

NILU

Teknisk notat nr 76/74

Dato: 8 mars 1974

Referat fra kurs i

GASSKROMATOGRAFI (GLC)

Gøteborg, 17-18. januar 1974

Jorunn Bysveen Larsen

INNHOLDSFORTEGNELSE

	Side
1. INNLEDNING	1
2. PRINSIPPET FOR EN GASS-VÆSKE KROMATOGRAF (GLC)	3
3. EN GASSKROMATOGRafs OPPBYGGING	4
3.1 Bæregass	4
3.2 Injektor	4
3.3 Kolonne	5
3.4 Detektor	8
4. GRUNNBEGREPER I GLC	16
4.1 Fordelingskoeffisient	16
4.2 Teoretiske antall plater og HETP	16
4.3 Bæregass effekt	16
4.4 Van Deemters likning	17
5. ANVENDELSE AV TEMPERATURPROGRAMMERING, PTGC	19
6. KVALITATIV GASSKROMATOGRAFI	23
7. KVANTITATIV GASSKROMATOGRAFI	25
8. LABORATORIEØVELSER	27
8.1 Optimale flammebetingelser	27
8.2 Bestemmelse av optimal hastighet på bæregassen	29
8.3 Beregning av antall teoretiske plater	30
8.4 Temperaturens innvirkning på separasjonen	30
8.5 Øvelser i forbindelse med bruk av varmetrådsdetektor .	31
8.6 Bestemmelse av den relative responsefaktor, RF, ved bruk av en indre standard	32
8.7 Temperaturprogrammering kontra isoterm kjøring	35

REFERAT FRA KURS I
GASSKROMATOGRAFI (GLC)

Gøteborg, 17 - 18. januar 1974

1. INNLEDNING

Kurset ble arrangert av Perkin Elmer AB i Gøteborg og ble holdt i deres lokaler på v/Frölunda. Hensikten med kurset var å gi en kort innføring i bruken av en gasskromatograf og dens anvendelse i organisk kjemi.

Dette notatet vil kun inneholde spredte notater fra kurset. Forøvrig refereres det til boken "Practical Gas Chromatography" utgitt av Perkin Elmer, samt annen litteratur på området. Figurene i dette notatet er hentet fra boken til P E, og blir stående med engelsk skrift.

Foredragsholdere:

Barrie Hine, Perkin Elmer, London

Lars Johanson, Perkin Elmer, Gøteborg

Deltakerliste:

Pia Rylander,	Oljekonsumenterna, Nacka
Åke Fermelin,	Oljekonsumenterna, Nacka
Torsten Ekdahl,	AB Iggesunds Bruk, Iggesund
Bo-Arne Fager,	AB Sunlight, Nyköping
Lennart Ågren,	PLM, Malmö
Käthe Andersson,	AB Pellerin/Zenith, Helsingborg
Margareta Merseburg,	Analytika AB, Sollentuna
Akbar Seddigh,	Sveriges Geolog. Unders., Stockholm
Ingvar Carlsson,	Statens Vattenfallsverk, Väröbacka
Lars Jacobsson,	Statens Vattenfallsverk, Väröbacka
Monica Hallonqvist,	Uddeholms AB, Skoghall
Inger Lundqvist,	Uddeholms AB, Skoghall

Jorunn B. Larsen,	Norsk Inst. f. Luftforskning, Kjeller
Sverre Skriung,	Oslo Lysverker, Oslo
Per O. Dahl	Falconbridge Nikkelverk A/S, Kristiansand
Roy Kristiansen,	A/S Unger Fabrikker, Fredrikstad
Evelyn Haga,	A/S Apothekernes Lab., Oslo
Else-Berit Lie,	A/S Barnengen, Lysaker
Inge Jerve,	Brödr. Sunde A/S, Spjelkavik
Kirsti Ejsdmo-Hansen,	Åsgård Sykehus, Tromsø

2. PRINSIPPET FOR EN GASS-VÆSKE KROMATOGRAF (GLC)

I GLC blir komponentene som skal separeres ledet gjennom en kolonne ved hjelp av en inert gass (bæregass). Komponentene i prøven blir fordelt mellom bæregassen og en ikke flyktig væske (stasjonær fasen) som er belagt på et fast materiale med en viss kornstørrelse (fast fase). Valg av stasjonær fase avhenger av hvilke komponenter man er interessert i og av deres fordelingskoeffisienter. Bæregassen leder så komponentene ut av kolonnen via en detektor: Signalet fra detektoren blir, som en funksjon av tiden, overført til en skriver.

3. EN GASSKROMATOGRAFS OPPBYGNING

En gasskromatograf består av fem hovedenheter:

1. Bæregass
2. Injektor
3. Kolonne
4. Detektor
5. Skriver

3.1 Eksempler på bæregass er hydrogen, helium og nitrogen. De viktigste krav til en bæregass er at den må

- a) være inert til prøve eller løsningsmiddel
- b) passe til den detektor som brukes
- c) være fri for kontaminanter
- d) være lett tilgjengelig og rimelig

Effektiviteten på kolonnen avhenger av gassens hastighet, som forøvrig må være konstant. Vanlig brukte gasshastigheter er 75 ml/min for 1/4" O.D. kolonne og 25 ml/min for 1/8" O.D. kolonne. Optimal gasshastighet kan lett bestemmes eksperimentelt ved å plote HETP ("Height Equivalent to a theoretical plate") mot gasshastigheten. Den mest effektive gasshastighet finnes ved den laveste HETP. (Se punkt 4.3 side 17).

Den enkleste måten å måle hastigheten på gassen er ved hjelp av et "såpe-boble" flowmeter og en stoppeklokke.

3.2 Injektor er alltid oppvarmet og holder som regel samme temperatur som detektor, dvs. noe høyere (30-80 °C) enn kolonnens temperatur. Dette gjøres for å hindre at stoffene kondenseres i injektor.

Prøvevolumet varierer fra 0.1 µl til 5 liter for gass og fra 0.004 µl - 2 ml for væske, avhengig av kolonnetypen. Se tabell 1.

Tabell 1 - Prøvevolum for forskjellige kolonner

COLUMN TYPE	SAMPLE SIZES	
	GAS	LIQUID
Preparative 1" O. D. , 20% Liquid	0.05 - 5 liter	0.02 - 2 ml
Regular Analytical 1/4" O. D. , 10% Liquid	0.5 - 50 ml	0.2 - 20 μ l
High Efficiency 1/8" O. D. , 2% Liquid	.1 - 1 ml	0.04 - 4 μ l *
Capillary 1/16" O. D. , 50 u film	0.1 - 10 μ l	0.004 - 0.5 μ l *

3.3 Kolonnen er den viktigste enheten i en gasskromatograf.

Kolonner kan lages av kobber, rustfritt stål, aluminium og glass i rett, buet eller opprullet form. De mest anvendte materialene er rustfritt stål og glass.

Størst mulig effektivitet på kolonnen oppnås ved

1. Minst mulig partikkelstørrelse på den faste fase
2. Tynneste mulig væskefilm (stasjonær fase)
3. Lavest mulig tetthet på bæregassen
4. Største teoretisk antall plater
5. Optimal gasshastighet (gasshastigheten der HETP er minst)
6. Temperaturprogrammering

Kolonnens faste fase kan bestå av

- a) Silica, b) knust mursten,
- c) glasskuler d) Teflon (PTFE) og
- e) porøse polymer

En god fast fase må være kjemisk inert, ha stor overflate, være fysisk sterk og ha en liten motstand mot gasshastigheten. På grunn av dette siste, er c, d og e lite brukt. Silica forbindelser er meget brukt og er i Perkin Elmers produktregister betegnet som Chromosorb G, P eller W. Chromosorb W er den som er mest inert, mens Chromosorb P har den største overflate.

Kolonnens stasjonære fase kan deles inn i to hovedgrupper:

de polare og de ikke polare forbindelsene.

En polar fase skiller stoffene p.g.a. forskjell i polaritet.

En ikke polar fase skiller stoffene p.g.a. forskjeller i kokepunkter.

En god stasjonær fase må være termisk stabil, ha lavt damptrykk, være inert mot prøven og være et godt løsningsmiddel for prøven.

Som hovedregel gjelder at:

Ikke polare stoffer skal ha ikke polar stasjonær fase

Polare stoffer skal ha polar stasjonær fase

("Like will dissolve like")

Eksempler på standardkolonner:

Ikke polare (Silica kolonner):

SE-30, OV-1, AP-L

Semipolare (Silica kolonner):

XE-60, QF-1, QV-17

Polare: PEGS, CARBOWAX 1500, 20 M

Høy-polare: C-400.

Tillaging av kolonner gjøres på følgende måte:

(Eksempel 5% SE-30 på Chromosorb W)

Vei inn 95 g Chromosorb W og ha det i et begerglass. Vei inn 5 g SE-30, ha det i et annet begerglass og tilsett n-hexan. Volumet av n-hexan som skal brukes bør være litt større enn volumet av den faste fase (Chromosorb W). Hvilket løsningsmiddel man skal benytte står alltid oppgitt for hver type stasjonær fase.

Når alt SE-30 er løst has dette over i begerglasset med Chromosorb W, blandes godt og overføres til en avdampningsskål. Avdampning av n-hexan skjer ved å plassere skålen under en I R-lampe.

Monter kolonnen opp i vertikal stilling. Fest litt kvartsull i den ene enden og fyll på kolonnematerialet. Husk å ryste litt på kolonnen mens man fyller den. Når kolonnen er full festes litt kvartsull i den andre enden. Til slutt bøyes kolonnen til i den form man vil ha den.

Kondisjonering av kolonnen er meget viktig. Koble den ene enden av kolonnen til injektor og hold den andre enden åpen. Sett på bæregassen 10 ml/min. og la den gå i ca. 5 min. for å drive ut luft (O_2) før man setter på varmen.

