

WALIDACJA NISKOTEMPERATUROWEJ METODY CHROMATOGRAFICZNEJ ANALIZY SYNTETYCZNYCH CZYNNIKÓW CHŁODNICZYCH

Magdalena Wróbel-Jędrzejewska, Urszula Stęplewska

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

Zakład Technologii i Techniki Chłodnictwa

Al. J. Piłsudskiego 84, 92-202 Łódź

magdalena.jedrzejewska@och-ibprs.pl

Streszczenie

Przedstawiono kolejne etapy oceny opracowanej niskotemperaturowej metody chromatograficznej rozdziału syntetycznych czynników chłodniczych.

Wykazano, że opracowana metoda chromatograficzna pozwala na identyfikację kilkuskładnikowych mieszanin chłodniczych z dużą pewnością. Dokładność opracowanej metody scharakteryzowano za pomocą precyzji systemu dozowania oraz powtarzalności metody chromatograficznej. Stwierdzono wysoką powtarzalność czasu retencji oraz powierzchni pików dla analiz wykonanych tą samą metodą w jednakowych warunkach oznaczenia w ciągu tego samego dnia. Wyznaczono granicę wykrywalności i oznaczalności opracowanej metody, wykorzystując opracowane krzywe kalibracyjne czynników chłodniczych. Opracowana metoda ilościowej oceny czynników chłodniczych jest wysoce czuła, ze względu na niską granicę wykrywalności oraz oznaczalności.

Słowa kluczowe: syntetyczne czynniki chłodnicze, chromatografia gazowa, walidacja

VALIDATION OF LOW-TEMPERATURE CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS METHOD FOR SYNTHETIC REFRIGERANTS

Summary

The evaluation stages of the developed chromatographic method concerning low-temperature separation of synthetic refrigerants have been presented.

It has been shown that the developed method allows the chromatographic identification of synthetic refrigerants mixtures (multi-component) with great certainty. The accuracy of this method was characterized by the precision of dosing method and the repeatability of chromatographic method. High repeatability of retention times and peak areas for the analyzes

carried out by the same method in the same conditions within the same day, has been observed. The limit of detection and determination of this method has been estimated using developed calibration curves of synthetic refrigerants. The developed method for quantitative evaluation of refrigerants is highly sensitive, due to the low limit of detection and determination.

Key words: synthetic refrigerants, gas chromatography, validation

WSTĘP

Syntetyczne czynniki chłodnicze powodują, w przypadku wycieku z instalacji, niszczenie warstwy ozonowej i wzrost efektu cieplarnianego. W celu minimalizacji tych globalnych zagrożeń bardzo ważne jest jak najwcześniejsze wykrywanie nieszczelności powstałych w hermetycznych urządzeniach chłodniczych. Chromatografia gazowa jest główną i bezkonkurencyjną metodą identyfikacji i oceny ilościowej. Znajduje ona zastosowanie szczególnie w przypadku konieczności oznaczenia składu złożonych mieszanin substancji zarówno w pracach badawczych, jak i do bieżących lub ciągłych analiz przemysłowych. Podstawową cechą tej metody analitycznej jest selektywne rozdzielenie złożonych mieszanin na pojedyncze składniki.

W celu właściwego wykorzystania tej metody analitycznej konieczny jest dobór odpowiednich elementów układu chromatograficznego i optymalizacja parametrów analizy w celu uzyskania dobrego narzędzia do identyfikacji jakościowej i ilościowej konkretnych związków chemicznych [Fishbein 1973; Loon, Duffy 2007; Witkiewicz, Hetper 2009; Hierasimczyk i in. 2002]. W ramach realizowanych prac badawczych opracowano niskotemperaturową metodę oznaczania syntetycznych czynników chłodniczych [Wróbel-Jędrzejewska, Stęplewska 2014].

Celem pracy było eksperymentalne udokumentowanie stopnia wiarygodności metody analitycznej i wykazanie, że metoda ta jest przydatna do rozwiązania problemu badawczego.

Opracowaną metodę poddano walidacji w celu sprawdzenia, czy proces analizy według danej metody przebiega w sposób rzetelny i daje wiarygodne wyniki. W artykule tym opisano proces walidacji niskotemperaturowej metody chromatograficznej syntetycznych czynników chłodniczych.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Do najczęściej wykorzystywanych mieszanin syntetycznych czynników chłodniczych należą m.in. R401, R402, R404, R407, R409, R410, R413, R419, R422, R507. Wśród tych

substancji są mieszaniny azeotropowe (o określonym składzie procentowym kilku czynników o zbliżonej lotności) – R507, blisko-azeotropowe – R404 oraz zeotropy (o zróżnicowanej lotności składników) – pozostałe. Właściwości zeotropów sprawiają, że bardzo często dochodzi do zmian procentowych w ich składzie w obecności nieszczelności lub zmian temperatury. W tabeli 1 przedstawione zostały czynniki chłodnicze wykorzystane w badaniach jako substancje wzorcowe. Są to zarówno jednorodne chlorofluoropochodne węglowodorów, jak i mieszanki handlowe zawierające inne ich pochodne.

Tabela 1. Czynniki chłodnicze wykorzystane w naszych badaniach
Refrigerants used in our research

Nazwa	Skład mieszaniny	Zawartość procentowa
R12	CFC12	100
R22	HCFC22	100
R23	HFC23	100
R134a	HFC134a	100
R600a	izobutan	100
R402a	HFC125/ HC290/ HCFC22	60/2/38
R404a	HFC125/ HFC134a/ HFC143a	44/52/4
R407c	HFC32/HFC125/HFC134a	23/25/52
R410a	HFC32/ HFC125	50/50
R507a	HFC125/ HFC143a	50/50

Metodyka badań obejmowała analizę i ocenę wpływu parametrów na rozdział handlowych mieszanin syntetycznych czynników chłodniczych oraz modelowej mieszaniny czynników chłodniczych w warunkach niskich temperatur za pomocą opracowanej niskotemperaturowej metody chromatograficznej z wykorzystaniem chromatografu gazowego Clarus 500 firmy Perkin Elmer z usługą PPC, z detektorem FID, dozownikiem split/splitless (PSS), układem chłodzącym z CO₂.

