



UNIWERSYTET GDAŃSKI  
WYDZIAŁ CHEMII  
Katedra Analizy Środowiska

## **CHROMATOGRAFIA GAZOWA (GC)**

Gdańsk 2007

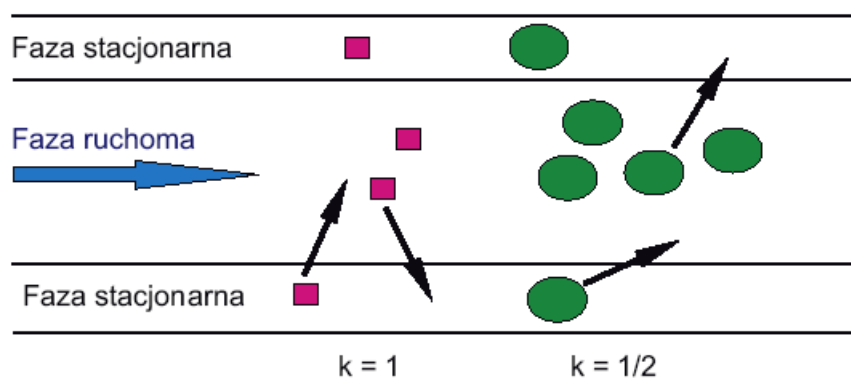
## 1. Wprowadzenie do chromatografii gazowej

Chromatografia jest fizykochemiczną metodą rozdzielania, w której składniki rozdzielane ulegają podziałowi między dwie fazy: jedna jest nieruchoma (faza stacjonarna), a druga (faza ruchoma) porusza się w określonym kierunku. Różny podział składników mieszaniny pomiędzy obie fazy powoduje zróżnicowanie prędkości migracji i rozdzielanie składników (Rys. 1).

Jeżeli fazą ruchomą jest gaz to jest to *chromatografia gazowa* (GC – *gas chromatography*).

Fazą stacjonarną w chromatografii gazowej może być:

- ciało stałe: adsorbent, wtedy mamy do czynienia z *chromatografią adsorpcyjną* (GSC – *gas-solid chromatography*),
- ciecz osadzona na stałym nośniku w postaci jednorodnego filmu (warstwy), wtedy mamy do czynienia z *chromatografią podziałową* (GLC – *gas-liquid chromatography*).



Rys. 1. Mechanizm procesu chromatograficznego. Substancje ■ i ● charakteryzują się zróżnicowanymi współczynnikami retencji  $k$ .

Faza ruchoma porusza się wewnątrz kolumny natomiast faza stacjonarna jest osadzona na wewnętrznych ściankach kolumny. Związki chemiczne z większym powinowactwem do fazy stacjonarnej są selektywnie zatrzymywane przez nią i poruszają się wzdłuż kolumny znacznie wolniej. Związki z mniejszym powinowactwem do fazy stacjonarnej poruszają się wzdłuż kolumny szybciej i tym samym opuszczają kolumnę, czyli *eluują* z kolumny, jako pierwsze. Równowaga podziału pomiędzy fazy ma charakter dynamiczny, czyli cząsteczki substancji nieustannie przechodzą od fazy ruchomej do stacjonarnej i z powrotem.

## 2. Parametry chromatograficzne w chromatografii gazowej

Podstawowym parametrem określającym podział substancji X pomiędzy dwie fazy jest stała podziału  $K_c$ , którą można wyrazić równaniem Nernsta.

$$K_c = \frac{c_s}{c_m} \quad (1)$$

gdzie:  $c_s$  – oznacza stężenie substancji X w fazie stacjonarnej,  $c_m$  – oznacza stężenie substancji X w fazie ruchomej.

Innym ważnym parametrem jest współczynnik retencji  $k$ , który jest miarą czasu, w jakim substancja X przebywa w fazie stacjonarnej, w stosunku do czasu, w którym przebywa ona w fazie ruchomej. Określa on, ile razy dłużej dana substancja jest zatrzymywana przez fazę stacjonarną niż potrzebowałaby na przejście przez kolumnę z prędkością poruszania się fazy ruchomej. Związki chemiczne charakteryzujące się różnymi współczynnikami retencji mogą zostać rozdzielone na kolumnie chromatograficznej (Rys. 1).

$$k = \frac{\text{liczba moli substancji X w fazie stacjonarnej}}{\text{liczba moli substancji X w fazie ruchomej}} \quad (2)$$

Efekt rozdziału chromatograficznego jest wykreślany w postaci *chromatogramu*, który przedstawia wykres wskazań sygnału uzyskanego w detektorze w funkcji czasu lub w funkcji objętości fazy ruchomej. Zapis stężenia pojedynczej substancji w funkcji czasu ma postać krzywej Gaussa i nosi nazwę *piku* (ang. *peak* czyli *szczyt*).

Typowy chromatogram przedstawiony jest na Rys. 2. Możemy określić na nim:

- czas retencji  $t_R$  – czas mierzony od momentu wprowadzenia próbki na kolumnę do momentu pojawienia się na wyjściu z kolumny maksimum stężenia danego związku chemicznego czyli maksimum piku

$$t_R = \frac{L}{u} \times (1+k) \quad (3)$$

gdzie:  $L$  – długość kolumny chromatograficznej,  $u$  – średnia, liniowa prędkość przepływu gazu nośnego,  $k$  – współczynnik retencji,

- zerowy czas retencji  $t_M$  (czas „martwy”) – czas przebywania w kolumnie substancji, która nie ma powinowactwa do fazy stacjonarnej np. metanu; czas zerowy jest równy czasowi przepływu fazy ruchomej przez kolumnę,
- zredukowany czas retencji  $t'_R$  – jest różnicą pomiędzy czasem retencji a zerowym czasem retencji

