

CHROMATOGRAFIA II

18. ANALIZA ILOŚCIOWA METODĄ KALIBRACJI

Wstęp

Celem ćwiczenia jest ilościowe oznaczanie stężenia n-propanolu w metanolu metodą kalibracji. Metodą kalibracji oznaczamy najczęściej jeden lub kilka składników próbki, a nie zajmujemy się np. udziałem wszystkich jej składników. W celu sporządzenia wykresu kalibracyjnego na kolumnę dozujemy się roztwory posiadające wzrastającą ilość n-propanolu w alkoholu metylowym. Każde dozowanie powtarza się trzykrotnie i oblicza się średnią wartość powierzchni (A). Sporządza się krzywą kalibracyjną przedstawiającą zależność A od stężenia n-propanolu w dozowanym roztworze wzorcowym. Z krzywej kalibracyjnej można odczytać bezwzględną ilość składnika w badanej próbce.

Wykonanie ćwiczenia

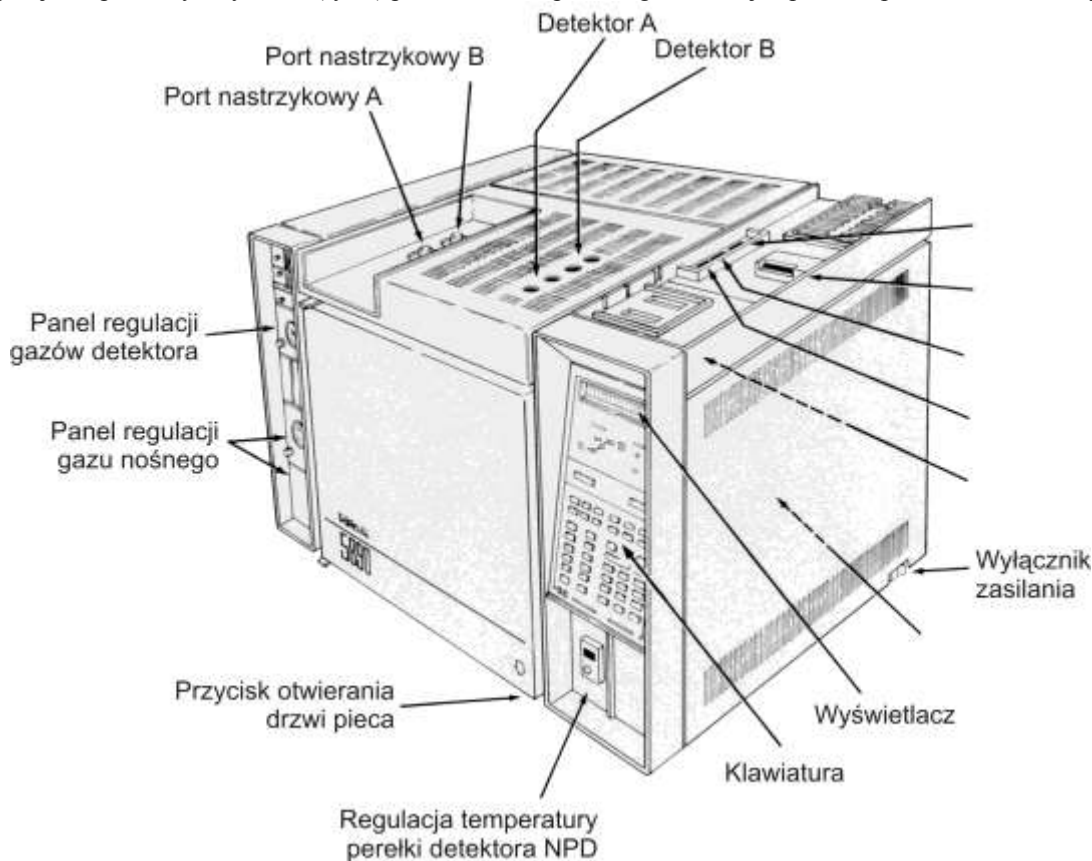


UWAGA

Uruchomienie chromatografu gazowego jak i integratora oraz odkręcenie zaworów na butlach z gazami wykonuje prowadzący ćwiczenia asystent.

Włączenie chromatografu gazowego HP5890A

Przycisk zasilania aparatu znajduje się z prawej strony aparatu na dole bocznej ścianki. Chromatograf gazowy HP5890 jest aparatem dwukanałowym. Patrząc na aparat od góry kanał „A” znajduje się bliżej osoby obsługującej. Na poniższym rysunku (rys.1) przedstawiono poszczególne sekcje aparatu z podziałem na kanały.



