

CAMERA SEPARATORIA

Volume 10, Number 2 / 2018, pp. 105-114

Piotr RYBARCZYK, Patrycja MAKOŚ, Marian KAMIŃSKI*

Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii Procesowej i Technologii Chemicznej, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

*Autor do korespondencji: markamin@pg.edu.pl

Zastosowanie dwukolumnowej adsorpcyjnej chromatografii gazowej do rozdzielania i oznaczania gazów powstających podczas fermentacyjnego wytwarzania bio-wodoru

Streszczenie: Bio-wodór może być otrzymywany m.in. w wyniku przetwarzania biomasy ligno-celulozowej (BMLC) w procesach fermentacji ciemnej, realizowanej w atmosferze beztlenowej, lub o niskiej zawartości tlenu, najczęściej w atmosferze azotu. Ważne znaczenie w badaniach optymalizacji warunków ciemnej fermentacji ma analityka składu powstających w procesie mieszanin gazów, które - poza wodorem, zawierają głównie: CO₂, CH₄ oraz niewielkie stężenia O₂. Wyniki wcześniejszych naszych badań pokazują, że z wykorzystaniem długiej (6.5 m) kolumny pakowanej adsorbentem Porapak Q o ziarnach wypełnienia 100 – 120 MESH, przy zastosowaniu azotu jako gazu nośnego, możliwe jest rozdzielanie w warunkach izotermicznych oraz oznaczenie w/w składników w mieszanin gazowych z wykorzystaniem detektora ciepłno-przewodnościowego (TCD), przy czasie analizy ok. 10 minut. W niniejszej pracy przedstawiono układ aparatu, porównawcze wyniki rozdzielania oraz korzystną metodykę analityczną oznaczania w/w składników gazowych z zastosowaniem dwóch równolegle usytuowanych i stosowanych naprzemiennie kolumn pakowanych, jednej z polimerowym adsorbentem typu Porapak Q oraz drugiej z sitem molekularnym 5 A. Porównano zastosowanie azotu albo helu jako gazu nośnego. Zastosowano dwa szeregowo połączone detektory – detektor ciepłno-przewodnościowy o średniej czułości oraz detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID), charakteryzujący się niskim progiem wykrywalności i możliwością oznaczania śladowych zawartości lotnych węglowodorów i innych lotnych organicznych składników obecnych w gazie fermentacyjnym, także innego typu niż pochodzącym z fermentacji ciemnej. Studia i badania tej pracy doprowadziły do wniosków, dotyczących korzystnych zasad postępowania w zakresie analityki mieszanin gazowych z fermentacji ciemnej i innego rodzaju fermentacji, zarówno w zakresie w/w głównych składników mieszanin gazowych obecnych w gazach fermentacyjnych, jak i w zakresie badania śladowych zawartości w gazach fermentacyjnych takich składników, jak CO, COS, NH₃, PH₃, SO₂ oraz różnych lotnych związków organicznych, obecnych nad płynną powierzchnią w bioreaktorze fermentacji.

Słowa kluczowe: procesy fermentacyjne; otrzymywanie biopaliw gazowych lub ciekłych; bio-wodór; analityka techniczna procesowa składu fazy gazowej; adsorpcyjna chromatografia gazowa

Application of dual-column gas chromatography for separation and determination of gas mixtures formed during fermentative bio-hydrogen formation processes

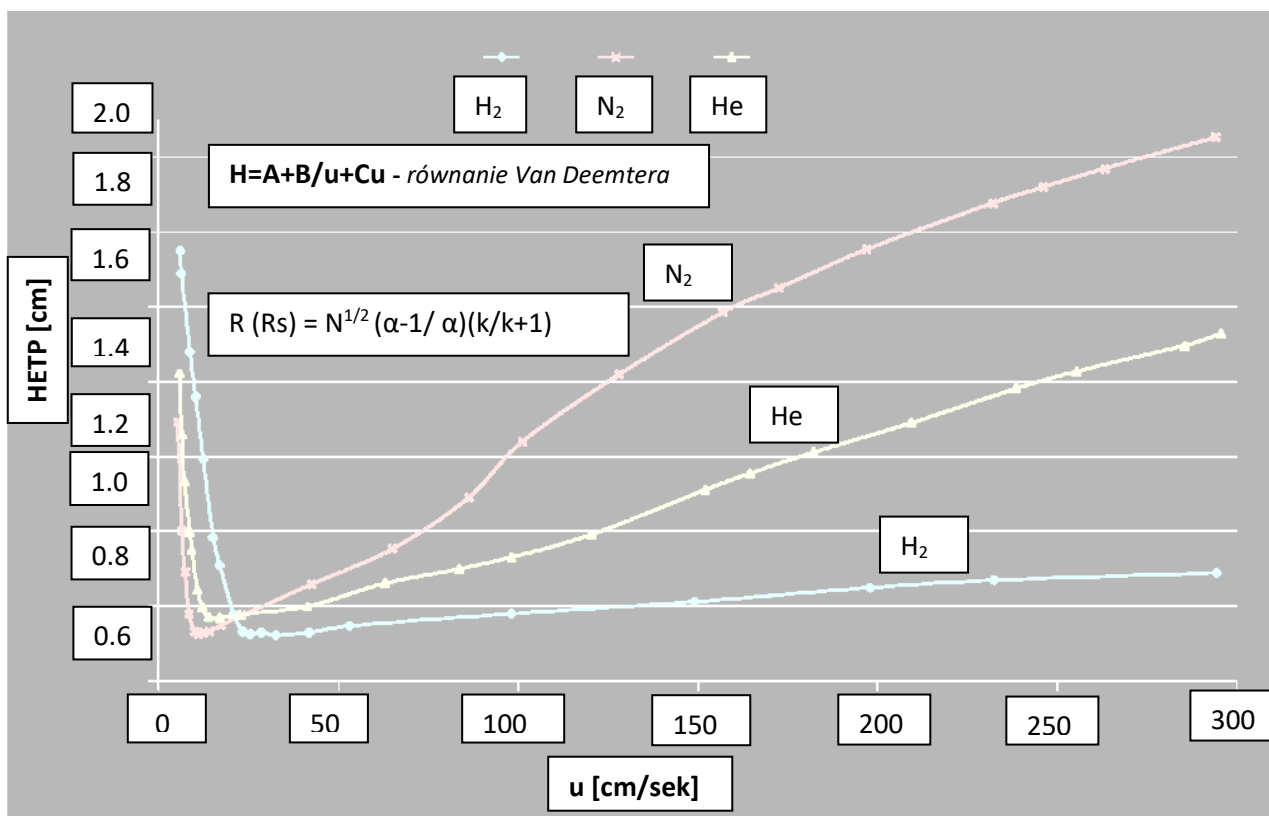
Abstract: Bio-hydrogen can be obtained e.g. as a result of processing of ligno-cellulosic biomass (BMLC) in so-called dark fermentation, carried out in an anaerobic atmosphere or with low oxygen content, most often in a nitrogen atmosphere. The analytical composition of the gas mixtures formed in the process, H₂, CO₂, CH₄ and low concentrations of O₂ is extremely important in the perspective of the dark fermentation optimization. Our previous research results show that using a column packed with Porapak Q adsorbent with packing grains of 100 - 120 MESH and using nitrogen as the carrier gas, it is possible to fully separate under isothermal conditions and determine the components of the gas mixtures tested using a thermal conductivity detector (TCD) with an analysis time of about 10 minutes. This work presents the apparatus layout, comparative separation results and a favorable analytical methodology for determining the aforementioned gaseous components using two packed columns arranged in parallel and used alternately, one with a Porapak Q type polymer adsorbent and the other with granular zeolite, the so-called 5 A molecular sieve. The use of nitrogen or helium as a carrier gas was compared. Two detectors connected in series were used - a universal thermal conductivity detector of medium sensitivity and a flame ionization detector (FID), enabling highly sensitive detection and trace determination content of volatile hydrocarbons and other volatile organic components present in the fermentation gas, also other than those originated during the dark fermentation. The presented studies and research of this work have led to conclusions regarding favorable rules of conducting the analysis of gas mixtures from dark fermentation and other types of fermentation, both in terms of the above-mentioned main components of gas mixtures present in fermentation gases, as well as in the field of testing trace content in fermentation gases with emphasis on CO, COS, NH₃, PH₃, SO₂ and various volatile organic compounds found above the liquid surface in the fermentation bioreactor.

