

PO STOPÁCH JEDOVATÉHO METHANOLU

Aneb hledání tichého vraha

V roce 2012 ochromila Českou republiku tzv. Methanolová aféra. Někteří výrobci spotřebního alkoholu, ve snaze uniknout placení vysoké spotřební daně, přidávali, vzhledem k podobnosti v chuti i vůni, do láhví s alkoholickými nápoji podstatně levnější methanol. Jejich neznalost chemie a toxikologie ovšem měla fatální následky. Methanol je totiž prudce jedovatý a jeho požití ve větším množství vede ke smrtelné otravě. V důsledku vypití nápoje s methanolem zemřely v ČR více než čtyři desítky lidí. Na trhu pak zůstalo několik miliónů lahví, jejichž obsah byl nejistý. U řady alkoholických nápojů tak bylo třeba provést analýzy, aby závadné láhve byly staženy z trhu a dále, aby analýza sloužila jako stopa i důkaz pro hledání osob, které alkohol pančovali. Také v případech, kdy někdo vypil nápoj, jehož původ nebyl jistý, je třeba metody rychlé analýzy vzorku, aby člověk, který nápoj vypil, byl adekvátně a rychle ošetřen.

Staňte se členem vyšetřovacího týmu a zanalyzujte vzorek s neznámým obsahem, zda není přítomen jedovatý methanol. Pomozte kriminalistům vystopovat původce methanolové aféry. Zanalyzujte, jako expert s potřebnými znalostmi, neznámý vzorek alkoholického nápoje ze skladu podezřelé osoby jednou z nejdůležitějších metod forenzní analýzy

Co byste měli vědět?

Problémem v analýze methanolu, který se nachází v alkoholických nápojích, je současná přítomnost ethanolu. Oba zmíněné alkoholy jsou velmi podobné a liší se pouze o jeden uhlík. To činí prakticky nemožné pro většinu metod analytické chemie stanovit tyto dva alkoholy vedle sebe. Jednou z mále metod, která si s tímto problémem umí poradit, je plynová chromatografie, jedna ze základních metod instrumentální forenzní analýzy. Možná vám něco říká pojem „chromatografie“. Co to vlastně je.

Cite this work as:

Šmejkal, Petr (2014). Po stopách jedovatého methanolu. pp. 1-7. Available at <http://comblab.uab.cat>

This work is under a Creative Commons License BY-NC-SA 4.0 Attribution-Non Commercial-Share Alike.

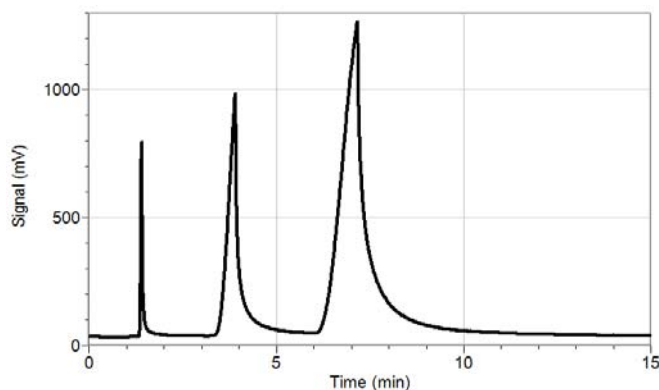
More information at <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Co byste možná měli vědět?

Existuje řada tzv. chromatografických technik, z nichž některé zajisté znáte: papírová chromatografie, tenkovrstvá chromatografie, kapalinová chromatografie, vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC – High Pressure Liquid Chromatography) či plynová chromatografie (GC – Gas Chromatography). Využití chromatografických technik je velmi široké. Biochemici ji používají k separaci proteinů, organičtí chemici zase velmi využívají GC a HPLC k identifikaci a charakterizaci organických látek, analytici k separaci a analýze látek ve směsi. Chromatografické techniky jsou také využívány k analýze léčiv a analýze složek životního prostředí jako levná a technicky relativně nenáročná metoda. Chromatografie je přirozeně taktéž využívána ve forenzní analýze k řešení kriminálních případů.

