

# Gaschromatografi i 50 år

**Gaschromatografi er i dag en uundværlig teknik i ethvert analytisk kemisk laboratorium. I anledning af, at det i år er 50 år siden, den gaschromatografiske teknik i praksis blev en realitet, vil vi med udgangspunkt og begrænsning i egne erfaringer med gaschromatografi se på den udvikling, der har fundet sted**

*Af Elfinn Larsen, anette.elfinn@get2net.dk og Helge Egsgaard, Forskningscenter Risø og Robert Kold Hansen, Danisco Cultor*

Går vi næsten 100 år tilbage i tiden, er vi ved chromatografiens barndom [1], hvor den mobile fase er en væske. Først i 1941 foreslår to engelske kemikere, A.J.P. Martin og R.L.M. Synge, at benytte gas som den mobile fase [2]. De modtager i 1952 Nobelprisen i Kemi for at have udviklet teorien for fordelingschromatografi. Deres publikation fra 1941 omhandler separation ved benyttelse af princippet LLC (liquid liquid chromatography). Den stationære fase er vandmættet silicagel. Men de påpeger *The mobile phase need not to be a liquid but may be a vapour*. Forfatterne skriver videre *Very refined separations of volatile substances should therefore be possible in a column in which permanent gas is made to flow over gel impregnated with a non-volatile solvent in which the substances to be separated approximately obey Raoult's law*. Teknikken gaschromatografi klassificeret som *elution development* [3] bliver dog først praktiseret i begyndelsen af 1950'erne. E. Cremer et al. publicerer i 1951 om GSC (gas solid chromatography) [4,5] og James and Martin i 1952 om GLC (gas liquid chromatography) [6,7]. De første publikationer med anvendelse af GSC vedrører gasanalyser. Strengt taget bliver GSC allerede omtalt i en disputats af F. Prior (Innsbruck, 1947) [5]. Den ene artikel med GLC bærer titlen *The Separation and Micro-estimation of Volatile Fatty Acids from Formic Acid to Dodecanoic Acid* [7].

Blandt de tidligste forfattere af lærebøger i gaschromatografi bør den hollandske kemiker Keulemans nævnes. Hans bøger udkom på engelsk og tysk i 1950'erne. I anden udgave fra 1959 [3], som vi refererer til, er emnet meget grundigt og udførligt behandlet såvel teoretisk som praktisk.

Den hurtigt voksende interesse for gaschromatografi fik »The Hydrocarbon Research Group of the Institute of Petroleum« til at afholde et symposium i London i 1956 [8], hvor ca. 400 medlemmer fra 13 lande deltog, og 34 papers blev præsenteret. Symposiumet var en stor succes og blev efterfulgt af symposier hvert andet år med forskellige værtslande. Det 7. i rækken blev i 1968 afholdt i København [9], hvor der var ca. 470 deltagere fra mere end 25 lande med præsentation af 31 bidrag. Over 40 forskellige firmaer fremviste deres udstyr.

## Gaschromatografiens succeshistorie

Gaschromatografi kan som så mange andre instrumentelle metoder opdeles i en række deloperationer. I dette tilfælde injektions-, separations- og detektionsdelen. En meget væsentlig del af gaschromatografiens succeshistorie bør tilskrives det forhold, at de nødvendige delelementer meget hurtigt blev udviklet i et omfang, så udstyret fremstod som effektive og følsomme instrumenter, der tilmed var lette at betjene. Det gjorde, at gaschromatografien blev en interessant og relevant metode for et meget bredt forum.

Specielt er det væsentligt at notere sig, at en række detektionsprincipper hurtigt modnedes, eksempelvis flammeioniseringsdetektoren (FID) og elektron-capture detektoren (ECD). Med anvendelsen af FID fik man en rimelig universel detektor med følsomhed i det lave ng's område og stor linearitet. ECD-princippet udmærkede sig ved en endnu større følsomhed og med en selektivitet, der på en gang både er princippet styrke og dets svaghed. Den tidlige introduktion af ECD kan næppe overvurderes, idet dette analytiske værktøj har været af meget stor betydning for etableringen af det miljökemiske fagområde.

