

GÁZKROMATOGRÁFIA

A GYAKORLAT CÉLJA: A modern gázkromatográfia (GC) módszerének tanulmányozása és alkalmazása alkohol-elegy minőségi analízisére.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

A műszeres analízis kromatográfias módszereinek feladata, hogy a minta komponenseit – legtöbbször szerves vegyületeket – egymástól elválassza. A módszer működésének alapja az, hogy a *mozgófázis*ba (amely gáz vagy folyadék lehet) kevert mintaelegyet szoros kontaktusba hozzuk egy azzal nem elegyedő másik fázissal, amelyet *állófázis*nak hívunk (egy lapra felvitt, vagy cső belsejében rögzített folyadék vagy szilárd halmazállapotú anyag). A mozgófázist (eluens) állandóan mozgásban tartva a mintaelegy komponensei az állófázissal való kölcsönhatásuk különböző mértéke miatt megfelelő kontaktidő után elkülönülnek egymástól. Amennyiben a rendszerben egy detektort helyezünk el, amely a mintakomponenseket képes megkülönböztetni a minta oldószerétől (pl. képzeljünk el egy vezetőképességi detektort annak a csőnek a kifolyó végére szerelve, amely az állófázist magában foglalja), akkor a detektorjel idő függvényében való ábrázolásakor a mintakomponenseket reprezentáló csúcissorozatot fogunk észlelni. Ezt a grafikont hívjuk *kromatogram*nak, a berendezést pedig *kromatográf*nak.

A kromatográfias módszereknek igen sokféle változata alakult ki, amelyek több szempont szerint is csoportosíthatók. Az egyik csoportosítás alapja, hogy az állófázis milyen kivitelezésű: ha az állófázist egy cső (oszlop, kolonna) belsejében helyezük el töltetként, vagy a cső belső falát vonjuk be azzal filmszerűen, akkor *oszlopkromatográfia*ról beszélünk, szemben a sík kivitelezésű állófázist alkalmazó *planáris kromatográfia*val. A gyakorlatban az oszlopkromatográfias módszerek túlnyomó többségben vannak. Egy másik szempont lehet, hogy a mintakomponensek és az állófázis között kialakuló kölcsönhatás természete milyen: ez lehet adszorpción, megoszláson, ioncsere egyensúlyon, stb. alapuló; ekkor rendre adszorpciós stb. kromatográfia-ról beszélünk. Egy további csoportosítás szerint a mozgófázis halmazállapotát tekintjük: eszerint *folyadékkromatográfia*t (liquid chromatography, LC) és *gázkromatográfia*t (gas chromatography, GC) különböztetünk meg.

A kromatográfias módszerek nagy előnye, hogy a mérési körülmények (az álló és mozgófázis minőségének és összetételének) alkalmas megválasztásával ezek a módszerek az elválasztandó komponensek igen széles körére alkalmazhatóak. Megfelelően érzékeny detektor alkalmazásával pedig akár nyomnyi mennyiségű szerves vegyületek jelenléte is

kimutatható vagy azok mennyisége meghatározható. Az is fontos tény, hogy a kromatográfok nemcsak kis anyagmennyiségek kezelésére, analitikai célokra, hanem nagy méretben, kimondottan az egyes szétválasztott komponensek összegyűjtése céljából is építhetők (*preparatív kromatográf*).

A kromatogramról leolvasható egyik legfontosabb adat az egyes kromatográfiás csúcsokhoz tartozó *retenciós idő* (= visszatartási idő, t_r), amely a mintának a mozgófázisba juttatásától a komponens detektor által mért maximális koncentrációjának (a megfelelő csúcs maximális értékének) a megjelenéséig eltelt idő. A retenció minden komponensre (minden kromatográfiás csúcsra) más és más, így a komponens anyagi minőségével függ össze. A retenciós időt azonban ritkán használjuk az anyagi minőség megállapítására, hiszen az magában foglalja azt az időt is, amely a mozgófázisnak a kromatográfon való áthaladásához szükséges (*holtidő*, t_m). Leggyakrabban ezért a retenciós idő és a holtidő különbségét képezzük, és az így kapott *redukált retenciós időt*:

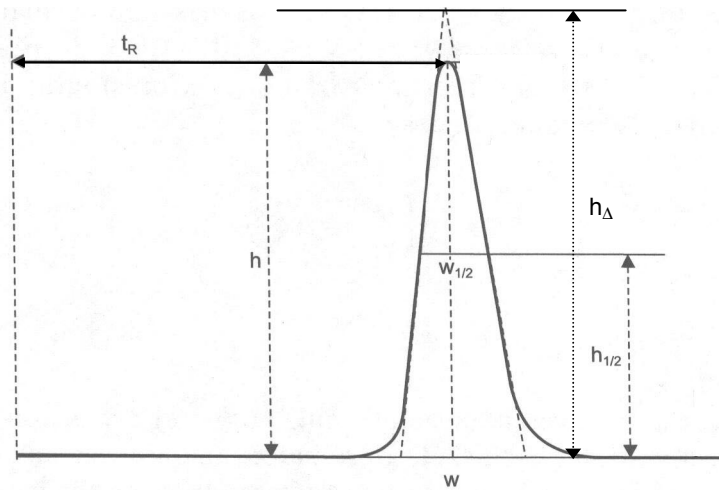
$$t'_r = t_r - t_m$$

vagy másképpen nettó retenciós időt használjuk az analízis során. A holtidő megállapítása például úgy lehetséges, hogy a mintánkhöz beadagolás előtt egy olyan komponenst adunk, amely a kolonnán nem kötődik meg, a detektorban azonban jelet szolgáltat (pl. poláris anyagok elválasztására szolgáló kolonna esetében egy apoláris komponenst), ennek a komponensnek a retenciós ideje közelítőleg a holtidővel egyenlő.

A kromatográfiás módszerek – elsősorban az alkalmazott oszlop – jellemzésére egyik leggyakrabban használt paraméter az *elméleti tányérszám* (N). A desztillációnál és extrakciónál használt ún. tányérelmélet alkalmazásával (ez az elmélet a desztillációs tornyokban ténylegesen meglévő szedőtányérokra lejátszódó folyamatokkal foglalkozik) és a kromatogram csúcsait a Gauss (normális) eloszlást követőnek feltételezve, a csúcs könnyen mérhető adatai alapján az elméleti tányérszámra a következő definíciós képlet adódik:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_r}{W} \right)^2 = 5.54 \cdot \left(\frac{t_r}{W_{1/2}} \right)^2$$

ahol W a csúcs talpszélessége, $W_{1/2}$ pedig a csúcs félértékszélessége (**1. ábra**). Minél nagyobb N értéke egy adott kromatográfiás módszerre nézve, annál hatékonyabb az elválasztás, vagyis pl. adott idő alatt annál több komponenst tudunk elválasztani vagy másképpen két csúcs annál jobban elkülönül egymástól.



1. ábra. A kromatográfiás csúcsok néhány alapadata

A kromatogramban található információ minőségi analízisre is használható. A legegyszerűbb módszer egy adott kromatográfiás rendszeren mért redukált retenciós idők összehasonlítása ugyanazon a rendszeren mért ismert anyagok redukált retenciós időivel. Ez az összehasonlítás azonban nyilván nagyon hosszadalmas, különösen ha nem rendelkezünk semmilyen előzetes információval a minta összetevőiről. Ilyenkor ugyanis komoly bizonytalanságot okoz az azonosításban, hogy sokféle anyag adhat közeli retenciós idejű csúcsokat, amelyek a meghatározás körülményei mellett könnyen azonosnak tűnhetnek. Megbízhatóbbá tehetjük az ilyen összehasonlításon alapuló minőségi analízist, ha az összehasonlítást két különböző állófázist tartalmazó kolonnán is elvégezzük. A legmegbízhatóbb eljárás azonban egyértelműen az, amikor a kromatográfot szelektív detektorral látjuk el (pl. tömegspektrométer), ilyenkor ugyanis a detektor összetett, az adott komponens anyagi minőségére jellemző jelet (spektrum) szolgáltat. Az ilyen detektorokkal az átfedő kromatográfiás csúcsokat adó komponensek is kellő biztonsággal azonosíthatók.

