

Gaskromatografi (GC)

Niklas Dahrén



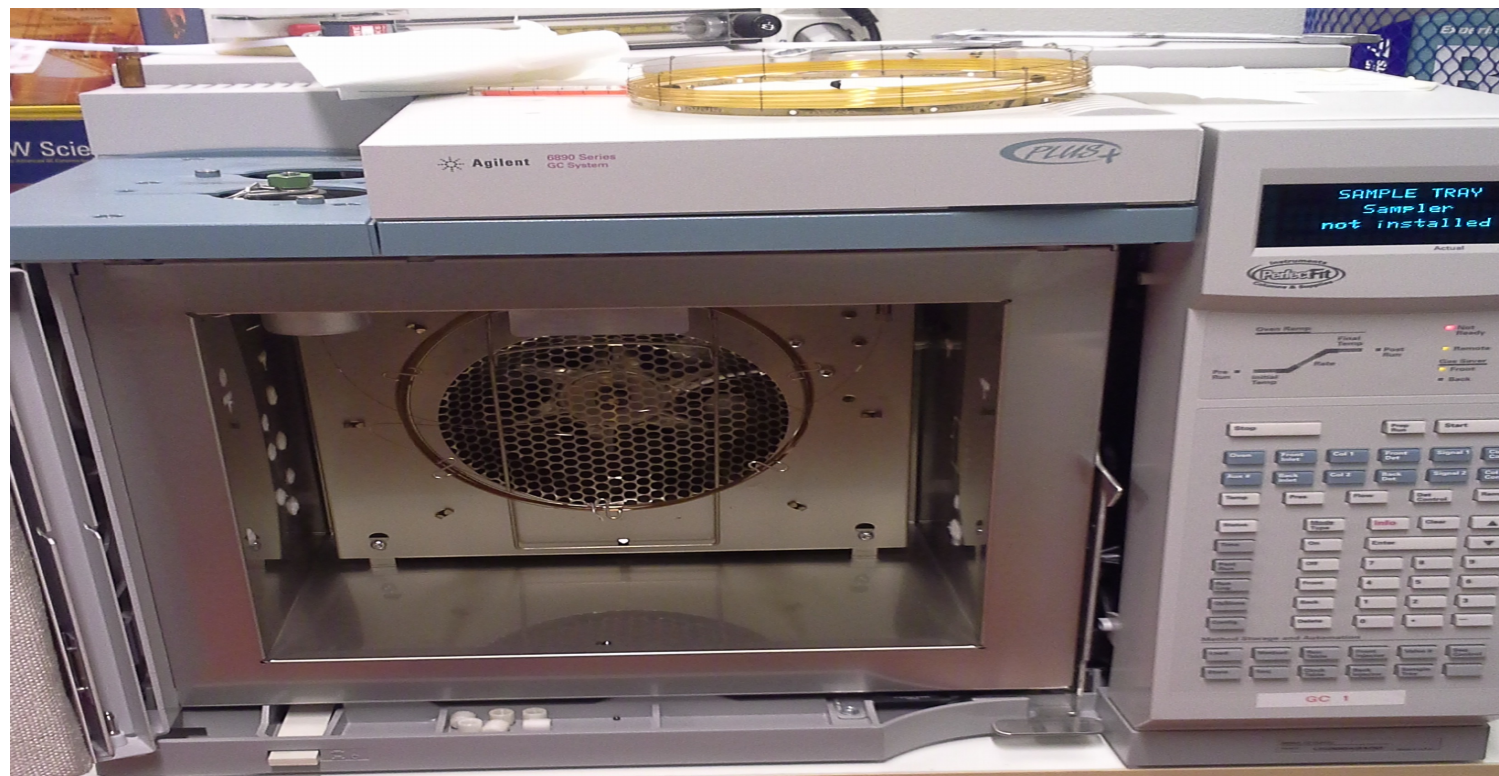
Gaskromatografi (GC)

- ✓ **GC=** "gas chromatography" eller på svenska "gaskromatografi".
- ✓ **Gaskromatografi är en avancerad kemisk analysmetod** som används för t.ex. gift-, drog- och läkemedelsanalyser. Kan även användas för analyser av dopingpreparat, brandfarliga vätskor, miljögifter och många andra ämnen.
- ✓ **Namnet "kromatografi" kommer av** det grekiska ordet "chroma" som betyder färg. I början användes kromatografiska metoder endast för färgade ämnen men nu används dessa även till ofärgade ämnen så namnet är därför lite missvisande.

Vilka olika typer av analyser kan utföras med GC?

- 1. Undersöka vilka okända ämnen som finns i ett prov:** Vi kan identifiera okända ämnen (t.ex. gifter, droger, dopingpreparat, miljögifter, brandfarliga vätskor eller läkemedel) med denna metod. Om vi dessutom kopplar vår GC till en masspektrometer (en speciell detektor) får vi ett mycket kraftfullt verktyg för att identifiera okända ämnen.
- 2. Bestämma koncentrationen av olika ämnen som finns i ett prov:** GC kan också användas kvantitativt för att mäta koncentrationen av de ämnen som finns i ett prov.
- 3. Renhetstester:** Vi kan undersöka om ett prov är förorenat med andra ämnen som inte bör finnas där (t.ex. renhetstester av läkemedel eller livsmedel).

