



Τμήμα Δειφορικής Γεωργίας

**Γεωπονική Σχολή
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ**

Εργαστηριακές Ασκήσεις Αναλυτικής και Οργανικής Χημείας

Αγγελική Απ. Γαλάνη

Χημικός PhD, Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό (ΕΔΙΠ)

11^η Εργαστηριακή Άσκηση Χρωματογραφικές Μέθοδοι – Ποιοτικός Προσδιορισμός & Ποσοτικός Προσδιορισμός

α) Μέρος ποιοτικός προσδιορισμός

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

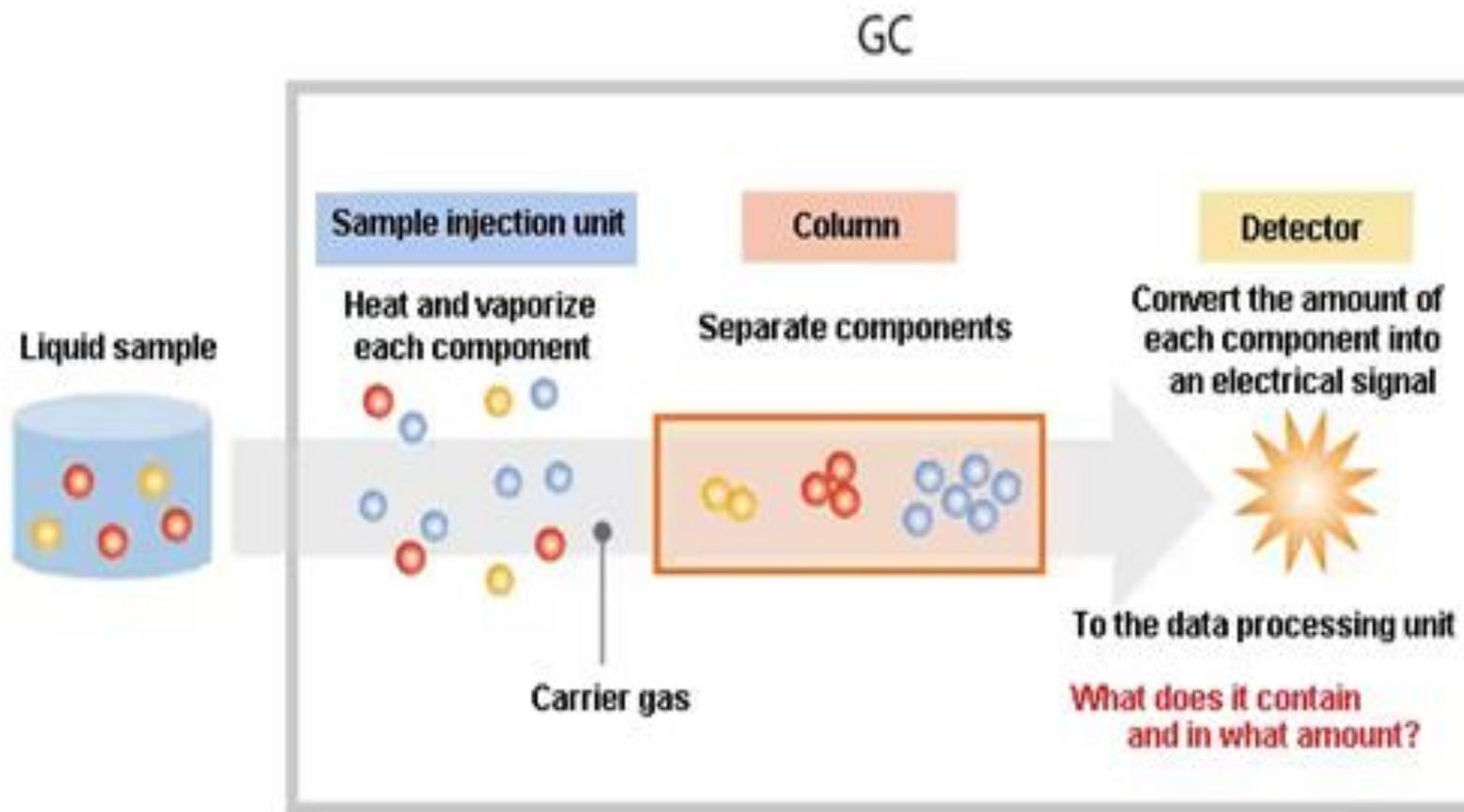
Αέρια Χρωματογραφία

Gas Chromatography GC

- Χρησιμοποιείται ως τεχνική ευρέως για την ανάλυση μιγμάτων πτητικών οργανικών ενώσεων και συγκεκριμένα για:
 - Διαχωρισμό
 - Ταυτοποίηση
 - Ποσοτικοποίηση
- Βρίσκει εφαρμογή στη Φαρμακολογία, Περιβαλλοντική Χημεία, Βιοχημεία, και σε πολλά άλλα επιστημονικά πεδία.