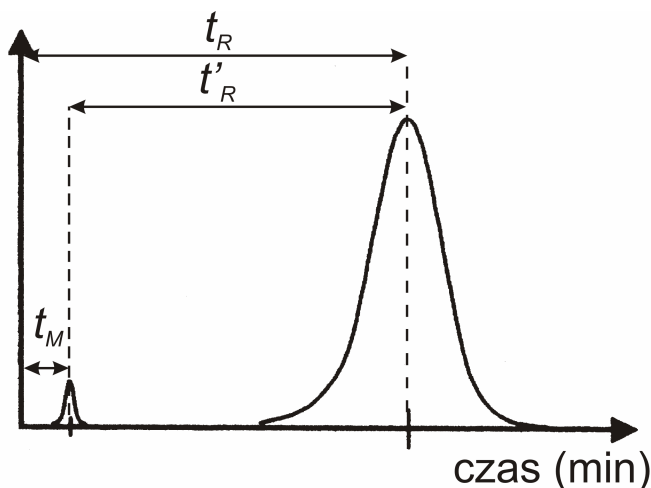
$$t'_R = t_R - t_M \quad (4)$$

- współczynnik retencji  $k$

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (5)$$

- szerokość piku mierzona u podstawy piku  $w$  lub szerokość piku mierzona na określonej wysokości piku np. w połowie wysokości  $w_{1/2h}$ ,
- liniową prędkość przepływu fazy ruchomej ( $u$ ) przez kolumnę można łatwo wyznaczyć eksperymentalnie poprzez analizę chromatograficzną substancji niezatrzymywanej na kolumnie np. metanu i zmierzenie czasu przejścia jej przez kolumnę czyli czasu zerowego ( $t_M$ ).

$$u = \frac{L}{t_M} \quad (6)$$

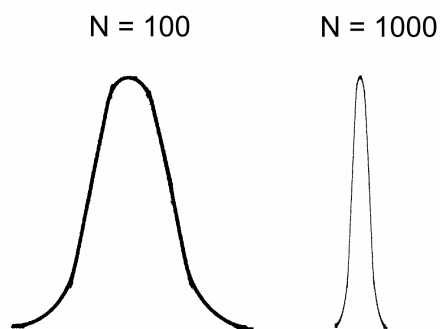


Rys. 2. Chromatogram i sposób pomiaru podstawowych wielkości chromatograficznych.

Sprawność kolumny chromatograficznej decyduje o tym, czy pik chromatograficzny jest ostry czy też rozmyty. Korzystne jest, aby rozmycie było ograniczone, aby piki były wąskie, gdyż wówczas będą lepiej rozdzielone. O sprawności kolumny decyduje liczba pólek teoretycznych – im jest ich więcej tym kolumna jest sprawniejsza (Rys. 3). *Półka teoretyczna* jest to objętość kolumny, w której zostaje osiągnięty stan równowagi pomiędzy stężeniami substancji chromatografowanej w fazie ruchomej i w fazie stacjonarnej. Kolumna chromatograficzna składa się z  $N$  pólki teoretycznych.

$$L = N \times H \quad (7)$$

gdzie:  $L$  – długość kolumny chromatograficznej,  $H$  (lub inaczej *WRPT*) – wysokość równoważna półce teoretycznej,  $N$  – liczba pólki teoretycznych.

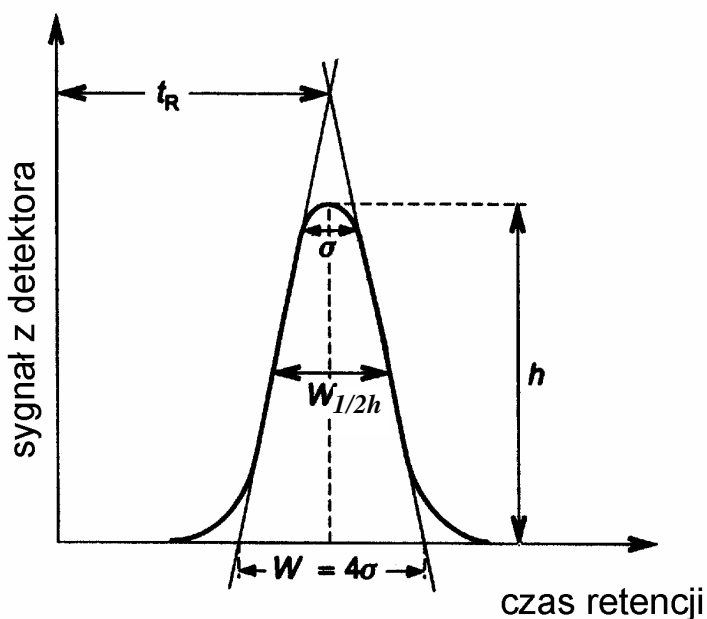


Rys. 3. Wpływ liczby pólk teoretycznych ( $N$ ) na kształt piku chromatograficznego.

Liczbę pólk teoretycznych można obliczyć korzystając z danych odczytanych z chromatogramu (Rys. 4) oraz z wzorów (8), (9) i (10).

$$N = 16 \times \left( \frac{t_R}{w} \right)^2 \quad (8), \quad N = 5,54 \times \left( \frac{t_R}{w_{1/2h}} \right)^2 \quad (9), \quad N = \left( \frac{t_R}{\sigma} \right)^2 \quad (10)$$

gdzie:  $w$  – szerokość piku mierzona u podstawy,  $w_{1/2h}$  – szerokość piku mierzona w połowie wysokości piku,  $\sigma$  – odchylenie standardowe krzywej (szerokość piku na wysokości równej 0,882 wysokości). Wszystkie wielkości mierzone są w jednostkach czasu.