WYNIKI I DYSKUSJA

Ocena metody chromatograficznej

Walidacja metody analitycznej obejmuje wykonanie zalecanych czynności, które polegają na eksperymentalnym udokumentowaniu stopnia wiarygodności metody analitycznej

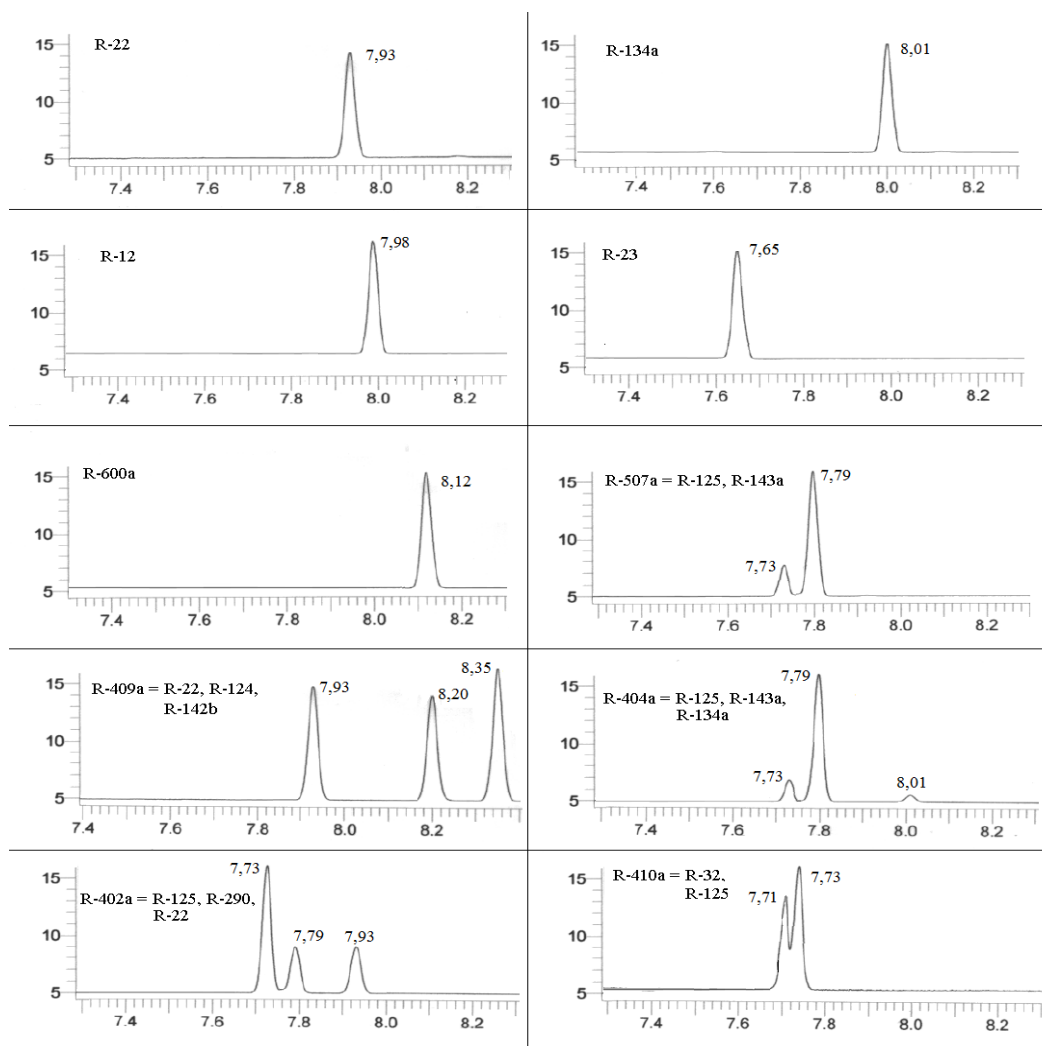
i wykazaniu, że metoda jest przydatna do rozwiązania danego zadania analitycznego.

W ocenie metody chromatograficznej i jakości rozdziału wybranych chlorofluorowęglowodorów wzięto pod uwagę specyficzność metody badawczej, jej precyzję związaną z precyzją systemu oraz powtarzalnością oznaczeń, jak również wykrywalność i granicę oznaczalności [Konieczka, Namieśnik 2004].

Specyficzność metody chromatograficznej

Specyficzność metody jest to zdolność do jednoznacznego oznaczenia analizowanej substancji w obecności przewidywanych składników [Konieczka, Namieśnik 2004]. Mogą to być zarówno zanieczyszczenia, jak i substancje towarzyszące o pokrewnych strukturach. Opracowana metoda powinna odróżnić od siebie poszczególne związki, jakie włącza się w zakres możliwej do wykonania identyfikacji. W tym celu wykonano analizę chromatograficzną gazów wzorcowych reprezentujących poszczególne czynniki chłodnicze, zarówno jednorodne, jak i kilkuskładnikowe mieszaniny chłodnicze (rysunek 1).

Wszystkie oznaczane czynniki są rejestrowane w postaci pików rozdzielonych substancji po upływie około 7 minut od czasu dozowania. Substancje wymywane są z kolumny w bardzo krótkim przedziale czasu. Wszystkie mieszaniny czynników chłodniczych ulegają rozdzielaniu na poszczególne składniki. W przypadku mieszaniny R409a, R404a, R507a oraz R402a piki są oddalone od siebie w sposób, który umożliwia ich swobodną identyfikację. W przypadku R410a obserwuje się częściowe nałożenie pików niektórych substancji. Są to R125, R32. Związki oznaczone jako R290, R143a wykazują niemalże jednakowy czas retencji. Analizując otrzymane chromatogramy mieszanin zawierających badane substancje, wyznaczono średnie czasy retencji (średnia z co najmniej trzech pomiarów). Przyjmując niepewność pomiaru czasu retencji, jako odchylenie standardowe $SD = 0,01$ min, oszacowano zakres czasów retencji wyznaczonych dla poszczególnych związków (tabela 1).



