

SZEKERES ZOLTÁN

Szakdolgozat

Gyors gázkromatográfia és nagyterfogatú
injektálás alkalmazási lehetőségei széles
forráspont-tartományú minták esetén

Témavezető: Dr. Torkos Kornél egyetemi docens

Eötvös Loránd Tudományegyetem
Szervetlen Kémiai Tanszék
Elválasztástechnikai Kutató-Oktató Laboratórium



— Budapest, 2007 —

1 Tartalom

1	Tartalom	0
2	Bevezetés, célkitűzés	3
3	Irodalmi áttekintés	4
3.1	Extrahálható szénhidrogén-tartalom (EPH) meghatározása.....	4
3.1.1	Alkalmazási terület	4
3.1.2	Az eljárás rövid ismertetése.....	4
3.1.3	Fejlesztési lehetőségek	5
3.2	Gyors gázkromatográfia	6
3.2.1	Bevezetés	6
3.2.2	Paraméterek	6
3.2.3	A kromatográfias oszlop.....	7
3.2.4	A GC termosztát	8
3.2.5	Detektorok	9
3.2.6	Gyors gázkromatográfia a rutinanalitikában	9
3.3	Mintabeviteli technikák	10
3.3.1	Az injektálás problémái	10
3.3.2	Split injektálás	11
3.3.3	Splitless injektálás	11
3.3.4	Pulsed splitless injektálás	12
3.3.5	On-column injektálás.....	12
3.3.6	Injektálás a gyors gázkromatográfiában	12
3.4	Nagyterfogatú injektálás.....	13
3.4.1	Bevezetés	13
3.4.2	Programozott hőmérsékletű injektor	14
3.4.3	Nagyterfogatú on-column injektálás	14
3.4.4	Vapour Overflow technika	15
3.4.5	Online LC-GC kapcsolás.....	15
3.5	A programozott hőmérsékletű injektor.....	17
3.5.1	Leírás	17
3.5.2	Injektálási lehetőségek CIS injektorral.....	18
3.5.3	Solvent vent injektálás.....	19
3.5.4	Nagyterfogatú injektálás optimálása	21
3.5.5	A CIS alkalmazása széles forráspont-tartományú minták esetén.....	23
4	Kísérleti rész	25
4.1	Kísérleti körülmények	25
4.2	Split injektálás	25
4.2.1	A hőprogram optimálása	25
4.3	Splitless injektálás	26
4.3.1	Kiindulási oszlop hőmérséklet.....	27
4.3.2	Injektor hőmérséklet.....	27
4.3.3	Splitless idő	28
4.3.4	Pulsed splitless injektálás	29
4.3.5	Áramlási sebesség	30
4.3.6	Injektálási térfogat	30
4.3.7	A splitless injektálással elért eredmény.....	30
4.4	Nagyterfogatú injektálás.....	31

4.4.1	Mérések CIS injektorral cold splitless injektálási módban	31
4.4.2	Az oldószerlefúvatás optimálásának kezdete	32
4.4.3	Az injektálás sebessége és a lefúvatási idő.....	32
4.4.4	A lefúvatási idő pontosabb optimálása.....	34
4.4.5	A lefúvatási sebesség csökkentése	35
4.5	Lefúvatás az oszlopon keresztül.....	37
4.5.1	Két módszer kombinálása.....	37
4.5.2	Új paraméterek	38
4.5.3	A második lefúvatási idő optimálása.....	39
4.5.4	Kísérletek a visszanyerés növelésére.....	39
4.5.5	Az injektor hőmérséklet optimálása	40
4.5.6	Pentán alkalmazása oldószerként	41
4.5.7	Vékony fázisú oszlop alkalmazása.....	41
5	Összefoglalás	43
6	Irodalomjegyzék	44
7	Köszönetnyilvánítás	46
8	Mellékletek	47

2 Bevezetés, célkitűzés

A modern ipari társadalmakban egyre nagyobb jelentősége van az analitikai vizsgálatoknak. Az egyre fontosabbá váló környezet és fogyasztóvédelem a törvényalkotókat egyre szigorúbb határértékek előírására, az analitikusokat pedig egyre alacsonyabb kimutatási határok elérésére ösztönzik. Emellett az ipar és a társadalom által igényelt analitikai mérések száma folyamatosan nő. Egy analitikai módszernek pontosnak, megbízhatónak, ahhoz pedig, hogy nagy számban alkalmazható legyen, költséghatékonynak kell lennie. Ez, sok egyéb mellett a mintaelőkészítés gyorsításán, egyszerűsítésén, valamint a gépidő jobb kihasználásán keresztül érhető el. A gyors gázkromatográfia és a nagyterefogatú injektálás ezen a két területen segíthet minket gyorsabb, olcsóbb analitikai módszerek kidolgozásában.

Munkám célja olyan gyors gázkromatográfiát és nagyterefogatú injektálást alkalmazó eljárás kifejlesztése volt, amivel talajok és vizek szerves szennyezőinek meghatározása gyorsabbá, egyszerűbbé tehető. A gyors gázkromatográfia területén arra kerestem a választ, hogy mekkora sebességnövekedés érhető el, milyen módon és mekkora áldozatok árán. A nagyterefogatú injektálással kapcsolatban annak vizsgálata volt a cél, milyen hatékonysággal alkalmazható a technológia vezérelt sebességű injektálás mellett magas forráspontú és illékony komponenseket egyaránt tartalmazó minták injektálására. Mivel az irodalomban számos példa található arra, hogy ilyenkor erős diszkrimináció lép fel az illékony komponensekre, arra kerestem a választ, hogyan és milyen mértékben csökkenthető ez a hatás.

Céлом volt olyan, gyors gázkromatográfiával kapcsolt nagyterefogatú injektálási módszer kifejlesztése, amivel a 9 és 36 szénatomszámú normálalkánok forráspont-tartományába eső alifás szénhidrogének megfelelő dúsítása érhető el minél kisebb diszkrimináció mellett.

3 Irodalmi áttekintés

3.1 Extrahálható szénhidrogén-tartalom (EPH) meghatározása

3.1.1 Alkalmazási terület

A talajok valamint vizek olajszennyezőinek meghatározása a környezetanalitika fontos, gyakran alkalmazott területe. Ezen belül az EPH meghatározása az üzemanyag felhasználás növekedésével egyre nagyobb jelentőségű. A módszerrel meghatározhatók a kerozin, petróleum, gázolaj, tüzelőolaj és egyes természetes alapú anyagok által okozott szénhidrogén szennyezés. A módszer az extrahálható szénhidrogén-tartalom megadásán túlmenően információt ad a szennyezés öregedéséről, desztillációs tulajdonságairól is, így segítheti a szennyezés korának és típusának megállapítását.

3.1.2 Az eljárás rövid ismertetése

Az extrahálható szénhidrogén-tartalom (Extractable Petroleum Hydrocarbon, EPH) szennyvizekből való meghatározásának módját az MSZ 20354-es számú szabvány írja le [1]. Ez alapján a vízmintát hexánnal extraháljuk, az extraktum zsírtartalmát metanolos KOH oldattal történő reagáltatással, majd vizes mosással eltávolítjuk. Az extraktumból a mérendő vegyületeket, tehát az alifás, aliciklusos és monoaromás szénhidrogéneket szilikagél adszorbenssel töltött oszlopon elválasztjuk a poláris komponensektől illetve a poliaromás szénhidrogénektől. Az így megtisztított extraktumot megfelelő koncentrálnálási lépések után apoláris polidimetilsziloxán, vagy poli(5%-difenil-95%dimetil-sziloxán) fázisú oszlopon, lángionizációs detektort alkalmazva gázkromatográfiásan elemezzük.

A mennyiségi értékelés belső standard módszerrel történik. A belső standardra vonatkoztatott relatív érzékenység meghatározását normálalkánokat tartalmazó kalibrálóoldattal végezzük. A kalibrálóoldathoz minimálisan a következő szénatomszámmal rendelkező normálalkánok szükségesek: C₉, C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₈, C₂₀, C₂₂, C₂₄, C₂₈, C₃₂, C₃₆. Ezek jól lefedik a vizsgálandó forráspont-tartományt, így a módszerfejlesztés során ilyen standardokból összeállított oldatot alkalmaztam.

A kromatogram értékelése során a nonán (C₉) és tetrakontán (C₄₀) retenciós ideje által kijelölt intervallumot a kalibrációsorból nyert retenciós idő adatok alapján 30 intervallumra osztjuk, úgy, hogy egy intervallumba csak egy normál alkán essen. Ezután a

burkológörbe alatti területet minden intervallumra integrálással meghatározzuk. Az eredményt szénhidrogéntömegben adjuk meg.

Az intervallumonként történő integrálásra azért van szükség, mert ez alapján kiszámíthatók a szennyezésre vonatkozó desztillációs adatok, azaz hogy adott forráshőmérsékletig a szénhidrogén-szennyezés hány tömegszázaléka desztillálna át. Ennek alapján a szennyezés típusa könnyebben behatárolható.

3.1.3 Fejlesztési lehetőségek

A mérést gyors gázkromatográfiásan végezve nem csak az analízisidő, de a kimutatási határ csökkenését is elérhetnénk. A kiértékelés során területi integrálást alkalmazunk, azaz nem élesen elkülönülő csúcsokat, hanem hosszan elhúzódó, viszonylag alacsony jelszintet kell összegezni. Ezért a kétszer-háromszor rövidebb kromatogram ebben az esetben kétszer-háromszor jobb kimutatási határt is jelentene, hiszen egységnyi idő alatt annyival nagyobb mennyiségű mérendő anyag kerül a detektorba.

A minta-előkészítést nagyterfogatú injektálás alkalmazásával jelentősen le lehetne rövidíteni. Ez két úton is elérhető. Az előkészítés különböző koncentráció lépéseket tartalmaz, amelyek igen időigényesek, különösen a végső koncentrációra alkalmazott nitrogénáramban történő bepárlás. Az egyik módja a sebesség növelésének, hogy ezek a lépések nagyterfogatú injektálás alkalmazása esetén részben vagy egészben elhagyhatók. Ez pedig nem csak gyorsítja az előkészítést, de megbízhatóbbá is teszi, a nagyterfogatú injektálás formájában végrehajtott koncentráció reprodukálhatósága ugyanis jobb mint a hagyományos módszereké [2]. A másik út az, ha a minta-előkészítést kevesebb minta felhasználásával visszük végbe, 1 liter helyett csak pl. 20-30 cm³ vízminta extrahálása (50 µl-es injektálás esetén). Ekkor a kisebb anyagmennyiség miatt mind az extrakció, mind a koncentráció jelentősen rövidebb idő alatt végrehajtható, nem is beszélve a szállítás, tárolás egyszerűsödéséről, ami egy rutinanalitikai labor esetében egyáltalán nem elhanyagolható szempont.

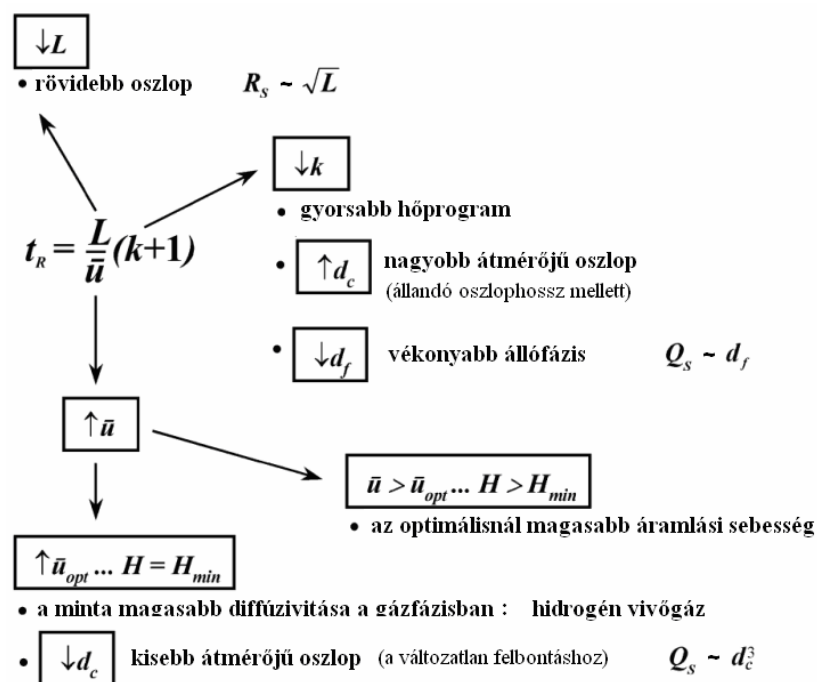
3.2 Gyors gázkromatográfia

3.2.1 Bevezetés

A gázkromatográfiai fejlesztésekben az analízis sebességének növelése a kezdetektől fogva jelentős kutatási terület volt. A gyors gázkromatográfia elméleti alapjait már a 60-as években lefektették. Az analízisidő és a költségek csökkentésén túl a későbbiekben az olyan új kihívások, mint a folyamatellenőrzés (ahol nagyon fontos a gyors eredményszolgáltatás) szintén erre a területre irányították a figyelmet. A felhasználási területek sokfélesége miatt azonban a gyakorlatban nem lehet általánosan érvényes útmutatást adni. Az a változtatás, ami egy gázok mérésére alkalmas módszer esetén jelentős sebességnövekedést eredményez, magas forráspontú anyagok mérésének gyorsítására már nem, vagy alig alkalmazható [3]. Annak felderítésében, hogy az egyes esetekben mely paraméterek a relevánsak és változtatásuk várhatóan milyen hatással lesz az elválasztás sebességére, nagy segítséget nyújt a Method Translator nevű szoftver [4]. Mivel a különböző alkalmazások gyorsításának lehetőségei ennyire eltérnek egymástól, itt csak azon paraméterek hatásaira térek ki, amelyek az általam alkalmazni kívánt módszer szempontjából fontosak.

3.2.2 Paraméterek

Ezen paraméterek 2 csoportba sorolhatók: amelyek változtatásával a felbontás csökkentése árán érhetünk el a gyorsulást, illetve amelyek változtatása az elválasztási hatékonyság megőrzése mellett gyorsítja a mérést. Az elválasztó képesség csökkentése csak addig lehetséges, amíg az adott méréshez szükséges minimális felbontás megmarad, azaz erre ún. fölös elválasztási kapacitásokkal rendelkező mérések esetében van lehetőség. Ilyen változtatások az oszlop hosszának csökkentése, vagy átmérőjének növelése, a vivőgáz áramlási sebességének növelése, gyorsabb hőprogram alkalmazása, magasabb kiindulási, ill. végső oszlophőmérséklet alkalmazása, az elválasztást biztosító fázis vastagságának csökkentése. Azok a változtatások, amelyekkel változatlan hatékonyság mellett lehet sebességnövekedést elérni, a következők: az oszlop hosszának és átmérőjének együttes csökkentése, illetve vivőgázként H₂ alkalmazása (összefoglalás: 1. ábra).



1. ábra Az analízis gyorsítására alkalmas paraméterek és hatásaik összefoglalása. t_R : retenció idő, L : az oszlop hossza; R_s : felbontás; k : retenció tényező; d_c : az oszlop belső átmérője; d_f : a fázis vastagsága; \bar{u} : a mozgó fázis átlagos, lineáris sebessége; H : elméleti tányérhossz; Q_s : mintakapacitás [5]

3.2.3 A kromatográfiai oszlop

Valódi gyors gázkromatográfiahoz kapilláris oszlopra van szükség. Ezek rendelkeznek ugyanis kellően sok tányérszámmal ahhoz, hogy optimálisnál nagyobb áramlási sebesség és gyors hőprogram esetén is megfelelő elválasztást nyújtsanak [6]. Mivel manapság már a mérések döntő többségét kapilláris oszlopon végzik, ez a feltétel nem jelent problémát.