Rys. 4. Obliczanie liczby pólk teoretycznych kolumny.

Współczynnik selektywności  $\alpha$  jest miarą selektywności rozdzielania chromatograficznego dwóch związków 1 oraz 2:

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad (11)$$

gdzie:  $k_2$  – współczynnik retencji związku 2,  $t'_{R2}$  – zredukowany czas retencji związku 2 ( $t'_{R2} > t'_{R1}$ ).

Miarą skuteczności rozdzielania składników mieszaniny jest wielkość nazwana rozdzielczością  $R_S$ . Rozdzielenie pików chromatograficznych zależy zarówno od ich odległości, jak i od ich szerokości, tzn. od sprawności kolumny.

$$R_S = 2 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_1 + w_2} \quad (12)$$

gdzie:  $t_{R1}$  oraz  $t_{R2}$  są czasami retencji związków 1 oraz 2,  $w_1$  oraz  $w_2$  to szerokości pików mierzone przy podstawie.

Wzór Purnella wiąże ze sobą rozdzielczość, czas retencji, selektywność, i liczbę pól teoretycznych następującą zależnością:

$$R_S = \frac{1}{4} \times \left[ \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right] \times \left[ \frac{k_2}{1 + k_2} \right] \times \sqrt{N_2} \quad (13)$$

gdzie:  $\alpha$  – współczynnik selektywności,  $k_2$  – współczynnik retencji dla związku 2,  $N_2$  – liczba pól teoretycznych dla związku 2.

Wzór (12) umożliwia praktyczny pomiar rozdzielczości przy zastosowaniu danych odczytanych z chromatogramu, natomiast wpływ różnych czynników na rozdzielczość uwzględnia wzór (13). Wynika z niego, że:

- podwojenie długości kolumny powoduje wzrost rozdzielczości tylko  $\sqrt{2}$  razy,
- z punktu widzenia praktycznego pełne rozdzielanie następuje wtedy, gdy  $R_S > 1,5$ .

Wartość  $R_S$  zależy od trzech czynników:

- selektywności wyrażanej współczynnikiem selektywności (wpływa na odległość pików),
- sprawności kolumny (wpływa na szerokość pików),
- retencji wyrażonej współczynnikiem retencji.

### 3. Równanie van Deemtera

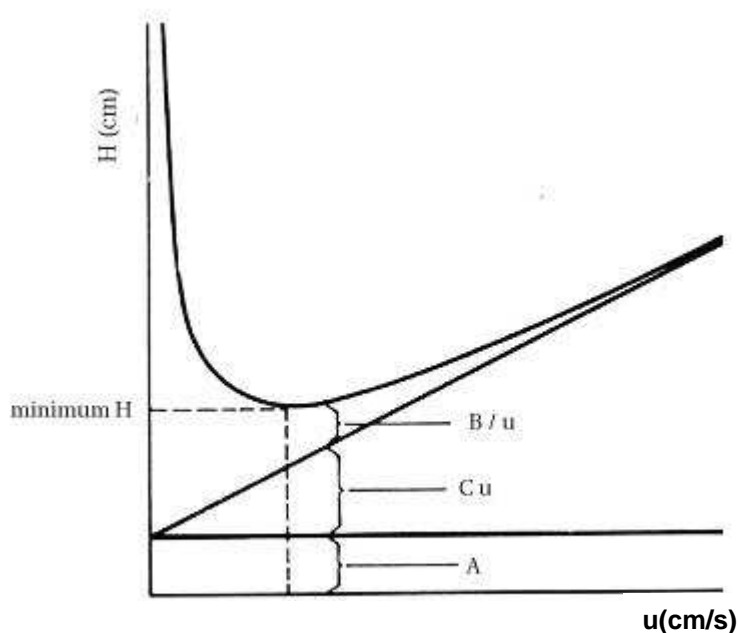
Związek chemiczny, przeprowadzony w stan pary, przemieszcza się wraz z fazą ruchomą, czyli gazem nośnym, przez kolumnę chromatograficzną zawierającą fazę stacjonarną. Zarówno w fazie gazowej (ruchomej) jak i w fazie stacjonarnej zachodzi proces dyfuzji, który powoduje, że pasmo substancji z początkowego, bardzo wąskiego, po przejściu przez kolumnę ulega rozmyciu. Zjawiska rozmycia pasma chromatograficznego były przedmiotem badań van Deemtera.

Równanie van Deemtera – przedstawia zależność wysokości równoważnej półce teoretycznej ( $H$ ) od średniej, liniowej prędkości przepływu fazy ruchomej ( $u$ ) przez kolumnę (Rys. 5):

$$H = A + \frac{B}{u} + C_s \times u \quad (14)$$

gdzie:

$A$  i  $B$  – stałe zależne od dyfuzji ( $A$  – od dyfuzji wirowej,  $B$  – od dyfuzji podłużnej wzdłuż kierunku przepływu),  $C_s$  – opór przenoszenia masy związany z fazą stacjonarną.

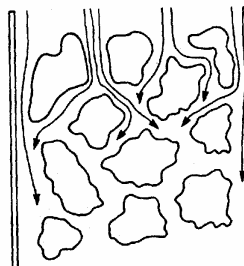


Rys. 5. Zależność wysokości równoważnej półce teoretycznej ( $H$ ) od średniej, liniowej prędkości przepływu fazy ruchomej ( $u$ ) dla chromatografii gazowej (równanie van Deemtera).

