

Ćwiczenie nr XV

CHROMATOGRAFIA GAZOWA W ANALIZIE ILOŚCIOWEJ

I. Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest wyznaczenie składu powietrza wydychanego metodą chromatografii gazowej.

II. Zagadnienia wprowadzające

1. Podstawowe pojęcia w chromatografii gazowej.
2. Budowa chromatografu gazowego.

Literatura obowiązująca:

T. Paryczak, „Chromatografia gazowa w badaniach adsorpcji i katalizy”, PWN Warszawa 1986.

E.O. Scupp III, „Chromatografia gazowa”, PWN Warszawa 1972.

III. Część teoretyczna

Chromatografia jest metodą rozdzielania małych ilości mieszanin. Rozdział ten zachodzi w wyniku poruszania się tzw. fazy ruchomej względem tzw. fazy stacjonarnej i jest efektem zróżnicowanych oddziaływań z fazą stacjonarną cząsteczek różnych substancji chromatografowanych. Dzięki temu chromatografia jest metodą analityczną, ale znajduje też szerokie zastosowania w różnego rodzaju badaniach fizykochemicznych, np. oddziaływań międzycząsteczkowych.

Fazą stacjonarną jest albo ciecz, osadzona w postaci cienkiej warstewki na obojętnym nośniku, albo ciało stałe o odpowiednio rozwiniętej powierzchni. Natomiast fazą ruchomą może być ciecz lub gaz. Na tej podstawie, wyróżniamy chromatografię w układach:

- ciecz-ciecz,
- ciecz-ciało stałe,
- gaz-ciecz,
- gaz-ciało stałe.

Chromatografia gazowa obejmuje wszystkie procesy chromatograficzne, w których fazą ruchomą jest gaz. Metodę tę wprowadzili do praktyki James i Martin w roku 1952. Jeżeli fazą stacjonarną jest ciecz, mechanizm retencji (tj. zatrzymywania substancji w kolumnie) wynika z rozpuszczania się tej substancji w fazie ciekłej (podziału między obie fazy), natomiast w przypadku stałej fazy stacjonarnej mechanizm retencji jest związany z procesem adsorpcji. Dlatego, odróżniamy podziałową i adsorpcyjną chromatografię gazową.

Podstawowe elementy składowe typowego chromatografu gazowego są następujące:

- zbiornik (butla) z gazem nośnym oraz układy regulacji przepływu,
- dozownik,
- kolumna chromatograficzna,
- detektor,
- układ rejestracji danych retencyjnych.

Jako fazę ruchomą (gaz nośny) można stosować różne gazy. Wybór gazu zależy głównie od używanego detektora. Źródłem gazu nośnego jest stalowa butla zawierająca sprężony gaz, którego przepływ reguluje się precyzyjnie (kilkustopniowo) przez układ zaworów redukcyjnych.

Dozownik jest to stalowa, grubościenna i ogrzewana rurka umożliwiająca wprowadzenie badanej próbki do strumienia gazu nośnego na wejściu do kolumny. Przy dozowaniu próbek ciekłych ważne jest by temperatura dozownika wynosiła 20-30 °C powyżej temperatury wrzenia najtrudniej lotnego składnika mieszaniny. Za-

pewnia to szybkie odparowanie cieczy i wprowadzenie jej do kolumny w stanie gazowym. Próbkę dozujemy za pomocą specjalnych mikrostrzykawek o pojemności od 0,5 do 100 μl . Z jednej strony dozownik jest zamknięty membraną z gumy silikonowej, którą przebija się igłą mikrostrzykawki. Należy przy tym zachować pewną ostrożność aby uniknąć zgięcia lub złamania igły czy tłoczka mikrostrzykawki.