Key words: fermentative processes, generation of gaseous or liquid biofuels, bio-hydrogen, technical process analytics of gas phase composition, adsorption gas chromatography

1. Wstęp (Introduction)

Fermentacyjne otrzymywanie gazowych, lub ciekłych bio-paliw z odpadowej biomasy ligno-celulozowej jest ostatnio przedmiotem bardzo intensywnych badań na całym świecie. Przy czym, szczególne znaczenie ma jednocześnie sprzężenie z procesem bio-rafinacji, zapewniającym możliwość otrzymywania wielu cennych organicznych związków chemicznych, prekursorów leków, polimerów biodegradowalnych i innych produktów. Bakteryjna fermentacja ciemna jest obiecującą biologiczną metodą otrzymywania bio-wodoru z biomasy ligno-celulozowej. W procesie tym stosunek energii uzyskiwanej wobec dostarczonej wynosi 1,9, podczas gdy np. dla reformingu parowego wynosi on jedynie 0,64 [1]. W procesie fermentacji ciemnej, substraty węglowodanowe ulegają przetwarzaniu przez bakterie w toku fermentacji beztlenowej i przy braku dostępu światła. Substratami do tego procesu mogą być cukry proste, a także celuloza lub skrobia, które są uprzednio przekształcane w monosacharydy w wyniku hydrolizy [2, 3].

Zależnie od szczepów mikroorganizmów stosowanych w procesie fermentacji ciemnej, można oczekiwać określonych, różnych produktów gazowych. Biorąc pod uwagę znane szlaki metaboliczne, w przypadku zastosowania czystych kultur *E. aerogenes* ATCC 3502 otrzymuje się mieszaninę H_2 , O_2 , CO_2 i CH_4 w różnych proporcjach tych składników [4]. Badania prowadzone w zespole badawczym autorów [5], a także wiele badań opublikowanych w literaturze przedmiotu, wykazały, że analityka składu fazy gazowej tworzącej się w procesie wodorowej fermentacji ciemnej, a także, w innych procesach fermentacyjnych, ma podstawowe znaczenie dla oceny poprawności przebiegu procesu. Uwagę zwraca okoliczność, że w wielu pracach dotyczących otrzymywania bio-wodoru w procesie fermentacji ciemnej, autorzy oznaczają jedynie stężenie wodoru w fazie gazowej. Podejście takie wydaje się bardzo wybiórcze. Informacja na temat szczegółowego składu fazy gazowej powstającej w procesie fermentacji ciemnej, jest istotna z punktu widzenia wyjaśnienia rodzaju przemian biochemicznych zachodzących w trakcie procesu, tzn. może stanowić podstawę do głębszego wyjaśnienia mechanizmu otrzymywania bio-wodoru z biomasy ligno-celulozowej.



Rys. 1. Nałożenie krzywych Van Deemtera dla trzech gazów nośnych dla kolumny o średnicy wewnętrznej 0,53 mm [8].
Fig. 1. A comparison of Van Deemter plots for three carrier gases for a 0.53 mm ID capillary column [8].

We wcześniejszej pracy [4] opisano metodykę rozdzielania i oznaczania w/w. składników gazowych powstających w procesach ciemnej fermentacji wodorowej, z zastosowaniem chromatografii gazowej oraz długiej, pakowanej kolumny wypełnionej polimerycznym porowatym adsorbentem Porapak Q, z detektorem ciepło-przewodnościowym i z azotem jako gazem nośnym. Azot jest znacznie mniej kosztowny od helu.