Dyfuzja wirowa zależy od fazy stacjonarnej kolumny i jest spowodowana wielokanałowością przepływu fazy ruchomej (Rys. 6). W każdej kolumnie cząsteczki rozdzielanej substancji poruszają się różnymi drogami, w związku z tym ich czasy przebywania w kolumnie są różne. Rozmycie piku zależy od wymiaru ziaren fazy stacjonarnej, ich kształtu, porowatości, upakowania w kolumnie, średnicy kolumny. W gazowej chromatografii podziałowej, gdzie fazą stacjonarną jest film cieczy naniesiony na ściany kolumny kapilarnej, czynnik  $A$  w równaniu van Deemtera równy jest zero.

Dyfuzja podłużna w fazie ruchomej spowodowana jest przypadkowym ruchem cząsteczek rozdzielanej substancji w fazie ruchomej. Drugi człon równania van Deemtera ( $B/u$ ) zależy od szybkości przepływu fazy ruchomej. Im większa jest szybkość przepływu fazy ruchomej, tym krótszy czas wędrówki substancji z tą fazą i mniejsze rozmycie.

Parametr  $C_S$  zależy od oporów powstających przy przemieszczaniu się rozdzielanych substancji do i od fazy stacjonarnej (w przypadku chromatografii podziałowej zależy od dyfuzji do ciekłej fazy stacjonarnej natomiast w przypadku chromatografii adsorpcyjnej zależy od kinetyki adsorpcji i desorpcji).



Rys. 6. Dyfuzja wirowa rozdzielanych substancji

## 4. Wybór parametrów analizy

Parametry analizy metodą chromatografii gazowej dobieramy do konkretnego analitu i konkretnej próbki. Najważniejsze parametry pracy układu chromatograficznego to:

- rodzaj fazy stacjonarnej,
- wymiary kolumny,
- temperatura pieca chromatograficznego,
- rodzaj detektora i dozownika,
- temperatura detektora i dozownika,
- prędkość przepływu gazu nośnego,
- wielkość dozowanej próbki.

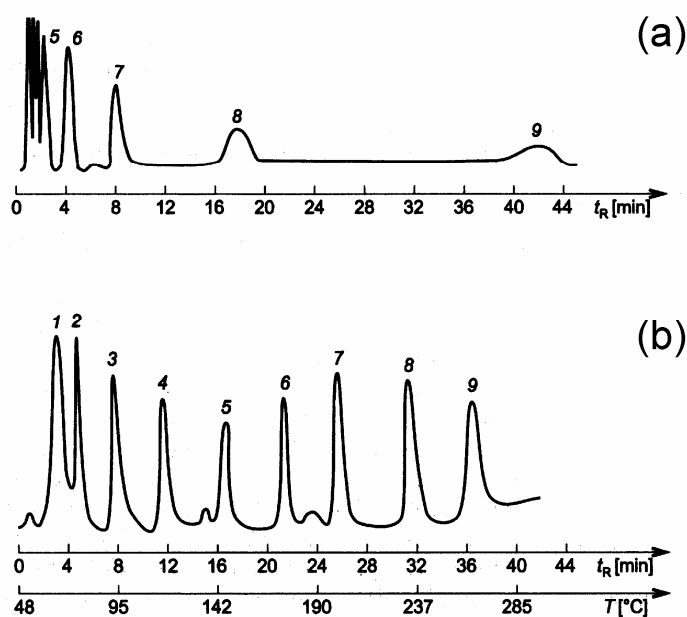
Wybór fazy stacjonarnej do analizy nie jest sprawą łatwą i ciągle jeszcze bywa dokonywany eksperymentalnie. Najważniejszą cechą faz stacjonarnych decydującą o oddziaływaniu z cząsteczkami związków chromatografowanych jest ich polarność. Ogólne zasady wyboru ciekłych faz stacjonarnych (GLC) są następujące:

- do rozdziału substancji niepolarnych stosuje się fazę stacjonarną niepolarną,
- do rozdziału substancji polarnych stosuje się fazę stacjonarną polarną,
- związki niepolarne są rozdzielane na niepolarnej fazie stacjonarnej zgodnie z uszeregowaniem ich według temperatur wrzenia (lotności),
- związki niepolarne są eluowane przed związkami polarnymi o tej samej temperaturze wrzenia, jeżeli faza stacjonarna jest polarna,
- związki polarne są eluowane przed związkami niepolarnymi o tej samej temperaturze wrzenia, jeżeli faza stacjonarna jest niepolarna.



Wpływ długości kolumny na analizę jest następujący: im dłuższa kolumna tym czasy retencji są większe i tym wyraźniejsze są różnice między czasami retencji dwóch substancji. Jednak dłuższy czas analizy powoduje, że piki są bardziej rozmyte.

Temperatura kolumny ma ogromny wpływ na analizę. Proces chromatograficzny można prowadzić w stałej temperaturze (tzw. *analiza izotermiczna*) lub metodą programowanej temperatury (*analiza z programowaną temperaturą*) (Rys. 7). Tę drugą chromatografię stosujemy wtedy, gdy składniki mieszaniny różnią się znacząco temperaturami wrzenia, np. węglowodory z ropy naftowej lub szereg homologiczny alkoholi.