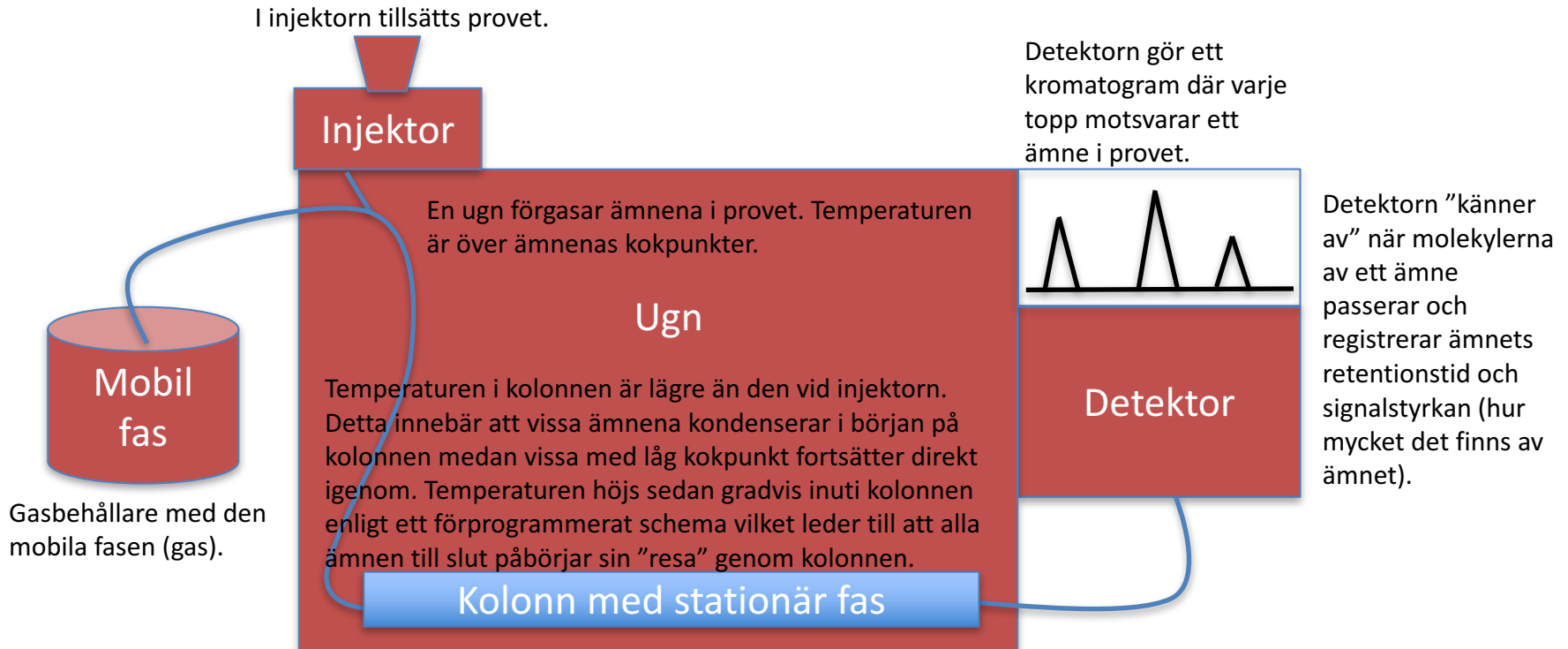
En gaskromatograf (GC)



3 saker viktiga saker som ingår vid GC

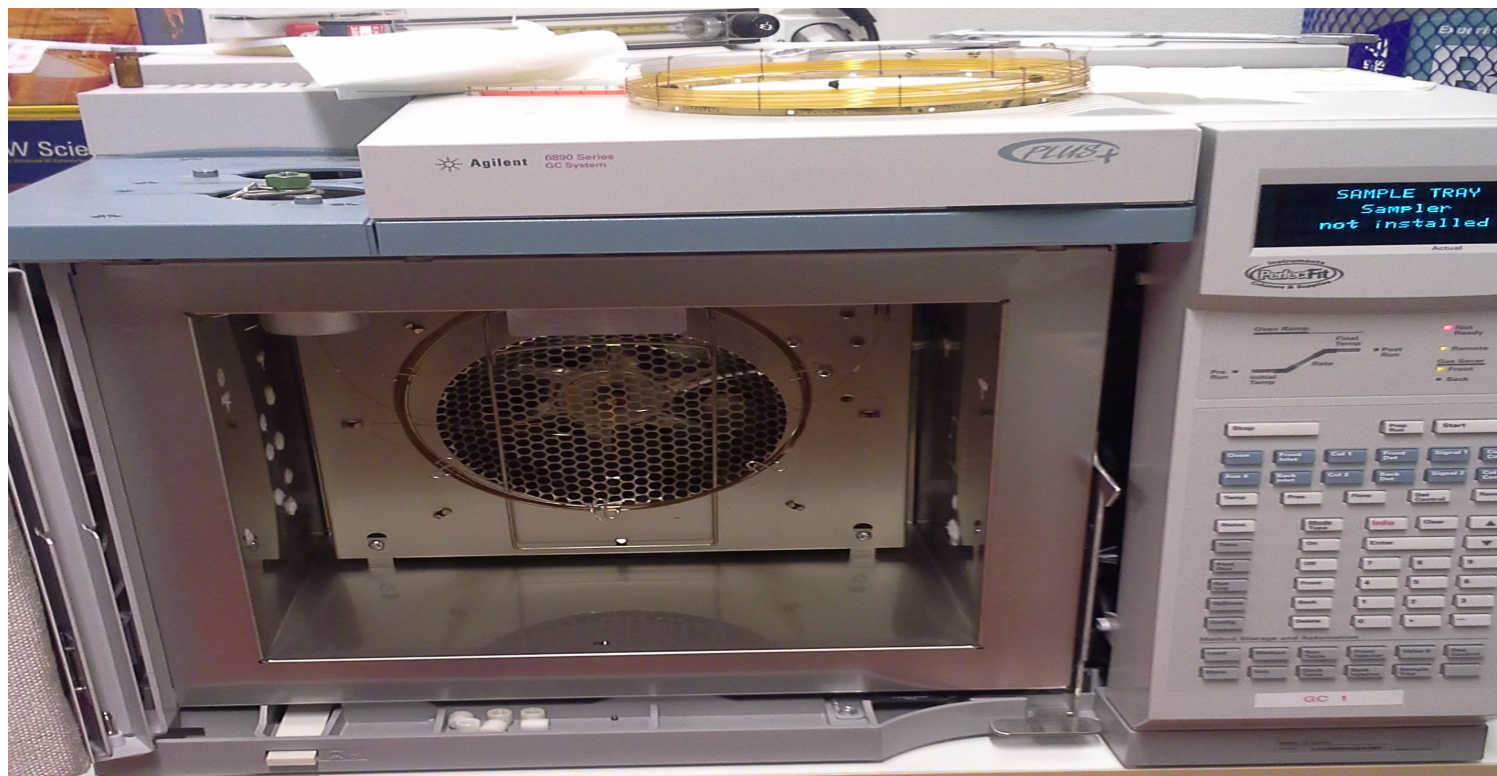
- ✓ **Prov:** I GC tillsätts ett prov innehållande olika ämnen som ska analyseras.
- ✓ **Mobil fas:** I GC finns en s.k. mobil fas (rörlig fas). Den mobila fasen i GC består av en gas (helium, kvävgas eller vätgas). Syftet med den mobila fasen är att transportera provet genom gaskromatografen, alltså genom den maskin som ska utföra själva analysen.
- ✓ **Stationär fas:** I GC finns en kolonn (ett ihåligt rör) som på insidan är beklädd med en stationär fas (stillastående fas) som består av olika molekyler. Den stationära fasen kan vara i fast form eller bestå av en trögflytande vätska. Molekylernas uppgift i den stationära fasen är att binda till de olika ämnena i provet så att dessa ämnen bromsas upp inuti kolonnen. Vissa ämnen kan binda mycket starkare till molekylerna i den stationära fasen och tar därför längre tid på sig genom kolonnen.