Kolumna jest często nazywana sercem chromatografu, ponieważ w niej zachodzi rozdział substancji. Może ona być wykonana ze stali lub aluminium, jednak najlepszym materiałem jest tu szkło, kruche, ale najbardziej biernie chemicznie. Nie zaleca się stosowania miedzi, bowiem metal ten może w wysokich temperaturach katalizować przemiany chemiczne substancji chromatografowanych. Długość kolumny może wahać się od kilkunastu centymetrów do kilku metrów. Kształt kolumny w dużym stopniu zależy od jej długości. Krótsze kolumny są proste, albo mają kształt litery **U** lub **W**, natomiast dłuższe są skręcone spiralnie. W zależności od potrzeb stosuje się kolumny o średnicy wewnętrznej od 2 do 8 mm. Duży wpływ na sprawność kolumny ma sposób jej wypełnienia. Ziarna nośnika czy adsorbenta powinny mieć możliwie regularny kształt (najlepiej kulisty) oraz jednakową wielkość i być równomiernie upakowane na całej długości kolumny. Są to tzw. kolumny pakowane. Do celów analitycznych wykorzystuje się również kolumny kapilarne. Są to skręcone spiralnie, długie (kilkadziesiąt metrów) rurki o średnicy poniżej 1 milimetra, w których cieka faza stacjonarna jest osadzona na wewnętrznej ścianie. Kolumna taka spełnia więc równocześnie rolę nośnika. Przy pracy z kolumnami kapilarnymi stosuje się specjalne techniki dozowania substancji, ponieważ wprowadzane ilości muszą być znacznie mniejsze niż w przypadku kolumn pakowanych.

Wielkością bezpośrednio mierzoną w chromatografii gazowej jest czas retencji. Jednak sam czas nie ma sensu fizykochemicznego i zależy od prędkości przepływu gazu nośnego. Na podstawie czasu retencji oraz prędkości przepływu oblicza się objętość retencji. Ze względu na dużą rozszerzalność termiczną gazów (zmiany objętości), a także dla zapewnienia optymalnego rozdziału, kolumna musi być dokładnie termostatowana. Najczęściej stosuje się termostaty powietrzne, tj. zamknięte komory, w których szybki ruch ogrzanego do odpowiedniej temperatury powietrza jest wymuszany przez wentylator. Jednak do celów specjalnych, wykorzystuje się również termostaty wodne lub zawierające inne medium chłodzące (np. ciekły azot).

W przypadku bardzo dużych różnic czasów (objętości) retencji substancji chromatografowanych stosuje się programowanie temperatury. Polega ono na tym, że układ pracuje najpierw przez określony czas w stałej temperaturze, następnie temperatura wzrasta z zadaną szybkością (wyrażaną w $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) do osiągnięcia pożądanej wartości, po czym następuje kolejny okres pracy w warunkach izotermicznych. W nowoczesnych chromatografach programowaniem temperatury sterują układy elektroniczne, które umożliwiają kilka etapów dogrzewania kolumny. Po zakończeniu pomiaru układ ochładza się do temperatury początkowej.

Zadaniem detektora jest wykrywanie substancji opuszczających kolumnę w strumieniu gazu nośnego. W chromatografii gazowej stosuje się różne typy detekto-

rów. Najogólniej, można je podzielić na różniczkowe i całkowite. Detektor całkowity mierzy ilość danego składnika i dodaje ją do całkowitej ilości składników wymytych wcześniej. Chromatogram składa się więc z szeregu schodków. Detektor różniczkowy mierzy chwilowe stężenie składnika w gazie nośnym i po jego całkowitym wymyciu powraca do sygnału zerowego. Dobry detektor charakteryzuje się stabilnością i liniowością sygnału, dużą czułością oraz niskim poziomem szumów. Najpowszechniej używa się detektora przewodnictwa cieplnego, nazywanego też katarometrem. Ponieważ katarometr mierzy zmiany przewodnictwa cieplnego wskazane jest, aby różnice tego przewodnictwa pomiędzy gazem nośnym a substancjami chromatografowanymi były jak największe. Narzuca to wybór gazu nośnego. W poniższej tabeli zestawiono przewodnictwa cieplne niektórych gazów względem powietrza w temperaturze 0°C.