Sett først temperaturen på $60^{\circ}C$ og la den stå i 24 timer.

Skru deretter temperaturen opp til den maksimum anbefalte temperatur for kolonnen (MRT) - $30^{\circ}C$. For Chromosorb W.m/5% SE-30, skulle dette gi $190^{\circ}C$. La kolonnen stå ved denne temperaturen i 12 timer.

Kjør aldri temperaturen direkte opp til MRT - $30^{\circ}C$ ved kondisjonering av kolonner.

I "OPEN TUBULAR" kolonnene er den stasjonære fasen lagt direkte på veggene i kolonnen. Lengden på kolonnene er på ca. 50 m og indre diameter fra 0.25 - 0.5 mm. Det teoretiske antall plater ligger på ca. 200 000 - 500 000 mot vanlige kolonner som ligger på ca. 4 000. Hastigheten på bæregassen ligger fra 0.5 - 4 ml/min. Kolonnene er langt mer effektive enn vanlige kolonner. Bakdelen er at de trenger en spesiell injektoranordning. Man injiserer et prøvevolum på 1 μ l

men injektoren er ordnet med en ventilasjon slik at det er kun 0.01 μ l som kommer inn i kolonnen (se fig. 1 nedenfor).

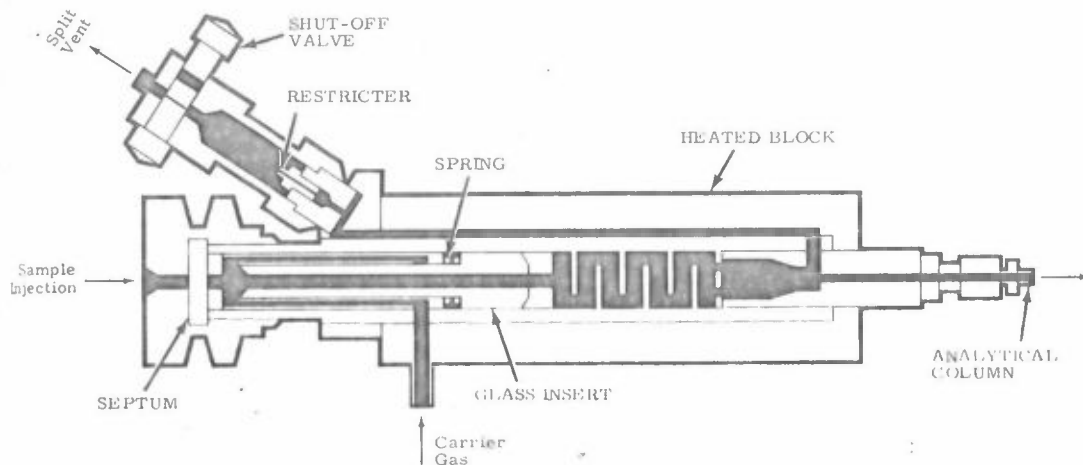


Fig. 1. Spesiell injektoranordning for "OPEN TUBULAR" kolonner.

Perkin Elmer har patent på denne typen av kolonner.
(Pris, ca. £ 70 pr. stk.)

3.4 Det finnes fem ulike typer av detektorer

1. Flammeionisasjons detektor
2. Varmetråds "
3. "Electron capture" "
4. Flammefotometrisk "
5. Thermionisk "

Av disse er de tre første mest anvendt.

Detektorer kan igjen deles inn i to grupper:

I Måling av konsentrasjon

Varmetråd det.



II Måling av "mass flow/sec."

Flammeionisasjon det.

Flammefotometrisk

Thermionisk



Electron capture detektoren er en kombinasjon av gruppene I og II.

Forskjellen på disse to gruppene kan best illustreres ved fig. 2 og 3.

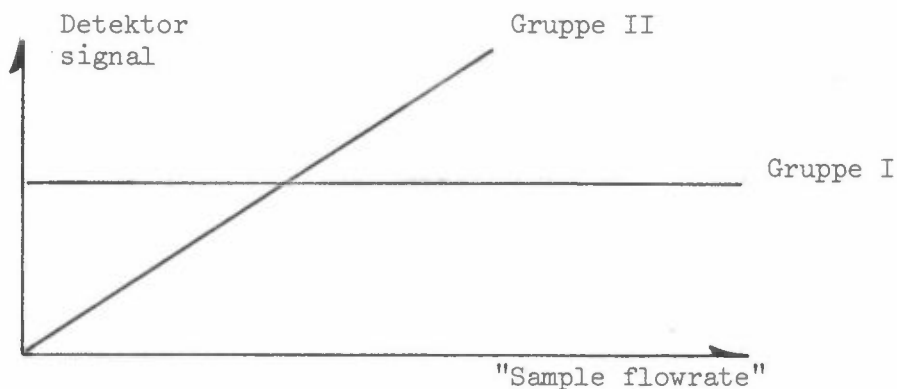


Fig. 2 Funksjon av "sample flowrate" ved konstant prøvekonsentrasjon.

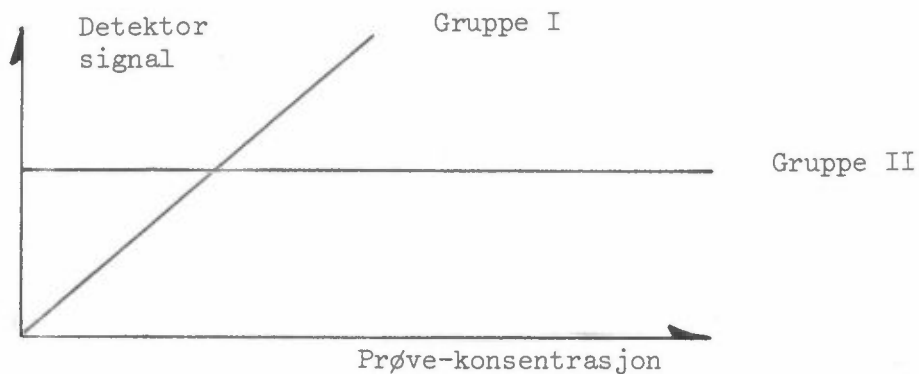
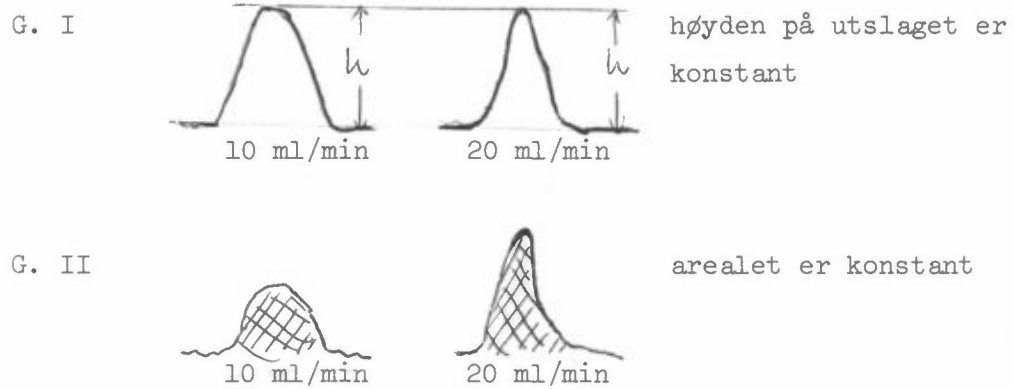


Fig. 3 Funksjon av prøvekonsentrasjonen ved konstant "sample flowrate".

Ved variasjon av bæregassen i gruppe I blir høyden på utslaget konstant. I gruppe II blir arealet konstant.



3.4.1 I en flammeionisasjonsdetektor (FID) blir alt organisk materiale brent i en flamme av hydrogen og luft:

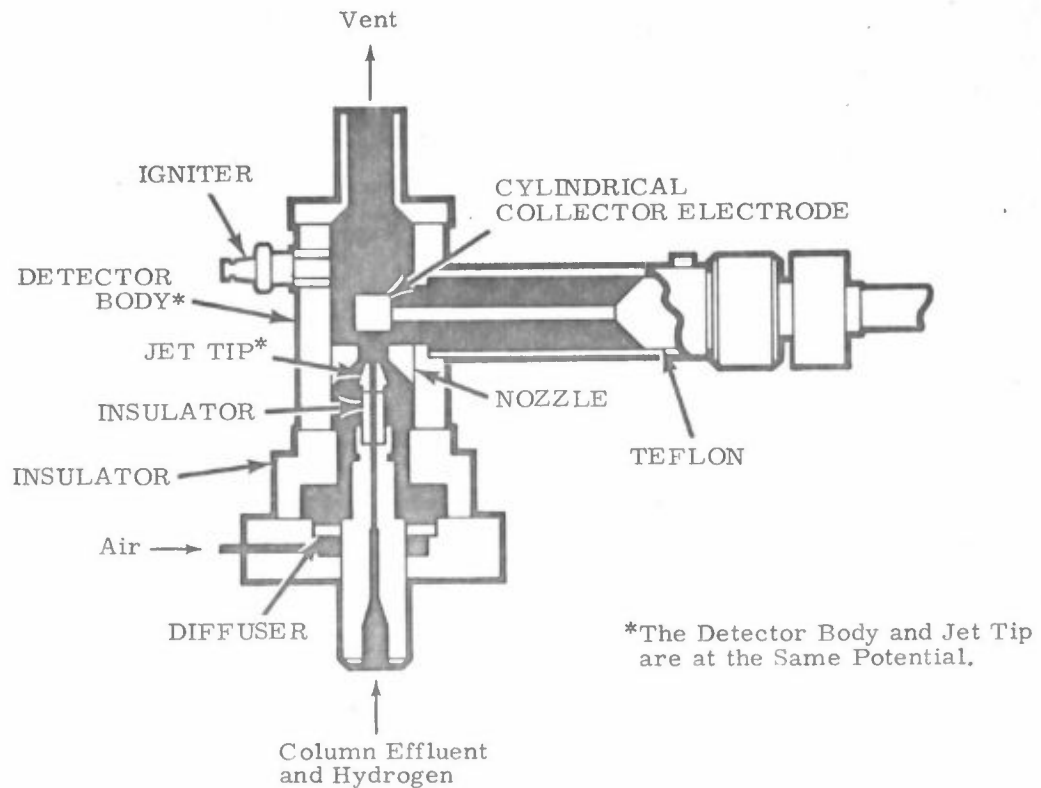
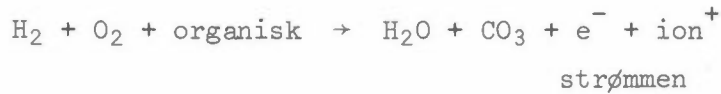