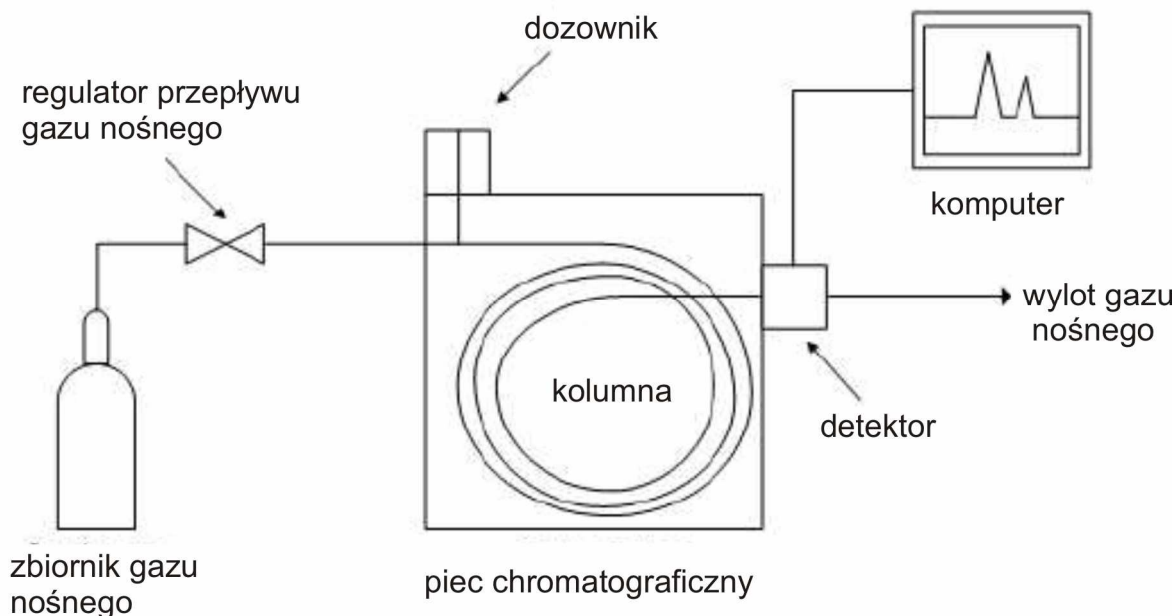
Rys. 7. Rozdział mieszaniny alkoholi: proces izotermiczny (a) oraz z programowaną temperaturą (b). (W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN, W-wa, 1996).

Dozowana próbka powinna być bardzo mała, ponieważ wówczas strefa startowa jest bardzo wąska. Próbka wprowadzona do kolumny nie może być większa od pojemności sorpcyjnej kolumny, ponieważ przeładowanie kolumny prowadzi do złego rozdzielania składników próbki i powstawania niesymetrycznych, szerokich pików.

## 5. Aparatura do chromatografii gazowej

Schemat chromatografu gazowego przedstawiono na Rys. 8. Gaz nośny (faza ruchoma) doprowadzony z butli płynie przez regulator przepływu do dozownika, a następnie przez kolumnę i detektor, skąd jest usuwany na zewnątrz do atmosfery. Kolumna jest umieszczona w termostacie. Temperatura dozownika, detektora i kolumny jest odpowiednio regulowana. Do dozownika wprowadza się próbkę, która po odparowaniu w dozowniku, miesza się ze strumieniem gazu nośnego i następnie jest przenoszona do kolumny. W kolumnie następuje rozdział chromatograficzny składników próbki, które opuszczają kolumnę wraz z gazem nośnym i trafiają

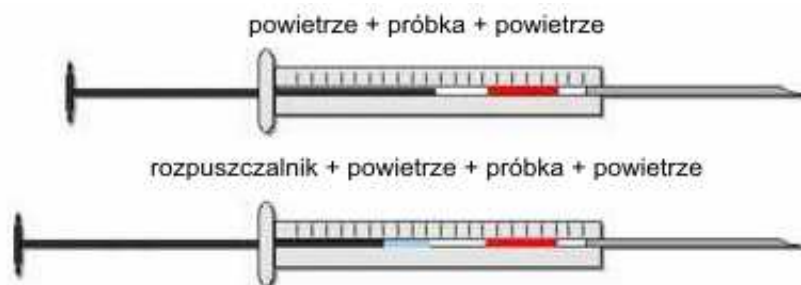
kolejno do detektora. Składniki próbki są monitorowane w detektorze generując w nim sygnał elektryczny. Sygnały po wzmacnieniu we wzmacniaczu mogą być rejestrowane w komputerze lub rejestratorze.



Rys. 8. Schemat chromatografu gazowego.

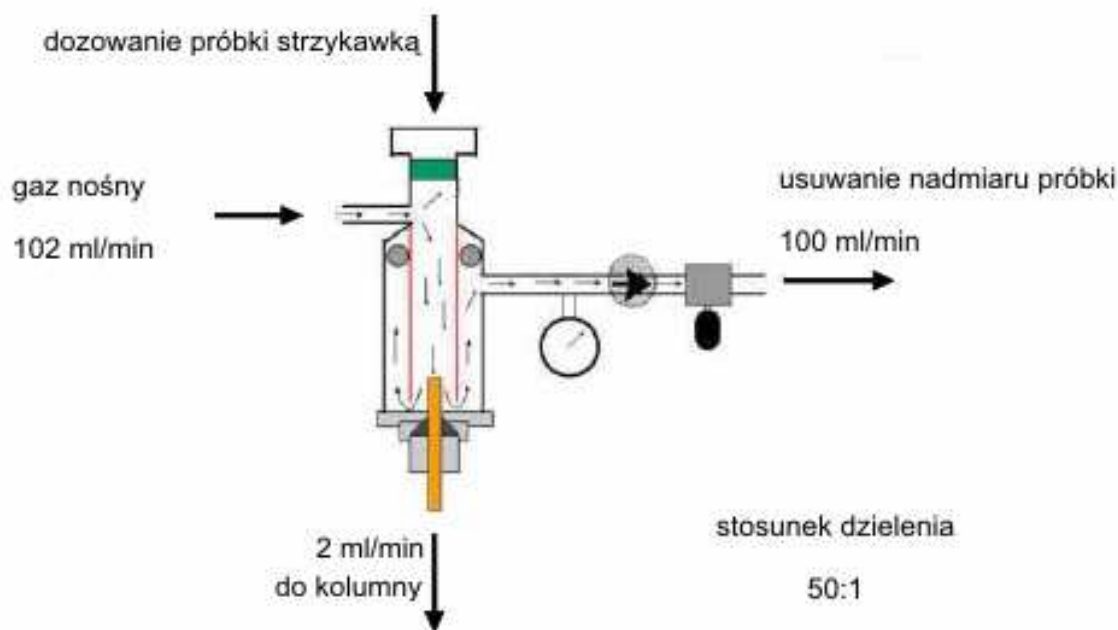
W chromatografii gazowej fazę ruchomą stanowią gazy o małej gęstości, niskiej lepkości, w których współczynniki dyfuzji są duże. Najczęściej jest to: wodór, azot, argon lub hel. Rodzaj gazu nośnego ma niewielki wpływ na wynik rozdziału chromatograficznego. Zadaniem gazu jest transport próbki przez dozownik, kolumnę i detektor. Przy wyborze gazu nośnego należy się kierować przede wszystkim rodzajem wybranego detektora oraz ceną, dostępnością i czystością gazu. Wymagana czystość gazów wynosi  $>99,999\%$ .