Gaz	Przewodnictwo
H ₂	7.10
He	6.20
N ₂	1.02
O ₂	1.04
związki organiczne	0.4 ... 0.6

Jak wynika z tej tabeli, najlepszymi gazami nośnymi dla oznaczania związków organicznych są wodór i hel. Mają one jednak swoje wady. Hel jest wprawdzie obojętny, lecz bardzo drogi. Natomiast wodór jest wybuchowy, co wymaga szczególnej ostrożności i wprowadzania gazu na zewnątrz. Zasada pracy katarometru jest następująca. Umieszczone w układzie mostka Wheatstone'a oporniki, zasilane prądem stałym, są omywane strumieniem gazu nośnego. Mostek znajduje się w równowadze i rejestrowany jest pewien sygnał podstawowy. Jeżeli pojawia się substancja chromatografowana zmienia się przewodnictwo gazu, zmienia się temperatura a tym samym opór elektryczny i w mostku pojawia się sygnał dodatkowy. Gdy substancja zostanie wymyta, mostek wraca do stanu równowagi. Katarometr jest jednak wrażliwy na zmiany przepływu, dlatego jeden z elementów jest omywany strumieniem czystego gazu nośnego, który omija dozownik i kolumnę (jest to detektor dwukanałowy). Ewentualne wahania wielkości sygnału podstawowego są wtedy mniejsze. Do zapisu sygnału na taśmie papierowej stosowano rejestratory kompensacyjne, a obecnie, coraz częściej wykorzystuje się przetworniki analogowo-cyfrowe umożliwiające rejestrację bezpośrednio na komputerze.

IV. Część doświadczalna

A. Aparatura i odczynniki

1. Sprzęt:
 - chromatograf gazowy Gide z detektorem przewodnictwa cieplnego,
 - kolumna stalowa 1 m x 6 mm wypełniona żelalem sitem molekularnym 5A,
 - strzykawka.

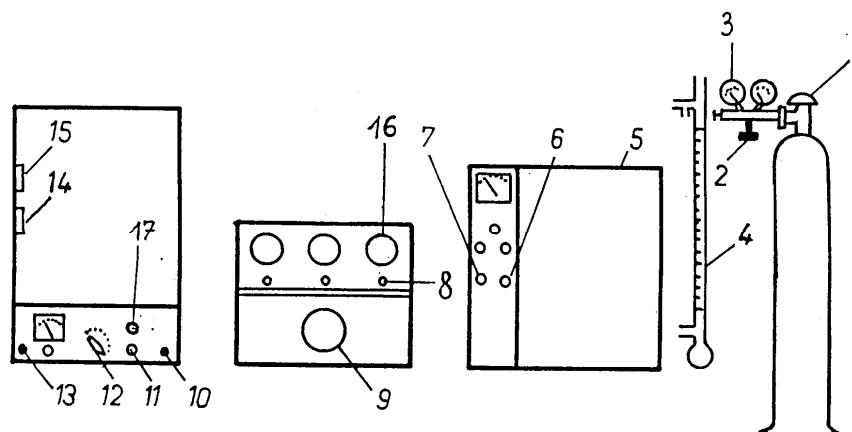
B. Program ćwiczenia

1. Uruchomienie chromatografu.
2. Zadozowanie do kolumny próbki powietrza o znanej objętości.
3. Zadozowanie do kolumny próbki powietrza wydychanego.

C. Obsługa przyrządów

Chromatograf gazowy Gide

Uruchomić przyrząd (Rys. 1):



Rys. 1. Schemat chromatografu gazowego.

1. Włączyć przepływ gazu nośnego:
 - odkręcić zawór główny butli (1),
 - wkręcając zawór redukcyjny (2) ustawić ciśnienie ok. 2 atm na manometrze (3),
 - pokrętłem (8) ustawić ciśnienie ok. 0.5-0.6 atm na manometrze (16),
 - sprawdzić prędkość przepływu gazu nośnego za pomocą fleometru (4) (powinna wynosić ok. 50 ml/min).
2. Ustawić programator temperatury (9) na temperaturę 40⁰C.
3. Włączyć termostat przy pomocy przycisku (6).
4. Włączyć zasilacz detektora (10).
5. Włączyć zasilanie rejestratora (14).
6. Włączyć prąd mostka (13).