Fig. 4 Eksempel på en flammeionisasjonsdetektor

For en god flammeionisasjonsdetektor bør

- (a) forandringen i strømmen være så stor som mulig
- (b) høyden på toppen være proporsjonal med konsentrasjonen, dvs. linjær "response"
- (c) den relative "response" faktoren være den samme for alle organiske stoffer.
Det vil si at 1 μ l etanol skulle gi den samme høyde på toppen som 1 μ l bensen. (Dette er ifølge Barrie Hine aldri tilfelle).
- (d) bakgrunnssignalet for støy være så lavt som mulig
- (e) man kunne forandre "flowen" for bæregassen uten at dette skulle ha noen innvirkning på topphøyden. (Vi kan derimot få et høyere signal når vi øker "flowen" men dette skyldes den organiske væskefasen (stasjonær fasen) på kolonnen. Bæregassen i seg selv skulle ikke gi noen forandring i signalet, så fremt trykket i kolonnen holdes konstant).
- (f) hastigheten for hydrogengassen, H₂, være den samme som for nitrogen, N₂, (bæregassen) for å få optimal detektorfølsomhet, dvs.: N₂ : H₂ = 1 : 1.
- (g) hastigheten for luften være 10 ganger så høy som for N₂ og H₂ dvs.: N₂ : H₂ : luft = 1 : 1 : 10

Fordelene ved en FID er at den er følsom, har en hurtig respons og er lett å gjøre ren.

Bakdelene ved en FID er at den ikke er spesifikk og at den ødelegger prøven. Inerte gasser, CO₂, CO, NO₂, H₂S, SO₂, HCOOH og HCHO kan ikke detekteres ved denne detektoren.

- 3.4.2 En varmetrådsdetektor (se figuren på neste side) består av en Wheatstones bru hvor motstanden er avhengig av temperaturen (thermal ledningsevne). Til denne detektoren bør man bruke en bæregass med høy ledningsevne.

Gass	Thermal Conductivity at 100° C		Disse to er best egnet
	cal/(sec) (cm ²) (°C/cm) x10 ⁻⁵		
Helium	39.85	}	
Hydrogen	49.94		
Nitrogen	7.18		
Argon	5.09		
Carbon dioxide	5.06		
Oxygen	7.43		
Water vapor	5.51		
n-Heptane	4.14		
Benzene	4.14		
Chloroform	2.33		
Acetone	3.96		
Ethyl alcohol	4.98		

Tabell 2. Termal ledningsevne for forskjellige gasser og damper.

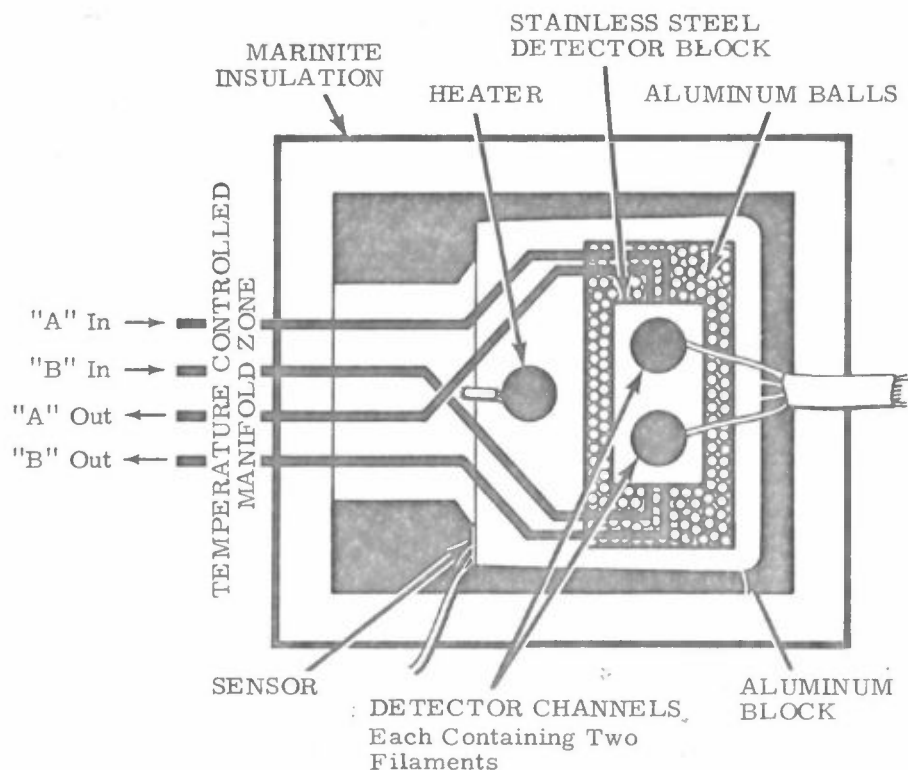


Fig. 5. Eksempel på en varmetrådsdetektor (sett ovenfra)

Denne detektoren er 100 ganger mindre følsom enn flammionisasjonsdetektoren og egner seg best til gassanalyser. Detektortemperaturen bør ligge mellom 100 - 400 °C og minst 50 °C høyere enn kokepunktet for stoffene som skal bestemmes. Forandring av "flowen" for bæregassen har liten effekt på detektoren. Man må huske på å ikke injisere for store prøver som inneholder luft (eller O₂) da man kan risikere oksydering av elementene.

3.4.3 "Electron capture" detektoren (ECD) brukes for analyse av spesielle komponenter. Den er meget selektiv og følsom for komponenter som inneholder oksygen, klorid, fluorid, bromid og jodid (f.eks. pesticider).

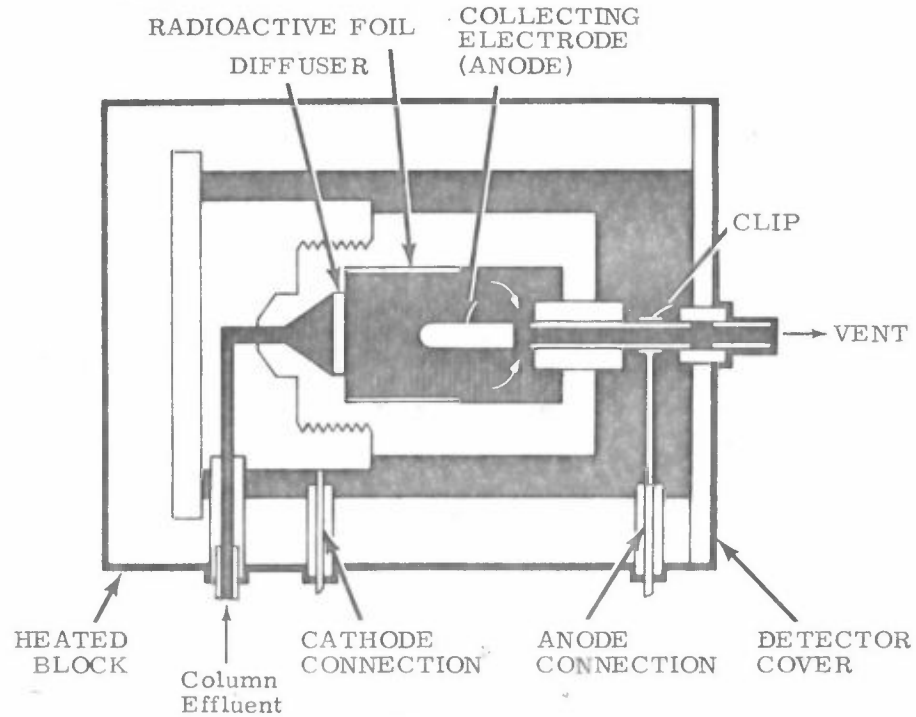


Fig. 6 Eksempel på en "Electron Capture" detektor

Detektoren består av en oppvarmet metallblokk med en radioaktiv nikkell- eller tritium folie. Når bæregassen (nitrogen) går gjennom detektoren blir den bombardert med beta (β)-stråler og vi får frigjort elektroner (fig.7). Dette igjen bidrar til at vi får opprettet en såkalt "standing current". Når komponentene passerer detektoren får vi en senkning av "standing current", som skyldes at oksygen eller halidene tar opp elektroner (fig.8).

β -stråler

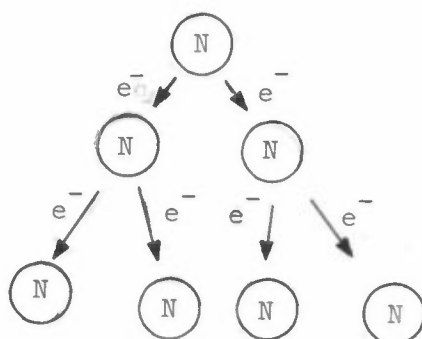
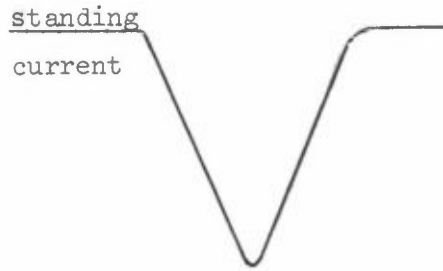


Fig. 7 Produksjon av elektroner i en ECD



senkning av standing current
når Cl^- tar opp elektroner

Fig. 8 Forandring av
standing current.