Zapewnia też znacznie niższe wartości granicy wykrywalności podczas oznaczania wodoru z zastosowaniem TCD, w porównaniu do helu. Azot ma, jednak, wyraźnie wyższą lepkość od helu. Stąd optymalna prędkość przepływu gazu nośnego (u), odpowiadająca minimalnej wartości wysokości równoważnej półce teoretycznej (HETP), jest niższa niż w przypadku mniej lepkiego helu (He), jako gazu nośnego [8], co pokazują wyniki badań odwzorowane na Rys. 1, wykonane dla kolumny kapilarnej [8], aktualne co do zasady także dla kolumn wypełnionych wypełnieniem ziarnistym [9]. Dodatkowo, w zakresie wyższych od optymalnej wartości liniowej prędkości przepływu, krzywa $HETP = f(u)$, opisywana teoretycznie równaniem Van Deemtera, jest dla azotu, jako gazu nośnego, nachylona pod znacznie większym kątem względem osi prędkości, w stosunku do odpowiednich krzywych dla helu, czy wodoru [8]. W związku z powyższym, ze wzrostem liniowej prędkości przepływu gazu nośnego o wyższej lepkości, ma miejsce istotne poszerzenie pików chromatograficznych, tzn. istotny wzrost wartości HETP, obniżenie liczby pól teoretycznych (N) i pogorszenie rozdzielczości pików (R , R_s). W konsekwencji, wówczas gdy azot jest gazem nośnym - dla zapewnienia dobrej rozdzielczości pików składników trudnych do rozdzielania, ważne jest utrzymywanie względnie niskiej optymalnej wartości liniowej prędkości przepływu gazu nośnego w kolumnie, co powoduje istotny wzrost czasu analityki określonej próbki mieszaniny gazowej, szczególnie w przypadku stosowania długiej kolumny chromatograficznej. Hel jest niekorzystnym gazem nośnym w analityce niskich zawartości wodoru w mieszaninach gazowych, nie tylko ze względu na podwyższone koszty analityki. Zbliżone wartości masy cząsteczkowej wodoru i helu skutkują zbliżonymi wartościami przewodnictwa cieplnego obu gazów oraz niską czułością oznaczania wodoru z zastosowaniem TCD. W przypadku zastosowania detektora ciepłoprzewodnościowego, Witkiewicz i Wardencki [7] stwierdzają, że hel nie jest dobrym gazem nośnym dla oznaczania niskich zawartości wodoru w mieszaninach gazowych, ponieważ przewodnictwa cieplne wodoru i helu są bardzo zbliżone. Ponadto, przewodnictwa cieplne niektórych mieszanin gazowych, np. wodoru i helu, czy azotu i ditlenku węgla, w niskich zakresach stężeń nie są wprost proporcjonalne do zmiany składu tych mieszanin. Dodatkowo, specyficzne właściwości wodoru powodują, że w przypadku stosowania helu jako gazu nośnego oraz TCD - piki mają inny znak wektora wysokości dla niskich zawartości wodoru w badanym gazie, niż w przypadku wysokich zawartości wodoru. W konsekwencji, dokładność oznaczania niskich zawartości wodoru w mieszaninach gazowych z helem jako gazem nośnym jest nie tylko związana z niską czułością, ale także, z wysokim poziomem niepewności. Azot jest, więc, zdecydowanie bardziej korzystnym gazem nośnym od helu dla analityki wodoru w gazach fermentacyjnych, a także zapewnia znacznie niższą granicę wykrywalności. Nie ma też miejsca efektu zmiany kierunku wektora wysokości pików.

Inaczej jest w przypadku wykorzystania azotu jako gazu nośnego oraz detektora ciepłoprzewodnościowego do badania lotnych składników o masach cząsteczkowych zbliżonych do azotu, albo wyższych. Badania wykonane w ramach pracy [4] wykazały, że w przypadku azotu jako gazu nośnego oraz zastosowania TCD, ma miejsce niekorzystny kształt pików dla niskich zawartości CO_2 w badanej mieszaninie gazowej. W pracy [4] pokazano, że dla niskich zawartości CO_2 w badanej mieszaninie gazowej, obserwuje się piki dodatnie o zwykłym gaussowskim kształcie. Dla wysokich zawartości CO_2 , w badanej mieszaninie gazowej piki stają się ujemne. Natomiast, w zakresie pośrednich zawartości ditlenku węgla w badanym gazie, piki są potrójne, co zilustrowano w pracy [4]. W ramach niniejszej pracy postanowiono wyjaśnić przyczynę tego efektu, a także opracować poprawną metodykę kalibracji i oznaczania zawartości CO_2 w przypadku stosowania azotu, jako gazu nośnego.

Wzięto pod uwagę zasady wykorzystane w profesjonalnych, niestety, bardzo kosztownych analizatorach gazów rafineryjnych (RGA - *ang. Refinery Gas Analyser*). Analizator tego rodzaju jest wielokolumnowym chromatografem gazowym z kolumnami pakowanymi, albo kapilarnymi, typu „PORA-PLOT”, z systemem przełączania kolumn, dwoma gazami nośnymi – helem, albo azotem, a także z wodorem, jako tzw. make-up gazem. W zależności od składu badanej mieszaniny gazowo – węglowodorowej, realizowane są procedury analityczne wykorzystujące taki układ kolumn rozdzielczych, takie gazy nośne oraz taki detektor spośród TCD/FID, by zapewnić możliwie niskie wartości granicy wykrywalności i wysoką dokładność analizy. Dodatkowo, analizator RGA jest wyposażony w metanizer, w którym następuje katalityczne uwodornienie na niklu Raney’a CO_2 , CO i COS do CH_4 , co umożliwia oznaczanie tych składników w stężeniach powyżej ok. 5 ppmV.

2. Część eksperymentalna (*Experimental part*)

2.1. Materiały (*Materials*)

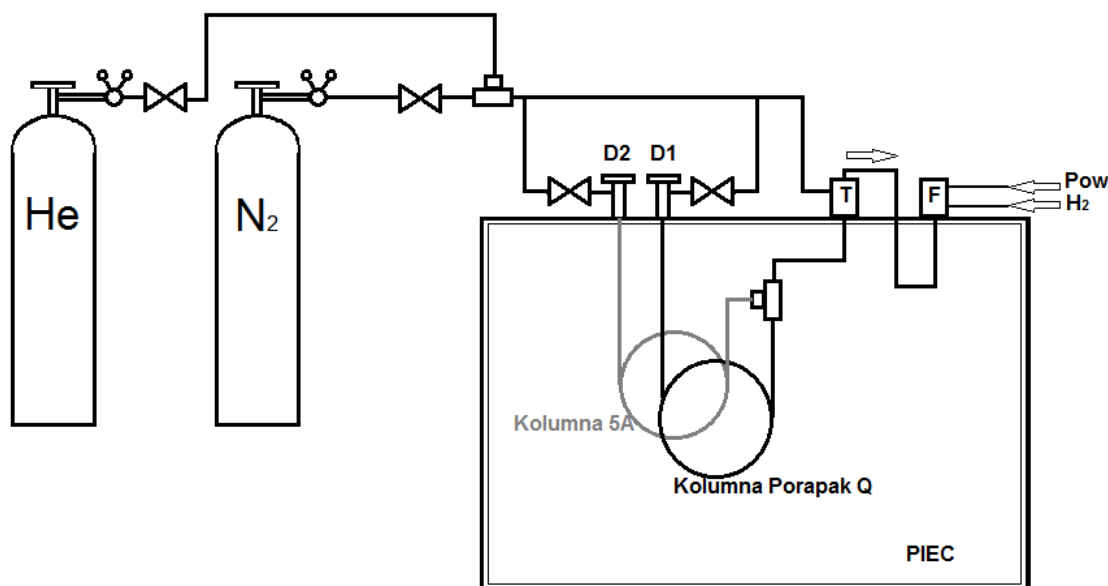
W pracy wykorzystano następujące materiały:

- ditlenek węgla czystość 5,5 N (Linde Gas),
- tlen czystość N 5,5 (Linde Gas),

- metan czystość N 5 (Linde Gas),
- wodór czystość N 5,5 z generatora wodoru (Packard 9400 Hydrogen Generator),
- azot czystość N 5 (Linde Gas),
- hel czystość N 5,5 (Linde Gas),
- worki tedlarowe o pojemności 3 dm³,
- strzykawka gazoszczelna Hamilton o pojemności 1 cm³.

