

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Katedra učitelství a didaktiky chemie

Studijní program: Chemie se zaměřením na vzdělávání

Studijní obor: Chemie se zaměřením na vzdělávání



Karolína Gálová

Využití školního chromatografu GC-mini pro stanovení methanolu vedle ethanolu ve
školní praxi

Employment of the school chromatograph GC-mini for the determination of methanol
and ethanol in school practice

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Petr Šmejkal, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Praha, 19. 5. 2024

Karolína Gálová

Tímto bych chtěla poděkovat a vyslovit uznání panu doc. RNDr. Petru Šmejkalovi Ph.D. za jeho věnovaný čas, ochotu, obětavost, cenné rady a konzultace při realizaci celé mé bakalářské práce. Děkuji rovněž panu doc. RNDr. Václavu Martínkovi Ph.D., který mi byl nápomocen při zpracovávání praktické části a poskytoval mi užitečné rady při samotném měření na chromatografu. Děkuji také své rodině a příteli za neutuchající podporu při psaní bakalářské práce.

Abstract

The main topic of this work is to investigate the possibilities of using the school gas chromatograph GC-mini in teaching at secondary schools within the topic of chromatographic analysis. Despite the expansion of the method, the teaching of gas chromatography remains rather rare. Specifically, the work focuses on the optimization and determination of methanol alongside ethanol, which is a practically relevant topic for understanding the analysis of alcoholic beverages and methanol-containing samples, and a potentially motivating topic for teaching. The thesis covers the design of experiments, methodologies, and practical aspects of using the GC-mini chromatograph. Additionally, it includes a survey of school educational programs to determine the occurrence of chromatography and gas chromatography in secondary school curricula. As part of this work, laboratory experiments aimed at determining the content of methanol and ethanol in various samples were conducted. The results of these experiments provide information on the efficiency and reliability of the GC-mini school chromatograph for the quantitative and qualitative analysis of these substances. An important component is the creation of teaching materials and procedures for students. In conclusion, the achieved results are summarized, the benefits of using the GC-mini chromatograph in teaching are emphasized, and possibilities for the future development of this method are indicated. The results show that while the qualitative analysis of a mixture of ethanol and methanol vapors can be effectively and reproducibly performed as a school assignment using the GC-mini chromatograph, quantitative analysis cannot be performed reproducibly with this type of chromatograph. Additionally, real alcoholic beverages cannot be used as analyzed samples for the analysis of methanol and ethanol from vapors due to the water content. This work provides a new perspective on the practical teaching of analytical chemistry in secondary schools and offers guidance for incorporating gas chromatography into the teaching process.

Keywords

gas chromatography, secondary school experiments, methanol, ethanol, Vernier GC-mini, school educational programs

Abstrakt

Hlavním tématem této práce je zkoumat možnosti využití školního plynového chromatografu GC-mini ve výuce na středních školách v rámci tématu chromatografické analýzy, neboť výuka plynové chromatografie je, i přes rozšíření metody, spíše raritou. Konkrétně se práce zaměřuje na optimalizaci a stanovení methanolu vedle ethanolu, což je prakticky relevantní téma pro chápání analýzy alkoholických nápojů a vzorků s obsahem methanolu a potenciálně motivační téma pro výuku. Práce se zabývá návrhem experimentů, metodologií a praktickými aspekty používání chromatografu GC-mini. Dále také průzkumem školních vzdělávacích programů s ohledem na výskyt tématu chromatografie a plynové chromatografie ve výuce na středních školách. V rámci této práce byly provedeny laboratorní experimenty zaměřené na stanovení obsahu methanolu a ethanolu v různých vzorcích. Výsledky experimentů poskytují informace o účinnosti a spolehlivosti školního chromatografu GC-mini pro kvantitativní a kvalitativní analýzu těchto látek. Významnou součástí je také vytvoření výukového materiálu a postupů pro studenty. V závěru jsou shrnuty dosažené výsledky, zdůrazněný přínos využití chromatografu GC-mini ve výuce a naznačené možnosti budoucího rozvoje této metody. Výsledky ukazují, že zatímco kvalitativní analýza směsi par ethanolu a methanolu je v rámci školní úlohy s využitím chromatografu GC-mini dobře proveditelná a dostatečně reprodukovatelná, kvantitativní analýzu bohužel s uvedeným typem chromatografu nelze reprodukovatelně provést. Bohužel, ani pro realizaci analýzy methanolu a ethanolu z par nelze použít skutečné alkoholické nápoje jako analyzované vzorky, kvůli obsahu vody. Tato práce přináší nový pohled na praktickou výuku analytické chemie na středních školách a nabízí návod pro začlenění plynové chromatografie do výukového procesu.

Klíčová slova

plynová chromatografie, experimenty pro střední školy, methanol, ethanol, Vernier GC-mini, školní vzdělávací program

Zkratky

GC - gas chromatography, plynová chromatografie

TLC - thin layer chromatography, chromatografie na tenké vrstvě

RVP - rámcový vzdělávací program

ŠVP - školní vzdělávací program

MŠMT - Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy

Obsah

1 Úvod	8
2 Teoretický úvod	9
2.1 Chromatografie	9
2.1.1 Rozdělení a principy chromatografických metod	9
2.2 Plynová chromatografie	11
2.2.1 Princip metody	11
2.2.2 Popis plynového chromatografu	12
2.2.3 Dávkování vzorku	17
2.3 Parametry významné při chromatografických analýzách	19
2.4 Chromatografie a plynová chromatografie ve školách	20
2.5 Cíl	23
3 Metodika a praktická část	24
3.1 Průzkum ŠVP	25
3.2 Použité vybavení, chemikálie a software	26
3.2.1 Použitý přístroj - Vernier GC-mini	26
3.2.2 Použité chemikálie	28
3.2.3 Použitý software	28
3.3 Příprava vzorků	28
3.4 Parametry měření	29
3.5 Dávkování vzorků	31
4 Výsledky a diskuze	33
4.1 Výsledky průzkumu školních vzdělávacích programů	33
4.2 Optimalizované podmínky měření	39
4.2.1 Analýza par methanolu	41
4.2.2 Analýza par ethanolu	43
4.2.3 Výsledky analýzy par směsí ethanolu a methanolu	45
4.3 Implementace úlohy do výuky	49
5 Závěr	51

Zdroje	53
Příloha	57

1 Úvod

Vzdělávání hraje klíčovou roli ve vývoji moderní společnosti. V současné době, kdy se věda a technologie neustále rozvíjejí, je nezbytné, aby školní kurikula reflektovala nejen základní principy chemie, ale také techniky analytických metod, a to především vzhledem k jejich rozšířenému využití v potravinářském průmyslu, kriminalistice nebo například v medicíně a dalších oborech.

V rámci výuky chemie na středních školách a gymnáziích se tradičně klade důraz na základní principy chemických reakcí a vlastností látek. Ovšem v dnešním světě, kde je chemie velmi úzce spjata s praktickými aplikacemi a technologiemi, je důležité poskytnout studentům možnost seznámit se také s moderními analytickými metodami, technikami a také technologiemi již během středoškolského studia. Mezi běžně používané moderní metody analýzy patří mj. vysokotlaká kapalinová chromatografie, nukleární magnetická rezonance, elektronová mikroskopie nebo například plynová chromatografie. Všechny tyto analytické metody jsou rozšířené právě ve forenzní analýze v kriminalistice, medicíně nebo potravinářském průmyslu, přičemž poměrně často se zde využívá plynová chromatografie. Rozšíření této metody v běžném životě je také důvodem pro zařazování plynové chromatografie do výuky nebo alespoň do praktické výuky a to s důrazem především na střední školy a gymnázia s přírodovědným zaměřením. V tomto kontextu nabízí firma Vernier spoustu školních měřících systémů. Patří mezi ně i plynový chromatograf Vernier GC-mini, který nabízí zajímavou a praktickou možnost demonstrace kvalitativní a kvantitativní analýzy s přiblížením k analýzám právě z potravinářského průmyslu. Pomocí daného přístroje lze stanovovat např. množství alkoholu ve vzorku, případně dalších látek, se kterými se mohou žáci setkat v běžném životě.

Tato bakalářská práce se zabývá metodou plynové chromatografie (GC), respektive využitím školního plynového chromatografu Vernier GC-mini, ve výuce. Hlavní motivací pro výběr tohoto tématu je technologický pokrok v oblasti školních měřících a hlavně relativně dobře finančně dostupných systémů, který dává jedinečnou příležitost žákům získat praktické zkušenosti a osvojit si pokročilejší techniky při práci v laboratoři. Učitelům poskytuje možnost naplnit potřebu vzdělávat žáky a rozšiřovat jejich znalosti a dovednosti při práci s moderními chemickými metodami a technologiemi.

2 Teoretický úvod

2.1 Chromatografie

Chromatografie je analytická separační metoda patřící mezi metody kvantitativní a kvalitativní analýzy. Principem této metody je neustálé rozdělování jednotlivých látek ze vzorku mezi dvě fáze, mobilní a stacionární, což probíhá na základě rozdílné afinity^a dělených látek vůči oběma fázím, a to až do chvíle, než dojde k rozdělení v jejich směsi.

Mobilní fáze je fází pohyblivou, která prochází přes stacionární fázi a podle typu chromatografie je tvořena např. nosným plynem nebo kapalinou. Stacionární fáze je fází nepohyblivou a může být umístěna v koloně nebo rozprostřena do tenké vrstvy na hliníkové destičce. Stacionární fáze je obvykle využívána v podobě aktivního uhlí, oxidu hlinitého nebo silikagelu. Kolona je zpravidla hadice či kapilára o různé délce a šířce. Typům kolon a parametrům s nimi spojených je věnována část podkapitoly 2.2.2. Vzorek je vnášen do mobilní fáze v koloně pomocí stříkačky nebo je dávkován koncem kapiláry přímo na destičku. Rozdělení složek vzorku závisí na distribuční konstantě, která je definována jako poměr koncentrace dané látky ve stacionární fázi ku koncentraci dané látky v mobilní fázi. Distribuční konstanta je podrobněji rozebrána v podkapitole 2.3. Složky analyzované látky se adsorbují (váží) na stacionární fázi také podle jejich afinity. Čím je afinita nižší vůči stacionární fázi, tím rychleji migrují složky s mobilní fází. Výsledný záznam různě rychle separovaných složek analyzované látky se nazývá chromatogram.¹

2.1.1 Rozdělení a principy chromatografických metod

Metody chromatografie lze rozdělovat dle různých kritérií, např. podle povahy fáze mobilní nebo podle uspořádání fáze stacionární. Podle skupenství mobilní fáze dělíme chromatografii na chromatografii plynovou a kapalinovou. Co se týče rozdělení podle uspořádání fáze stacionární, tak je možné dělení na sloupcovou (na koloně), tenkovrstevnou a papírovou chromatografii.

^aafinita – schopnost látky se vázat na jinou látku na základě podobných nebo stejných vlastností

Dalším možným rozdělením chromatografických metod je podle způsobu pohybu analyzované směsi kolonou na eluční, frontální a vytěšňovací chromatografii.²

Eluční chromatografie funguje na principu, kdy se malé množství vzorku jednorázově nadávkuje na začátek kolony a jednotlivé složky jsou unášeny mobilní fází určitou rychlostí. Rychlost, resp. doba zdržení látek ve stacionární fázi, je ovlivněna distribuční konstantou pro danou látku, která je popsána v podkapitole 2.3. Aby byly složky eluovány v oddělených zónách, je nutné, aby distribuční konstanty byly dostatečně odlišné. Výsledkem této metody je chromatogram v podobě série elučních píků. Pro kvalitativní analýzu je využíváno umístění jednotlivých píků ve výsledném chromatogramu. Pro kvantitativní analýzu je využívána plocha pod píky.

Při frontální chromatografii je vzorek kontinuálně přidáván do kolony a sám tak tvoří fází mobilní. Kontinuální dávkování vzorku znamená postupné dávkování, tedy že nedochází k nadávkování vzorku najednou. Během frontální chromatografie dochází k ustavení rovnováhy a složky se rozdělí podle distribučních konstant. První je eluována látka, která je nejméně adsorbována na stacionární fázi.³

Principem vytěšňovací chromatografie je dávkování vzorku do proudu mobilní fáze. Mobilní fází je v tomto případě látka, která je stacionární fází sorbována mnohem víc než ostatní látky obsažené ve směsi. Vlivem sorbce mobilní fáze na stacionární dochází k vytěšňování složek vzorku z kolony. První je vytěšněna složka, která se nejméně sorbuje na stacionární fázi. Poslední kolonu opouští vytěšňující mobilní fáze.

Podle typu přechodu látky ze vzorku mezi mobilní a stacionární fází lze dělit chromatografické metody na další skupiny. Když se při separaci využívají především fyzikální adsorpční síly, metoda se nazývá adsorpční chromatografie. Separace probíhá na principu adsorpce iontů separované látky na stacionární fázi. Tento proces vyvolávají elektrostatické síly mezi ionty v mobilní fázi a mezi funkčními skupinami fáze stacionární. Jedná se tedy o další typ chromatografie, což je iontově výměnná chromatografie.⁴

Při využití dělení podle velikosti částic vzorku v gelu se jedná o chromatografii gelovou. Gelová chromatografie funguje na principu dělení látek podle velikostí a tvaru jednotlivých molekul. V tomto typu chromatografie je stacionární fáze přítomna v podobě inertního gelu s póry, přičemž velké molekuly se nevejdou do pórů gelu a musí putovat s mobilní

fází. Malé molekuly se naopak do pórů dostanou a tím jsou zpomalovány. Látky jsou z kolony vylučovány podle klesající relativní molekulové hmotnosti. Vzhledem k tomu, že v gelové chromatografii jde o interakci mezi analytem a stacionární fází, tak mobilní fáze má funkci přenosnou. Separaci ovlivňuje také bobtnání gelu, čímž se mění velikost pórů, ovšem to nemá vliv na eluční pořadí.⁵

Tato bakalářská práce se zabývá pouze plynovou chromatografií, jelikož se jedná o atraktivní metodu z hlediska využití pro analýzy látek z běžného života. Vzhledem k vysoké rozlišovací schopnosti plynové chromatografie lze poměrně jednoduše analyzovat látky z farmaceutického, potravinářského nebo chemického průmyslu, dále poté z lékařství, ale také z životního prostředí či kriminalistiky. Vzhledem k přesnosti a citlivosti stanovování lze jednoduše zaznamenat i stopová množství jednotlivých látek. Moderní plynové chromatografy jsou plně automatizované, a to umožňuje snadnou reprodukovatelnost jednotlivých analýz. Velkou výhodou plynové chromatografie je také rychlost samotných analýz, což jen zvyšuje oblíbenost a multifunkčnost této metody v analytické chemii a všech průmyslech, které ji aktivně využívají.

2.2 Plynová chromatografie

2.2.1 Princip metody

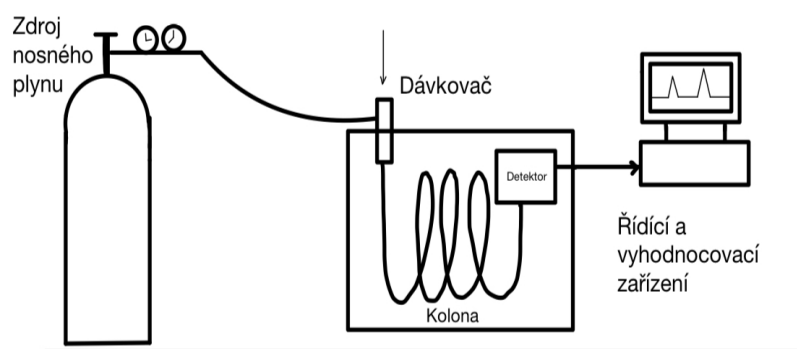
Jedná se o typ chromatografie, kde mobilní fází je plyn. Vzorek je dávkován do proudu tohoto plynu, který jej unáší kolonou. Vzorek může být transportován kolonou jen v případě, že se ihned přemění na plyn, popř. je ve formě páry.