Dozownik jest elementem umożliwiającym wprowadzenie próbki w strumień gazu nośnego, który przenosi ją do kolumny. Stosując chromatografię gazową można analizować substancje, które w warunkach chromatografowania mają postać gazów lub par. Około 20% znanych związków chemicznych spełnia ten warunek i można je analizować w ten sposób. Są to substancje gazowe oraz ciekłe i stałe, których temperatura wrzenia lub sublimacji nie przekracza  $350^{\circ}\text{C} - 400^{\circ}\text{C}$ . Klasyczne dozowanie próbki do typowej kolumny kapilarnej polega na wprowadzeniu cieczy (0,1 – 5  $\mu\text{l}$ ) za pomocą strzykawki do dozownika. Prawidłowy sposób odmierzenia danej objętości próbki w strzykawce przedstawia Rys. 9. W dozowniku następuje gwałtowne odparowanie próbki i po zmieszaniu z gazem nośnym próbka jest wprowadzana na kolumnę.



Rys. 9. Mikrostrzykawka do odmierzania małych objętości cieczy. (J.K. Hardy, Chemical Separations, 2005)

Dla większości kolumn kapilarnych dopuszczalna objętość próbki wynosi 0,01 do 0,001  $\mu\text{l}$  cieczy. Dlatego w chromatografii kapilarnej stosuje się często dozowniki z dzieleniem strumienia gazu nośnego (Rys. 10). Taki dzielnik dozuje do kolumny tylko część próbki np. 1/100 – 1/300, a pozostała część jest usuwana na zewnątrz i tracona. Dzielenie próbki powinno pozwolić przede wszystkim zredukować rozmycie piku chromatograficznego, które jest związane z procesem gwałtownego odparowywania substancji w dozowniku i w ten sposób polepszyć rozdzielczość.

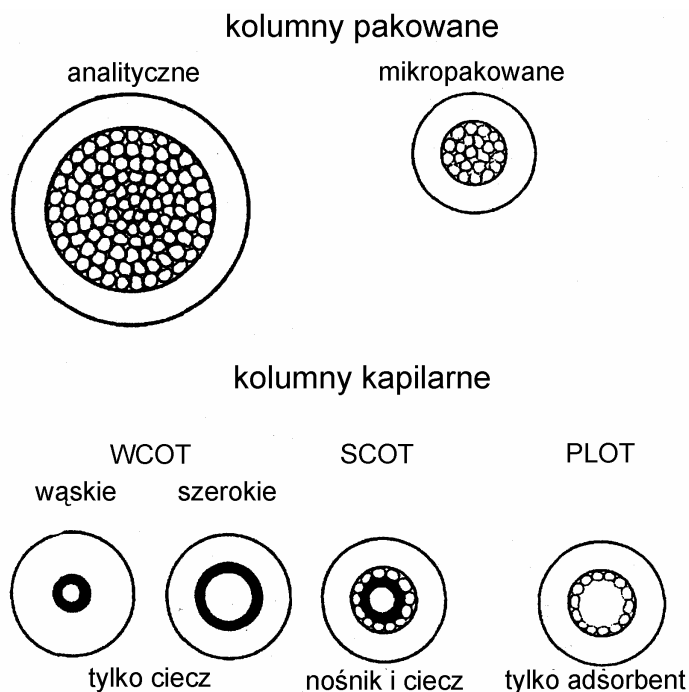


Rys. 10. Dozownik z dzieleniem. Według J.K. Hardy, Chemical Separations, 2005, z modyfikacjami.

Ważnym parametrem, który charakteryzuje ten sposób dozowania jest tzw. stosunek dzielenia. Określa on stosunek objętościowy szybkości wypływu gazu nośnego zaworem odprowadzającym na zewnątrz do szybkości przepływu gazu nośnego przez kolumnę.

W kolumnie chromatograficznej zachodzi właściwy proces chromatografowania i dlatego jej rodzaj ma decydujący wpływ na jakość rozdzielania składników próbki czyli na wynik analizy chromatograficznej. Rozróżnia się następujące rodzaje kolumn (Rys. 11, 12):

- pakowane (kolumny z wypełnieniem): analityczne, mikropakowane i preparatywne,
- kolumny o przekroju otwartym – kapilarne.