2.2. Aparatura (Instruments)

Analizę składu próbek gazowych prowadzono wykorzystując chromatograf gazowy AutoSystem XL z oprogramowaniem TurboChrom (Perkin Elmer) sprzężony z TCD (Detektor 1) i FID (Detektor 2). Chromatograf wyposażony był w dwa dozowniki membranowe, z których każdy połączony był z jedną z dwóch kolumn pakowanych tj. Porapak Q (100-120 mesh; 6,5 m) i sito molekularne 5A (80-100 mesh; 1,8 m). Za pomocą trójnika, wyloty z obydwu kolumn połączono z kanałem pomiarowym pierwszego detektora tj. TCD. Następnie, wylot z TCD połączono z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym, tj. detektorem 2. W ten sposób rejestrowano sygnały z obydwu stosowanych detektorów podczas każdego rozdzielania. Do zasilania FID wykorzystano powietrze z butli ze sprężonym powietrzem oraz wodór z laboratoryjnego generatora wodoru. Schemat wykorzystywanego układu przedstawiono na Rys. 2.



Rys. 2. Schemat stosowanego układu (D – dozownik; T – TCD; F – FID; pow – powietrze).

Fig. 2. Scheme of the chromatographic system (D – injector; T – TCD; F – FID; pow – air).

2.3. Metodyka badań (Methodology)

W celu porównania wyników rozdzielania, uzyskiwanych z wykorzystaniem różnych kolumn oraz gazów nośnych, sporządzono w worku tedlarowym mieszaninę gazów o następującym składzie (v/v): H₂: 30%, O₂: 20%, CH₄: 5%, CO₂: 20%, N₂: 25%. Dozowano 0,5 cm³ mieszaniny odpowiednio do kolumn PPQ oraz 5A. Kalibrację wykonano dla oznaczanych składników, dozując pojedynczo określone objętości w/w mieszaniny gazów w zakresie od 0,02 do 0,5 cm³ z zastosowaniem strzykawki gazoszczelnej (oddzielnie do każdej z dwóch kolumn oraz dla obu rodzajów gazu nośnego).

2.4. Warunki analizy chromatograficznej (Chromatographic conditions)

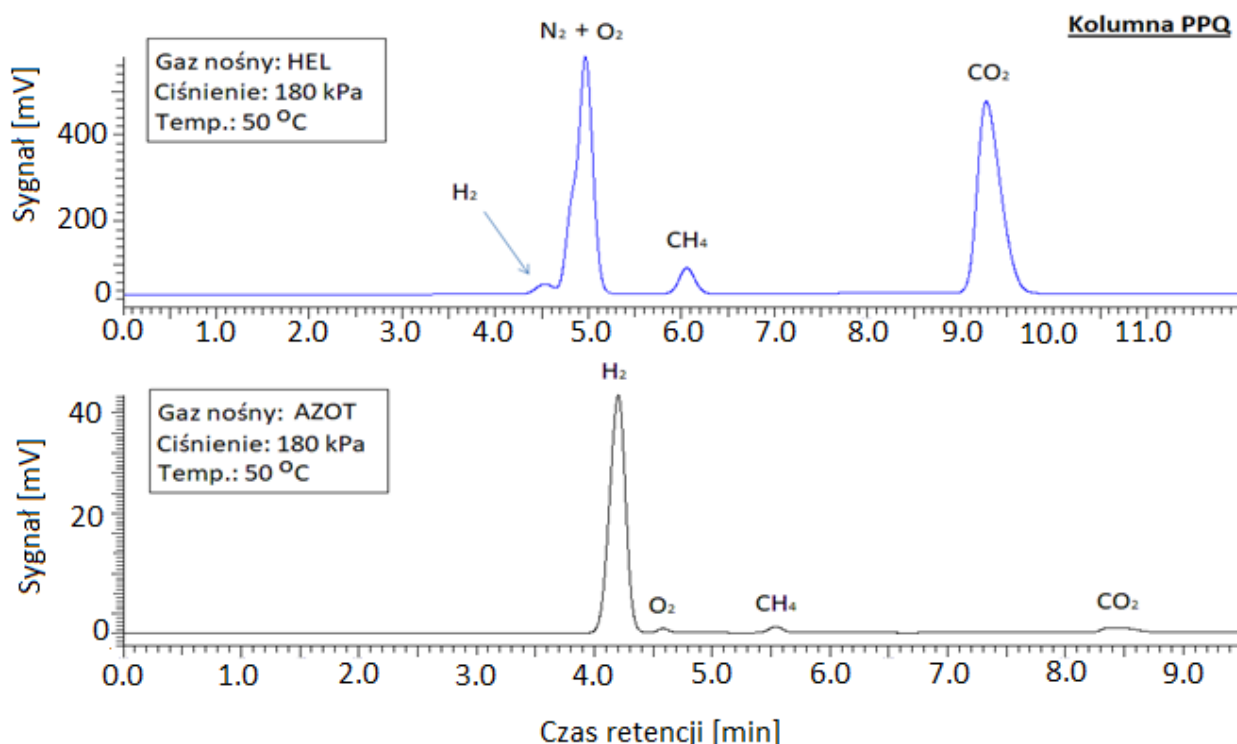
W Tabeli 1 przedstawiono stosowane kolumny wraz z warunkami analizy chromatograficznej.

Tabela 1. Warunki analizy chromatograficznej.
Table 1. Chromatographic conditions.

Parametr	FID	TCD
Kolumna	6,5 m - Porapak Q 100 – 120 mesh; 1,8 m - Sito molekularne 5A	
Gaz nośny	azot lub hel	
Ciśnienie (przepływ) gazu nośnego	140, 180, 250 kPa, (11, 14, 20 cm ³ /min)	
Split	10:1	
Temperatura dozownika	50°C	
Temperatura kolumny	60°C	
Czas analizy	8 min (kolumna 5A) lub 15 min (kolumna PPQ)	
Warunki detekcji	Temperatura 200°C, przepływ H ₂ 30 ml/min, przepływ powietrza 300 ml/min	Temperatura 100°C
Objętość dozowania	0,02 – 0,5 cm ³	

3. Wyniki i dyskusja (Results and discussion)

Przykład wyników badań porównujących użycie różnych gazów nośnych i kolumny wypełnionej Porapakem Q przedstawiono na Rys. 3. Wyniki te wskazują, że pełne rozdzielnie składników badanej mieszaniny można uzyskać z wykorzystaniem długiej kolumny Porapak Q z azotem jako gazem nośnym. Z użyciem helu, nie uzyskuje się pełnego rozdzielania azotu i tlenu, a ponadto następuje częściowa koelucja wodoru z pikiem azotu i tlenu. Należy też podkreślić, że sygnał TCD dla wodoru jest wielokrotnie wyższy w przypadku zastosowania azotu jako gazu nośnego, w porównaniu do helu, co jest związane z istotnym różnicowaniem masy cząsteczkowej, a stąd, przewodności cieplnej wodoru i azotu.



