

Apparatteknik aflevering uge 46

november 2008

Opgave 1.

a) *Hvad forstår man ved en splitinjektion, hvad er dødtid, og hvordan bestemmes dødtiden ved GC?*

Splitinjektion betyder at prøvemængde bliver reduceret efter injektion – inden prøven kommer ud i kolonnen – for at undgå overbelastning af kolonnen. Størstedelen af prøven bliver bortkastet i splitventilen.

Dødtiden er retentionstiden for stoffer, der ikke tilbageholdes af kolonnen. Den måles ved at injicere et stof i GC'en, der ikke tilbageholdes af kolonnen og måle retentionstiden.

b) *Beregn splitforholdet.*

$$\text{kolonnevolumen} = \pi \cdot r^2 \cdot \text{længde} = \pi \cdot \left(\frac{1}{2} \cdot 0,030\text{cm}\right)^2 \cdot 1500\text{cm} = 1,06\text{cm}^3 = 1,06\text{mL}.$$

$$\text{Kolonneflow} = \frac{\text{kolonnevolumen (mL)}}{\text{dødtid (min)}} = \frac{1,06\text{mL}}{3,082\text{min}} = 0,3439 \frac{\text{mL}}{\text{min}}.$$

$$\text{splitflow: } 15\text{mL} \sim 26,2\text{sek} \Rightarrow \frac{15\text{mL}}{26,2\text{sek}} \cdot 60 \frac{\text{sek}}{\text{min}} = 34,35 \frac{\text{mL}}{\text{min}}.$$

$$\text{splitforhold} = \frac{\text{kolonneflow} + \text{splitventilflow}}{\text{kolonneflow}} = \frac{0,3439 \frac{\text{mL}}{\text{min}} + 34,35 \frac{\text{mL}}{\text{min}}}{0,3439 \frac{\text{mL}}{\text{min}}} = 100,88 \approx 101.$$

c) *Standarden indeholder 200mg/L af hvert af stofferne. Beregn de relative responsfaktorer for propylethanoat, butylethanoat og pentylethanoat.*

Vi går ud fra, at stoffernes kogepunkt stiger i takt med antallet af C-atomer - derved kommer stofferne ud af GC'en i rækkefølgen ethylethanoat, propylethanoat, butylethanoat og pentylethanoat. Den første top på standarden må dog være en acetonetop.

$$f_{\text{rel}}(\text{propylethanoat}) = \frac{c_x}{c_{\text{IS}}} \cdot \frac{A_{\text{IS}}}{A_x} = \frac{200\text{mg/L}}{200\text{mg/L}} \cdot \frac{35599,60}{38681,20} = 0,9203$$

$$f_{\text{rel}}(\text{butylethanoat}) = 1 \cdot \frac{35599,60}{47567,80} = 0,7484$$

$$f_{\text{rel}}(\text{pentylethanoat}) = 1 \cdot \frac{35599,60}{68827,90} = 0,5172$$

d) *Hviket/hvike stoffer i prøven kan identificeres (svaret skal begrundes ved beregning af tolerancegrænser)?*

Absolut tolerance: 0,01min.

Relativ tolerance: 0,20%

Tolerancegrænserne beregnes med $t \pm$ (absolut tolerance + t ·relativ tolerance) ud fra standarden:

stof	t (min)	tolerance		interval start	interval slut
		abs. tol.	+ t ·rel. tol (min)	t -tolerance (min)	t +tolerance (min)
ethylethanoat:	3,333	0,01	+ 3,333 · 0,002 = 0,01667	3,316	3,350
propylethanoat	3,585		0,01717	3,568	3,602
butylethanoat	4,099		0,01820	4,081	4,117
pentylethanoat	5,116		0,02023	5,096	5,136

Det ses at prøven indeholder ethylethanoat (IS), pentylethanoat og et ukendt stof.

e) Beregn indholdet af det/de identificerede stoffer i sportsdrikpulveret i enheden g/kg.

