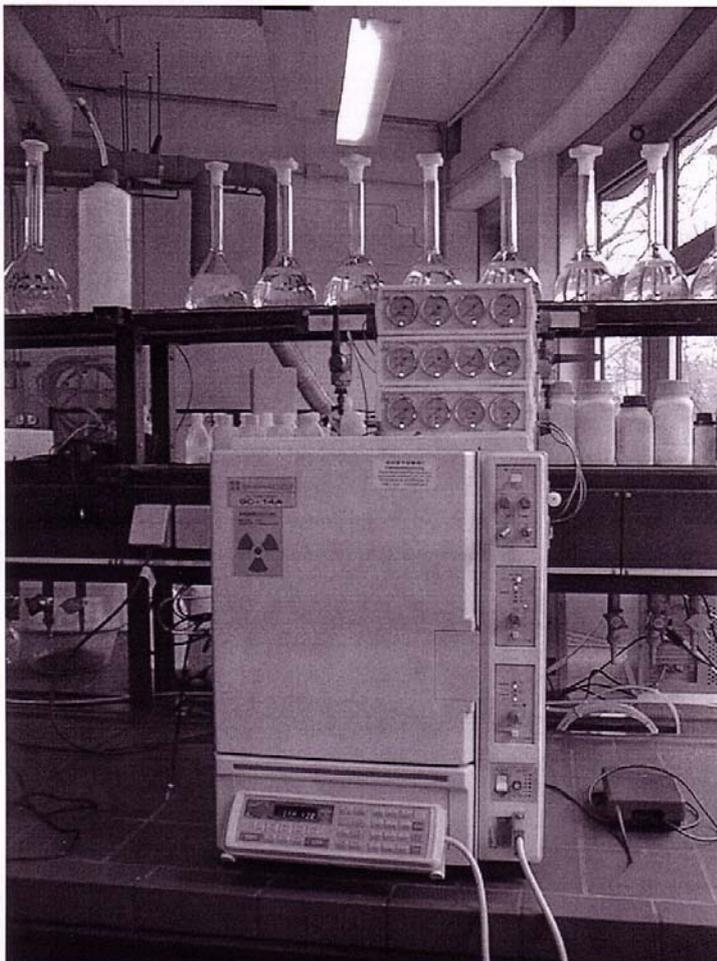


Universität Duisburg – Essen
Campus Duisburg

Praktikum Analytische Chemie

Im Bachelor-Studiengang *Wasser: Chemie, Analytik, Mikrobiologie*



Gaschromatographie mit einer Kapillarsäule

Inhalt

<u>2. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG</u>	3
<u>2.1 Vorbereitungen</u>	3
<u>2.2 Bedienelemente des Kapillargaschromatographen GC-14-A</u>	4
<u>2.2.1 Grundeinstellungen</u>	4
<u>2.2.2 Eingabe eines Temperaturprogramms</u>	4
<u>2.3 Start einer Messung</u>	5
<u>2.4 Probeninjektion</u>	5
<u>3 COMPUTERARBEITSPLATZ ZUR AUFNAHME UND AUSWERTUNG DER CHROMATOGRAMME</u>	7
<u>3.1 Vorbereitung</u>	7
<u>3.2 Aufnahme eines Chromatogramms</u>	8
<u>3.3 Erstellen der Kalibrierkurve und Bestimmung der Konzentrationen</u>	9
<u>3.4 Drucken der Chromatogramme</u>	10
<u>3.5 Drucken der Kalibriergeraden</u>	11
<u>4 AUFGABENSTELLUNG</u>	11
<u>5 ANSETZEN DER MESSLÖSUNGEN</u>	13
<u>5.1 Physikalische Daten der n-Alkane</u>	13
<u>Materialliste zum Versuch Kapillargaschromatographie</u>	14
<u>Chemikalienliste zum Versuch Kapillargaschromatographie</u>	16