3.4.4 Flammefotometrisk detektor brukes mye til fosfor og svovel-
forbindelser. Fosforforbindelser gir et synlig grønt lys, svovel
emitterer lys i UV-området.

Fig. 7

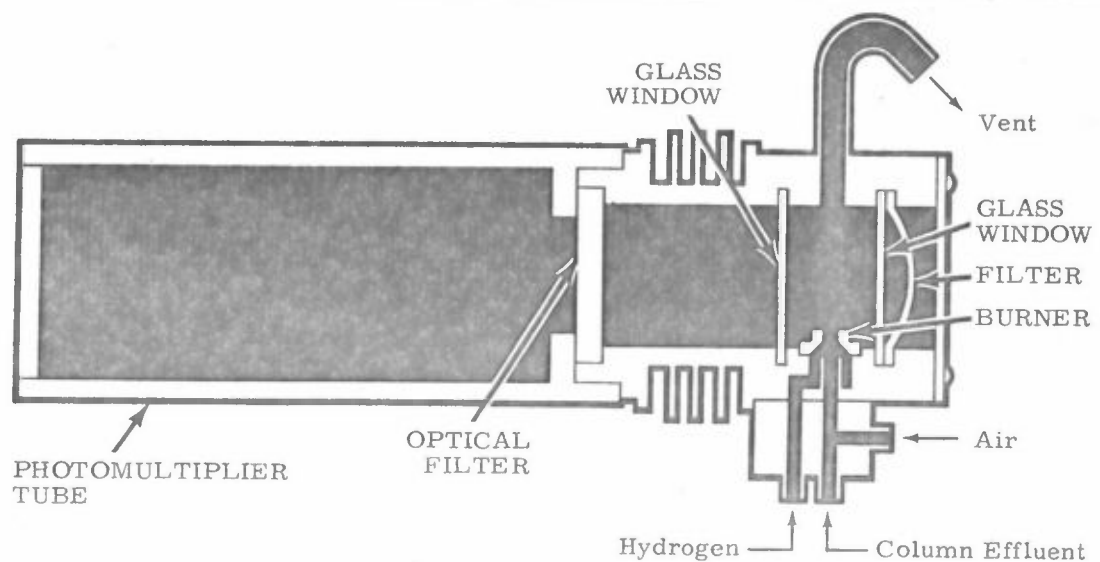
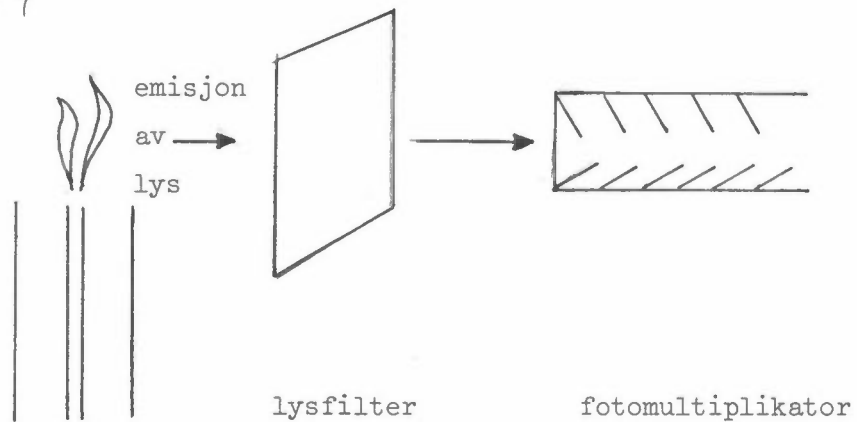


Fig. 9 Eksempel på en flammefotometrisk detektor

3.4.5 Den termioniske detektoren (TID) representerer en modifisering av flammeionisasjonsdetektoren for å gjøre den spesielt følsom overfor fosfor og halogenforbindelser.

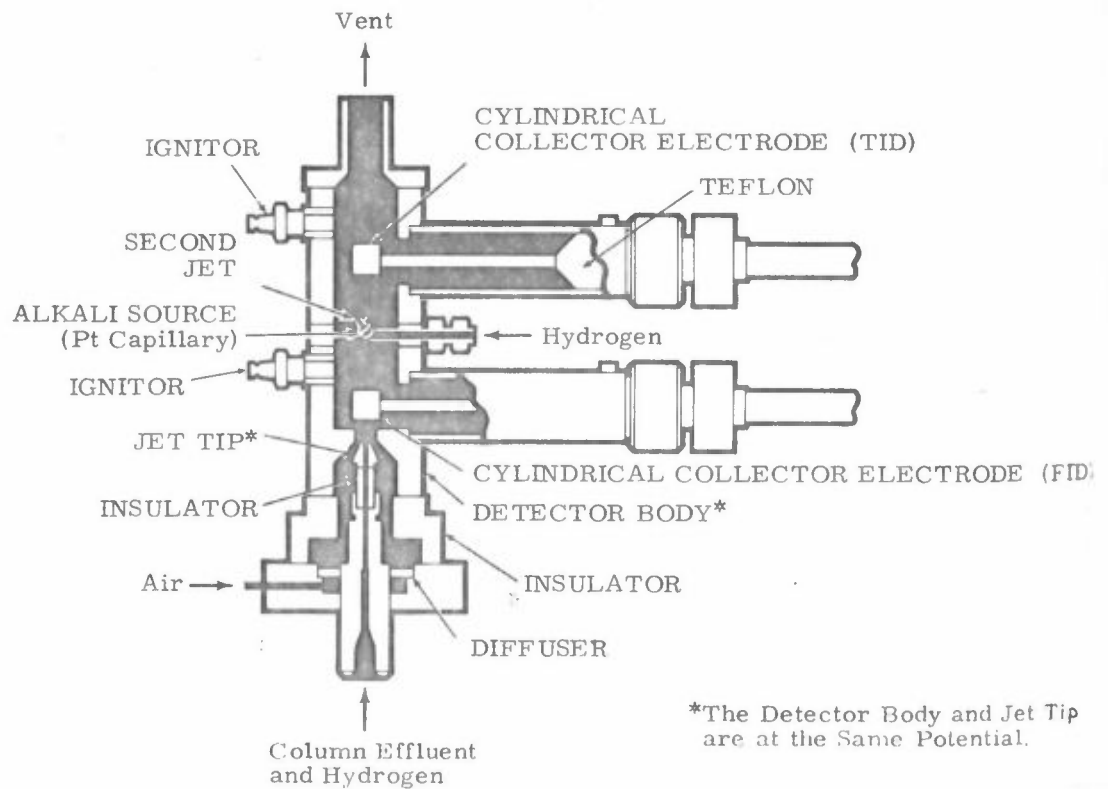


Fig. 10 Eksempel på en termionisk detektor.

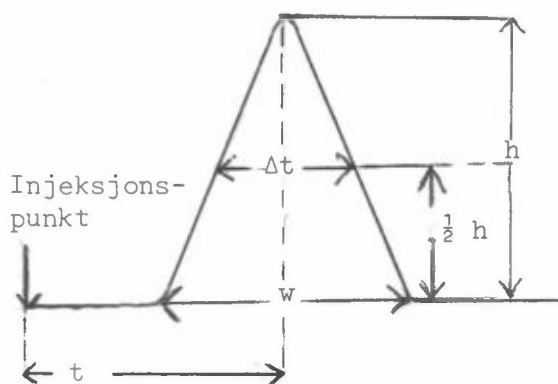
4. GRUNNBEGREPER I GLC

4.1 Fordelingskoeffisienten, $K(T)$ er lik

$$K(T) = \frac{\text{Løsn.middel konsentrasjonen i væske fase}}{\text{Løsn.middel konsentrasjonen i gass fase}}$$

4.2 Teoretisk antall plater, n , regnes ut etter likningen

$$n = 16\left(\frac{t}{w}\right)^2 \text{ eller } n = 5.54 \left(\frac{t}{\Delta t}\right)^2$$



hvor t = korrigert retensjonstid

Δt = "peak"-bredden ved halve høyden

w = maksimum "peak"-bredde

h = maksimum "peak"-høyde

HEPT (Height Equivalent to a Theoretical Plate) er lik lengden av kolonnen delt, L , delt på maksimum "peak" høyde:

$$\text{HETP} = \frac{L}{h}$$

4.3 Bæregass effekt

Trykkfallet over en kolonne bør være minst mulig. Dette vil igjen si at differansen på gasshastigheten ved inn- og utløpet av kolonnen bør være så liten som mulig.

Optimal gasshastighet oppnås når HETP er minst.

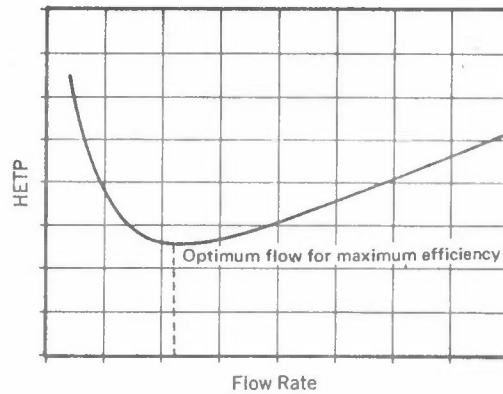


Fig. 11 Van Deemters plot (se pkt. 4.4)

Eksempler: For en 2 m lang 1/8" kolonne er optimal gasshastighet 10 - 15 ml/min.