Rys. 11. Klasyfikacja i przekroje kolumn do chromatografii gazowej. (R. Kocjan. Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów. Tom 2. PZWL, W-wa, 2000).

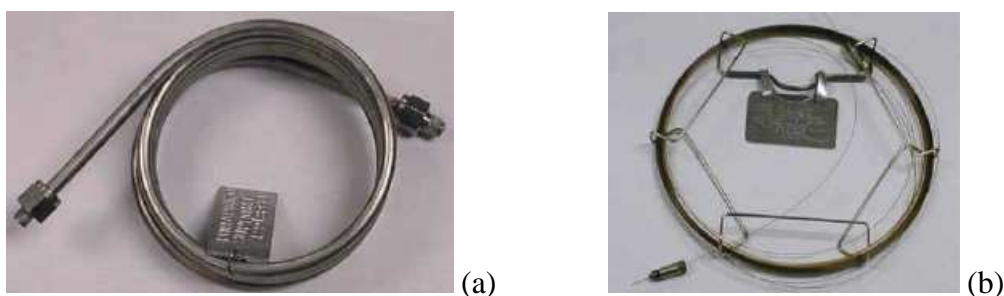
Kolumny pakowane napełnione są fazą stacjonarną w całej swojej objętości. Ten rodzaj kolumn jest najczęściej stosowany do preparatywnego otrzymania niewielkich ilości czystych związków chemicznych.

Kolumny kapilarne pozwalają na osiągnięcie dużo wyższych sprawności niż kolumny pakowane i obecnie większość analiz chromatograficznych wykonuje się przy zastosowaniu kolumn kapilarnych. Fazy stacjonarne w kolumnach kapilarnych mogą być zarówno adsorbentami, jak i cieczami i mogą być osadzone na ściankach kapilar w różny sposób.

Wyróżnia się następujące rodzaje kolumn kapilarnych:

- WCOT (*wall-coated open tubular*) – kapilary ze ściankami wewnętrznymi pokrytymi nielotną ciekłą fazą stacjonarną. Jest to najbardziej popularny typ kolumn,
- PLOT (*porous layer open tubular*) – kapilary ze ściankami pokrytymi warstwą ziaren adsorbenta,
- SCOT (*support-coated open tubular*) – ziarna wypełnienia pokryte są fazą ciekłą.

Kolumny kapilarne do GC są najczęściej wykonane ze stopionego kwarcu czyli ditlenku krzemu. Stopiony kwarc jest łatwy do formowania, elastyczny i dużo wytrzymalszy niż inne szkła co powoduje, że można wyprodukować kapilary o średnicy wewnętrznej od 0,1 do 1 mm i długości od 10 do 30 m. Kolumny kapilarne przechowuje się w postaci zwoju w uchwytach chroniących je przed uszkodzeniem.



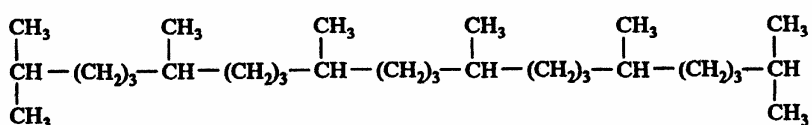
Rys. 12. Kolumna pakowana (a) oraz kapilarna (b). (J.K. Hardy, Chemical Separations, 2005).

Adsorbenty stosowane w chromatografii gazowej to adsorbenty węglowe, żele krzemionkowe, sita molekularne, polimery porowate. Adsorbenty stosuje się do analiz gazów i węglowodorów o niskich masach cząsteczkowych.

Ciekłe fazy stacjonarne w chromatografii gazowej to najczęściej:

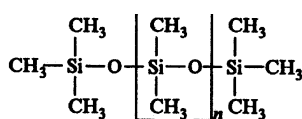
- fazy niepolarne: węglowodory będące dobrymi rozpuszczalnikami substancji niepolarnych (np. skwalan),

skwalan  
2,6,10,14,18,22-heksametylotetrakozan

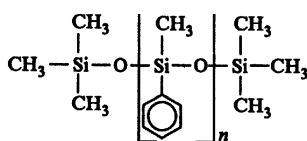


- fazy średniopolarne: silikony. Są to siloksany o różnej masie cząsteczkowej. Najczęściej stosujemy: polidimetylosiloksan, polimetylofenylosiloksan policyjanoalkilosiloksan,

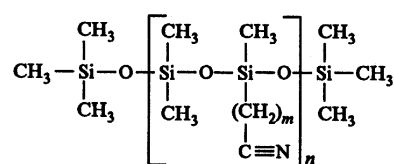
dimetylopolisiloksan



fenylometylopolisiloksan

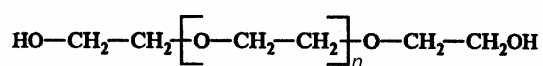


cyjanometylopolisiloksan

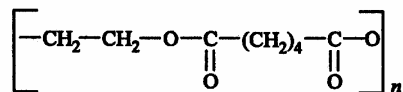


- fazy polarne: glikole polietylenowe (np. Carbowax) oraz estry,

poliglikol etylenowy



poliadypinian glikolu etylenowego

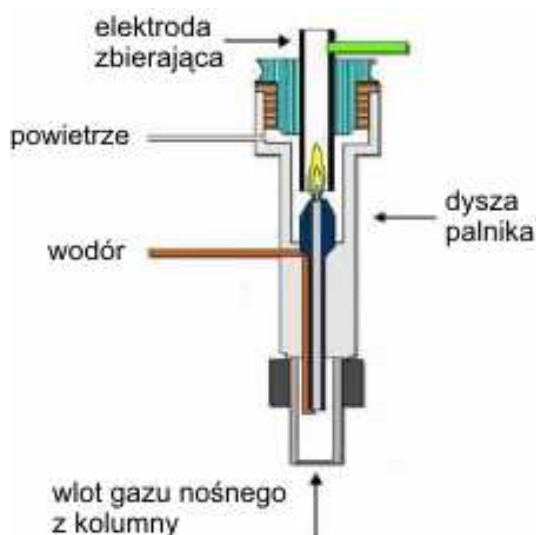


- fazy polarne oparte o kopolimery styrenu i diwinylobenzenu (np. PoraPLOT Q),

Substancje rozdzielane w kolumnie chromatograficznej są wykrywane przez detektor w miarę, jak eluują z kolumny. Detektor reaguje sygnałem elektrycznym na obecność chromatografowanego związku chemicznego w gazie nośnym opuszczającym kolumnę. Detektory można podzielić na:

- nieselektywne – detektory uniwersalne, reagują na wszystkie składniki próbki,
- selektywne – reagują na pewną grupę związków, które mają podobne właściwości chemiczne lub fizyczne,
- specyficzne – reagują na pojedynczy związek chemiczny.

Najczęściej używanym detektorem jest *detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID)*. Jest to detektor uniwersalny, czyli taki, który jest czuły na prawie wszystkie związki organiczne. Detektor FID nie wykrywa obecności związków nieorganicznych oraz niektórych związków węgla: CO, CO<sub>2</sub>, CS<sub>2</sub>, HCOOH, COCl<sub>2</sub>. Zasada działania detektora FID (Rys. 13) jest następująca: do detektora doprowadzone są z butli dwa gazy: wodór i powietrze. Gaz nośny z wypływający z kolumny jest mieszany z wodorem i kierowany przez dyszę do komory, przez którą przepływa powietrze. Wodór spala się tworząc płomień wodorowy. Składniki próbki doprowadzone wraz z gazem nośnym do płomienia ulegają spalaniu. Niewielka część (około 0,001%) atomów węgla ulega jonizacji w trakcie spalania. W komorze znajdują się dwie elektrody: jedną jest dysza palnika, drugą (zbierającą) stanowi pierścień umieszczony w odpowiedniej odległości od dyszy. Powstający prąd jonowy jest wzmacniany i rejestrowany przez potencjometr. Sygnał z detektora jest proporcjonalny do liczby atomów węgla niezwiązanych z tlenem a więc w przybliżeniu jest proporcjonalny do masy substancji.



Rys. 13. Detektor płomieniowo-jonizacyjny FID. (J. K. Hardy, Chemical Separations, 2005).

## 6. Analiza jakościowa i ilościowa metodą GC

Analiza jakościowa dotyczy identyfikacji pików odpowiadających poszczególnym składnikom próbki i opiera się na wielkościach retencyjnych. Porównuje się czas retencji pików identyfikowanej substancji z czasem retencji pików wzorca, chromatografowanych w jednakowych warunkach.

Spośród różnych metod oceny ilościowej, w analizie chromatograficznej śladowych próbek zanieczyszczeń środowiska, największe znaczenie ma *metoda wzorca wewnętrznego*. Powodem jest przede wszystkim mnogość operacji wykonywanych na próbce (min. ekstrakcji i przeprowadzania jej w pochodne odpowiednie do analizowania metodą GC), w czasie których może nastąpić pewna utrata próbki. Inne przyczyny to: problemy z określeniem małych objętości rozpuszczalnika, w którym rozpuszczamy badaną próbkę, niemożność uzyskania powtarzalnego dozowania przy zastosowaniu dozownika z dzieleniem oraz to, że eliminujemy konieczność wykonania krzywej kalibracyjnej.

W metodzie tej do badanej próbki dodaje się określoną ilość wzorca (substancji standardowej), dobrze oddzielającego się w danych warunkach analizy od wszystkich badanych składników. Wzorec powinien mieć własności maksymalnie zbliżone do własności substancji badanej, nie może znajdować się w analizowanej próbce, poza tym powinien być nietlotny, trwały i dostępny w postaci czystej. Ilość dodanego wzorca powinna być porównywalna z ilością badanej substancji.

Sygnal większości detektorów zależy od rodzaju analizowanych związków i dlatego stosunek powierzchni sygnałów dwu składników nie jest równy stosunkowi ich zawartości w mieszaninie. Odpowiedź detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID) jest wprost proporcjonalna do liczby atomów węgla nie związanych z tlenem a nie do masy związku. Trudności tej można uniknąć stosując metodę standardu wewnętrznego i wyznaczając tzw. współczynniki detekcji (odpowiedzi). W tym celu należy wyznaczyć zależność między stosunkiem stężeń badanej substancji i wzorca a stosunkiem odpowiedzi detektora dla badanej substancji i wzorca zgodnie ze wzorem:

$$\frac{m_s}{m_w} = f \frac{h_s}{h_w} \quad (15)$$

gdzie:  $m_s$ ,  $m_w$  - masa oznaczanej substancji i wzorca,

$h_s$ ,  $h_w$  - wysokości pików (lub powierzchnie) odpowiadające sygnałom badanej substancji i wzorca,

$f$  - współczynnik detekcji (odpowiedzi).

## **Literatura:**

1. R. Kocjan, *Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów. Tom 2.* PZWL, W-wa, 2000.
2. W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN, W-wa, 1996.
3. Z. Witkiewicz, *Podstawy chromatografii*, WNT, W-wa, 2000.
4. J. Minczewski, Z. Marczewski, *Chemia analityczna, tom III, Analiza instrumentalna*, PWN, W-wa.
5. J. K. Hardy, *Chemical Separations*, 2005, <http://ull.chemistry.uakron.edu/chemsep/>