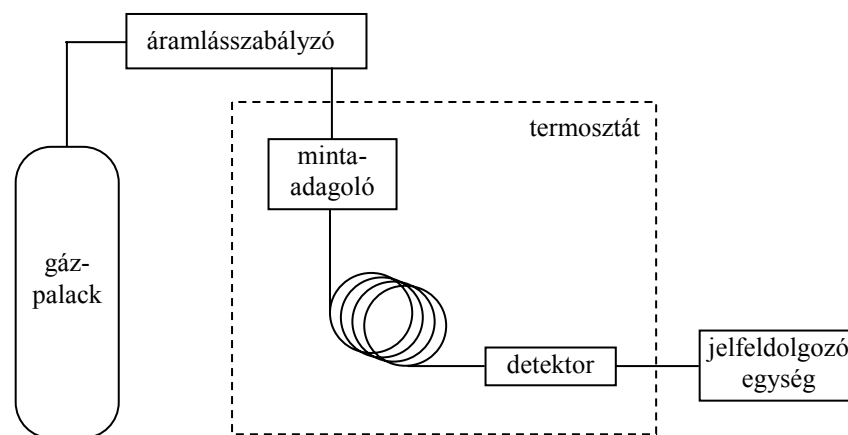
Eredményesen alkalmazható a gázkromatográfiás minőségi analízisben az ún. *homológ sorok módszere*. A tapasztalat szerint ugyanis a szénhidrogén-származékok homológ során belül a redukált retenciós idők a szénatomszámmal exponenciálisan növekednek. Ennek megfelelően a $\lg t'_R$ adatok ábrázolása a szénatomszám függvényében egy egyenest ad. Ezen a megfigyelésen alapul a *Kováts-féle retenciós index (I_x)* módszere is, amely az egyes komponensek retenciós adatait egy összetett képlet segítségével n-alkán homológok retenciójához viszonyítja, így a saját mérésekből származtatott ismeretlen komponens I_x indexét összehasonlítva adatbázisokban található értékekkel, lehetőség van az ismeretlen anyag minőségének meghatározására.

A kromatográfiás mennyiségi analízis alapja a csúcsok területének (keskeny és hegyes csúcsok esetén a csúcsmagasság) arányossága a koncentrációval. Ismert koncentrációjú mintasorozat mérésével kalibrálva, vagyis kalibrációs görbe felvétele után az ismeretlen koncentrációja a görbéről visszaolvasva meghatározható. A csúcsterületek meghatározása régebben vonalzó használatával manuálisan történt, ma azonban szinte kizárólag elektronikus

integrátorokkal illetve számítógépes adatgyűjtő programok segítségével történik. A manuális kiértékelés alapjául a **1. ábrán** is látható adatok szolgálhatnak; a csúcs alatti területet a félértékszélesség alapján téglalappal ($W_{1/2} \cdot h$), vagy a csúcs oldalaihoz érintő egyenesek behúzásával, majd az így kialakuló háromszöggel ($h_{\Delta} \cdot W / 2$) közelíthetjük.

A gázkromatográfia mozgófázisa gáz, az állófázisa vagy felületen (legtöbbször kolonna belső felületén) kötött folyadék vagy szilárd anyag. A mintát, amely lehet bármilyen halmazállapotú, de leggyakrabban gáz vagy folyadék, gáz halmazállapotban juttatjuk a kolonnára - a folyadék vagy szilárd halmazállapotú mintákat tehát a mintabevitel során el kell párologtatni. Ebből következik, hogy a kolonnát és a detektort is olyan hőmérsékleten kell tartanunk (100-500°C), hogy a minta az analízis egész ideje alatt gáz halmazállapotú legyen. A gázkromatográfia tehát bomlás nélkül gázzá alakítható vegyületek elválasztására alkalmas. Megfelelő állófázis megválasztásával gyors, hatékony elválasztást biztosít mindazon vegyületek esetében, amelyek megfelelnek az előbbi feltételnek. A gázkromatográfok felépítésének általános sémáját a **2. ábra** mutatja.

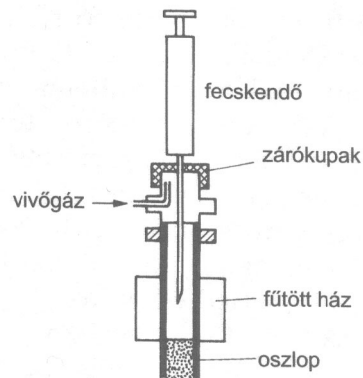
Az eluent, amelyet itt vivőgáznak nevezünk, rendszerint egy nagynyomású gázpalackból vesszük. A vivőgáz megválasztása leginkább a detektor függvénye: lángionizációs detektorhoz nitrogén vagy argon, hővezetőképességi detektorhoz leginkább hidrogén- vagy héliumgáz használatos. A gáz nyomáscsökkentő után, az áramlási sebesség folyamatos mérése mellett jut a kolonnára.



2. ábra. Egy gázkromatográf elvi felépítése

A mintaadagolás több okból is kritikus pontja a gázkromatográfiának. Egyfelől nem könnyű megoldani, hogy a minta elpárologtatása pillanatszerűen játszódjék le – márpedig a hatékony elválasztás alapfeltétele, hogy a minta egyszerre, minél gyorsabban kerüljön be az eluens áramlásba. Másfelől a kis térfogatú minták kezelése, reprodukálható adagolása is nagy körültekintést igényel. Ennek megfelelően többféle mintaadagoló rendszert is kidolgoztak. Ezek közül a legegyszerűbb megoldást a **3. ábra** mutatja be. Itt a minta beadagolása közvetlenül a kolonna bemenetére szerelt, fűtött mintakamrába történik oly módon, hogy a

kamra tetejét lezáró, gumiból készült zárókupakot (szeptum) átszúrjuk a precíziós, teflon dugattyús mintaadagoló fecskendővel. A szeptum feladata a fecskendő kihúzásakor újból lezárni a kamrát.