Tento typ chromatografie a metody obecně ve své většině využívá rozdělení vzorku mezi obě fáze na základě adsorpce na stacionární fázi a předpokládá, že rozdělení vzorku mezi mobilní a stacionární fázi je rovnovážné. Aby se mobilní fáze pohybovala, je využito tlakového spádu a stacionární fáze je uspořádána v různě dlouhé koloně podle typu chromatografu. Míra účinnosti separace, tedy jak dlouho se látka zdrží v koloně, resp. kdy se naváže nebo nenaváže na stacionární fázi, je přímo úměrná délce kolony. Čím je kolona delší, tím je separace složek ze vzorku účinnější. Delší kolona umožňuje vzorku delší interakci s oběmi fázemi, což zvyšuje separaci vzorku. Nevýhodou naopak je prodloužení času analýzy. V dané koloně se složky separují podle toho, jak se poutají

na stacionární fázi, přičemž ty, co kolonu opustí, jsou indikovány detektorem. Signál, který je vyslaný z detektoru, je funkcí množství analytu a citlivosti na danou látku ze vzorku. Z časového průběhu signálu je vyhodnocováno kvalitativní a kvantitativní zastoupení složek ve vzorku. Kvantitativní charakteristikou analytu je plocha pod píkem, popř. výška píku. Kvalitativní charakteristikou analytu v chromatogramu je retenční čas.⁶ Tento parametr je podrobněji popsán v podkapitole 2.3.

2.2.2 Popis plynového chromatografu

Plynový chromatograf se skládá z několika částí, které jsou popsány v následujících odstavcích. Nejprve je představen zdroj nosného plynu, posléze čistící zařízení a nakonec regulační systém. Poté jsou popsány různé typy detektorů, kolon a na závěr i vybrané typy analytů. Schéma plynového chromatografu je uvedeno na Obrázku 1.



Obrázek 1: Schéma plynového chromatografu

Zdroje nosného plynu, čistící zařízení a regulační systém

Zdroje nosného plynu v plynové chromatografii jsou obvykle tlakové láhve. Nosnými plyny jsou pak nejčastěji vodík, helium, dusík nebo argon. Výběr vhodného nosného plynu je v praxi velmi důležitý a vždy se řídí typem látky, která bude analyzována, typem kolony a detektoru (viz. část této podkapitoly - Typy detektorů). Výběr nevhodného nosného plynu může způsobit výskyt falešných píků v chromatogramu, sníženou citlivost nebo zvýšený šum ve výsledném chromatogramu. Mezi důležité parametry ovlivňující vhodnost nosného plynu je jeho inertnost vůči složkám vzorku, čistota (plyn musí být velmi čistý), hustota, viskozita a bezpečnost, tedy aby plyn, pokud možno, nebyl toxický, hořlavý a výbušný. Tyto parametry nesplňuje vodík, jakožto nosný plyn, ovšem

ten se i tak z řady důvodů využívá. Vodík má totiž nízkou viskozitu, což umožňuje jeho rychlejší pohyb v koloně a tím zvýšení efektivity analýzy. Dále je dobře rozpustný v organických rozpouštědlech, má vysokou tepelnou vodivost a je kompatibilní s více typy detektorů.⁷

Volitelnou, ale častou součástí plynových chromatografů, bývá čistící zařízení. Čistící zařízení slouží k zachycování nečistot a vlhkosti, které obsahuje nosný plyn a jejich vlivem by mohlo dojít k nevratnému poškození kolony a nebo k nereprodukovatelnosti měření. Pokud ovšem toto zařízení není součástí chromatografu, může se snižovat životnost kolony a analýzy jsou méně přesné, jelikož vlivem nečistot může docházet k ovlivnění kvality analyzovaného vzorku. Například u malých přenosných chromatografů jako je Vernier GC-mini by dodatečné připojení čistícího zařízení způsobilo horší manipulaci a prodloužení doby analýzy.

Součástí každého chromatografu je regulační systém, který slouží k zajištění stálého průtoku nosného plynu. Stálý průtok nosného plynu je potřeba zajistit proto, aby analýza proběhla reprodukovatelně a vzorek nezůstal jen v nějaké části kolony, případně aby kolonou neprošel příliš rychle, což by znehodnotilo analýzu. Vzhledem k tomu, že plyny jsou stlačitelné, tak jejich lineární rychlost není konstantní po celé délce kolony. Okamžitá rychlost od počátku kolony tak vzrůstá až k jejímu konci. Aby bylo dosaženo konstantní rychlosti, využívají se regulátory jak mechanické, tak elektronické, které regulují konstantní vstupní tlak a konstantní hmotností průtok.¹ Elektronicky lze dosáhnout stanoveného průtoku i ve chvíli, kdy dochází ke změnám teplot během samotné analýzy a separace.⁸

Typy detektorů

Detektor je zařízení, které je připojeno ke konci kolony, přičemž zaznamenává změny, ke kterým došlo v mobilní fázi, po tom co prošla přes fázi stacionární.

Univerzálním typem detektoru je tepelně vodivostní detektor. Obsahuje vlákno (senzor), které je žhavené elektrickým proudem a je umístěno v termostatované dutině. Jakmile proudí nosný plyn přes dutinu, tak je ztráta tepla ze senzoru funkcí teplotního rozdílu mezi senzorem, dutinou a tepelnou vodivostí nosného plynu. Pokud nosný plyn obsahuje vzorek, dochází po vstupu par vzorku do dutiny ke změně tepelné vodivosti, což má

za následek změnu teploty senzoru. Změna teploty senzoru je přímo úměrná koncentraci páry vzorku v dutině senzoru, což se projeví na konečném signálu.⁹

Při použití tohoto typu detektoru je důležitá správná volba nosného plynu, jelikož je nutné, aby tepelná vodivost použitého plynu byla co možná nejvíce odlišná od tepelné vodivosti analyzovaných složek. Většinou se tedy dává přednost heliu a vodíku před dusíkem, jelikož oba plyny mají cca 100× vyšší tepelnou vodivost než dusík. Citlivost detektoru je nižší oproti ionizačním detektorům a detekční limity jsou obvykle udávány v mikrogramech analytu.

Dalším typem detektorů jsou ionizační detektory. Fungují na principu vedení elektřiny v plynech. Tyto detektory jsou složeny z izolované nádoby, která obsahuje dvě kovové elektrody, mezi něž je vkládáno elektrické pole, přes které proudí nosný plyn. Základním a nejčastěji používaným ionizačním detektorem je plamenový ionizační detektor. Tento typ detektoru funguje na principu ionizace molekul plynu v kyslíkovodíkovém plameni, přičemž ionizované molekuly následně vedou mezi elektrodami ionizační proud. Po ionizaci nosného plynu s analytem v detektoru a jejich průchodem mezi elektrodami dojde k migraci kladně nabitých iontů ke katodě a elektronů k anodě. Tímto procesem vzniká elektrický proud, jehož množství je úměrné analyzovanému množství složek směsi. Elektrický proud je registrován analyzátozem a softwarem zpracován do chromatogramu. Citlivost tohoto typu detektoru je vysoká a detekční limity se pohybují v pikogramech analytu. Nejvíce je v případě využití tohoto typu detektoru preferován jako nosný plyn dusík, ale občasně se používají i ostatní dříve jmenované plyny jako jsou vodík, helium nebo argon. Dusík se nejvíce využívá především proto, že má velice odlišnou ionizaci mobilní fáze oproti plynům jako jsou např. vodík a kyslík. K těmto typům detektorů se dále řadí např. plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (plamen je dopován alkalickými solemi, které reagují s heteroatomy organických látek a dávají mnohem výraznější signál) či fotoionizační detektor (za využití UV záření dochází k rozkladu molekul, které jsou obsaženy v analytu vystupujícího z chromatografické kolony).¹⁰

Detektor elektronového záhytu funguje na principu záhytu volných elektronů, které jsou z atomů složek směsi vyloučeny pomocí β -zářiče, který způsobuje ionizaci nosného plynu. Atomy s elektronegativním charakterem, které jsou obsaženy v analytu, zachycují pomalé elektrony vzniklé ionizací nosného plynu, což způsobí pokles ionizačního proudu.

Detektor obsahující dvě elektrody zachycuje změnu ionizačního proudu, což se následně projeví ve výsledném chromatogramu.¹¹

V dnešní době se stala jednou z poměrně využívaných metod kombinovaná plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií, kde právě hmotnostní spektrometr slouží jako doplňující detektor. Tato metoda je v analytické chemii oblíbená z důvodu univerzálnosti stanovování širokého spektra především organických látek a sloučenin. Hmotnostní spektrometrie dobře doplňuje plynovou chromatografii. Pro hmotnostní spektrometrii jsou vyžadovány plynné vzorky, které jsou zároveň využity i v plynové chromatografii, což umožňuje velmi přesně provádět kvantitativní i kvalitativní analýzy jednotlivých složek ve vzorku s přesností na femtomoly. Jedním z hlavních kladů této kombinace je tak vysoká citlivost a dále schopnost hmotnostní spektrometrie ze separovaných složek získaných z plynové chromatografie vybrat takové ionty, které lze analyzovat z kvantitativního i kvalitativního hlediska.¹² Spektrometr tedy umožňuje stanovení jednotlivých eluovaných látek na základě jejich molekulové hmotnosti, čímž se zpřesňuje samotná analýza.¹³

Dalším typem detektorů jsou ty, které využívají emise světelného záření vzorkem. Jedná se především o atomový emisní detektor. Zde plyn z kolony vstupuje do vysokoenergetické plazmy, kde dochází k atomizaci vzorku, tedy rozkladu na volné radikály, ionty a atomy. Když se částice vrací z excitovaného stavu do základní konfigurace, emitují světelné záření. Toto záření se rozloží na mřížce, dojde k analýze diodovým polem a určí se obsah prvků.¹⁴

U školního plynového chromatografu Vernier GC-mini je použitý typ detektoru tzv. MEMS. Jedná se o chemikapacitní čidlo od firmy Seacoast Science. Detektor je pokryt chemoselektivním polymerem, který absorbuje analyty, které vycházejí z kolony. Tento detektor lze nastavit na dvě úrovně citlivosti. Pro analýzu polárních sloučenin (ketony, alkoholy a estery) se využívá režim se standardní citlivostí. Naopak režim s vysokou citlivostí je využíván pro směsi obsahující jednu nebo více sloučenin v nízké koncentraci nebo pro substituované aromáty. Detektor MEMS je typický pro jeho možnost detekce vzduchu jakožto nosného plynu, tedy mobilní fázi.

Minoritně se také využívají další typy detektorů jako jsou např. plamenový tepelný ionizační detektor, plamenový fotometrický detektor nebo sírový chemiluminiscenční detektor. Vzhledem ke specifitě těchto detektorů, nejsou v této práci dále popisovány.

Typy kolon

Kolona se v plynovém chromatografu nachází ihned za dávkovačem vzorků. Je umístěna v termostatu, aby byla zajištěna stanovená teplota po celou dobu analýzy. V koloně je umístěna stacionární fáze, na níž probíhá separace analytu. Pomocí kolony je usměrňován tok nosného plynu přímo na detektor.

Jedním typem kolon jsou kolony náplňové. Jedná se o trubice, které jsou ručně naplněny sorbenty nebo nosiči pokrytými kapalnou fází. Materiálem využívaným na jejich výrobu jsou především ocel nebo sklo. Vnitřní průměr kolony se pohybuje v intervalu 2 – 3 mm a délka je 1 – 3 m. Tyto kolony mají vyšší kapacitu pro pojmání většího obsahu sorbentu, což zajišťuje větší plochu pro kontakt mobilní a stacionární fáze oproti kolonám kapilárním. Jako adsorbenty se využívají např. silikagel, grafitizované saze, oxid hlinitý.¹⁵ Tyto kolony se využívají především, pokud je dávkován velký objem vzorku, nebo pokud se jedná o specifický vzorek, který vyžaduje speciální stacionární fázi.

Druhým a především téměř výhradně využívaným typem kolon v plynových chromatografech jsou kapilární kolony. Ty se aktivně využívají především kvůli vyšší účinnosti oproti kolonám náplňovým. Čím dál tím častěji se využívají užší kolony, jelikož se tím velmi zvyšuje účinnost separace a rychlost analýzy.¹⁶ Nosičem stacionární fáze u kapilárních kolon jsou vnitřní stěny samotné kolony, které jsou vyrobeny z chemicky odolných materiálů. Co se technických parametrů týče, tak vnitřní průměr těchto kolon je v intervalu 0,1 – 0,6 mm, tloušťka filmu stacionární fáze 0,25 – 5 μm , délka kolony je 15 – 60 m, kapacita 50 ng – 15 μg a účinnost 1000 – 3000 teoretických pater^b na 1 m.¹⁷ Ve většině případů se využívá délka kolony 30 m.

Pokud má kolona větší průměr, pojme více vzorku. Menší průměr kolony vede zase k vyšší účinnosti separace, ale nižší kapacitě kolony. Užší kolony ale nemohou být tak dlouhé, jelikož by se neúměrně prodloužil čas separace. Účinnost separace se naopak snižuje, pokud roste vnitřní průměr kolony a tloušťka stacionární fáze. Kapilára bývá

^bteoretické patro - udává míru účinnosti chromatografické kolony, jedná se o zónu, kde se složky směsi dokonale rovnovážně rozdělí mezi mobilní a stacionární fázi

obalena v polyimidové vrstvě, která způsobuje pružnost a zabraňuje křehkému materiálu před zlomením a poničením. Také kapiláru chrání do teplot až 350 °C.⁸ Volba vhodné kolony je tak kompromisem mezi účinností separace a velikostí kolony.

Rozlišujeme tři typy kapilárních kolon, podle uložení stacionární fáze. Kolony WCOT (Wall Coated Open Tubular) obsahují kapalnou stacionární fázi, které tvoří tenký film na vnitřní stěně kapiláry. Kolony SCOT (Support Coated Open Tubular) mají na vnitřní stěně vrstvu nosiče, která v sobě má zakotvenou kapalinu. Kolony PLOT (Porous Layer Open Tubular) mají na vnitřní stěně tenkou vrstvu pórovitého materiálu (adsorbentu).¹⁸

Nevhodná kolona a detektor naopak mohou způsobovat nepřesné analýzy v podobě nedostatečného vyloučení veškerého analytu nebo nenávratné zničení analytu.

Volba stacionární fáze je rozhodující pro výběr vhodné kolony pro daný analyzovaný vzorek. Hlavním parametrem pro výběr vhodné stacionární fáze bývá polarita separovaných složek. Pro analýzy směsí alkanů, které jsou nepolární, se nejčastěji využívají nepolární kapilární kolony. Pro separaci polárních molekul, které obsahují jeden nebo více atomů chloru, bromu, fluoru, dusíku, kyslíku, fosforu nebo síry (alkoholy, karboxylové kyseliny, ethery, thioly a další) a polarizovatelných molekul (alkeny, alkyny) se naopak využívají polární kolony.⁸

Typy analytu

Jelikož je u plynové chromatografie nutnost, aby byl dávkovaný vzorek přeměněn na plyn, je možno analyzovat jen některé typy látek, mezi které patří látky s dostatečným tlakem sytých par, tepelně stálé a takové, jejichž molární hmotnost je menší než 1000 g·mol⁻¹. Obecně je možné analyzovat plyny, většinu nedisociovatelných kapalin, mnoho organokovových látek a pevné organické molekuly.¹⁹

2.2.3 Dávkování vzorku

Dávkování těkavých kapalin

Způsob zavádění vzorku na kolonu musí být takový, aby zajistil odpaření vzorku v co nejkratším čase, a zároveň aby bylo dávkování reprodukovatelné a nedošlo ke změně relativního složení vzorku. Aby došlo k co nejrychlejšímu zplynění vzorku, bývá vstupní dávkovač vyhříváný. Nejčastěji se vzorek zavádí injekčními stříkačkami v objemech něko-

lika μl až několik ml (plynné vzorky) přes gumové septum. Pro nástřik kapalných vzorků se využívá tzv. Hamiltonova stříkačka. Jedná se o speciální typ stříkačky, přičemž objem kapaliny je nabírán do délky jehly, nikoliv do těla stříkačky. Objem této stříkačky bývá v rozsahu $0,1 - 1 \mu\text{l}$.⁷

Vzorek může být nastříkovan několika způsoby. Prvním z nich je přímý nástřik do kolony. Tento způsob se uplatňuje u náplňových i kapilárních kolon. Vrchní část kolony je zahřáta na teplotu o $10 - 30 \text{ }^\circ\text{C}$ nižší, než je teplota varu rozpouštědla, aby vzorek vytvořil kapalný film na stěnách kolony. Z uvedeného důvodu musí být vzorek do kolony nastříknut rychle. Následně po $30 - 60$ sekundách se teplota kolony prudce zvýší a dojde k odpaření.