Az analízis ideje fordítottan arányos az oszlop hosszával, ez utóbbi azonban csak addig csökkenthető, amíg az elválasztáshoz szükséges tányérszámot biztosítani tudja. Mivel a belső átmérő csökkentése a tányérszámot növeli, a hossz és az átmérő együttes csökkentése igen hatékony módja az elválasztás gyorsításának a felbontás megőrzése mellett. Egy 10 m hosszú, 0,1 mm átmérőjű oszlop ugyanazt a felbontást adja, mint egy 25 m hosszú 0,25 mm átmérőjű oszlop, mivel azonban a hossza jelentősen kisebb, az analízisidő is drasztikusan lecsökken [7]. A belső átmérő csökkentésének azonban határt szab az ezzel együtt (harmadik hatvány szerint!) csökkenő mintakapacitás, illetve az oszlop növekvő ellenállása, ami miatt a megfelelő sebesség eléréséhez egyre nagyobb fejtömésre van szükség. A mai technikai feltételek mellett a kompromisszumos megoldást a 0,1 mm átmérőjű oszlopok jelentik. Már ebben az esetben is jelentősen

csökken a mintakapacitás, maximum 1 µl minta injektálása valósítható meg a csúcsalak romlása nélkül, ami jelentősen rontja a módszer kimutatási határát. Ennek a problémának a megoldására fejlesztették ki a multikapilláris oszlopokat, amelyek sok, egybeépített kapilláris oszlopból állnak, így egyszerre tesznek eleget a nagy sebesség, a nagy felbontás és a nagy mintakapacitás feltételének. A gyakorlatban azonban még nem terjedtek el [8]. A másik módszer a megfelelő kimutatási határ elérésére a nagytérfogatú injektálás, amiről részletesen szó lesz a Mintabeviteli technikák című fejezetben (fejezetszám: 3.3).

3.2.4 A GC termosztát

A hőprogram gyorsítása a leghatékonyabb mód arra, hogy növeljük az analízis sebességét. A mai GC-k felfűtési sebessége eléri akár a 120 °C/perc értéket is (1. táblázat).

Hőmérséklet tartomány (°C)	120 V-os kályha (°C/min)	200 V-os kályha (°C/min)	
		Kétszatornás	Egyszatornás
50 to 70	75	120	120
70 to 115	45	95	120
115 to 175	40	65	110
175 to 300	30	45	80
300 to 450	20	35	65

1. táblázat Fűtési sebesség a gyors gázkromatográfiában [9]

Az egyszatornás GC esetén a kályhába egy inzertet helyeznek, ami csökkenti annak térfogatát, ezáltal hőtehetetlenségét, így magasabb hőmérsékleteken is gyors fűtést tesz lehetővé. Ekkor azonban csak a hátsó injektor és detektorhely használható. Ennél gyorsabbat a kályha térfogata és hőtehetetlensége miatt a hagyományos felépítésű gázkromatográfokkal csak nehezen lehet elérni, speciális berendezésre van szükség. Erre különböző megoldások léteznek, az oszlopot kis térfogatú, elektromosan fűthető térbe, vagy csőbe helyezve (Flash GC) nagyon magas, akár 1200 °C/perc-es felfűtési sebességet is el lehet érni [8]. Az ilyen, rendkívüli sebességű hőváltozást azonban mind az oszlopok, mind a rendszer más komponensei (ferrulok, stb.) nehezen viselik, élettartamuk csökken, gyakori karbantartást igényelnek. Ezek a rendszerek így magas árak miatt nem terjedtek el.

3.2.5 Detektorok

A csúcs megfelelő reprezentációjához 15-20 mérési pontra van szükség a csúcs elúciójának időtartama alatt. Mivel gyors GC esetén a csúcsok igen keskenyek, néhány esetben alapvonalis szélességük alig haladja meg a 0,1 mm-t, igen gyors mintavételi sebességre van szükség. Ez a gyakorlatban 150-200 Hz-es mintavételi frekvenciát jelent. A régi lángionizációs detektorok (FID) analóg adatfeldolgozó egységgel rendelkeztek, amelyek csak meglehetősen lassú mintavételre képesek. A mai FID-ek adatfeldolgozása digitális, és így 200 Hz-es mintavételi sebességre is képesek. Az elektronbefogásos detektor (ECD) cellája meglehetősen nagy holttérfogatot képvisel, ami megnehezíti alkalmazását a gyors gázkromatográfiában. A legkisebb cellával rendelkező ECD térfogata megközelítőleg 150 µl, ami lehetővé teszi az 50 Hz-es mintavételi sebességet és így a detektor alkalmazását egyes gyors gázkromatográfiás mérésekhez. A tömegspektrométerek közül a quadropol rendszerűek a legelterjedtebbek a gyakorlatban. Ezek hátránya a meglehetősen alacsony mintavételi sebesség: Scan módban mindössze 10-20 spektrum/másodperc [5]. A gyors detektálásra (akár 500 Hz) képes TOF (Time Of Flight) rendszerű tömegspektrométerek széleskörű használatát magas árak korlátozza. A tömegspektrométerek detektorként való használatát nehezíti, hogy hidrogénnel együtt nem alkalmazhatóak, hélium esetében viszont a retenciós idő közel 40%-al hosszabb, ami nagyon visszaveti az elválasztás sebességét [6]. A legújabb tömegspektrométerek (pl. Agilent 5975C) már alkalmazhatóak hidrogén mellett is, ez várhatóan segíti majd elterjedésüket a gyors gázkromatográfia területén.

3.2.6 Gyors gázkromatográfia a rutinanalitikában

Gyakorlatias szemléletű analitikusok gyakran vádolják a gyors gázkromatográfiával foglalkozókat azzal, hogy azok túlbecsülik a módszer jelentőségét, hiszen a kromatográfiás folyamat hossza a laboratórium összteljesítményét alig befolyásolja. Ahhoz hasonlítják, mintha az ember versenyautóba ülve indulna neki a városi csúcsforgalomnak. A sok egyéb korlátozó tényező miatt a gép sebességét aligha tudja majd kihasználni. Valóban, ha a teljes időt és munkát tekintjük, ami a minta beérkezésétől, a kinyomtatott jegyzőkönyv elküldéséig egy analitikai laborban lezajlik, a kromatogram néhány perccel való csökkentése tényleg cseppnek tűnik a tengerben. Bár ha azt nézzük, hogy ugyanannyi mérést két készülék helyett egy is el tud végezni, akkor láthatjuk, hogy még hosszú mintaelőkészítés és egyéb folyamatok mellett is tud a gyors gázkromatográfia költségcsökkenést elérni. Ugyanakkor a már említett nagy térfogatú

injektálás azonban nem csak a kimutatási határ csökkentésére alkalmas, de jelentősen meggyorsítható vele a mintaelőkészítés is, ami az analízissel együtt már jelentős részt képvisel a minta vizsgálatának idejéből. A két módszer kombinációja így egyszerre két problémára kínál megoldást: a megfelelő kimutatási határ elérése mellett valóban növelni képes a labor hatékonyságát.

3.3 Mintabeviteli technikák

3.3.1 Az injektálás problémái

A gázkromatográfiának hatékonyság szempontjából egyik legkritikusabb pontja a mintabevitel. A mintát gőz vagy folyadék formájában juttatjuk az injektorba, onnan pedig, elpárolgás után a vivőgáz viszi rá az oszlopra. Az injektálással szembeni legfontosabb követelmények, hogy pillanatszerű legyen, a minta torzítás, azaz diszkrimináció nélkül kerüljön elemzésre, valamint megfelelő szelektivitást biztosítson, azaz jelentős mátrixtartalom mellett is lehetőleg csak a mérendő komponensek kerüljenek az oszlopra.

Pillanatszerű injektálásra azért van szükség, hogy a felvitt minta keskeny dugót képezzen az oszlop elején, ekkor kapunk keskeny kromatográfiás csúcsokat az elválasztás végén. Ennek oka, hogy a hosszirányú diffúzió miatt a kezdetben keskeny dugó az elválasztás során kiszélesedik. Ezt a jelenséget a sebességi elmélet magyarázza [10]. Gyors gázkromatográfia esetén a pillanatszerű mintabevitel feltétele a vékony oszlop miatt még nehezebben teljesíthető.

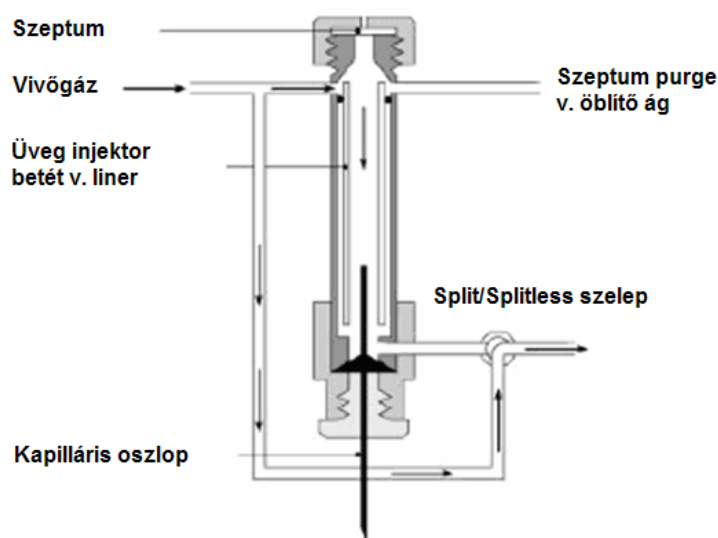
Ha az oszlopra juttatott komponensek aránya megfelel a komponensek arányának a mintában, a minta torzítatlanul került az oszlopra. Ellenkező esetben diszkriminációról beszélhetünk. Ennek oka leggyakrabban a célkomponensek forráspont-különbsége. Az illékony anyagok a szobahőmérsékletű folyadékot tartalmazó fecskendő tujéből már a forró injektorba való behatolás során kezdenek elpárologni [11]; ezt nevezzük tú diszkriminációnak. A forráspont-diszkriminációt a különböző forrásponttal rendelkező vegyületek eltérő mértékben való gőzzé alakulása okozza. Mivel a magas forráspontú vegyületek lassabban párolognak, így azonos idő alatt kevesebb jut belőlük az oszlopra.

Diszkrimináció forrása lehet még a hőre érzékeny vegyületek bomlása az injektorban. Ez fokozottan érvényes töltettel rendelkező linerek esetén, a töltet aktív helyei ugyanis megkönnyítik a bomlási reakciók lejátszódását. Liner töltetek alkalmazása viszont a szelektivitás eléréséhez sok esetben nélkülözhetetlen, ez akadályozza meg

ugyanis, hogy a mátrix nehezen, vagy egyáltalán nem elpárologtatható komponensei rákerüljenek az oszlopra és elszennyezve azt csökkentsék a rendszer élettartamát [12].

3.3.2 Split injektálás

A split/splitless injektort a kapilláris oszlopokkal egy időben fejlesztették ki, ma ez a legelterjedtebben használt injektor típus (2. ábra)



2. ábra: A split/splitless injektor splitless üzemmódban [13]

Split módban a gőzzé alakult minta nagy része a split ágon távozik az injektorból és csak töredéke kerül a kromatográfiás oszlopra. Ez a módszer teljesíti leginkább a pillanatszerű mintabevitel feltételét, ennél fogva ez adja a legélesebb, legszimmetrikusabb csúcsokat. Itt a legerősebb azonban a forráspont-diszkrimináció, a magas forráspontú anyagok ugyanis nem tudnak teljesen elpárologni a rövid mintabevitel alatt. Csökkenti a lehetséges alkalmazások körét az is, hogy a mintának csak töredéke kerül elemzésre, így a módszer csak megfelelően tömény minták vizsgálatára alkalmas.

3.3.3 Splitless injektálás

A leggyakrabban alkalmazott injektálási módszer a nyomanalitikában. Ebben a módban az injektor split szelepét az injektálás pillanatától adott ideig zárva tartjuk, így a minta nagy része az oszlopra jut, a maradék pedig a splitless idő elteltével a megnyíló split szelepen át lefúvatásra kerül. Erre azért van szükség, hogy megakadályozzuk a

„szellemcsúcsok” megjelenését a kromatogramban [12]. A minta oszlopra kerülése azonban itt már koránt sem pillanatszerű. Az ebből adódó csúcskiszélesedés elkerülésére kirofókuszálást alkalmazunk. Ekkor az oszlop kiindulási hőmérsékletét úgy választjuk meg, hogy az alkalmazott oldószer forráspontjánál kb. 20 °C-al alacsonyabb legyen. Ekkor létrejön az oldószerfókuszának nevezett jelenség, azaz a lekondenzált oldószer időszakos állófázist képez az oszlop elején, amiben az oldott anyagok az utolsó pillanatig oldva maradnak, miközben az oldószer borította szakasz egyre keskenyedik. Ez az ismert leghatékonyabb oldószer-oldott anyag elválasztási módszer, ráadásul a fókuszáló hatás abban a pillanatban megszűnik, amikor már nincs rá szükség, azaz amikor az oldószer elpárolgott, így utána már nem akadályozza a minta analízisét [14]. Addig azonban nem csak oldva tartja, de koncentrálna is a komponenseket, így azok a hőprogram indulása és az oldószer elpárolgása után egy megfelelően keskeny dugót képeznek az oszlop elején

3.3.4 Pulsed splitless injektálás

Az elektromos nyomásszabályozóval (EPC, Electronic Pressure Control) ellátott készülékeken lehetőség van pulsed splitless injektálásra is. Ennek lényege, hogy a splitless idő alatt megnöveljük a fejnyomást, ezáltal pedig az áramlási sebességet, így adott idő alatt több minta kerül az oszlopra. A mintabevitel idejének csökkentésével csökkenthető a minta gőzének felhígulása és a hőbomlás is [15]. Mivel pedig így több minta kerül az oszlopra, csökkenthető az adott módszer kimutatási határa.

3.3.5 On-column injektálás

On-column injektálás során a mintát közvetlenül egy előtétoszlopra injektálják, ahol elpárolog, majd közvetlenül az oszlopra jut, így a teljes mintamennyiség diszkrimináció nélkül analizálásra kerül. Rendkívüli hatékonysága mellett nagy hátránya, hogy nem szelektív, a mintában lévő összes mátrixkomponens is az előtétoszlopra jut, ami így gyorsan elszennyeződhet. Ezért alkalmazása kizárólag igen tiszta mátrixok (pl. ivóvíz) vizsgálatára korlátozódik [16].

3.3.6 Injektálás a gyors gázkromatográfiában

Gyors gázkromatográfia esetén is nagyon fontos az éles csúcsok eléréséhez, hogy a kezdeti mintadugó megfelelően keskeny legyen. Ennek elérése azonban itt még nagyobb nehézségekbe ütközik. Az itt használt vékony oszlopok (legelterjedtebb a 0,1 mm átmérőjű) viszonylag alacsony áramlási sebessége miatt csak nagyon kis mennyiségű

minta juttatható az oszlopra valóban pillanatszerűen, ezért split injektálás esetén nagy split flow-t szoktak használni. A kevés felvitt minta azonban a kimutatási határ jelentős romlásához vezet. Splitless injektálással csökkenthető a kimutatási határ, ebben az esetben azonban még a hagyományos splitlessnél is nagyobb hangsúlyt kap a fókuszálás, a megfelelően rövid splitless időhöz pedig, az alacsony áramlási sebesség miatt kis térfogatú linerre van szükség. Splitless injektálás esetén itt is jelentősen több minta vihető az oszlopra. Azonban a kis átmérőjű liner és oszlop csökkent mintakapacitása miatt az injektált térfogat nem haladhatja meg az 1 μ l-t, ami jelentősen rontja a módszer érzékenységét a hagyományos gázkromatográfiával szemben, ahol 3-5 μ l minta injektálása nem jelent problémát. Hagyományos liner és nagy belső átmérőjű (0,32 mm-es) előtétoszlopok alkalmazásával, amelyek képesek nagyobb mennyiségű minta felvételére és fókuszálására, lehetőség van gyors GC esetén is akár 5 μ l minta injektálására. A módszer korlátait mutatja azonban, hogy a csúcsterület 5 μ l esetén sem haladja meg az 1 μ l-re vonatkoztatott érték 160%-át, így jelentős kimutatási határ növekedés nem érhető el [18].

3.4 Nagytérfogatú injektálás

3.4.1 Bevezetés

A kapilláris gázkromatográfia nagyon hatékony módszer biológiai és környezeti minták nyomanalitikai vizsgálatára. A rendkívül hatékony elválasztás mellett a komponensek érzékelésére különféle szelektív és általános detektorok egész sora áll rendelkezésre. A nyomanalitikában azonban komoly hátránya a gázkromatográfiának, hogy csak mikroliternyi mintákat képes vizsgálni, így, hogy a megfelelő kimutatási határ elérhető legyen, komplex mintaelőkészítési lépésekre és a minta előzetes koncentrálására van szükség. Nagyobb mintatérfogatok injektálásának lehetősége egyszerűsítene és gyorsítaná a mintaelőkészítést, vagy pedig azonos előkészítési lépések mellett nagyban csökkentené a módszer kimutatási határát. A vékony oszlopok kis kapacitásáról már volt szó, azonban a gyors gázkromatográfiában alkalmazott, kis átmérőjű, 150 μ l térfogatú linerekbe sem lehet 1 μ l mintánál többet hatékonyan injektálni [19]. A minta ugyanis a linerbe kerülve pillanatszerűen elpárolog, térfogata megnő, és ha meghaladja a liner térfogatát a túlcsondulás jelensége lép fel, azaz a gőz utat keres magának és

visszafordulva elszennyezheti a vivógáz-rendszert. Az oszlop felé indulva pedig a hirtelen megnövekedett nyomás miatt nagy sebességgel az oszlopra került mint a csúcsalakok romlását eredményezheti [15].

