla n-pentanu 500, n-oktanu 800. Do określenia indeksów retencji związku wybiera się dwa n-alkany, których czasy retencji leżą poniżej i powyżej czasu retencji nieznanego związku. Te alkanany dodaje się następnie do próbki i razem z nią analizuje. Jeżeli analiza alkanów i próbki musi przebiegać oddzielnie, należy przeprowadzać obydwa badania bezpośrednio jedno po drugim.

Indeks retencji Kováts'a substancji analizowanych w warunkach izotermicznych oblicza się zgodnie z poniższym równaniem:

$$RI_X = 100z + 100 \frac{\log t'_{R(X)} - \log t'_{R(z)}}{\log t'_{R(z+1)} - \log t'_{R(z)}}$$

gdzie :

$t'_{R(x)}$ – zredukowany czas retencji substancji badanej $t'_{R(z)}$ – zredukowany czas retencji n-alkanu o (z) atomach węgla w łańcuchu $t'_{R(z+1)}$ – zredukowany czas retencji n-alkanu o (z+1) atomach węgla w łańcuchu

Z wzoru wynika, że $t'_{R(z)} < t'_{R(x)} < t'_{R(z+1)}$

Metody Separacyjne

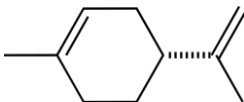
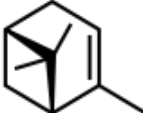
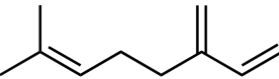
Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

Indeks retencji w programowanej temperaturze oblicza się stosując poniższe równanie:

$$LTPRI_X = 100z + 100 \frac{t'_{R(X)} - t'_{R(z)}}{t'_{R(z+1)} - t'_{R(z)}}$$

Indeks retencji Kováts'a jest w znacznym stopniu niezależny od warunków analizy i przez to jest parametrem charakterystycznym dla danego związku w danej temperaturze i w obecności określonej fazy ciekłej. Podczas wyznaczania indeksów retencji należy zachować stały przepływ gazu nośnego, niską temperaturę początkową oraz stosować taką ilość dozowanej próbki, aby pik analitu był symetryczny. Uzyskaną eksperymentalnie wartość indeksu porównuje się z danymi zawartymi w literaturze (tab. 1) w celu identyfikacji analitu.

Tabela 1. Wartości indeksów Kováts'a dla wybranych terpenów (Adams, 2009).

Nazwa	Wzór strukturalny	LTPRI
limonen		1024
alfa-pinen		932
mircen		988



Metody Separacyjne

Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

2. Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest nabycie umiejętności obsługi chromatografu gazowego oraz wykonanie analizy jakościowej za pomocą chromatografii gazowej.

3. Wykonanie ćwiczenia

Stężenia roztworów do przygotowania podaje prowadzący na zajęciach.

- Wykonać analizy roztworu wzorcowego: mieszaniny 5-ciu *n*-alkanów w programowanej temperaturze oraz w warunkach izotermicznych.
- Wykonać analizy roztworów wzorcowych terpenów w programowanej temperaturze oraz w warunkach izotermicznych.

Rozcieńczeń dokonać używając chlorku metylenu.

- Wykonać ekstrakcję około 0,1 g części pomarańczowej skórki (nie albedo), bądź innego materiału dostępnego na zajęciach, za pomocą 3 mL heksanu mieszając przez około 5 min. Pozostawić ekstrakt na około 5 min, po czym przesączyć go do naczynka chromatograficznego. Jeżeli będzie to konieczne to zatężyć ekstrakt w strumieniu azotu do około 100 μ L.