Druhým způsobem je nástřik vzorku pomocí děliče toku. Toto dávkování se využívá u tenkých kapilárních kolon, které mají malou objemovou kapacitu. Část vzorku je zadržena v děliči a do kolony se tak dostává jen určitá část nastříkovaného množství analytu v intervalu $0,1 - 0,2 \mu\text{l}$. Účinné promíchání a homogenní odpařování zajišťuje skleněná vata umístěná v odpařovací trubici.

Třetím typem je nástřik bez děliče toku. Zařízení je stejné jako s dělením toku, ovšem odvod děliče je uzavřen. Vzorek musí být pomalu dávkován do odpařovací trubice, kde se nechá cca 60 sekund odpařovat. Následně se provede oplach septa. Metoda využívá rozpouštědla, která mají vyšší teplotu varu (oktan). Ta kondenzují a vytváří kapalný film v hlavě kolony. Ve filmu jsou pohlceny analyty a je proveden oplach septa. Poté dojde ke zvýšení teploty kolony a proběhne separace.⁸

Dávkování plynů

V plynové chromatografii lze také dávkovat vzorky i v plynné podobě. Dávkování probíhá velmi podobně jako dávkování těkavých kapalin, přičemž primárně se využívá kontinuální dávkování vzorku přes smyčku. Vzorkovací smyčka je naplněna plynným vzorkem, přičemž dochází k periodickému plnění a vyprazdňování, což umožňuje průběžné přivádění vzorku do proudu nosného plynu v chromatografické koloně.²⁰

2.3 Parametry významné při chromatografických analýzách

V této kapitole jsou uvedeny základní parametry, které ovlivňují vhodný výběr kolony, detektoru a zároveň slouží k analýze závěrečných chromatogramů.

Distribuční (rozdělovací) konstanta K , charakterizuje poměr koncentrací analyzované látky ve stacionární c_s a mobilní fázi c_m

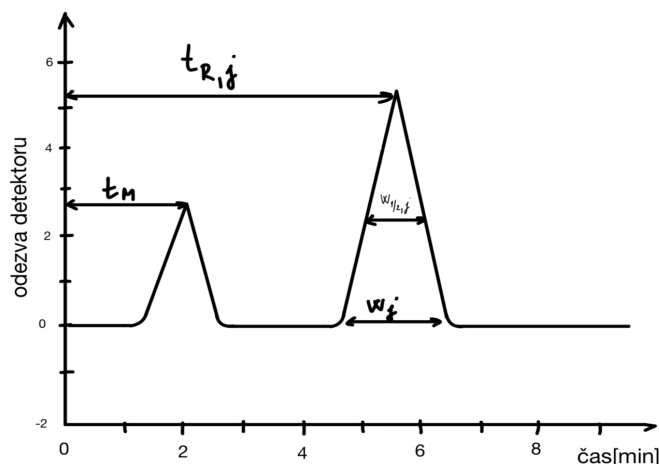
$$K = \frac{c_s}{c_m}. \quad (1)$$

Čím je distribuční konstanta vyšší, tím spíše se látka zdrží ve fázi stacionární a pomaleji se pohybuje mobilní fází. Pokud je distribuční konstanta nízká, daná látka se rychleji pohybuje v mobilní fázi a nezdržuje se ve fázi stacionární. Distribuční konstanta je charakteristická pro každou látku, kolonu a mobilní fází.

Retenční faktor R_f , charakterizuje poměr látkového množství dané složky v mobilní a stacionární fázi. Tento parametr lze vyčíst z výsledného chromatogramu. Do poměru je dán čas, který stráví složka ve stacionární fázi ku času, který složka stráví v mobilní fázi, přičemž R_f je retenční faktor, t_R je retenční čas a t_M je mrtvý retenční čas

$$R_f = \frac{t_R - t_M}{t_M}. \quad (2)$$

Distribuční konstanta a retenční faktor jsou parametry, které charakterizují selektivitu kolony, tedy to, jak dlouho se látky zdržují v koloně, resp. jak se adsorbují na stacionární fázi a jak se následně vylučují s mobilní fází.



Obrázek 2: Schéma chromatogramu

Ze schématu chromatogramu na Obrázku 2 lze vyčíst, že mezi sledované parametry patří také **retenční (eluční) čas t_R** , tedy celkový čas, který stráví analyt v koloně. Jedná se o dobu, kterou stráví analyt v koloně od nástřiku do kolony po dosažení maxima píku. **Mrtvý retenční čas t_M** je doba, kterou stráví složka vzorku, která se pohybuje stejnou rychlostí jako mobilní fáze v koloně. Oba retenční časy jsou důležité zejména pro kvalitativní analýzu, tedy zjištění z jakých složek se vzorek skládá. Další parametry jsou **šířka píku v polovině jeho výšky $w_{1/2}$** a **šířka píku u základny w** . Šířky píků slouží ke kvantitativní analýze, tedy ke zjištění množství jednotlivých složek ve vzorku. Dnešní softwary zpracovávající výsledné chromatogramy provádějí integraci plochy pod píkem, čímž získají přesnou hodnotu kvantitativní analýzy a již proto není potřeba přeměřovat šířku píku v polovině jeho výšky a šířku píku u základny. I u školního plynového chromatografu Vernier GC-mini je možné provést integraci plochy pod píkem, což značně usnadňuje práci žáků při vyhodnocování výsledných chromatogramů.

2.4 Chromatografie a plynová chromatografie ve školách

Na gymnáziích a středních odborných školách s přírodovědným zameřením (např. potravinářství a potravinářská chemie²¹ nebo technická chemie a chemie silikátů²²) je téma chromatografie zařazováno dle rámcových vzdělávacích programů^{23,24} do vzdělávací oblasti "Člověk a příroda", obvykle pak do učiva předmětu chemie. Při laboratorních cvičeních bývá čas věnován tenkovrstvé nebo papírové chromatografii barevných látek (rostlinná barviva, černé barvivo fixu, a další). Jedná se o technicky nejjednodušší

metody s minimálními nároky na vybavení oproti chromatografii plynové. Například u tenkovrstvé chromatografie na křídě lze za využití bílé školní křídly, lihu a černé lihové fixy snadno separovat jednotlivá barviva.²⁵ Mezi další prováděné experimenty patří chromatografie barev ze zelených listů²⁶ nebo poté spíše na základních školách prováděná tzv. Lentilková chromatografie, tedy dělení barviv obsažených v lentilkách.²⁷ Pomocí tenkovrstvé ani papírové chromatografie ale obvykle nelze přesně dokázat přítomnost látek z kvantitativního hlediska. Lze je využít pro jednoduché představení kvalitativních analýz vybraných látek, ale nelze pomocí nich dostatečně demonstrovat důležitost kvantitativních i kvalitativních analýz zároveň. Oba typy analýz naopak velmi dobře zahrnuje plynová chromatografie. Plynové chromatografii je věnován čas pravděpodobně při laboratorních pracích nebo maturitních seminářích. Je ovšem otázkou, jak je tomu s praktickým procvičením jejich principů. Na základě širokého využití plynové chromatografie v potravinářském, farmaceutickém a chemickém průmyslu, klinické analýze v lékařství či kriminalistice by bylo vhodné, aby byla plynová chromatografie zmiňována jak v rámci teorie ve vyučovacích hodinách předmětu chemie, tak prováděna prakticky v rámci laboratorních cvičení.

Rámcový vzdělávací program pro gymnázia doslovně u očekávaných výstupů znalost separačních metod nezmiňuje, přičemž je pravděpodobné, že jsou tyto metody vyučovány v rámci učiva Soustavy látek a jejich složení a zároveň se mohou skrývat pod výstupy, které hovoří o využití znalosti základů kvalitativní a kvantitativní analýzy k pochopení jejich praktického významu v anorganické a organické chemii.²³ Naopak příslušné rámcové vzdělávací programy pro střední školy se zaměřením na potravinářství a potravinářskou chemii²¹ nebo technickou chemii a chemii silikátů²² už doslovně zmiňují výuku separačních metod.

O výuku chromatografie se zajímají také autoři v zahraničí. Například David C. Stone ve svém článku²⁸ popisuje využití moderních technologií jako je virtuální laboratoř v rámci laboratorních cvičení. Klade především důraz na upevnění teoretických znalostí z oblasti analytických metod pomocí praktických cvičení. Autoři dalších článků^{29,30} zastávají myšlenku, že ukazovat a vyučovat principy plynové chromatografie je potřeba, jelikož se jedná o rozšířenou analytickou metodu, ovšem upozorňují na její nedostatky, mezi které patří délky samotných analýz. Proto přišli s myšlenkou virtuální laboratoře,

kde si studenti přesně navolí vzorky a program jim předvede, jak by probíhala analýza a jak by vypadal výsledný chromatogram látek obsažených ve vzorku. Tato inovativní výuková metoda byla vymyšlena za účelem zefektivnění výuky na téma plynové chromatografie. Tento způsob výuky ale nezprostředkuje žákům takové kompetence, jako jsou příprava a dávkování vzorku, optimalizace metody separace, nastavení parametrů a podobně.

O zařazení plynové chromatografie do výuky se lze rovněž dočíst například z článku autorů Gannon P. Connor a kol.³¹ Ten pojednává o experimentu s látkami, které jsou žákům dobře známy z běžného života, přičemž autoři využívají pro analýzu látek školní plynový chromatograf od firmy Vernier. Využití eukalyptolu a esterů z banánů a borůvek lze považovat za motivační faktor pro práci žáků, ovšem výsledky nevypovídají o kvalitě a následné možné reprodukovatelnosti úlohy v dalších hodinách. Autoři se v dotazníku po ukončení experimentu ptali žáků na otázky typu "Bylo jednoduché porozumět principům plynové chromatografie?", "Bylo jednoduché provést experiment zaměřený na plynovou chromatografii?" nebo používali tvrzení ve smyslu "Instruktoři mi pomáhali, pokud jsem měl/a nějaký problém.", přičemž porovnávali dvě rozdílné skupiny žáků. Jednou skupinou byli účastníci letního vědeckého programu, tedy žáci, u kterých je očekávaný velký zájem o vědu a druhou skupinou byli žáci z komunitní střední školy, u kterých se neočekává velký zájem o vědu. Z Tabulky 1 uvedené v článku si lze všimnout, že výsledky nejsou nijak neočekávané, tedy že lepších výsledků, co se zvýšení zájmů o plynovou chromatografii týče, dosahují žáci z letního vědeckého programu, oproti žákům z komunitní střední školy.

Obecně lze říci, že publikací zabývajících se využitím plynové chromatografie ve výuce není mnoho a zcela chybí vhodné a motivační úlohy. Proto je potřeba vytvářet takové experimenty, aby učitelé a žáci byli dostatečně motivováni a školy měly další důvod k pořízení školních plynových chromatografů a jejich implementaci do školní experimentální výuky. Zařazení experimentů na téma plynové chromatografie do výuky je velmi důležité, a to z důvodu osvojování samotné metody a propojení teoretických znalostí s praxí. Žáci si mnohem lépe zapamatují, jak metoda funguje a jaká jsou případná úskalí při celém procesu laborování a využívání plynového chromatografu, pokud si to budou moci i vyzkoušet. Tuto možnost nabízí právě firma Vernier, která se zabývá výrobou školních měřicích systémů, mezi něž patří i školní plynových chromatograf. Prvním moti-

vačným krokem pro pořízení školního plynového chromatografu Vernier GC-mini/Vernier GC-mini Plus mohou být předpřipravené postupy k pěti různým experimentům přímo od firmy Vernier.³²

Další motivací pro pořízení školního plynového chromatografu a jeho zařazení do výuky, je poměrně nízká pořizovací cena, skladovatelnost přístroje, jednoduchá manipulace a v neposlední řadě možnost provádět kvalitativní a kvantitativní analýzy na širokém spektru látek, které žáci mohou znát z běžného života. Minimálně u středních škol a gymnázií s přírodovědným zaměřením by měl být kladen důraz na výuku a i samotné experimenty v oblasti plynové chromatografie, jelikož lze předpokládat, že žáci absolvující tento typ studia budou pokračovat na vysoké školy s přírodovědným, či dokonce chemickým zaměřením, kde se setkají s analýzami prováděnými pomocí plynové chromatografie. Tudíž by bylo vhodné, aby tuto oblast již alespoň částečně znali. Úlohy, které jsou poskytnuty od firmy Vernier jsou v anglickém jazyce a zároveň nevyužívají látky, které by byly pro žáky příliš atraktivní, což poměrně snižuje motivační charakter těchto úloh. Proto by bylo vhodné a žádoucí vytvořit další úlohy, které by byly pro žáky i učitele zajímavější.

2.5 Cíl

Hlavním cílem této bakalářské práce je optimalizace podmínek pro stanovení methanolu vedle ethanolu ve školní praxi pomocí plynového chromatografu Vernier GC-mini.

3 Metodika a praktická část

První polovina praktické části bakalářské práce je založena na průzkumu školních vzdělávacích programů (ŠVP) vybraných středních škol a gymnázií z celé České republiky. Zabývá se zařazováním výuky chromatografie resp. plynové chromatografie do školních vzdělávacích programů. Bylo zjišťováno, zda je téma chromatografie vůbec do výuky zařazeno, případně do jakého ročníku a v rámci jaké vyučovací jednotky je toto téma probíráno. V případě, že se chromatografie vyskytovala v ŠVP, bylo zjišťováno, zda je explicitně zmiňována výuka plynové chromatografie.

Druhá polovina praktické části bakalářské práce vychází z již dříve započatého a zatím jen částečně publikovaného projektu, kterým se zabývali doc. RNDr. Petr Šmejkal Ph.D. ve spolupráci s doc. RNDr. Václavem Martínkem a RNDr. Luděkem Míkou Ph.D. Úloha byla zaměřena na stanovení methanolu vedle ethanolu v alkoholických nápojích jako odezva na tzv. Methanolovou aféru³³ za využití školního plynového chromatografu Vernier GC-mini. Již při samotném testování úlohy v minulosti se ukázalo, že sestavení úlohy není ideální, jelikož její reprodukovatelnost je malá. Na druhou stranu je úloha velmi motivační³⁴ a dává smysl ji zařadit do výuky, pokud škola disponuje plynovým chromatografem. Cílem práce tak bylo najít vhodné podmínky pro zvýšení reprodukovatelnosti úlohy.

Hlavní komplikací při koncepci a realizaci úlohy byla skutečnost, že na kolonu školního plynového chromatografu se nesmí dostat voda, jelikož se pomalu odpařuje, zůstává adsorbována ve stacionární fázi a na stěnách kolony, která se tím dlouhodobě poškozuje. Z tohoto důvodu nemohl být pro měření přímo využit kapalný vzorek jednotlivých alkoholických nápojů (např. domácí slivovice, vodka z obchodu, a další). Proto, již v rámci původního projektu, byly dávkovány místo kapaliny pouze páry methanolu, ethanolu a páry jejich směsí smíchaných v různých poměrech. Při využití par se totiž minimalizuje obsah vody, který se do kolony dostává a nedochází tak k jejímu trvalému poškození.

Alkoholické nápoje, tedy ethanol a methanol jako analyty, byly využity z důvodu motivace, aby žáci pracovali s látkami, které znají z běžného života s přesahem na jejich zdraví, a tím pádem jim pokus dával větší smysl a podpořil jejich motivaci věnovat se chemii a práci s přístrojem. Plynová chromatografie umožňuje separaci vlastnostmi

i strukturně velmi blízkých látek, což je velmi důležité pro praxi. Původní projekt byl také realizován v době, kdy v České republice probíhala Methanolová aféra, tudíž bylo logické zaměřit projekt tak, aby byly využity látky, které v danou dobu znal každý. Výhodou těchto alkoholů a příslušných vzorků je také snadná dostupnost.

Co se týče samotného využití přístroje GC-mini od firmy Vernier, tak přes řadu jeho výhod i nevýhod, má jednu velkou výhodu, a tou je nízká pořizovací cena cca 120 000 Kč. Oproti průmyslovým chromatografům, jejichž cena se pohybuje okolo 800 000 Kč a více.

3.1 Průzkum ŠVP

Průzkum ŠVP nebyl hlavní částí práce, proto byl proveden jen u některých škol, konkrétně v rozsahu 28 škol ze 14 krajů České republiky, přičemž přesný způsob výběru škol je uveden níže v této kapitole.