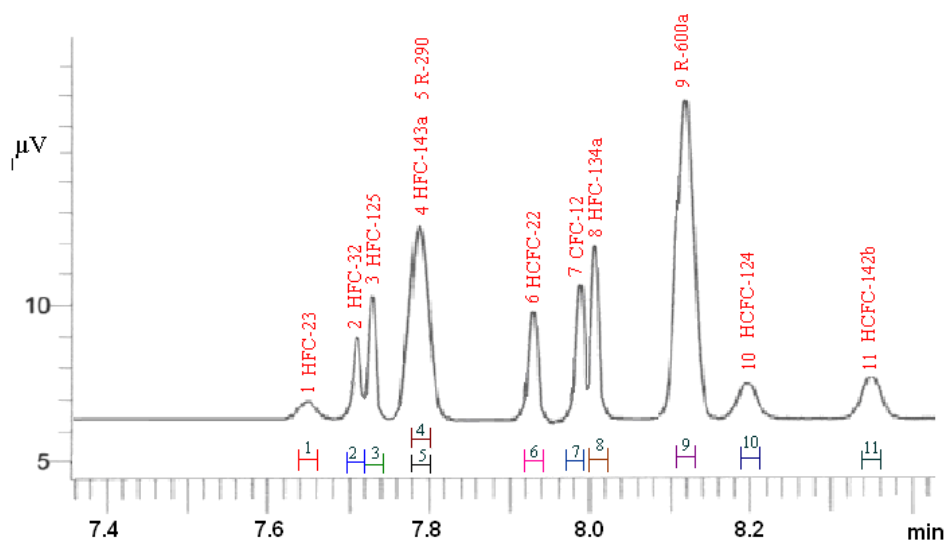
Rysunek 1. Chromatogramy czynników chłodniczych z wykorzystaniem opracowanej niskotemperaturowej metody
Chromatograms of refrigerants obtained from the developed low-temperature method

Tabela 1. Czasy retencji analizowanych czynników chłodniczych
Retention times of the examined refrigerants

Substancja	Symbol	T wrz [°C]	Czas retencji RT [min]	Szacowany zakres czasu retencji $\pm$ SD [min]
trifluorometan	R23	-82,0	7,65	7,64-7,66
difluorometan	R32	-51,7	7,71	7,70-7,72
pentafluoroetan	R125	-48,6	7,73	7,72-7,74
1,1,1-trifluoroetan	R143a	-47,4	7,79	7,78-7,80
propan	R290	-42,09	7,79	7,78-7,79
chlorodifluorometan	R22	-41,0	7,93	7,92-7,94
dichlorodifluorometan	R12	-30,0	7,98	7,97-7,99
1,1,1,2-tetrafluoroetan	R134a	-26,0	8,01	8,00-8,02
2-chloro-1,1,1,2-tetrafluoroetan	R124	-13,2	8,20	8,19-8,21
izobutan	R600a	-11,73	8,12	8,11-8,13
1-chloro-1,1-difluoroetan	R142b	-9,0	8,35	8,34-8,36

Kolejność, w jakiej związki wychodzą z kolumny, podyktowana jest głównie rosnącą temperaturą wrzenia oznaczanych węglowodorów. Obserwuje się ponadto silniejszy efekt wiązania w kolumnie dla czynników chlorowanych i wielohalogenowych, tj. R22 (CHClF_2) oraz R12 (CCl_2F_2), które wykazują dłuższy czas retencji niż przewidywany.

Wykonano próbę rozdziału modelowej mieszaniny zawierającej wszystkie oznaczane czynniki chłodnicze R23, R32, R125, R290, R143a, R134a, R12, R22, R600a, R124, R142b. Na rysunku 2 przedstawiono kolejność elucji oraz zobrazowano stopień nakładania się pików interferujących substancji. Uzyskano satysfakcjonujący rozdział analizowanej mieszaniny (11 syntetycznych czynników chłodniczych). Z zaprezentowanego chromatogramu wynika, że tylko dwie substancje z analizowanej modelowej mieszaniny współeluują. Natomiast czasy retencji analizowanych substancji nieznacznie się różnią, zatem dokładna identyfikacja w przypadku mieszaniny większej liczby przypadkowo wybranych czynników chłodniczych wymaga doświadczenia od analityka.



Rysunek 2. Chromatogram modelowej mieszaniny 11 czynników chłodniczych
Chromatogram of 11 refrigerants model mixture

Podsumowując, można stwierdzić, że opracowana metoda chromatograficzna pozwala na identyfikację kilkuskładnikowych mieszanin chłodniczych z dużą pewnością. Zatem przydatność metody do identyfikacji czynników chłodniczych ocenia się jako wysoką, zwłaszcza że w próbkach poddanych analizie nie zaobserwowano obecności innych, niezidentyfikowanych substancji.

Precyzja metody chromatograficznej

Precyzja metody jest to zmienność uzyskiwanych wyników analiz i charakteryzuje ją błąd losowy, może być zatem wyrażona odchyleniem standardowym lub jego pochodną względną, nazywaną współczynnikiem zmienności (RSD). Precyzja jest tym większa im odchylenie standardowe jest mniejsze [Konieczka, Namieśnik 2004]. Podczas określania precyzji danej metody chromatograficznej bierze się pod uwagę zarówno precyzję systemu, jak i powtarzalność metody chromatograficznej.

Precyzja systemu jest odzwierciedleniem powtarzalności dozowania, zazwyczaj więc określa sprawność dozownika automatycznego chromatografu (autosamplera). W omawianym przypadku parametr ten będzie określał dokładność metody dozowania. Precyzję systemu wyznaczono poprzez kolejne 6 powtórzeń analizy tej samej próbki przygotowanej z wzorca R404a ($C_p = 100\%$). Próbka została przygotowana w elastycznym pojemniku z tworzywa (PTFE) o pojemności 20 l, w stężeniu 100 ppm. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w tabeli 2. Wyznaczono odchylenie standardowe (SD) oraz współczynnik zmienności (RSD) dla najważniejszych parametrów odczytywanych w analizie chromatograficznej, którymi są

pole powierzchni pików oraz czas retencji (czas, po którym substancja jest rejestrowana w detektorze po wyjściu z kolumny). Zmienność pola powierzchni pików I wyrażona w postaci wartości średniej $X_{\text{sr}} \pm$ odchylenie standardowe SD ($1,75 \pm 0,02 \text{ mV*s}$) mieści się w przedziale ufności ($1,72\text{--}1,77 \text{ mV*s}$) przy poziomie istotności $\alpha=0,05$. Zmienność pola powierzchni pików II ($9,50 \pm 0,11 \text{ mV*s}$) mieści się w przedziale ufności ($9,37\text{--}9,62 \text{ mV*s}$) przy poziomie istotności $\alpha=0,05$. Zmienność pola powierzchni pików III ($0,305 \pm 0,004 \text{ mV*s}$) mieści się w przedziale ufności ($0,300\text{--}0,309 \text{ mV*s}$) przy poziomie istotności $\alpha=0,05$.