Metody Separacyjne

Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

Analiza chromatograficzna w warunkach izotermicznych:

- Chromatograf GC z detektorem FID,
- Kolumna chromatograficzna RTX-5 30 m, 0,25 mm średnica wewnętrzna,
- Temperatura kolumny: 120°C,
- Temperatura dozownika: 300°C,
- Temperatura detektora: 300°C,
- Dzielnik przepływu: 1:20,
- Gaz nośny: argon, stały przepływ 1 mL/min,
- Powietrze: 350 kPa
- Wodór: 35 kPa,

Analiza chromatograficzna w programowanej temperaturze:

- Chromatograf GC z detektorem FID,
- Kolumna chromatograficzna RTX-5 30 m, 0,25 mm średnica wewnętrzna,
- Program temperaturowy: 60 - 120°C, narost 3°C/min,
- Temperatura dozownika: 300°C,
- Temperatura detektora: 300°C,
- Dzielnik przepływu: 1:20,
- Gaz nośny: argon, stały przepływ 1 mL/min,
- Powietrze: 350 kPa,
- Wodór: 35 kPa,

Wartość narostu, w przypadku programowanej temperatury, może ulec modyfikacji przed wykonaniem analiz.



Metody Separacyjne

Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

4. Opracowanie wyników

- Odczytać z chromatogramów czasy retencji n-alkanów i terpenów
- Odczytać z chromatogramów czasy retencji substancji obecnych w analizowanym ekstrakcie.
- Obliczyć indeksy retencji Kovats'a dla terpenów (analiza wzorców) oraz substancji obecnych w ekstrakcie.
- Dokonać identyfikacji substancji obecnych w ekstrakcie poprzez porównanie wartości indeksów retencji Kovats'a z wartościami uzyskanymi dla substancji wzorcowych (terpenów) oraz z wartościami literaturowymi, przedstawionymi w tabeli 1.

Odczyt wartości czasów retencji jak i obliczenia indeksów dokonać oddzielnie dla warunków izotermicznych i programowanej temperatury.

Sprawozdanie:

Ogólny zakres: Cz. Doświadczalna; Cz. Wynikowa; Wnioski i Dyskusja.

- Przetawić w formie schematu blokowego lub krótkich procedur identyfikację analitów w ekstraktach. Należy uwzględnić warunki przeprowadzonych analiz.
- Wyniki zaprezentować w tabelach lub/i na rysunkach/chromatogramach.

Podstawowa literatura:

- Instrukcja do ćwiczenia
- Skrypt z technik separacyjnych i instrukcje ogólne dostępne na stronie Katedry Analizy Środowiska: <https://chemia.ug.edu.pl/strona/33539/skrypty-i-instrukcje-ogolne>

Szkło i odczynniki

- roztwór wzorcowy mieszaniny 5 n-alkanów: $n\text{-C}_8$, $n\text{-C}_9$, $n\text{-C}_{10}$, $n\text{-C}_{11}$, $n\text{-C}_{12}$ (1 μL /mL dichlorometanu),



Metody Separacyjne

Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa

- roztwór wzorcowy limonenu (1 μL /mL dichlorometanu),
- roztwór wzorcowy α -pinenu (1 μL /mL dichlorometanu),
- roztwór wzorcowy mircenu (1 μL /mL dichlorometanu),
- mieszanina terpenów (pobrać po 50 μL z roztworów wzorcowych do naczynka chromatograficznego)
- dichlorometan do mycia strzykawki,
- strzykawka do GC 10 μL ,
- kolbka stożkowa z korkiem 10 mL – 1 szt
- naczynko zakręcane 1,5 mL oraz mały lejek i sączki
- pipeta 5 mL, pompka do pipet,
- heksan 50 mL
- nóż i płytka do krojenia

Literatura

1. Piotr Stepnowski, Elżbieta Synak, Beata Szafranek, Zbigniew Kaczyński. *Techniki separacyjne*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2010,
2. Walenty Szczepaniak. *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*. PWN, W-wa, 1996.
3. Ryszard Kocjan (red.). *Chemia analityczna*. Podręcznik dla studentów. Tom 2. PZWL, W-wa, 2000.
4. Zygfryd Witkiewicz. *Podstawy chromatografii*. WNT, Warszawa, 2005.
5. http://chemia.ug.edu.pl/sites/default/files/_nodes/strona-chemia/17399/files/slady_gc.pdf



Metody Separacyjne

Chromatografia gazowa – wprowadzenie do techniki oraz analiza jakościowa