Primární motivací tohoto průzkumu bylo zjistit, zda je zařazováno téma chromatografie a plynové chromatografie do školních vzdělávacích programů vybraných škol. Jelikož průzkum ŠVP byl prováděn pouze jako doplňující výzkum k této bakalářské práci, bylo postačující provést stratifikovaný výběr škol z jednotlivých krajů ČR. Pro výběr škol byl použit on-line dostupný rejstřík škol a školských zařízení zřizovaný MŠMT. V rejstříku byl zvolen druh zařízení, tedy střední vzdělávání - školy a příslušný kraj. Následně byly školy seřazeny dle abecedního pořadí ve vzniklém seznamu. Každé škole bylo přiděleno číslo. Celkové číslo počtu škol bylo vloženo do generátoru náhodných čísel a bylo vygenerováno jedno číslo. Ze seznamu byla vybrána škola s příslušným číslem a v jejím případě bylo zjišťováno, zda má on-line dostupné ŠVP na svých webových stránkách. V případě, že vybraná škola neměla dostupné ŠVP na internetu, byla vybrána další škola v pořadí ze seznamu. Následně bylo vygenerováno další číslo a předchozí postup byl zopakován. Do průzkumu bylo tímto způsobem vybráno 28 středních škol a gymnázií napříč 14 kraji (vč. Hlavního města Prahy) z celé České republiky. Vždy byly vybrány dvě školy z daného kraje.

Z dostupných školních vzdělávacích programů bylo zjišťováno, zda mají školy explicitně zmíněné téma chromatografie v rámci výuky předmětu chemie, či jiného předmětu, např. Maturitní semináře z chemie, Monitoring vod, Souvislosti v přírodních vědách apod.

Dále, pokud tomu tak bylo, tak do jakého ročníku je výuka tohoto tématu zařazena a v jaké vyučovací jednotce je téma probíráno, zda se jedná o vyučovací hodinu, kde je chromatografie probírána teoreticky nebo je zařazena například jen do laboratorních cvičení. Výsledky byly zpracovány a shrnuty v podkapitole 4.1 a to včetně rozsáhlé shrnující Tabulky 4.

3.2 Použité vybavení, chemikálie a software

3.2.1 Použitý přístroj - Vernier GC-mini

Pro všechna stanovení methanolu vedle ethanolu byl použit školní měřicí plynový chromatograf GC-mini vyráběný firmou Vernier.

Jedná se o malý přenosný chromatograf jednoduše využitelný ve školním laboratorním prostředí. Slouží, stejně jako ostatní chromatografy, k separaci, analýze a stanovení látek, které jsou obsažené v těkavém kapalném nebo plynném vzorku. Jedinečností tohoto přístroje je přítomnost patentovaného čipového snímače MEMS, tedy detektoru, který v kombinaci s vybranou kolonou, viz. dále v této podkapitole, umožňuje, aby jako nosný plyn byl využit okolní vzduch. Odpadá tím starost o tlakové lahve a jejich korektní uchovávání a zacházení s nimi. Využití okolního vzduchu je ovšem také nevýhodou. Jelikož vzduch není nijak čištěn před vstupem do chromatografu, obsahuje i spoustu nečistot, které nevratně poškozují kolonu. Ovšem připojení čistícího zařízení by zhoršilo samotnou manipulaci s přístrojem a prodloužilo dobu analýzy, přičemž i značně zpomalovalo práci žáků při provádění experimentů. Jedná se tedy o jistý kompromis využití vzduchu, jakožto nosného plynu, snadnou manipulaci s přístrojem, ale tím způsobené rychlejší snížení životnosti kolony. Výrobce doporučuje pravidelné čištění kolony. Čištění je vhodné provádět před každým měřením. Podle manuálu by čištění mělo být prováděno 120 min při přetlaku 20 kPa a jako vzorek by měl být dávkován 1 ml vzduchu. Vzhledem k časové náročnosti není potřeba čistit kolonu před každým prováděním této úlohy ve výuce, jelikož by to znamenalo snížení efektivity a motivačního charakteru celé úlohy. Určitě je vhodné provádět čištění kolony v případě používání přístroje po delší době nebo při změně charakteru měřených látek.

Další výhodou je možnost propojení přístroje pomocí USB s jakýmkoliv PC či note-

bookem, který obsahuje program Logger Pro 3.8.6³⁵ a jeho novější verze, popř. software Vernier Instrumental Analysis.³⁶ Programy umožňují velice snadné ovládání chromatografu, sběr dat a vyhodnocení. Nevýhodou tohoto přístroje je možnost stanovení pouze omezeného množství látek, mezi něž patří například alkoholy, ketony a estery, a to v rozsahu bodů varů přibližně od 30 °C do 250 °C. Do přístroje též nelze dávkovat vzorky obsahující vodu, jelikož, jak bylo zmíněno výše, voda se adsorbuje na stěny kolony a velmi pomalu vytěkává, což kolonu ničí a následné analýzy nejsou přesné. Proto je vhodné dávkovat vzorky v plynné podobě. Z naměřených píků lze pomocí pár kliknutí určit retenční časy, provést integraci podle maxim jednotlivých pásů a kvantifikovat tak množství sloučeniny, tedy realizovat kvalitativní a kvantitativní analýzu. Celkové použití přístroje je velice intuitivní a bezpečné pro využití ve školní praxi.

Přístroj obsahuje 11 metrů dlouhou nepolární kapilární nerezovou kolonu, jejíž vnitřní vrstva je potřena silikonovým polymerem a je zahřívána průchodem elektrického proudu. Chromatograf obsahuje vestavěný nezávislý termistor, který zajišťuje ochranu kolony před přehřátím, tedy udržuje nastavenou teplotu. Detektorem je chemikapacitní čidlo, které je pokryto chemoselektivním polymerem.³⁷

Vzorky jsou do přístroje dávkovány přes vstřikovací otvor. Pro kapalně vzorky se využívá Hamiltonova stříkačka, která je dodávána s přístrojem. Pro plynné vzorky je využívána inzulinová stříkačka s jehlou o velikosti 0,45×25 mm. Do přístroje nesmí být vstřikováno více než 0,6 µl kapalněho vzorku, jelikož větší množství by mohlo poškodit sensor a kolonu. Pokud je dávkován plyn, je možno využít objem až do 1 ml. Do přístroje nesmí být dávkovány vzorky obsahující vodu nebo obecně sloučeniny, které obsahují nezanedbatelné množství vody. Dále potom aminy, jiné alkalické látky a kapaliny obsahující sloučeniny s velkou molekulovou hmotností, jelikož by zůstaly naadsorbovány ve stacionární fázi na stěnách kolony, čímž by se snížila její životnost a zhoršila reprodukovatelnost a kvalita dalších analýz. Obecně se pomocí přístroje mohou stanovovat látky s bodem varu v rozmezí 30–250 °C, přičemž mezi tyto látky se řadí např. alkoholy (C₁ – C₆), estery (C₂ – C₁₀), ketony (C₃ – C₈) a další.³⁷ Přístroj umožňuje i komplikovanější měření s nastavením tlakového spádu, teploty na koloně nebo teplotní rampy. Tato nastavení se dají využít především u směsí látek s velmi rozdílnými teplotami varu nebo například u látek s velkou rozdílnou těkavostí.

3.2.2 Použité chemikálie

- **Ethanol**

Pro měření byl použit ethanol (v/v) 96 % od firmy Lach:ner.

- **Methanol**

Pro měření byl použit methanol (v/v) 99,8 % od firmy Lach:ner.

3.2.3 Použitý software

- **Vernier Instrumental Analysis**

Pro měření byl použit software Instrumental Analysis 2022 od výrobce Vernier.³⁶

- **Logger Pro**

Pro měření byl použit software Logger Pro 3.8.6. od výrobce Vernier.³⁵

3.3 Příprava vzorků

Vzorky methanolu a ethanolu

Jak již bylo uvedeno výše, přístroj není vhodný pro měření vzorků obsahujících vodu, jelikož ta by mohla nenávratně poškodit kolonu. Proto byla úloha koncipována tak, aby do přístroje byly dávkovány od začátku pouze páry methanolu, ethanolu a jejich směsí, kde budou díky své těkavosti oba alkoholy v nadbytku.

Pro dodržení správných laboratorních postupů byly vzorky připravovány odlitím malého množství (cca 0,5 ml) ethanolu a methanolu ze zásobních lahví do dvou vialek s víčky s gumovými septy, přes které lze snadno zavádět jehlu a nabírat vzorek. Výrobce nedodává k přístroji speciální jehlu na dávkování plyných vzorků, ale pouze Hamiltonovou stříkačku pro dávkování kapalných vzorků. Hamiltonova stříkačka, kterou přímo dodává výrobce Vernier není vhodná pro dávkování par vzorků, jelikož není plynotěsná a 1 μ l par je příliš malý objem, přičemž přístroj by takto malé množství vzorku nezvládl detekovat. Pořízení speciální Hamiltonovy plynotěsné stříkačky pro dávkování plyných vzorků by znamenalo pro školy nevýhodu v podobě vynaložení dalších financí. Obecně nevýhodou Hamiltonových stříkaček je jejich vyšší cena, křehkost a důležitost

velmi přesné a opatrné manipulace, což zvyšuje náročnost žákovských experimentů. Plynné vzorky ethanolu, methanolu a směsí byly tak dávkovány pomocí inzulinových injekčních stříkaček s krátkou úzkou jehlou. Inzulinové stříkačky jsou běžně dostupné a jejich pořízení není finančně náročné. Využití krátké jehly je výhodné, jelikož se nedá při dávkování vzorku dostat až na kraj kolony a tím ji poničit. Nevýhodou naopak může být skutečnost, že vzorek není dávkován přímo u ústí kolony, díky čemuž nemusí být vsechn vzorek správně unášen nosným plynem na kolonu. I přes drobnou nevýhodu je ovšem využití inzulinové stříkačky s krátkou jehlou výhodným řešením pro dávkování plynných vzorků při žákovských experimentech. Vialky byly použity z důvodu malé velikosti a snadného nabírání vzorků. Látky byly ve vialkách ponechány temperovat. Poté byl k počítači připojen a zapnut přístroj Vernier GC-mini, spuštěn příslušný software a nastaveny hodnoty pro měření. Ve chvíli, kdy se ustavily požadované hodnoty, přístroj zahlásil možnost nadávkovat vzorek. Pro methanol i ethanol jsou v Tabulce 2 uvedeny hodnoty teploty varu, které jsou pro obě látky rozdílné.

Vzorky směsí methanolu a ethanolu

Vzhledem k původní myšlence úlohy, tedy stanovit methanol a ethanol vedle sebe v alkoholických nápojích, byly vytvořeny směsi methanolu a ethanolu v různých poměrech, které byly následně analyzovány. Pro namíchání směsí ethanolu a methanolu, byly použity čisté látky ze zásobních lahví. Do kádinek bylo odlito cca 10 ml ethanolu a methanolu. Do skleněných vialek opatřených víčky s gumovými septy byly pomocí automatických pipet namíchány směsi ethanolu a methanolu v poměrech 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 5:5; 6:4; 7:3; 8:2; 9:1.

3.4 Parametry měření

Hlavním cílem byla optimalizace parametrů pro stanovení methanolu vedle ethanolu, s čímž se také pojí dílčí cíl celého měření, který vycházel z původního projektu, což bylo zjištění reprodukovatelnosti jednotlivých analýz z kvantitativního i kvalitativního hlediska. Jelikož se jedná o unikátní úlohu, kterou v tomto provedení za využití methanolu a ethanolu, tedy běžně dostupných látek, dříve nikdo nezpracovával, bylo celkové provedení plánováno jako simulace laboratorního cvičení na středních školách a gymnáziích.

Byl kladen důraz na opakovanou stabilitu hodnot výsledků měření, výběr vhodného vzorku, a s tím spojenou reprodukovatelnost jednotlivých analýz.

V této podkapitole jsou uvedeny veškeré parametry nastavení hodnot přístroje, které byly použity při měření methanolu, ethanolu a příslušných směsí. Popis jednotlivých parametrů je uveden na konci této podkapitoly.

Parametry měření v původním projektu

V Tabulce 1 jsou uvedeny hodnoty, při kterých bylo prováděno měření v původním projektu, který byl popsán v úvodu kapitoly 3.

Tabulka 1: Nastavení hodnot přístroje v původním projektu

Parametr	Hodnota
Počáteční teplota	60 °C
Doba zdržení	3 min
Rychlost zahřátí	5 °C/min
Konečná teplota	60 °C
Doba zdržení	3 min
Celkový čas	6,0 min
Tlak	1,0 kPa

Optimalizované parametry pro methanol a ethanol

V Tabulce 2 jsou uvedeny optimalizované hodnoty, při kterých bylo prováděno měření par methanolu a ethanolu.

Tabulka 2: Nastavení hodnot přístroje pro měření par methanolu a ethanolu

Parametr	Methanol	Ethanol
Počáteční teplota	64,70 °C	78,29 °C
Doba zdržení	3 min	3 min
Rychlost zahřátí	5 °C/min	5 °C/min
Konečná teplota	64,70 °C	78,29 °C
Doba zdržení	3 min	3 min
Celkový čas	6,0 min	6,0 min
Tlak	1,0 kPa	1,0 kPa

Optimalizované parametry pro směsi methanolu a ethanolu

V Tabulce 3 jsou uvedeny optimalizované hodnoty, které byly nastaveny při měření směsí par methanolu a ethanolu.

Tabulka 3: Nastavení hodnot přístroje pro měření par směsí ethanolu a methanolu

Parametr	Hodnota
Počáteční teplota	64,70 °C
Doba zdržení	3 min
Rychlost zahřátí	5 °C/min
Konečná teplota	78,29 °C
Doba zdržení	3 min
Celkový čas	6,0 min
Tlak	1,0 kPa

Počáteční teplota je teplota kolony před nadávkováním vzorku. První doba zdržení je čas, po který se vzorek zdrží v koloně při počáteční teplotě. Rychlost zahřátí charakterizuje, o kolik stupňů se zahřeje kolona za 1 minutu než teplota dosáhne požadované konečné hodnoty. Konečná teplota je nejvyšší nastavená možná teplota, na kterou se zahřeje kolona. Druhá doba zdržení je čas, kdy vzorek zůstává v koloně při konečné teplotě. Celkový čas charakterizuje celkovou dobu, po kterou se zdrží vzorek v koloně. Tlak, respektive přetlak, je tlak, při kterém putuje vzorek kolonou. Při větším přetlaku vzorek putuje kolonou rychleji, zadržuje se kratší dobu ve stacionární fázi, čímž se snižuje kvalita separace, ovšem pro účely žákovského pokusu je to obvykle dostatečné.

3.5 Dávkování vzorků

Dávkování par methanolu a ethanolu

Nejprve byl dávkován 1 ml par methanolu. Inzulínovou stříkačkou s jehlou byl třikrát nasát a vypuštěn vzduch a poté byl odebírán vzorek. S vialkou bylo potřeba chvíli třepat, aby se uvolnilo co nejvíce par a zároveň ji zahřívát v rukách. V původní úloze byl používán termostatovaný zahřívací bloček, ovšem v rámci nového pojetí úlohy, tedy stanovení optimálních podmínek pro měření, byla vialka zahřívána pouze v rukách, aby nebyla zvýšena obtížnost a prodloužen celkový čas experimentu. Následně byla jehla zapíchnuta do septa a vialka byla otočena dnem vzhůru. V části vialky pod dnem se nahromadily páry methanolu, přičemž kapalným methanol zůstal pod špičkou jehly. Pro za-

jištění co největšího obsahu par methanolu bez vzduchu ve stříkačce bylo minimálně třikrát provedeno nasátí a vypuštění par vzorku mimo vialku. Poté již bylo odebráno cca 1,5 ml par vzorku, přičemž obsah byl upraven na 1 ml mimo vialku. Jehla byla otřena do buničiny, aby neobsahovala žádnou kapalinu a vzorek byl nadávkován do přístroje. Tímto způsobem byly dávkovány i vzorky ethanolu. U obou látek bylo vždy provedeno 10 měření.

Dávkování par směsí methanolu a ethanolu

Směsi byly měřeny postupně od největšího poměru ethanolu ku methanolu, tedy 9:1. Byl dávkován vždy 1 ml par dané směsi pomocí inzulinové injekční stříkačky, stejně jako tomu bylo u měření par samotného methanolu a ethanolu. Vzhledem k tomu, že ethanol má vyšší bod varu než methanol, byla teplotní rampa pro měření směsí par methanolu a ethanolu nastavena v rozsahu od počáteční teploty, tedy teploty varu methanolu 64,70 °C do končené teploty, tedy teploty varu ethanolu 78,29 °C. Tato teplota byla zvolena proto, aby došlo nejprve k separaci veškerého methanolu. Po zvýšení teploty na teplotní rampě následně došlo k separaci ethanolu.