For en 2 m lang 1/4" kolonne, 20 - 35 ml/min.

4.4 For å finne den laveste verdien av HETP benyttes Van Deemters likning

$$\text{HETP} = A + \frac{B}{u} + Cu \quad \text{hvor}$$

$$A = \text{Eddy Diffusjon} = 2 \lambda d_k$$

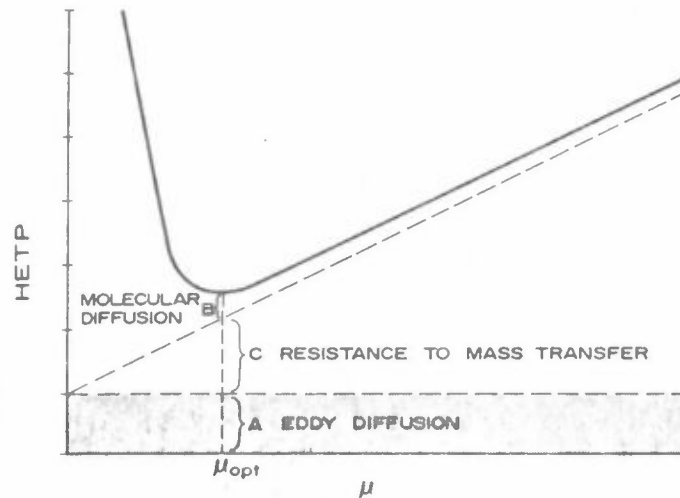
$$B = \text{Molekylar Diffusjon} = 2 D_g$$

$$C = \text{Masse-Transport} = \frac{8 y d^2}{(1 + y) D}$$

For at A skal være minst mulig, må partikkelstørrelsen, λ , på den faste fase være minst mulig (dvs. størst mulig mesk-tall).

Siden $D_g = \frac{1}{\sqrt{m}}$ hvor m er lik tettheten på gassen, blir B minst mulig ved å benytte en bæregass med lavest mulig tetthet, eksempel helium. (Bruk av helium kan dessuten korte ned analyse-tiden).

C blir minst mulig ved at væskefilmen, d , på den faste fasen er så tynn som mulig.



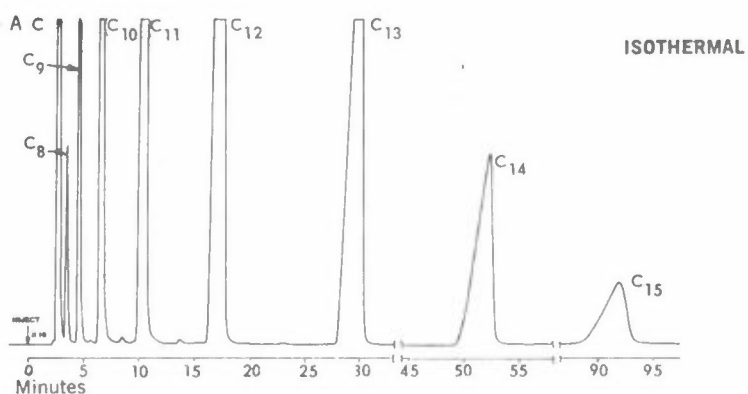
Figur 12 viser HETP plottet mot gasshastigheten (μ)

5. ANVENDELSE AV TEMPERATURPROGRAMMERING, PTGC

(PTGC = Program Temperature Gas Chromatography)

Temperaturprogrammering er en gradvis forandring av kolonne-temperaturen i løpet av en analyse. Dette gjøres for å forbedre, forenkle eller aksellere separasjonen, identifiseringen og bestemmelsen av komponentene i en prøve.

Som eksempel kan man ta en blanding av normale parafiner kjørt henholdsvis isotermt og temperaturprogrammert.



Conditions: Sample of Normal Paraffins, 20 feet by 1/16 inch column, 3% Apiezon L on 100/120 mesh VarAport 30 at 150°C, 10 ml/min He.

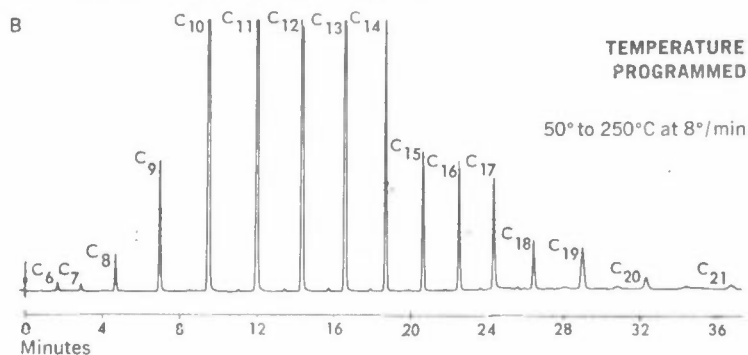


Fig. 13 Sammenligning av kromatogrammer ved isoterm og temperaturprogrammert kjøring.

Tabell 3 Sammenlikning av isotermt og temperaturprogrammert (PTGC) GLC.

Faktor	Isotermt	PTGC
Kokepunktområdet for prøven	100 °C	80 - 400 °C
Skarpheten på toppene (peak shape)	Ikke uniform	Uniform
Stasjonær fase	Stort utvalg	Begrenset utvalg
Renhet på bæregassen	Ikke kritisk	Må være meget ren

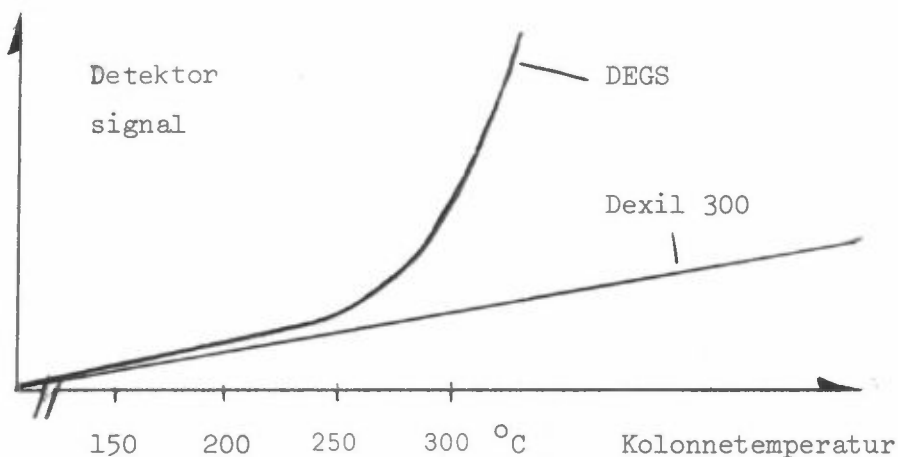
Fordelene ved PTGC:

1. Analyse av prøver som inneholder stoffer med varierende kokepunkt.
2. Kortere analysetid
3. Skarpere topper
4. Hurtig rengjøring av kolonnen

Bakdelene ved PTGC:

1. Meget støy ved høye temperaturer
2. Få passende stasjonære faser (væske-fasen)

Blødning fra kolonnen kan lett oppstå hvis man ikke tar hensyn til den oppgitte maksimum temperaturen for kolonnen. Som eksempel vises bakgrunnsignalet for to kolonner DEGS og Dexil 300 ved økende temperatur:



Signalet man får som skyldes blødning fra kolonnen kan man kompensere for ved å sette inn en referansekolonne:

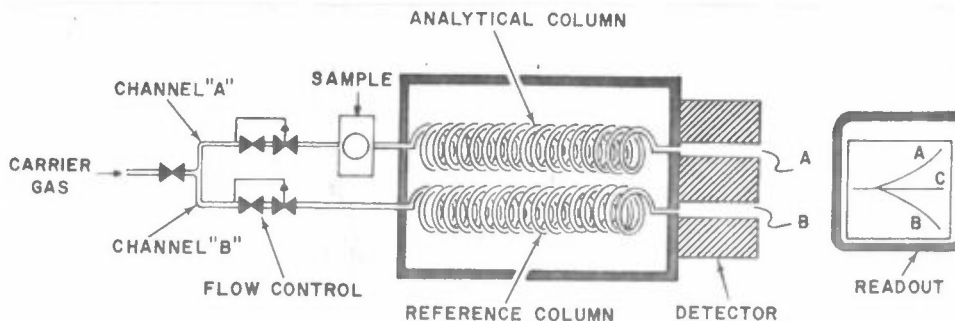


Fig. 14 viser koblingskjema ved bruk av referansekolonne.

Stasjonærfasen bør ha et lite damptrykk og være passende viskøs ved lave temperaturer.

Eksempler på stasjonærfase:

Ikke polar:	OV-1, SE-30	:	100 - 350 °C
	APIZON L	:	50 - 250 °C
	Dexsil 300	:	100 - 400 °C
Polare	Carbowax 20 M	:	60 - 225 °C
	OV-17	:	0 - 300 °C
	QF-1	:	0 - 275 °C

Generelt for PTGC gjelder at lav temperatur gir bedre oppløsning og høy temperatur gir skarpere topper.

Bæregassen må være så ren som mulig. Bruk av molecular sieve er nødvendig. "Flowen" må holdes konstant og til dette trenger man en differential "flow controller", dvs. hvis man øker kolonne-temp. fra 20 - 200 °C og trykket ved innløpet av kolonnen varierer fra 263 mm til 412 mm, må "flowen" holdes konstant ved f.eks. 60 ml/min. (Dog vil en liten økning på 1-2% ikke spille noen rolle).

6. KVALITATIV GASSKROMATOGRAFI

De mest anvendte metoder for kvalitativ bestemmelse av stoffer ved GLC er bruk av retensjonstiden, korrigert retensjonstid, relativ retensjonstid, logaritmen til retensjonstiden og Kovats retensjonsindeks.