1. *Beschreibung des Gaschromatographen*

Bei dem Gaschromatographen der Fa. Shimadzu mit der Modelkennzeichnung GC-14-A handelt es sich um einen Kapillargaschromatographen, der sowohl mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) als auch mit einem Elektroneneinfangdetektor (ECD) ausgestattet ist. Zur Lösung der Praktikumsaufgabe wird ausschließlich der FID eingesetzt. Die zu verwendende Kapillarsäule ist von der Fa. Macherey-Nagel mit der Bezeichnung Permabond OV-17. Dabei handelt es sich um eine Kapillarsäule mit einer Länge von 30 m und einem Innendurchmesser von 0,25 mm. Die Filmdicke der schwach polaren stationären Phase beträgt 0,25 μm und besteht aus mit 50% Phenyl-modifiziertem Polysiloxan.

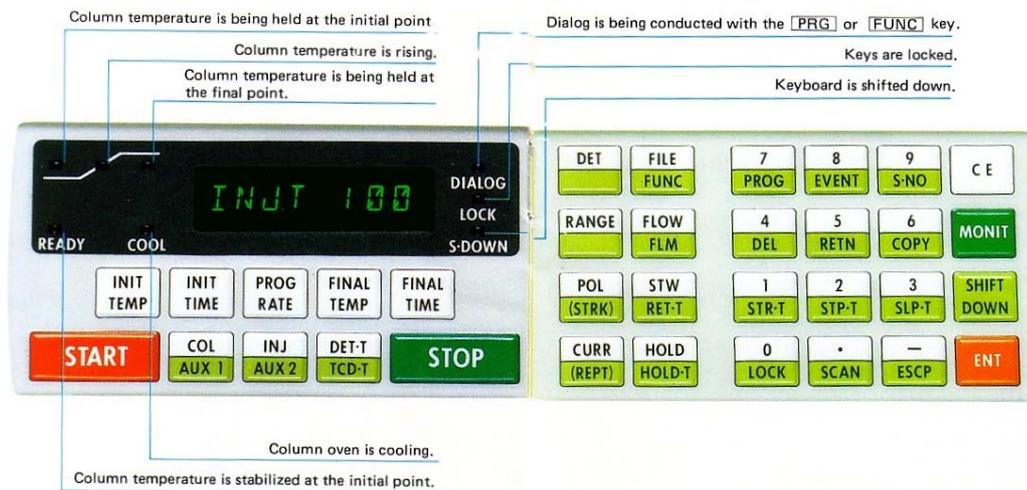
2. *Versuchsdurchführung*

2.1 Vorbereitungen

Zu Beginn des Versuchs wird das Ventil zur Trägergaszufuhr (Stickstoff), das sich oberhalb des Gaschromatographen an der Gasversorgungsleiste befindet, (Hebelstellung senkrecht nach oben) geöffnet. Sollte sich kein Druck aufbauen (siehe untere Reihe Druckanzeige unter Carrier), so ist zusätzlich das Hauptventil an der Druckgasflasche und am Druckminderer zu öffnen. Diese befindet sich an der hinteren Wand des Praktikums (es sollte eine Einweisung durch den Betreuer erfolgen). Anschließend wird der GC am Schalter (Power on) unten rechts eingeschaltet. Für die Inbetriebnahme des Detektors muss dieser mit Wasserstoff (H_2) und Luft versorgt werden. Dazu muss zunächst das Flaschenventil der Wasserstoffflasche geöffnet werden (bitte vom Betreuer einweisen lassen). Anschließend müssen an der Gasversorgungsleiste die Hebel für die Luft- und Wasserstoffzufuhr in eine senkrechte Position gebracht werden (Gaszufuhr offen). Mit Hilfe des Gasanzünders und durch Drücken des IGNIT-Knopfes, der sich in der unteren Zeile der Gasdruckanzeige befindet, wird die Flamme des FID's gezündet. Dazu muss der Gaszylinder senkrecht über die Öffnung des FID's gehalten werden.