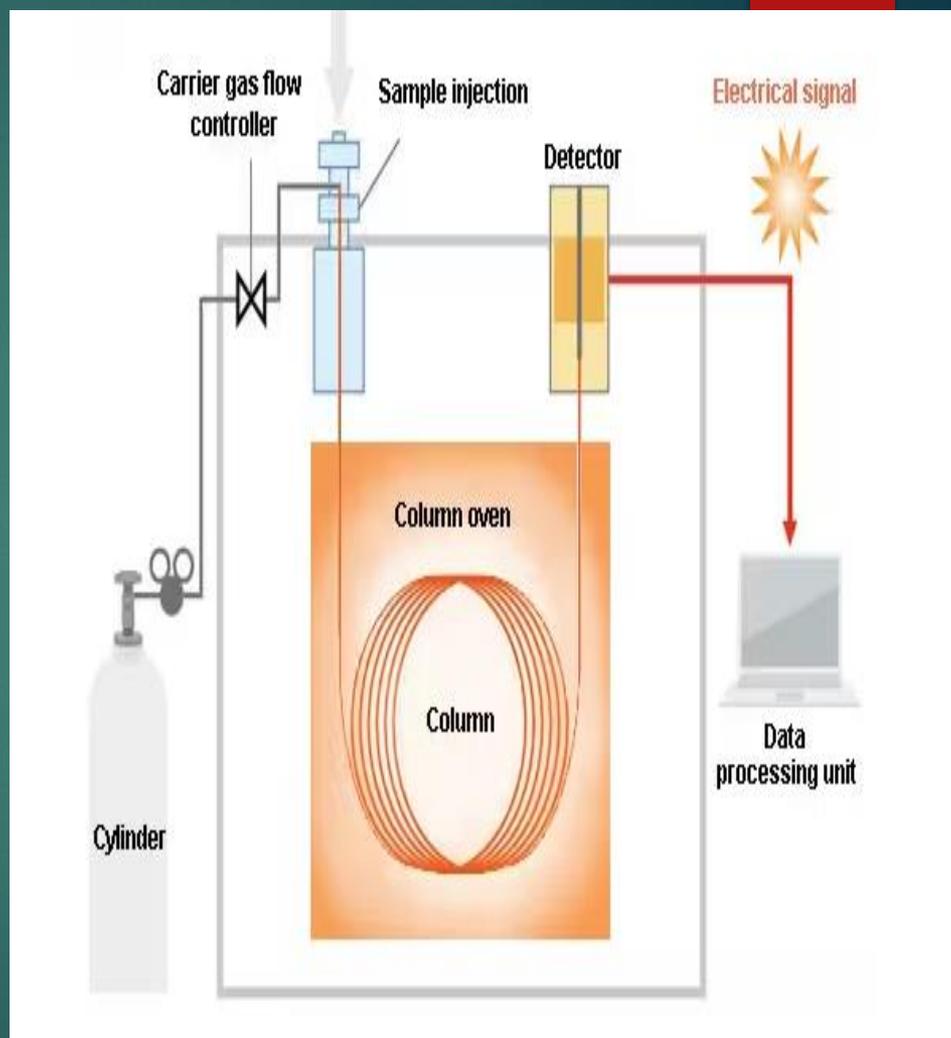
- ▶ Όταν υγρό δείγμα μίγματος συστατικών εγχέεται στο σύστημα GC, οι ενώσεις που περιέχονται σε αυτό συμπεριλαμβανομένου του διαλύτη, θερμαίνονται και εξατμίζονται στη μονάδα έγχυσης δείγματος.
- ▶ Η κινητή φάση, αναφέρεται ως φέρον αέριο και ρέει πάντα διαδοχικά από τη μονάδα έγχυσης δείγματος στη στήλη και στη συνέχεια στον ανιχνευτή.
- ▶ Τα συστατικά που εξατμίστηκαν στη μονάδα έγχυσης δείγματος μεταφέρονται από το φέρον αέριο στη στήλη. Μόλις μπει στη στήλη, το μείγμα των ενώσεων διαχωρίζεται και η ποσότητα κάθε ένωσης μετριέται μετά από τον ανιχνευτή.

- ▶ Ο ανιχνευτής μετατρέπει την ποσότητα κάθε ένωσης σε ηλεκτρικό σήμα και στέλνει αυτά τα σήματα σε μια μονάδα επεξεργασίας δεδομένων, (υπολογιστή).
- ▶ Τα δεδομένα που λαμβάνονται επιτρέπουν τον προσδιορισμό των ενώσεων που περιέχονται στο δείγμα και την ποσοτικοποίησή τους.

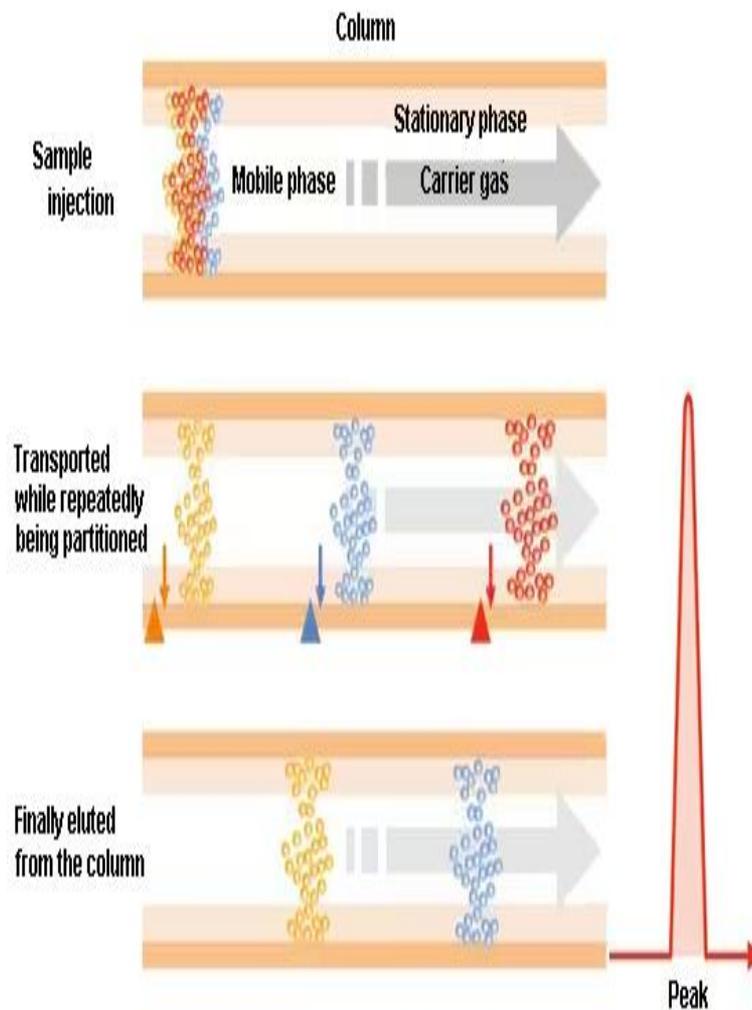


Τρία κύρια στοιχεία του GC:

- η μονάδα έγχυσης δείγματος, η οποία θερμαίνει το υγρό δείγμα και το εξατμίζει.
- η στήλη, η οποία χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό κάθε ένωσης.
- και ο ανιχνευτής, ο οποίος ανιχνεύει τις ενώσεις και εξάγει τις συγκεντρώσεις τους ως ηλεκτρικά σήματα.