Powtarzalność metody jest precyzją wyników analiz wykonywanych w krótkim przedziale czasowym. Wskazuje, jaki błąd należy uwzględnić, wykonując analizy z użyciem danej metody chromatograficznej. Wyznacza się ją, przeprowadzając 6-krotną analizę próbek przygotowanych w jednakowy sposób w tym samym laboratorium, przez tego samego analityka, na tym samym przyrządzie i w tym samym dniu. W tym celu wykonano analizę 6 jednakowo przygotowanych próbek, które przygotowano za pomocą pipety do gazu o pojemności 1 l w stężeniu 100 ppm R404a według opracowanej metody [Wróbel-Jędrzejewska, Stęplewska 2014]. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w tabeli 3. Współczynniki zmienności są tylko niewiele większe od RSD wyznaczonych dla precyzji systemu (w przypadku I pików – 1,63% i 0,08% w stosunku do 1,28% i 0,04%). Granica błędów powierzchni pików wyrażona w postaci $X_{\text{sr}} \pm$ SD ($1,75 \pm 0,03 \text{ mV*s}$) zawiera się w przedziale ufności wyznaczonym dla danych warunków doświadczenia ($1,72\text{--}1,78 \text{ mV*s}$). Analogiczne wyniki otrzymano dla pozostałych pików. Uzyskane wyniki przedstawiają wysoką powtarzalność czasu retencji oraz powierzchni pików dla analiz wykonanych tą samą metodą w jednakowych warunkach oznaczenia w ciągu tego samego dnia.

Tabela 2. Ocena precyzji systemu dla analizy R404a
Evaluation of system precision for R404a analysis

		PIK I		PIK II		PIK III	
		Xi	RT	Xi	RT	Xi	RT
	nr oznaczenia	powierzchnia piku I [mV * s]	czas retencji [min]	powierzchnia piku II [mV * s]	czas retencji [min]	powierzchnia piku III [mV * s]	czas retencji [min]
	1	1,74165	7,726	9,52765	7,801	0,30093	7,999
	2	1,77454	7,725	9,61352	7,808	0,30418	7,997
	3	1,76132	7,727	9,55034	7,806	0,30808	8,005
	4	1,74035	7,730	9,52039	7,809	0,30904	8,004
	5	1,71314	7,733	9,47851	7,811	0,30593	7,998
	6	1,76612	7,728	9,28791	7,805	0,29950	8,003
	parametry obliczone:						
średnia	$X_{\bar{s}}$	1,74952	7,72817	9,49639	7,80667	0,30461	8,00100
odchylenie standardowe	SD	0,02241	0,00293	0,11133	0,00350	0,00383	0,00341
względne odchylenie standardowe	S_r	0,01281	0,00038	0,01172	0,00045	0,01257	0,00043
współczynnik zmienności	RSD	1,28074	0,03787	1,17229	0,04486	1,25651	0,04257
odchylenie średniej (niepewność standardowa)	S_x	0,01002	0,00131	0,04979	0,00157	0,00171	0,00152
wartość kryt. rozkładu t-Studenta	$t_{(0,05;5)}$	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
	$t_{(0,05;5)} * S_x$	0,02576	0,00337	0,12800	0,00403	0,00440	0,00392
przedział ufności wartości średniej	$\bar{X} \pm t_{(0,05)} * S_x$	1,724-1,775	7,725-7,731	9,368-9,624	7,802-7,811	0,300-0,309	7,997-8,005

Tabela 3. Ocena powtarzalności metody chromatograficznej dla analizy R404a
Evaluation of the chromatographic method repeatability for R404a analysis

		PIK I		PIK II		PIK III	
		Xi	RT	Xi	RT	Xi	RT
	nr oznaczenia	powierzchnia piku I [mV * s]	czas retencji [min]	powierzchnia piku II [mV * s]	czas retencji [min]	powierzchnia piku III [mV * s]	czas retencji [min]
	1	1,74126	7,725	9,48746	7,800	0,30538	8,006
	2	1,76674	7,740	9,63257	7,804	0,29860	8,008
	3	1,77632	7,726	9,61883	7,812	0,31051	7,996
	4	1,74087	7,727	9,51455	7,812	0,31277	7,999
	5	1,70225	7,727	9,19172	7,813	0,31005	7,998
	6	1,77632	7,720	9,54305	7,803	0,31086	8,009
	parametry obliczone:						
średnia	$\bar{X}_{\text{sr}}$	1,75063	7,72750	9,49803	7,80733	0,30803	8,00267
odchylenie standardowe	SD	0,02865	0,00666	0,16058	0,00565	0,00523	0,00565
względne odchylenie standardowe	S_r	0,01636	0,00086	0,01691	0,00072	0,01697	0,00071
współczynnik zmienności	RSD	1,63637	0,08613	1,69067	0,07230	1,69721	0,07054
odchylenie średniej (niepewność standardowa)	S_x	0,01281	0,00298	0,07181	0,00252	0,00234	0,00252
wartość kryt. rozkładu t-Studenta	$t_{(0,05;5)}$	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
	$t_{(0,05;5)} * S_x$	0,03294	0,00765	0,18463	0,00649	0,00601	0,00649
przedział ufności wartości średniej	$\bar{X} \pm t_{(0,05)} * S_x$	1,718-1,783	7,720-7,735	9,313-9,683	7,801-7,814	0,302 - 0,314	7,996-8,009

Granica wykrywalności i oznaczalności metody chromatograficznej

Istnieje wiele metod określania granicy wykrywalności i oznaczalności metody. Znajomość tych charakterystyk dostarcza informacji o sprawności danej metody analitycznej. Granicą wykrywalności (LOD) nazywamy najmniejsze stężenie analitu w próbce, które może być wykryte (niekoniecznie oznaczone) w danych warunkach eksperymentalnych. Wykrywalna ilość substancji wzbudza widoczny na chromatogramie sygnał detektora w stosunku 3:1 sygnału poszumu linii podstawowej [Konieczka, Namieśnik 2004].