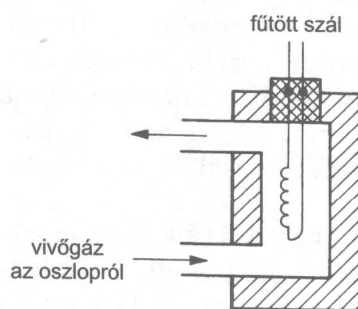
3. ábra. Mintaadagolás közvetlenül a kolonnára

Az elválasztást végző kolonna acél- vagy üvegcsőből készül. Külső megjelenését tekintve kétféle lehet: 2-6 mm belső átmérőjű, töltetet tartalmazó ún. töltetes kolonna, vagy 0,2-0,5 mm átmérőjű, a megosztó fázist belső falán vékony filmként felhordottan tartalmazó kapilláris kolonna. A *töltetes oszlopok* hordozó töltete megfelelő mechanikai szilárdságú, nagy fajlagos felületű és kémiai inert anyag (diatómaföld, polimerek, stb.), amelynek a felületén egyenletes filmet képezve jól tapad a megosztófolyadék. A megosztófolyadékot alkalmas oldószerben feloldják, az oldatba belekeverik a szilárd hordozót, majd lassan elpárologtatják az oldószert. Az ily módon előkészített állófázissal töltik meg a kolonnát. Készíthető még töltetes kolonna szilárd adszorbenssel (pl. aktív szén, alumínium-oxid, szilikagél) való megtöltés útján is. A töltetes kolonnák az előállítás nehézsége miatt viszonylag rövidek (1-5 m), ellenállásuk a vivőgázáramlással szemben viszonylag nagy, azonban kapacitásuk nagy, ezért nagyobb (pár μL) mintamennyiséggel dolgozhatunk velük. A *kapilláris kolonnákban* nincs hordozó, a megosztófolyadékot közvetlenül a cső belső falára viszik fel. Az egyszerűbb, de kevésbé tartós eljárás során a folyadékot oldószerben oldják, majd nyomás alatt átpréselik a 15-60 m hosszú kapillárison. A modern kapilláris kolonnákban a megosztófolyadékot valamilyen kémiai kötéssel (gyakran szilanizálással) rögzítik a cső belső falához, ezzel megakadályozva annak „lehordását” (a vivőgázzal való lassú kiürülését), ami a kolonna élettartamát megrövidítené. A kapilláris kolonnák hosszúsága nagy, így elméleti tányérszámuk kimagasló, 50000-100000 is lehet. Használatukat megnehezíti azonban, hogy kapacitásuk kicsi, ezért igen kis mintamennyiség (a μL törtresze) adagolható be rájuk.

A megosztófolyadékot az elválasztó komponensek anyagi minőségi, kémiai jellemzői alapján választjuk meg. Poláros mintakomponensekhez pl. szintén poláros polietilén-glikolok (Carbowax, DB-WAX, stb.), míg apoláris komponensekhez pl. polipropilén használható. Fontos szempont kiválasztásukkor, hogy az analízis során szükséges kolonnahőmérsékleten kevésbé párologjanak.

A kolonnán elválasztott komponenseket a vivőgáz a detektorba juttatja, amely a komponensek vivőgázbeli koncentrációjával arányos elektromos jelet ad. Sokféle, a mintakomponensek különböző kémiai és fizikai jellemzőjének mérésén alapuló detektort fejlesztettek ki – ezek közül az alábbiakban csak a két legelterjedtebbéről lesz szó.

A *hővezetőképességi detektor* (TCD, katarométer) érzékelője egy kis térfogatú cellában elhelyezett, elektromosan fűtött fémszál (**4. ábra**). A fűtött fémszál ellenállása hőmérsékletével fordítottan arányos, hőmérséklete azonban a körülötte áramló gáz hővezetőképességétől fog függni. Tiszta vivőgáz (hidrogén vagy hélium) áramlásakor, az analízis kezdetén egy adott ellenállásértéket mér a hozzákapcsolt elektromos műszer, azonban rosszabb hővezetőképességű gáz – vagyis a mintakomponensek gőzének – detektorba jutásakor a szál kevésbé hűl le, így ellenállása lecsökken. A hővezetőképességi detektor univerzális, a vivőgázon kívül mindent mérni képes detektor (vagyis nem szelektív), amely 3-5 koncentráció-nagyságrenden keresztül lineáris válaszjelet ad. Kimutatási képessége ugyanakkor nem kiemelkedő; kb. 1 µg.