Det er interessant at sammenholde udviklingen af gaschromatografien med den noget senere introducerede high performance liquid chromatography (HPLC). Selvom LC allerede var en veletableret teknik ved fremkomsten af gaschromatografi, var det GC, der blev udviklet stærkt i 1950'erne. Først betydeligt senere kom egentlig HPLC. Det er kendetegnende, at udviklingen af HPLC i starten var stærkt begrænset af manglen på egnede kolonnematerialer i den nødvendige kvalitet. For gaschromatografiens vedkommende var der fra starten mulighed for at anvende et bredt spektrum af stationære faser på basis af veldefinerede polymerer. Endvidere var en række adsorbenter til rådighed til analyse af typisk lavmolekylære forbindelser. Det var således muligt nøje at tilpasse kolonne-systemet til den aktuelle opgave.

Det stod hurtigt klart, at selv om utroligt mange opgaver kunne løses direkte, var der også store områder, der lå uden for teknikens rækkevidde, heriblandt undersøgelser af kulhydrater og aminosyrer. Det medførte, at der meget hurtigt udvikledes et nyt kemisk fagområde, nemlig derivatiseringen. Dette havde til følge, at der hastigt udvikledes metoder til derivatisering af selv meget små prøvemængder, således at stofgrupper, der ikke umiddelbart kunne analyseres, blev omdannet til forbindelser med passende damptryk og polaritet. Endvidere udvikledes der til dette formål en lang række reagenser, hvoraf kan fremhæves fluorerede acyleringsreagenser samt en række reagenser baseret på stærkt reaktionsdygtige silylforbindelser. Det er interessant, at mange af disse strategier, som blev udviklet for 30-40 år siden, stadig finder udstrakt anvendelse.

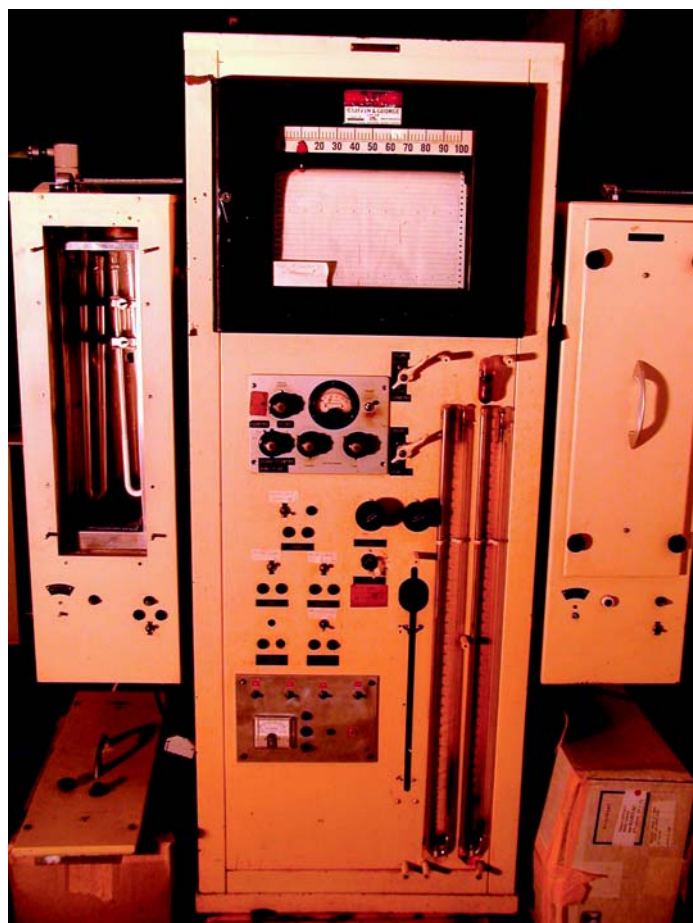
Anvendelseområdet for gaschromatografien rakte vidt - fra analysen af specifikke forbindelser til egentlig multikomponent analyser. Metoden var fra begyndelsen et værdifuldt værktøj til at vurdere kvaliteten af mellemprodukter i den kemiske industri. Gaschromatografi er således blevet anvendt på A/S Grindstedværket (nu Danisco Cultor (Ingredients)) fra slutningen af 1950'erne. Forskningscenter Risø tog ligeledes tidligt metoden i anvendelse, da den første gaschromatograf blev anskaffet i 1961.