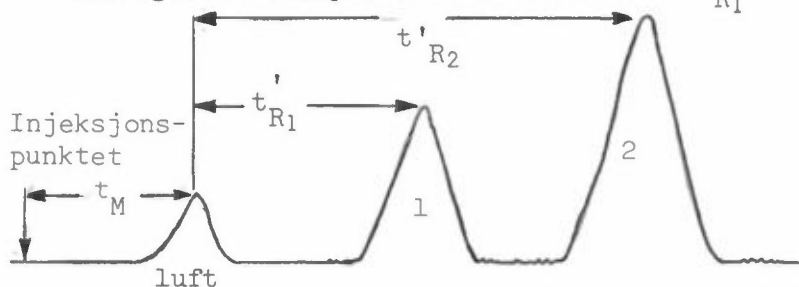
6.1 Retensjonstiden, t_{R2} , er tiden fra injiseringspunktet og til maksimum "peak"-høyde. t_R er avhengig av hastigheten på bæregassen, temperaturen og % væskefase (stasjonærfasen).

6.2 Korrigert retensjonstid, t_R' , er tiden fra maksimum "peak" høyde for lufttoppen ("unretained solution") til maksimum "peak" høyde for det stoffet man er interessert i

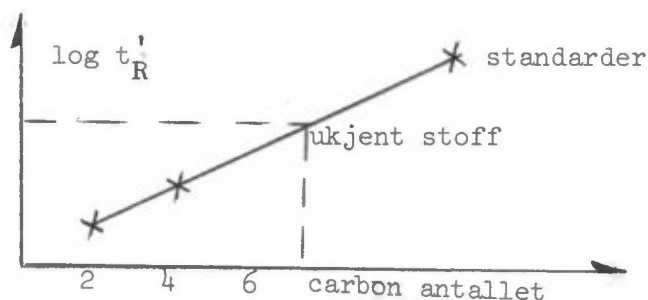
$$t_R' = t_R - t_M$$

6.3 Den relative retensjonstiden, α , er mer anvendelig enn bare retensjonstiden og er lik:

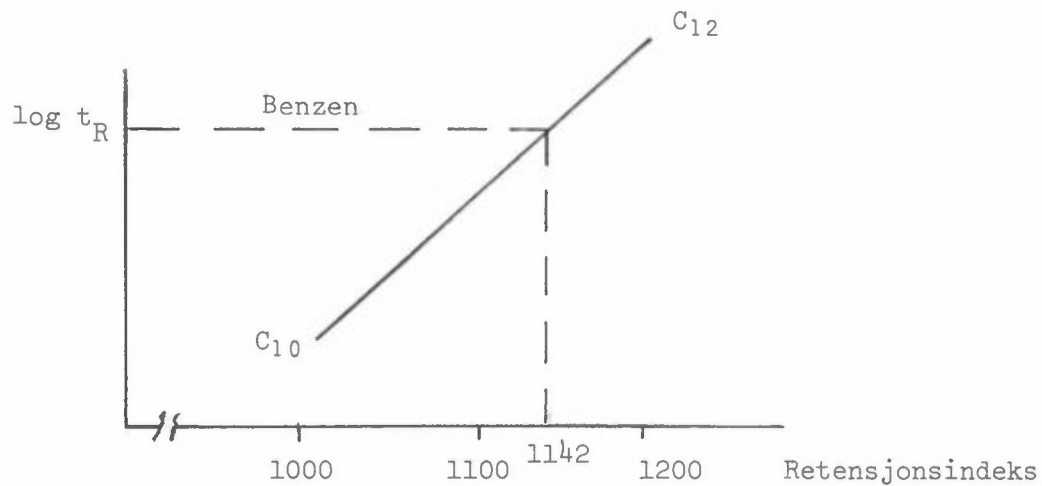
$$\alpha = \frac{\text{korrigert retensjonstid for stoff 2}}{\text{korrigert retensjonstid for stoff 1}} = \frac{t_{R2}'}{t_{R1}'}$$



6.4 Logaritmen til den korrigerede retensjonstiden, $\log t_R'$, kan brukes til bestemmelse av carbon-antallet i ukjente stoffer ved å plote $\log t_R'$ mot karbonantallet.



6.5 Kovats retensjonsindeks, I , plottet mot $\log t'_R$ kan også anvendes for å finne carbonantallet i et stoff. Indeksen refererer seg alltid til en bestemt stasjonær fase og en bestemt temperatur.



6.6 Oppsamling av stoffer som har gått igjennom en gasskromatograf kan gjøres ved bruk av f.eks.

a) en kolonne som er fylt med et bestemt kolonnemateriale
eller

b) ved bruk av en kjølefelle.

Disse kan da brukes til videre analyse ved f.eks. infrarød spektroskopi (IR) eller massespektrografi (MS).

7. KVANTITATIV GASSKROMATOGRAFI

Ved kvantitativ bestemmelse av stoffer ved GLC må man alltid passe på å fjerne alle feilkilder. Noen av feilkildene kan være:

- a) skitten sprøyte
- b) flyktige prøver
- c) reaktive prøver
- d) urent løsningsmiddel
- e) lekkasje i systemet (tap av prøve)
- f) skitten injektor, kolonne, detektor

7.1 Man benytter seg enten av maksimum høyde eller arealet av toppene.



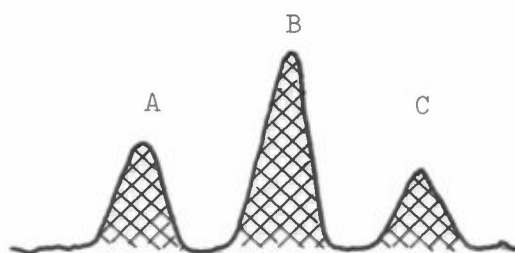
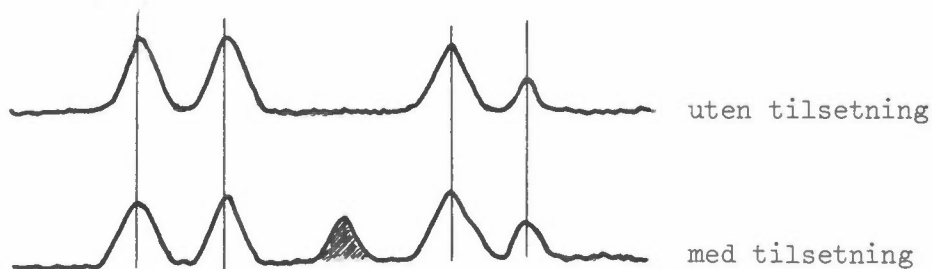
Det er fem forskjellige måter å regne ut arealet på:

1. Ved hjelp av et planimeter
2. Ved å klippe ut arealet av toppen og veie papiret
3. Ved hjelp av en disk integrator
4. Automatisk elektronisk integrator (retensjonstid, areal)

Til denne kan man også koble en datamaskin som overfører retensjonstid og areal til konsentrasjoner.

5. Ved å regne ut arealet, A , etter formelen: $A = \Delta t \times h$, hvor Δt = bredden på toppen ved halv høyde, h = maksimum høyde på toppen.

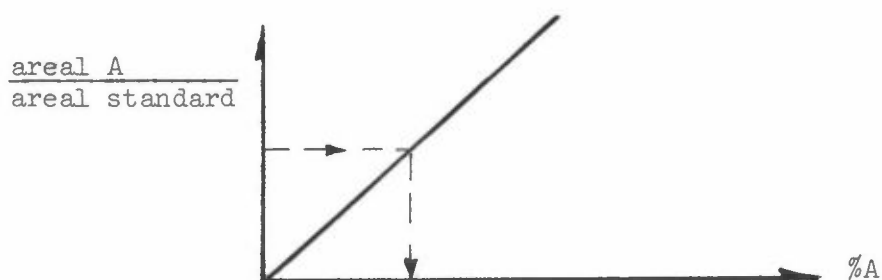
7.2 Ved den "indre standard metodikk" tilsetter man til prøven en kjent mengde av et stoff som ikke er tilstede i prøven.



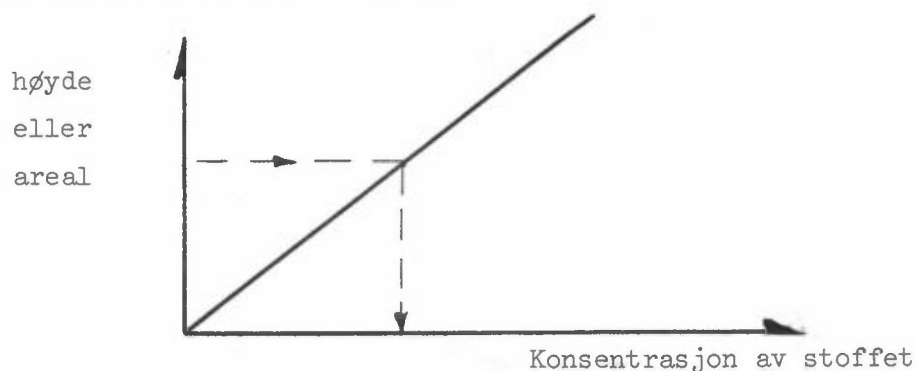
$$\%A = \frac{\text{areal A}}{\text{areal A} + \text{B} + \text{C}}$$

$$\% A = \frac{\text{Areal A} \times \text{faktor A}}{\text{areal A} \times \text{faktor A} + \text{areal B} \times \text{faktor B} + \text{areal C} \times \text{faktor C}}$$

Man tegner så opp en kurve med areal A/areal standard på y-aksen og % A på x-aksen.



7.3 Ved den "ytre standard metodikk" tegner man en standard-kurve på bakgrunn av rene standarder.



8 LABORATORIEØVELSER

8.1 Optimale flammebetingelser

Dette forsøket kan deles inn i fire avsnitt:

1. Justering av forsterker (amplifier)
2. Tenning av flammen
3. Valg av optimalt hydrogen-trykk
4. Valg av optimalt lufttrykk

Til forsøket ble det brukt en gasskromatograf type "PE F 11" med en FID.