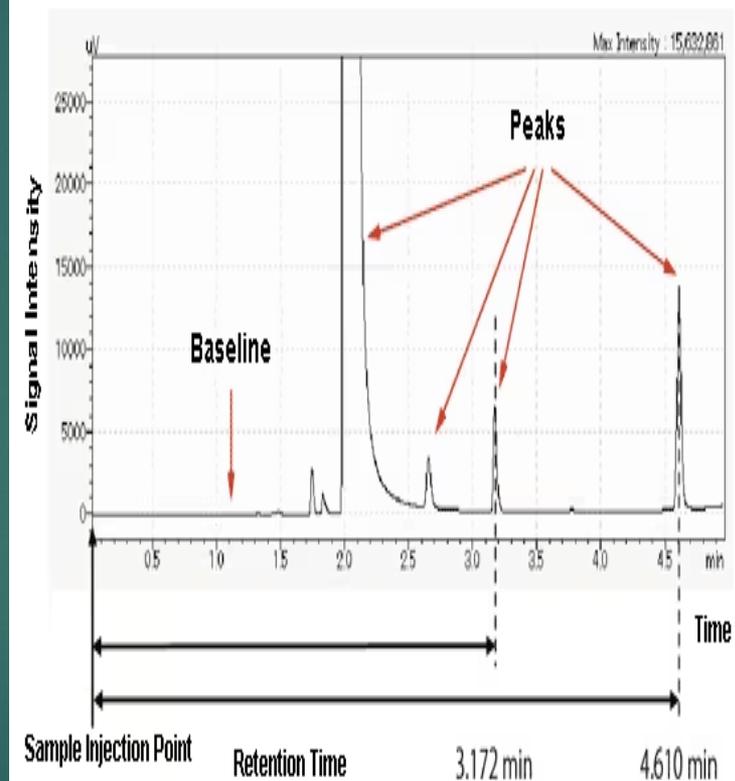


- ▶ Ο διαχωρισμός, γίνεται μέσα στη στήλη
- ▶ Το δείγμα ενώσεων, εγχέεται στη στήλη μαζί με την κινητή φάση (φέρων αέριο)
- ▶ Οι ενώσεις από τις οποίες αποτελείται το δείγμα έχουν διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης στη στήλη ανάλογα με το πως αλληλεπιδρούν με τη στατική φάση κι έτσι γίνεται ο διαχωρισμός τους.
- ▶ Τα συστατικά που διέρχονται από τη στήλη μεταφέρονται από την κινητή φάση (αέρια φάση) ενώ διαχωρίζονται και προσροφώνται στη στατική φάση (υγρή φάση και στερεά φάση).



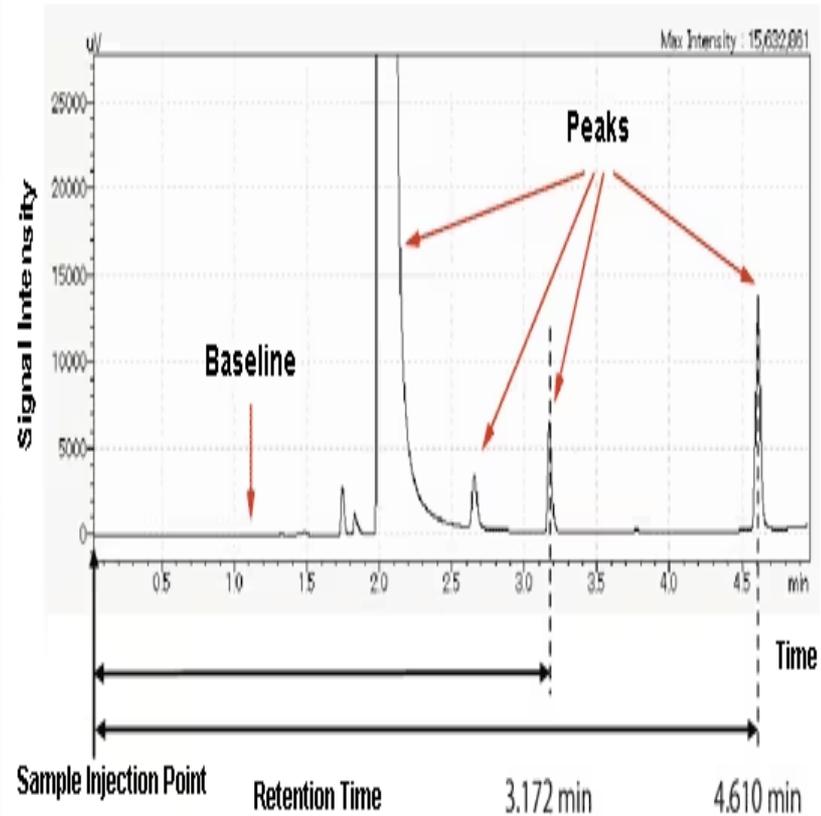
- ▶ Στο χρωματογράφημα που προκύπτει, ο άξονας x απεικονίζει το χρόνο που απαιτείται για να φτάσει στον ανιχνευτή η ουσία.
- ▶ Ο άξονας y απεικονίζει την ένταση του σήματος.
- ▶ Το τμήμα στο οποίο δεν ανιχνεύεται τίποτα ορίζεται ως baseline.
- ▶ Το τμήμα όπου ανιχνεύεται μια ένωση ονομάζεται κορυφή.