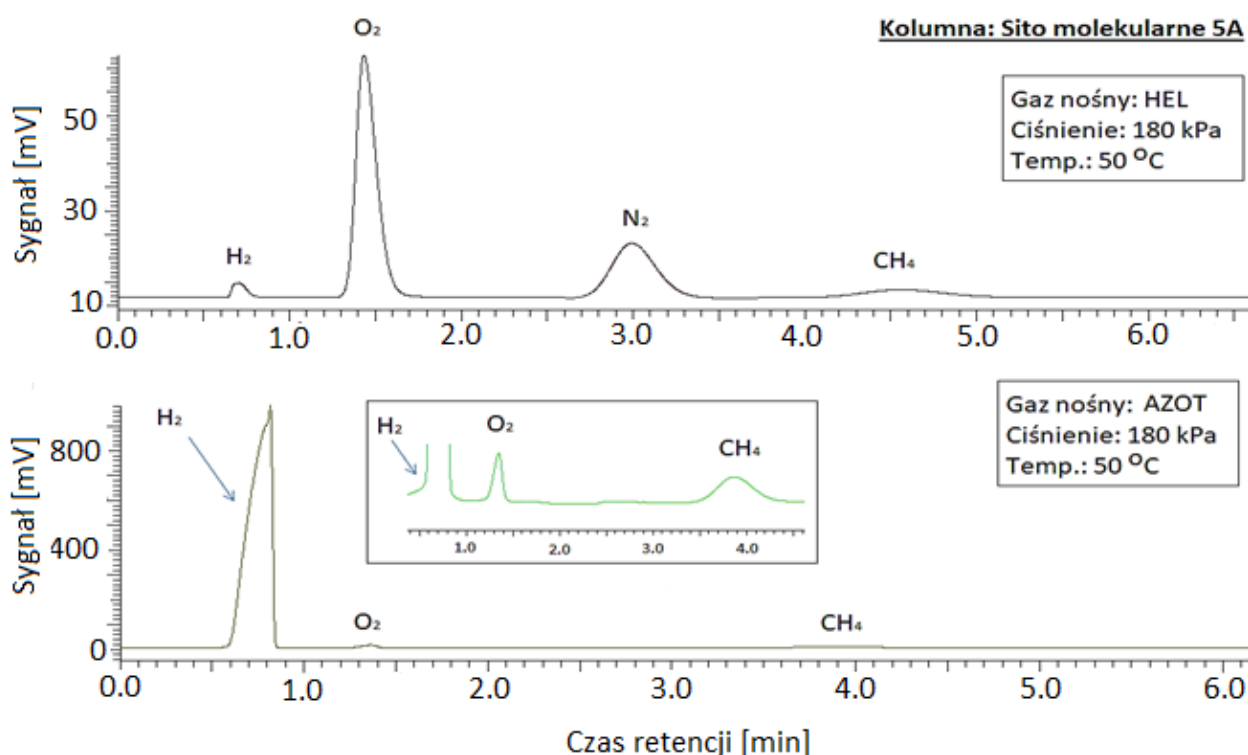
Rys. 3. Wyniki rozdzielania mieszaniny gazów – detektor TCD.
Fig. 3. Results of separation of a gas mixture – TCD detector.

Analogiczne badania wykonano z użyciem kolumny 5A. Przykład wyników przedstawiono na Rys. 4. Otrzymane wyniki wskazują na pełne rozdzielanie badanych składników, z wyłączeniem CO₂. Dytlenek węgla ulega silnej adsorpcji w złożu kolumny, co uniemożliwia jego oznaczenie w warunkach izotermicznych w temperaturze 60°C.

Porównanie wyników otrzymanych dla dwóch gazów nośnych wskazuje, że do badań składu gazów podczas wytwarzania bio-wodoru, w zakresie niskich zawartości, bardziej korzystne jest zastosowanie azotu jako gazu nośnego, w porównaniu do helu - z uwagi na wielokrotnie większy sygnał TCD. Wynika to z bardzo zbliżonej wartości cieplnego przewodnictwa helu i wodoru (odpowiednio, 5,97 W/m K i 7,14 W/m K), w porównaniu do wartości przewodnictwa azotu i wodoru (odpowiednio, 0,996 W/m K i 7,14 W/m K) [7].

Gdy celem badań jest oznaczenie niskich zawartości składników badanych mieszanin, takich jak O_2 i CH_4 , korzystniejszym gazem nośnym jest hel. Również oznaczenie niskich zawartości CO_2 korzystniej jest prowadzić z zastosowaniem helu jako gazu nośnego. Bardziej szczegółowo omówiono to poniżej.

Jeśli celem badań jest oznaczenie niskich zawartości wodoru, stosując detektor cieplno-przewodnościowy sugeruje się wykorzystanie argonu lub azotu jako gazu nośnego [7]. Stwierdzenie to znajduje odzwierciedlenie w wynikach rozdzielania przedstawionych na Rys. 3-5, bowiem wodór przy zastosowaniu helu jako gazu nośnego daje niewielki pik, a przy niskich zawartościach tego składnika w badanej mieszaninie gazowej, pik wodoru jest ujemny, a następnie przy wyższych zawartościach staje się dodatni. Dodatkowo słabo rozdziela się od azotu i tlenu, nawet przy zastosowaniu kolumny Porapak Q.