Principen bakom GC



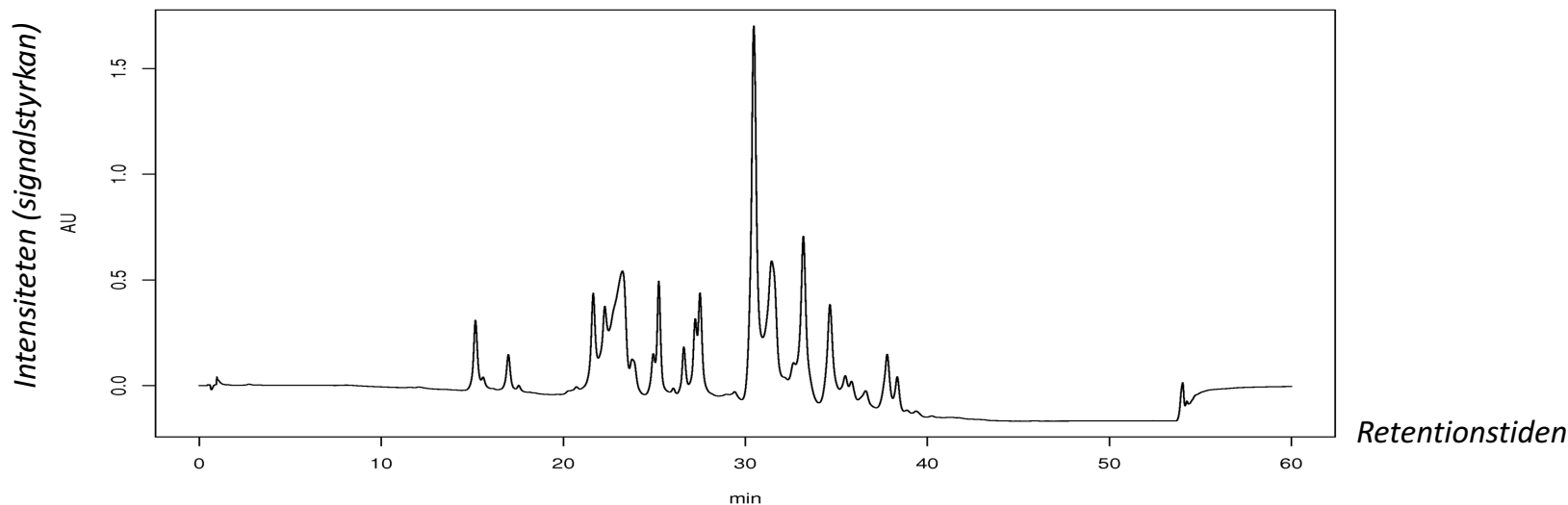
I kolonnen separeras ämnena i provet från varandra eftersom olika ämnen har olika kokpunkter och övergår i gasform olika lätt (vid olika temperaturer). De binder också olika lätt/olika starkt till den stationära fasen i kolonnen. Ämnena kommer därför ut vid olika tidpunkter. Den stationära fasen är ofta en trögflytande vätska som täcker insidan på kolonnen.

En gaskromatograf (GC)



Exempel på ett kromatogram

- ✓ **Retentionstiden:** Retentionstiden är specifik för varje ämne i ett givet system och därför kan vi använda retentionstiden för att identifiera olika ämnen (kvalitativ analys).
- ✓ **Toppens area:** Detektorn mäter intensiteten (signalstyrkan) av varje ämne som passerar, vilket motsvarar hur många molekyler av ämnet som passerar detektorn. Utifrån det ritas en topp ut i kromatogrammet där arean av toppen motsvarar hur hög koncentration vi har ämnet (kvantitativ analys).

