

CHROMATOGRAFIA GAZOWA – WPROWADZENIE DO TECHNIKI. ANALIZA JAKOŚCIOWA MIESZANINY WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH TECHNIKĄ GC-MS

Instrukcja do ćwiczeń opracowana w Katedrze Chemii Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego

1. Zakres obowiązującego materiału

- podstawowe wielkości retencyjne oraz wybrane wielkości charakteryzujące sprawność i selektywność układu chromatograficznego,
- parametry/czynniki wpływające na jakość i efektywność rozdzielania składników analizowanych mieszanin w chromatografii gazowej – dobór parametrów analizy,
- analiza jakościowa w GC.

2. Materiały i aparatura

W trakcie wykonywania ćwiczenia wykorzystywane będą następujące materiały i aparatura:

- chromatograf gazowy Agilent Technologies 7820A wyposażony m.in. w spektrometr mas 5977B, podłączony do komputera z oprogramowaniem MassHunter 5977B MSD Software Agilent, umożliwiającego obsługę wszystkich podzespołów aparatu, rejestrację oraz analizę wyników pomiarów;
- rozpuszczalniki i odczynniki do przygotowania próbek do analizy:
 - eter dietylowy (CH_2Cl_2), czystość min. *HPLC Gradient Grade*;
 - benzen (C_6H_6), toluen ($\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH}_3)$), ksylen ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$), czystość min. 99,9 %.

3. Wykonanie ćwiczenia

ĆWICZENIE 1

Celem zajęć jest zbadanie wpływu temperatury kolumny oraz prędkości przepływu gazu nośnego na wartość podstawowych wielkości retencyjnych oraz selektywność i sprawność układu chromatograficznego. Ćwiczenie to składa się z dwóch głównych zadań:

Zadanie 1. Przygotowanie próbek do analizy.

W fiolkach szklanych o pojemności 1 ml przygotować roztwory benzenu, toluenu i ksyleny oraz ich mieszaniny w eterze dietylowym, tak aby stężenie końcowe węglowodorów aromatycznych w próbce było 1000-krotnie niższe w porównaniu z ich stężeniem wyjściowym.

Zadanie 2. Przeprowadzenie analizy chromatograficznej próbek z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas GC-MS.

Warunki chromatograficzne:

- kolumna chromatograficzna: HP-5MS (60 m × 0,25 mm; 0,25 μm);
- gaz nośny: hel (czystość 99,9999%);
- prędkość przepływu gazu nośnego: 1 ml/min;
- temperatura kolumny: 50°C;
- objętość wprowadzanej próbki: 1 μl z dzieleniem strumienia gazu nośnego (dzielnik przepływu 200:1);
- temperatura dozownika: 160°C;
- detekcja: MS, temperatura linii transferowej 250°C, temperatura źródła jonów 230°C, energia jonizacji 70 eV, temperatura analizatora mas 150°C, zakres skanowania m/z od 50 do 200 (tryb SCAN);
- czas analizy: 12 min.

Ogólny schemat działania:

Pamiętaj, aby na każdym etapie wykonywania ćwiczenia postępować zgodnie ze wskazówkami prowadzącego zajęć.

1. Włączenie chromatografu gazowego Agilent Technologies 7820A;
2. ustawienie parametrów metody oraz sekwencji;
3. przeprowadzenie analiz chromatograficznych przygotowanych ówczśnie próbek pod kątem zbadania wpływu **A)** temperatury kolumny, **B)** prędkości przepływu gazu nośnego na wartość podstawowych parametrów retencyjnych oraz selektywność i sprawność układu chromatograficznego,
 - 3A. pomiary należy przeprowadzić poddając analizie roztwory benzenu, toluenu i ksylenu oraz mieszaniny ww. węglowodorów aromatycznych, przy jednoczesnej zmianie temperatury kolumny w przedziale od 50°C do 80°C co 10°C,
 - 3B. pomiary należy przeprowadzić poddając analizie roztwory benzenu, toluenu i ksylenu oraz mieszaniny ww. węglowodorów aromatycznych, przy jednoczesnej zmianie natężenia przepływu gazu nośnego w zakresie 1 - 4 ml/min;
4. zakończenie pracy.

4.1. Opracowanie wyników

- a) Zinterpretować otrzymane wyniki, przeprowadzając analizę jakościową zarejestrowanych sygnałów analitycznych. Wyniki należy zestawić w tabelach, których wzór stanowi **załącznik 1** do instrukcji;
- b) wyznaczyć wartości podstawowych parametrów retencyjnych tj. czas retencji substancji niezatrzymywanej tzw. czas martwy (t_M), całkowity czas retencji (t_R), zredukowany czas retencji (t_R') oraz wartość współczynnika retencji (k) chromatografowanych substancji;
- c) wyznaczyć wartości wybranych wielkości charakteryzujących selektywność oraz sprawność układu chromatograficznego tj. współczynnika rozdzielania (α), rozdzielczości pików (R_s) oraz liczbę póltek teoretycznych (N), jeżeli jest to możliwe;
- d) wykreślić zależność współczynnika retencji każdego z analitów / rozdzielczości pików / współczynnika rozdzielania w funkcji temperatury kolumny i prędkości przepływu gazu nośnego oraz $\log t_R'$ każdego z analitów w funkcji liczby atomów węgla;
- e) zinterpretować uzyskane wyniki.