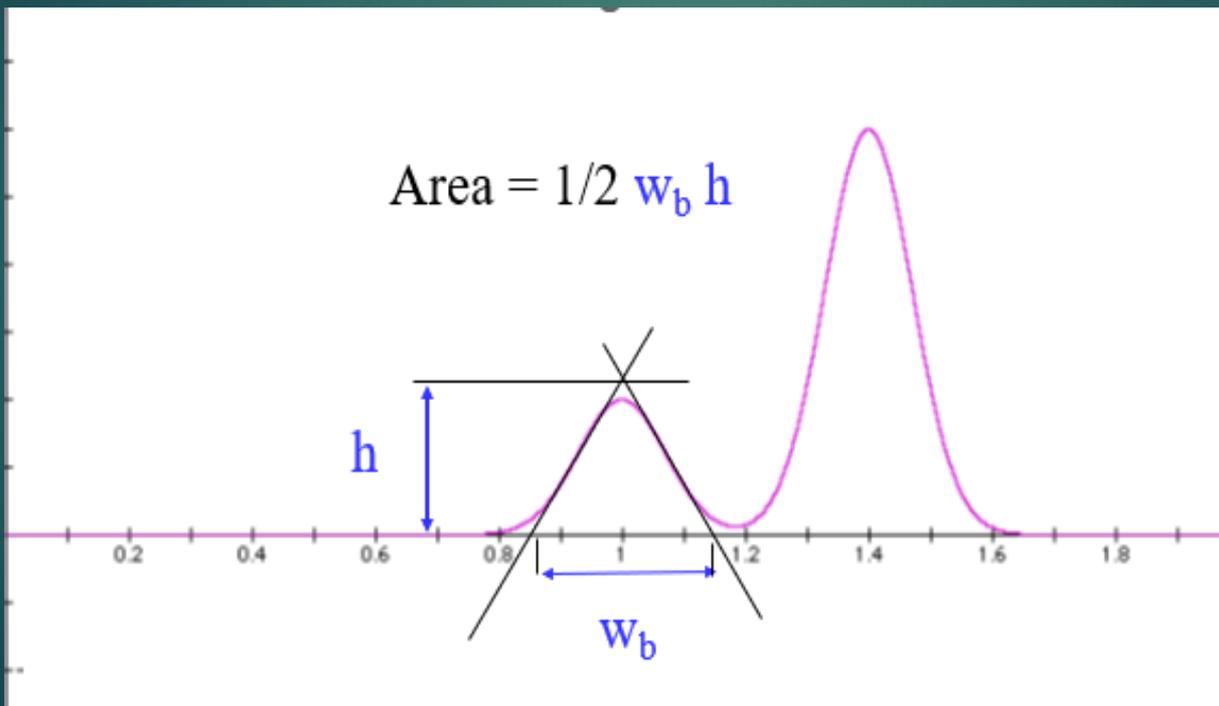
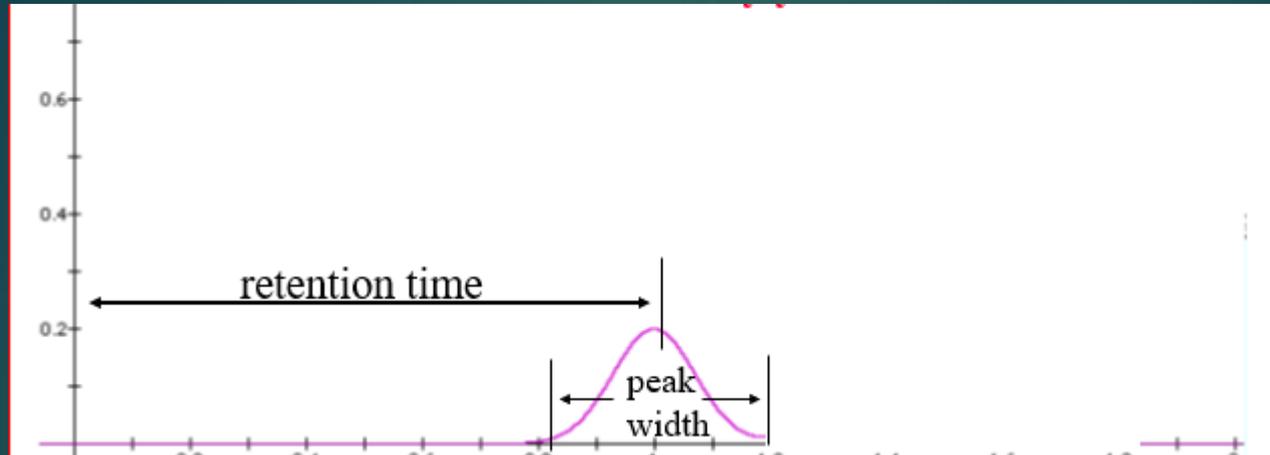
Analysis Results—Chromatogram



- ▶ Ο χρόνος από τη στιγμή που το δείγμα εγχέεται στο σύστημα μέχρι να εμφανιστούν οι κορυφές ονομάζεται χρόνος κατακράτησης t_R (Retention Time)
- ▶ Καθώς οι χρόνοι έκλουσης για κάθε συστατικό διαφέρουν, κάθε συστατικό μπορεί να διαχωριστεί και να ανιχνευθεί.

Analysis Results—Chromatogram





Ενώσεις που μπορούν να αναλυθούν με GC

12

- Ενώσεις με σημείο βρασμού έως 400 °C
- Ενώσεις που δεν αποσυντίθενται στη θερμοκρασία εξάτμισης τους
- Ενώσεις που αποσυντίθενται στη θερμοκρασία εξάτμισης τους, αλλά πάντα στην ίδια ποσότητα. Αυτό ονομάζεται πυρόλυση GC.

Ενώσεις που δεν μπορούν να αναλυθούν ή είναι δύσκολο να αναλυθούν με GC

- Ενώσεις που δεν εξατμίζονται (ανόργανα μέταλλα, ιόντα και άλατα).
- Ιδιαίτερα δραστικές και χημικά ασταθείς ενώσεις (υδροφθορικό οξύ και άλλα ισχυρά οξέα, όζον, NO_x και άλλες εξαιρετικά δραστικές ενώσεις).
- Ενώσεις υψηλής προσρόφησης (ενώσεις που περιέχουν καρβοξυλομάδα, υδροξυλομάδα, αμινομάδα ή θείο).
- Ενώσεις για τις οποίες είναι δύσκολο να ληφθούν τυπικά δείγματα (οι ποιοτικές και ποσοτικές αναλύσεις είναι δύσκολες).

