

Plynová rozdělovací chromatografie (GLC)

Plynová chromatografie (GC) je určena pro separaci plynných látek, nebo látek, které lze zplynit. V plynové chromatografii se látky navzájem separují na základě intenzity své interakce se stacionární fází; čím silnější interakce, tím delší retence látky a naopak. Hnací silou je proud inertního plynu (mobilní fáze), např. CO₂, dusík, argon. Logaritmické hodnoty redukováných retenčních časů organických látek jsou v lineárním vztahu s počtem uhlíků v molekule. Tato závislost je dána souvislostí mezi teplotou varu látky a počtem uhlíků v molekule. Tímto způsobem je možné identifikovat jednotlivé signály spektra např. u *n*-alkanů a *n*-alkoholů.

Zadání úlohy:

Zjištění opakovatelnosti separace směsi alkoholů a stanovení limitu detekce pro etanol

Pracovní podmínky separace :

- kapilární kolona DB5-MS (95 % methyl, 5 % fenyl, délka 58 m, vnitřní průměr 250 μm, vrstva sorbentu 0,25 μm)
- nosný plyn dusík; přetlak 0,36 MPa; průtok přes kapilární kolonu 1,5 ml/min (při 35°C)
- detektor FID; přetlaky plynů – vzduch (0,2 MPa) a vodík (0,15 až 0,20 MPa)
- teplota nástřikového prostoru 200°C
- teplota kolony 35°C po dobu 480 s; následuje navýšení na 95°C (rychlost 60°C/min)
- celkový přetlak na koloně 200 kPa po dobu 480 s; následuje navýšení na 250 kPa (rychlost 50 kPa/min.)
- teplota detektoru 220°C
- objem nástřiku 2 μl
- rozdělovací poměr nástřiku 1:50

Orientační nastavení zapisovače a integrátoru GC:

- rozsah 50 mV
- rychlost posunu papíru 1,5 cm/min.
- FID integrátor v poloze 1
- RANGE v poloze 1

Popis vzorků:

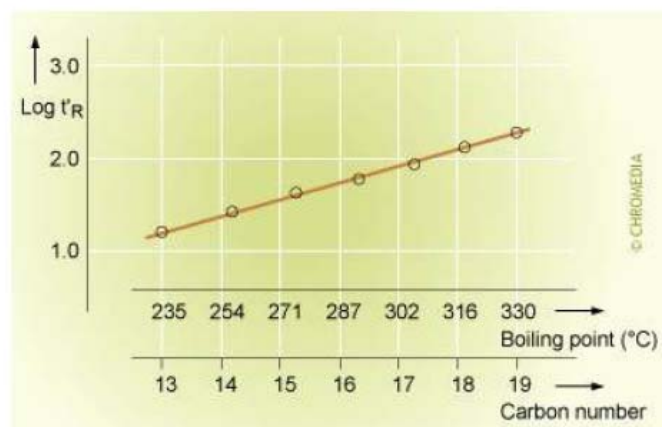
- směs čtyř alkoholů (metanol, etanol, *n*-propanol a isobutanol) v benzenu
- obsah jednotlivých alkoholů 0,5 % (v/v)

Pracovní postup:

- za dohledu cvičícího si prohlédněte součásti plynového chromatografu GC-96 (kolonový prostor, detektor, nástříkový prostor)
- uveďte přístroj do chodu a nechte jej minimálně půl hodiny běžet při maximální provozní teplotě, kterou budete používat v průběhu cvičení (viz. výše – teplotní program)
- změřte 5× směs standardů (mezi jednotlivými separacemi je nutné nechat přístroj vychladnout na počáteční provozní teplotu!)
- určete pořadí jednotlivých analytů na základě očekávaného chování v GC systému s plamenoionizačním detektorem
- v teplotním programu zkraťte dobu, po kterou je kolona termostatována na 35°C na polovinu (ostatní parametry ponechte stejné), a opakujte separaci směsi
- s původním nastavením teplotního programu změřte 3× roztok standardu etanolu pro určení limitu detekce; v případě potřeby zřeďte vzorek tak, aby byl měřitelný v jednom chromatogramu šum detektoru i signál vzorku
- navrhněte a otestujte vhodnější podmínky pro co nejrychlejší separaci prvního a posledního signálu

Vyhodnocení výsledků:

1. z chromatogramů odečtete retenční časy, výšky a šířky signálů jednotlivých standardů a vypočtete příslušné standardní směrodatné odchylky (dle Dean-Dixona) a relativní směrodatné odchylky; výsledky uveďte ve formě intervalů spolehlivosti pro 95% hladinu spolehlivosti (hladina významnosti $\alpha = 0,05$)
2. vyneste do grafu závislost logaritmu (\log_{10}) redukovaného retenčního času (mrtvý retenční čas je roven 230 s) na počtu uhlíků alkoholu pro všechny alkoholy



3. porovnejte účinnost kolony pro separované látky na základě počtu teoretických pater – počítejte se známou nejistotou vstupních dat dle zákona o šíření chyb
4. vypočtete rozlišení mezi dvěma nejbližšími signály
5. na základě znalosti výšky šumu určete jeho směrodatnou odchylku a vypočtete limit detekce pro stanovovanou složku směsi jako 2σ
6. zvolte si jeden analyt jako vnitřní standard a dle jeho výšky normalizujte ostatní signály; proveďte výpočty s normalizovanými daty jako v bodě 1 a výsledky porovnejte

Otázky k diskuzi – diskutujte v protokolu:

- za předpokladu úplného vypláchnutí nastříknutého vzorku do prostoru kolony a do okolí (v poměru daném rozdělovacím poměrem nástřiku; 1:50) vypočtete na základě koncentrace standardních roztoků množství molekul odpovědných za získaný signál
- v jaké fázi experimentu se vnaší do stanovení pravděpodobně největší chyba
- čeho docílíte přidáním vnitřního standardu do vzorku a následnou normalizací výsledků
- porovnejte vypočtené počty teoretických pater s jinými separačními metodami (kapalinová chromatografie, kapilární elektroforéza)
- jaký vliv má podle vás pozice píku benzenu (rozpouštědla) v chromatografickém systému na výslednou separaci