### Gaschromatografiens første generation

De første år var naturligvis præget af interessen for at afdække den fysisk-kemiske baggrund for gaschromatografien. Relativt hurtigt blev det klart, at gaschromatografi kunne anvendes til at beskrive forhold i relation til destillation, og området har i betydeligt omfang adopteret fagudtryk mv. fra denne del af den tekniske kemi. Det var naturligvis et område af stor interesse for den kemiske industri. A/S Grindstedværket fremstillede på daværende tidspunkt en imponerende række af komplekse forbindelser, herunder barbiturater, sulfastoffer og en lang række vitaminer. Et kendetegn for produktionen var en usædvanlig stærk basis for kemiske enhedsoperationer, eksempelvis destillation.

Det var derfor naturligt, at A/S Grindstedværket allerede i slutningen af 1950'erne anskaffede en gaschromatograf. Den var fremstillet af Griffin & George, UK og fremstod som en i datidens laboratorier imponant enhed. Dette var den anden gaschromatograf i Danmark; den første blev opstillet på Polyteknisk Lærestanstalt. Gaschromatografen på Grindstedværket havde to uafhængige ovne med tilhørende varmetrædsdetektorer. Disse var placeret som et par markante skuldre på en konsol, der bl.a. rummede en næsten uundgåelig Honeywell kompensationskriver. Selve chromatografien foregik på små U-kolonner af glas, der - hvis separationen var særligt kræven- de - kunne forbindes i serie. Bæregassen blev suget igennem kolonnen vha. en vakuumpumpe anbragt i kælderen. Forbruget af gas var betragteligt, hvorfor der blev anvendt nitrogen. Følsomheden var under disse forhold bestemt ikke imponerende, men der kunne ved påsætning af 10 µL rent stof, detekteres urenheder i promilleområdet.

A/S Grindstedværket fremstillede selv malonsyreestrene til



Figur 1. Danmarks angiveligt gaschromatograf nummer 2. Instrumentet er fra Griffin & George (UK) og opbevares af Danisco Cultor (Brabrand).

MILLIPORE



Da løsningen  
blev synlig

Løsningen til dine forskellige vandrensingsbehov:

En ren vandkvalitet, specifikt tilpasset til dine applikationer.

Hvad enten du arbejder med, Life Sciences, eller miljøanalyser, har behov for pyrogenfrit vand, eller rent vand til sporanalyser.

Et af systemerne af de nye Milli-Q anlæg vil matche dine eksakte ønsker!

For at finde ud af, hvilket af de nye anlæg, der bedst passer til dine behov,

**kontakt os: 70 10 00 23**

**eller email: H2O@millipore.com**

**web site: www.millipore.com/H2O**



Millipore and Milli-Q are registered trademarks of Millipore Corporation.  
© 2001 Millipore Corporation. All rights reserved.





Figur 2. Danmarks første præparative gaschromatograf. Instrumentet er en F&M 770 Autoprep og opbevares ligeledes af Danisco Cultor (Brabrand).

produktionen af barbituraterne. De rå estre bestod af såvel mono- og dialkylestre som af blandede estre. Adskillelsen var dermed en krævende vakuumdestillation. Griffin & George-instrumentet blev i stor udstrækning anvendt til at følge destillationen og har givetvis været med til at sikre produkter af meget høj renhed. Det er en strategi, der nu har været brugt rutinemæssigt i 40 år.

Forskningscenter Risø anskaffede i 1961 sin første gaschromatograf, der blev leveret af det amerikanske firma F&M Scientific. Instrumentet blev brugt til analyser af aromatiske forbindelser af typen biphenyl og terphenyl. Det var i relation til et større projekt i forbindelse med nukleare reaktorer, hvor man undersøgte muligheden for at anvende naturligt uran og organiske kølemedier. Ovennævnte stoffer var mulige kandidater som kølemedier, og deres egenskaber blev derfor undersøgt i temperaturområdet 400-500°C. De termisk inducerede omdannelser blev fastlagt vha. GLC [10]. Den oprindelige detektor var en varmetrådsdetektor; udstyret blev senere suppleret med en FID-detektor. De gaschromatografiske kolonner udgjordes af 1/4" stålrør med en længde på 2-3 m pakket med 20% Apiezon L på Chromosorb. Programmering fra 200 til 300°C blev benyttet, og 10-50 µL acetoneopløsning påført kolonnen. Resultatet var nydelige symmetriske toppe. Det var naturligvis ikke omkostningsfrit at anvende pakke kolonner ved så høje temperaturer, og der gik megen tid med at fremstille pakningsmateriale og kolonner for ikke at tale om rensning af detektorer.

