N E V I N N Ý zabiják

Za pomoci tohoto pracovního listu a plynového chromatografu Vernier GC Mini proveďte měření neznámých vzorků a stanovení methanolu a ethanolu.

1. Nejprve je potřeba si ujasnit rozdíly mezi methanolem a ethanolem. Napiš vlastnosti obou látek. Jaké jsou mezi nimi rozdíly? Lze je rozeznat pouhými smysly (zrak, čich)?

a) Methanol:

b) Ethanol:

2. Podle které látky je pojmenován tento pracovní list „Nevinný zabiják“? A proč se jí tak dá říkat?

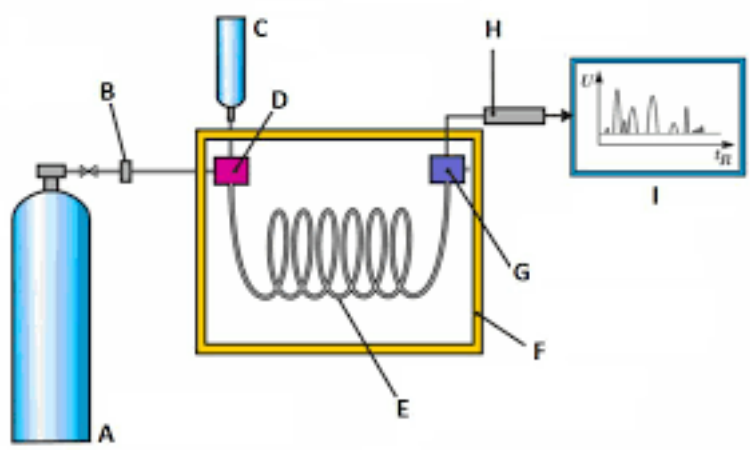
3. V chemických tabulkách vyhledej body varů obou látek a zapiš je do připravené tabulky. Nakresli strukturní vzorce.

	Bod varu (°C)	Strukturní vzorec
Ethanol		
Methanol		

4. Methanol a ethanol se od sebe velmi těžko dají oddělit. Jednou z mála efektivních metod je plynová chromatografie. Využij své znalosti a vyplň následující tabulku.

	Plynová chromatografie
Mobilní fáze:	
Stacionární fáze:	
Jaké látky je možné oddělovat?	

5. Popište schéma plynového chromatografu. Použijte pojmy z nabídky.



Obrázek 1 Schéma plynového chromatografu (Opletal, 1994)

Nabídka: vzorek, termostat, chromatogram, nosný plyn, kolona, zesilovač signálu, detektor, regulátor průtoku, nástřik vzorku a nosného plynu

Stanovování methanolu a ethanolu pomocí chromatografu Vernier GC-mini

Pomůcky: přístroj Vernier GC mini, stříkačka s inzulinovou jehlou, buničina, počítač nebo notebook s nainstalovaným programem Loger Pro 3.8.6. (nebo novější verze)

Chemikálie: neznámý vzorek ve vialce, ethanol, methanol

Ochranné pomůcky: laboratorní plášť, laboratorní brýle, gumové rukavice

Upozornění: Dávkování vzorku do přístroje se provádí stříkačkou s velmi ostrou jehlou. Dbejte na zvýšenou bezpečnost při manipulaci s jehlou. Vzhledem k těkavosti vybraných alkoholů, provádějte pokus v digestoři nebo dobře větrané místnosti.

1. Příprava přístroje k měření

a. Zapněte Mini GC.
b. Připojte GC USB kabelem k počítači nebo ekvivalentnímu zařízení
c. Spusťte program Logger Pro.
d. Klikněte na bílou šipku v zeleném rámečku.
e. Zobrazí se tabulka, kterou vyplňte podle druhu vzorku, který budete analyzovat. Nastavte následující hodnoty.

	Páry čistého methanolu	Páry čistého ethanolu nebo směsi
Start temperature	64,70 °C	78,29 °C
Hold time	3 min	3 min
Ramp rate	5°C/min	5°C/min
Final temperature	64,70 °C	64,70 °C
Hold time	3 min	3 min
Total length	6.0 min	6.0 min
Pressure	1.0 kPa	1.0 kPa

f. Potvrďte váš výběr a přístroj se začne zahřívat.