Všechny chromatografické techniky jsou v zásadě založeny na stejném principu. Jednou částí v experimentálním uspořádání chromatografie je stacionární (pevná) fáze, další je fáze mobilní. Mobilní fáze se pohybuje přes fázi stacionární (umístěné např. ve sloupci – koloně, nebo vhodné ploše) od tzv. startu do tzv. cíle (dráha pohybu mobilní fáze). Jednotlivé složky směsi (vzorku), které si přejeme rozdělit, v závislosti na složení mobilní a pevné fáze, interagují rozdílně s těmito fázemi a důsledkem je, že každá složka směsi (část vzorku) se pohybuje s rozdílnou rychlostí. Složky interagují s mobilní a stacionární fází většinou prostřednictvím dipólových interakcí, disperzních sil a iontových interakcí.

Námi použitý chromatograf Mini GC využívá kovové kolony, která je zevnitř pokryta stacionární fází. Vzorek (směs látek) je injektována do kolony, kde dojde k odpaření složek směsi (převedení do plynné fáze). Dále jsou tyto složky unášeny vzduchem, který zde funguje jako mobilní fáze a dochází k jejich dělení. Složky jsou pak díky různé rychlosti pohybu přeneseny do detektoru, kde dojde k jejich ionizaci a dále je měřen proud a odpovídající napětí. Ty jsou potom reprezentovány na tzv. chromatografu jako tzv. *peak* (obr. 1). Čas potřebný k tomu, aby složka opustila danou kolonu reprezentovanou stacionární a mobilní fází se nazývá *retenční čas* a charakterizuje danou látku. Jeho prostřednictvím pak lze danou látku (nebo směs) relativně jednoznačně charakterizovat.



Obrázek 1: Vzorový chromatogram (GC)

Existuje řada faktorů, které ovlivňují pohyb a interakci látky s kolonou (tedy stacionární a mobilní fází). Těkavější látky se obvykle pohybují v koloně GC rychleji, neboť méně interagují se stacionární fází. Dalším faktorem je přítomnost funkčních skupin v látce. Např. alkoholy mají dipólový moment, proto snáze interagují s polárními stacionárními fázemi a méně s nosným plynem (mobilní fází) než je tomu např. v případě esterů, které nemohou tvořit potřebné vodíkové vazby. Roli také hraje molární hmotnost, ačkoliv nelze jednoduše říci, že těžší molekuly se pohybují kolonou pomaleji.

Při samotné analýze se v praxi postupuje tak, že změříme za daných podmínek retenční časy standardů látek, které stanovujeme (či je již máme uloženy v databázi - v našem případě methanolu a ethanolu) a pak změříme vzorek. Srovnáním retenčních časů látek ve vzorku a standardů zjistíme, jaké látky jsou přítomny ve vzorku.

Postup měření

Chemikálie a vybavení:

- Plynový chromatograf Vernier GC mini
- standardy ethanol a methanol ve vialkách uzavřených septem,
- počítač s nainstalovaným Logger Pro 3 software nebo Labquest datalogger
- 1 injekční stříkačka na 1 mL
- vzorek ve vialce uzavřené septem

Než začnete měřit ...

Zkuste vyplnit níže uvedenou tabulku a zkuste předpovědět, v jakém pořadí uvedené látky opustí kolonu GC chromatografu. Pomoci vám může vyhledání bodů varu jednotlivých látek na internetu.

| Látka | Bod varu (°C) | Předpověď |
|----------|---------------|-----------|
| methanol | | |
| ethanol | | |
| propanol | | |

Postup

Nezapomeňte si vzít ochranné pomůcky, tedy rukavice, brýle a laboratorní plášť, experiment provádějte v digestoři nebo dobře větrané místnosti.

Důležité: Pokud používáte skleněnou injekční stříkačku, je velmi křehká a lze ji snadno poškodit. Berte na to, prosím, ohled, nijak ji, její píst a ani jehlu neohýbejte. Nikdy nevytahujte píst, již jej nelze vrátit, buďte také obezřetní, abyste píst při práci nevytáhli. Obezřetně pracujte i s plastovou stříkačkou, vzhledem