Φέρον αέριο:

Το φέρον αέριο είναι ένα αδρανές αέριο που χρησιμοποιείται για τη μεταφορά των προς ανάλυση ουσιών του δείγματος. Ήλιο (He), άζωτο (N_2), υδρογόνο (H_2) και αργό (Ar) χρησιμοποιούνται συχνά. Ήλιο και άζωτο χρησιμοποιούνται συχνότερα και η χρήση ηλίου είναι επιθυμητή όταν χρησιμοποιείται τριχοειδής στήλη.

Ήλιο

- Αν και ακριβό είναι ασφαλές και η χρήση του είναι επιθυμητή όταν χρησιμοποιείται τριχοειδής στήλη

Νέον

- Ασφαλές και με λογικό κόστος αλλά απαιτεί περισσότερο χρόνο ανάλυσης

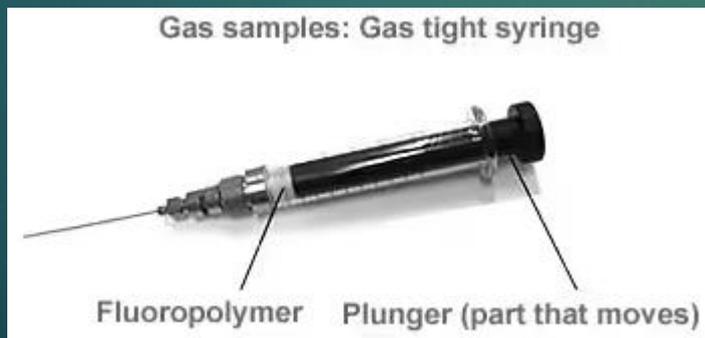
Έγχυση δείγματος

15

- ▶ Υγρά δείγματα: 1-2 μL



- ▶ Αέρια δείγματα: 0,2 – 1 mL



Όγκος δείγματος
που λαμβάνεται με
σύριγγα

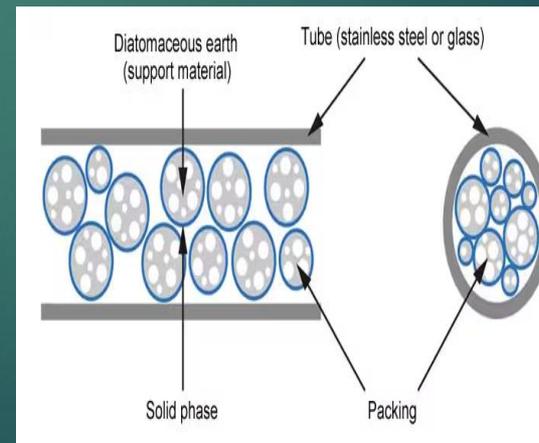
Είδη στηλών

16

Πληρωμένες στήλες

Κοντές, παχιές στήλες
από γυαλί ή σωλήνες
από ανοξείδωτο χάλυβα

- Μήκος 1- 3 m
- Εσωτερική διάμετρος:
2-4 mm

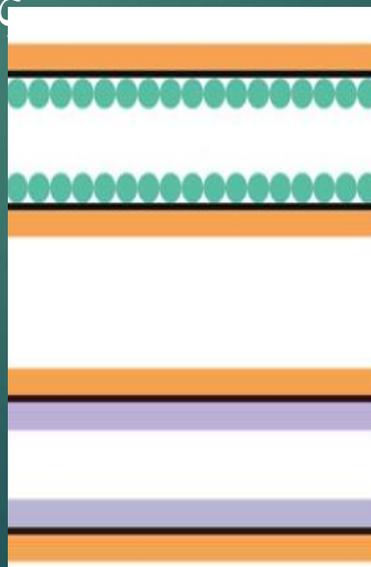
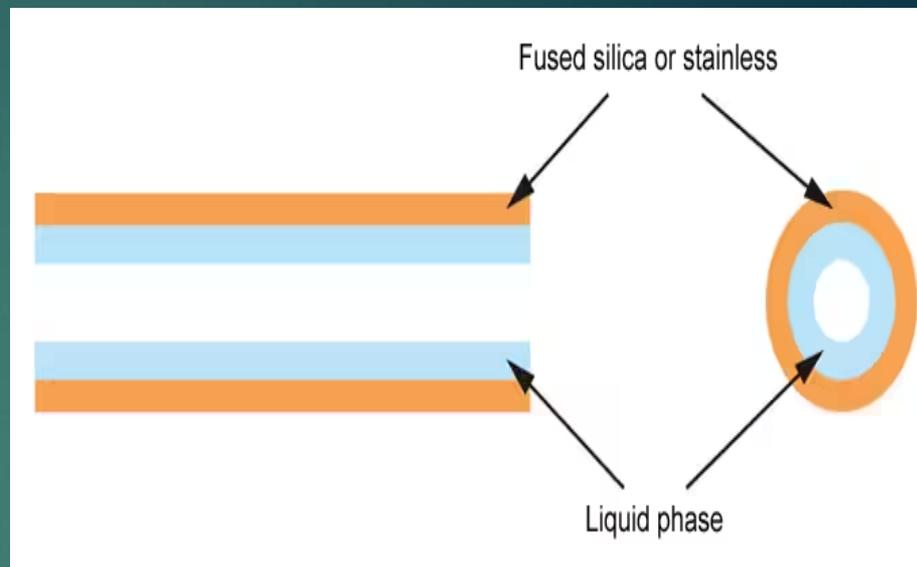


Είδη στηλών

Τριχοειδείς στήλες

Λεπτός τηγμένος γυάλινος σωλήνας πυριτίας, επενδεδυμένος με υγρή φάση ή προσροφητικό υλικό ή με στρώμα χημικής σύνδεσης. Λεπτοί μεταλλικοί σωλήνες χρησιμοποιούνται επίσης μερικές φορές ως τριχοειδείς στήλες.