Granica oznaczalności (LOQ) jest najmniejszym stężeniem substancji w próbce, które może być dokładnie oznaczone ilościowo w danych warunkach eksperymentalnych. Przyjmuje się, iż granica oznaczalności to ilość substancji, jaka wzbudza sygnał detektora w stosunku 10:1 wysokości pików do wielkości sygnału szumu linii bazowej.

W literaturze podawane są różne formuły na wyznaczanie granic wykrywalności LOD i oznaczalności LOQ, stąd wyniki obliczeń tych parametrów będą się różnić, w zależności od zastosowanego wzoru. Wartości LOD oraz LOQ różnić się będą również dla rodzaju analizowanych substancji ze względu na zróżnicowaną czułość detektora FID względem poszczególnych chlorofluorowęglowodorów [Witkiewicz, Hetper 2009]. W celu wyznaczenia granicy wykrywalności konieczne jest wyznaczenie krzywych kalibracyjnych dla konkretnego składnika w danej mieszaninie syntetycznego czynnika chłodniczego. Stężenie odpowiadające danej powierzchni pików badanej próbki wyznacza się kolejno z poniższych krzywych kalibracyjnych poszczególnych składników. Poniżej podano równania dla poszczególnych składników czynnika R404a:

$$x \text{ [mV*s]} = C_{R125} \text{ [}\mu\text{l/l]} * 0,036 - 0,056$$

$$x \text{ [mV*s]} = C_{R143a} \text{ [}\mu\text{l/l]} * 0,088 + 0,00001$$

$$x \text{ [mV*s]} = C_{R134a} \text{ [}\mu\text{l/l]} * 0,063 + 0,017$$

Biorąc pod uwagę rozrzut stężeń przykładowego składnika R134a wyznaczonych z użyciem powyższej metody dla kilku powtórzeń, możemy wyznaczyć odchylenie standardowe stężenia czynnika R134a (tabela 4).

Tabela 4. Obliczenia dla składnika R134a z 3-składnikowej mieszanki R404a
Calculations for R134a component in R404a mixture (3-component)

Lp.	czynnik	A (mVxs)	C (μl/l=%v/v)	SD (μl/l=%v/v)
1	R134a	0,30093	4,51	0,06
2		0,30418	4,56	
3		0,30808	4,62	
4		0,30904	4,64	
5		0,30593	4,59	
6		0,29950	4,48	

Wykonując analizę ilościową, należy wyznaczyć wartości granicy wykrywalności oraz oznaczalności, jako ostatni punkt oceny metody chromatograficznej. Znając współczynnik kierunkowy prostej dla danej substancji oraz wartość odchylenia standardowego stężenia określonego składnika mieszaniny bądź czynnika jednorodnego, możemy w łatwy sposób dokonać oceny granicy wykrywalności i oznaczalności.

$$\text{LOD} = 3 \cdot \text{SD} / b$$

$$\text{LOQ} = 10 \cdot \text{SD} / b$$

gdzie:

LOD – granica wykrywalności

LOQ – granica oznaczalności

SD – wartość odchylenia standardowego (wyznaczone w badaniu powtarzalności metody)

b – współczynnik nachylenia krzywej (wyznaczony w badaniu liniowości)

$$\text{LOD}_{\text{R134a}} = 3 \cdot 0,06 \text{ (}\mu\text{l/l)} / 0,063 = 2,86 \text{ }\mu\text{l/l}$$

$$\text{LOQ}_{\text{R134a}} = 10 \cdot 0,06 \text{ (}\mu\text{l/l)} / 0,063 = 9,52 \text{ }\mu\text{l/l}$$

Uwzględniając dokładną ilość dozowanej próbki do analizy chromatograficznej według metody dozowania za pomocą pętli dozującej [Wróbel-Jędrzejewska, Stęplewska 2014], wyznaczono wartości LOD oraz LOQ w jednostce objętości [μl] czynnika chłodniczego oraz wielkość pętli dozującej 0,5 ml, czyli 500 μl , i najmniejsze wykrywalne stężenie (LOD) R134a równe 2,86 $\mu\text{l/l}$, czyli 2,86 $\mu\text{l}/1000000 \text{ }\mu\text{l}$.

$$2,86 \text{ }\mu\text{l} - 1\,000\,000 \text{ }\mu\text{l}$$

$$\times \text{ }\mu\text{l} - 500 \text{ }\mu\text{l}$$

$$\text{LOD} [\mu\text{l}] = 0,00143 \text{ }\mu\text{l} = 1,43 \text{ nl}$$

Postępując analogicznie – granica oznaczalności (LOQ [nl]) wynosi 4,76 nl.

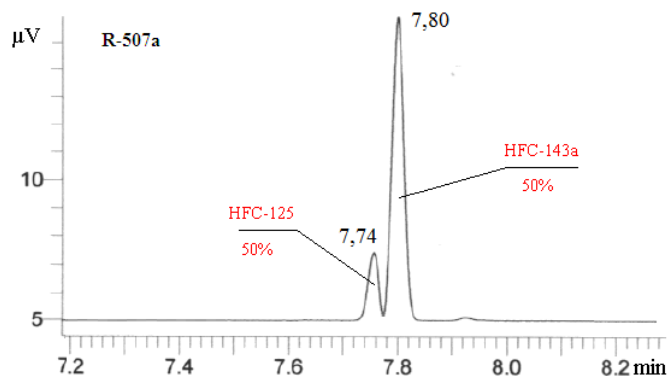
Na podstawie przeprowadzonych badań i wyliczeń opracowaną metodę ilościowej oceny czynników chłodniczych można oceniać jako wysoce czułą, ze względu na niską granicę wykrywalności oraz oznaczalności. Dzięki niej możliwe jest określenie zawartości procentowej składników mieszanin czynników chłodniczych.