Rys. 1 Schemat chromatografu gazowego HP5890

Przepływ gazu nośnego przez kolumnę regulujemy za pomocą regulatora przepływu obserwując wskazania manometru (rys.2). W przypadku zastosowanej w ćwiczeniu kolumny kapilarnej 0.530mm i długości 30m jest to **5cm³/min** co odpowiada w przybliżeniu **5 jednostkom ciśnienia (psi)**.



Rys. 2 Panele regulacji przepływu gazu przez kolumnę

Programowanie temperatury pieca oraz dozownika i detektora.



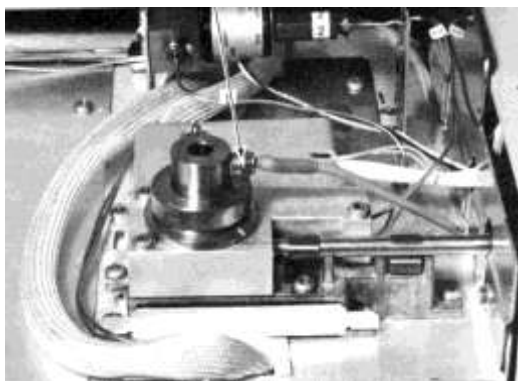
Rys. 3 Panel sterujący chromatografu HP 5890

Temperaturę panującą w termostacie ustawiamy na **60°C** za pomocą klawisza [**OVEN TEMP**] i wpisując z klawiatury numerycznej **60** i potwierdzamy klawiszem [**ENTER**], następnie klawisz [**INIT TEMP**] i wartość **60**, klawisz [**INIT TIME**] i **4**, klawisz [**RATE**] **0**, klawisz [**FINAL TEMP**] i **60** oraz klawisz [**FINAL TIME**] i **0** za każdym razem wprowadzone wartości potwierdzamy klawiszem [**ENTER**].

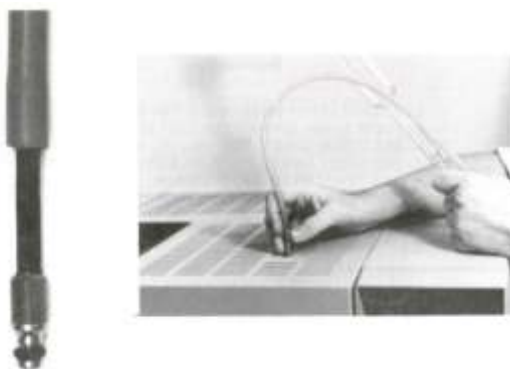
Korzystając z klawiszy [**INJ A TEMP**] ustawiamy jw. temperaturę dozownika na **150°C** a za pomocą klawisza [**DET B TEMP**] temperaturę detektora FID na **270°C**.

Detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID)

Przepływ gazu nośnego przez detektor FID (mieszczącego się na **torze B** aparatu) mierzymy podłączając fleometr do kominka detektora (rys. 4) za pomocą specjalnej końcówki (rys. 5). Pomiar prędkości przepływu gazu wykonujemy dwukrotnie mierząc czas przepływu bańki mydlanej przez objętość 10 ml (między dolną i górną kreską).

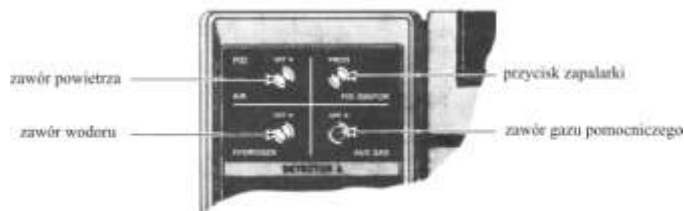


Rys. 4 Detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID).



Rys. 5 Pomiar przepływu gazów w przypadku detektora FID

Po ustabilizowaniu przepływu gazu nośnego przez kolumnę otwieramy zawory odpowiedzialne za przepływ powietrza i wodoru (rys.6). Regulacji wymienionych gazów dokonuje się na panelu znajdującym z boku aparatu po jego lewej stronie. Przepływ wodoru powinien wynosić $30\text{cm}^3/\text{min}$, a powietrza około $360\text{cm}^3/\text{min}$. Po wykonaniu pomiaru fleometr odłączyć.