Überprüfen Sie mit Hilfe des Uhrglases, ob sich der Wasserstoff entzündet hat (Uhrglas beschlägt). Ist dies nicht der Fall, so ist der Zündungsvorgang zu wiederholen.

2.2 Bedienelemente des Kapillargaschromatographen GC-14-A



2.2.1 Grundeinstellungen

Die Parametereinstellungen für den Betrieb des Injektors und Detektors sind bereits gespeichert und sollten nicht verändert werden. Falls doch, können Sie wie folgt neu eingegeben werden:

Tastenfolge:

INJ (Injektor) 220°C ENTER

und

DET-T (Detektor) 200°C ENTER

2.2.2 Eingabe eines Temperaturprogramms

Für die Messungen benötigen Sie zwei Temperaturprogramme: ein isothermes und ein lineares Temperaturprogramm.

Isothermes Temperaturprogramm

Um die folgenden Temperaturprogrammparameter einzugeben, wird die entsprechende (z.B. *Init Temp*) Taste gedrückt, der Wert eingegeben und mit der ENTER-

Taste bestätigt. (Der eingegebene Wert erscheint im Display erst nach der Bestätigung mit ENTER!)

Init Temp (Anfangstemperatur): 120°C

Init Time (Haltezeit in s): 0

Prog Rate (Aufheizrate in °C/min): 0°C

Final Temp (Endtemperatur): 120°C

Final Time (Haltezeit der Endtemperatur in s): 0

Lineares Temperaturprogramm

Init Temp (Anfangstemperatur): 50°C

Init Time (Haltezeit in s): 0

Prog Rate (Aufheizrate in °C/min): 10°C

Final Temp (Endtemperatur): 200°C

Final Time (Haltezeit der Endtemperatur in s): 0

Wichtig: Nach dem Einschalten des Gaschromatographen und der erstmaligen Eingabe der Temperaturparameter müssen die Heizkreise des Gerätes durch Drücken der *START*-Taste aktiviert werden; dabei wird noch kein Temperaturprogramm gestartet.

2.3 Start einer Messung

Das Gerät ist zur Probeninjektion bereit, wenn Säule, Injektor und Detektor die eingestellte Temperatur erreicht haben. Die Temperaturen können kontrolliert werden, indem die Tasten *MONIT* und anschließend *COL* (Säulentemperatur), *INJ* (Injektortemperatur) oder *DET-T* (Detektortemperatur) gedrückt werden. Die grüne LED *READY* muss leuchten.

2.4 Probeninjektion

Die Proben sollten blasenfrei in die gasdichte Mikroliterspritze aufgezogen werden, bevor sie injiziert werden. Füllen Sie dazu einen Teil ihres Probengemisches in ein Becherglas und verwenden sie dessen Inhalt zum mehrmaligen Füllen und Entleeren der Spritze um die Spritze zu spülen bzw. um Gasbläschen zu entfernen. Injiziert

werden immer 2 µl Lösung. Zur Einstellung dieses Volumens wird die Spritze bis zu einem größeren Volumen aufgezogen und dann bis zur Markierung wieder geleert; die Nadelspitze wird abschließend vorsichtig mit Papier getrocknet. Danach wird sofort injiziert.

Lassen Sie die Messkolben mit den Alkangemischen nicht offen stehen, da sonst das Lösungsmittel Hexan verdampft und ihre quantitative Messung verfälscht. Aus dem gleichen Grund sollten Sie ihre Probe erst direkt vor der Probeninjektion in das Becherglas füllen und in die Spritze aufziehen. Die Spritze sollte vor dem Gebrauch eines anderen Gemisches mit Hexan gespült werden.

