



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Modulární výuka jako nástroj odezvy vzdělávacího systému na potřeby praxe CZ.1.07/2.2.00/28.0029

Identifikace monoterpenů v silici citrusových plodů

Úkol: Identifikovat hlavní složky citrusové silice pomocí retenčních indexů.

Přes veškerý rozmach moderních chromatografických metod zůstává rychlá a spolehlivá identifikace separovaných složek stále aktuálním problémem. Techniky, využívané pro identifikaci, je možno rozdělit do dvou skupin. Do první patří metody založené na retenčním chování látek, do druhé pak postupy využívající kombinace chromatografie s jinými metodami.

V plynové chromatografii jsou separované složky nejčastěji identifikovány s využitím dnes běžného spojení plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem na základě hmotnostních spekter měřených nejčastěji s využitím ionizace elektronem. Taková spektra jsou dobře reprodukovatelná, obsahují zpravidla dostatek fragmentových iontů a pro rychlou identifikaci jsou k dispozici rozsáhlé databáze spekter. Tento přístup bohužel naprosto selhává při analýze některých typů izomerů a bohatých směsí chemicky podobných látek. Typickým příkladem může být analýza některých nenasycených sloučenin (izomerii ani polohu dvojně vazby v řetězci obvykle není možné z hmotnostního spektra určit), analýza bohatých uhlovodíkových frakcí, například v petrochemickém průmyslu, nebo analýza terpenů, jejichž spektra jsou v rámci jednotlivých skupin terpenů velmi podobná a zpravidla nepostačují k jednoznačné identifikaci konkrétního chemického individua.

Dobrým kvalitativním parametrem je v takovém případě retenční čas, respektive tzv. retenční index, který je uznáván jako nejreprodukovatelnější a nejpřesnější způsob vyjádření retence v plynové chromatografii. Vysoké reprodukovatelnosti je dosaženo vztahením retenčních dat k retenčním časům vhodně zvolených standardů – obvykle n-alkanů. Retenčním indexem se pak rozumí hodnota normalizovaná podle vztahu:

$$I = 100 \cdot \frac{\log t'_{R_x} - \log t'_{R_n}}{\log t'_{R_{n+1}} - \log t'_{R_n}} + 100 \cdot n$$

kde $t'_{R_x}, t'_{R_n}, t'_{R_{n+1}}$ jsou korigované retenční časy neznámé látky a n-alkanů s n a $n+1$ uhlíkovými atomy (volí se tak, aby platilo $t'_{R_n} < t'_{R_x} < t'_{R_{n+1}}$).

Přístroje, chemikálie a pomůcky

Plynový chromatograf Agilent 5890, Chromatografická stanice CSW 1.7

Kolona: nepolární DB-5, 30 m x 0,32 mm x 0,25 μ m



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Modulární výuka jako nástroj odezvy vzdělávacího systému na potřeby praxe CZ.1.07/2.2.00/28.0029

Teplotní program: 1. Izotermní 70°C
2. 50°C – 5°C/min – 150°C – 5min

Detektor: Plamenoionizační (FID, vodík 30 ml/min, vzduch 500 ml/min, dusík 20 ml/min)

Nosný plyn: Dusík

Nástřík: 20 µl plynné fáze (Head-Space), 200°C

vzorek citrusové silice nebo citrusové kůry, standardy uhlovodíků (n-nonan, n-dekan, n-undekan)

Stříkačka Hamilton 20 µl

Pracovní postup

- Zapneme plynový chromatograf, spustíme chromatografickou stanici CSW a připravíme ji pro první analýzu (instruktáž provede vedoucí cvičení).
- Do dvou čistých vialek (pro head-space analýzu) vložíme asi 1 g čerstvé citronové kůry nebo 20 µl citronové silice. Do jedné z vialek přidáme 5 µl ekvimolární směsi n-nonanu, n-dekanu a n-undekanu (standardy pro měření retenčních časů) a uzavřeme zátkou se silikonovým septem. Do obou vialek přidáme přes septum 1 ml methanu (marker mrtvého času kolony). Vyčkáme ustavení rovnováhy. K analýze odebíráme 20 µl plynné fáze.
- Nejprve provedeme analýzu obou vzorků s programovanou teplotou kolony (50°C – 5°C/min – 150°C – 5min).
- Teplotu termostatu nastavíme na 70°C a po jejím ustálení provedeme stejným způsobem analýzu obou vzorků při izotermních podmínkách.
- V chromatogramech identifikujeme píky odpovídající n-alkanům. Provedeme integraci všech píků a vytiskneme chromatogramy s retenčními časy.
- Provedeme vyhodnocení obou analýz (izotermní a program):
 1. Pomocí změřeného mrtvého času t_M vypočteme korigované časy $t'_R = t_R - t_M$ všech složek směsi.
 2. Vypočteme retenční indexy všech složek směsi při konstantní i programované teplotě.
 3. Identifikujeme hlavní složky silice srovnáním s tabelovanými hodnotami retenčních indexů (Tabulka I).
 4. Pro izotermní analýzu porovnáme mrtvý čas t_M měřený na základě eluce methanu s mrtvým časem t_M^+ vypočteným na základě eluce tří po sobě jdoucích n-alkanů:

$$t_M^+ = \frac{t_{R1} \cdot t_{R3} - t_{R2}^2}{t_{R1} + t_{R3} - 2 \cdot t_{R2}}$$

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Modulární výuka jako nástroj odezvy vzdělávacího systému na potřeby praxe
CZ.1.07/2.2.00/28.0029

Tabulka I

Složka	RI ^a	RI ^b	RI ^c
Santene	888	-	884
Tricyclene	926	-	920
α -Pinene	939	935	933
Camphene	954	953	946
Sabinene	975	976	-
β -Pinene	979	984	977
β -Myrcene	990	988	992
α -Phellandrene	1002	-	1004
δ -3-Carene	1011	1016	1009
α -Terpinene	1017	1020	1017
<i>p</i> -Cymene	1024	1027	1025
<i>o</i> -Cymene	1026	1024	-
Limonene	1029	1033	1029
β -Phellandrene	1029	1035	1029
Sylvestrene	1030	1029	-
1,8-Cineole	1031	-	1034
<i>cis</i> -Ocimene	1037	1046	1041
<i>trans</i> -Ocimene	1050	1058	-
γ -Terpinene	1059	-	1060
Terpinolene	1088	1092	1089
α -Thujone	1102	-	1110

^a Adams R. P., *Identification of essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, 4th Edition, Allured, Illinois 2007.

^b Gauvin A., Ravaomanarivo H., Smadja J.: J. Chromatogr., A 1029, 279 (2004).

^c Krauze-Baranowska M., Mardarowicz M., Wiwart M., Poblocka L., Dynowska M.: Z. Naturforsch., 57 c, 478 (2002).