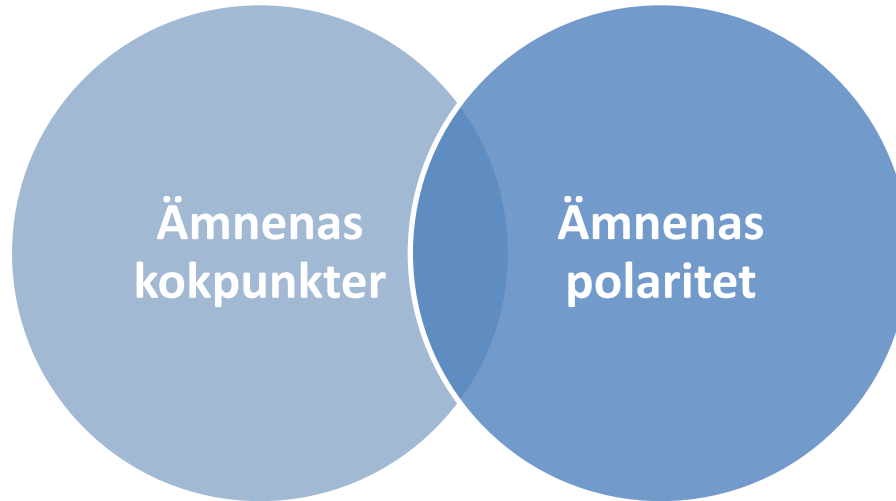


Bildkälla: "Hplc-perfume-chromatogram" by Lukke - Own work. Licensed under CC BY-SA 3.0 via Commons - <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hplc-perfume-chromatogram.png#/media/File:Hplc-perfume-chromatogram.png>

Ett exempel på temperaturprogrammering i en GC

- ✓ **Injektorns temperatur:** I injektorn är temperaturen 180 grader. Denna temperatur är över kokpunkten för de ämnen som ingår i provet (i just det här exemplet).
- ✓ **Kolonnens temperatur:** I kolonnen är temperaturen initialt 110 grader i 2 minuter, därefter sker en ökning med 14 grader/min upp till 200 grader. Denna sluttemperatur hålls sedan i ytterligare 2 minuter för att vi ska vara säkra på att alla ämnen tar sig igenom systemet och ut till detektorn.
- ✓ **Detektorns temperatur:** I detektorn är temperaturen 230 grader för att säkerställa att inga ämnen blir kvar.

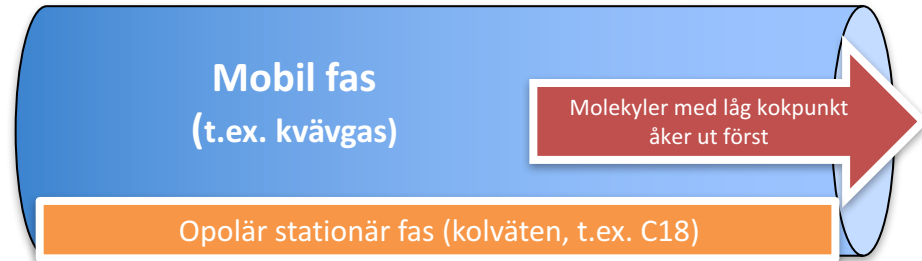
Retentionstiden i en GC bestäms av 2 faktorer:



GC-analyser kan utföras på 2 olika sätt

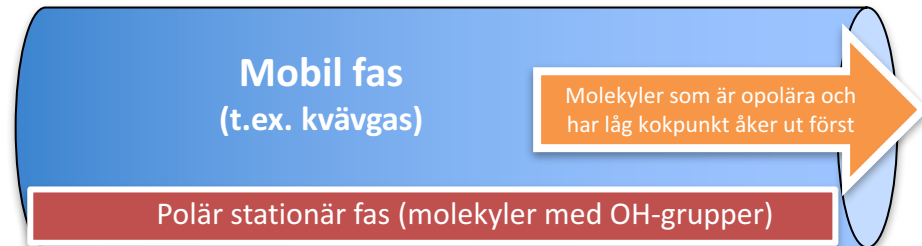
1. **Opolär kolonn (kokpunkten avgör):** Detta är den vanligaste metoden, används t.ex. alltid när det är enbart opolära ämnen i provet. De ämnen som har lägst kokpunkt övergår lättast i gasform och åker därför fortast genom kolonnen. Både polära och opolära ämnen kan binda lika starkt (eller svagt) till den opolära kolonnen. Kortast retentionstid får därför de ämnen som har lägst kokpunkt.

Opolär kolonn (kokpunkten avgör)



2. **Polär kolonn (kokpunkten + polariteten avgör):** Används ofta när man vet eller misstänker att det finns polära ämnen i provet. Kokpunkten har fortfarande stor betydelse eftersom den bestämmer hur lätt ämnena övergår i gasform. Polariteten spelar dock en större roll här. Polära ämnen kan skapa vätebindningar (eller vanliga dipol-dipolbindningar) med den stationära polära fasen och kommer därför bromsas upp mycket mer inne i kolonnen jämfört med opolära ämnen. Kortast retentionstid får därför de ämnen som har låg kokpunkt och är opolära.

