

## Zadanie 2.

### Jakościowa analiza mieszaniny alkoholi techniką GC/FID

#### WPROWADZENIE

Alkohole to związki organiczne zawierające jedną lub więcej grup hydroksylowych połączonych z atomem węgla w hybrydyzacji  $sp^3$ . W języku potocznym przez „alkohol” rozumie się zazwyczaj napój alkoholowy. Spośród alkoholi największe znaczenie gospodarcze mają metanol i etanol. Metanol stosowany jest jako rozpuszczalnik (rozpuszczają się w nim tłuszcze, żywice i pokosty), paliwo oraz półprodukt w przemyśle chemicznym. Alkohol etylowy używany jako rozpuszczalnik dużej liczby związków organicznych i nieorganicznych. Stosuje się go jako dodatek do paliw silnikowych. Jest wykorzystywany do wyrobu denaturatu, a także w przemyśle farmaceutycznym do produkcji wielu lekarstw. Poza tym alkohol etylowy znalazł zastosowanie w przemyśle spożywczym, gdzie stosowany jest nie tylko do wyrobu napojów alkoholowych, ale także ciast tortów, octu spirytusowego.

Tak przy okazji. Etanol w większym stężeniu niszczy tkankę biologiczną, a spożywany w postaci rozcieńczonej wpływa na pracę mózgu, systemu nerwowego i hormonalnego. Powoduje ograniczenie zdolności do prawidłowej oceny sytuacji i zadań życiowych, upośledza koordynację ruchów oraz kontrolę zachowania. Osoby nietrzeźwe robią rzeczy, których później często żałują. Niszczą swoje zdrowie i życie osobiste, sprawiają cierpienia swoim bliskim. Nadmierne spożywanie produktów alkoholowych powoduje różnego rodzaju uszkodzenia tkanek oraz doprowadzenie do alkoholizmu (choroby alkoholowej), czyli nałogowego zatruwania się i całkowitego uzależnienia od alkoholu. Szczególnie niebezpieczne jest picie alkoholu przez kobiety ciężarne, co może spowodować uszkodzenia płodu. Może także doprowadzić do przedwczesnego porodu, a nawet poronienia. Najpoważniejszym powikłaniem wywołanym przez picie alkoholu przez kobiety będące w ciąży, jest alkoholowy zespół płodowy (Fetal Alcohol Syndrome - FAS), który po raz pierwszy został opisany w 1968 roku. Objawami tego zespołu jest niewielka masa urodzeniowa, częste wady serca i zdeformowanie stawów, obniżenie sprawności intelektualnej, zaburzenie zachowania oraz inne wady rozwojowe. Objawy alkoholowego zespołu płodowego wynikają z wywołanego alkoholem niedotlenienia płodu, niedoborów hormonalnych oraz zahamowanego rozmnażania i różnicowania się komórek płodu. Najniebezpieczniejsze jest spożywanie alkoholu podczas pierwszych sześciu tygodni ciąży. Ze względu na to, że nie jest znany bezpieczny próg spożywania alkoholu przez kobiety w ciąży, zalecana jest całkowita abstynencja w tym okresie.

Alkohol w sposób bezpośredni lub pośredni jest powodem wielu przestępstw i wykroczeń. Z jednej strony zabronione jest prowadzenie pod wpływem alkoholu pojazdów samochodowych oraz wykonywanie obowiązków zawodowych co powoduje potrzebę określania ilości alkoholu w organizmie. Z drugiej strony, z uwagi na licencjonowanie produkcji wyrobów alkoholowych, spotykane jest wiele przestępstw związanych z ich produkcją nielegalną, podrabianiem marek, zniżaniem ilości alkoholu w produkcie. Osobnym problemem przestępstwa związane z dodawaniem do wyrobów alkoholowych innych alkoholi.