Zur Bestimmung des Totvolumens wird Erdgas in den Injektorraum injiziert, wobei Sie bitte die zweite Spritze verwenden, um zu verhindern, dass Rückstände aus den Alkangemischen in die Ergasprobe gelangen. Füllen sie zunächst den dafür vorgesehenen Beutel mit Erdgas (Gashahn mit angeschlossenen Schlauch; befindet sich im Abzug). Öffnen Sie diesen und schieben Sie die Nadel der Spritze in die Öffnung. Spülen Sie die Spritze zweimal, füllen Sie sie anschließend **vollständig** und injizieren Sie den Inhalt möglichst schnell.

Die Proben werden grundsätzlich in den gekennzeichneten Einspritzblock injiziert. Dazu wird die Injektionsnadel der Spritze vorsichtig (Die Nadel knickt sehr leicht!) durch das Septum in den Injektionsraum geführt. Sobald das Septum durchstoßen ist, wird die Spritze schnell bis zum Anschlag weiter eingeschoben und dann so schnell wie möglich und vollständig entleert. Gleichzeitig ist die Messung über die rote *Start-Taste* auszulösen, wobei durch Drücken dieser Taste auch das Startsignal zur Aufzeichnung des Chromatogramms zum PC übertragen wird.

3 Computerarbeitsplatz zur Aufnahme und Auswertung der Chromatogramme

3.1 Vorbereitung

Die Aufnahme und die Auswertung der Chromatogramme erfolgt an einem PC-Arbeitsplatz mit Hilfe einer Software der Fa. Dionex unter der Bezeichnung Chromeleon™. Es stehen zwei PC-Arbeitsplätze zur Verfügung, die für beide GC-Versuche eingesetzt werden. Die Arbeitsplätze GC1 und GC2 können parallel genutzt werden.

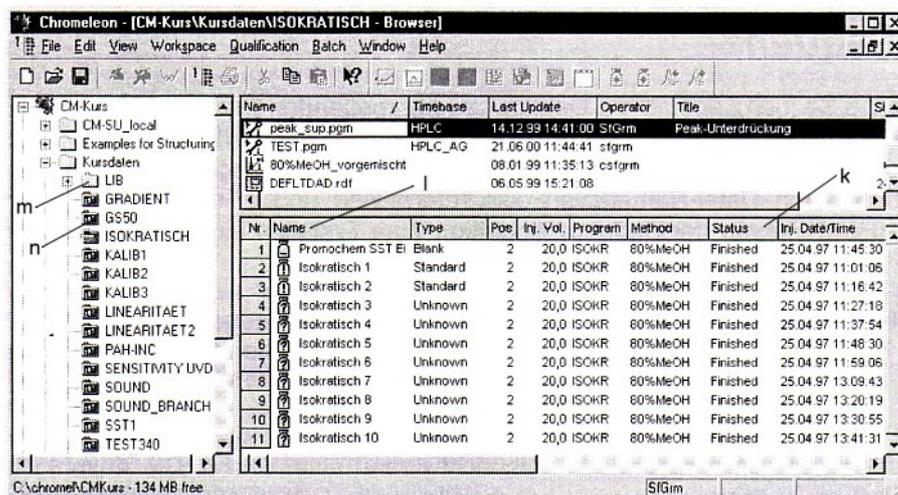
Die Computer befinden sich während des gesamten Zeitraums, in der das Praktikum angeboten wird, im *Stand by* Modus. Nur der Monitor muss eingeschaltet werden.

Nach Aufrufen des Programms *Chromeleon* (Doppelklick) sind User Name und Passwort einzugeben:

User Name: Shimadzu

Passwort: *beim Betreuer zu erfragen*

Es öffnet sich das Hauptmenü. Schließen Sie ggf. zuerst die Fenster, die in der Menüleiste dem GC der Fa. Carlo Erba zugeordnet werden.



Öffnen Sie im Browser den Ordner Shimadzu (siehe Abbildung Pfeil m). Im Unterverzeichnis Sequenzen (Pfeil n) finden Sie die einzelnen Ordner für die Praktikumsgruppen. Öffnen Sie den Ordner, der Ihnen vom Betreuer zugeteilt wird durch Doppelklick.