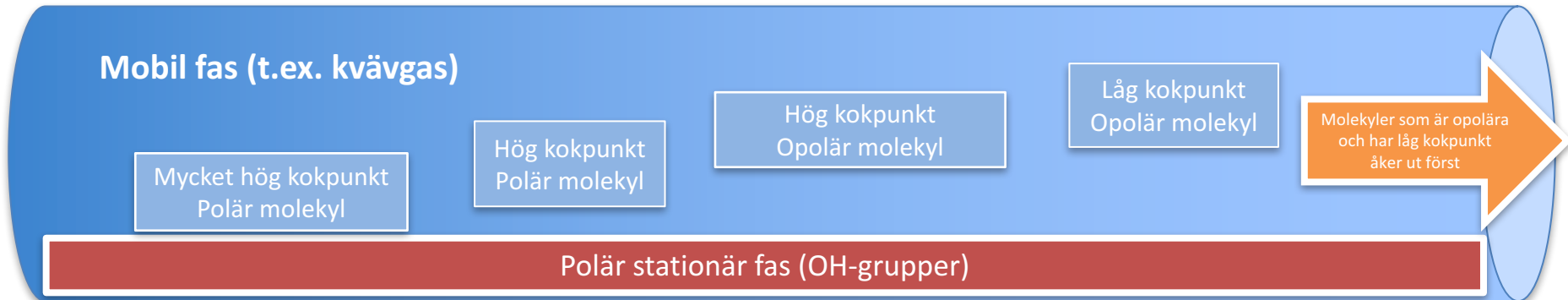
Polär kolonn (kokpunkten och polaritet avgör)



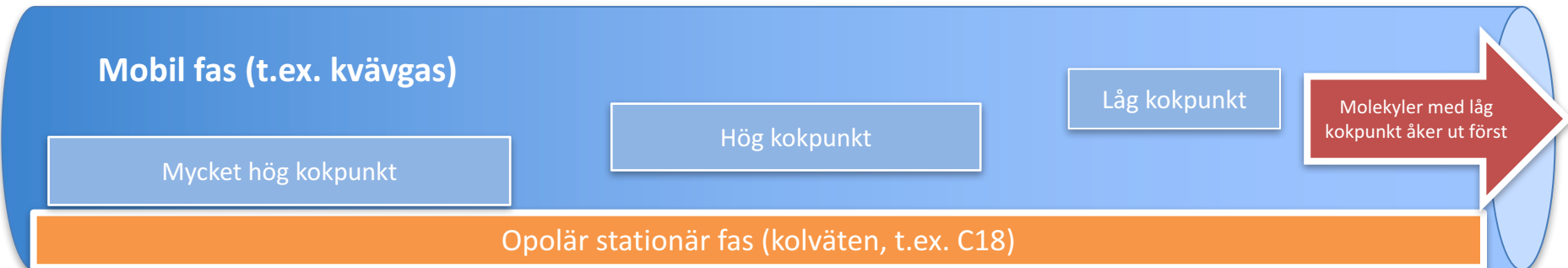
Obs. Den mobila fasen i GC är en gas som inte reagerar med provets olika ämnen (skapar ej bindningar). Polära resp. opolära ämnen "trivs" därför lika dåligt i den mobila fasen. Anledningen att de ändå åker igenom kolonnen är det gstryck som uppstår.

Separationen vid polär resp. opolär kolonn

I en **polär kolonn** kommer polära ämnen binda hårdare till den polära stationära fasen (framförallt polära ämnen som kan skapa starka vätebindningar). Kokpunkten och polariteten kommer därför vara avgörande för separationen.



I en **opolär kolonn** kommer polära och opolära ämnen kunna binda lika hårt/svagt till den opolära stationära fasen, om de har ungefär samma storlek (alla ämnen kan skapa van der Waalsbindningar, antalet avgörs av molekylernas storlek och form). Kokpunkten avgör därför separationen.



Varför är det enbart kokpunkten som avgör separationen vid en opolär kolonn?

- ✓ **Polariteten har ingen större betydelse när det gäller förmågan att binda till en opolär kolonn i GC** eftersom både polära och opolära ämnen kan skapa van der Waalsbindningar (London dispersionskrafter) till en opolär kolonn. I GC finns det bara en "fas" som de olika ämnena kan binda till, nämligen den stationära. Den mobila fasen i GC attraherar inga molekyler eftersom den består av en icke reaktiv gas (kvävgas, helium etc.) som inte alls binder till de olika ämnena i provet utan enbart fungerar som en "vind" som blåser ämnenas molekyler från start till mål. I GC med opolär kolonn kommer därför polära ämnen i lika stor utsträckning som opolära ämnen "välja" att binda den opolära kolonnen på sin väg mot detektorn.
- ✓ **Det som avgör hur mycket olika ämnen binder till den opolära kolonnen** är hur bra ämnena är på att skapa van der Waalsbindningar till kolonnen. Stora och avlånga molekyler är bäst på det och därför kommer dessa ämnen (oavsett vilken polaritet de har) bromsas upp mest i kolonnen.
- ✓ **De ämnen som har högst kokpunkt** är också de ämnen som oftast kan binda starkast till den opolära stationära fasen. Detta p.g.a. att ämnen med hög kokpunkt ofta är ämnen som har stora och avlånga molekyler och därmed också är bra på att skapa van der Waalsbindningar. **Det finns alltså ett visst samband mellan hög kokpunkt och hög förmåga att binda till en opolär kolonn** och därför räcker det oftast med att titta på ämnenas kokpunkter för att veta vilket ämne som kommer få kortast resp. längst retentionstid.