Det var naturligt på Risø at arbejde med radioaktive stoffer. I forbindelse med et studie over »recoil chemistry«, hvor der benyttedes radioaktivt mærkede brom-isotoper, Br-82, blev der fremstillet en GC-detektor til detektering af de radioaktive forbindelser [11]. Detektoren var en scintillationstæller, hvor

de udsendte  $\gamma$ -kvanter under  $\beta$ -henfaldet af Br-82 blev målt. Detektoren, der var skærmet af et blyskjold, blev anbragt efter den gaschromatografiske kolonne umiddelbart uden for ovnen. Derefter fulgte en FID-detektor. Det var således muligt ved samme analyse at bestemme de radioaktivt mærkede forbindelser og de stabile forbindelser. Det kan nævnes, at blyafskærmningen ikke helt forhindrede, at separationen på den spiralførmede kolonne kunne følges ved små udslag, hver gang de radioaktive forbindelser nærmede sig detektoren.

## Gaschromatografiens anden generation

I perioden 1965-70 skete der en markant udvikling af teknikken, og en lang række instrumenter blev markedsført. På Grindstedværket vandt gaschromatografien stort indpas i analysen af mellemprodukter, og ved slutningen af perioden analyseredes årligt ca. 25000 prøver fordelt på ca. 200 typer, heraf adskillige naturligvis beslægtede. Som tidligere nævnt kom der fokus på det miljökemiske aspekt, og det gjaldt naturligvis også på en stor kemisk virksomhed som Grindstedværket. Der etableredes således en systematisk overvågning af tab af opløsningsmidler mv. via afløb. Gaschromatografien var her et nøgleværktøj, da det var muligt at analysere vandprøver direkte. Resultaterne var stærkt medvirkende til, at virksomheden på et tidligt tidspunkt fik styr på miljøbelastningen.

En anden side af gaschromatografien var ligeledes blevet introduceret i nævnte tidsrum, nemlig den præparative gaschromatografi. Grindstedværket anskaffede i august 1964 en F&M 770 Autoprep forsynet med 3/4" stålsøjler. Søjlerne var pakket med 40/60 mesh diatoméjord med 20% stationær fase. Prøvepåføringen kunne enten være manuel eller tidsstyret pneumatisk. Til bæregas valgtes  $N_2$  med 5%  $H_2$  af hensyn til varmeledningsevne og eksplosionsfare med et flow på ca. 1/2 L/minut. Komponentopsamlingen blev styret fra mikroswitche på skriveren kombineret med en komponentselektor. Forbindelserne blev opfanget i kuldefælder, sommetider hjulpet på vej af et elektrisk felt (induktionsspole), idet aerosoldannelse hyppigt kunne hindre en effektiv opsamling. På instrumentet blev der oprenset forbindelser, der indgik i forskellige vitaminsynteser. Århus Universitet nød også godt af hjælp til oprensning af planteekstrakter.

Grindstedværkets aromaafdeling fik eksempelvis i oktober 1965 oprenset en lille synteseblanding (ca. 5 ml) med en vigtig margarine-aromakomponent (*cis*-4-hexen-1-al); der blev isoleret 0,2 ml med renhed på 96,4% (nok til 50 tons margarine). Apparatet var i brug frem til 1971 og blev til slut udstyret med 50 mm<sup>ø</sup> kolonner, der kunne belastes med 5-10 mL prøve pr. cyklus. Cyklustiderne var typisk 3/4 til 1 time. Et problem, der lejlighedsvis optrådte, var forbindelsernes termolabilitet. Dette fænomen samt interessen for komplekse molekyler har nu flyttet store dele af den præparative gaschromatografi over til superkritisk- eller væskechromatografisk teknologi.

Gaschromatografi på dette plan var naturligvis personalekrævende, og laboratorierne var bemandet døgnet rundt. Ligeledes vandt elektronisk databehandling gradvis indpas, og de første elektroniske integratorer så dagens lys. Anvendelsen af gaschromatografi i direkte kombination med andre metoder, eksempelvis massespektrometri blev ligeledes en realitet. Grindstedværket var også på dette felt en frontløber og anskaffede i 1966 et GC/MS-instrument primært til brug i aromaforskningen. Dette er bl.a. omtalt i den historiske gennemgang af massespektrometrien i Danmark [12].