Dort finden Sie zwei *Sequenzen* (blaue Ordner) für Ihre Messungen bei konstanter Temperatur bzw. mit dem linearen Temperaturprogramm. Diese Sequenzen sind zunächst leer. Sie dienen dazu, Ihre Chromatogramme (Samples) aufzunehmen und verknüpfen diese mit Methoden zur Auswertung.

Neben dem Browser benötigen Sie das Fenster Shimadzu on LABOR01 zur Aufnahme des Chromatogramms. Sollte dies nicht sichtbar sein, öffnen Sie es im Browser: Im Ordner Shimadzu bitte auf Shimadzu.pan doppelt klicken. Dann im Menü *Window Cascade* wählen. Jetzt sollten der Browser und das Messfenster auf dem Bildschirm vorhanden sein.

3.2 Aufnahme eines Chromatogramms

Zur Messung aktivieren Sie bitte das Fenster Shimadzu on LABOR01. Entfernen Sie ggf. unter *Control* in der oberen Taskleiste das Häkchen bei *Monitor Only*. In der oberen Icon-Leiste sollten jetzt die farbigen Symbole für *Inject* (Spritze) und *Acquisition on/off* (blauer Kreis) erscheinen.

Starten Sie mit *Inject* und bestätigen Sie das sich öffnende Fenster mit okay. Das Signal *Wait* wird aktiviert und zeigt, dass der PC auf das Startsignal wartet. Klicken Sie jetzt auf *Acquisition on/off* und bestätigen Sie wieder mit okay. Die Messzeit 0,000 min wird im grünen Feld eingeblendet.

Nun kann die Probe eingespritzt werden (siehe Hinweise zur Probeninjektion). Die Aufnahme des Chromatogramms wird durch Drücken von START auf der Tastatur des GC's gestartet. Kontrollieren Sie, ob der PC tatsächlich mit der Aufzeichnung begonnen hat.

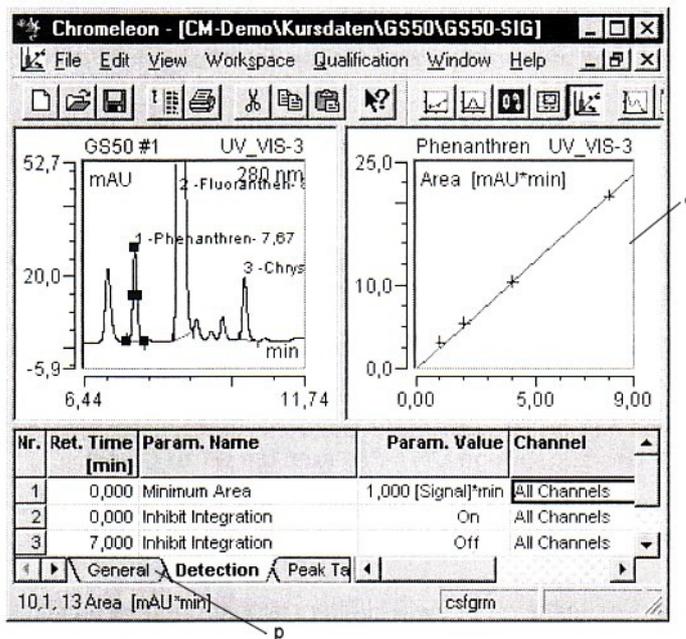
Während das Programm des GC automatisch beendet wird, müssen Sie die Datenaufzeichnung manuell beenden. Dazu klicken Sie wieder auf das Icon *Acquisition on/off*. Es öffnet sich ein Abfragefenster, in dem Sie angeben müssen, wo Sie das aktuell gemessene Chromatogramm speichern wollen. Dies ist sehr wichtig, da es andernfalls bei der nächsten Messung überschrieben wird. Geben Sie also über Browse den Pfad zu Ihrem Ordner und der Sequenz ein, wählen Sie die zum Temperaturprogramm gehörende Sequenz aus und bestätigen Sie dann das Ende der Messung mit Yes.