UWAGA!!!

Zabrania się włączania prądu mostka bez przepływu gazu nośnego. W przypadku stwierdzenia, że gaz nośny nie płynie, wyłączyć natychmiast prąd mostka.

7. Jeżeli zachodzi potrzeba, wyzerować rejestrator pokrętłem (11), ustawiając uprzednio przełącznik czułości (12) w położeniu 1; pisak rejestratora powinien znajdować się z lewej strony taśmy.
8. Odczekać około pół godziny aby układ chromatograficzny ustabilizował się.
9. Włączyć przesuw taśmy przełącznikiem (15).
10. Zadozować próbkę do dozownika (5).
11. W razie potrzeby zmiany czułości dokonuje się za pomocą przełącznika (12).

Po zakończeniu pomiarów należy:

1. Wyłączyć przesuw tamy rejestratora (przełącznik 15) i zasilanie rejestratora (14).
2. Wyłączyć prąd mostka (13) i zasilacz detektora (10).
3. Wyłączyć termostat (7).
4. Zatrzymać przepływ gazu nośnego; zakręcić zawór główny (1) butli z wodorem; gdy wskazówki obu manometrów znajdują się w położeniu 0, wykręcić zawór igłowy (2).

UWAGA!!

Zabrania się manipulować jakimikolwiek przełącznikami i pokrętłami chromatografu nie wymienionymi w opisie.

D. Sposób wykonania ćwiczenia

Włączyć przesuw taśmy przełącznikiem (15). Następnie, dobierając odpowiednio czułość dozować za pomocą strzykawki próbki powietrza o objętości: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 i 1.0 cm³. Każdy pomiar powtórzyć trzykrotnie. Najmniejszą objętość należy dozować przy największej czułości „1”. Jeżeli podczas dozowania kolejnych próbek piki nie mieszczą się na taśmie, zmniejszyć czułość, ustawiając przełącznik (12) w kolejnych położeniach: „2”, „4”, itd. Każdorazowo notować dozowaną objętość i stosowaną czułość (najlepiej na taśmie papierowej). Ta seria pomiarów posłuży do wykonania krzywej kalibracyjnej.

Pobrać próbkę powietrza (0.4 cm³) z jamy ustnej osoby, która wstrzymała oddech na około 20 sekund i zadozować do kolumny. Pomiar powtórzyć trzykrotnie.

E. Opracowanie wyników i wnioski

Należy sporządzić dwie krzywe kalibracyjne (wykresy zależności wysokości pików z uwzględnieniem czułości od ilości gazu w cm^3), osobno dla tlenu i azotu. Ilości tlenu i azotu w dozowanej próbce obliczyć przyjmując, że zawartości tych gazów w powietrzu wynoszą odpowiednio 20,95% i 78,09%. Wysokości pików należy odczytać z chromatogramu, a na wykresie zaznaczyć wartość średnią z trzech pomiarów. Należy uwzględnić czułość przy której prowadzony był pomiar, mnożąc przez jej wartość wysokość pików. Na podstawie otrzymanych krzywych kalibracyjnych odczytać objętość tlenu i azotu w zadozowanej próbce powietrza wydychanego, a następnie obliczyć skład powietrza wydychanego w % objętościowych.

Wyniki obliczeń należy umieścić w tabeli.

Ilość zadozowanego powietrza [cm^3]	Ilość gazu w zadozowanej próbce [cm^3]		Czułość	Wysokość pików na chromatogramie [cm]		Średnia wysokość z uwzględnieniem zmian czułości	
	tlen	azot		tlen $h_1, h_2, h_3, h_{\text{sr}}$	azot $h_1, h_2, h_3, h_{\text{sr}}$	tlen	azot
0.2							
0.4							
...							

Do opracowania dołączyć wykresy krzywych kalibracyjnych oraz chromatogram.