Ponadto poprawnie przygotowane sprawozdanie z wykonanego ćwiczenia powinno zawierać tabelę, w której zestawione zostaną wyznaczone wartości podstawowych parametrów retencyjnych oraz wielkości charakteryzujących selektywność i sprawność układu chromatograficznego.

ĆWICZENIE 2.

Celem zajęć jest przeprowadzenie analizy jakościowej mieszaniny węglowodorów aromatycznych. Ćwiczenie to składa się z dwóch głównych zadań:

Zadanie 1. Interpretacja widm masowych.

Na podstawie widm masowych benzenu, toluenu i ksylenu, zarejestrowanych w realnym czasie analizy przez detektor MS (patrz ĆWICZENIE 1) wyznaczyć jony fragmentacyjne charakterystyczne dla cząsteczek tych substancji (**A**). Następnie przeprowadzić analizę chromatograficzną próbek przygotowanych zgodnie z opisaną procedurą (patrz Ćwiczenie 1, Zadanie 1), z wykorzystaniem techniki GC-MS (patrz Ćwiczenie 1, Zadanie 2) (**B**) w trybie SCAN i SIM.

Zadanie 2. Przeprowadzenie analizy chromatograficznej próbek* z wykorzystaniem techniki GC-MS w warunkach izotermicznych.

* próba badana stanowi czteroskładnikową mieszaninę nieznaną węglowodorów aromatycznych i alifatycznych o masach molowych w zakresie od 20 do 200 g/mol, przy czym najmniej lotny jej składnik charakteryzuje temperatura wrzenia 160°C, a najbardziej lotny 40°C. Próbę badaną przygotowuje prowadzący zajęcia.

Ogólny schemat działania:

Pamiętaj, aby na każdym etapie wykonywania ćwiczenia postępować zgodnie ze wskazówkami prowadzącego zajęć.

1. Włączenie chromatografu gazowego Agilent Technologies 7820A;
2. ustawienie parametrów metody oraz sekwencji;
3. przeprowadzenie analizy chromatograficznej (patrz **ĆWICZENIE 1. Zadanie 2.**) mieszaniny benzenu, toluenu i ksylenu przy jednoczesnej zmianie trybu pracy kwadrupolowego spektrometru mas z trybu SCAN na SIM. Analizy w trybie SIM należy wykonać monitorując jony charakterystyczne dla cząsteczek ww. węglowodorów aromatycznych;
4. przeprowadzenie analiz chromatograficznych mieszaniny węglowodorów aromatycznych i alifatycznych o nieznanym składzie z równoczesnym doбором optymalnych warunków jej prowadzenia, tak aby możliwe było efektywne rozdzielenie składników analizowanej próbki w czasie nieprzekraczającym 5 min;
5. przeprowadzenie analiz chromatograficznych próby badanej w opracowanych warunkach pod kątem zbadania wpływu **A)** temperatury dozownika, **B)** ilości próbki wprowadzanej do układu chromatograficznego na jakość rejestrowanych sygnałów analitycznych oraz selektywność i sprawność układu chromatograficznego,
 - 5A. pomiary należy przeprowadzić poddając analizie roztwór próby badanej przy jednoczesnej zmianie temperatury dozownika w przedziale od 180°C do 260°C co 20°C;
 - 5B. pomiary należy przeprowadzić poddając analizie roztwór próby badanej przy jednoczesnej zmianie wartości dzielnika przepływu gazu nośnego w zakresie: 1:100, 1:200, 1:300, 1:400, 1:450;
6. zakończenie pracy.

4.2. Opracowanie wyników

- a) Zinterpretować otrzymane wyniki, przeprowadzając analizę zarejestrowanych sygnałów analitycznych oraz widm masowych. Wyniki należy zestawić w tabelach, których wzór stanowi **załącznik 1** do instrukcji;
- b) opisać sposób doboru optymalnych warunków chromatograficznego rozdzielania składników badanej próby, ze szczególnym uwzględnieniem kryterium wyboru temperatury kolumny, temperatury dozownika oraz zakresu skanowania m/z ;
- c) zidentyfikować składniki analizowanej mieszaniny o nieznanym składzie na podstawie wyznaczonych czasów retencji, zarejestrowanych widm masowych oraz wzorców tych substancji, z wykorzystaniem dostępnych narzędzi;
- d) wykreślić zależność pola powierzchni każdego z analitów / rozdzielczości pików w funkcji temperatury dozownika oraz wartości dzielnika strumienia gazu nośnego.
- e) zinterpretować uzyskane wyniki.

Proponowana literatura

1. Z. Witkiewicz, J. Kałużna-Czaplińska, Podstawy chromatografii i technik elektromigracyjnych, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2015.
2. W. Szczepaniak, Metody instrumentalne w analizie chemicznej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2015.
3. J. Hetper, Z. Witkiewicz, Chromatografia gazowa, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2001.
4. P. Stepnowski, E. Synak, B. Szafranek, Z. Kaczyński, Techniki separacyjne, Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, 2010.