4 Výsledky a diskuze

Tato kapitola bude nejprve věnována rozboru a diskuzi výsledků průzkumu ŠVP a následně rozboru a diskuzi výsledků analýzy par methanolu, ethanolu a jejich směsí pomocí školního plynového chromatografu Vernier GC-mini.

4.1 Výsledky průzkumu školních vzdělávacích programů

Dle postupu uvedeného v podkapitole 3.1, bylo vybráno 28 škol, u kterých byly následně zkoumány školní vzdělávací programy. Bylo zjišťováno, zda mají tyto vybrané školy téma chromatografie, popřípadě téma zaměřené na plynovou chromatografii, zařazené do výuky předmětu chemie či nikoliv nebo mají toto téma zařazené do jiného předmětu, který je úzce spjatý s chemií. Odkazy na školní vzdělávací programy vybraných škol jsou uvedeny v kapitole Zdroje.^{38–65} Z Tabulky 4 vyplývá, že 16 škol z 28 má implementovanou chromatografii do výuky chemie, resp. tyto školy mají chromatografii uvedenou explicitně v ŠVP. Čtyři školy z 12 mají chromatografii zařazenou do specializovaného předmětu a to například do předmětu Experimentální dovednosti v přírodních vědách, Analytická chemie či Chemie v praxi.

Dále bylo sledováno, v jakém ročníku je téma vyučováno a v rámci jaké vyučovací jednotky. Na většině vybraných škol se výuka tohoto tématu zařazuje do 1. ročníku nebo 2. ročníku, ojediněle do 3. a 4. ročníků - viz. Tabulka 4. Také převažuje výuka chromatografie v teoretických vyučovacích hodinách předmětu chemie, méně často ve volitelných seminářích většinou pro maturanty nebo je občas vyučována separátně v rámci laboratorních cvičení. Je patrné, že příliš nezáleží na zaměření školy, jelikož například obor Obráběč kovů na Střední průmyslové škole v Chrudimi má v ŠVP chromatografii zmíněnou v rámci tématu Metody dělení směsí. Opakem je Gymnázium Jana Nerudy v Praze, které nemá toto téma zařazené nikde v ŠVP. Žádná z vybraných škol nemá explicitně zmíněnou výuku plynové chromatografie v ŠVP.

Otázkou je, zde se učitelé stíhají tématu chromatografie dostatečně věnovat, či ho probírají jen okrajově. Jak chromatografii a plynovou chromatografii do výuky zařazují samotní učitelé, jsem zjišťovala v rámci rozhovorů během následových praxí na Ma-lostranském gymnáziu, Gymnázium Jana Nerudy a Gymnázium Botičská v Praze.

Pokládanou otázkou bylo, zda stíhají toto téma vyučovat, případně zda se stihnou dostat k výuce zaměřené na plynovou chromatografii. Na Gymnáziu Jana Nerudy mi dvě kantorky nezávisle na sobě odpověděly, že téma chromatografie nestíhají probírat, byť separační metody mají v tematickém plánu. Zmínily se, že většinou věnují chromatografii pár vět a přecházejí k dalším metodám jako jsou filtrace, dekantace a podobně, které si žáci mohou následně vyzkoušet v rámci laboratorních cvičení. Když mají dostatek času, stíhají v laboratorních cvičeních provést alespoň tenkovrstvou nebo papírovou chromatografii, protože je pro žáky zajímavá. K plynové chromatografii nemají potřebné vybavení. Třetí dotazovaná vyučující byla z Malostranského gymnázia v Praze. Na stejnou otázku, tedy zda stíhá téma chromatografie probírat ve výuce, respektive jestli se stihne dostat k plynové chromatografii odpověděla, že okrajově ano. Více se chromatografii věnuje v rámci volitelného předmětu Experimentální dovednosti v přírodních vědách, kde ji rozebírají dopodrobna. Plynové chromatografii se ovšem nevěnují, jelikož škola nedisponuje plynovým chromatografem. Naopak na Gymnáziu Botičská je téma chromatografie vyučováno v rámci učiva Separální metody v 1. ročníku a následně prakticky prováděna plynová chromatografie v chemickém maturitním semináři ve 3. ročníku, jelikož škola disponuje potřebným vybavením.

Využila jsem také účasti mých spolužáků na praxích a pokusila jsem se pomocí rozhovorů s nimi zjistit, jak se chromatografie vyučuje na dalších gymnáziích. Na Gymnáziu Elišky Krásnohorské v Praze se téma chromatografie údajně vůbec do výuky nezařazuje, přičemž stejně je to i na Gymnáziu U Libeňského zámku v Praze. Z vlastní zkušenosti mohu uvést jako příklad Scholu Humanitas v Litvínově, kde se plynová chromatografie zmiňuje v 1. ročníku v rámci předmětu chemie v tématu separační metody. Samotné praktické provedení plynové chromatografie probíhá až ve 4. ročníku v rámci předmětu Monitoring, kde se žáci zabývají stanovením různých parametrů týkajících se kvality vody, půdy a ovzduší.

Z rozhovorů vyplývá, že učitelé se povětšinou ani nestihnou k plynové chromatografii dostat, jelikož množství učiva, které musí stihnout probírat, je obrovské. Teoretickým faktorem, proč se plynová chromatografie příliš neimplementuje do výuky, by mohla být nevybavenost škol plynovým chromatografem, a s tím spojená nemožnost si vyzkoušet plynovou chromatografii v rámci laboratorních cvičení.

Tabulka 4: Vybrané školy pro průzkum ŠVP

Kraj	Škola	Výuka chromatografie	Výuka chromatografie	Ročník výuky:
		v rámci předmětu chemie:	v rámci jiného předmětu:	
Hl. m. Praha	Malostranské gymnázium	Ne	Ano	Kvinta, sexta
	Gymnázium Jana Nerudy	Ne	-	-
Středočeský	Střední průmyslová škola Vlašim – technické lyceum	Ano	-	1. ročník
	Gymnázium Kladno	Ano	-	1. ročník
Ústecký	Schola Humanitas Litvínov – ekologie a ochrana ŽP	Ano	-	1. ročník
	Gymnázium Roudnice nad Labem	Ne	Ano	3. ročník
Plzeňský	Gymnázium Františka Křižíka	Ano	-	Kvinta
	Gymnázium Plzeň	Ano	-	3. ročník
Karlovarský	Gymnázium Ostrov	Ano	-	2. ročník, sexta
	Střední uměleckoprůmyslová škola keramická a sklářská Karlovy Vary – Aplikovaná chemie	Ne	Ano	2., 3., 4. ročník
Jihočeský	Gymnázium Strakonice	Ano	-	2. ročník, sexta
	Gymnázium Český Krumlov	Ano	-	2. ročník, sexta
Vysočina	Gymnázium Jihlava	Ano	-	2. ročník
	Gymnázium Havlíčkův Brod	Ano	-	Sekunda

Jihomoravský	Střední průmyslová škola chemická Brno – přírodovědné lyceum	Ne	Ano	3., 4. ročník
	Moravské gymnázium Brno	Ano	-	Tercie
Zlínský	Střední průmyslová škola Zlín – technické lyceum	Ano	-	1. ročník
	Stojanovo gymnázium Velehrad	Ne	-	-
Moravskoslezský	Gymnázium Josefa Božka Český Těšín	Ano	-	Kvinta
	Střední zdravotnická škola Ostrava – praktická sestra	Ne	-	-
Olomoucký	Gymnázium Jeseník	Ne	-	-
	Gymnázium Uničov	Ne	-	-
Pardubický	Gymnázium Polička	Ne	-	1. ročník, kvinta
	Střední průmyslová škola Chrudim – Obráběč kovů	Ano	-	1. ročník
Královéhradecký	Hořické gymnázium	Ne	-	-
	Masarykova obchodní akademie Jičín – ekonomické lyceum	Ano	-	1. ročník
Liberecký	Střední zdravotnická škola Trutnov – praktická sestra	Ano	-	1. ročník
	Střední uměleckoprůmyslová škola sklářská	Ne	-	-
	Kamenický Šenov – výtvarné zpracování skla			

Z Tabulky 4 je tedy patrné, že 16 škol má zařazenou výuku tématu chromatografie v rámci předmětu chemie. Čtyři školy bez ohledu na obor mají téma chromatografie zařazené v rámci jiného předmětu, viz výše v této podkapitole. Na 11 školách se toto téma vyučuje v 1. ročníku, resp. v kvintě, pokud se jedná o víceleté gymnázium. V menším zastoupení je poté 2. ročník, sexta, v případě víceletého gymnázia, 3. a 4. ročník.

Zajímavým zjištěním průzkumu může být výuka chromatografie ve třech ročnících na Střední uměleckoprůmyslové škole keramické a sklářské v Karlových Varech. Na této střední odborné škole je totiž mimo umělecké obory vyučována i Aplikovaná chemie, proto mají podle ŠVP zařazeno téma chromatografie do tří ročníků. Otázkou by mohlo být, v jakém měřítku se chromatografie v jednotlivých ročnících vyučuje a zda je čas věnován i plynové chromatografii.

Z Tabulky 4 je také možné vyčíst, že chromatografie není uvedena v ŠVP některých středních odborných škol, ale i gymnázií. Například u Střední průmyslové školy chemické v Brně, konkrétně u Přírodovědného lycea, by bylo možné očekávat, že budou mít chromatografii zařazenou do předmětu chemie, což tak ovšem podle ŠVP není. Naopak u Střední průmyslové školy v Chrudimi u oboru Obráběč kovů by se dalo očekávat, že chromatografie nebude explicitně zmiňována v ŠVP.

Je tedy možné říci, že zařazení tématu chromatografie do výuky předmětu chemie je velmi individuální záležitostí každé školy, bez ohledu na zaměření samotné školy a jednotlivých vyučovaných oborů. Nelze tedy s jistotou říci, že když chromatografie není přímo zmíněna v ŠVP, tak není poté vyučována. Úplně stejně lze ztotožnit situace s plynovou chromatografií. Nicméně průzkumem ŠVP bylo zjištěno, že plynová chromatografie není v ŠVP vybraných škol zmíněna doslovně nikde, ovšem je otázkou zda i tak není vyučována. Jediný způsob, jak by bylo možné tuto skutečnost zjistit, by bylo detailní šetření v podobě dotazování se učitelů z jednotlivých škol, zda plynovou chromatografií vyučují, zda disponují vhodným přístrojem apod. Naopak ale výsledky napovídají, že zatímco chromatografie jako taková vyučována obvykle bývá, a patrně i v rámci laboratorních cvičení, zařazení plynové chromatografie je zjevně spíše ojedinělé. Pokud je plynová chromatografie do výuky zařazena, bývá to v rámci semináře jen pro vybranou část žáků.

Vzhledem k významu metody v rámci studia přírodních věd, tak i v běžném životě, by bylo vhodné aby byla zařazována jak do běžné výuky v rámci teoretických hodin chemie, tak i do laboratorních cvičení, který se účastní všichni žáci.

Pravděpodobně možným úskalím pro zařazování plynové chromatografie do výuky je nedostatek času, jelikož množství učiva, které udávají ŠVP, je velké. Dalším důvodem, proč se GC příliš nevyučuje, by mohly být nedostatečné finanční prostředky pro pořízení vhodného přístroje, v případě, že pedagog chce podpořit svou výuku prakticky, případně nedostatečné množství motivačních úloh, které by toto téma ve výuce podpořily.

Vzhledem k faktu, že plynová chromatografie je jednou z velmi používaných analytických metod v běžném životě s širokým využitím v potravinářském a chemickém průmyslu, medicíně či kriminalistice, pomocí které se dá realizovat kvalitativní i kvantitativní analýza, by bylo vhodné, aby zařazení tohoto tématu bylo běžnější přinejmenším na středních školách a gymnáziích s přírodovědným zaměřením. U žáků studujících na takto zaměřených školách se dá teoreticky počítat s následujícím studiem na vysokých školách s přírodovědným zaměřením, přičemž právě tam by se jim znalost principů plynové chromatografie a zpracování dat mohla hodit. Vhodným řešením by podle mého názoru bylo pořízení školních plynových chromatografů alespoň do škol s přírodovědným zaměřením a zahrnutí jejich využití do laboratorních cvičení, případně do specializovaných seminářů. Prvotní náklady na pořízení chromatografu budou samozřejmě vyšší, ovšem pokud se částka rozpočítá do let, kdy bude přístroj aktivně využíván, náklady se značně sníží. Životnost přístroje Vernier GC-mini je vysoká a poruchovost velmi nízká, tudíž se jedná, z mého pohledu, o výhodnou investici.

4.2 Optimalizované podmínky měření

Tato podkapitola se bude věnovat rozboru a diskuzi výsledků jednotlivých analýz. Nejprve budou rozebírány výsledky analýz par methanolu, poté ethanolu a na závěr směsí těchto dvou látek. Všechny výsledky budou rozebírány se zaměřením na primární cíl, tedy optimalizaci podmínek pro realizaci chromatografické analýzy směsi s důrazem na co možná největší reprodukovatelnost.

K analýze byl využit přístroj Vernier GC-mini, tedy školní plynový chromatograf. Na základě provedení řady měření lze konstatovat, že největší výhodou tohoto přístroje je snadná manipulace a jednoduchost při provádění měření. Příslušné programy jsou v českém jazyce, což usnadňuje samotné analýzy a i žáci, kteří neovládají anglický jazyk, zvládnou s přístrojem pracovat. Další výhodou je možnost analýzy velkého množství vzorků a možnost využití okolního vzduchu jako nosného plynu.

Při měření vzorků par methanolu podle podmínek nastavených v původním projektu neposkytl vzorek žádný signál. Měření bylo zopakováno, ovšem vždy se stejným výsledkem. Za jednu z možných příčin, proč vzorek neposkytoval žádný signál, byla identifikována teplota, tedy 17 °C, při níž bylo měření realizováno. Tato teplota se nakonec ukázala jako příliš nízká s ohledem na odpařování vzorku. Ve vialkách nedocházelo k uvolnění dostatečného množství par. Rovněž mohlo dojít ke kondenzaci par na stěnách chladné stříkačky a zejména na kovové jehle, což ve výsledku způsobilo, že do přístroje nebylo nadávkováno dostatečné množství vzorku. Celý experiment byl posléze realizován při okolní teplotě nad cca 23 °C, přičemž při této teplotě již přístroj dokázal detekovat danou látku ve vzorku.

Druhou zvažovanou možností, proč vzorek neposkytoval na plynovém chromatografu měřitelný signál, mohlo být nastavení podmínek měření na koloně (přetlak a teplota kolony). Podle původní metodiky měla být počáteční teplota měření nastavena na 60 °C. Poměrně nízká teplota mohla tedy již v původním projektu ovlivňovat stabilitu reprodukovatelnosti měření, protože tato teplota nemusela být dostatečně vysoká, aby byl veškerý vzorek ethanolu převeden do par. Byla proto nastavena nová teplota na koloně pro měření par methanolu, tedy teplota varu methanolu 64,70 °C. Tato teplota byla zvolena, protože se tenze par methanolu zvýší, pokud dojde k zahřátí až na teplotu varu.

Pro ethanol byla nastavena teplota 78,29 °C, tedy opět teplota varu tohoto alkoholu.

Změna okolní teploty i zvýšení teploty kolony se ihned v dalším měření projeví pozitivně na chromatogramech, které přístroj vykazoval. Již byly viditelné píky u obou měřených látek.

Celé měření mělo být dle původní metodiky prováděno při hodnotě přetlaku 1 kPa. Měření čistých látek i směsí se podařilo při tomto přetlaku provést. Bohužel, bezprostředně po úspěšných měřeních chromatograf Vernier GC-mini, patrně vlivem stárnutí, zejména gumového septa, přes nějž je vzorek dávkován, se přestal ustavovat přetlak na hodnotě 1 kPa. První hodnota, která se ustálila, byla 7 kPa.