Připravte chromatograf k měření

- Zapněte Mini GC.
- Připojte GC USB kabelem k počítači nebo ekvivalentnímu zařízení
- Spusťte program LabQuest Pro a zvolte Nový z menu "File"
- Klikněte na "Collect", ukáže se položka "Temperature-Pressure profile".
- Nastavte následující hodnoty profilu "Temperature-Pressure":

| | |
|-------------------|---------|
| Start temperature | 60 °C |
| Hold time | 3 min |
| Ramp rate | 5°C/min |
| Final temperature | 60°C |
| Hold time | 3 min |
| Total length | 6.0 min |
| Pressure | 1.0 kPa |

- Zvolte "Done" Mini GC, se začne zahřívat. Poznámka: Objeví se nova 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) – viz bod 7 jak dávkovat – objeví se zpráva "Inject and select Collect simultaneously" – Dávkujte a zvolte položku "Collect Simultaneously", a LED dioda se rozsvítí zeleně. Během zahřívání chromatografu proveďte úkoly v bodech 4-6.

K čištění stříkačky postupujte následovně (je to velmi důležité).

- Zasuňte zcela píst.
- Nasajte a vysajte alespoň 5x okolní vzduch.
- Opatrně vypusťte kapalinu do ubrousku.

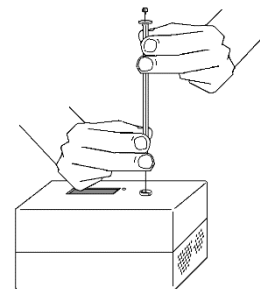
Příprava – standardu nebo vzorku – POZOR!!! – nesmíte nasát kapalinu, nasávejte jen plyn!!!

- 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.

POZOR!!! – nesmíte nasát kapalinu, nasávejte jen plyn!!!

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 and select Collect simultaneously,”* 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 tak, aby rukou nahoře bylo možno stlačit píst. Stříkačka musí jít kolmo k chromatografu a být co nejvíce v této poloze stabilní (Obr. 2). Zatím nepohybuje pístem.
- V jednu chvíli stlačte píst a zároveň stiskněte položku *“Collect”*, čímž spustíte měření. Ihned ale opatrně vyndejte stříkačku z dávkovacího otvoru.



Obr. 2

Zatímco probíhá měření, stříkačku několikrát propláchněte vytažením a zatažením pístu vzduchem.

Sběr dat bude ukončen po zhruba 6 minutách.

Analyzujte svůj chromatogram

- Zvolte *“Peak Integration”* z menu *“Analyze”*
- Vyberte a integrujte píky. K tomu vyberte pík tak, že najedete myší před něj, držte levé tlačítko myši a jedte doprava za pík. Pak zvolte *“Add.”*
- 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.

Chromatogram je možno uložit a vyhodnotit později, zvolte položku *“Save”* z menu *« File »*.

Příslušné kroky proveďte s oběma standardy i se vzorkem.

Vyhodnoťte měření níže.

Po skončení měření vypněte Mini GC.

Vyhodnocení měření

Vyplňte tabulku dle dat získaných z měření.

| Látka | Bod varu (°C) | Eluční pořadí (1-5) | Retenční čas (min) |
|----------|---------------|---------------------|--------------------|
| methanol | | | |
| ethanol | | | |
| propanol | | | |

Výsledky analýzy vzorku

| Pík | Retenční čas |
|-----|--------------|
| | |

Již máte dost znalostí, abyste zodpověděli následující

1. V tabulce výše jste se pokusili předpovědět eluční pořadí alkoholů. Předpověděli jste jej správně? Proč?

2. Na základě porovnání chromatografu vzorku a chromatografu standardů určete, jaké alkoholy obsahuje neznámý vzorek a zda obsahuje jedovatý methanol.

3. Identifikujte alkoholy v neznámém vzorku. Vysvětlete, proč se domníváte, že ve vašem vzorku jsou právě uvedené alkoholy.

Závěr

.....

Pochlubte se svými výsledky

Napište vyšetřujícímu kriminalistovi oficiální sdělení (protokol) o výsledku vaší zkoušky. Nezapomeňte si nejprve stanovit, co všechno by měl takový oficiální protokol obsahovat (např. použitou metodu, kolonu atd. ...), aby obsahoval všechny nezbytné údaje.

Specifické otázky

1. Zkuste předpovědět retenční čas butanolu. Vysvětlete.

2. Jaké další skupiny látek lze stanovovat plynovou chromatografií? Proč?