- Μήκος 10- 100 m
- Εσωτερική διάμετρος: 0,1-1 mm



Στήλη PLOT

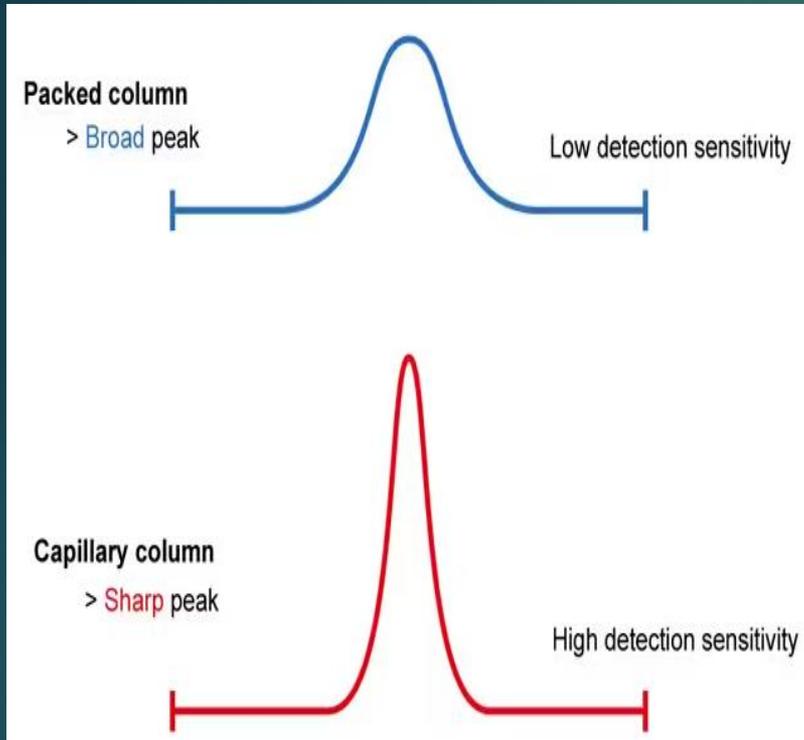
(περιέχει ακινητοποιημένο πορώδες πολυμερές/αλουμίνα κλπ)

WCOT ή στήλη χημικής σύνδεσης

(επενδεδυμένη με υγρή φάση ή στρώμα χημικής σύνδεσης)

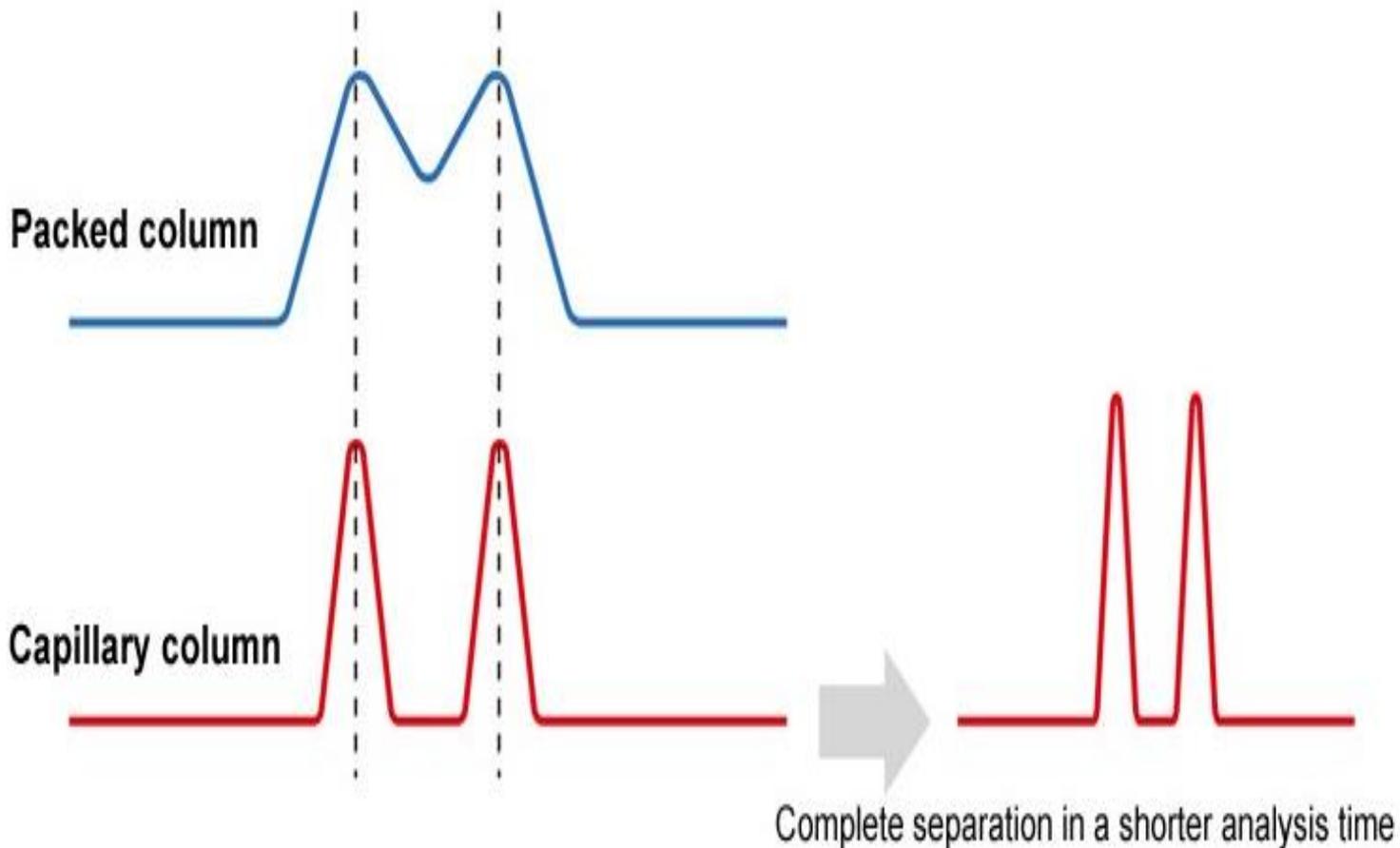
Είδη στήλης και επίδραση στο διαχωρισμό

18



- ▶ Οι συσκευασμένες στήλες παράγουν ευρείες κορυφές και οι τριχοειδείς στήλες παράγουν αιχμηρές κορυφές. Επιπλέον, οι τριχοειδείς στήλες παράγουν ψηλότερες κορυφές, γεγονός που επιτρέπει την ανίχνευση χαμηλότερων συγκεντρώσεων (υψηλή ευαισθησία ανίχνευσης). Αυτό είναι το πλεονέκτημα των τριχοειδών στηλών.