1979-ben Vogt és munkatársai leírták 250 µl minta sikeres injektálását egy programozott hőmérsékletű injektorral [20]. Az eredmények hatására a 80-as években élénk kutatások kezdődtek, aminek eredményeképpen olyan új, nagy mintatérfogatok injektálására alkalmas technológiák láttak napvilágot, mint a nagytérfogatú on-column injektálás, a vapour overflow módszer, vagy a folyadék- és gázkromatográfok összekapcsolására használt módszerek [21]. Ezek a technológiák megegyeznek abban, hogy a mérendő anyagok online dúsítását (bepárlását) valósítják meg valamilyen módon. A kimutatási határok csökkentése mellett a nagytérfogatú injektálás alkalmazásával egyszerűsíthető a mintaelőkészítés. Egyes lépések (pl. extrakció) gyorsabban elvégezhetők, hiszen kevesebb mintára van szükség, egyes lépések pedig, mint a bepárlás, teljesen elhagyhatók, illetve online, automatizálva elvégezhetők. Ami pedig nem csak gyorsabb, de a hagyományos bepárlásnál reprodukálhatóbb is [21]. A mintaelőkészítés gyorsítása pedig még kifejezőbbé válik, ha gyors gázkromatográfiát alkalmazunk, ami által a teljes analízisidő még jobban lerövidül.

3.4.2 Programozott hőmérsékletű injektor

Vogt munkája alapján Poy fejlesztette ki 1981-ben az első, a ma használtakhoz hasonló szerkezetű, programozott hőmérsékletű injektort (Programmed Temperature Vaporiser, PTV) [22], ami a mai napig a legsokoldalúbban alkalmazható, nagytérfogatú injektálásra alkalmas technológia. Az oldószert a hideg injektorból a split ágon át lehet lefúvatni, miközben a magasabb forráspontú mérendő anyagok a linerben maradnak, majd az injektor felfűtése után kerülnek az oszlopra. Sokoldalúságát mutatja, hogy a különféle szerves oldószerek mellett alkalmas gázminták befogadására, on-column injektálásra, folyadékkromatográfval való összekapcsolásra, sőt, vizes minták közvetlen injektálására is. Ez a típusú injektor A programozott hőmérsékletű injektor című fejezetben (3.5) kerül részletes bemutatásra.

3.4.3 Nagytérfogatú on-column injektálás

Az injektálás itt egy speciális, on-column betétellátott injektoron keresztül történik. Ehhez általában egy fázis nélküli előtétoszlop, ahhoz pedig egy fázissal rendelkező, a mérendő komponensek fókuszálására szolgáló ún. „retention gap”

csatlakozik. Ez után jön egy Y-illesztésen keresztül csatlakoztatva az oldószergőz-kivezetés és az analitikai oszlop.

A mintában lévő oldószer az előtétoszlopra jutva annak hőmérsékletén elpárolog, majd az oldószergőz-kivezetésen keresztül távozik, miközben a mérendő komponensek az előtétoszlopon visszatartva maradnak. Az oldószer elpárologtatása után az oldószergőz-kivezetés zár, elindul a GC hőprogram és megkezdődik a minta analízise.

A módszer előnye a kiváló dúsítás mellett, hogy a minta teljes egészében az oszlopra kerül, így a mérés diszkrimináció-mentes. Hátránya, miként a hagyományos on-column injektálásnak, hogy összetett mátrixok elemzésére nem alkalmas, ugyanis a nem illékony komponensek itt is az oszlopra jutnak, ami így elszennyeződik és gyakori karbantartást igényel [16].

3.4.4 Vapour Overflow technika

Ha a mintát lassan az oldószer forráspontja fölé fűtött injektorba juttatjuk, a beérkező oldószer folyamatosan gőzzé alakul. Ekkor az oldószer eltávolításához vivógáz bevezetésre sincs szükség, a gőz saját expanziójánál fogva távozik a split szelepen keresztül, addig, amíg a túból érkezik oldószer utánpótlás. A módszer előnye, hogy nem szükséges hozzá PTV, hagyományos split/splitless injektorral is végrehajtható, valamint hogy az oldószer elpárolgása után az injektorban nincs további gázáram, így ez után a mérendő komponensek párolgása minimális [23, 24].

3.4.5 Online LC-GC kapcsolás

A két, önmagában is nagy hatékonyságú elválasztási módszer összekapcsolása rengeteg kromatográfias problémára kínálna megoldást. Ez azonban koránt sem egyszerű. Az elsőt így csak 1980-ban hajtották végre még hagyományos mintaadagolóval, amivel nem lehetett nagy térfogatú mintát átvinni, és nem is volt elég megbízható, így hamar áttértek nagytérfogatú injektálásra. Mára ennek a technológiának sok fajtája létezik, amik az eluátum elpárologtatásának helyében és módjában különböznek egymástól. Két fő csoportra oszthatjuk őket: az egyik esetében közvetlenül egy előtétoszlopra történik az injektálás (on-column módszerek), a másik esetben az előtétoszlop előtt valamilyen 'elpárologtató kamrát' alkalmaznak az oldószer eltávolítására (vaporising chamber módszerek).

Közvetlenül az oszlopra juttathatjuk a mintát hurkos injektálással. Ekkor az eluens először egy hurokba jut, ahonnan a vivógáz nyomja a az oldószer forráspontja fölé

fűtött előtétooszlopra, ahol az teljes egészében gőzzé alakul és az analitikai oszlop elé szerelt oldószergőz-kivezetésen át távozik. Hátránya, hogy a magas hőmérséklet miatt oldószerfókusz nem jöhet létre és az illékonyabb komponensek nem mérhetők. Előnye, hogy a folyamat önszabályozó, a vivőgáz pontosan olyan sebességgel juttatja a folyadékot az oszlopra, amilyen sebességgel az elpárolog. Ennek oka, hogy nyomásszabályozott módban a vivőgáz a fejlődő gőz nyomásával egyensúlyba kerül, így a gáz áramlási sebessége megegyezik a gőz áramlási sebességével az oszlopon. A mintabevitel sebessége és az oldószer eltávolításának ideje így külön optimalizálást nem igényel. Ezzel a módszerrel több milliliter minta analízisét is megvalósították [25].

A Cortes interfész esetén a pumpa juttatja az oldószer az előtétooszlopra, aminek hőmérséklete itt az oldószer forráspontja alatt van. Az oldószer nedvesíti az oszlopot, az elpárologtatás pedig csak a minta teljes mennyiségének átvitele után indul meg. Ez lehetővé teszi az oldószerfókusz, az oszlop kapacitása azonban erősen korlátozza a gázkromatográfba juttatható mintamennyiséget (maximum 100 µl). További korlátozó tényező, hogy csak az oszlopot nedvesítő oldószerrel alkalmazható, így fordított fázisú folyadékkromatográfiával való kapcsolat esetén más módszerhez kell fordulnunk [25].

Az egyidejű oldószer-elpárologtatás (concurrent solvent evaporation) technikáját mindkét típusú injektálási módban alkalmazhatjuk. On-column injektálás esetén itt is megfelelő előtétooszlopra és oldószergőz-kivezetésre van szükség. Ennél a módszernél az oldószer a vivőgáz áramoltatásával egyidejűleg párologtatják el, az oldószer forráspontjánál alacsonyabb oszlophőmérséklet mellett, így a hurkos injektálással szemben itt létrejöhöz az oldószerfókusz, valamint illékonyabb komponensek is mérhetők. Az alacsonyabb oszlophőmérséklet a hőbomlásra hajlamos vegyületek mérésének is kedvez. További előnye, hogy a Cortes interfésszel szemben itt nem jelent korlátot az oszlop befogadóképessége sem. Ezen tulajdonságai az egyik leghatékonyabb LC-GC kapcsolássá teszik a módszert. Jelentősen megnő azonban az optimalizálható paramétereknek a száma, amik nehézkessé teszik a módszer alkalmazását [26].

A külön elpárologtató egységet alkalmazó technikák közül több is forró inletet alkalmaz a vapour overflow technikához hasonlóan. Előnyük, hogy nem nedvesítő oldószeret és nem illékony komponenseket tartalmazó minták esetén is jól használhatóak. Az egyes módszerek főként az oldószer eltávolításának módjában különböznek egymástól. Három fő csoportjuk van: ahol a split ágon át távozik az oldószer, ahol a retention gap utáni oldószer-kivezetésen, ahol a teljes elpárologtott minta

az oszlopra kerül. Hátrányuk, hogy hőbomlásra hajlamos, illetve illékony komponensek mérésére kevésbé alkalmasak.

LC-GC kapcsolásra alkalmaznak PTV-t is, kihasználva ez utóbbi előnyeit a szelektivitás területén. Így nem illékony komponenseket tartalmazó eluátumok is vizsgálhatók, és nem jelent gondot a fordított fázisú oszlopokról érkező, nagy százalékban vizet tartalmazó eluátum sem. PTV-ben, oldószerlefúvatási módban gyakorlatilag bármilyen oldószer, akár folyadékként kizárólag vizet tartalmazó minták is könnyedén koncentrálnak [27]. Mind a hőbomlásra hajlamos, mind az illékony komponensek mérésére alkalmasabb, mint a forró inletet alkalmazó technikák, bár egyikre sem olyan jó, mint az on-column módszerek.

Ígéretes képességeik ellenére, talán bonyolultságuk miatt, egyelőre az LC-GC kapcsolásra épülő módszerek egyike sem terjedt el a rutinanalitikában.

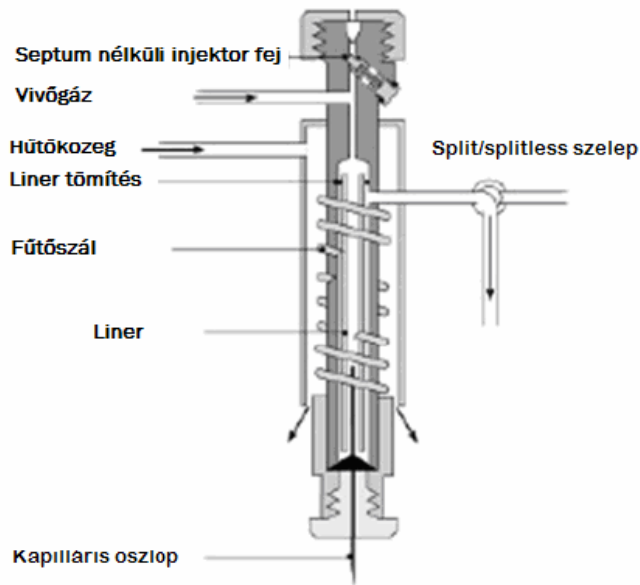
3.5 A programozott hőmérsékletű injektor

3.5.1 Leírás

A ma legelterjedtebb programozott hőmérsékletű injektorok (pl. Gerstel CIS, Agilent PTV) a hagyományos injektorokhoz képest jóval kisebb térfogatúak, a bennük használt linerek átmérője is kisebb (2 mm) a hagyományos split/splitless linerek átmérőjénél (4 mm). Ennek oka a minél kisebb fajhőre való törekvés, hogy a liner minél gyorsabban fűthető illetve hűthető legyen. Az általunk használt Gerstel CIS (Cooled Injection System) injektor esetében a felfűtés maximális sebessége 720 °C percenként.

Az injektor hűtésére többféle módszer létezik. Rendelhető Peltier-hűtéssel, folyékony CO₂-al, illetve N₂-el hűtött valamint hűtés nélküli változatban is. Hűtés nélküli CIS esetén a GC kályha hűti az injektort, ekkor azonban a kályha hőmérsékleténél 20 °C-al magasabb hőmérséklet alá nem lehet reális idő alatt lehűteni. A Peltier-hűtés víz-alkohol elegyet alkalmaz hőcserélő közegként, ezzel a módszerrel 10 °C az elérhető legalacsonyabb hőmérséklet. Folyékony CO₂-os hűtés esetén –50 °C-os, folyékony esetén pedig –150 °C-os hőmérsékletre is lehűthető az injektor.

Az injektor gázrendszere megegyezik a split/splitless injektoréval (3. ábra).



3. ábra A Gerstel CIS injektor felépítése [13]

3.5.2 Injektálási lehetőségek CIS injektorral

Az injektor hatféle módban használható. Injektálhatunk rajta hagyományos (azaz forró) split és splitless módban, erre azonban csak korlátozottan alkalmas, a mindössze 150 µl térfogatú liner maximum 1 µl minta injektálását teszi lehetővé. Már ennyi oldószernek a gőze is megtölti a linert, több minta esetén a már ismertetett túlcordulás lép fel.

Lehetőségünk van az injektor hőmérsékletprogramozását kihasználva hideg split ill. splitless módban injektálni. A minta ekkor az oldószer forráspontja alá hűtött injektorba jut, amit ezután gyorsan felfűtünk a minta elpárologtatásához megfelelő hőmérsékletre, és így megtörténik a mérendő komponensek átvitele a kromatográfias oszlopra. Ennek a módszernek az előnye, hogy csökkenti a diszkriminációt, ekkor ugyanis nem lép fel a már említett tú-diszkrimináció jelensége, illetve a mintában lévő esetlegesen hőbomlásra hajlamos vegyületek is kevesebb hőterhelésnek vannak kitéve, mint forró injektálás esetén. A kis átmérőjű linernek köszönhetően, mivel kisebb a holtter, nagyobb a térfogategységre jutó gázáram, a minta rövidebb idő alatt jut az oszlopra, mint a hagyományos injektor esetén, így a hőterhelés tovább csökken.

On-column betét segítségével CIS-en keresztül is lehet közvetlenül az oszlopra injektálni. A legfontosabb azonban az oldószer-lefúvatás üzemmódban végezhető injektálás. Ebben az esetben a mintát szintén az oldószer forráspontja alá hűtött injektorba juttatjuk, majd a vivőgáz folyamatos áramlása mellett az oldószer gőzt a split

szelepen át lefúvatjuk, miközben a magasabb forráspontú mérendő komponensek a linerben maradnak, ahonnan az injektor felfűtése után kerülnek az oszlopra. Az oldószer akkor fúvatható le szelektíven, ha forráspontja és a mérendő komponensek forráspontja között legalább 150 °C a különbség. Azon vegyületeknél, amelyek ennél illékonyabbak, a lefúvatás során veszteség lép fel, ami diszkriminációhoz vezet [13]. Ez a módszer alkalmazhatóságát sok alkalmazás esetén erősen korlátozza.