Rys. 6 Panel z zaworami detektora FID

Następnie za pomocą przycisku odpalamy podane gazy do detektora FID. Pamiętajmy, aby na czas odpalania detektora FID wyjąć z kominka teflonową rurkę zabezpieczającą.

Włączyć zasilanie elektrometru klawiszem oznaczonym **[DET]** **[B]** i **[ON]**.

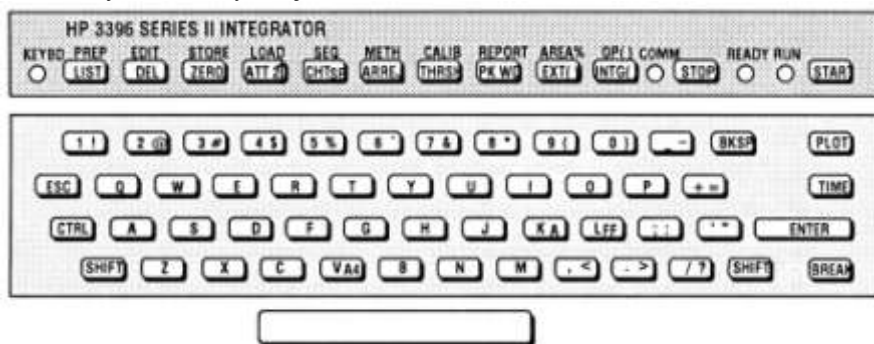
Włączenie integratora

Wyłącznik integratora znajduje się na tylnej ścianie z prawej strony, poniżej kabla zasilającego. Jest on oznaczony symbolem AC LINE. Po uruchomieniu integrator wykonuje test urządzenia - migają na przemian diody znajdujące się na klawiaturze.



Rys. 7 Wyłącznik zasilania integratora HP3396 znajdujący się na ścianie tylnej.

Klawiatura zastosowana w integratorze składa się z klawiszy funkcyjnych umieszczony w górnej części oraz w dolnej części z klawiatury alfanumerycznej.



Rys. 8 Klawiatura sterująca integratora HP3396

Kiedy dioda KEYBD świeci się zielonym kolorem zancy to, że integrator jest gotowy do pracy i można wprowadzić poniższe parametry.

- Ustawić szybkość przesuwu papieru na 0,5cm/min, korzystając z komendy **[CHT SP] 0.5 [ENTER]**
- Ustawić zakres czułości rejestrowanego chromatogramu na 11, korzystając z komendy: **[ATT2↑] 11 [ENTER]**
- Ustawić wartość powierzchni pików, które będą podlegać procesowi integracji na 600000 za pomocą komendy **[ARREJ] 600000 [ENTER]**
- Aby sprawdzić czy wprowadzone parametry zostały zaakceptowane przez integrator należy nacisnąć dwukrotnie przycisk **[LIST]**

Pobieranie i dozowanie próbek

Roztwory wzorcowe jak i badane próbki dozujemy na kolumnę chromatograficzną wykorzystując strzykawkę Hamilton 10 μ l. Próbkę dozujemy do dozownika mieszczącego się na **torze A** aparatu. Po zadozowaniu próbki aby rozpocząć pomiar należy na panelu sterującym chromatografu nacisnąć przycisk [START].

Wyznaczenie czasów retencji alkoholu metylowego i propylowego

Na początku wykonywanego ćwiczenia należy zmierzyć czasy retencji poszczególnych składników analizowanej mieszaniny. W tym celu dozujemy na kolumnę 0,5 μ l czystego alkoholu metylowego i odczytujemy czas retencji z wykonanego chromatogramu. W podobny sposób postępujemy z alkoholem n-propylowym.

Krzywa kalibracyjna

Wykonać chromatogramy n-propanolu w metanolu o stężeniach: 10%, 15%, 20%, 25% i 30% nastrzykując na kolumnę chromatograficzną próbkę o objętości 1 μ l. Pomiarów wykonać trzykrotnie, dozując na kolumnę zawsze tą samą objętość próbki.

Analiza próbki o nieznanym stężeniu

Wykonać chromatogram dwóch analiz o nieznanym stężeniu n-propanolu w metanolu dozując na kolumnę próbkę o objętości 1 μ l. Analizę powtórzyć trzykrotnie.



Gazy oraz chromatograf i integrator wyłącza prowadzący ćwiczenia asystent.

Opracowanie wyników

Sporządzić krzywą kalibracyjną przedstawiającą zależność powierzchni piku od stężenia dozowanej substancji wzorcowej. Z krzywej kalibracyjnej odczytać bezwzględną ilość n-propanolu w badanej próbce.