4. ábra. A hővezetőképességi detektor elvi felépítése

A *lángionizációs detektor* egy másik, igen elterjedten alkalmazott gázkromatográfiai detektortípus. Ez tulajdonképpen egy kisméretű hidrogén/levegő gázeleggyel táplált láng, amely fölé elektródpárt helyeznek el. Ezen két elektród közé olyan feszültséget kapcsolnak, amelyen még nem keletkezik szikrakisülés az igen nehezen ionizálható vivőgázáramlásban (nitrogén vagy argon). A kolonnát elhagyó szerves komponensek a lángban oxigén közreműködésével ionizálódnak. Az ionok képződése hatására a két elektród között gyenge áram folyik, amely erősítés után mérhető, és a mintakomponens koncentrációjával arányos nagyságú lesz. Ez a detektor igen érzékeny, mintegy 10^{-11} g anyag kimutatására alkalmas, linearitása valamivel jobb, mint a hővezetőképességi detektoré.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

Kis szénatomszámú n-alkohol és i-alkohol elegyek (szeptumos üvegedényben)

Metanol (szeptumos üvegedényben)

Nitrogén gázpalack (vivőgáz)

1 db 10 µL-es üvegtestű precíziós GC fecskendő (a minta beadagolásához)

1 db üveg csésze (a hulladék számára)

papír törlőkendő

Agilent 6820 típusú gázkromatográf hővezetőképességi detektorral és DB-WAX

(poláris) kapilláris kolonnával

Számítógépes adatgyűjtő hardver és szoftver

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

Az Agilent 6820 típusú kromatográf üzembeállítása. A GC berendezések precíziós, viszonylag kényes és drága berendezések, ezért nagy körültekintéssel dolgozzon. Ha bizonytalan valamiben, kérjen tanácsot a gyakorlatvezetőtől!

A gázkromatográf légtermosztátjának stabil működése jelentős bemelegedési időt igényel, a hővezetőképességi detektor pedig vivőgáz áramlása nélkül nem működtethető annak károsodása nélkül. Az elmondottak miatt igen valószínű, hogy a gázkromatográfot a gyakorlat kezdetekor már bekapcsolt állapotban találja, és a nitrogén vivőgáz is áramlik már. Ha ez mégsem így történne, akkor a gyakorlatvezető segítségét kérve a lehető leghamarabb üzembe kell állítania a műszert. Ehhez előbb meg kell nyitni a gázpalack fő szelepét, és a reduktoron kb. 5 bar szekunder oldali gáznyomást beállítani. A GC jobb oldalának alján található főkapcsolóval áram alá helyezzük a műszert; a berendezés ekkor önellenőrző rutinokat lefuttatva elindul. Néhány perc várakozás után a GC baloldalán található nyomásmérő műszeren („**Purged packed**”) a mutató kismértékű kitérését figyelheti meg; a kb. 0.06 MPa érték beállása a gázáramlás stabilizálódását jelzi.

A berendezés belsejében a nitrogéngáz áramlást négy részre osztódik. Ezen gázáramlások értékén nem kell változtatnia, érdemes ismernie azonban azok funkcióját, amelyek rendre a következők. A „**Purged packed**” fix, kis sebességű gázáramlás feladata a szeptum alsó részének öblítése, hűtése a szeptum élettartamának növelése érdekében. Az egyik természetesen a vivőgáz áramlás, amelynek sebessége most kb. 4 mL/perc. A „**REF**” gázáramlás (a készülék bal felső sarkában van a szabályzója) a TCD érzékelő működéséhez szükséges; ennél a GC berendezésnél ugyanis a TCD érzékelő felváltva méri a referencia ágban folyó, tiszta nitrogén gázáramlás hővezetőképességét („**REF**”, értéke kb. 28.5 mL/perc) és a kolonnáról érkező, mintakomponensekkel elkeveredett vivőgáz hővezetőképességét. A két mért érték közötti különbség adja az analitikai jelet. A kétféle, detektorba felváltva jutó

gázáramlás váltogatását egy mágnesszelep vezérli. Szintén a detektor működésével függ össze az „**AUX**” gázáramlás (jelen esetben sebessége kb. 6 mL/perc, szabályzója szintén a GC frontoldalának bal felső sarkában található), amely a kolonna után csatlakozik a vivőgázhoz; ennek általános feladata az, hogy szükség esetén a detektorba jutó gázáramlás sebességét meg lehessen növelni a vivőgáz áramlás sebességénél nagyobbra is. Ha meggyőződött a gáz áramlásáról a „**Purged packed**” mérőműszer mutatójának megfigyelésével, bekapcsolhatja a GC fűtését. Ezt egyszerűen a fűtési program („Method”) behívásával teheti meg, amihez a „**Load**” billentyűt, majd a műszer képernyőjén megjelenő angol nyelvű utasításokat követve az „**1**” és „**Enter**” billentyűket kell megnyomnia (a fűtési programot Method 1 néven mentettük el előzetesen).