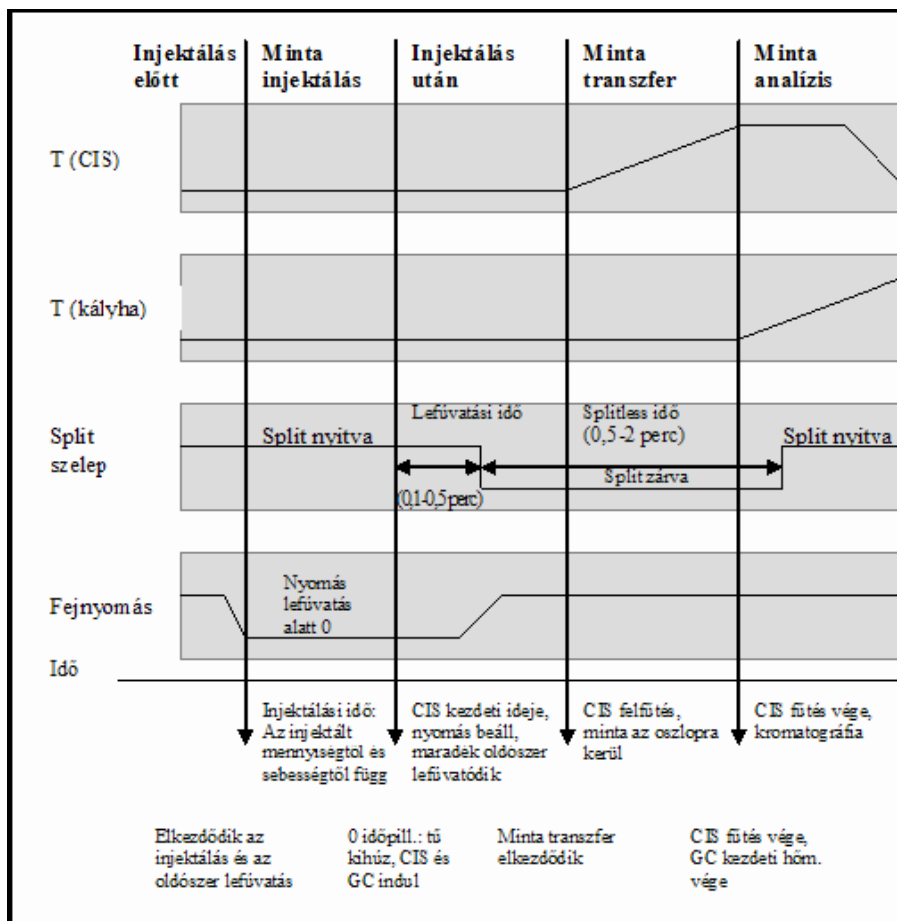
3.5.3 *Solvent vent injektálás*

Oldószerlefúvatás mellett a nagy mennyiségű minta bevitele többféle módon is megoldható. A mintabevitel történhet gyorsan (egyszeri vagy ismételt injektálásokkal) illetve vezérelt sebességű injektálási módban.

Gyors injektálás esetén a hagyományoshoz képest nagy mennyiségű mintát juttatunk egyszerre a hideg injektorba és ezután történik az oldószer lefúvatása, majd pedig a mérendő anyagok átvitele az oszlopra. Ezzel a módszerrel egy üveggyapottal töltött CIS linerre maximum 20 µl minta injektálható, nagyobb mintamennyiség esetén fennáll a veszélye, hogy a töltet nem képes megtartani a teljes mennyiséget, a minta egy része lefolyik és elveszik a split ágon keresztül [28]. A módszer előnye az egyszerű optimálás, az injektálás sebessége kiesik a vizsgálandó paraméterek közül. Speciális, nagy átmérőjű PTV linerek esetén több, akár 150 µl minta pillanatszerű injektálása is megvalósítható, ekkor azonban elvesznek vékony linerek fentebb említett előnyei [29]. Ha ennél több mintát szeretnénk injektálni, más módszerhez kell folyamodnunk.

Ismételt injektálással kis részletekben juttathatunk be nagyobb mennyiségű mintát az injektorba. Ekkor gondoskodni kell arról, hogy az oldószer megfelelően le legyen fúvatva két injektálás között, hogy megakadályozzuk az injektor túltelítését. Ettől eltekintve használata megegyezik az egyszeri injektálás módszerével. Használata különösen a kilencvenes években volt elterjedt, sikerrel alkalmazták például peszticidek meghatározására [30].

Vezérelt sebességű injektálás esetén a mintát folyamatosan, egy meghatározott sebességgel juttatjuk az injektorba, ahol ezalatt folyamatosan történik a lefúvatás a split szelepen keresztül. A folyamat részleteit mutatja a 4. ábra.



4. ábra: a CIS nagyterfogatú injektálás folyamata [13]

Az injektálás megkezdésekor az injektor hideg, a kályha a kezdeti hőmérsékleten áll, a split szelep nyitva. Ahogy az oldat az injektorba jut, megkezdődik a lefűvátás. A lefűvátás alatti fejnyomás külön állítható, a CIS esetében pedig lehetőségünk van a „stop flow” módszert alkalmazni. Ekkor a fejnyomás közel megegyezik a légköri nyomással, az oszlopon így nem folyik számottevő gázáram. Ezzel minimalizálni lehet az oszlopra feleslegesen rákerülő oldószer mennyiségét, a lefűvátás pedig hatékonyabbá tehető, hiszen kisebb nyomáson az oldószer forráspontja is csökken. Az injektálás befejeztével a tű visszahúzódik, ekkor indul el a GC és a CIS hőprogramja. A split szelep még nyitva marad, hogy az injektorban maradt fölös oldószer is lefűvátásra kerüljön, majd bezárul, az injektor pedig felfűt és megkezdődik a minta analízise, innentől már splitless injektálással megegyező módon. A splitless idő eltelte után a split szelep újra kinyit, hogy az injektorban maradt anyagok eltávozhassanak és ne terheljék az oszlopot, majd elindul az oszloptér fűtése és ezzel a kromatográfiai analízis. Az injektor programjának lejártával annak fűtése megszűnik, miután pedig a GC visszahűlt a kiindulási hőmérsékletre, bekapcsol az injektor hűtése és beállítja azt az injektálási hőmérsékletre.

(Fontos megvárni előbb a termosztát lehűlését, mert a mérés alatt a forró kályhával kapcsolatban lévő injektor hűtése kárt tehet a hűtőberendezésben és megzavarhatja az analízist is [31].)

3.5.4 Nagytérfogatú injektálás optimalálása

Az optimalálás során a cél egy olyan paramétersor megtalálása, amely alkalmazásakor az oldószer elpárolgásának sebessége közel megegyezik az injektálás sebességével, így a linerben folyadékfilm alakul ki, ami folyamatosan párolog, miközben a fecskendőből érkezik az utánpótlás. A mérendő komponensek pedig az oldószer lefúvatása után a liner falán és a töltet felületén maradnak. A nehézséget az egymással is összefüggésben lévő paraméterek nagy száma jelenti, valamint az, hogy bizonyos paraméterekre nagyon érzékeny a módszer, ezekben már kis eltérés is a kromatogram erőteljes torzulásához vezethet, ez az egyik fő oka annak, hogy ez a módszer csak lassan nyer teret a rutinanalitikában [12]. A splitless injektáláshoz képest megjelenő, új optimalálandó paraméterek:

- az injektálás sebessége*
- az injektor kiindulási hőmérséklete*
- az injektor felfűtési sebessége
- a lefúvatás időtartama*
- a vivőgáz áramlási sebessége a lefúvatás alatt*
- a fejnnyomás a lefúvatás alatt*

Ezek közül a *-al jelöltek egymással összefüggenek, bármelyik megváltoztatása maga után vonja a többi változását. Ez azt jelentené, hogy egy 5 dimenziós optimalálási térben kellene megtalálnunk a megfelelő pontot, ami rengeteg mérést igényel. (3 pontos optimalálás esetén is $3^5 = 243$ mérés.) Ezért fontos az optimalálási lépések előzetes megtervezése, amihez az irodalomban bőségesen találunk támpontot [13, 28-30, 32, 37]. Az injektor felfűtési sebessége pl. a lefúvatást nem befolyásolja, jótékony hatással lehet azonban a csúcsalakra, különösen a közepes forráspontú vegyületek esetén [29], ez a hatás azonban nem mindig jelentkezik [32], általában nyugodtan ki lehet használni a maximális fűtési sebességet. A másik öt paraméter szorosan összefügg, de a mérés szempontjából fontos paraméterek köre tovább szűkíthető. Mivel a hatékonyabb stop flow módot használjuk, amikor a fejnnyomás definíció szerint nulla, azaz megegyezik a légköri nyomással, így ezzel a továbbiakban nem kell foglalkozni. Az injektor kiindulási hőmérsékletét is be tudjuk állítani irodalmi adatok alapján, kiindulásképpen a gyártó az

oldószer forrójánál 30 °C-al alacsonyabb hőmérsékletet javasol [13]. Mivel a számunkra fontos, illékony komponensek visszanyerése érdekében minél alacsonyabb hőmérséklet alkalmazása ajánlott (hexános oldathoz –30 °C-ot is alkalmaznak [29]), ezért a kísérletek során a készülékre szerelt Peltier-hűtéssel elérhető legalacsonyabb, 10 °C-os hőmérsékletet fogom használni. A maradék három paraméter (injektálás sebessége, áramlási sebesség és a lefúvatás ideje) optimalizálása azonban elkerülhetetlen.

Az injektálás sebességének megfelelő beállítása a hatékony méréshez elengedhetetlen. A vezérelt sebességű injektálás optimalizálásában nyújt segítséget az alábbi egyenlet:

$$I = \frac{M \cdot P_s}{\rho \cdot R \cdot T_a} \cdot \frac{P_a}{P_{inlet}} \cdot F_{split} \quad , \text{ ahol} \quad \text{1. egyenlet [13]}$$

I az injektálás sebessége [$\mu\text{l}/\text{perc}$]

M az oldószer mólómege [g/mol]

P_s az oldószer gőznyomása az injektor kiindulási hőmérsékletén [bar]

ρ az oldószer sűrűsége [g/ml]

R az egyetemes gázállandó [$\text{ml}][\text{bar}]/[\text{mol}][\text{kg}]$]

T_a az injektor kiindulási hőmérséklete [K]

P_a a légköri nyomás (általában 1,013 bar)

P_{inlet} a fejnyomás és a légköri nyomás összege

F_{split} az áramlási sebesség a split ágon.

Ennek segítségével ki lehet számolni, adott hőmérsékletű injektor és adott lefúvatási sebesség mellett az alkalmazni kívánt oldószer ajánlott injektálási sebességét. A kapott érték csak közelítő jellegű, az optimalizálás feladata alól nem mentesít, de megkönnyíti a kezdeti lépéseket. Hogy az injektálási sebesség beállítása is kényes feladat, azt abból láthatjuk, hogy nem csak a túl gyors, de a túl lassú injektálás is gondokat okoz. Megfigyelték, hogy ha az injektálás nem elég gyors, komoly diszkrimináció léphet fel a magas forráspontú komponensekre [32, 33]. A jelenségre azonban nem találtam az irodalomban kielégítő magyarázatot. A lefúvatási idő és az áramlási sebesség optimalizálására is nagy gondot kell fordítani. Az előbbi a csúcsalak szempontjából kritikus, az utóbbi pedig nem megfelelő beállítás esetén diszkriminációt okozhat [30, 33].

3.5.5 A CIS alkalmazása széles forráspont-tartományú minták esetén

Korán felismerték, hogy a nagytérfogatú injektálás egyik legnagyobb hiányossága, hogy eredeti formájában csak meglehetősen magas forráspontú vegyületek mérésére alkalmas [36]. Azok a komponensek ugyanis, amelyek forráspontja nem magasabb legalább 150 °C-al az oldószer forráspontjánál, részben szintén lefűvátásra kerülnek, ez pedig nagyban korlátozza a módszer gyakorlati alkalmazhatóságát [37]. Ezt a leggyakrabban normál alkán homológ sor mérésével szokták demonstrálni. Ha oldószerként hexánt alkalmazunk (fp.: 69 °C) akkor a tetradekánnál (fp.: 253 °C, különbség a hexántól: 184 °C) illékonyabb komponensek részben vagy egészben az oldószerrel együtt elillannak, csúcsterületükben jelentős veszteség tapasztalható [29].

A nagytérfogatú injektálás, mint a kimutatási határ csökkentésének módszere azonban túl csábító volt ahhoz, semhogy ebbe a korlátozásba az analitikusok egykönnyen belenyugodjanak. Több javaslat is született a probléma megoldására.

Ezek közül a leghatékonyabb mindenképpen a már említett on-column nagytérfogatú injektálás. Ezzel a módszerrel nagy mintatérfogatok injektálása megfelelő sebességgel és hatékonysággal valósítható meg. Jól optimált módszer esetén hexános oldatból az n-oktán 85%-ban, az n-dekán és annál nagyobb szénhidrogének pedig 100%-ban visszanyerhetők [38]. Az on-column módszer azonban a már említett okok miatt leginkább csak ivóvíz minták és hasonlóan tiszta mátrixok vizsgálatára alkalmas, így a problémára csak egy kis részterületen kínál megoldást.

A csapdázás hatékonysága szempontjából vizsgálták a liner töltetének hatását. A különböző szelektív adszorbensek közül a Tenax kiváló tulajdonságokat mutat, alkalmazása esetén az undekán vezérelt sebességű injektálás mellett is kvantitatíve visszanyerhető [39]. Alkalmazásának korlátokat szab azonban, hogy a magas forráspontú komponensek annyira megkötődnek a töltet felszínén, hogy csak hosszan tartó, magas hőmérsékletű hevítés hatására is csak lassan deszorbeálódnak. Így illékony komponensek meghatározására alkalmazhatók ugyan, magas forráspontú vegyületeket is tartalmazó minta vizsgálatára azonban már nem [40, 41].

Az oldószer-oldott anyag szétválasztás hagyományos injektor esetén az oszlopban történik, leghatékonyabb módja pedig az oldószerfókusz.

Mivel oldószerlefűvátás esetén az oldószer-oldott anyag szétválása nagyrészt az injektorban valósul meg, az oldószerfókusz itteni alkalmazásával sokat lehetne javítani az illékony komponensek visszanyerésén. Ezt viszont csak egyszeri injektálás esetén sikerült igazán megvalósítani, amikor is a teljes oldószer mennyiség egyszerre az

injektorba kerül, így maradéktalanul ki tudja fejteni fókuszáló hatását. Ezzel a módszerrel pentános oldatból még az oktán is hatékonyan mérhető [28]. A hagyományos PTV linerre azonban 20 µl-nél többet nem lehet egyszerre injektálni, így viszont a dúsítás sem olyan jelentős [42]. Mol és munkatársai vizsgálták, milyen eredmények érhetők el nagyobb átmérőjű linerek alkalmazása esetén [29]. Különböző, 1,2 és 3,4 mm közötti belső átmérővel rendelkező linereket próbáltak ki mintakapacitás és az illékony komponensek visszanyerése szempontjából. 3.4 mm átmérőjű, üvegyapottal töltött liner esetén akár 150 µl minta is biztonságosan injektálható, ami már kellően nagy fokú dúsításra ad lehetőséget. Megfelelően optimálva a nonán egyszeri injektálásból 95%-ban visszanyerhető, 0 °C-os injektor-hőmérséklet mellett, míg vezérelt sebességű injektálás alkalmazásával -30 °C-os injektor esetén is csak 11%-ot sikerült elérni. Hátránya a módszernek, hogy nagyon finom optimálást igényel, ha csak 1-2 másodperccel később záródik a split szelep, már komoly veszteségek tapasztalhatók a legillékonyabb komponensek mennyiségében, ha pedig korábban, az a csúcsalakok torzulásához vezethet [38]. Mivel pedig a kis átmérőjű linerek más mérések terén a már említett okokból hatékonyabbak, így ez a módszer nem terjedt el. (Az Agilent nem árul 2 mm-nél szélesebb PTV linert.)

Az irodalomban tehát nem kínálnak olyan megoldást, amellyel illékony és magas forráspontú komponenseket egyaránt tartalmazó minta nagytérfogatú injektálása CIS injektorra kellő hatékonysággal megvalósítható lenne.

4 Kísérleti rész

4.1 Kísérleti körülmények

A méréseket split/splitless injektorral és Peltier hűtéssel ellátott Gerstel CIS 4 injektorral felszerelt Agilent 6890N készüléken végeztem. Mindkét injektorban egyszeresen szűkített, üveggyapottal töltött linert alkalmaztam. A komponenseket lángionizációs detektorral azonosítottam, a detektor hőmérséklete 325 °C volt. A mintabevitel Agilent 7683 automata mintaadagolóval történt. Az elválasztáshoz DB-1 10 m x 0,1 mm x 0,4 µm valamint Rtx-5 10 m x 0,1 mm x 0,1 µm oszlopokat használtam.

A méréshez a szabvány [1] szerint n-alkán standardokból összeállított oldatot alkalmaztam. Az oldat készítéséhez felhasznált n-alkánok: C₉, C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₆, C₁₈, C₂₀, C₂₂, C₂₄, C₂₈, C₃₂, C₃₆. A split módszer optimalizálásához 50, a splitlesshez 5, a nagyterfogatú injektáláshoz pedig 1 µg/ml töménységű oldatot alkalmaztam.

4.2 Split injektálás

4.2.1 A hőprogram optimalizálása

A kísérleti munka első részében annak a vizsgálatára volt a cél, hogy milyen eredmények érhetők el az EPH mérés gyors gázkromatográfiára való átültetésével. Céлом volt olyan kérdések megválaszolása, mint: mekkora sebesség érhető el, mennyiben változik a kimutatási határ, vagy, hogy mennyire lesz megbízható az új módszer. Ezek megválaszolásából pedig remélhetőleg kiderül, hogy az új módszer hatékonyabb-e annyival a réginél, hogy egy rutinanalitikai laboratóriumnak megérje az ahhoz szükséges befektetést.