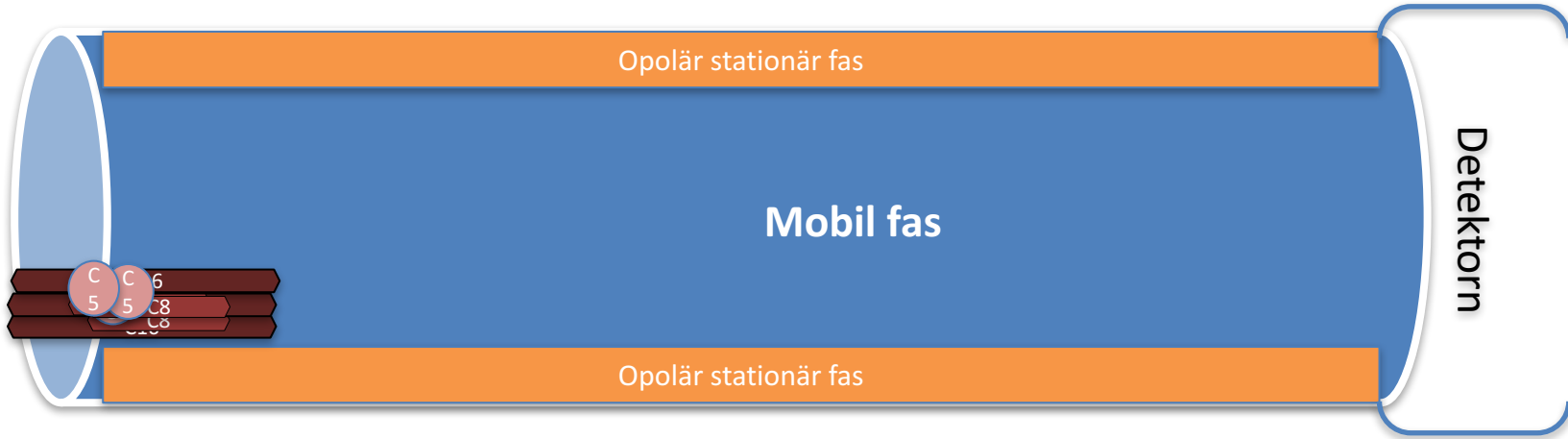
Exempel: Analys av ett prov med hjälp av GC

- ✓ **De kemiska forensikerna** på Nationellt forensiskt centrum (NFC) i Linköping får till uppgift att analysera ett okänt prov med hjälp av GC.
- ✓ **Forensikerna misstänker** att provet troligtvis innehåller opolära ämnen (kolväten) och väljer därför att analysera provet med hjälp av en opolär kolonn.
- ✓ **För att kunna identifiera olika ämnen utifrån deras retentionstider** måste vi ha kända retentionstider att jämföra med. Forensikerna använder sig därför av en tabell med kända retentionstider för de ämnen som de misstänker kan finnas i provet. Genom att jämföra de erhållna retentionstiderna med de kända så kan forensikerna lista ut vilka okända ämnen som finns i provet.

Ämne:	Retentionstider (min):
Pentan	3,0
Cyklopentan	4,5
Oktan	7,5
Dekan	8,0
Hexadekan	9,5

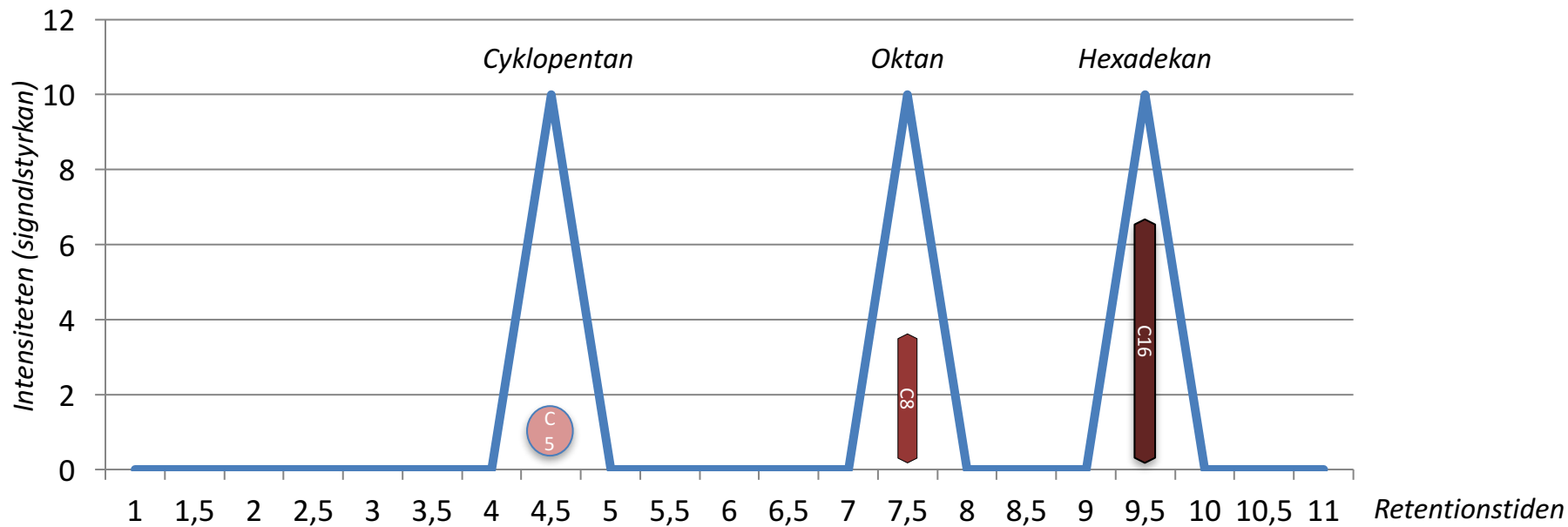
Obs. Påhittade retentionstider!

Exempel: Analys av ett prov med hjälp av GC



Ämne:	Retentionstid (min):	Identifiering utifrån de kända retentionstiderna:
	4,5	Cyklopentan
	7,5	Oktan
	9,5	Hexadekan

Ett kromatogram visar retentionstiden för de 3 ämnena






✓ **Retentionstiden** är specifik för varje ämne och visar därför vilket ämnet är (kvalitativ analys).