Wechseln Sie anschließend in den Browser und überzeugen Sie sich, dass die Probe dort eingetragen wurde. Geben Sie ihr einen sinnvollen Namen, korrigieren Sie ggf. das Injektionsvolumen und legen Sie den Typ der Probe fest (*unknown* oder *Standard*). Danach sollten Sie die Sequenz immer sofort speichern. Nach einem

Wechsel in das Messfenster kann die nächste Probe aufgezeichnet werden (wenn der GC dazu schon bereit ist!).

3.3 Erstellen der Kalibrierkurve und Bestimmung der Konzentrationen

Diese Aufgabe erledigen Sie mit der Software. Methoden zur Quantifizierung sind bereits vorbereitet. Sie gelangen in diesen Programmteil durch einen Doppelklick auf den Methodennamen (*.qnt), der über den gemessenen Samples angezeigt wird. Vorher sollten Sie jedoch noch alle Samples überprüfen, ob die Parameter *Name*, *Typ*, *Inj. Vol.* und *Methode* (hier muss die o.g. Methode auftauchen) richtig eingetragen sind. Sie gelangen dann in den QNT-Editor und erhalten einen Bildschirm mit etwa folgender Ansicht:



Über das Icon *Show Report* können Sie zusätzlich einen Report ein- bzw. ausschalten.

Als erstes müssen Sie eine Peak-Tabelle für die sieben n-Alkane und den Standard o-Xylol erstellen. Durch einen Klick auf den Reiter *Peak Table* gelangen Sie dorthin. In der Grafik oben links sehen Sie jetzt eines der gemessenen Chromatogramme. Mit den kleinen Pfeilen in der oberen Icon-Leiste können Sie alle gemessenen Samples nacheinander aufrufen. Wählen Sie am besten die Bezugslösung mit der mittleren Konzentration. Durch einen Doppelklick auf den Hexan-Peak öffnet sich das Fenster *Properties of Peak No. x*. Benennen Sie die Komponente mit n-Hexan und drücken

Sie auf *Add peak to peak table*. Verfahren Sie analog mit allen weiteren Peaks; Sie sollten jetzt eine Peak-Tabelle mit acht Einträgen haben.

Definieren Sie nun den o-Xylol-Peak als inneren Standard. Ein Doppelklick in der Zeile o-Xylol und der Spalte Standard öffnet das Fenster *Standard Method for*, in dem Sie *Use this peak as internal standard* aktivieren. Für alle anderen Substanzen wählen Sie *Internal* und natürlich o-Xylol als *Associated ISTD Peak*.

In der Grafik rechts oben sollte jetzt eine Kalibriergerade für den gerade aktiven Peak erscheinen. Zum Wechseln des aktiven Peaks können Sie auf einen Peak im Chromatogramm klicken oder auf den Peaknamen in der Peak-Tabelle doppelt klicken. Für alle gemessenen Bezugslösungen sollten die Messpunkte erscheinen. Ist das nicht der Fall, dann hat die Software den fehlenden Peak nicht zuordnen können, da seine Retentionszeit nicht im vorgegebenen Fenster liegt. Dies betrifft insbesondere sehr breite und asymmetrische Signale. Sie können dann in der Peak-Tabelle den Parameter *Window* für die entsprechende Substanz erhöhen (Doppelklick, neuen Wert eintragen, bestätigen). Auch kann es sinnvoll sein, die Parameter *Cal. Type* und *Peak Type* zu optimieren. Wenden Sie sich bei Fragen an die Betreuer oder/und nutzen Sie die Hilfe der Software (Taste F1).