Οι πιο έντονες κορυφές παρέχουν καλύτερο διαχωρισμό αλλά και μικρότερους χρόνους ανάλυσης.

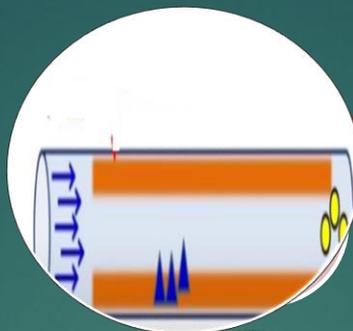


Τύποι ανιχνευτών

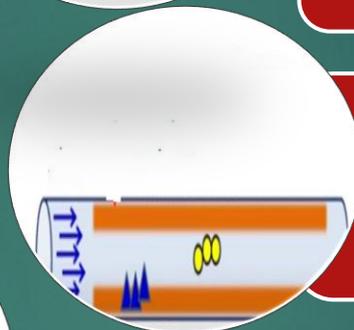
- ▶ Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID): Το έκλουσμα καίγεται με μίγμα H_2 και αέρα. Χρησιμοποιείται κυρίως για ανίχνευση υδρογονανθράκων
- ▶ Ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (TCD): Οι πιο συνηθισμένοι αλλά έχουν μικρότερη ευαισθησία σε μικρές ποσότητες αναλύτη
- ▶ Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD) Ευαίσθητος σε μόρια που περιέχουν αλογόνα, συζυγιακά καρβονύλια, νιτρίλια, νιτροενώσεις, οργανομεταλλικές ενώσεις. Έχει μικρή ευαισθησία σε υδρογονάνθρακες, αλκοόλες και κετόνες
- ▶ Αζώτου – Φωσφόρου (NPD): τροποποιημένος FID, ιδιαίτερα ευαίσθητος σε ενώσεις που περιέχουν N και P και άλλοι.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΙΓΜΑΤΟΣ ΟΥΣΙΩΝ



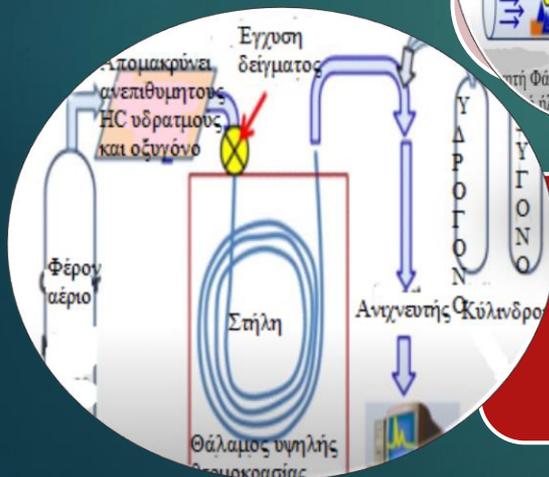
Και φθάνουν στην έξοδο της στήλης πιο γρήγορα



Οι πιο πτητικές προχωρούν πιο γρήγορα



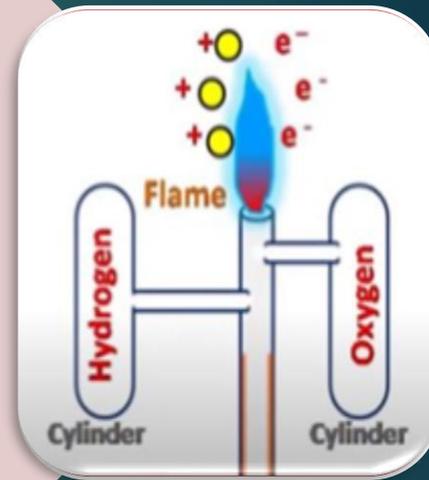
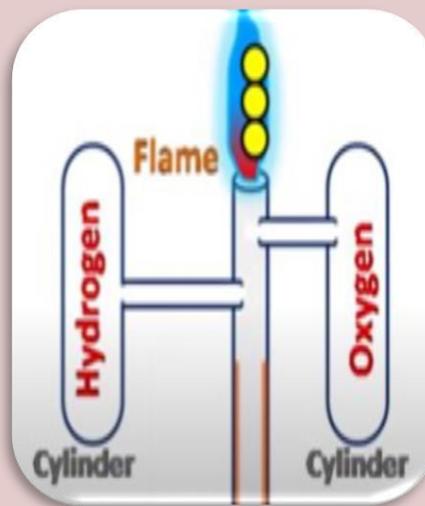
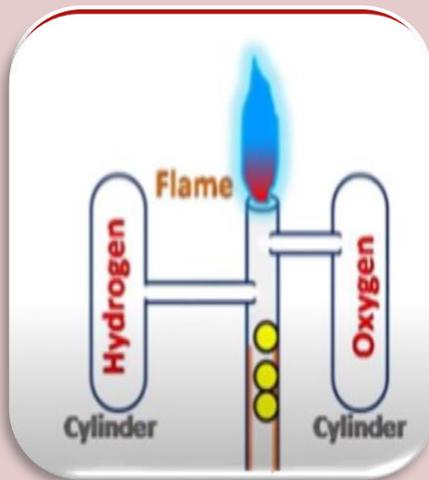
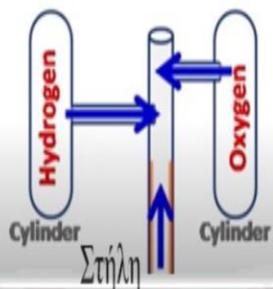
Οι ουσίες του μίγματος διαφέρουν ως προς την πτητικότητα