A hőprogram fejlesztését split injektálási módban kezdtem el 50 ppm koncentrációjú oldatot alkalmazva. 1 µl-t injektáltam, 1:50 split arány és 325 °C-os injektorhőmérséklet mellett. A cél a minél gyorsabb elválasztás, ezért a gázkromatográf specifikációja szerinti maximális fűtési sebességet vettem kiindulási alapnak. Ez a 90 °C-ról induló split injektálás esetén egy 4 lépcsős hőprogram.

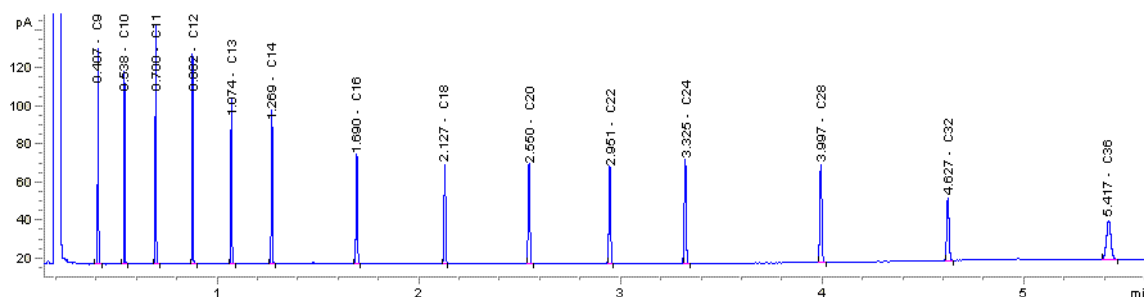
Mivel a specifikáció szerinti hőprogram magasabb hőmérsékletekre meglehetősen lassú fűtési sebességet ír elő, végeztem méréseket annak vizsgálatára, képes-e a készülék

ennél gyorsabban, reprodukálhatóan fűteni. A hőprogram végén ugyanis a 35-45 °C-os fűtési sebesség helyett 10-20 fokkal gyorsabb jelentősen lerövidítené a kromatogramot (2. táblázat).

Lépcsők (°C)	Fűtési sebesség (°C/perc)			
90 - 155	95	95	95	95
115 - 175	65	65	65	75
175 - 300	45	55	65	75
300 - 325	35	45	55	65
Analízisidő:	5.41	4.91	4.57	4.29
CsúcsterületRSD% (n=3):	0.12	0.55	0.70	0.79

2. táblázat A split hőprogram optimalása során felvett paraméterek

Azt találtam, hogy a készülék a specifikációban előírt sebességnél gyorsabb értékeket nem tudja pontosan tartani, a termosztát aktuális hőmérséklete a beállított hőmérséklethez képest „lemarad”. Ennek ellenére az elválasztás gyorsult, romlott viszont a reprodukálhatóság, így végül a specifikáció szerinti hőprogramot fogadtam el véglegesnek. A módszer részletes leírása az 1. mellékletben, split.m néven található.



5. ábra A tesztelegy kromatogramja split injektálás és a specifikációnak megfelelő leggyorsabb hőprogram mellett, split injektálással (1. melléklet / split.m)

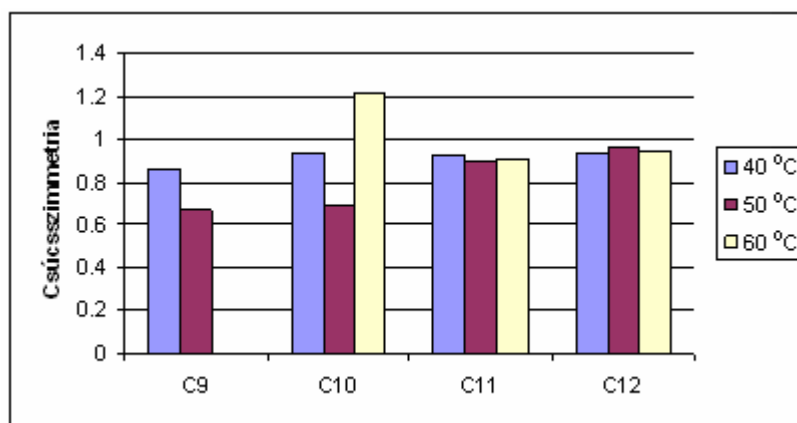
4.3 Splitless injektálás

Mivel az EPH mérést splitless módban végzik, a többi paraméter hatását ebben a módban vizsgáltam. Optimáltam a kiindulási oszlop hőmérsékletet, a splitless időt, az injektor hőmérsékletét, az áramlási sebességet, valamint az injektálási térfogatot. Pulsed splitless módban vizsgáltam a pulzusidő és a pulzusnyomás hatását.

A splitless optimalás során 1 µl-es injektálást, a splitless idő letelte után 50 ml/perc-es split áramlást, valamint a specifikációnak megfelelő hőprogramot alkalmaztam.

4.3.1 Kiindulási oszlop hőmérséklet

Hagyományos splitless injektálás esetén általában az oldószer forráspontjánál 20 °C-al alacsonyabb kiindulási oszlophőmérsékletet szoktak javasolni. Ez a 69 °C-on forró hexán esetén 49 °C-ot jelent. Hogy megtudjuk, gyors gázkromatográfiai körülmények mellett milyen hatása van ennek a paraméternek, az oszlop kiindulási hőmérsékletét a 40, 50 és 60 °C-on vizsgáltam (6. ábra).

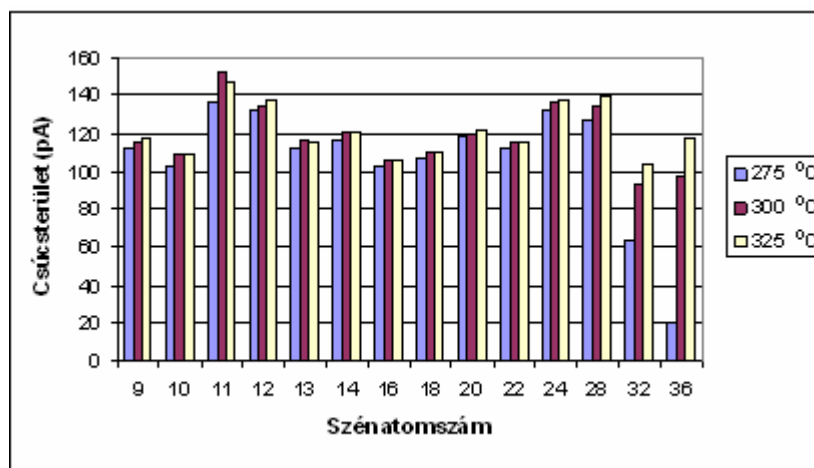


6. A kiindulási oszlophőmérséklet hatása a C₉ – C₁₂ komponensek csúcsszimmetriájára

Az első két csúcs alakja 50 °C-on jelentősen romlott, 60 °C-on pedig a nonán csúcsa már el sem vált az oldószercsúcstól. A további méréseknél a legjobb csúcsalakot adó 40 °C-os kiindulási oszlophőmérsékletet alkalmaztam.

4.3.2 Injektor hőmérséklet

Az injektor hőmérséklet optimalálásánál alapvetően két folyamatot kell figyelembe venni. Alacsony hőmérsékleten az injektált minta kisebb térfogatú gőzzé alakul, így adott áramlási sebesség mellett hamarabb juthat az oszlopra. Ugyanakkor alacsony hőmérsékleten a magas forráspontú komponensek esetleg nem párolognak el teljesen, ami diszkriminációhoz vezet. Gyors gázkromatográfia esetén azonban figyelembe kell venni azt is, hogy az alkalmazott magas fejnnyomás megnöveli az injektorba jutott vegyületek forráspontját. Az így korrigált forráspontú anyagok elpárologtatásához pedig magasabb hőmérséklet szükséges. Az injektor hőmérsékletének hatását 275, 300 és 325 °C-on vizsgáltam, 2 perces splitless idő mellett.

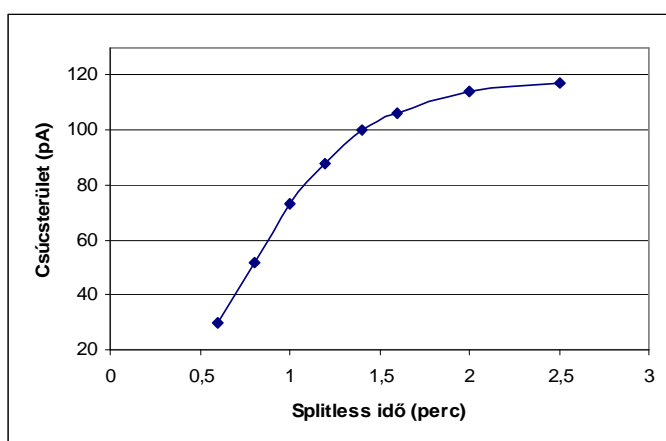


7. Az injektor hőmérsékletének hatása az egyes komponensek csúcsterületére

275 °C-os injektor hőmérséklet mellett a magas forráspontú komponensekre erős diszkriminációt tapasztaltam, ami csak 325 °C-on szűnt meg, így a továbbiakban ezt a hőmérsékletet alkalmaztam.

4.3.3 Splitless idő

A splitless időt először a 0,6 és 1,4 perces intervallumban vizsgáltam, mert a hagyományos oszlopokkal végzett mérések alapján általában ezek közé esik az optimális érték. A vékony oszlop hatása azonban itt erősen megmutatkozott. Még 1,4 percnél sem fordult igazán telítésbe a görbe, ezért további méréseket végeztem 1,6, 2,0 és 2,5 percnél. Csak 2,0 percnél mondható el, hogy a minta döntő többsége az oszlopra kerül (8. ábra). Ekkorra azonban a két legillékonyabb komponens csúcsa az oldószerfókusz ellenére erősen kiszélesedik. Alacsonyabb oszlophőmérséklet alkalmazásával jobb fókuszálás lenne elérhető, a 30 °C-os kiindulási hőmérséklet elérése azonban szobahőmérsékletű laboratóriumban igen lassú, néha pedig nem is lehetséges.



8. ábra A splitless idő hatása a csúcsterületek átlagára

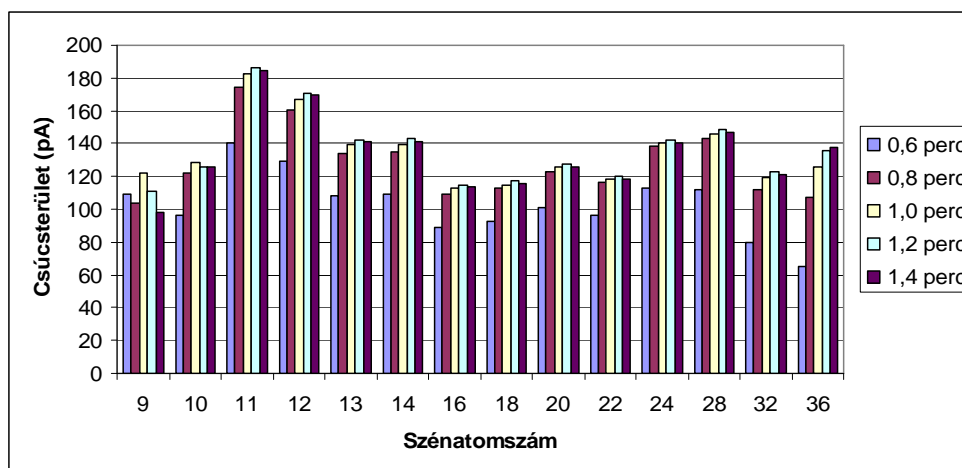
A mérésből jól látszik, hogy az alkalmazott vékony oszlop hagyományos, nagy térfogatú liner esetén mennyire megnehezíti a mintabevitelt.

4.3.4 Pulsed splitless injektálás

A jobb eredmény reményében pulsed splitless injektálással próbálkoztam. Ennek során az injektálás ideje alatt megnöveljük a fejnymást, ami mintegy belepréseli a mintát az oszlopba. Ehhez két új paramétert kell bevezetnünk, a pulzus nyomását valamint időtartamát.

Az optimális pulzusnyomásnak 120 psi adódott, ennél nagyobb értéknél nem tapasztaltam jelentős csúcsterület növekedést, viszont enyhe csúcskiszélesedés lépett fel.

Nyomáspulzus alkalmazásával jóval hatékonyabban lehetett átvinni a komponenseket az oszlopra, már 1 perc esetén megfelelő eredményt lehet elérni csúcskiszélesedés nélkül.



9. ábra Az egyes komponensek csúcsterületének változása a pulzusidő függvényében pulsed splitless injektálás esetén

Pulsed splitless injektálás alkalmazásával a mintabevitel sebessége mellett a hatékonysága is megnőtt. 1 perces pulsed splitless injektálás esetén 10-15%-al nagyobb csúcsterületeket kaptam, mint 2,5 perces splitless injektálással. Ez a különbség nem meglepő, hagyományos gázkromatográfia esetén ennél sokkal nagyobb növekedést is el lehet érni. Figyelembe kell venni azonban, hogy gyors gázkromatográfia esetén a kiindulási fejnymás már igen magas (esetünkben 72 psi), amihez képest a nyomáspulzus nem jelent olyan nagy növekedést.

4.3.5 Áramlási sebesség

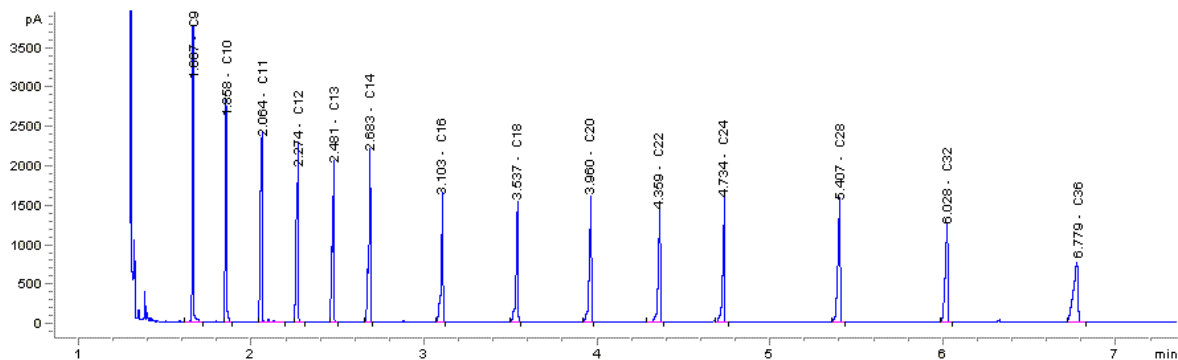
Adott kromatográfiás oszlop mellett a hőprogram gyorsításán kívül az áramlási sebesség növelése az elválasztás gyorsításának másik lehetséges módja. Gyors gázkromatográfiában a van Deemter egyenlet [10] által meghatározott optimális áramlási sebességet jóval meghaladó sebességeket alkalmazunk. Ez rontja az elválasztás hatékonyságát, növeli viszont annak sebességét. Az optimális áramlási sebességnek az tekinthető, ami a leggyorsabb analízist teszi lehetővé még megfelelő elválasztás mellett. Constant flow módszer alkalmazásakor az áramlási sebesség az elválasztás folyamata alatt végig állandó. A hőmérséklettel emelkedő belső súrlódás miatt azonban a hőprogram végén ugyanazon áramlási sebesség fenntartásához jelentősen nagyobb fejnnyomásra van szükség. Így a teljes folyamatra alkalmazható maximális áramlási sebesség 2,5 ml/perc. Az ilyen módon elért gyorsulás nem túl jelentős. A 2,5 ml/perc és a 1,5 ml/perc mellett felvett kromatogramok hossza (az utolsóként eluálódó komponens retenció ideje) között mindössze 0,4 perc a különbség. Az elválasztás minden esetben több, mint elegendő és a csúcsalakok is megfelelőek.

4.3.6 Injektálási térfogat

A mintatérfogat növelése, ahogy az irodalmi előzmények alapján várható volt, nem vezetett az eredmények javulásához. Már 2 μ l-es injektálás esetén jelentős csúcskiszélesedés tapasztalható, 3 μ l esetén pedig erősen torzulnak a csúcsok.