For justering av forsterkeren fulgte vi denne prosedyren:

- a) Koble fra signal "input" forbindelsen fra analyseenheten. Skru knotten merket "ZERO" mot høyre (med klokka).
 - b) Sett knotten merket "RANGE" til 1×10^4 .
 - c) Press knottene merket "+" og "-" vekselvis. Hvis forsterkeren er riktig justert skal ikke pennen på skriveren bevege seg. Om nødvendig, justeres knotten merket "BALANCE".
- Trykk tilslutt inn knotten merket "+".

Til tenning av flammen fulgte vi denne prosedyren:

- a) Sett trykket til 17 psi på hydrogentilførselen og 15 psi på lufttilførselen. Skru av bæregassen.
 - b) Sett på skriveren og sett papirhastigheten til 10 mm/min. Sett "Amplifier Attenuation" til X 10 og skru begge knottene merket "Amplifier, ZERO" helt ut til høyre (med klokken).
 - c) Trykk på knappen "IGN" og flammen tennes.
- Dette kan sjekkes ved å holde en kald blank gjenstand over detektoren og se om det danner seg dugg på denne.

Merknad: "Flowen" for hydrogen er 30 ml/min og for luft 300 ml/min.

Til valg av optimalt hydrogentrykk fulgte vi denne prosedyre:

- a) Sett ovnstemperaturen til 150 °C og trykket til bæregassen på 16 psi.
- b) Sett trykket til 20 psi på hydrogentilførselen og til 18 psi på lufttilførselen.
- c) Sett knotten "Amplifier Attenuation" til 20. Om nødvendig justeres baslinjen til 5% av bredden på papiret.
- d) Steng av tilførselen til hydrogengassen og la trykket synke til ca. 8 psi. Observer forandringen i baslinjen på papiret.
- e) Sett trykket på hydrogentilførselen til det høyeste utslaget på papiret, (rundt 13 psi).

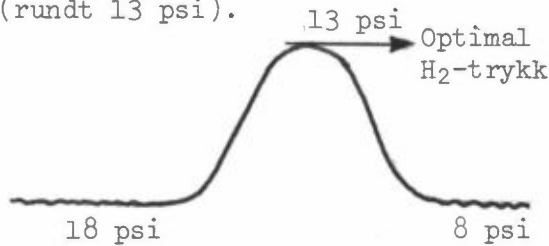
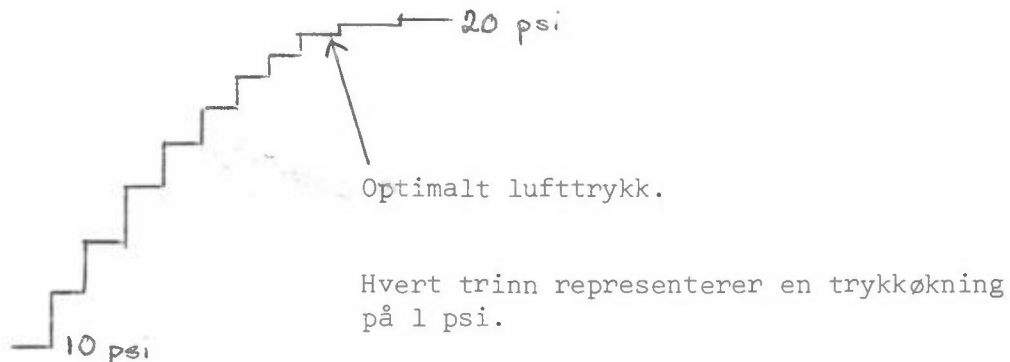


Fig. 15. Baslinje ved regulering av hydrogentrykket.

Til valg av optimalt lufttrykk fulgte vi denne prosedyre:

- a) Sett ovnstemperaturen til 150 °C og bæregassen til 16 psi.
- b) Sett trykket til hydrogentilførselen til det som er funnet ovenfor (ca. 13 psi).
- c) Sett trykket til 10 psi på lufttilførselen.
- d) Sett "Amplifier Attenuation" til 10 og vent til baslinjen har stabilisert seg.
- e) Øk trykket med 1 psi ad gangen opp til 20 psi. Optimalt trykk for luften ligger på rundt 18 psi, dvs. der en økning på 1 psi gir en liten økning i signalet.
- f) Sett trykket på lufttilførselen til optimalt trykk.



Figur 16. Baslinje ved regulering av lufttrykket.

Denne metoden for å finne optimale flammebetingelser er rask og enkel men kan være villedende hvis visse faktorer ikke tas med i betraktning. Signalet er utledet fra kolonne "blead" ved en forhøyet temperatur. Hvis ikke denne temperaturen er høy nok vil den dominerende faktor være urenheter som er tilstede i luft- eller hydrogentilførselen, og en økning i trykket vil alltid gi en økning i signalet.

8.2 Bestemmelse av optimal hastighet på bæregassen.

Til forsøket (som vi forresten ikke fikk tid til) skulle vi ha brukt en gasskromatograf type PE F 30 med en FID. Kolonnene, 2 m x 1/8" od, skulle ha vært pakket med Apiezon L. Prøven skulle bestå av p - xylen i iso-oktan.

Forsøket skulle ha vært utført på følgende måte:

- a) Still inn ovnstemperaturen på ca. 120 °C, injektor og detektor-temperaturen til 200 °C. Still inn hastigheten på bæregassen til 5 ml/min. Injiser 0.5 µl av prøven og kjør isotermt ved 120 °C.
- b) Gjenta kjøringen med andre hastigheter på bæregassen, eks. 10 ml/min, 15 ml/min, 20 ml/min. og 30 ml/min.
- c) Mål retensjonstiden, T_r , og bredden ved halve topphøyden, Δt . Beregn HETP-verdiene ut fra formelen

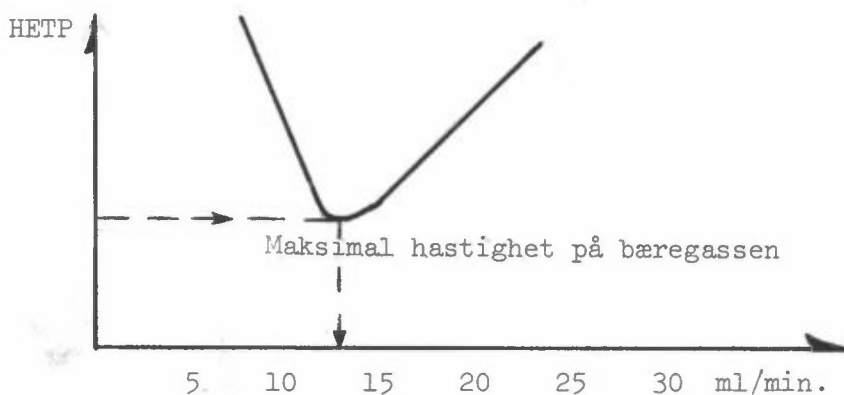
$$HETP = \frac{L}{n} \quad \text{der}$$

L = lengden på kolonnen

n = antallet teoretiske bunner

$$n = 5.54 \left(\frac{T_r}{\Delta t} \right)^2$$

Tegn opp en HETP-kurve (van Deemters plot) med HETP på y-aksen og hastigheten på bæregassen på x-aksen. Finn av dette hvilken hastighet på bæregassen som gir den minste HETP. Eksempel på hvordan kurven vil kunne se ut:



8.3 Beregning av antall teoretiske plater

Til dette forsøket ble det brukt en gasskromatograf, type "PE F 17" med FID. Instrumentet var utrustet med en kapillarkolonne på 50 m med OV-101 som stasjonærfase.

Vi fulgte følgende prosedyre:

- a) Still inngangstrykket til 10 psi og ovnstemperaturen til 100 °C.
- b) Sett skriverens papirhastighet til 60 mm/min.
- c) Når ovnstemperaturen har stabilisert seg, injiser 1 µl p - xylen i iso-oktan på A-siden, dvs. på kapillarkolonnen.
- d) Regn ut antallet av teoretiske bunner, n, etter formelen

$$n = 5.54 \left(\frac{T_r}{\Delta t} \right)^2$$

Vi finner T = 170 mm, h 2 96 mm, dvs.

$$\frac{1}{2} h = 48 \text{ mm}, \Delta t = 3 \text{ mm}$$

$$n = 5.54 \cdot \left(\frac{170}{3} \right)^2 = \underline{\underline{17810}}$$

8.4 Temperaturens innvirkning på separasjonen

Til forsøket ble det brukt en gasskromatograf type PE F 30 med en FID. Kolonnene, 2 m x 1/8" od, var pakket med Apiezon L. Prøven besto av en blanding av etylbenzen og m-xylen i aceton.

Forsøket ble utført på følgende måte:

- a) Still inn ovnstemperaturen til 200 °C, injektor og detektor-temperatur til 230 °C. Injiser 0.5 µl av prøven og kjør isotermt ved 200 °C.

Vi får da først en løsningsmiddeltopp pluss to useparerte topper.

- b) Kjøøl ned ovnstemperaturen til 175 °C, injiser 0.5 µl av prøven og kjør isotermt ved 175 °C.

c) Gjenta kjøringen ved 150 °C, 125 °C og 100 °C. Øk følsomheten for disse tre kjøringene.