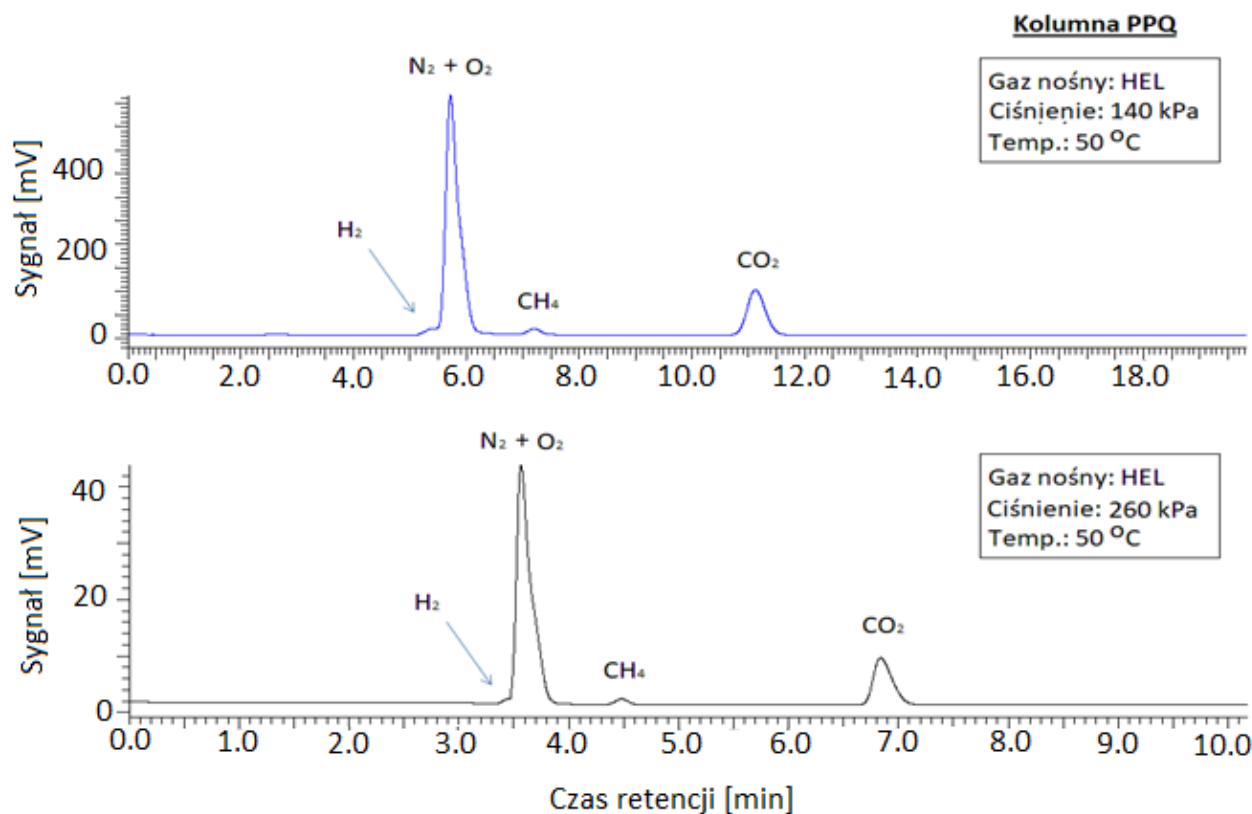


Rys. 4. Wyniki rozdzielania mieszaniny gazów – detektor TCD.

Fig. 4. Results of separation of a gas mixture – TCD detector.

W celu weryfikacji, czy warunki rozdzielania zaproponowane w pracy [4] są optymalne, sprawdzono wpływ ciśnienia na wlocie do kolumny na przebieg rozdzielania, kierując się zasadą, że przepływ jest proporcjonalny do ciśnienia. Wyniki przedstawione na Rys. 5. wskazują, że optymalna wartość natężenia przepływu helu (tj. umożliwiająca pełniejsze lub całkowite rozdzielanie wodoru od azotu i tlenu), jako gazu nośnego jest niższa od wartości odpowiadającej ciśnieniu 140 kPa. Natomiast, dla azotu jako gazu nośnego, będzie ona – jak to wynika z Rys. 1 – jeszcze niższa. W praktyce, dla oznaczania CH_4 i CO_2 z zastosowaniem kolumny PPQ, w celu skrócenia czasu analizy można zastosować znacznie większy przepływ gazu nośnego od optymalnego, bez wpływu na rozdzielanie tych składników. Natomiast, He jako gaz nośny oraz stosunkowo długa kolumna PPQ, o względnie bardzo wysokiej sprawności, nie nadają się do badania zawartości wodoru i tlenu w gazach fermentacyjnych pochodzących z fermentacji ciemnej. Najczęściej, mamy wówczas do czynienia z jednoczesną obecnością wodoru, tlenu i azotu, a czasem również CO. Nawet w przypadku zastosowania optymalnej wartości liniowej prędkości przepływu helu jako gazu nośnego, nie jest wówczas możliwe rozdzielanie $N_2 / O_2 / CO$ [6]. Jednocześnie, tylko dla optymalnej wartości liniowej prędkości przepływu gazu nośnego możliwe jest wówczas niepełne, chociaż wystarczające dla orientacyjnego oznaczania, rozdzielanie wodoru od w/w składników [6].

Warto dodać, że zastosowanie nawet krótkiej i względnie nisko sprawnej kolumny z zeolitem 5A, jako fazą stacjonarną, zapewnia w temperaturze 60°C bezproblemowe rozdzielanie $H_2 / N_2 / O_2 / CO / CH_4 / CO_2$ [6], jak to także widać na Rys. 4 (bez CO).



Rys. 5. Chromatogramy uzyskane dla dwóch różnych wartości ciśnienia na wlocie do kolumny (dwóch różnych wartości natężenia przepływu gazu nośnego) – detektor TCD.

Fig. 5. Chromatograms obtained for two different values of pressure at the column inlet (two different values of carrier gas flow rate) – TCD detector.

W przeprowadzonych badaniach stosowano także detektor płomieniowo-jonizacyjny. Detektor ten umożliwia oznaczenie wyłącznie metanu z pośród składników badanej mieszaniny. Uzyskane wyniki są podobne do przedstawionych w pracy [4]. Pominięto je w niniejszej pracy, ponieważ wszystkie wymagane informacje można pozyskać spośród wyników otrzymanych z TCD. W Tabeli 2 zebrano równania krzywych kalibracyjnych, otrzymanych dla TCD dla obydwu badanych kolumn oraz obu gazów nośnych. Granicę wykrywalności (LOD) przyjęto jako trzykrotność stosunku wartości sygnału do szumu, natomiast wartości granicy oznaczalności (LOQ) określono jako trzykrotność wartości LOD.

Dane przedstawione w Tabeli 2 wskazują, że niezależnie od zastosowanego gazu nośnego, uzyskuje się zbliżone wartości parametrów LOD i LOQ, z wyłączeniem kolumny 5A i helu jako gazu nośnego. Wówczas uzyskuje się wyraźnie niższe wartości granic wykrywalności i oznaczalności niż w przypadku zastosowania azotu jako gazu nośnego.