4.3.7 A splitless injektálással elért eredmény

Sikerült olyan módszert kifejleszteni, amivel az eddigi 19 perces mérés 7 perc alatt elvégezhető. Az optimált pulsed splitless módszer paraméterei az 1. mellékletben találhatóak (p_splitless.m), az ezzel a módszerrel felvett kromatogram pedig a 10. ábrán látható. A módszer hátránya a hagyományos gázkromatográfiához képest, hogy maximum 1 μ l minta injektálását teszi lehetővé.



10. ábra Split/splitless injektorra optimált gyors gázkromatográfiai módszer kromatogramja pulsed splitless injektálással (1. melléklet / p_splitless.m)

4.4 Nagytérfogatú injektálás

Nagytérfogatú injektáláshoz a Peltier hűtéssel ellátott CIS injektort alkalmaztam. A rendelkezésre álló 100 µl térfogatú fecskendővel az automata mintaadagoló maximálisan 50 µl-t tud injektálni. A méréseket 1 ppm-es oldattal végeztem 50 µl-t injektálva.

A Wessling laboratóriumában a mintaelőkészítés végén 10 ml-ről 1 ml-re párolják be a mérendő oldatot, majd ebből 3 µl-t injektálnak. A kiindulási oldat 1 µl-ében lévő mérendő komponensekre vonatkoztatva ez 30-szoros anyagmennyiséget jelent. 50 µl injektálása esetén megfelelő visszanyerés mellett 50-szeres a dúsítás, így a bepárlási lépés elhagyása mellett is megfelelő mintamennyiség kerül analízisre.

4.4.1 Mérések CIS injektorral cold splitless injektálási módban

A nagytérfogatú injektálás optimálásához először ajánlatos cold splitless módban meghatározni, mekkora csúcsterületeket adnak a vizsgálandó komponensek olyan anyagmennyiség mellett, amelyet a nagytérfogatú injektálással tervezünk az injektorba juttatni. Az injektálás hatékonyságának jellemzéséhez szükségünk van annak ismeretére, mekkora csúcsterületeket kapunk az egyes komponensekre adott anyagmennyiség esetén. A nagytérfogatú injektálás optimálását 1 ppm-es oldattal tervezem, az injektálás térfogata pedig 50 µl lesz. Ennek ellenőrzéséhez 1 µl 50 ppm-es oldatot mérek cold splitless módban, amit előtte optimálni kell.

A cold splitless injektálás előnye az alacsony diszkrimináció. A CIS esetében ehhez még a szűk liner előnye is társul, ami kis holtterefogatot jelent, így vékony oszlop esetén jelentősen lerövidítheti a minta átviteléhez szükséges időt.

Az optimálás itt csaknem ugyanúgy zajlik, mint a hagyományos split/splitless injektor esetében. Két fontos különbség van, az egyik, hogy megjelenik két új paraméter, az injektor kiindulási hőmérséklete, illetve felfűtési sebessége. Ezek optimálása azonban csak ritkán szükséges. Fontos, hogy az injektor kiindulási hőmérséklete az oldószer forráspontja alatt legyen, további változtatása azonban nem befolyásolja a mérést. Én 40 °C-ot alkalmaztam. Az injektor felfűtését a legnagyobb fűtési sebességgel (12 °C/perc) végeztem. A másik különbség, hogy az injektornak időre van szüksége a végső hőmérséklet eléréséhez, ezt figyelembe kell venni a splitless idő beállításánál.

A mérés során a következő paramétereket optimáltam: splitless idő (1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 percnél) valamint az injektor végső hőmérséklete (275, 300, 375 °C-on).

A vékony liner és a cold splitless injektálás jótékony hatását mutatja, hogy a split/splitless injektorral szemben itt 300 °C-os végső injektor hőmérséklet és 1,5 perces splitless idő már elegendőnek bizonyult. (Ami, figyelembe véve, hogy az injektor felfűtéséhez 22 másodperc szükséges, mindössze 1 perces 'tisztá' splitless időt jelent.). Az optimált módszerrel mért csúcsterületek a 2. mellékletben találhatóak. Ezeket használtam referenciaként a nagytérfogatú injektálás hatékonyságának jellemzésére.

4.4.2 Az oldószerlefúvatás optimálásának kezdete

Az oldószerlefúvatás optimálását az optimálandó paraméterek körének szűkítésével kezdtem. A paraméterek közül az irodalmi részben említett megfontolások (3.5.4. fejezet) alapján az injektor kiindulási hőmérsékletét 10 °C-nak választottam, a lefúvatás alatti fejnnyomást pedig a stop flow technikának megfelelően 0-ra állítottam, ami ez esetben légköri nyomásnak felel meg. Így már csak az injektálás sebességét, a lefúvatás idejét és sebességét (azaz a lefúvatás alatt alkalmazott split áramlási sebességet) szükséges optimálni.

Az irodalomban kerestem az optimálandó paramétereknek megfelelő kiindulási értékeket. Az első optimálási sorhoz a lefúvatás sebességét (azaz a split áramlási sebességét) rögzítettem 200 ml/perc értéken és ehhez kerestem a másik két paraméter optimális értékét. Az 1. egyenlet alapján kiszámoltam az ilyen hőmérséklet és lefúvatási sebesség mellett ajánlott injektálási sebességet, ami 79 µl/perc-nek adódott.

4.4.3 Az injektálás sebessége és a lefúvatási idő

Mivel az illékony komponensek megtartásához oldószerfókuszra van szükség, olyan injektálási paramétereket kerestem, amelyek alkalmazása esetén az injektálás

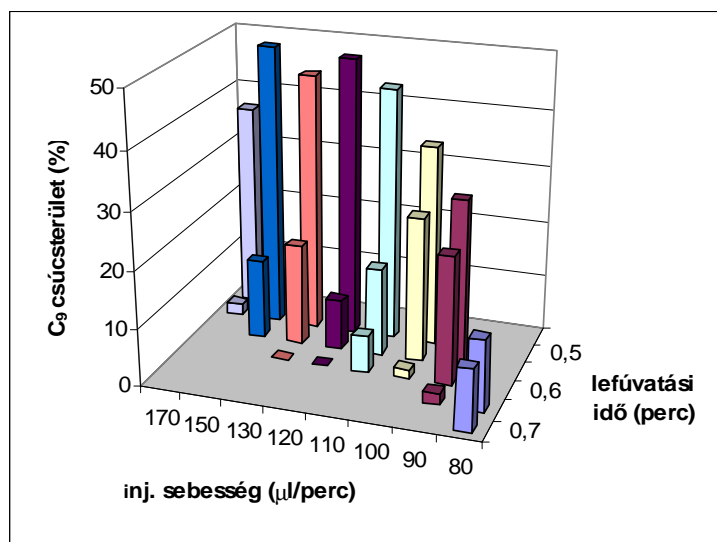
gyorsabb, mint az oldószer párolgása. Ekkor az linerben az injektálás folyamán és az injektálás végeztével is fölös mennyiségű oldószer van jelen, ami fókuszáló hatást fejt ki. Nem lehet viszont az injektálás túl gyors, mert ha a liner kapacitását meghaladó mennyiségű oldószer kerül az injektorba, akkor túlcsondulás léphet fel és a minta egy része elveszik. Az oldószerfókusz megtartásában a lefúvatási időnek is fontos szerepe van. A split szelepnek az oldószerfókusz megtartásához még az oldószer teljes elpárolgása előtt zárnia kell. Ha viszont túl hamar zár, nagy mennyiségű oldószer marad a linerben, ami pedig a csúcsok torzulását okozhatja. Az optimális értékek azt lehet tekinteni, amikor az illékony komponensek visszanyerése a legmagasabb (hatékony oldószerfókusz), anélkül, hogy a csúcsalakok torzulást szenvednének.

A megfelelő érték megtalálásához növeltem az injektálás sebességét. Hogy lássam az illékony komponensekre gyakorolt hatást, minden injektálási sebességet 5 lefúvatási idő értékkel mértem meg, a felvett paramétereket a 3. táblázat tartalmazza.

Inj. sebessége (µl/perc)	Lefúvatás ideje (perc)
80, 90	0, 80; 0,75; 0,70; 0,65; 0,60
100, 110, 120, 130	0,65; 0,60; 0,55. 0,50;0,45
150, 170	0,55. 0,50; 0,45

3. táblázat Az optimalás során felvett injektálási seb. – lefúvatási idő párok

Az eredmények, a nonán visszanyerését a különböző paraméterek mellett a 11. ábra mutatja. Látható, hogy a nonán néhány másodperc alatt teljesen eltűnik az injektorból. Túl rövid lefúvatási idő esetén viszont a közepes forráspontú alkánok csúcsai torzulnak. Ennek oka az oszlopra hirtelen, nagy mennyiségben rákerülő oldószer, ahogy ez gyors injektálás esetén is megfigyelhető. A 11. ábrán feltüntetett visszanyerési értékek közül, minden injektálási sebességnél a legnagyobb mellett már torzulnak a dekán és tetradekán közötti alkánok csúcsai, így ezek a paraméterek a gyakorlatban már nem alkalmazhatók. Ebből pedig látszik, hogy ilyen paraméterekkel, csúcstorzulás nélkül a nonán 40%-nál nagyobb visszanyerése nem érhető el.



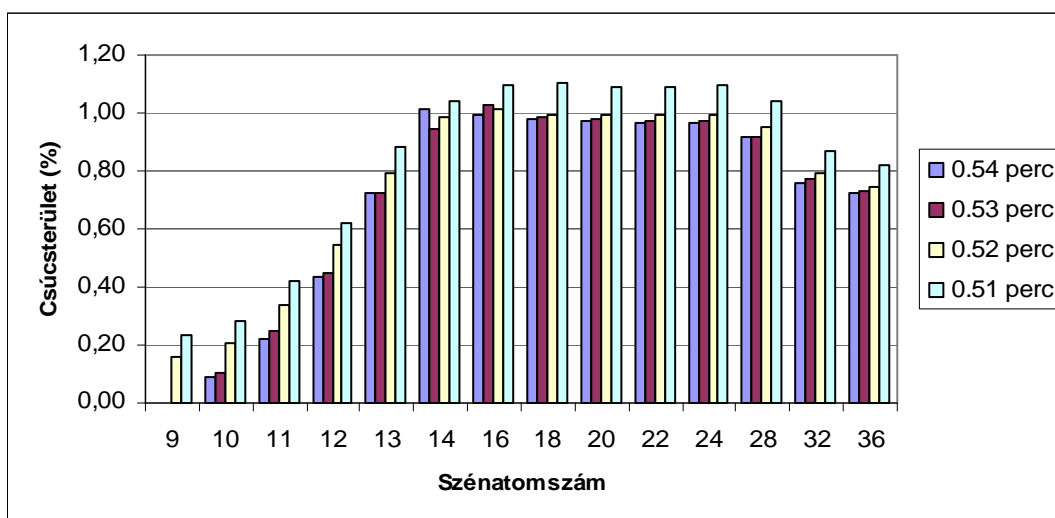
11. Az injektálási és lefúvatási sebesség hatása a C₉ csúcsterületére

Az injektálási sebesség növelése láthatóan kedvező hatással van az illékony komponensek visszanyerésére, valószínűleg a hatásosabbá váló oldószerfókuszt miatt. Túl nagy sebesség esetén azonban már veszteség léphet fel. Optimális injektálási sebességnek a 150 µl/percet választottam. Az optimális lefúvatási idő megtalálásához azonban a 0,05 percesnél finomabb optimálásra van szükség.

4.4.4 A lefúvatási idő pontosabb optimálása

Az illékony komponensek visszanyerése szempontjából a legkritikusabb paraméter a lefúvatási idő. Az irodalomból tudjuk, hogy ha a split szelep az optimális értéknél csak 1-2 másodperccel később zár az illékony komponensek mennyiségében már nagy veszteségeket tapasztalhatunk, még a leghatékonyabb oldószerfókuszt biztosító pillanatszerű injektálás esetén is [38].

Az optimálás során először (4.3.2 fejezet) 0,05 perces időközökkel változtattam a lefúvatási időt. A 11. ábrán látható, hogy ez az öt századperces változás mekkora hatással van a nonán csúcsterületére. Ezért a lefúvatási érték további finomításával próbálkoztam. Az első olyan értéktől, ahol a csúcsok torzulni kezdtek (0,50 perc), visszafelé 0,01 perces lépésekkel kerestem meg az optimális értéket 150 µl/perces injektálási sebesség mellett. Az eredményeket a 12. ábra tartalmazza.



12. A lefúvatósi sebesség hatása az egyes komponensek csúcsterületére

Ezen mérések alapján az optimális lefúvatósi idő 0,51 perc. Ilyen paraméterek mellett a nonán 23%-os visszanyerését lehet elérni. A módszer részletes leírása az 1. mellékletben vent200.m néven található. Ez rosszabb a várt értéknél, hiszen a korábbi kromatogramokon 40-50%-ot is lehetett látni, igaz, csúcstorzulás mellett. Ha a csúcstorzulás elkerülhető lenne, sokkal jobb visszanyerést is el lehetne érni.

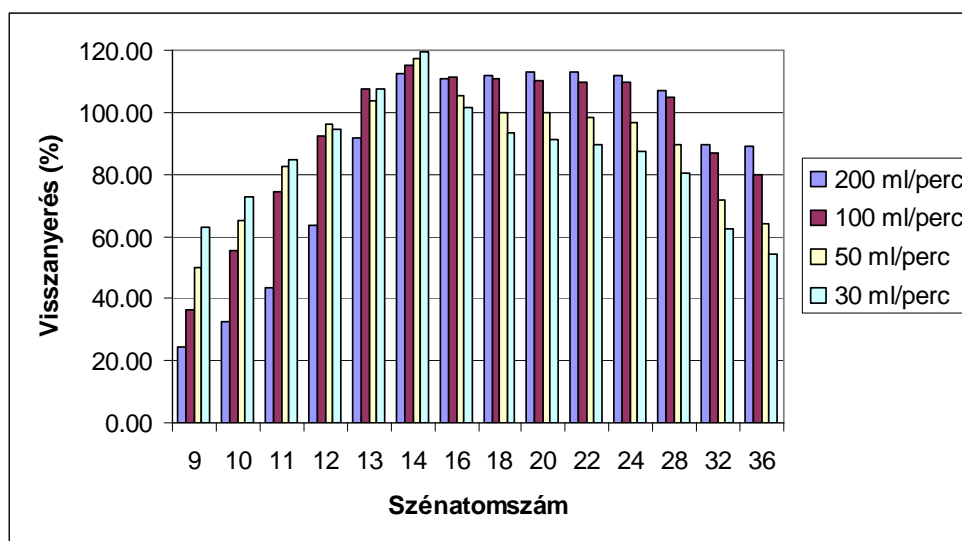
4.4.5 A lefúvatósi sebesség csökkentése

Mivel nagy lefúvatósi sebesség mellett az oldószer, főleg a kritikus utolsó 5-10 µl elpárolgása hamar megtörténik, lassabb lefúvatósi sebességekkel is próbálkoztam. Az volt az elképzelésem, hogy kisebb sebesség esetén a lefúvatósi idejéhez képest finomabban szabályozható a split szelep zárása, így talán jobb visszanyerést és jobb reprodukálhatóságot lehet elérni. Méréseket végeztem 100, 50 és 30 ml/perces lefúvatósi sebesség mellett. Mind a három esetben az 1. egyenlettel számolt injektálási sebességnél nagyobb, közel kétszer akkora sebességet alkalmaztam, ahogy a 200 ml/perces lefúvatósi mellett is, hogy az oldószerfókusz kialakulhasson. Minden esetben két perces splitless időt alkalmaztam. A lefúvatósi idő optimálását az előző példához hasonlóan, minden lefúvatósi sebesség mellett először 0,05 majd 0,01 perces lépésekkel végeztem. Az optimálisnak talált paramétereket a 4. táblázat tartalmazza.