Vlivem změny přetlaku by se mohla zhoršit separace jednotlivých látek ve vzorku. Vzhledem k faktu, že je úloha koncipována jako žákovská laboratorní, nevadí, pokud by došlo k mírnému zhoršení kvality separace. V tomto konkrétním případě, tedy stanovení methanolu a ethanolu, se ovšem kvalita samotné analýzy trochu zhoršila, viz Obrázek 3 a 4. Je proto možné konstatovat, že lze úlohu provádět i při přetlaku 7 kPa, pokud by se nedařilo ustavit hodnotu nižší, jelikož přístroj při použití přetlaku 1 kPa i 7 kPa poskytuje obdobně relevantní chromatogramy.

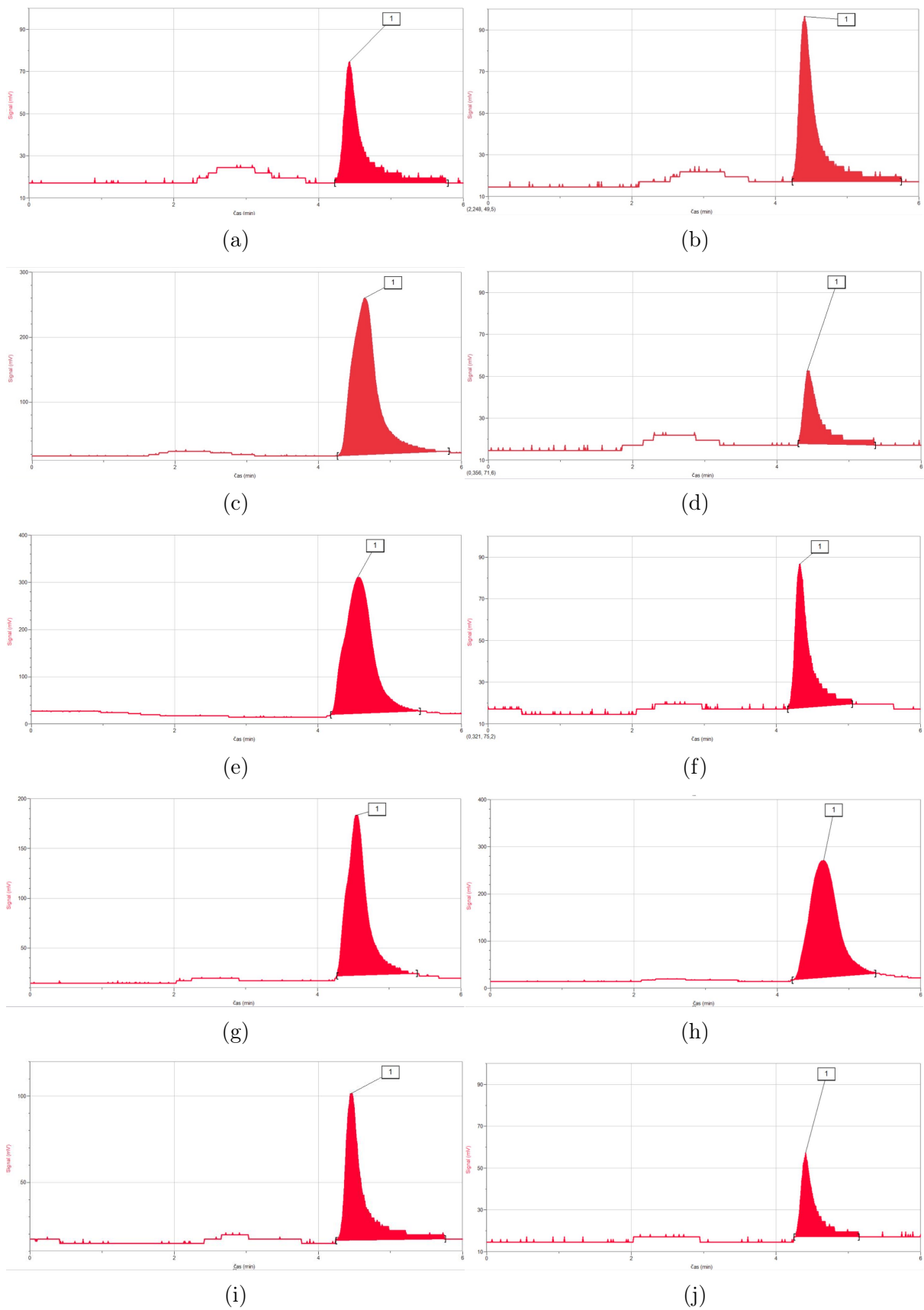
4.2.1 Analýza par methanolu

Měření par methanolu bylo provedeno celkem 10×, aby byla ověřena reprodukovatelnost měření při stanovených podmínkách, které jsou uvedeny v Tabulce 2. Výsledné chromatogramy a-j jsou uvedeny na Obrázku 3.

Tabulka 5: Výsledné retenční časy a relativní plochy analýzy par methanolu

Číslo měření	Retenční čas [min]	Relativní plocha pod křivkou
1	4,420	16,82
2	4,405	21,91
3	4,645	95,96
4	4,420	9,18
5	4,550	127,94
6	4,320	15,87
7	4,530	50,72
8	4,645	112,61
9	4,440	23,00
10	4,410	8,90

Vzhledem k tomu, že byl vždy dávkován 1 ml par methanolu, je patrné, že nelze provést kvantitativní stanovení, jelikož jednotlivé signály, jejichž hodnoty jsou vyneseny na ose y v jednotkách mV se značně liší a shoda v obsahu ploch pod jednotlivými píky je minimální. Co se ovšem kvalitativního stanovení týče, tam už je vidět velmi dobrá shoda, jak je patrné z retenčních časů, viz. Tabulka 5.



Obrázek 3: Výsledné chromatogramy měření čistých par methanolu

4.2.2 Analýza par ethanolu

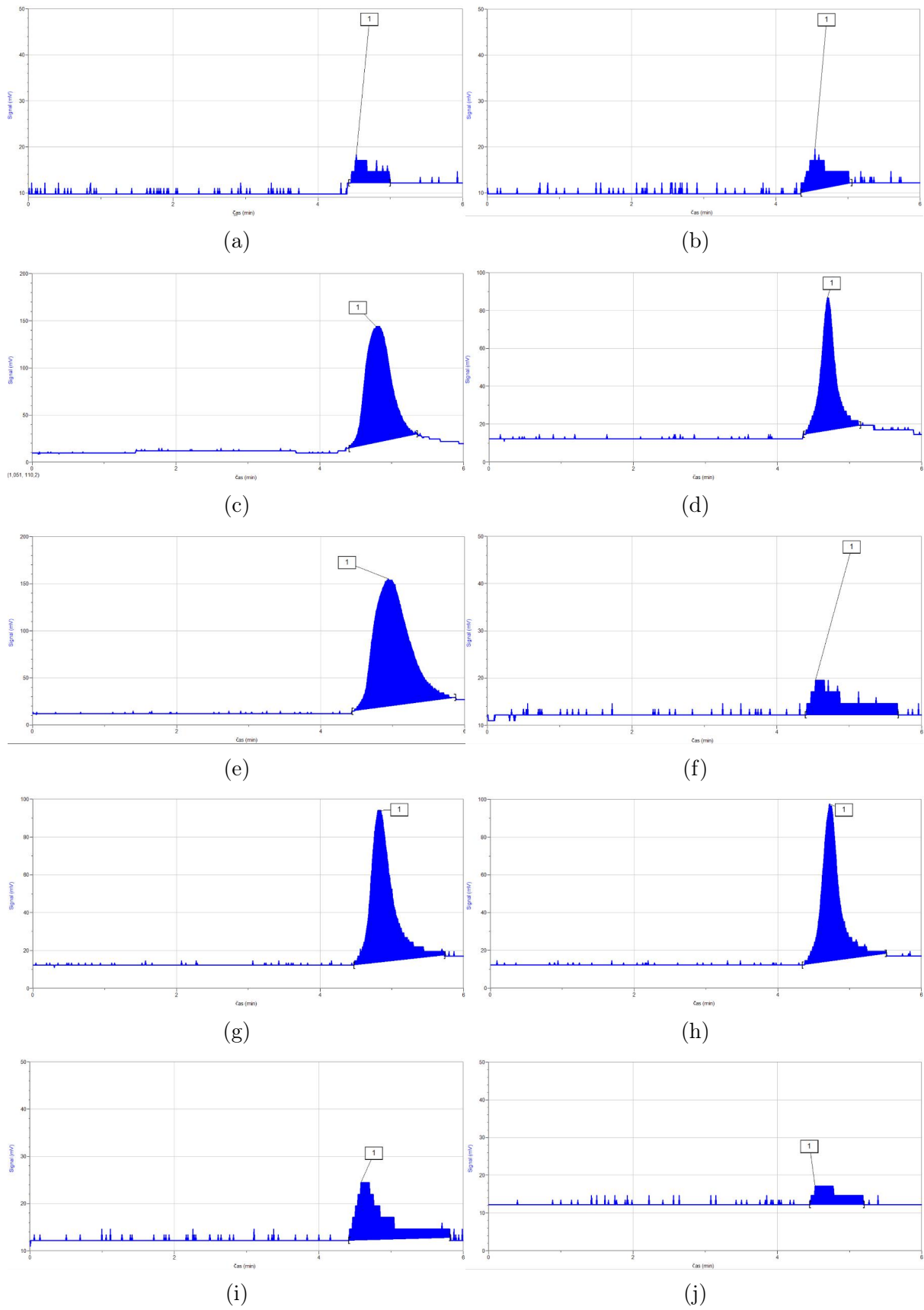
Měření par čistého ethanolu bylo provedeno celkem 10×, aby byla ověřena reprodukovatelnost měření při stanovených podmínkách uvedených v Tabulce 2. Výsledné chromatogramy a-j jsou uvedeny na Obrázku 4. Stejně jako u methanolu, byl vždy dávkován 1 ml par ethanolu. Ovšem i v tomto případě je z chromatogramů patrné, že nelze reprodukovatelně realizovat kvantitativní analýzu, tedy stanovit obsah ethanolu ve vzorcích. Obsahy ploch pod jednotlivými píky se značně liší, tedy stejně jako u methanolu je reprodukovatelnost nedostatečná. Výsledné retenční časy uvedené v Tabulce 6 jsou u všech měření opět velmi podobné, což značí, že lze u par ethanolu provést kvalitativní analýzu.

Tabulka 6: Výsledné retenční časy a relativní plochy analýzy par ethanolu

Číslo měření	Retenční čas [min]	Relativní plocha pod křivkou
1	4,530	1,74
2	4,540	2,74
3	4,785	50,47
4	4,690	16,37
5	4,940	74,99
6	4,530	4,38
7	4,805	28,04
8	4,720	23,45
9	4,580	6,06
10	4,520	2,40

Z hodnot retenčních časů je vidět, že ethanol se na detektoru objevil o jednu až tři desítky sekund později než methanol. Pokud tedy dojde k vytvoření vhodných podmínek pro stanovení směsí methanolu a ethanolu, tedy budou do nastavení zahrnuty teploty varu obou alkoholů, mělo by dojít k separaci methanolu a ethanolu.

Při porovnání hodnot obsahu ploch pod píky u methanolu a u ethanolu, je zřejmé, že u methanolu byly procentuální hodnoty obsahů ploch jednotlivých píků konzistentnější. Velmi pravděpodobně je to způsobeno dávkováním vzorků. Je možné, že i přes snahu dávkovat všechny vzorky naprosto reprodukovatelně, nebyly vzorky ethanolu nadávkovány s takovou přesností jako vzorky methanolu. Nízká reprodukovatelnost dávkování vzorků mohla být způsobena krátkou jehlou, kterou byly vzorky dávkovány, způsobem vstříknutí vzorku na kolonu nebo hůře těsnícím gumovým septem přes které je zaváděna jehla.



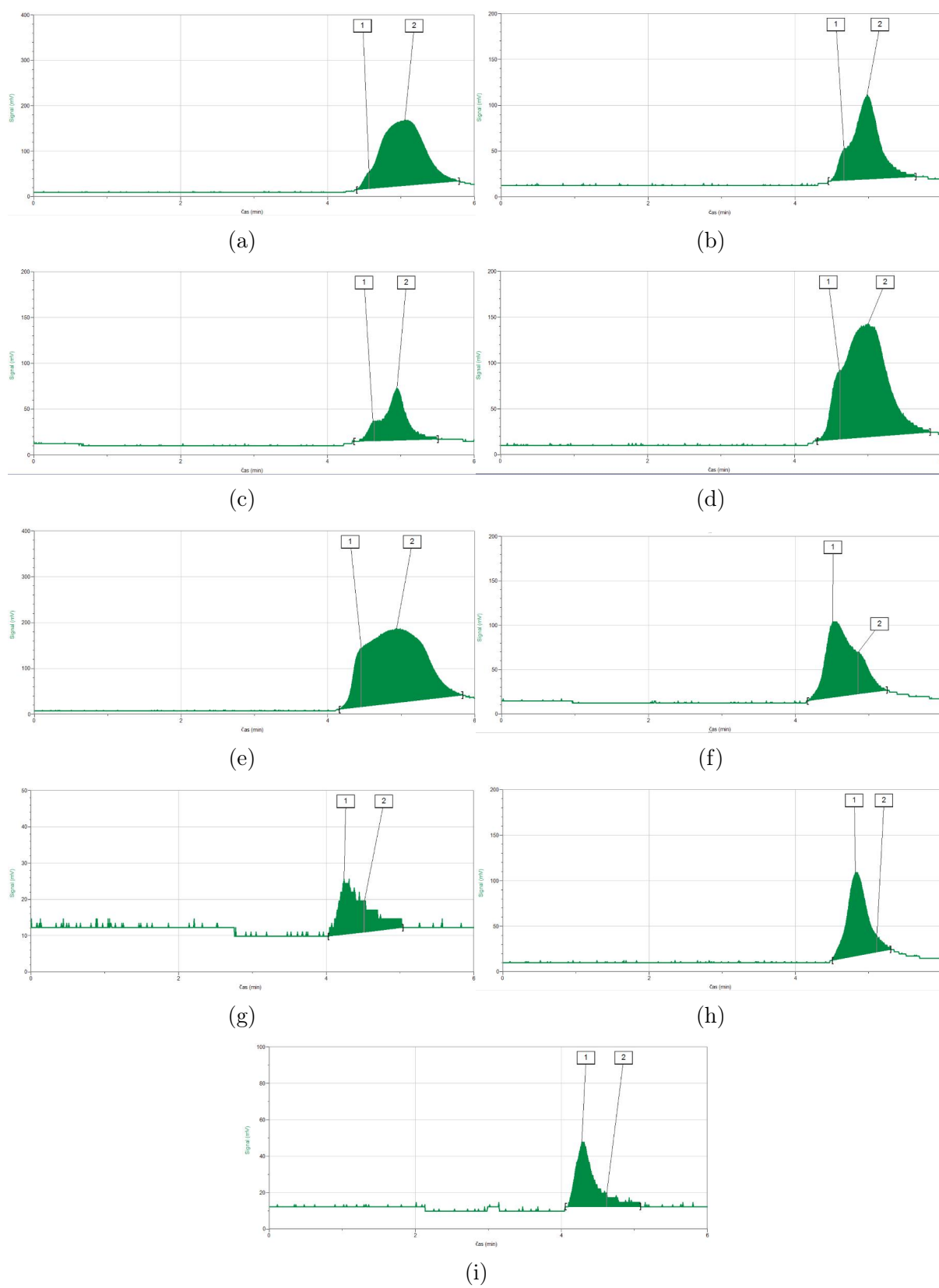
Obrázek 4: Výsledné chromatogramy měření par ethanolu

4.2.3 Výsledky analýzy par směsí ethanolu a methanolu

Analýza par směsí ethanolu a methanolu probíhá stejným způsobem jako u předchozích měření. Vždy byl dávkován 1 ml par vzorku směsi. Jak již bylo uvedeno výše, aby došlo k separaci obou látek, bylo potřeba zahrnout do podmínek teploty varů obou alkoholů. Jako počáteční teplota byla nastavena teplota varu methanolu, tedy 64,70 °C. Konečná teplota byla nastavena na teplotu varu ethanolu, tedy 78,29 °C. Hodnoty teplot pro teplotní rampu byly nastaveny v tomto pořadí, jelikož z předchozích měření je z retenčních časů patrné, že se nejprve separuje methanol a poté ethanol. Celkový čas analýzy byl stanoven na 6 minut, přičemž vždy po 1 minutě se zvyšovala teplota na koloně o 5 °C, dokud nedosáhla konečné teploty. Výsledné chromatogramy a-i jsou uvedeny na Obrázku 5.