✓ **Toppens area** avslöjar däremot hur stor koncentration vi har av ämnet (kvantitativ analys).

De 3 ämnena får olika retentionstid beroende på deras kokpunkt (opolär kolonn)

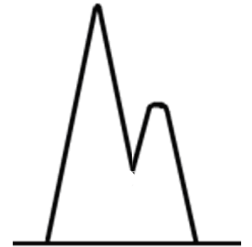
- ✓ **Retentionstiden:** Den tid det tar för ämnet att passera igenom kolonnen och fram till detektorn. Retentionstiden är specifik för varje ämne i ett givet system och vi kan därför använda retentionstiden för att identifiera de ämnen vi har i vårt prov.

Ämne:	Retentionstid (min):	Kokpunkter:
Cyklopentan 	4,5	49 °C
Oktan 	7,5	125 °C
Hexadekan 	9,5	287 °C

- ✓ **Hexadekan har högst kokpunkt och har därför svårast** att övergå i gasform i kolonnen. Hexadekan har hög kokpunkt p.g.a. av att det ämnet består av stora och avlånga molekyler med förmåga att skapa många van der Waalsbindningar mellan varandra. Den egenskapen innebär även att hexadekan bromsas upp mest inuti kolonnen eftersom hexadekan därmed också är bäst på att skapa van der Waalsbindningar med den opolära kolonnen. Här ser vi alltså ett tydligt samband mellan hög kokpunkt och hög förmåga att binda till en opolär kolonn.

Vi kan förbättra separationen i kolonnen genom att ändra olika faktorer

✓ Ibland kan det vara så att topparna från flera olika ämnen sammanfaller i kromatogrammet (dålig upplösning). Det krånglar i så fall till vår analys eftersom det blir svårare att identifiera olika ämnen och att bestämma koncentrationen av dessa.

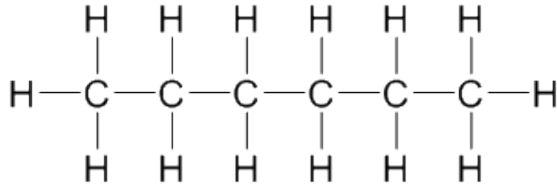


✓ Åtgärder för att förbättra separationen och få en bättre upplösning i kromatogrammet:

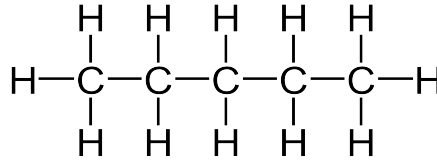
1. **Använda en kolonn med en annan storlek:** I en längre och/eller smalare kolonn kommer de olika ämnena i provet binda fler gånger till den stationära fasen och därmed separeras från varandra i högre utsträckning.
2. **Sänka hastigheten av den mobila fasen:** Om vi sänker den mobila fasens hastighet så kommer ämnena i provet ha längre tid på sig inuti kolonnen och de kommer hinna binda i större utsträckning till den stationära fasen. Det leder till en bättre separation.
3. **Ändra kolonnens polaritet:** Om vi får en dålig separation på en opolär kolonn så kan vi testa med att byta ut den mot en polär kolonn (eller tvärtom).
4. **Ändra temperaturen:** I GC kan vi sänka temperaturen vilket innebär att ämnena kommer ha lättare att binda till den stationära fasen (övergår inte i gasform lika lätt). Det leder till totalt sett fler interaktioner mellan ämnena och den stationära fasen och därmed en bättre separation.

Uppgift 1:

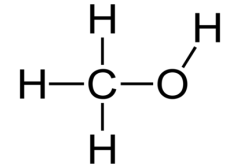
Ett prov som innehåller hexan (69,0 °C), pentan (36,1 °C) och metanol (64,7,4 °C) analyseras i en GC som har en opolär kolonn. Vilket ämne får kortast resp. längst retentionstid?



Hexan



Pentan



Metanol

Lösning: I en GC med en opolär kolonn är det enbart kokpunkten som avgör retentionstiden. Kokpunkten bestäms av molekylernas storlek, geometriska form och polaritet. I uppgiften står dock kokpunkterna utskrivna och därför är denna uppgift enkel att lösa. Hexan har högst kokpunkt och har därför svårast att övergå i gasform. Hexan kommer alltså få längst retentionstid. Pentan har lägst kokpunkt och kommer därför övergå i gasform lättast och får därför kortast retentionstid. Hexan har högst kokpunkt tack vare att hexanmolekylerna är stora och har en avlång form, därmed kan många van der Waalsbindningar (London dispersionskrafter) bildas mellan hexanmolekyler.

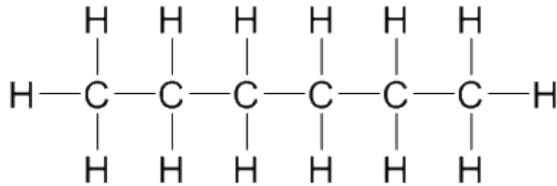
Svar:

Längst retentionstid: Hexan

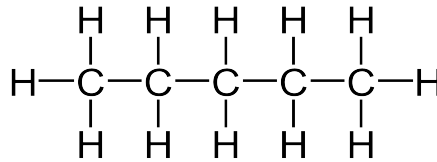
Kortast retentionstid: Pentan

Uppgift 2:

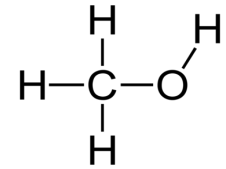
Ett prov som innehåller hexan (69,0 °C), pentan (36,1 °C) och metanol (64,7,4 °C) analyseras i en GC som har en polär kolonn. Vilket ämne får kortast resp. längst retentionstid?