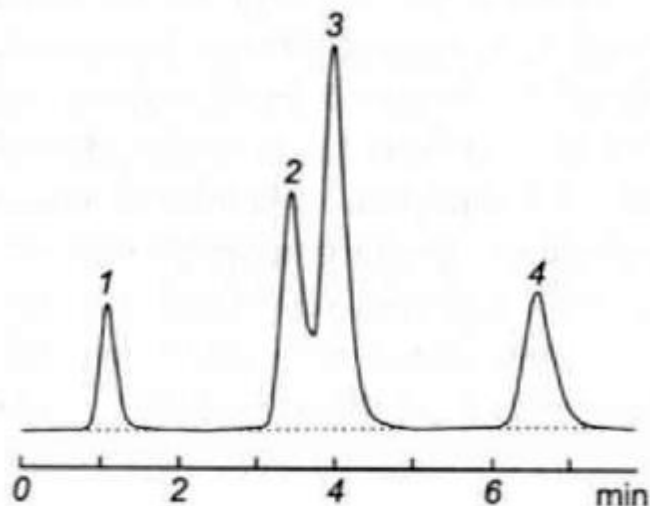
Pojęcie chromatografii obejmuje grupę metod separacji substancji, w których występują dwie siły: siła powodująca ruch cząsteczek w określonym kierunku i siła hamująca ten ruch. Warunkiem rozdzielania substancji jest zróżnicowanie przynajmniej jednej z tych sił w odniesieniu do składników mieszaniny.

Chromatografia gazowa to fizykochemiczna technika rozdzielania składników mieszanin, które ulegają zróżnicowanemu wielokrotnemu podziałowi między dwie fazy: nieruchomą (stacjonarną) i

ruchomą (gaz), poruszającą się w określonym kierunku. W wyniku tego poszczególne składniki migrują przez złożę chromatograficzne z różną prędkością liniową. Rozdzielone składniki mogą być identyfikowane i oznaczane ilościowo.

Podstawowym kierunkiem zastosowania chromatografii gazowej jest analiza złożonych mieszanin lotnych związków organicznych występujących w normalnych warunkach jako gazy, ciecze i ciała stałe. Zaletą chromatografii gazowej jako techniki analitycznej jest możliwość uzyskiwania zarówno jakościowych, jak i ilościowych informacji o składnikach analizowanych mieszanin dzięki dużej efektywności rozdzielczej.

Wykres zmian sygnału detektora w funkcji czasu analizy nazywa się chromatogramem (Rys. 1).