Lefúvatás sebessége(ml/perc)	Injektálási sebesség (µl/perc)	Lefúvatási idő (perc)
100	80	0,87
50	40	1,54
30	25	2,44

4. táblázat Az alacsonyabb lefúvatási sebességek mellett alkalmazott injektálási sebesség és az optimalizált lefúvatási idő

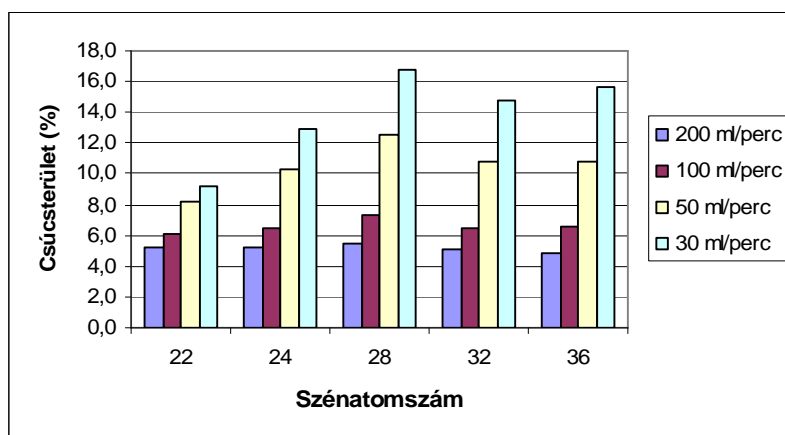
A lassabb lefúvatásnak köszönhetően valóban javult a nonán visszanyerése, 30 ml/perces lefúvatás mellett 60%-nál is jobb visszanyerést sikerült elérni. Közben azonban erős diszkriminációt tapasztaltam a nagy szénatomszámú alkánokra (13. ábra).



13. ábra A C₉ csúcsterületének változása lassabb lefúvatás esetén

Az irodalomban találtam példát diszkriminációra lassú injektálási illetve gyors lefúvatási sebesség esetén [32, 33]. Nem találtam viszont magyarázatot a jelenség okára. Mivel csak bizonyos komponenseket érint, a túlcsoportulás nem jöhet szóba. Hosszabb splitless idő sem csökkentette a jelenséget, tehát a liner töltetére való rászáradás sem lehet az oka.

Lassú injektálás esetén az oldat összegyűlik a tű végén és cseppenként hagyja el azt [32]. Ekkor azonban, mivel a csepp kialakulása alatt is folyik a párolgás, megvan a veszélye annak, hogy a komponensek részben már a tűre kiválnak. Ennek a hipotézisnek az ellenőrzésére a következő méréseket végeztem: szűkítővel felszerelt fiolákba 100 µl hexánt mérem ki, és a diszkriminációt mutató mérés után a fecskendő öblítése nélkül a hexánból injektáltam 50 µl-t azzal a módszerrel, amelyik a legkisebb diszkriminációt mutatta (1. melléklet / vent200.m) Az eredményeket a 14. ábra mutatja.



14. ábra A diszkriminációt mutató módszerek után tiszta oldószer injektálásával mért csúcsterületek

Ebből világosan látszik, hogy a diszkriminációt, legalábbis nagy részben a komponensek türe való kiválása okozza. Annak ellenére, hogy minden lefúvatási sebességen a képlet szerint számoltnál nagyobb injektálási sebességet alkalmaztam. A számolt sebességgel így még nagyobb diszkriminációra lehet számítani. Az injektálás sebessége tehát nem csak az illékony, de a magasabb forráspontú komponensek visszanyerésére is jelentős hatással van. Így illékony komponenseket nem tartalmazó minták esetén is javasolt a képlettel számoltnál valamivel nagyobb injektálási sebesség alkalmazása.

A fellépő diszkrimináció miatt a lefúvatási sebesség csökkentése nem járható út az illékony komponensek visszanyerésének javítására.

4.5 Lefúvatás az oszlopon keresztül

4.5.1 Két módszer kombinálása

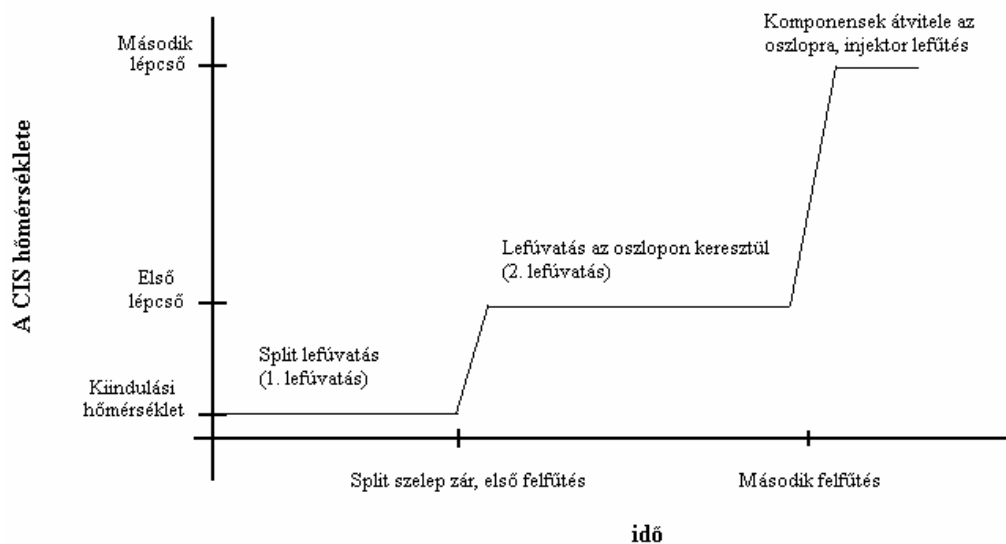
Az injektálás sebességének növelésével sikerült oldószerfókuszt elérni, és így az illékony komponensek visszanyerésén javítani. A veszteség azonban még mindig nagy és a reprodukálhatóság sem megfelelő, ezért újabb lehetőségek után néztem.

A hagyományos CIS-re módszert fejlesztő analitikus sokszor irigykedve nézi az on-colum vagy más, az oldószert valamilyen előtétoszlopon át lefúvató technikával elért eredményeket. Nem volt ez velem sem másként. Egy CIS liner fókusztoló képessége nem mérhető egy fázissal rendelkező előtétoszlopéhoz. Az oldószer oszlopon át való lefúvatása ugyan hagyományos CIS-vel is megvalósítható, nagy belső átmérőjű előtétoszlop és külön oldószergőz-kivezetés nélkül azonban a kis áramlási sebesség miatt

rendkívül hosszú időt igényelne, így a gyakorlatban nem alkalmazható. Illetve csak kis, néhány mikroliteres mennyiség esetén, ami azonban a megfelelő dúsítást nem biztosítja.

Irodalmi adatok is megerősítik az elképzelést, miszerint az illékony komponensek visszatartásában az oldószer utolsó néhány mikrolitere játssza a legfontosabb szerepet [29]. Az illékony komponensek nagyobb visszatartását érhetnék el úgy, hogy az oldószer nagy részét a split ágon át fűvátjuk le, az utolsó néhány mikrolitert pedig az oszlopon keresztül, ahol az injektorból elpárolgó komponensek az oldószerrel felduzzasztott fázisban fókuszálódnának. A CIS vezérlő szoftvere nem csak (a szinte kizárólagosan használt) egyszerű felfűtést, hanem kétlépcsős hőprogram beállítását is lehetővé teszi, a kétféle lefűvátás ennek segítségével egymás után is megvalósítható.

4.5.2 Új paraméterek



15. ábra A kétlépcsős CIS hőprogram

Az oszlopon át történő lefűvátáshoz két új paramétert kell optimálni, a CIS hőprogram második lépcsőjének hőmérsékletét és a második lefűvátási időt. Az optimálás menete a következő: olyan lefűvátási időt állítunk be, amelyen az oldószer nagy része már le van fűvátva, de a csúcsok torzulása mutatja, hogy még néhány mikroliter oldószer van az injektorban. Ehhez elég, ha a teljes lefűvátáshoz szükséges időt 2-3 másodperccel csökkentjük. Hogy a kis áramlási sebesség mellett kellő lefűvátási sebességet érjünk el, nagyobb gőznyomásra van szükség, ezért az injektor hőmérsékletét a második lefűvátáshoz meg kell emelni. Megfelelő hőmérséklet esetén a lefűvátás az oszlopon keresztül is kellően gyors, a csúcsalakok pedig nem torzulnak. A második

lefűtatás a split ág zárásával és a CIS hőprogram 1. lépcsőjének indulásával kezdődik. A végét pedig az injektor második fűtési lépcsőjének kezdete határozza meg.

4.5.3 A második lefűtatási idő optimalizálása

Az injektor hőmérsékletét a 2. lefűtatási lépcső alatt 60 °C-nak választottam. Ez jelentősen magasabb, mint a kezdeti 10 °C, ezért jelentősen megnő a hexán gőznyomása, de még alatta van az oldószer forráspontjának, így nem kell attól tartani, hogy hirtelen kerül az oldószer az oszlopra a csúcsok torzulását okozva. A split lefűtatást 0,48 percre állítottam be.

Optimáltam az oszlopon át történő lefűtatás időtartamát. Erre azért van szükség, hogy megtaláljam azt a pontot, ahol az injektorban már nincs annyi oldószer, hogy a csúcsalakok torzuljanak, de nem is száraz még teljesen, mert akkor a magas forráspontú komponensek nehezebben jutnak az oszlopra és diszkrimináció lép fel. A felvett értékek: 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; és 2,0 perc. A csúcsalakok és a visszanyerés 1,8 és 2,0 perces értékek esetén is megfelelően jó volt, ami azt mutatja, hogy ez a módszer sokkal kevésbé érzékeny a túlfűtatásra. A módszerrel a nonán visszanyerése 56%-ban sikerült, ami sokkal jobb, mint egyszerű split lefűtatás esetén.

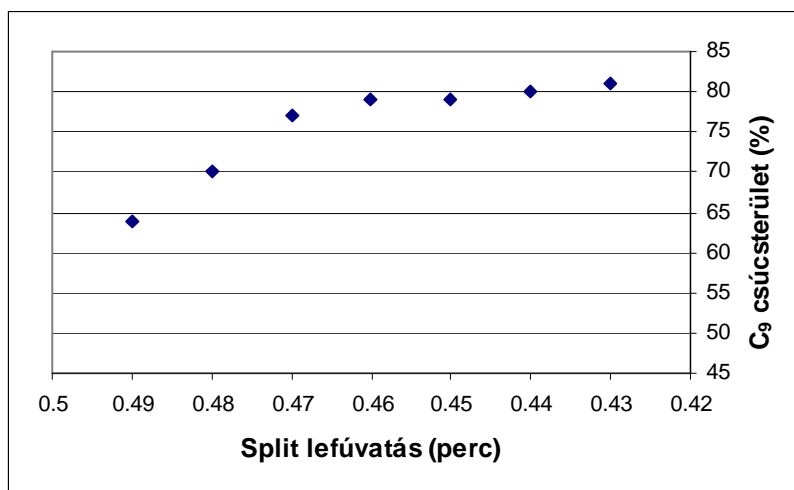
4.5.4 Kísérletek a visszanyerés növelésére

Ha a split lefűtatási időt csökkentjük, több oldószer marad az injektorban, és várhatóan kisebb lesz az illékonyabb komponenseknél tapasztalt veszteség. Megvizsgáltam, milyen visszanyerés érhető el, kisebb split lefűtatási időt alkalmazva több oldószerrel irányítunk az oszlopra. 60 fokos injektor hőmérsékletnél maradván 0,01 perces lépésekkel csökkentettem a split lefűtatási időt, minden lépésnél három, egyre növekvő oszlopi lefűtatási időt alkalmazva. A pontos értékeket az 4. táblázat tartalmazza.

Lefűtatási idő (perc)	Lefűtatás az oszlopon keresztül (perc)
0,48	2, 3 , 4
0,47	2, 3, 4
0,46	3, 4, 5
0,45	4, 5 , 6
0,44	4, 5, 6
0,43	5, 6, 7

5. táblázat Rövidített split lefűtatási idő után a maradék oldószer lefűtatása az oszlopon keresztül. Vastag betűvel jelöltem a mérések alapján az oszlopon keresztül történő lefűtatáshoz szükséges időt.

A visszanyerés eredményeit a 16. ábrán foglaltam össze.



16. ábra A C₉ visszanyerésének függése a split lefúvatási időtől kombinált lefúvatás esetén

A mérések azt mutatják, hogy a módszerrel a nonán 80%-a nyerhető vissza, ennél több még tovább csökkentett split lefúvatás esetén sem. Probléma azonban, hogy a 80%-os visszanyerés eléréséhez szükséges, hosszú oszlopi lefúvatási idő ezen a hőmérsékleten 5-6 perc, ami megengedhetetlenül hosszú gyors gázkromatográfiás mérés mellett.

4.5.5 Az injektor hőmérséklet optimalítása

Az injektor hőmérsékletének emelésével csökkenteni lehetne a második lefúvatáshoz szükséges időt. Az általam alkalmazott fejnnyomás (44 psi) mellett a hexán korrigált forráspontja 108 °C, így az eddig alkalmazott 60 foknál magasabb hőmérsékletet is lehetne használni. Itt, mivel a komponensek fókuszálódnak az oszlopon, nem jelent problémát a magasabb hőmérséklet. Azt azonban el kell kerülni, hogy az oldószer felforrjon az injektorban és túl gyorsan kerüljön az oszlopra. Méréseket végeztem 70, 80, 90, 100 és 110 °C-os hőmérsékleten, 0,48 perces lefúvatás mellett.

100 és 110 fokon a kromatogram már torzul, 90 °C mellett azonban megfelelő csúcshalakokat kaptam. Ezen a hőmérsékleten 2 perc kellett az oldószer lefúvatásához az oszlopon keresztül. Megpróbáltam ezen a hőmérsékleten jobb visszanyerést elérni. Az előző kísérletek szerint 0,46 perces split lefúvatás mellett telítésbe fordul a nonán visszanyerési görbéje, ezért ezt választottam split lefúvatási időnek, és ehhez optimaltam a oszlopra fúvatáshoz szükséges időt 90 °C-os injektor hőmérséklet mellett. Ilyen hőmérsékleten a lefúvatáshoz 3 perc elegendő, a C₉ visszanyerése pedig 71%. Méréseket végeztem még 0,48 és 0,44 perces split lefúvatás mellett is. A nonán visszanyerése az

előbbivel 65% az utóbbival 80%. (A legjobb visszanyerést mutató módszer részletes leírása az 1. mellékletben komb_v44.m név alatt, míg a visszanyerési és reprodukálhatósági adatok a 2. mellékletben találhatóak.)

A lehetőség tehát adott az illékony komponensek visszanyerésére, de ez, a hagyományos injektáláshoz képest jelentős időt igényel. A folyamat azonban még így is gyorsabb, mint ha a bepárlást manuálisan végeznénk.

4.5.6 Pentán alkalmazása oldószerként

A lefúvatás alatt az illékony komponensek elvesztése részben azért következik be, mert kicsi a különbség a forráspontjuk és az oldószer forráspontja között. Illékonyabb oldószer alkalmazásával ez a veszteség csökkenthető lenne.

Hogy megvizsgáljam, milyen hatása van egy ilyen oldószercserének az általam megoldani kívánt problémára, a nagyterfogatú injektálás teljes optimalizálását elvégeztem pentánnal készült standard oldattal is. Az oldószer minőségén kívül más változtatás nem történt, az optimalizálás során a fentebb ismertetett lépéseket alkalmaztam. A paraméterek közül csak azokat változtattam meg, amelyek esetében az illékonyabb oldószer ezt szükségessé tette. Pentán alkalmazásával a következő eredményeket értem el:

Egyszerű, split szelepen át történő oldószerelefúvatás esetén, megfelelően optimalva a C₉ 52%-ban visszanyerhető. A módszer itt is rendkívül érzékeny 1 másodperces eltérés esetén már egészen megváltozik a kromatogram. Ha alkalmazzuk a fent ismertetett módszert, és az oldószer egy részét az oszlopon át fúvatjuk le, a visszanyerés eléri a 85%-ot. Ez nem sokkal nagyobb a hexánnal elérhető 80%-nál, viszont rövidebb idő alatt megvalósítható, 4 perc helyett csak 2 perc a 2. lefúvatói lépcső. A módszer leírása az 1. mellékletben komb_pent_v40.m név alatt található, a kromatogram adatai pedig a 2. mellékletben.

4.5.7 Vékony fázisú oszlop alkalmazása

A gázkromatográfiás elválasztás gyorsításának egyik módja az állófázis vastagságának csökkentése (1. ábra). Ezért az eddig 0,4 µm filmvastagságú oszlopon kifejlesztett módszereket a gyorsítás reményében kipróbáltam 0,1 µm vastag fázisú oszlopon is. A vékony fázisú oszlop előnye a gyorsabb elválasztás mellett a nagyobb stabilitás (alacsonyabb vérzés, hosszabb élettartam) is, ezért rutin laboratóriumi alkalmazásoknál, ha lehet, ezeket részesítik előnyben.