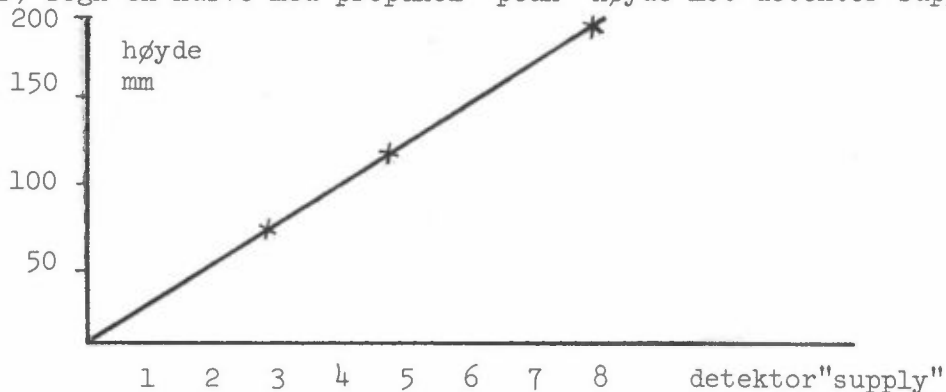
Vi ser at separasjonen blir bedre og retensjonstiden lengere jo lavere temperaturen er.

8.5 Øvelser i forbindelse med bruk av varmetrådsdetektor

Til øvelsene har vi benyttet en Perkin Elmer F 11 med en varmetrådsdetektor. Kolonnene, 2 m x 1/8" od, var pakket med 15% Carbowax 20 M på 80 - 100 Chromosorb W. Prøven var en blanding av 0.5% propanol i aceton.

Første forsøket gikk ut på å vise at følsomheten på en varmetrådsdetektor øker med økende detektorstrøm. Dette ble gjort ved å plote "peak"-høyden av propanol mot økende detektorstrøm. Forsøket ble utført som følger:

- Sett på bæregassen, 10 ml/min, før man setter på varmetrådsdetektoren.
- Sett ovnstemperaturen til 90 °C. Jo lavere temperatur dess bedre separasjon.
- Sett injektor- og detektortemperaturen til 200 °C og detektor "Supply" i posisjon 3. Trykk knotten "CHECK FILAMENTS" og sjekk at skriveren ikke slår ut av skalaen. Dette gjøres for å forsikre seg om at detektorfilamentene ikke er for varme.
- Injiser 0.5 µl av prøven.
- Gjenta prosedyren med detektor"supply" på 3, 5 og 8.
- Tegn en kurve med propanol "peak" høyde mot detektor"supply".



Andre forsøket (som vi forresten ikke fikk tid til) gikk ut på å vise at en varmetrådsdetektor er en konsentrasjonsdetektor. Dette skulle vært gjort ved å plotte "peak"-høyden og arealet mot hastigheten på bæregassen, som igjen skulle variere fra 20 til 40 ml/min.

8.6 Bestemmelse av den relative responsefaktor (RF) ved bruk av en indre standard.

Til forsøket ble det brukt en gaskromatograf, type PE F 11 med FID. Kolonnen, 2 m 1/8" od, var pakket med Carbowax 20 M. Oppgaven var å bestemme RF verdien for tetraklorkullstoff, CCl_4 , og benzen, C_6H_6 , i forholdet til oktan, C_8H_8 (indre standard).

Forsøket ble utført på følgende måte:

- Still inn ovnstemperaturen til 70°C og følsomheten til 5×10^2 .
- Sett skriverens papirhastighet til 60 mm/min. c) Injiser 1,0 μl av prøven. Komponentene kommer i følgende rekkefølge: oktan, tetraklorkullstoff og benzen. d) Mål opp arealet (topphøyden ganger bredden ved halve topphøyden). e) Regn ut den relative responsefaktoren, RF, etter følgende formler:

$$\text{RF}_{\text{CCl}_4} = \frac{\text{vekt oktan}}{\text{areal oktan}} \times \frac{\text{areal CCl}_4}{\text{vekt CCl}_4}$$

$$\text{RF}_{\text{benzen}} = \frac{\text{vekt oktan}}{\text{areal oktan}} \times \frac{\text{areal benzen}}{\text{vekt benzen}}$$

Vi har oppgitt vektene av de tre stoffene:

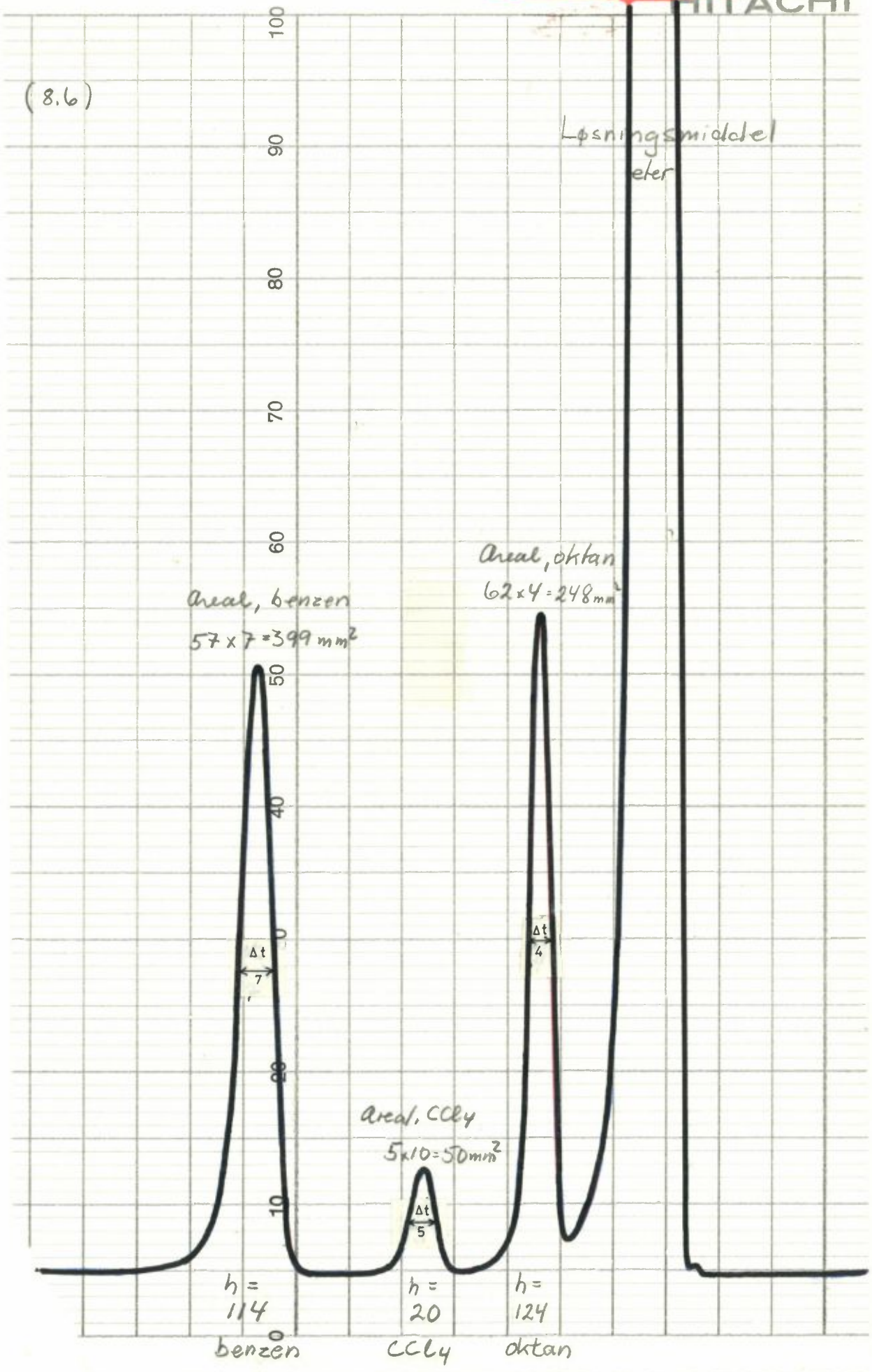
CCl_4 : $7,9 \times 10^{-6}$ g/ μl
Benzen : $4,4 \times 10^{-6}$ g/ μl
Oktan : $3,5 \times 10^{-6}$ g/ μl

Den relative responsefaktoren blir da lik:

$$\underline{\underline{RF_{CCl_4}}} = \frac{3,5 \times 10^{-6}}{248} \times \frac{50}{7,9 \times 10^{-6}} = \underline{\underline{0.089}}$$

$$\underline{\underline{RF_{benzen}}} = \frac{3,5 \times 10^{-6}}{248} \times \frac{399}{4,4 \times 10^{-6}} = \underline{\underline{1.280}}$$

Se forøvrig kurve på side 34.



8.7 Temperaturprogrammering kontra isoterm kjøring

Til forsøket ble det brukt en gasskromatograf, type PE 3920 med en FID. Kolonnene, 2 m x 1/8" od, var pakket med Carbowax 20 M. Prøven besto av en løsningsmiddelblanding av hexan, cyclohexan, ethyl acetat, benzen, p-xylene og cyclohexanol.

Forsøket ble utført på følgende måte:

a) Still inn ovnstemperaturen til 80 °C, injektor- og detektortemperatur til 200 °C. Følsomhet til 32 x 100. Injiser 0.2 µl av prøven og kjør isotermt ved 80 °C. Vi ser her at separasjonen på de første toppene er god, men at de senere toppene har en meget lang retensjonstid.

b) Øk ovnstemperaturen til 150 °C og gjør en ny injeksjon, denne gang 0,1 µl av prøven.

Vi ser nå at separasjonen for de første toppene er meget dårlig, men at retensjonstiden og separasjonen av senere topper er bra.

c) Senk ovnstemperaturen til 80 °C igjen. Still inn programmeren mellom 80 °C og 150 °C med programmeringshastighet 16°/min. "Final time" settes til 8 min. Injiser 0.2 µl av prøven og trykk på startknappen for temperaturprogrammering.

Vi ser nå at retensjonstiden og separasjonen av alle toppene er blitt meget bra.