Krzywe kalibracyjne mieszanin syntetycznych czynników chłodniczych

Analiza ilościowa umożliwia oznaczenie zawartości poszczególnych składników w próbce i jej jakość zależy od identyfikacji analizowanych substancji, a więc od rozdziału tej próbki na poszczególne składniki. Istotą tej analizy jest porównywanie wielkości piku oznaczanego składnika z wielkością piku odpowiadającego znanej ilości tego składnika w substancji wzorcowej. Wysokość i powierzchnia piku są bowiem proporcjonalne do ilości chromatografowanej substancji [Witkiewicz 1992; Szepes 1970; Witkiewicz, Hetper 2009].

Na tej podstawie oblicza się masę lub stężenie oznaczanego składnika próbki. Znane są metody analizy ilościowej opartej na wysokości pików lub jego powierzchni. Ponieważ wysokość pików różni się często dla tej samej ilości danej substancji np. z powodu niewielkich zmian szybkości gazu nośnego, parametr ten nie jest korzystny z punktu widzenia poprawności wyników. Zatem w analizie ilościowej częściej wykorzystuje się powierzchnię pików, która obliczana jest automatycznie przez komputer.

Z przeprowadzonej analizy dostępnych sposobów wykonywania oceny ilościowej chlorofluorowęglowodorów z użyciem detektora płomieniowo-jonizacyjnego wynika, że metoda normalizacji wewnętrznej nie może być zastosowana ze względu na rodzaj użytego detektora. Przewiduje ona bowiem pomiar i sumowanie powierzchni wszystkich pików na chromatogramie, po czym zawartość procentową oznaczanej substancji wyznacza się ze stosunku powierzchni jej pików do sumy powierzchni wszystkich pików w próbce. Detektor płomieniowo-jonizacyjny ma tę wadę, że jego odpowiedź nie jest równomierna w stosunku do tych samych ilości różnych węglowodorów. W przypadku tego detektora zalecana jest indywidualna kalibracja dla różnych substancji [Berthillier 1975; Dressler 1986]. Potwierdzeniem tego faktu jest analiza mieszaniny dwuskładnikowej R507 o zawartości składników w proporcjach 50%:50% (rysunek 3), w której uzyskuje się piki o różnych wielkościach. Nie można zatem na tej podstawie sądzić o proporcjonalnej zawartości poszczególnych związków w analizowanej próbce.



Rysunek 3. Chromatogram dwuskładnikowej mieszaniny R507 (R125 – 50%, R143a – 50%)
Chromatogram of R507 mixture (2-component)

Bardziej odpowiednia w tym przypadku jest metoda kalibracji wewnętrznej (nazywana też metodą wzorca zewnętrznego). Polega ona na sporządzeniu krzywej wzorcowej za pomocą dozowania różnych ilości substancji wzorcowej odpowiadającej oznaczanej substancji. Dozowanie każdej próbki o innym stężeniu przeprowadza się 2–3 razy [Witkiewicz 1992; Witkiewicz, Hetper 2009]. Na podstawie otrzymanych średnich wielkości

rysuje się wykres zależności powierzchni pików od stężenia substancji wprowadzonej do kolumny.

W celu określenia dokładnych zmian ilości danego składnika mieszaniny chłodniczej, wyrażonych w postaci x procent wagowych, należy wykonać obliczeniową krzywą kalibracyjną, np. w zakresie od 100 ppm do 400 ppm (co 100 ppm). Poniżej przedstawiono przykładowe obliczenia dla czynnika R407c i R404a. W tabeli 5 zebrano niezbędne parametry dotyczące przeprowadzonej analizy. Natomiast w tabeli 6 umieszczono rezultaty przeliczenia stężenia składników R407c i R404a w próbce o odpowiednim rozcieńczeniu.

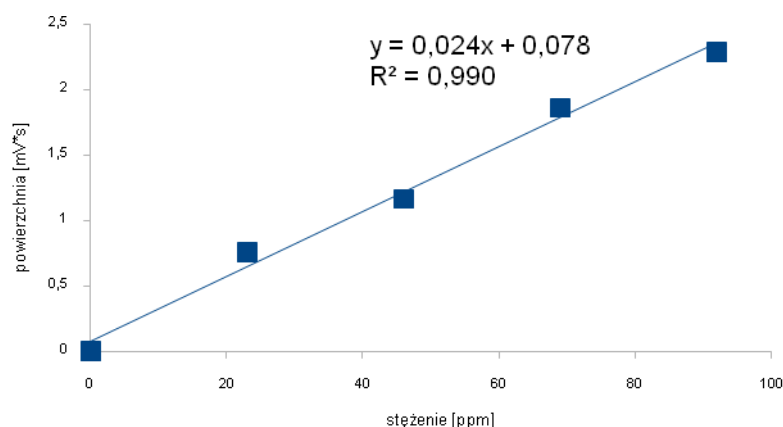
Dla każdego z rozcieńczeń substancji wzorcowej, na podstawie powierzchni pików poszczególnych składników uzyskanych w wyniku analizy chromatograficznej (tabela 5), przyporządkowano i wyliczono odpowiadające im stężenie. Niezbędną w tym celu krzywą kalibracyjną wykonano dla każdego ze składników według wartości stężenia z tabeli 5 i 6. Uzyskana dla każdego składnika mieszaniny czynnika chłodniczego (R407c i R404a) krzywa kalibracyjna przedstawiona została odpowiednio na rysunkach 4–9.