A légtermosztát ventilátorának felzúgása ekkor azt jelzi, hogy a berendezés felfűtése megindult. A felfűtés előrehaladását a képernyőn is figyelemmel kísérheti. Ha az „**Oven**” feliratú nyomógombot nyomja meg, akkor a légtermosztát (kolonna) pillanatnyi és célhőmérsékletét láthatja Celsius fokban. A „**Front inlet**” gomb megnyomásával a mintabeviteli port hőmérsékletét, a „**Front det**” gombbal pedig a TCD detektor hőmérsékletét jeleztheti ki. A képernyőn megjelenő adatokból megállapíthatja, hogy a jelen fűtési programban a detektor és mintabeviteli port célhőmérséklete 150 °C, míg a légtermosztát kezdeti hőmérséklete 50 °C. Ha minden részegység elérte a program szerinti kezdőhőmérsékletet és az stabilizálódott, elalszik a GC frontoldalán, a kijelző alatt a „**Not ready**” feliratú lámpa. Ekkor bekapcsolhatja a detektor fűtőszálát is (az állapotot a „**Front det**” menü „**Filament**” sorában változtathatja meg). Ne feledje, hogy a detektort nem szabad bekapcsolni, ha nem áramlik a nitrogéngáz! Ezzel a GC berendezést mérőkész állapotba hozta; a fenti előkészületek 15-20 percet igényelnek.

A számítógépes adatgyűjtő használata. A mérési adatok gyűjtését és kiértékelését számítógéppel, egy „*Digitális rekorder*” nevű program segítségével fogja végezni. Ne felejtse el ellenőrizni, hogy a mérésadatgyűjtő elektronika tápegysége is be van dugaszolva a hálózati aljzatba. A program a számítógép bekapcsolása után automatikusan elindul. A szoftver használata egyszerű: a képernyő alsó sorában olvasható a kiadható parancsok listája az aktiváló billentyűk nevével - pl. a „**Súgó**” (F1 gomb) röviden összefoglalja a program főbb funkcióit. Az alapkoncepció az, hogy az „**Opciók**” (F4 gomb) menüben beállítjuk az adatgyűjtés körülményeit (pl. adatgyűjtési sebesség, adatgyűjtési időtartam, stb.), majd a „**Mérés**” (F5 gomb) parancs kiadásával megkezdődik a mérés: a mért adatok mind számszerűen, mind grafikusan nyomonkövethetők. Az adatgyűjtés az „**Esc**” billentyű megnyomására vagy az előre beállított időtartam elteltével fejeződik be. Ekkor a „**Kiértékelés**” (F6 gomb) parancsot kiadva részleteiben is megtekinthetjük a rögzített kromatogramot és két kurzor mozgatásával a kromatogram egyes részeit integrálhatjuk, csúcsmagasságokat és retenciós időket olvashatunk le. A mért lemezen is tárolhatók (ASCII formátum), illetve azok visszatölthetők a programba. Ha a mért adatokat el szeretné tárolni, akkor minden egyes kromatogram felvétele után ne felejtse el az „**Opciók**” menüpont alatt beállítani a kívánt mentési útvonalat és fájlnevet (a könyvtárnevek és a fájlnevek 8 karakterből és 3 karakteres kiterjesztésből állhatnak!), majd kiadni a főmenüből a „**Mentés**”

parancsot. Ne feledje, hogy az adatok nem automatikusan mentődnek, csak ha azt a leírt módon manuálisan kéri, továbbá hogy azonos fájlnev esetén a korábbi adatok felülíródnak! Az adatokat mentheti floppy lemezre is, így az adatok átvitele egy másik számítógépre egyszerűbb. A program alapbeállításai megfelelőek a végrehajtandó gyakorlathoz, azonban a következő kritikus paraméterek beállításairól feltétlenül győződjön meg („**Opciók**”): „Portcím: 888”, „Adatgyűjtési sebesség: 4 Hz”, „Adatgyűjtés időtartama: 500 s”, „Kell-e kiigazítani az adatokat: igen”. A kromatogram kiértékelése során a jobb és baloldali kurzorral a kívánt csúcsot közre kell fogni (a „**TAB**” billentyűvel mindig válthatunk kis és nagy lépésközű kurzormozgatás között); ekkor a csúcs területét az „**Int korr**” (alapvonallal korrigált integrál) paraméter kijelzett értéke, míg retenciós idejét az „**Xmax**” értéke adja meg. A képernyő bal felső sarkában mindig a kurzorok helyének X és Y koordinátáit látja - ezeket az adatokat használhatja pl. a csúcsok félértékszelességének megállapításához. A program használatával ismerkedjen meg alaposan, mivel azzal más gyakorlatoknál is találkozni fog.