Az elválasztás valóban gyorsult, azonos hőprogram mellett 7 perc helyett 6,2 percnél eluálódott az utolsó komponens.

Sajnos azonban a filmvastagság csökkentése az illékony komponensek fókuszálásának romlásához vezet. A split ágon való lefúvatást ez nem zavarta, amikor viszont kombinált lefúvatást alkalmaztam a csökkent fókuszálási képesség a nonán és a dekán csúcsának az oldószercsúcsba való beleolvadását, ezáltal elvesztését okozta. A vékony fázisú oszlop tehát nagytérfogatú injektálás esetén csak split lefúvatás mellett alkalmazható.

5 Összefoglalás

Munkám során EPH meghatározására alkalmas gyors gázkromatográfiás módszert fejlesztettem split/splitless és Gerstel CIS 4 injektorra. Összehasonlítottam a két injektor alkalmazási lehetőségeit a gyors gázkromatográfiában. EPH meghatározására alkalmas nagyterfogatú injektálási módszert fejlesztettem programozott hőmérsékletű injektorra, oldószerlefúvatás és vezérelt sebességű injektálás alkalmazásával. Ennek során megmutattam, hogy vezérelt sebességű injektálás esetén nem csak az illékony, de a magas forráspontú, illetve nehezen oldódó komponensek diszkriminációja is valós veszély, valamint bebizonyítottam, hogy ezért nagyrészt a komponensek túre való kiválása a felelős. A CIS programozhatóságát kihasználva olyan, kétlépcsős oldószerlefúvatási módszert fejlesztettem, amivel az illékony komponensek visszanyerése az irodalmi adatoknál lényegesen jobb arányban lehetséges. A módszer alkalmazása lehetővé teszi a kimutatási határ csökkentését, vagy a mintaelőkészítés során a bepárlási lépés elhagyását.

6 Irodalomjegyzék

- [1] MSZ 20354:2003
- [2] J. Willen, T. Herraiz, G. Reglero, M. Herraiz, J. High Resol. Chromatogr. 12 (1989) 633-635
- [3] J. Willen, T. Herraiz, G. Reglero, M. Herraiz, J. High Resol. Chromatogr. 12 (1989) 633-635
- [4] GC Method Translation Freeware, Agilent Technologies, Wilmington, DE, 1998, www.agilent.com.
- [5] Kateřina Maštovská, Steven J. Lehotay, J. Chromatogr. A, 1000 (2003) 153-180
- [6] C. A. Cramers, P. A. Leclercq, J. Chromatogr. A, 842 (1999) 3-13
- [7] F. David, D.R. Gere, F. Schanlan, P. Sandra, A. Chromatogr. A, 842 (1999) 309-319
- [8] Korytár, H.G. Janssen, E. Matisová, U.A.Th. Brinkman, Trends in Analytical Chemistry 21 (2002) 558-572
- [9] Agilent 6890N Network Gas Chromatograph, Data Sheet, www.agilent.com
- [10] Kremmer, Torkos, Szókán: Elválasztás technikai módszerek elmélete és gyakorlata, egyetemi jegyzet, ELTE 2004
- [11] K. Grob, M. Biedermann, J. Chromatogr. A, 897 (2000) 237-246
- [12] Kende Anikó: Mintaelőkészítési és mintabeviteli módszerek élelmiszerek növényvédő-szermaradékainak gázkromatográfiás meghatározásában, doktori értekezés, 2006. ELTE Kémiai Doktori Iskola
- [13] Inlets for capillary gas chromatography, Gerstel kiadvány, www.gerstel.com
- [14] K. Grob, M. Biedermann, J. Chromatogr. A, 750 (1996) 11-23
- [15] Walter Jennings, Eric Mittlefehldt, Philip Stremple: Analytical Gas Chromatography (1997) San Diego, USA
- [16] J. Zrostlíková, J. Hajšlová, M. Godula, K. Maštovská, J. Chromatogr. A, 937 (2001) 73-86
- [17] E. Matisová, M. Dömötörövä, J. Chromatogr. A, 1000 (2003) 199-221
- [18] Kirchner, E. Matisová, M. Dömötörövä, J. Zeeuw, A. Chromatogr. A, 1055 (2004) 159-168
- [19] M. Fattori, Hewlett-Packard Company, FlowCalc 2.0
- [20] W. Vogt, K. Jacob, H.W. Obwexer, J. Chromatogr. 174 (1979) 437

- [21] W. Engewald, J. Teske, J. Efer, J. Chromatogr A, 856 (1999) 259-278
- [22] E. S. Poy, F. Visani, F. Terrosi, J. Chromatogr. 217 (1981) 81
- [23] K. Grob, D. Fröhlich, J. High Resol. Chromatogr. 13 (1990) 540-546
- [24] K. Grob, S. Brem, J. High Resol. Chromatogr. 15 (1992) 715-722
- [25] K. Grob, J. Chromatogr. A, 703 (1995) 265-276
- [26] K. Grob, Jr., Ch. Walder, D. Schilling, J. High Resol. Chromatogr. 9 (1986) 95-101
- [27] T. Hyötyläinen, K. Grob, M. Biedermann, J. High Resol. Chromatogr. 20 (1997) 410-416
- [28] K. Grob, Z. Li, J. High Resol. Chromatogr. 11 (1988) 626-632
- [29] H.G.J. Mol H.G. Janssen, C.A. Cramers, U.A.Th. Brinkman J. High Resol. Chromatogr. 18 (1995) 19-27
- [30] M. Hada, M. Takino, T. Yamagami, S. Daishima, K. Yamaguchi, J. Chromatogr. A, 874 (2000) 81-90
- [31] Operation Manual Gerstel CIS 4 (2005) Gerstel GmbH & Co. KG
- [32] P. Tollbäck, J. Björklund, C. Östman, J. Chromatogr. A, 991 (2003) 241-253
- [33] M. Mandalakis, Ö. Gustafsson, J. Chromatogr. A, 996 (2003) 163-172
- [34] H.J. Stan, M. Linkerhägner, J. Chromatogr. A, 727 (1996) 275-289
- [35] M.M. Vázquez, M.E.V. Blanco, S.M.i Lorenzo, P.L. Mahía, E.F. Fernández, D.P. Rodríguez, J. Chromatogr. A, 919 (2001) 363-371
- [36] M. Herraiz, G. Reglero, E. Loyala, T. Herraiz, J. High Resol. Chromatogr. 10 (1987) 598-604
- [37] M. Termonia, B. Lacombiez, F. Munari, J. High Resol. Chromatogr. 11 (1988) 890-895
- [38] C. Bosboom, H.G. Janssen, H.G.J. Mol, C.A. Cramers, J. Chromatogr. A, 724 (1996) 384-391
- [39] M. Herraiz, G. Reglero, T. Herraiz, J. High Res. Chromatogr. 12 (1989) 442-445
- [40] G.J. Mol, P.J.M. Hendriks, H.G. Janssen, C.A. Cramers, J. High Resol. Chromatogr. 18 (1995) 124-128
- [41] J. Staniewski, J.A. Rijks, J. High Resol. Chromatogr. 16 (1993) 182-187
- [42] P.G. Ysacker, H.M. Snijders, H.G.M. Janssen, C.A. Cramers, J. High Resol. Chromatogr. 21 (1998) 491-497

7 Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani

- Dr. Torkos Kornélnak témavezetői munkájáért
- Dr. Kende Anikónak, Rikker Tamásnak és Volk Gábornak a nagyon sok értékes elméleti és gyakorlati útbaigazításért
- Dr. Eke Zsuzsannának a dolgozat összeállításában nyújtott segítségéért
- a Dr. E. Wessling Kémiai Laboratórium Kft. gázkromatográfiás részlegének az együttműködésükért, valamint a laboratóriumi anyagokért és a hasznos tanácsokért
- az ELTE Kémiai Intézet, valamint az EKOL Elválasztástechnikai Kutató-Oktató Laboratórium dolgozóinak és hallgatóinak, hogy támogatás nyújtottak tanulmányaim elvégzéséhez

8 Mellékletek

1. melléklet: módszerek

SPLIT.M:

Injektálás: split, V_{inj} : 1 μ l, p_{head} : 71 psi, T_{inj} : 325 °C, Split Ratio: 50:1, Split Flow: 100 ml/perc, vivőgáz: H₂ 5.0

Oszlop: DB-1 10 m x 0,1 mm x 0,4 μ m, 2 ml/perc állandó áramlási sebesség

Hőprogram: 90 °C (0 perc) 95 °C/perc \uparrow 115 °C (0 perc) 65 °C/perc \uparrow 175 °C (0 perc) 55 °C/perc \uparrow 300 °C (0 perc) 35 °C/perc \uparrow 325 °C (3 perc).

Inj. Hőm.: 325 °C, H₂ Flow: 40 ml/perc, Air Flow: 450 ml/perc, Makeup (N₂) Flow: 45 ml/perc.

P_SPLITLESS.M:

Injektálás: pulsed splitless, V_{inj} : 1 μ l, p_{head} : 70 psi, T_{inj} : 325 °C, Splitless Time: 1,0 perc, Pulse Time: 1,0, Pulse Pressure: 120 psi, Purge: 50 ml/perc, vivőgáz: H₂ 5.0

Oszlop: DB-1 10 m x 0,1 mm x 0,4 μ m, 2,0 ml/perc állandó áramlási sebesség

Hőprogram: 40 °C (2 perc) 120 °C/perc \uparrow 70 °C (0 perc) 95 °C/perc \uparrow 115 °C (0 perc) 65 °C/perc \uparrow 175 °C (0 perc) 55 °C/perc \uparrow 300 °C (0 perc) 35 °C/perc \uparrow 325 °C (3 perc).

Inj. Hőm.: 325 °C, H₂ Flow: 40 ml/perc, Air Flow: 450 ml/perc, Makeup (N₂) Flow: 45 ml/perc.

COLD_SPLITLESS.M:

Injektálás: CIS Cold Splitless, V_{inj} : 1 μ l, p_{head} : 7 psi, T_{inj} : 40 °C (0 perc)

720 °C/perc \uparrow 300 °C (6 perc), Splitless Time: 1,5 perc, Purge: 50 ml/perc, vivőgáz: H₂ 5.0

Oszlop: DB-1 10 m x 0,1 mm x 0,4 μ m, 1,2 ml/perc állandó áramlási sebesség

Hőprogram: 40 °C (2 perc) 120 °C/perc \uparrow 70 °C (0 perc) 95 °C/perc \uparrow 115 °C (0 perc) 65 °C/perc \uparrow 175 °C (0 perc) 55 °C/perc \uparrow 300 °C (0 perc) 35 °C/perc \uparrow 325 °C (3 perc).

Inj. Hőm.: 325 °C, H₂ Flow: 40 ml/perc, Air Flow: 450 ml/perc, Makeup (N₂) Flow: 45 ml/perc.

VENT200.M:

Injektálás: PTV nagyterfogatú oldószer-lefúvatás, vezérelt sebességű injektálással, V_{inj} : 50 μ l, Inj. Speed: 150 μ l/perc, p_{head} : 0 psi, T_{inj} : 10 °C (0,51 perc) \uparrow 600 °C/perc 300 °C (6 perc), Vent Flow: 200 ml/perc, vent pressure: 0 psi, Vent Time: 0,51 perc, Splitless Time: 3 perc, Purge: 30 ml/perc, vivőgáz: H₂ 5.0

Oszlop: DB-1 10 m x 0,1 mm x 0,4 μ m, 1,2 ml/perc állandó áramlási sebesség

Hőprogram: 40 °C (3 perc) 120 °C/perc \uparrow 70 °C (0 perc) 95 °C/perc \uparrow 115 °C (0 perc) 65 °C/perc \uparrow 175 °C (0 perc) 55 °C/perc \uparrow 300 °C (0 perc) 35 °C/perc \uparrow 325 °C (3 perc).

Inj. Hőm.: 325 °C, H₂ Flow: 40 ml/perc, Air Flow: 450 ml/perc, Makeup (N₂) Flow: 45 ml/perc.

KOMB_V44.M:

Injektálás: PTV nagyterefogatú oldószer-lefúvatás, vezérelt sebességű injektálással, V_{inj} : 50 μ l, Inj. Speed: 150 μ l/perc, p_{head} : 0 psi, T_{inj} : 10 °C (0,44 perc) \uparrow 600 °C/perc 90 °C (4 perc) \uparrow 600 °C/perc 300 °C (6 perc), Vent Flow: 200 ml/perc, Vent Pressure: 0 psi, Vent Time: 0,44 perc, Splitless Time: 6 perc, Purge: 30 ml/perc, vivőgáz: H₂ 5.0

Oszlop: DB-1 10 m x 0,1 mm x 0,4 μ m, 1,2 ml/perc állandó áramlási sebesség

Hőprogram: 40 °C (6 perc) 120 °C/perc \uparrow 70 °C (0 perc) 95 °C/perc \uparrow 115 °C (0 perc) 65 °C/perc \uparrow 175 °C (0 perc) 55 °C/perc \uparrow 300 °C (0 perc) 35 °C/perc \uparrow 325 °C (3 perc).

Inj. Hőm.: 325 °C, H₂ Flow: 40 ml/perc, Air Flow: 450 ml/perc, Makeup (N₂) Flow: 45 ml/perc.

KOMB_PENT.M:

Injektálás: PTV nagyterefogatú oldószer-lefúvatás, vezérelt sebességű injektálással, V_{inj} : 50 μ l, Inj. Speed: 140 μ l/perc, p_{head} : 0 psi, T_{inj} : 10 °C (0,40 perc) \uparrow 600 °C/perc 70 °C (2 perc) \uparrow 600 °C/perc 300 °C (6 perc), Vent Flow: 50 ml/perc, Vent Pressure: 0 psi, Vent Time: 0,40 perc, Splitless Time: 3,5 perc, Purge: 30 ml/perc, vivőgáz: H₂ 5.0

Oszlop: DB-1 10 m x 0,1 mm x 0,4 μ m, 1,2 ml/perc állandó áramlási sebesség

Hőprogram: 40 °C (3,5 perc) 120 °C/perc \uparrow 70 °C (0 perc) 95 °C/perc \uparrow 115 °C (0 perc) 65 °C/perc \uparrow 175 °C (0 perc) 55 °C/perc \uparrow 300 °C (0 perc) 35 °C/perc \uparrow 325 °C (3 perc).

Inj. Hőm.: 325 °C, H₂ Flow: 40 ml/perc, Air Flow: 450 ml/perc, Makeup (N₂) Flow: 45 ml/perc.

2. melléklet: kromatogram adatok**A legjobb cold splitless módszerrel (cold_splitless.m) felvett kromatogram adatai**

Szénatomszám	Csúcsterület (pA)	Csúcsterület RSD% (n = 3)	Retenciós idő (perc)
9	1272	1,02	2,75
10	1143	0,95	2,96
11	1558	0,94	3,18
12	1514	0,96	3,40
13	1264	0,95	3,61
14	1272	1,15	3,82
16	989	0,91	4,27
18	999	1,16	4,71
20	1086	1,22	5,14
22	1014	1,35	5,55
24	1198	1,43	5,92
28	1253	1,53	6,60
32	1082	1,46	7,25
36	1316	1,18	8,19

A leljobb kombinált lefúvatással (komb_v44.m) felvett kromatogram adatai

Szénatomszám	Visszanyerés (%)	Csúcsterület RSD% (n = 3)	Retenciós idő (perc)
9	80	0,77	6,87
10	90	1,36	7,03
11	97	0,85	7,22
12	102	1,08	7,42
13	112	1,07	7,63
14	112	1,05	7,84
16	125	0,52	8,27
18	113	0,96	8,72
20	109	0,97	9,14
22	107	2,16	9,55
24	108	1,94	9,92
28	104	2,57	10,60
32	88	2,91	11,25
36	84	2,96	12,19

**A pentán alkalmazása mellett leljobb visszanyerést adó módszerrel
(komb_pent_v40.m) felvett kromatogram adatai**

Szénatomszám	Visszanyerés (%)	Csúcsterület RSD% (n = 3)	Retenciós idő (perc)
9	85	1,2	4,30
10	94	1,29	4,51
11	102	0,8	4,73
12	99	0,99	4,94
13	97	4,28	5,15
14	90	3,02	5,36
16	86	2,92	5,81
18	86	0,23	6,26
20	88	1,15	6,69
22	89	0,82	7,09
24	90	1,17	7,47
28	91	0,17	8,14
32	94	2,15	8,81
36	96	2,37	9,80