## Gaschromatografi – nu og i fremtiden

Vi markerer med dette indlæg, at gaschromatografien som metode har eksisteret i 50 år. I denne periode er metoden

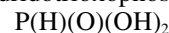
modnet signifikant og fremstår i dag som et usædvanligt robust analytisk værktøj, der på overbevisende måde honorerer de krav, som vor tidsalder stiller til dokumentation af egenskaber og kvalitet. Gaschromatografien spiller således en suveræn rolle i mange analytiske laboratorier. Det er endvidere klart, at gaschromatografien er velegnet til integration med andre analytiske metoder, og vi har i de forløbne årtier set en række frugtbare eksempler herpå. Der er i nutiden en klar interesse i mikro/nano-teknologi, og også på dette område udgør gaschromatografien et lovende koncept. Forfatterne er derfor ganske enige om, at gaschromatografien er en analytisk metode, der også langt ud i fremtiden vil udgøre en vigtig parameter i det analytiske laboratorium.

#### Referencer:

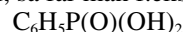
1. M. Tswett; *Ber. dtsch. bot. Ges.*, **24** 316, 384 (1906).
2. A.J.P. Martin and R.L.M. Synge; *Biochem. J.*, **35** 1358 (1941).
3. A.I.M. Keulemans; *Gas Chromatography*. Second Edition. Reinhold Publishing Corporation, New York (1959).
4. E. Cremer and F. Prior; *Z. Elektrochem.*, **55** 66 (1951).
5. E. Cremer and R. Müller; *Z. Elektrochem.*, **55** 217 (1951).
6. A.T. James and A.J.P. Martin; *Analyst*, **77** 915 (1952).
7. A.T. James and A.J.P. Martin; *Biochem. J.*, **50** 679 (1952).
8. *Vapour Phase Chromatography*. Eds. D.H. Deste and C.L.A. Harbourn. Butterworths Scientific Publications, London (1957).
9. *Gas Chromatography 1968*. Eds. C.L.A. Harbourn and R. Stock. The Institute of Petroleum, London (1969).
10. K.A.J. Singer, H. Christensen and E. Larsen; *Atomkernenergie*, **7** 397 (1962).
11. E. Larsen, K.E. Sierkierska and J. Fenger; *J. Gas Chromatography*, **6** 171 (1968).
12. E. Larsen; *Fysisk Tidsskrift*, **84** 162 (1986).

## Nyt om phosphorsyre

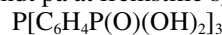
Phosphorsyre er dss. hydridotrioxophosphorsyre



Her kan det hydrogenatom, der er bundet direkte til phosphor substitueres med phenyl, så får man f.eks. phenylphosphorsyre



Terrence L. Schull fandt på at fremstille syren

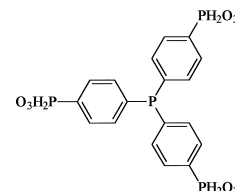


eller rettere dens natriumsalt



se figur.

Det forventes, at anionen i dette salt vil blive en meget studeret kompleks-danner.



Bos

2000: Water soluble triarylphosphines. *Chemical & Engineering News*. 11. september: 29.

## Nyt om fluoran

Fluoran er det samme som hydrogenfluorid (HF). I Singapore er en fabrik, som skal fremstille 20 000 ton fluoran om året, under bygning. Fluoranet skal bruges ved fremstilling af halvledere, flydende krystaller og lithiumionbatterier.

Bos

R. 2001: Singapore gets fluoride plant. *Chemical & Engineering News*. 18. juni: 14.

## Membranfiltrering?

### Så er det Merck EuroLab!

Vi har det største og bredeste program fra verdens bedste producenter:

- Corning
- Nalgene
- Pall Gelman
- Sartorius
- Schleicher & Schuell
- Whatman

Få de bedste mere om vores program!  
 Skriv til: Merck EuroLab A/S  
 DK-2800 Kongens Lyngby  
 Tel. 44 44 44 44 44  
 www.merck-eurolab.dk