Poznámka: Objeví se nová zpráva, “Do not inject until GC is ready (nedávkujte vzorek, dokud GC není připraven k měření)”, a LED dioda Mini GC svítí červeně. Mini GC se několik minut bude zahřívat na provozní teplotu, poté se stabilizuje. Ve chvíli, kdy je chromatograf připraven k dávkování vzorku (injekční stříkačkou) – objeví se zpráva “Inject the sample ”, a LED dioda se rozsvítí zeleně. Během zahřívání chromatografu proveďte úkoly v bodech 4-6.

2. Příprava vzorku

Čištění stříkačky

a. Zasuňte zcela píst.
b. Nasajte a vysajte alespoň 3x okolní vzduch.
c. Opatrně vypusťte kapalinu do ubrousku.

Příprava – standardu nebo vzorku – POZOR!!! – nesmíte nasát kapalinu, nasávejte jen plyn!!!

a. Zapíchněte jehlu do vialky se standardem (nebo vzorkem) přes septum tak, aby jehla byla ponořena do kapaliny ve vialce, cca 2-4 mm ode dna vialky.
b. Otočte vialku dnem vzhůru tak, aby se ústí jehly ocitlo bezpečně mimo kapalinu.
c. Několikrát vytáhněte a zasuňte píst stříkačky (vždy tak, abyste bezpečně nasávali plyn (páry)). Nesmí se stát, že byste nasáli kapalinu.
d. Naberte cca 1,3 ml (dle stupnice na stříkačce) plynu nad kapalinou. Otočte vialku zpět dnem dolů a vytáhněte stříkačku z vialky.
e. Posuňte píst tak, aby objem nasátého plynu byl přesně 1 ml.
f. Jemně otřete jehlu do ubrousku či buničiny.

Dávkování vzorku

Připravte se na dávkování standardu nebo vzorku do chromatografu. To je třeba provést bezprostředně po nadávkování do stříkačky. Je *výhodné pracovat ve dvojici*, jeden bude ovládat chromatograf přes PC, druhý dávkovat vzorek.

a. Pokud Mini GC dosáhlo své pracovní teploty a tlaku a je připraveno k měření, objeví se zpráva: “Inject the sample“ a LED dioda na Mini GC svítí zeleně.
b. Zasuňte jehlu injekční stříkačky do dávkovacího otvoru chromatografu tak, že držíte stříkačku jednou rukou nahoře a druhou dole, aby rukou nahoře bylo možno stlačit píst. Stříkačka musí jít kolmo k chromatografu a být co nejvíce v této poloze stabilní.
c. V jednu chvíli stlačte píst a zároveň stiskněte položku “Změřit”, čímž spustíte měření. Ihned ale opatrně, vyndejte stříkačku z dávkovacího otvoru.

Zatímco probíhá měření, stříkačku několikrát propláchněte vytažením a zatažením pístu vzduchem. Sběr dat bude ukončen po zhruba 6 minutách.

3. Analýza výsledných chromatografů

a. Zvolte “Analysis” z menu “Integration using maxima”
b. Vyberte a integrujte píky. Ke každému vzniklému píku si do tabulky pod chromatogram zapište, o jakou látku, případně o jaké množství se jedná.
c. Poznamenejte si retenční čas do tabulky níže, stejně tak název látky, je-li znám.
d. Pokud je ve chromatogramu více složek (píků), proveďte vyhodnocení pro všechny z nich.
e. Pokud jste označili a vyhodnotili všechny píky, zvolte OK.

Příslušné kroky proveďte s oběma standardy i se vzorkem.

Vyhodnoťte měření níže.

Po skončení měření vypněte Mini GC.

4. Vyhodnocení měření

Vyplňte tabulku podle dat získaných z měření.

Látka	Eluční pořadí (1-5)	Retenční čas (min)
methanol		
ethanol		
Směs methanolu a ethanolu		

a. Přibližně načrtněte výsledné chromatogramy. Nezapomeňte na popis os.

b. Pokud je to možné, pokuste se z chromatogramu směsi určit, jaké množství methanolu a ethanolu bylo ve vzorku. Pokud to není z chromatogramu patrné, vymyslete důvody, proč se neprojevily jasné píky.