Hexan



Pentan



Metanol

Lösning: I en GC med en polär kolonn är det både kokpunkten och molekylernas polaritet som avgör retentionstiden. Hexan har högst kokpunkt och har därför svårast att övergå i gasform. Metanol har dock en kokpunkt som är nästan lika hög som hexans kokpunkt. Metanol är också ett polärt ämne som kan skapa vätebindningar med den polära kolonnen. Metanol kommer alltså bromsas upp mest inuti kolonnen och får därför längst retentionstid. Pentan får kortast retentionstid eftersom pentan både är ett opolärt ämnen och har lägst kokpunkt.

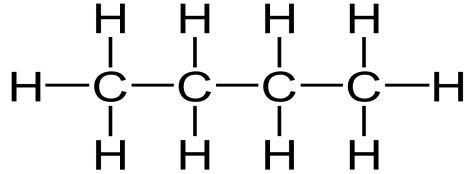
Svar:

Längst retentionstid: Metanol

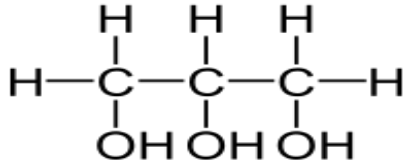
Kortast retentionstid: Pentan

Uppgift 3:

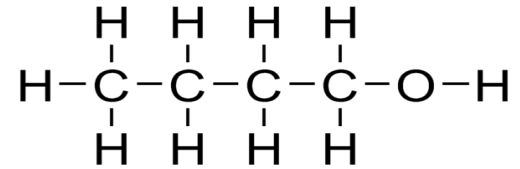
Ett prov bestående av butan, glycerol och butanol körs i en GC. Tre retentionstider erhålls; 2,5, 7,7 och 12,3. Vilken retentionstid tillhör vilket ämne?



Butan



Glycerol



Butanol

Lösning: I en GC med en polär kolonn är det kombinationen av kokpunkt och polaritet som avgör retentionstiden. Alla 3 ämnen har likartad storlek och geometrisk form och är därför ungefär lika bra på att skapa van der Waalsbindningar. Skillnaden i kokpunkt mellan ämnena beror alltså inte på van der Waalsbindningar. Glycerol har dock 3 OH-grupper vilket möjliggör många vätebindningar. Många vätebindningar gör att glycerol dels har en hög kokpunkt och dels en hög förmåga att binda till den polära kolonnen. Glycerol får därför längst retentionstid (12,3). Butanol har 1 OH-grupp och kan därför också skapa vätebindningar, men dock inte lika många som glycerol. Butan får därför näst längst retentionstid (7,7). Butan är däremot en opolär förening utan OH-grupper och utan möjlighet att skapa vätebindningar eller vanliga dipol-dipolbindningar. Butan har därför lägst kokpunkt och binder också svagast till den polära kolonnen.

Svar:

Retentionstid 2,5: Butan

Retentionstid 7,7: Butanol

Retentionstid 12,3: Glycerol

En annan liknande metod är ”Högupplösande vätskekromatografi” (HPLC)



Vad är de viktigaste skillnaderna mellan GC och HPLC?

- ✓ **Olika mobila faser:** I gaskromatografi används en gas som mobil fas (helium, kvävgas eller vätgas) medan en vätska (en blandning av olika ämnen) används vid HPLC.
- ✓ **HPLC kan användas för fler ämnen:** GC kan enbart separera och analysera ämnen som är flyktiga (kan övergå i gasform relativt lätt) och som är värmetåliga. Gaser och lättflyktiga vätskor kan analyseras med GC medan de flesta vanliga vätskor ej kan analyseras. Det är enbart ämnen som har en lägre kokpunkt än 350 grader som kan analyseras med GC, vilket motsvarar ca 15-20 % av alla kända ämnen. HPLC kan däremot användas även för icke flyktiga ämnen och för ämnen som är värmekänsliga och har därför ett större användningsområde (t.ex. används HPLC för kolhydrater, fetter och proteiner och har därför stor betydelse inom biokemi, medicin etc.).
- ✓ **Fördelen med GC:** Fördelen med GC jämfört med HPLC är framförallt att det är en snabbare och lite enklare metod att genomföra och själva maskinen är oftast inte lika dyr.

För den bästa kvalitativa analysen krävs dock en masspektrometer som detektor

- ✓ **Många prover är komplexa och innehåller ett stort antal ämnen** med likartade retentionstider. Dessa är därför svåra att identifiera med enbart HPLC eller GC kopplad till en "vanlig" detektor. Om vi däremot kopplar vår HPLC eller GC till en detektor som heter "masspektrometer" (MS) så kommer vi få ett mycket kraftfullt verktyg. Dessa analysmetoder kallas för HPLC-MS resp. GC-MS.
- ✓ **Med hjälp av en masspektrometer kan massan av de olika ämnena** i provet bestämmas. Masspektrometern kan även "lista" ut vilka delar som finns i de olika ämnenas molekyler eftersom molekylerna "slås sönder" i mindre beståndsdelar och sedan vägs varje beståndsdel. Varje beståndsdel i molekylen kan då identifieras och vi kan göra en strukturbestämning av hela molekylen. Masspektrometern skapar på detta sätt ett kemiskt fingeravtryck för varje ämne. Därmed kan vi identifiera helt nya ämnen (t.ex. helt nya droger).

Se gärna fler filmer av Niklas Dahrén:

<http://www.youtube.com/Kemilektioner>

<http://www.youtube.com/Medicinlektioner>