Na rysunku 6 przedstawiono porównawcze przebiegi chromatogramów dla CO₂ z wykorzystaniem kolumny PPQ oraz azotu (A) lub helu (B) jako gazu nośnego. Podobnie, jak przedstawiono wcześniej w pracy [4] zaobserwowano, że pik ditlenku węgla dla kolumny PPQ oraz azotu jako gazu nośnego jest dodatni niewielkich dozowanych objętości CO₂ – Rys. 6A. Natomiast, dla dozowanych objętości powyżej 0,02 cm³ z piku dodatniego wykształca się pik ujemny, którego wysokość (i powierzchnia) rośnie ze wzrostem dozowanej objętości CO₂ (Rys. 6B). Wykształcenie się piku ujemnego wynika prawdopodobnie z niższej wartości współczynnika wnikania ciepła (obniżonej konwekcji) dla podwyższonych stężeń CO₂ w mieszaninie z N₂ w stosunku do niskich zawartości CO₂ w mieszaninie z N₂. Natomiast, dla niskich stężeń CO₂ w mieszaninie z N₂ dominuje wyższa pojemność cieplna i wyższe przewodnictwo cieplne CO₂. Podobnego efektu nie zaobserwowano w przypadku zastosowania helu jako gazu nośnego. Wówczas otrzymuje się wyłącznie piki dodatnie (Rys. 6A). W konsekwencji, hel jest bardziej korzystnym gazem nośnym, jeśli ważne jest oznaczanie ditlenku węgla z zastosowaniem TCD.

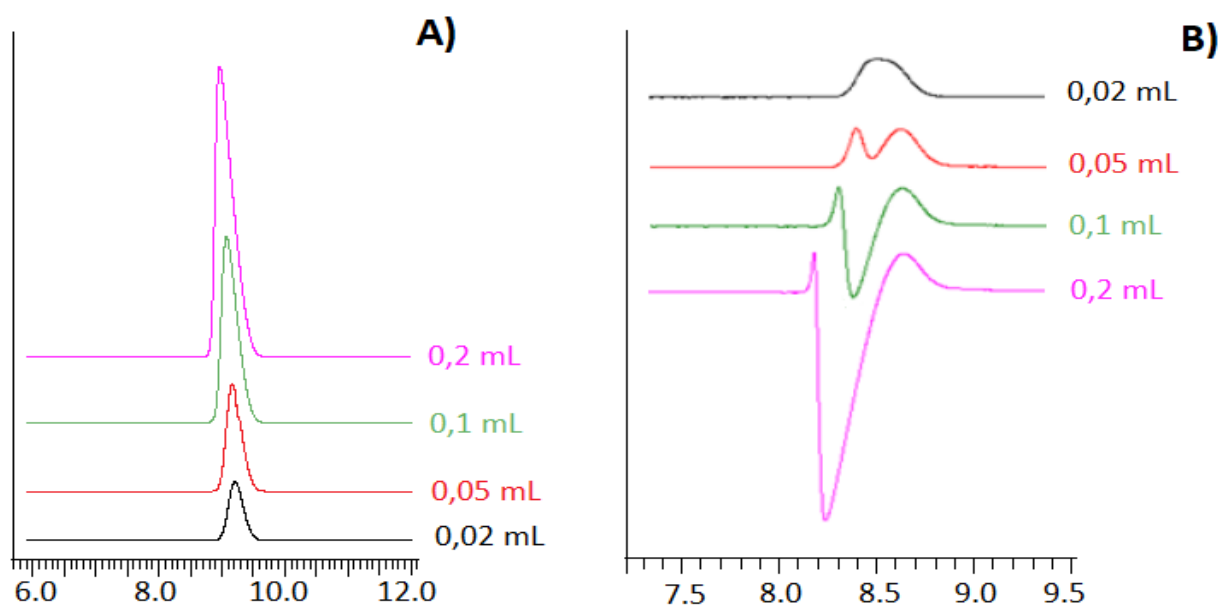
Tabela 2. Równania krzywych kalibracyjnych oraz wartości granic wykrywalności i oznaczalności dla badanych gazów.

Table 2. Equations of calibration curves as well as the values of limit of detection and limit of quantification for the investigated gases.

Badany gaz	Równanie krzywej kalibracyjnej	R ²	LOD [cm ³]	LOQ [cm ³]
Kolumna: PPQ, gaz nośny: azot				
H ₂	$y = 113245,1x - 251$	0,996	0,0008	0,0025
O ₂	$y = 3684,2x - 49$	0,989	0,0016	0,0050
CH ₄	$y = 29342,3x - 581$	0,994	0,0016	0,0050
CO ₂ *	$y = 1403,1x - 13,2$	0,985	0,0016	0,005
CO ₂ **	$y = 4651,9x - 23,5$	0,991		
Kolumna: 5A, gaz nośny: azot				
H ₂	$y = 54832x - 97$	0,995	0,012	0,036
O ₂	$y = 1642,8x - 12$	0,993	0,003	0,009
CH ₄	$y = 16120x - 96$	0,997	0,003	0,009
Kolumna: PPQ, gaz nośny: hel				
H ₂	$y = 11377x - 812$	0,996	0,008	0,025
O ₂	$y = 51185x - 561$	0,998	0,001	0,003
CH ₄	$y = 47450x - 576$	0,999	0,0015	0,0045
CO ₂	$y = 67544x - 712$	0,994	0,001	0,003
Kolumna: 5A, gaz nośny: hel				
H ₂	$y = 99426x - 167$	0,991	0,001	0,003
O ₂	$y = 939542x - 868$	0,998	0,0007	0,0021
CH ₄	$y = 8361960x - 20557$	0,994	0,0005	0,0015

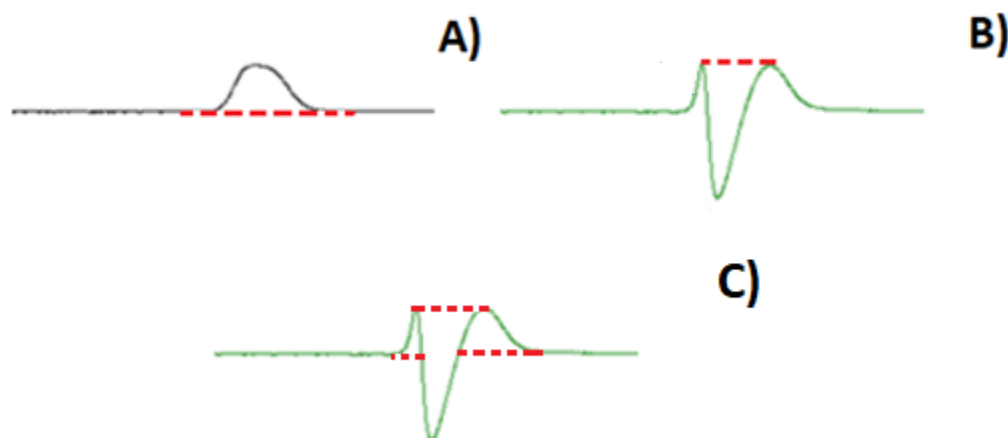
* dla objętości CO₂ poniżej 0,02 cm³ (tj. gdy powstaje wyłącznie pik dodatni)

** dla objętości CO₂ powyżej 0,02 cm³ (tj. gdy powstaje pik ujemny)



Rys. 6. Porównanie chromatogramów otrzymanych dla ditlenku węgla – TCD, kolumna PPQ: A) gaz nośny: hel, B) gaz nośny: azot.