Abschließend müssen Sie noch die von Ihnen berechneten Konzentrationen aller Komponenten für die Bezugslösungen in die *Amount Table* eintragen. Danach können Sie die Ergebnisse für Ihre Proben unter *Integration* ablesen. Zwischen den verschiedenen Proben wechseln Sie dabei wiederum mit den kleinen Pfeilen in der oberen Icon-Leiste.

3.4 Drucken der Chromatogramme

Drucken Sie alle gemessenen Chromatogramme aus. Auch dies gelingt am besten aus dem Qnt-Editor. Bringen Sie zunächst das Chromatogramm der 2. Bezugslösung in die Grafik links oben. Markieren Sie dann einen geeigneten Ausschnitt mit der linken Maustaste für den Ausdruck. Dabei sollte der Lösungsmittelpeak in jedem Fall abgeschnitten sein, damit die anderen Peaks eine vernünftige Größe bekommen. Starten Sie den Druck mit einem Klick über das *Print* Icon und wählen Sie als *sheet* die *Integration* und drucken Sie das aktuelle Chromatogramm aus. Wechseln Sie dann mit den kleinen Pfeilen zum nächsten Chromatogramm. Dabei bleibt der zuvor gewählte Zoom-Bereich erhalten, so dass alle Chromatogramme im gleichen Maßstab ausgedruckt werden können.

3.5 Drucken der Kalibriergeraden

Die Kalibrierkurve für die jeweils aktive Substanz (s.o.) drucken Sie, indem Sie im Druckerdialog als *sheet Calibration (Curr.Peak)* wählen. Durch Wechsel des aktuellen Peaks können alle Diagramme nacheinander gedruckt werden.

4 Aufgabenstellung

Bei diesem Versuch werden Gemische der sieben n-Alkane C_6H_{14} bis $C_{12}H_{26}$ untersucht. Die flüchtigste Verbindung Hexan wird dabei als Lösungsmittel eingesetzt und kann wegen der hohen Konzentration nur näherungsweise bestimmt werden.

Da die Reproduzierbarkeit der injizierten Probenvolumina ein sehr kritischer Parameter bei der Gaschromatographie ist, setzen wir einen inneren Standard ein. Die Konzentration dieses Standards muss in allen Proben (unbekannte Lösungen und Bezugslösungen) immer gleich sein. Dann kann das Signal (Peakfläche) dieses Standards in allen Chromatogrammen als Bezugswert genommen werden; man geht also davon aus, dass variierende Probenmengen für alle Substanzen die gleichen relativen Änderungen der Peakflächen bewirken. Dies ist aber nur für kleine Änderungen gut erfüllt. Auch bei Verwendung eines inneren Standards ist also sorgfältig darauf zu achten, möglichst genaue Volumina zu injizieren.

Der Peak des inneren Standards darf natürlich keine Überlappung mit den anderen Peaks der Proben zeigen, sollte aber doch eine ähnliche Retentionszeit haben. Außerdem nimmt man nach Möglichkeit eine Verbindung mit einer chemischen Ähnlichkeit zu den zu analysierenden Verbindungen in der Hoffnung, zusätzlich noch kleine Schwankungen etwa bei Detektorempfindlichkeit, Ofentemperatur, Gasdruck etc. kompensieren zu können. Im Fall der Alkane wird bei diesem Versuch o-Xylol eingesetzt, also auch ein reiner, allerdings aromatischer Kohlenwasserstoff.

1. Zeichnen Sie die Chromatogramme von drei Bezugslösungen von sieben n-Alkanen sowie eines Gemisches unbekannter Zusammensetzung auf. Benutzen Sie dabei zunächst ein isothermes und dann ein lineares Temperaturprogramm. Alle Proben sind mindestens zweifach zu untersuchen. Verwenden Sie für alle Messungen als inneren Standard o-Xylol.
2. Zur Bestimmung der Totzeit ist ein Chromatogramm von Erdgas unter isothermen Temperaturbedingungen zu registrieren.