Tabulka 7: Výsledné retenční časy a relativní plochy analýzy směsí ethanolu a methanolu

Poměr směsí [ml]	Retenční čas [min]	Relativní plocha pod křivkou
Ethanol (0,9)	5,055	97,26
Methanol (0,1)	4,565	2,92
Ethanol (0,8)	4,980	35,48
Methanol (0,2)	4,664	2,76
Ethanol (0,7)	4,950	18,21
Methanol (0,3)	4,620	2,08
Ethanol (0,6)	5,005	77,54
Methanol (0,4)	4,610	9,98
Ethanol (0,5)	4,940	145,72
Methanol (0,5)	4,455	15,89
Ethanol (0,4)	4,857	33,27
Methanol (0,6)	4,505	7,65
Ethanol (0,3)	4,519	2,03
Methanol (0,7)	4,240	4,36
Ethanol (0,2)	5,111	1,59
Methanol (0,8)	4,820	27,66
Ethanol (0,1)	4,620	1,53
Methanol (0,9)	4,280	9,26



Obrázek 5: Výsledné chromatogramy měření směsí methanolu a ethanolu v různých poměrech - číslo 1 označuje v chromatogramech pík methanolu a číslo 2 pík ethanolu

Z výsledných chromatogramů měření směsí je patrné, že separace probíhá, ovšem více viditelná začíná být od poměru 8:2 ethanolu ku methanolu, tedy cca 158,2 g methanolu ($\rho=0,791 \text{ g/cm}^3$) na 800 ml ethanolu. Vzhledem k povaze úlohy, tedy stanovení methanolu vedle ethanolu v alkoholických nápojích, je toto velmi přívětivý výsledek. V běžně dostupných alkoholických nápojích, jako je např. slivovice, je obsah methanolu stanoven na cca 9,6 g na 800 ml ethanolu, při obsahu alkoholu 50%, což odpovídá poměru cca 8:0,12 ethanolu ku methanolu.

Za stejných podmínek byly měřeny i směsi reálných alkoholických nápojů, tedy vzorky obsahující ethanol, methanol i vodu. Separace obou alkoholů neproběhla a nepodařilo se získat měřitelný signál žádného z obou alkoholů ve směsi. Dříve se v původním projektu podařilo stanovit methanol vedle ethanolu, ovšem měření nebylo reprodukovatelné a to především z toho důvodu, že na kolonu přístroje, jak již bylo uvedeno výše, se nesmí dávkovat vzorky obsahující vodu, jelikož dochází k nenávratnému poškození kolony. Z důvodu stáří přístroje a opotřebovanosti kolony se proto pravděpodobně, ani při nově nastavených podmínkách nepodařilo nyní stanovit methanol vedle ethanolu v běžně dostupných alkoholických nápojích. Hlavní příčinou, proč nebylo možné realizovat analýzu par ethanolu a methanolu vedle sebe ve skutečných alkoholických nápojích byla patrně přítomnost značného množství vody v daných nápojích. I když jsou oba alkoholy těkavější než voda, patrně jich v parách vzorku nebylo dostatečné množství, aby byly detekovatelné. Navíc, v parách bude obsaženo nezanedbatelné množství vody, která zhoršuje separaci obou alkoholů a proto je obtížné získat měřitelný a reprodukovatelný signál v případě vzorků skutečných alkoholických nápojů s obsahem methanolu i ethanolu.

Dále je z výsledných chromatogramů směsí obou alkoholů (čistých) patrné, že bohužel nelze provést kvantitativní analýzu methanolu a ethanolu ve směsi, neboť plochy pod jednotlivými píky nejsou, obdobně jako při analýze čistých par, dostatečně reprodukovatelné. Z tohoto důvodu bylo provedeno měření vzorků ethanolu a methanolu v takových objemech, v jakých se vyskytovaly v příslušných směsích, viz. Tabulka 8. Z této tabulky je patrné, že retenční časy jednotlivých signálů poměrně odpovídají retenčním časům čistých látek, tedy methanolu nebo ethanolu, ovšem plochy pod křivkami nejsou příliš reprodukovatelné a neodpovídají příslušným množstvím ani poměrům jednotlivých alkoholů ve směsi. S klesajícím objemem příslušného alkoholu ve vzorku by měla klesat

hodnota plochy pod jeho křivkou. Tento trend ale z chromatogramů ani naměřených ploch (a jejich poměrů) patrný není.

Tabulka 8: Výsledky analýzy ethanolu a methanolu v daném objemu obsaženém ve směsích

Objem [ml]	Retenční čas [min]	Relativní plocha pod křivkou
Ethanol (1)	5,130	8400
Methanol (1)	4,350	1600
Ethanol (0,9)	4,620	700
Methanol (0,9)	4,350	520
Ethanol (0,8)	4,650	1100
Methanol (0,8)	4,350	520
Ethanol (0,7)	4,620	650
Methanol (0,7)	4,200	860
Ethanol (0,6)	4,770	2300
Methanol (0,6)	4,170	470
Ethanol (0,5)	4,500	150
Methanol (0,5)	4,170	860
Ethanol (0,4)	5,490	12000
Methanol (0,4)	4,170	720
Ethanol (0,3)	4,500	290
Methanol (0,3)	4,170	290
Ethanol (0,2)	4,530	210
Methanol (0,2)	4,230	670
Ethanol (0,1)	4,380	65
Methanol (0,1)	4,050	64

Jednou z příčin vedoucích k nekonzistenci výsledků je opět způsob dávkování vzorků. Byť byla snaha o dávkování všech vzorků naprosto reprodukovatelně, je možné, že příliš krátká jehla i využití neoriginální stříkačky vedly k tomu, že množství vzorku dávkované na kolonu nebylo vždy shodné.

Druhým ovlivňujícím faktorem by mohlo být opotřebení kolony. Použitý přístroj je cca 9 let starý a po celou dobu aktivně využíván ve školní experimentální výuce pro analýzy různých látek. Vzhledem k tomu, že ho často využívají žáci, byť vždy pod dohledem vyučujícího, může docházet k nerespektování pokynů výrobce pro práci s přístrojem, dávkování vzorků v nevhodnou dobu, ukončování analýz před doputováním vzorku na konec kolony apod., což způsobuje nevratné ničení kolony, jejíž separační schopnost,

a celkově provozní vlastnosti přístroje, se zhoršují. Tyto skutečnosti vedou ke snížené reprodukovatelnosti výsledků.

Z výše uvedeného vyplývá, že při vhodném nastavení parametrů měření je možné provést kvalitativní analýzu při dávkování vzorku obsahujícího směs čistých alkoholů, který bude simulovat reálný alkoholický nápoj. Aby separace methanolu a ethanolu byla v chromatogramu viditelná, je potřeba aby vzorek obsahoval alespoň 20 % methanolu, jinak výsledek není průkazný. Bohužel, ukázalo se rovněž, že analýza vzorků směsí ethanolu a methanolu obsahujících větší množství vody, tedy reálných alkoholických nápojů, není za uvedených podmínek dostatečně reprodukovatelná či průkazná. Pro školní účely a při běžné školní výuce nelze tedy doporučit realizaci těchto analýz. Výjimkou by mohly být úlohy badatelsky orientované, kdy i občasný úspěch analýzy, při realizaci většího počtu měření, může mít didaktický smysl a rovněž tak možná analýza neúspěšných pokusů. Pomocí uvedených podmínek nelze stanovovat obsah methanolu a ethanolu, tedy realizaci kvantitativní analýzy, a to jak v případě vzorků bez vody, tak vzorků s vodou, jelikož pravděpodobně vlivem výše uvedených faktorů nedochází k reprodukovatelné kvantitativní analýze. Do budoucna by bylo dobré se zabývat podrobnější optimalizací podmínek pro měření směsí methanolu a ethanolu, případně vzorky přeměřit za stávajících podmínek na novější verzi přístroje. Také by bylo vhodné se zabývat optimalizací dávkování vzorku. Bohužel vzhledem k faktu, že výrobce Vernier nedodává speciální stříkačku s jehlou, kterou by bylo možné dávkovat plynné vzorky a na trhu momentálně není k dostání lepší řešení než inzulinová stříkačka s úzkou krátkou jehlou, je potřeba žáky naučit správně pracovat alespoň s dostupným vybavením, které není úplně ideální, ovšem pro žákovské experimenty je dostatečně vhodné.

4.3 Implementace úlohy do výuky

Obecně je důležité zařazovat do výuky moderní technologie a vybavení za použití vzorků, které obsahují látky běžně dostupné. Podle mého názoru je potřeba, aby docházelo k zavádění experimentů se školními měřicími přístroji do výuky alespoň na středních školách a gymnáziích s přírodovědným zaměřením, jelikož v dnešní době se jedná o poměrně dobře finančně dostupné přístroje. Pro žáky to je velmi přínosné, jelikož si doplní teoretickou výuku a znalosti z ní i praktickými dovednostmi. Naučí se pracovat s menšími verzemi

přístrojů a po nástupu na vysokou školu nebudou překvapeni, jak jednotlivé technologie a metody fungují, naopak jim to studium částečně usnadní.

Celá úloha má velmi motivační charakter a to především kvůli použitým látkám. Methanol a ethanol jsou příkladem látek, které jsou dobře dostupné, přičemž lze předpokládat, že je žáci znají z běžného života, tudíž jim experiment bude bližší a snáze mu porozumějí. Pro podporu zařazení této úlohy a tedy měření pomocí školního plynového chromatografu Vernier GC-mini do výuky, byl vytvořen pracovní list uvedený v Příloze 1. Při tvorbě pracovního listu jsem vycházela z původního pracovního listu.³⁴ Pracovní list jsem se snažila sestavit tak, aby žáci využili co nejvíce znalostí o plynové chromatografii z výuky. Zároveň jsem odebrala dlouhé úvodní texty, které se z mého pohledu nehodí do pracovního listu určeného k vypracování laboratorní úlohy. Těmito úpravami by se měla zvýšit motivace žáků pro vypracování pracovního listu a zároveň by se měl zvýšit zájem o praktické provedení plynové chromatografie. Co se týče ovládání přístroje, tak zde jsem zanechala podobný postup jako byl v původním pracovní listu a upravila jsem především podmínky měření, které byly optimalizovány v rámci této práce. Pracovní list je uveden jako příloha k této bakalářské práci.

5 Závěr

V rámci této bakalářské práce byly optimalizovány původní podmínky pro realizaci motivační úlohy do výuky založené na stanovení methanolu vedle ethanolu v parách, s využitím školního plynového chromatografu Vernier GC-mini tak, aby byla zajištěna co možná největší reprodukovatelnosti měření. Optimalizované parametry pro analýzu uvedené směsi, při dávkování 1 ml par vzorku, jsou následující: počáteční teplota 64,70 °C (teplota varu methanolu), doba zdržení vzorku v koloně při počáteční teplotě 3 minuty, rychlost zahřívání na vyšší teplotu byla nastavena na 5 °C za 1 minutu, konečná teplota 78,29 °C (teplota varu ethanolu), doba zdržení vzorku v koloně při vyšší teplotě je 3 minuty, celkový čas analýzy 6 minut a přetlak 1,0 kPa (případně možné hodnoty 2-7 kPa).

Výsledky ukazují, že zatímco kvalitativní analýza směsi par ethanolu a methanolu je v rámci školní úlohy dobře proveditelná a dostatečně reprodukovatelná (od poměru objemů methanol/ethanol 1:4), kvantitativní analýzu bohužel s uvedeným typem chromatografu nelze reprodukovatelně provést. Bohužel, ani pro realizaci analýzy methanolu a ethanolu z par nelze použít skutečné alkoholické nápoje jako analyzované vzorky (např. vodku, slivovici nebo rum), neboť ty obsahují ve velkém množství vodu, která znemožňuje analýzu a rovněž může kvůli ní docházet k zanášení a ničení kolony přístroje. Pro realizaci navržené motivační úlohy tak lze doporučit „nasimulování“ alkoholického nápoje smícháním čistých složek, tedy methanolu a ethanolu, v požadovaném objemovém poměru. Rovněž výsledky ukázaly, že je možné analyzovat směsi par methanolu a ethanolu při přetlaku větším než 1 kPa (což bylo stanoveno jako optimální hodnota přetlaku pro uvedenou analýzu) s malým dopadem na kvalitu samotné separace obou alkoholů. To může být výhodné v případě, že k analýze je využíván chromatograf s již časem opotřebenými částmi, zejména kolony nebo septa, kdy je ustavení nižších přetlaků problém. Dále se při optimalizaci úlohy ukázalo, že je nezbytné vzorek zahřívát (alespoň rukou) na teplotu min. okolo 25–30 °C, zejména je-li analýza prováděna v místnosti o nízké teplotě. Toto zahřátí umožní díky zvýšení tenze vytvoření dostatečné koncentrace par ve směsi methanolu a ethanolu. Naopak, vzhledem k povaze vzorků, nelze doporučit zahřívání nad plamenem nebo potenciálními zdroji jisker.

Výsledky orientační analýzy školních vzdělávacích programů (ŠVP) ukázaly, že téma chromatografie jako takové je velmi často zmiňováno v ŠVP, a tím pádem i zařazováno do výuky na SŠ a gymnáziích, včetně případných experimentů. Bohužel, plynová chromatografie naopak zmiňována v ŠVP prakticky není a je, přes svůj význam v praxi, jen výjimečně zařazována do výuky na středních školách. Co se zařazení výuky plynové chromatografie do klasických hodin chemie týče, určitě by bylo dobré, aby byla probírána alespoň na školách s přírodovědným zaměřením, vzhledem k rozšíření samotné metody v běžném životě. Určitě je důležité, aby byly vytvářeny takové úlohy, které by byly jak pro žáky, tak pro učitele, dostatečně motivační a učitelům zároveň usnadňovaly implementaci tématu plynové chromatografie do výuky. Na základě této myšlenky byl vytvořen pracovní list uvedený jako příloha této práce.

Zdroje

- (1) Štulík, K.; kolektiv, *Analytické separační metody*, 1st ed.; Karolinum: Praha, 2005.
- (2) Coufal, P. *Separacionní metody*, 1996.
- (3) Meyer, V. R., *Practical High-Performance Liquid Chromatography*; John Wiley & Sons: United States, 2010.
- (4) Berka, A.; Bílý, J., *ANALYTICKÁ CHEMIE pro posluchače učitelských kombinací s chemií*, 1st ed.; Karolinum: Praha, 1993.
- (5) Sobotníková, J. *Gel permeation chromatography*, 1996.
- (6) Purnell, H., *Plynová chromatografie*, 1.; SNTL: Praha, 1966.
- (7) Mikeš, O., *Laboratorní chromatografické metody*, 1.; SNTL: Praha, 1980.
- (8) Klouda, P., *Moderní analytické metody*, 2nd ed., Ostrava, 2003.
- (9) Poole, C. F. In *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*, Worsfold, P., Townshend, A., Poole, C., Eds.; Elsevier: Oxford, 2005, pp 95–105.
- (10) Častulík, P. *Elektronické detekční a monitorovací prostředky*, 2012.
- (11) Váňa, J., *Analyzátory plynů a kapalin*, 2. přepracované vydání; SNTL: Praha, 1984.
- (12) Sparkman, D. O.; Penton, Z. E.; Kitson, F. G., *Gas Chromatography and Mass Spectroscopy, 2nd Edition*; Academic Press is an imprint of Elsevier: Eastbourne, UK, 2011.
- (13) Jones, M. *History of the combination of gas chromatography and mass spectrometry*, en.
- (14) Karu, E.; Li, M.; Ernle, L.; Brenninkmeijer, C. A. M.; Lelieveld, J.; Williams, J. *Atmospheric Measurement Techniques* **2021**, *14*, 1817–1831.
- (15) Harvey, D., *Analytical Chemistry 2.1*; Open textbook library; David T. Harvey.
- (16) *Pokroky v plynové a kapalinové chromatografii a analýza vod*, cs, 2019.
- (17) Kolektiv autorů, *Instrumentální analýza*, 1.; SNTL, ALFA: Praha, 1986.
- (18) Volka, K., *Analytická chemie II*, 1.; VŠCHT: Praha, 1997.
- (19) Rotzsche, H., *Stationary Phases in Gas Chromatography*, Google-Books-ID: tJtam-BxMjiwC; Elsevier: 1991.
- (20) RNDr. Radomír Čabala, D. *Plynová chromatografie - Instrumentace*.
- (21) *Rámcové vzdělávací programy středního odborného vzdělávání*, <https://www.edu.cz/rvp-ramcove-vzdelavaci-programy/ramcove-vzdelavaci-programy-stredniho-odborneho-vzdelavani-rvp-sov/obory-e/29-potravinarstvi-a-potravinarska-chemie/>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (22) *Rámcové vzdělávací programy středního odborného vzdělávání*, <https://www.edu.cz/rvp-ramcove-vzdelavaci-programy/ramcove-vzdelavaci-programy->