Tabela 5. Parametry chromatograficzne (czas retencji i powierzchnia pików) dla różnych stężeń czynnika chłodniczego R407c i R404a
Chromatographic parameters (retention time and peak area) for different concentration of R407c and R404a

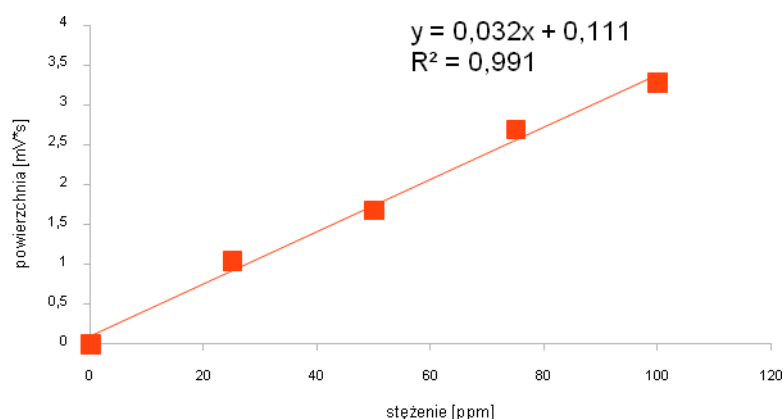
Stężenie mieszaniny	R407c			R404a		
	Składnik	Czas retencji [min]	Powierzchnia [mV*s]	Składnik	Czas retencji [min]	Powierzchnia [mV*s]
100 ppm	R32	7,74	0,76	R125	7,72	1,75
	R125	7,77	1,05	R143a	7,78	9,50
	R134a	8,00	3,89	R134a	7,99	0,31
200 ppm	R32	7,74	1,17	R125	7,72	2,87
	R125	7,77	1,68	R143a	7,78	16,21
	R134a	8,00	6,08	R134a	7,99	0,50
300 ppm	R32	7,74	1,87	R125	7,72	4,65
	R125	7,77	2,69	R143a	7,78	24,20
	R134a	8,00	9,98	R134a	7,99	0,77
400 ppm	R32	7,74	2,3	R125	7,72	6,65
	R125	7,77	3,28	R143a	7,78	35,21
	R134a	8,00	11,47	R134a	7,99	1,03

Tabela 6. Stężenia składników R407c i R404a w próbce o odpowiednim rozcieńczeniu
Concentrations of the components R407c and R404a in a sample of a given dilution

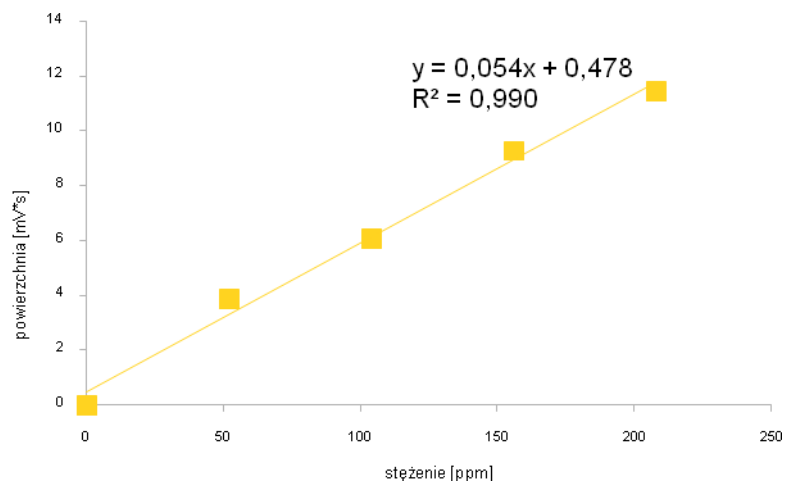
Stężenie próbki, C (μl/l) lub (ppm)	Stężenie składnika C (μl/l) lub (ppm)	Stężenie składnika C (μl/l) lub (ppm)	Stężenie składnika C (μl/l) lub (ppm)
R407c	R32	R125	R134a
100	23	25	52
200	46	50	104
300	69	75	156
400	92	100	208
R404a	R125	R143a	R134a
100	44	52	4
200	88	104	8
300	132	156	12
400	176	208	16



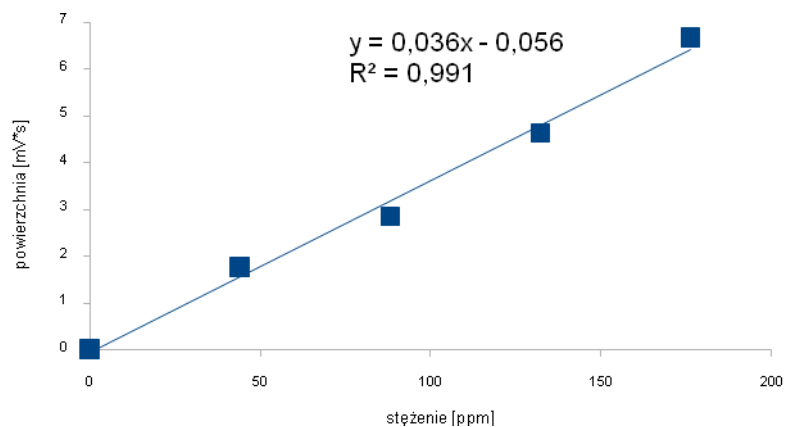
Rysunek 4. Krzywa kalibracyjna dla R32 w mieszaninie R407c
Calibration curve for R32 in the R407c mixture



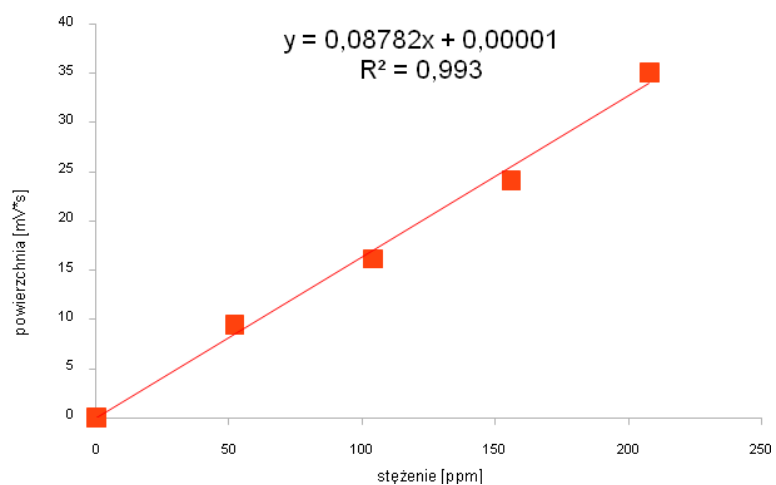
Rysunek 5. Krzywa kalibracyjna dla R125 w mieszaninie R407c
Calibration curve for R125 in the R407c mixture