3. Berechnen Sie **vor Versuchsbeginn** die Konzentrationen aller Alkane in Ihren Bezugslösungen. Für das Lösungsmittel Hexan ist dies nur näherungsweise möglich indem Sie annehmen, dass sich beim Mischen der Alkane und des inneren Standards alle Volumina der Einzelkomponenten zum Gesamtvolumen addieren.
4. Bestimmen Sie mit Hilfe der Software die Konzentrationen der Komponenten C₇ bis C₁₂ in Ihrem Alkangemisch. Vergleichen Sie die Ergebnisse, die Sie bei Anwendung des linearen und des isothermen Temperaturprogramms erhalten. Nennen Sie mögliche Fehlerquellen.
5. Zeigen Sie, dass bei Anwendung des isothermen Temperaturprogramms ein linearer Zusammenhang zwischen der Anzahl der Kohlenstoffatome z des Alkans und dem Logarithmus der Nettoretentionszeit besteht unter der Annahme, dass Erdgas nicht mit der stationären Phase wechselwirkt.
6. Zeigen Sie, dass bei Anwendung des linearen Temperaturprogramms ein linearer Zusammenhang zwischen der Anzahl der Kohlenstoffatome z des n-Alkans und der Gesamtretentionszeit besteht.

Hinweis: Es müssen alle aufgenommenen Chromatogramme als Ausdruck dem Versuchsprotokoll beigelegt werden!

5 Ansetzen der Messlösungen

Stammlösung:

In einen Messkolben mit einem Nennvolumen von 100 ml werden jeweils 15 ml n-Heptan, n-Oktan, n-Nonan, n-Dekan, n-Undekan und n-Dodekan gegeben. Der Messkolben wird bis zur Markierung mit n-Hexan aufgefüllt.

1. Bezugslösung:

In einen Messkolben mit einem Nennvolumen von 50 ml werden 5 ml Stammlösung und 2 ml innerer Standard gegeben. Der Messkolben wird bis zur Markierung mit n-Hexan aufgefüllt.

2. Bezugslösung:

In einen Messkolben mit einem Nennvolumen von 50 ml werden 10 ml Stammlösung und 2 ml innerer Standard gegeben. Der Messkolben wird bis zur Markierung mit n-Hexan aufgefüllt.

3. Bezugslösung:

In einen Messkolben mit einem Nennvolumen von 50 ml werden 20 ml Stammlösung und 2 ml innerer Standard gegeben. Der Messkolben wird bis zur Markierung mit n-Hexan aufgefüllt.

Unbekanntes Gemisch aus n-Alkanen:

In einen Messkolben mit einem Nennvolumen von 50 ml werden 10 ml des Alkangemisches und 2 ml des inneren Standards gegeben. Der Messkolben wird bis zur Markierung mit n-Hexan aufgefüllt.

5.1 Physikalische Daten der n-Alkane

Substanz	Summenformel	Molare Masse In g/mol	Dichte in g/cm ³	Siedepunkt in °C
n-Hexan	C ₆ H ₁₄	86,18	0,66	69
n-Heptan	C ₇ H ₁₆	100,21	0,688	98,4
n-Octan	C ₈ H ₁₈	114,23	0,70	125,5
n-Nonan	C ₉ H ₂₀	128,26	0,72	150
n-Dekan	C ₁₀ H ₂₂	142,29	0,73	174
n-Undekan	C ₁₁ H ₂₄	156,31	0,74	195
n-Dodecan	C ₁₂ H ₂₆	170,34	0,75	216,3

Die Bestückung des Arbeitsplatzes entspricht der obigen Liste.

Unterschrift des Assistenten:.....

Unterschrift des Studierenden:.....

Duisburg, den.....

Bei der Schrankabgabe fehlten oder waren folgende Gegenstände defekt:

.....
.....

Unterschrift des Assistenten:.....

Unterschrift des Studierenden:.....

Duisburg, den.....