- stredniho-odborneho-vzdelavani-rvp-sov/obory-e/28-technicka-chemie-a-chemie-silikatu/, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (23) Rámcový vzdělávací program pro gymnázia, <https://www.edu.cz/rvp-ramcove-vzdelavaci-programy/ramcove-vzdelavaci-programy-pro-gymnazia-rvp-g/>.
- (24) Rámcový vzdělávací program pro střední odborné vzdělávání <https://www.edu.cz/rvp-ramcove-vzdelavaci-programy/ramcove-vzdelavaci-programy-stredniho-odborneho-vzdelavani-rvp-sov/>.
- (25) Gymnázium Vlašim, Laboratorní práce - chromatografie https://www.gymvla.cz/wp-content/uploads/DUM/7/7_2/7_2_CH_14.pdf, Zpřístupněno: 16. března, 2024.
- (26) Sekerová, L. Chromatografie listových barviv.
- (27) Pluhařová, M. V. Lentilková chromatografie.
- (28) Stone, D. C. *J. Chem. Educ.* **2007**, *84*, 1488.
- (29) Xie, M.; Inguva, P.; Chen, W.; Prasetya, N.; Macey, A.; DiMaggio, P.; Shah, U.; Brechtelsbauer, C. *J. Chem. Educ.* **2020**, *97*, 1001–1007.
- (30) Curtright, R. D.; Emry, R.; Markwell, J. *J. Chem. Educ.* **1999**, *76*, 249.
- (31) Connor, G. P.; Kim, D.; Nagelski, A. L.; Schmidt, E. O.; Hass-Mitchell, T.; Atwater, J. T.; Tridenti, S. A.; Sohn, S.; Holland, P. L. *J. Chem. Educ.* **2019**, *96*, Publisher: American Chemical Society, 1707–1713.
- (32) Gas Chromatography Inquiry Experiments from Included Lab Manual.
- (33) Stoklásková, M. Ochrana veřejného zdraví a metanolová aféra - příčiny a dopady na zdravotní systém.
- (34) Comblab.eu PO STOPÁCH JEDOVATÉHO METHANOLU aneb hledání tichého vraha.
- (35) Vernier Software and Technology, Logger Pro, version 3.8.6, 2022.
- (36) Vernier Software and Technology, Vernier Instrumental Analysis, version 1.3.0, 2023.
- (37) Vernier Software and Technology, Vernier Gas Chromatograph Mini GC, 2009.
- (38) ŠVP Gymnázium Český Krumlov, https://www.gymck.cz/uploads/documents/svp-vyssi-komplet-2022-63db8c1865782269621990.pdf?_gl=1*1uw1hgp*%20_up*MQ..*_ga*MTE5MjY1MzU5Mi4xNjgwMzY3Mzgw*_ga_8GKH38XLHM*MTY4MDM2NzM3OC4xLjAuMTY4MDM2NzM3OC4wLjAuMA.., Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (39) ŠVP Gymnázium Polička, https://www.gympolicka.cz/wp-content/uploads/2021/04/svp_gv_2017.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (40) ŠVP Gymnázium Plzeň, <https://www.mikulasske.cz/wp-content/uploads/2020/10/SVP1819n8mpr.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.

- (41) ŠVP Gymnázium Strakonice, <https://www.gymstr.cz/data/dokumenty/1938-svp-chemie.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (42) ŠVP Gymnázium Uničov, https://www.gymun.cz/images/dokumenty_ke_stazeni/svpvg/Chemie.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (43) ŠVP Hořické gymnázium, https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwin-tnapYn-AhUtQ_EDHdpmBvoQFnoECBkQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.gymhorice.cz%2Ffiles%2Fsvp%2Fsvp_2017_2018.docx&usg=AOvVaw1zoCC6KeNjrPnYqdbV_Aij, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (44) ŠVP Schola Humanitas Litvínov, http://www.humanitas.cz/wp/wp-content/uploads/2019/11/%C5%A0VP-od-1_9_2019.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (45) ŠVP Malostranské gymnázium Praha, <https://malostranskeskoly.cz/sites/malostranskeskoly.cz/files/docs/stranka/field/pageattachments/svpvg-2022-2023.pdf>, Zpřístupněno: 13. srpna, 2023.
- (46) ŠVP Střední zdravotnická škola Trutnov, <https://www.szstrutnov.cz/files/svp-ps-verze-1-od-1-9-2018-3-1.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (47) ŠVP Střední zdravotnická škola Ostrava, <https://www.zdrav-ova.cz/data/storage/files/stredniskola/obory/svp/VP-Prakticka-sestra-2020.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (48) ŠVP Střední uměleckoprůmyslová škola keramická a sklářská Karlovy Vary, <https://supskv.cz/wp-content/uploads/2022/10/Aplikovana-chemie.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (49) ŠVP Gymnázium Františka Křižíka Plzeň, https://www.krizik.eu/images/dokumenty/gymnazium/SVP_vy%C5%A1%C5%A1%C3%AD%20od%20z%C3%A1%C5%99%C3%AD%202015_v%203.0%20-%2017.1.2020-B.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (50) ŠVP Střední uměleckoprůmyslová škola sklářská Kamenický Šenov, https://czech-glass-school.cz/wp-content/uploads/2023/03/SVP_Vytvarne_zpracovani_skla_a_svetelnych_objektu_-2022.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (51) ŠVP Střední průmyslová škola Zlín, <https://www.spszl.cz/wp-content/uploads/2021/02/Technick%C3%A9-lyceum.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (52) ŠVP Střední průmyslová škola Vlašim, <https://www.sps-vlasim.cz/files/170/svp/vp-technicke-lyceum-2020.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (53) ŠVP Střední průmyslová škola chemická Brno, https://www.spschbr.cz/user/data/data/svp/PRL_2022.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (54) ŠVP Střední průmyslová škola Chrudim, <https://www.sps-chrudim.cz/dokumenty?filesRenderer-objectId=7230112&id=40&action=detail&do=filesRenderer-download>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (55) Moravské gymnázium Brno, <https://www.mgbrno.cz/wp-content/uploads/2020/08/SVP-G8.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.

- (56) ŠVP Gymnázium Roudnice nad Labem, <https://docplayer.cz/216048109-Gymnazium-roudnice-nad-labem.html>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (57) ŠVP Stojanovo gymnázium Velehrad, <https://sgv.cz/wp-content/uploads/2021/10/SVP-SGV-Velehrad-2019-aktualni-zneni-od-1.9.2021.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (58) ŠVP Masarykova obchodní akademie Jičín, <https://moarako.cz/files/studium/studijni-obory/svp-el-2018-f.pdf>, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (59) ŠVP Gymnázium Havlíčkův Brod, http://www.ghb.cz/storage/download/svp/svp_2022_2023_final.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (60) ŠVP Gymnázium Jihlava, https://www.gymnaziumjihlava.cz/wp-content/uploads/2020/09/svp-g_2020.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (61) ŠVP Gymnázium Josefa Božka Český Těšín, https://www.gmct.cz/media/files/%C5%A0VP%208.%20let%C3%A9%20G_18112019.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (62) ŠVP Gymnázium Jeseník, https://www.gymjes.cz/files/svp/SVP_2015_G/N_11_che_3_.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (63) ŠVP Gymnázium Jana Nerudy Praha, http://www.gjn.cz/wp-content/uploads/2018/12/%C5%A0VP_GJN-v%C5%A1eobecn%C3%A9-studium_platn%C3%BD-od-1.9.2017.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (64) ŠVP Gymnázium Kladno, http://www.gymnasiumkladno.cz/soubory/svp_2_v2016.pdf, Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.
- (65) ŠVP Gymnázium Ostrov, [http://www.gymostrov.cz/gymostrov/userfiles/%C5%A0VP%20-%20VG%20-%20od%201_%209_%202022%20\(1\).pdf](http://www.gymostrov.cz/gymostrov/userfiles/%C5%A0VP%20-%20VG%20-%20od%201_%209_%202022%20(1).pdf), Zpřístupněno: 2. dubna, 2023.



Za pomoci tohoto pracovního listu a plynového chromatografu Vernier GC Mini proved'te měření neznámých vzorků a stanovení methanolu a ethanolu.

1. Nejprve je potřeba si ujasnit rozdíly mezi methanolem a ethanolom. Napiš vlastnosti obou látek. Jaké jsou mezi nimi rozdíly? Lze je rozeznat pouhými smysly (zrak, čich)?

a) Methanol:

b) Ethanol:

2. Podle které látky je pojmenován tento pracovní list „Nevinný zabiják“? A proč se jí tak dá říkat?

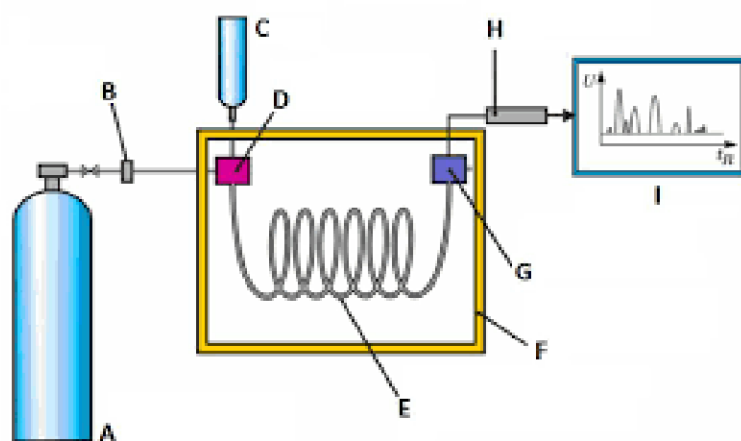
3. V chemických tabulkách vyhledej body varů obou látek a zapiš je do připravené tabulky. Nakresli strukturní vzorce.

	Bod varu (°C)	Strukturní vzorec
Ethanol		
Methanol		

4. Methanol a ethanol se od sebe velmi těžko dají oddělit. Jednou z mála efektivních metod je plynová chromatografie. Využij své znalosti a vyplň následující tabulku.

	Plynová chromatografie
Mobilní fáze:	
Stacionární fáze:	
Jaké látky je možné oddělovat?	

5. Popište schéma plynového chromatografu. Použijte pojmy z nabídky.



Obrázek 1 Schéma plynového chromatografu (Opletal, 1994)

Nabídka: vzorek, termostat, chromatogram, nosný plyn, kolona, zesilovač signálu, detektor, regulátor průtoku, nástřík vzorku a nosného plynu

Stanovování methanolu a ethanolu pomocí chromatografu Vernier GC-mini

Pomůcky: přístroj Vernier GC mini, stříkačka s inzulínovou jehlou, buničina, počítač nebo notebook s nainstalovaným programem Logger Pro 3.8.6. (nebo novější verze)

Chemikálie: neznámý vzorek ve vialce, ethanol, methanol

Ochranné pomůcky: laboratorní plášť, laboratorní brýle, gumové rukavice

Upozornění: Dávkování vzorku do přístroje se provádí stříkačkou s velmi ostrou jehlou. Dbejte na zvýšenou bezpečnost při manipulaci s jehlou. Vzhledem k těkavosti vybraných alkoholů, provádějte pokus v digestoři nebo dobře větrané místnosti.

1. Příprava přístroje k měření

- a. Zapněte Mini GC.
- b. Připojte GC USB kabelem k počítači nebo ekvivalentnímu zařízení
- c. Spusťte program Logger Pro.
- d. Klikněte na bílou šipku v zeleném rámečku.
- e. Zobrazí se tabulka, kterou vyplňte podle druhu vzorku, který budete analyzovat. Nastavte následující hodnoty.

	Páry čistého methanolu	Páry čistého ethanolu nebo směsi
Start temperature	64,70 °C	78,29 °C
Hold time	3 min	3 min
Ramp rate	5°C/min	5°C/min
Final temperature	64,70 °C	64,70 °C
Hold time	3 min	3 min
Total length	6.0 min	6.0 min
Pressure	1.0 kPa	1.0 kPa

- f. Potvrďte váš výběr a přístroj se začne zahřívat.

Poznámka: Objeví se nová zpráva, "Do not inject until GC is ready (nedávkujte vzorek, dokud GC není připraven k měření)", a LED dioda Mini GC svítí červeně. Mini GC se několik minut bude zahřívat na provozní teplotu, poté se stabilizuje. Ve chvíli, kdy je chromatograf připraven k dávkování vzorku (injekční stříkačkou) – objeví se zpráva "Inject the sample", a LED dioda se rozsvítí zeleně. Během zahřívání chromatografu proveďte úkoly v bodech 4-6.

2. Příprava vzorku

Čištění stříkačky

- Zasuňte zcela píst.
- Nasajte a vysajte alespoň 3x okolní vzduch.
- Opatrně vypusťte kapalinu do ubrousku.

Příprava – standardu nebo vzorku – POZOR!!! – nesmíte nasát kapalinu, nasávejte jen plyn!!!

- Zapíchněte jehlu do vialky se standardem (nebo vzorkem) přes septum tak, aby jehla byla ponořena do kapaliny ve vialce, cca 2-4 mm ode dna vialky.
- Otočte vialku dnem vzhůru tak, aby se ústí jehly ocitlo bezpečně mimo kapalinu.
- Několikrát vytáhněte a zasuňte píst stříkačky (vždy tak, abyste bezpečně nasávali plyn (páry)). Nesmí se stát, že byste nasáli kapalinu.
- Naberte cca 1,3 ml (dle stupnice na stříkačce) plynu nad kapalinou. Otočte vialku zpět dnem dolů a vytáhněte stříkačku z vialky.
- Posuňte píst tak, aby objem nasátého plynu byl přesně 1 ml.
- Jemně otřete jehlu do ubrousku či buničiny.

Dávkování vzorku

Připravte se na dávkování standardu nebo vzorku do chromatografu. To je třeba provést bezprostředně po nadávkování do stříkačky. Je *výhodné pracovat ve dvojici*, jeden bude ovládat chromatograf přes PC, druhý dávkovat vzorek.

- Pokud Mini GC dosáhlo své pracovní teploty a tlaku a je připraveno k měření, objeví se zpráva: "Inject the sample" a LED dioda na Mini GC svítí zeleně.
- Zasuňte jehlu injekční stříkačky do dávkovacího otvoru chromatografu tak, že držíte stříkačku jednou rukou nahoře a druhou dole, aby rukou nahoře bylo možno stlačit píst. Stříkačka musí jít kolmo k chromatografu a být co nejvíce v této poloze stabilní.
- V jednu chvíli stlačte píst a zároveň stiskněte položku "Změřit", čímž spustíte měření. Ihned ale opatrně, vydejte stříkačku z dávkovacího otvoru.

Zatímco probíhá měření, stříkačku několikrát propláchněte vytažením a zatažením pístu vzduchem. Sběr dat bude ukončen po zhruba 6 minutách.

3. Analýza výsledných chromatografů

- Zvolte "Analysis" z menu "Integration using maxima"
- Vyberte a integrujte píky. Ke každému vzniklému píku si do tabulky pod chromatogram запиšte, o jakou látku, případně o jaké množství se jedná.
- Poznamenejte si retenční čas do tabulky níže, stejně tak název látky, je-li znám.
- Pokud je ve chromatogramu více složek (píků), proveďte vyhodnocení pro všechny z nich.
- Pokud jste označili a vyhodnotili všechny píky, zvolte OK.

Příslušné kroky proveďte s oběma standardy i se vzorkem.

Vyhodnoťte měření níže.

Po skončení měření vypněte Mini GC.

4. Vyhodnocení měření

Vyplňte tabulku podle dat získaných z měření.

Látka	Eluční pořadí (1-5)	Retenční čas (min)
methanol		
ethanol		
Směs methanolu a ethanolu		

a. Přibližně načrtněte výsledné chromatogramy. Nezapomeňte na popis os.

b. Pokud je to možné, pokuste se z chromatogramu směsi určit, jaké množství methanolu a ethanolu bylo ve vzorku. Pokud to není z chromatogramu patrné, vymyslete důvody, proč se neprojevíly jasné píky.