A kiadott minta minőségi analízise. A kiadott minta minőségi összetételét ismert anyagok redukált retenciós idejével való összehasonlítás révén fogja megállapítani. A mintákat beépített szeptummal ellátott, csavaros tetejű speciális üvegedényekben kapja meg; ezeket értelemszerűen nem kell felnyitnia, hanem a szeptumon keresztül veszi ki a mérendő részletet a fecskendővel. Ne feledje, hogy minden mintája metanolt tartalmaz oldószerként.

A minőségi azonosítás céljából először a kapott ismert összetételű alkoholelegyet (ezt az STD feliratú üvegedényben találja) kell futtatnia, megállapítva az egyes vegyületek retenciós idejét. Az elúciós sorrend a forráspont növekedésének megfelelő, így először a metanol csúcsa érkezik majd (intenzitása természetesen túl nagy lesz, így ennek retenciós idejét csak becsülni tudja majd), majd az etanol, n-propanol, i-butanol, n-butanol, i-amilalkohol, végül a n-amilalkohol csúcsa. Mivel pontosabb eredményekhez jut, ha az azonosításhoz redukált retenciós adatokkal dolgozik, ezért minden folyadékmintát levegővel együtt juttassa be a kromatográfba. A levegő apoláris karakterű komponensei gyakorlatilag nem kötődnek meg a poláris anyagok elválasztására kialakított kolonnán, ezért a levegőcsúcs fog legelőször feltűnni a kromatogramon; ennek retenciós ideje kb. egyenlő a holtidővel.

A minták pontos beadagolása érdekében kövesse pontosan a következő útmutatót. A 10 µL-es gázzáró precíziós GC fecskendőt először alaposan (pl. háromszor) átöblíti a metanollal, majd a dugattyú hátrahúzásával a tüben maradó kb. 0,6 µL metanol mögé 1-2 µL levegőt szív. Ezután az 1 µL mintaoldatot úgy szívja fel, hogy ismét figyelembe veszi a tű saját térfogatát (skálán csak a 0,4 µL osztásig kell felszívni a mintát). Egy papírtörlővel óvatosan leitathatja a fecskendő tujéről a felesleges mintacseppeket, majd a dugattyú hátrahúzásával még 4-5 µL levegőt is felszív a fecskendőbe. A fecskendőben ezek után tehát a következő fázisokat kell látnia: 4-5 µL levegő, 1 µL minta, 1-2 µL levegő, végül kb. 0.6 µL metanol. Most elindíthatja a számítógépes mérésadatgyűjtést („**F5**”), majd a fecskendő tujét szűrja a GC tetején található, zöld színű fém körgallérral körülvett mintaadagoló port szeptumjába ütközésig, óvatosan (*vigyázzon, mert a precíziós fecskendő drága és kényes eszköz, a fémgallér pedig forró!*). Ekkor a fecskendő üvegtestét egyik kezével megtámasztva, a dugattyú határozott, gyors, ütközésig való lenyomásával befecskendezi a mintát, lenyomja a

GC frontoldalán a „**Start**” gombot és kihúzza a fecskendő. Ekkor a GC előlapján kigyullad a zöld színű „**Run**” lámpa, a fűtési program elindul és a kromatogram adatgyűjtése lezajlik.

Nem árt, ha tudja, hogy a jelen munkánál alkalmazott fűtési program (az „**Oven**” gombbal leíthatja a képernyőre) azt írja elő, hogy a légtermosztát kezdeti 50 °C hőmérséklete („**Temp**”) 1 percig állandó (**Init. time**”), majd 25 °C/perc felfűtési sebességgel („**Rate 1**“) felmegy 150 °C-ra („**Final temp 1**”) és ott marad 3 percig („**Final time 1**”). A futtatási idő (fűtési program) letelte után a műszer automatikusan megkezdi a légtermosztát visszahűtését a kezdeti hőmérsékletre, amit a „**Run**” lámpa kialvása és a „**Not ready**” jelzés megjelenése jelez. A teljes futási idő kb. 8 perc, aminek előrehaladását a „**Time**” nyomógomb megnyomására megjelenő adatokból ellenőrizheti. A lehűlés ideje kb. 5 perc. Mindig várja meg, amíg elalszik a „**Not ready**” jelzés, vagyis a berendezés ismét mérőképes állapotba kerül, mielőtt új mintát ad be! Ne felejtse el a felvett kromatogramokat vagy elmenteni, vagy kiértékelni, mielőtt új mintát futtat. Jegyezze fel minden csúcs retenciós idejét, korrigált területét és talpszélességét (vagy közelítő félértékszélességét); a levegőcsúcs esetében csak a retenciós időre van szüksége.