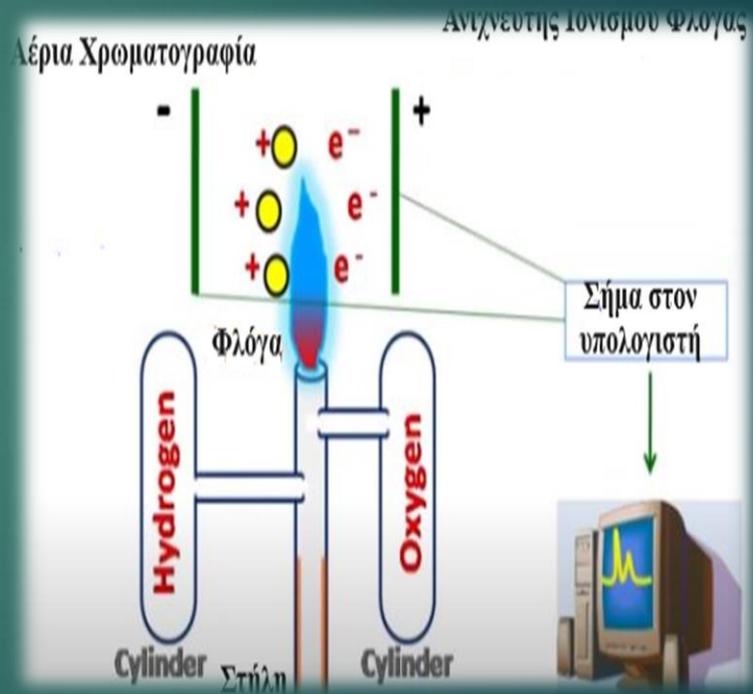
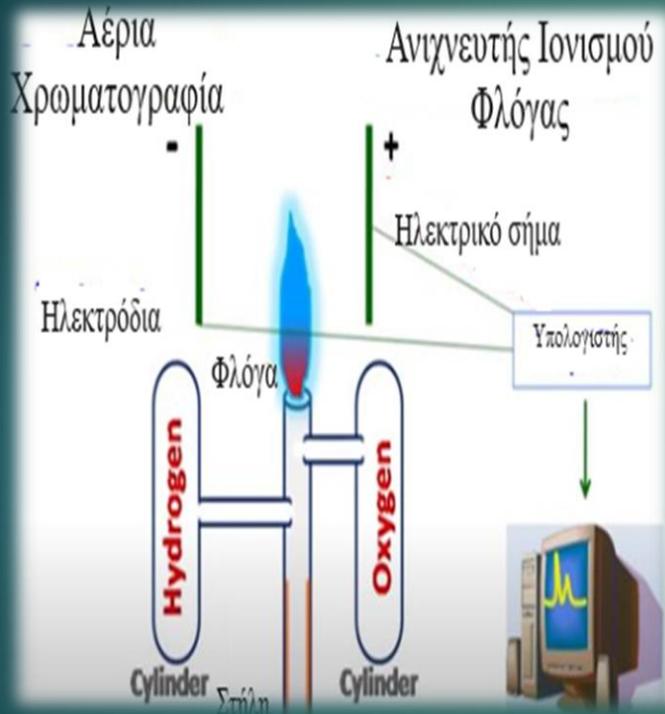
Μείγμα ουσιών εγχύεται στον Αέριο Χρωματογράφο

Ως ανιχνευτής χρησιμοποιείται ανιχνευτής ιονισμού φλόγας

Αέρια χρωματογραφία
Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας



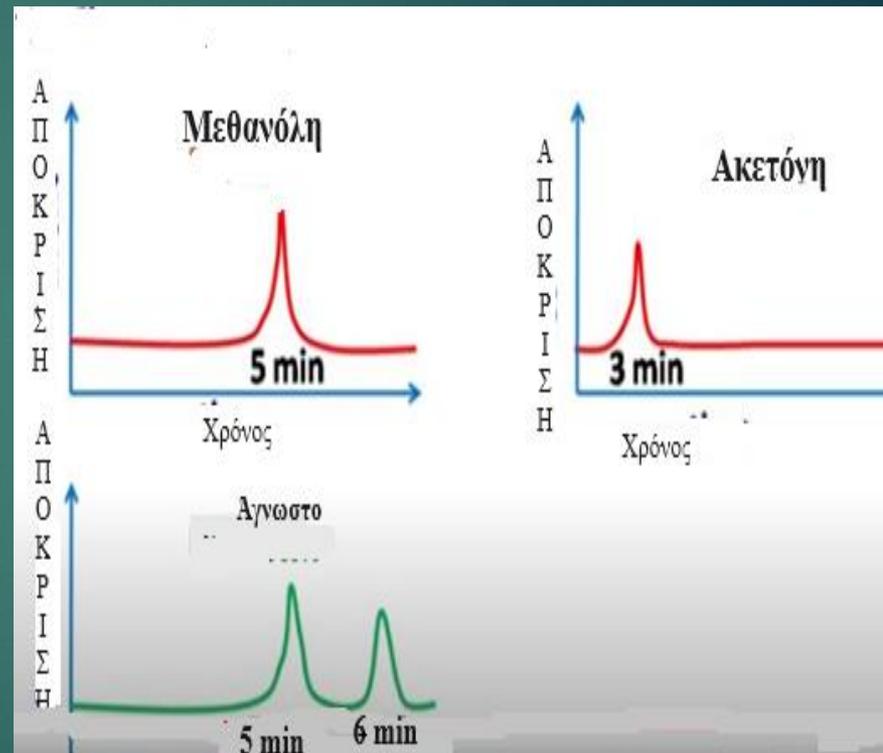
Ως ανιχνευτής χρησιμοποιείται ανιχνευτής ιονισμού φλόγας



Αποτελέσματα

25

- ▶ Να σχολιάσετε ποια από τις πρότυπες ενώσεις (Μεθανόλη ή Ακετόνη) υπάρχει στο δείγμα



Περισσότερες πληροφορίες
<https://www.youtube.com/watch?v=UycPljfrnWo>

Βιβλιογραφία

- ▶ ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ - PDF Free Download (docplayer.gr)
- ▶ <https://www.youtube.com/watch?v=UycPljfrnWo>