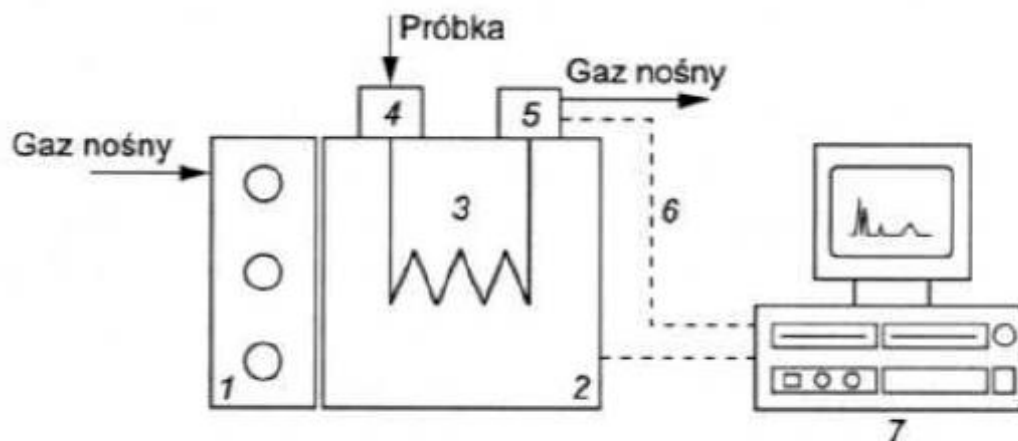


**Rys 1. Chromatogram mieszaniny czteroskładnikowej**

Każdy z czterech składników mieszaniny jest przedstawiony w postaci krzywej, którą w chromatografii nazywa się pikiem. Ma ona kształt zbliżony do krzywej Gaussa. Widoczną cechą chromatogramu jest to, że piki odpowiadające składnikom dłużej przebywającym w kolumnie są szersze niż odpowiadające składnikom przebywającym w kolumnie krócej. Składniki 1 i 4 są całkowicie oddzielone od dwóch pozostałych, częściowo nakładających się na siebie. Zaznaczona na wykresie linia kropkowana nazywa się linią podstawową chromatogramu. Jest to interpolowany wykres sygnału detektora, przez który przepływa tylko gaz nośny.

Chromatogram umożliwia uzyskanie jakościowych i ilościowych wyników analizy chromatograficznej. Do analizy jakościowej wykorzystuje się wartości czasów migracji składników próbki przez złożę chromatograficzne, czyli położenie pików na chromatogramie, natomiast podstawą obliczeń ilościowych są wielkości powierzchni pod pikami chromatograficznymi.

Do rozdzielania chromatograficznego służy chromatograf gazowy, który składa się z termostатовanej komory mieszczącej kolumnę, linii gazu nośnego, urządzenia do dozowania próbek, detektora oraz urządzeń do sterowania aparatem, zbierania i obróbki wyników (Rys. 2). Gaz nośny ze zbiornika lub wytwornicy płynie przez blok oczyszczania i regulacji przepływu 1 do dozownika 4 i kolumny 3 umieszczonej w termostacie 2, a następnie przez detektor 5 do atmosfery. Sygnał detektora jest przekazywany za pomocą przewodów 6 do komputera 7. Temperatura dozownika, kolumny i detektora jest kontrolowana za pomocą regulatorów. Do dozownika próbkę wprowadza się mikrostrzykawką (gazy, ciecze i roztwory ciał stałych) albo strzykawką lub zaworem dozującym (gazy). Próbkę ciekłą lub w postaci roztworu ciała stałego



Rys. 2. Schemat chromatografu gazowego

odparowuje w dozowniku i w strumieniu gazu nośnego jest przenoszona do kolumny. W kolumnie następuje rozdzielenie składników próbki, które wynoszone z kolumny trafiają kolejno do detektora, generując w nim sygnał elektryczny. Sygnały po wzmacnieniu we wzmacniaczu mogą być zapisywane na taśmie rejestratora w postaci pików (chromatogramu). We współczesnych chromatografach do rejestracji chromatogramów i opracowania wyników analizy zamiast rejestratorów stosuje się integratory z drukarkami lub komputery.

### Wykonanie ćwiczenia

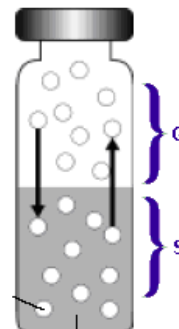
Ćwiczenie polega na oznaczeniu składu mieszaniny ciekłych związków, w skład której mogą wchodzić, następujące alkohole:

- Metanol -  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $t_w = \sim 65^\circ\text{C}$
- Etanol -  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $t_w = \sim 78^\circ\text{C}$

Analiza składu nawet złożonych mieszanin alkoholi jest zadaniem typowym dla chromatografii gazowej. Analizy GC są podstawą identyfikacji na przykład pochodzenia alkoholi, w tym wykrywania „podróbek”, wykrywania obecności metanolu w alkoholu niewiadomego pochodzenia lub badania skuteczności zastosowanych technik separacji związków chemicznych w przemyśle.