Összesen legalább 3 futtatást végezzen mind az STD, mind az ismeretlen minta esetében. Az első futtatás próbának tekintendő, hiszen szükséges lehet az alapvonal szintjét vagy a detektor érzékenységet beállítani. Az alapvonal korrigálása úgy történik, hogy a „**Signal 1**” nyomógombbal leítható menüben a nyíl gombokkal a kurzort a „**Zero**” sorra viszi, majd ott megnyomja az „**On**” gombot. Az ebben a menüben található „**Range**” paraméter értéke szabja meg a detektorjel gyengítésének mértékét; a detektorjel leosztása kettőnek itt megadott nem negatív kitevőjű hatványával történik (pl. 3 érték esetén $2^3 = 8$ az osztó). A paraméter célszerű értéke 0. Ha szükséges, ellenőrizze azt is, hogy a „**Front det**” menüben a „**Neg. polarity**” értéke „**On**” állásban legyen. A fenti beállításokat természetesen csak olyankor végezze, amikor nem fut minta. A cél természetesen az, hogy a lehető legnagyobb, de az adatgyűjtő méréshatárába még beleférő jeleket (< 375 mV) kapjunk minden mintakomponensre, kivéve a metanolt.

A GC berendezés kikapcsolását mindenképpen bízza a gyakorlatvezetőjére, ugyanis a nagyon drága TCD detektor hosszú élettartamának biztosítása érdekében fontos szabály, hogy a gázáramlásnak fenn kell maradnia, amíg a detektor 70-80 °C alá le nem hűlt. Éppen ezért a kikapcsolás sorrendje az, hogy lekapcsoljuk minden részegység fűtését („**Oven**”, „**Front inlet**”, „**Front det**”) és a detektor fűtőszálát is („**Filament**”), majd mindaddig várunk a detektor hőmérsékletét figyelve, amíg az a fenti hőmérséklet alá nem hűlt. Ez a detektor jó hőszigetelése miatt 45-60 percet is igénybe vehet! Ezután kapcsolhatjuk le a főkapcsolójával a gázkromatográfot és zárhatjuk el a gázpalackot. Ne felejtjük el kikapcsolni a számítógépet és a mérésadatgyűjtőt sem.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Az STD és az ismeretlen minta egy-egy kromatogramja kinyomtatva, csúcsazonosító feliratokkal ellátva
- Az STD és az ismeretlen minta kromatogramjában mért csúcsok összes mért adatainak táblázata
- Az ismeretlen minta minőségi összetétele
- A kolonna elválasztóképességét jellemző elméleti tényérszám értéke az egyik minta kromatogram utolsó komponensének csúcsadatai alapján számítva
- A redukált retenciós idők logaritmusának (\log_{10}) az alkoholok egy homológ során belül a szénatomszámmal való változásának grafikonja

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mi a kromatográfias módszerek működésének alapja?
2. Hogyan csoportosítjuk a kromatográfias módszereket?
3. Milyen főbb gázkromatográfias detektortípusokat ismer, és mi azok működési elve?
4. Mi hordozza a mennyiségi és minőségi analitikai információt egy kromatogramban?
5. Hogyan számítjuk ki az elméleti tényérszám értékét, és mi ennek jelentése?
6. Mit értünk a homológ sorok módszerén a kromatográfias minőségi analízisben?
7. Melyek a gázkromatográfiasban használt töltetes és a kapilláris oszlopok közötti főbb különbségek (előnyök/hátrányok)?
8. Hogyan működik és milyen tulajdonságai vannak a hővezetőképességi detektornak?
9. A n-butanol vagy az i-butanol retenciós ideje lesz kisebb a DB-WAX kolonnán?
10. Egy kromatográfias mérés során egy vegyület retenciós ideje $t_r = 4,00$ perc. A kolonna elméleti tényérszáma $N = 75000$. Számítsuk ki, hogy hány csúcs helyezkedhet el átfedés nélkül a kromatogram 3,50 és 4,50 perc közötti részén! A csúcshélességet tekintsük állandónak.
(a helyes megoldás: 17)