Fig. 6. Comparison of the chromatograms obtained for carbon dioxide – TCD, PPQ column: A) carrier gas: helium, B) carrier gas: nitrogen.



Rys. 7. Sposób integracji pików ditlenku węgla (kolumna PPQ, gaz nośny: azot): A) pik dodatni, B) pik ujemny o charakterystycznym kształcie, C) suma pików dodatnich i ujemnego.

Fig. 7. Pattern of integration for carbon dioxide (PPQ column, carrier gas: nitrogen): A) positive peak, B) negative peak of a characteristic shape, C) sum of positive and negative peaks.

Na Rys. 7 przedstawiono możliwe sposoby integracji pików pochodzącego od ditlenku węgla. Sposób przedstawiony na rysunku 7A jest zalecany dla niskich stężeń, gdy obserwowany jest wyłącznie pik dodatni, natomiast sposób 7B, istotą którego jest integracja pików ujemnych, jest zalecany dla dużych stężeń CO_2 (Tabela 2). W przypadku dużych stężeń, istnieje możliwość integracji według sposobu przedstawionego na Rys. 7C. W ten sposób otrzymuje się nieliniową krzywą kalibracyjną, trudną do matematycznego opisu, ponieważ wraz ze wzrostem stężenia CO_2 wzrasta powierzchnia pików ujemnych przy jednoczesnym zmniejszeniu powierzchni współwystępujących pików dodatnich.

4. Podsumowanie (Summary)

Wyniki niniejszej pracy doprowadziły do istotnych wniosków, dotyczących zasad postępowania w zakresie analityki mieszanin gazowych z fermentacji ciemnej i innego rodzaju fermentacji w zakresie głównych składników mieszanin gazowych obecnych w gazach fermentacyjnych, tzn. H_2 , O_2 , CH_4 , CO_2 :

1. Zaproponowany dwukolumnowy (PPQ i 5A) oraz dwudetektorowy (TCD i FID) układ aparatu GC jest zdecydowanie bardziej korzystny od zastosowanego w pracy [4];
2. Kolumna z sitem molekularnym 5A, umożliwia w temperaturze 60°C łatwe rozdzielanie H_2 / O_2 / N_2 / CH_4 , a także, CO , którego obecność i zawartość powinna być też badana w gazach z fermentacji ciemnej;
3. Kolumna z Porapakem Q przydatna do rozdzielania i oznaczania CH_4 , CO_2 , a także COS , H_2S i innych lotnych składników organicznych gazów fermentacyjnych może być wówczas krótka. W konsekwencji, istnieje możliwość podwyższenia czułości oznaczania składników oznaczanych z zastosowaniem stosunkowo niskiego czułego detektora TCD, a także ograniczenia łącznego czasu analizy do ok. 5-ciu minut;
4. W oparciu o zaproponowany układ aparatu, możliwe jest opracowanie procedury rozdzielania i oznaczania z wykorzystaniem TCD, oprócz w/w komponentów mieszanin gazowych, także: CO , COS , H_2S , SO_2 , PH_3 , a z zastosowaniem FID – śladowych zawartości lotnych węglowodorów, w tym, metanu i innych lotnych organicznych związków chemicznych;
5. Autorzy niniejszej pracy wyrażają przekonanie, że dalsze badania wytwarzania bio-wodoru w wyniku fermentacji ciemnej powinny uwzględniać możliwie szczegółową analitykę powstającej fazy gazowej. Zakres oznaczeń analitycznych powinien uwzględniać także składniki powstające na śladowym poziomie. Jest to możliwe z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej nie tylko z detektorem ciepłoprzewodnościowym oraz płomieniowo – jonizacyjnym, ale także z detektorami selektywnymi tj. detektorem płomieniowo-fotometrycznym (ang. *Flame Photometric Detector*, FPD), lub pulsacyjnym detektorem płomieniowo - fotometrycznym (PFPD), detektorem azotowo-fosforowym (ang. *Nitrogen Phosphorous Detector*, NPD), ewentualnie z detektorem chemiluminescencyjnym siarki (CLSD).

Podziękowania (Acknowledgements)

Praca została wykonana w ramach realizacji projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt. „Badania zasadowej hydrolizy biomasy ligno-celulozowej oraz warunków konwersji produktów do biogazów” (nr grantu: 2014/13/B/ST8/04258).

5. Literatura (References)

- [1] S. Manish, R. Banerjee, Comparison of biohydrogen production processes, *International Journal of Hydrogen Energy* 33 (2008) 279-286.
- [2] I.K. Kapdan, F. Kargi, Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme Microbial Technology* 38 (2006) 569-582.
- [3] Y. Ren, J. Wang, Z. Liu, Y. Ren, G. Li, Hydrogen production from the monomeric sugars hydrolyzed from hemicellulose by *Enterobacter aerogenes*, *Renewable Energy* 34 (2009) 2774-2779.
- [4] P. Rybarczyk, K. Kucharska, R. Pawłowicz, M. Kamiński, Analiza składu fazy gazowej wytwarzanej podczas fermentacji ciemnej, *Camera Separatoria* 9, 2 (2017) 73-81.
- [5] K. Kucharska, E. Słupek, M. Kamiński, Biokonwersja materiałów odpadowych do wodoru na drodze fermentacji ciemnej z wykorzystaniem *Enterobacter aerogenes*, *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna* 24 (2019) 4-13.
- [6] M. Kamiński, R. Kartanowicz, D. Jastrzębski, M.M. Kamiński, Determination of carbon monoxide, methane and carbon dioxide in refinery hydrogen gas and air by gas chromatography, *Journal of Chromatography A* 989 (2003) 288-283.
- [7] Z. Witkiewicz, W. Wardencki, *Chromatografia gazowa – teoria i praktyka*, PWN, Warszawa 2018.,
- [8] G. Boczkaj, M. Kamiński, Ocena przydatności i optymalizacja warunków rozdzielania w chromatografii gazowej bez oddziaływań sorpcyjnych (EC-GC), *Camera Separatoria*, 5, 1 (2013) 5-10.
- [9] L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. W. Dolan *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., 2010, Hoboken, New Jersey.