### **Przygotowanie próbek**

Próbki poddawane chromatografii gazowej nie mogą zawierać wody, która powoduje niszczenie kolumn chromatograficznych i aparatu. Dlatego w procesie przygotowania próbki do analizy należy wyekstrahować analyty rozpuszczalnikami nie mieszającymi się z wodą (np. za pomocą octanu etylu lub heksanu). Możliwe jest także zastosowanie techniki pobierania próbek z warstwy nadpowierzchniowej (headspeace). W naszym przypadku pary lotnych alkoholi i eteru występują w warstwie nadpowierzchniowej w znacznie wyższym stężeniu niż woda. Taką technikę zastosujemy do analizy składu wyrobów alkoholowych.



### Zadanie 1

Wyznaczenie czasów retencji metanolu, etanolu, eteru etylowego i izopropanolu.

W celu wyznaczenia czasu retencji należy pobrać gazoszczelną mikrostrzykawką po 50 µl par z nad powierzchni roztworów wzorcowych i następnie wstrzyknąć je do chromatografu gazowego. Pary pobieramy przez otworek znajdujący się w zakrętce fiolki, uważając przy tym, aby nie dotknąć igłą powierzchni roztworu! Po każdej aplikacji par do aparatu, strzykawkę „przepłukujemy” 20 razy powietrzem. Opis obsługi chromatografu w osobnej instrukcji. Przy programowaniu analizy zaznaczamy, że rozdziały będziemy wykonywali wg metody chromatograficznej ALK\_SAD.MTH, a wytworzone chromatogramy będziemy nazywali skrótami analizowanych substancji: Met – metanol; Et – etanol; Ee - eter etylowy; Ip – izopropanol. Chromatogramy zapisujemy w katalogu C:\TC4\DANE\GC\B\_SAD\ZespM-N, gdzie M oznacza nr grupy w kolejności odbywania ćwiczeń, a N nr zespołu w danej grupie.

Po każdym użyciu strzykawkę „przepłukujemy” 20 krotnie powietrzem, aby nie przenosić do następnej analizy par substancji z analizy poprzedniej. Wyznaczony na podstawie analizy czas retencji, zapisujemy w karcie kontrolnej z ostatniej strony instrukcji. Posłużą nam one do identyfikacji składników mieszanin alkoholi lub popularnego „skażalnika”, jakim jest eter etylowy.

### Zadanie 2

Analiza produktu alkoholowego niewiadomego pochodzenia (w celach dydaktycznych prowadzący ćwiczenia przygotował odpowiednie mieszaniny substancji chemicznych). Podobnie jak roztwory próbek standardowych alkoholi i eteru etylowego, analizy produktów alkoholowych wykonujemy techniką headspace. Chromatogram badanej próbki oznaczmy PR1, PR2....

### Zadanie 3

Zakładając że izopropanol nie jest składnikiem badanego wyrobu alkoholowego (można to arbitralnie stwierdzić poddając próbkę analizie, jak w Zadaniu 2), można go wykorzystać jako wzorzec wewnętrzny w określeniu stężenia alkoholu w próbce. W tym celu do osobnej fiolki dodajemy określoną objętość badanej próbki (np. 1,980 ml) oraz znaną ilość izopropanolu (np. 0,020 ml). Powstały w ten sposób roztwór izopropanolu będzie miał stężeniu 2% (v/v). Zakładając, że powierzchnia piku 2% etanolu i 2% izopropanolu jest taka sama, stężenie procentowe etanolu w badanej próbce będzie równe:

$$S_{\text{etanolu}} / S_{\text{izopropanolu}} \times 2\%$$

Gdzie: S to powierzchnie odpowiednich pików.

## Zadanie 2.

### Jakościowa analiza mieszaniny alkoholi techniką GC/FID

Imię i nazwisko:.....

Zespół nr:

Imię i nazwisko:.....

Imię i nazwisko:.....

Czas retencji :

Eter etylowy -

Metanol -

Etanol –

Izopropanol -

Skład badanego produktu alkoholowego (na podstawie czasu retencji):

Produkt nr 1 -

Produkt nr 2 -

Produkt nr 3 -

Stężenie alkoholu:

Powierzchnia piku etanolu =

Powierzchnia piku izopropanolu =

Stężenie etanolu =