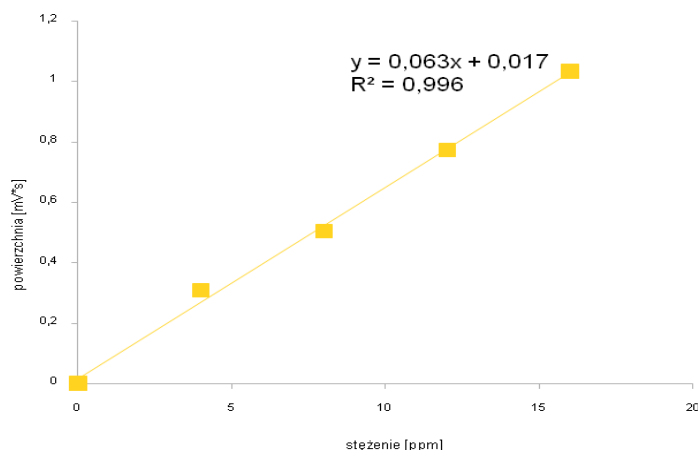
Rysunek 6. Krzywa kalibracyjna dla R134a w mieszaninie R407c
Calibration curve for R134a in the R407c mixture



Rysunek 7. Krzywa kalibracyjna dla R125 w mieszaninie R404a
Calibration curve for R125 in the R404a mixture



Rysunek 8. Krzywa kalibracyjna dla R143a w mieszaninie R404a
Calibration curve for R143a in the R404a mixture



Rysunek 9. Krzywa kalibracyjna dla R134a w mieszaninie R404a
Calibration curve for R134a in the R404a mixture

Znając współczynniki z wyznaczonych równań (rysunki 4–9), można w łatwy sposób – po analizie czynnika (R407c, R404a) – skontrolować skład procentowy poszczególnych składników oraz zidentyfikować rozbieżności.

Wyznaczone krzywe kalibracyjne dla poszczególnych składników mieszaniny R407c wynoszą odpowiednio:

- dla czynnika chłodniczego R32: $A = 0,024 * c + 0,078$
- dla czynnika chłodniczego R125: $A = 0,032 * c + 0,111$
- dla czynnika chłodniczego R134a: $A = 0,054 * c + 0,478$

a dla R404a:

- dla czynnika chłodniczego R125: $A = 0,036 * c - 0,056$
- dla czynnika chłodniczego R143a: $A = 0,088 * c + 0,00001$
- dla czynnika chłodniczego R134a: $A = 0,063 * c + 0,017$

Przekształcając powyższe zależności i znając z badań chromatograficznych powierzchnie poszczególnych pików (A), można wyznaczyć stężenie poszczególnych składników (c) analizowanej próbki i następnie wyliczyć ich procent w mieszaninie konkretnego czynnika chłodniczego.

WNIOSKI

Opracowana metoda [Wróbel-Jędrzejewska, Stęplewska 2014] pozwala na uzyskanie rozdziału mieszanin czynników chłodniczych (R402a, R404a, R409a, R407c, R410a, R413a, R422d, R507a). Wszystkie zbadane czynniki chłodnicze były rejestrowane w postaci pików

rozdzielonych substancji po upływie około 7 minut od czasu dozowania. Wyznaczono średnie czasy retencji. Uzyskano satysfakcjonujący rozdział analizowanej mieszaniny 11-składnikowej syntetycznych czynników chłodniczych (R23, R32, R125, R290, R143a, R134a, R12, R22, R600a, R124, R142b).

Opracowana metoda chromatograficzna pozwala na identyfikację kilkuskładnikowych mieszanin chłodniczych z dużą pewnością. Dokładność opracowanej metody scharakteryzowano za pomocą precyzji systemu oraz powtarzalności. Stwierdzono wysoką powtarzalność czasu retencji oraz powierzchni pików dla analiz wykonanych tą samą metodą w jednakowych warunkach oznaczenia w ciągu tego samego dnia. Wyznaczono granicę wykrywalności i oznaczalności opracowanej metody, wykorzystując opracowane krzywe kalibracyjne czynników chłodniczych. Opracowana metoda ilościowej oceny czynników chłodniczych jest wysoce czuła ze względu na niską granicę wykrywalności oraz oznaczalności.

Wyznaczone krzywe kalibracyjne mieszanin syntetycznych czynników chłodniczych umożliwiają analizę ilościową tych substancji, a więc mogą być wykorzystane do skontrolowania składu procentowego poszczególnych składników oraz zidentyfikowania możliwych rozbieżności.

PIŚMIENNICTWO

1. Berthillier A. (1975). Chromatografia i jej zastosowania. Warszawa: PWN
2. Dressler M. (1986). Selective gas chromatographic detectors. Journal of Chromatography Library, 36
3. Fishbein L. (1973). Chromatography of environmental hazards. Met. Gaseous and industrial pollutants. Chapter 21: Chlorinated aliphatic hydrocarbons
4. Hierasimczyk K., Wardencki W., Namieśnik J. (2002). Chemia Analityczna, Chromatografia. Politechnika Gdańska
5. Konieczka P., Namieśnik J. (2004). Ocena i kontrola jakości wyników analitycznych. Gdańsk, Centrum doskonalenia analizy i monitoringu środowiskowego
6. Loon G. W., Duffy S. J. (2007). Chemia środowiska. PWN
7. Szepes L. (1970). Gas Chromatography by Szepes L. Kiado Akademiai, Budapest
8. Witkiewicz Z. (1992). Podstawy chromatografii. Warszawa: WNT
9. Witkiewicz Z., Hetper J. (2009). Chromatografia gazowa. Warszawa: WNT

10. Wróbel-Jędrzejewska M., Stęplewska U. (2014). Opracowanie metody niskotemperaturowego rozdziału chromatograficznego syntetycznych czynników chłodniczych. *Post. Nauki Technol. Przem. Rol.-Spoż.*, 69 (2), 37-43