Den interne standard har koncentrationen $20,0\text{mg}/100\text{mL} = 0,2\text{mg}/\text{mL}$. Koncentrationen af pentylethanoat beregnes:

$$c_{\text{pentylethanoat}} = f_{\text{rel}} \cdot \frac{A_{\text{pentylethanoat}}}{A_{\text{IS}}} \cdot c_{\text{IS}} = 0,5172 \cdot \frac{48977,90}{43420,00} \cdot 0,2\text{mg}/\text{mL} = 0,11668\text{mg}/\text{mL}.$$

Der blev tilsat $1,2965\text{g}$ prøve til 100mL , det vil sige $0,012965\text{g}/\text{mL}$. Herefter fortyndes prøven 2 gange igen, altså til $0,0064825\text{g}/\text{mL} = 6,4825\text{mg}/\text{mL}$.

Der er altså fundet $0,11668\text{mg}/\text{mL}$ pentylethanoat i $6,4825\text{mg}$ prøve, dvs

$$\frac{0,11668\text{mg}}{6,4825\text{mg}} \cdot \frac{10^{-3} \frac{\text{g}}{\text{mg}}}{10^{-6} \frac{\text{kg}}{\text{mg}}} = 17,999 \frac{\text{g}}{\text{kg}} \approx 18,0 \frac{\text{g}}{\text{kg}}.$$

f) Ved hjælp af Kovats index ønskes det afgjort, om stoffet med retentionstiden $5,972\text{min}$ kan være hexylethanoat.

Hexylethanoat ligner de andre stoffer i standarden, og derfor kan det lade sig gøre at bruge Kovats index til at beregne stoffets retentionstid, idet der vil være lineær sammenhæng mellem antallet af C-atomer i stofferne og logaritmen til den reducerede retentionstid.

stof	C-atomer i sidegruppe	t (min)	$t' = t - t_d$ (min)	$\log(t')$
ethylethanoat	2	3,333	0,251	-0,600
propylethanoat	3	3,585	0,503	-0,298
butylethanoat	4	4,099	1,017	0,00732
pentylethanoat	5	5,116	2,034	0,308

Plotter man $\log(t') = f(\text{C-atomer})$, får man en linie med forskriften

$$\log(t') = 0,303232 \cdot (\text{C-atomer}) - 1,206732.$$

Indsætter man 6 (for hexylethanoat) fås $\log(t') = 0,303232 \cdot 6 - 1,206732 = 0,612$. Det svarer altså til en reduceret retentionstid på $t' = 10^{0,612} = 4,094$. Retentionstiden for hexylethanoat burde altså være $4,094\text{min} + 3,082\text{min} = 7,176\text{min}$, så den uidentificerede top er altså ikke hexylethanoat.

Opgave 2.

a) Hvilke to krav stiller man til ekstern standard-metoden? Er der tale om normal fase, omvendt fase eller ionchromatografi (begrund svaret)?

Kravene er, at der skal være linearitet i måleområdet, og der skal injiceres samme mængde for standarder og prøver.

Der er tale om omvendt fase, idet eluenten er mere polær end kolonnen. ODS er nemlig en C18-kolonne.

b) Beregn antallet af teoretiske bunde (N) for lactosetoppen.

2min svarer til 143,4mm.

Bredden af toppen i halv højde er 54mm, så bredden, udtrykt i minutter er:

$$54\text{mm} \cdot \frac{2\text{min}}{143,4\text{mm}} = 0,7531\text{min.}$$

$$N = 5,54 \cdot \left(\frac{t}{b_{0,5}} \right)^2 = 5,54 \cdot \left(\frac{10,978}{0,7531\text{min}} \right)^2 \approx 1177.$$

c) Beregn konc. af fructose, glucose og sucrose i æblemosten i procent.

$$c_{\text{fructose}} = \frac{A_{\text{fructose}}}{A_{\text{std}}} \cdot c_{\text{std}} \cdot \text{FF} = \frac{718784,73}{1106876,76} \cdot 2,5\% \cdot 10 = 16,23\% \approx 16,2\%.$$

$$c_{\text{glucose}} = \frac{498639,40}{1056710,71} \cdot 2,5\% \cdot 10 = 11,80\% \approx 11,8\%.$$

$$c_{\text{sucrose}} = \frac{44399,23}{1123797,73} \cdot 2,5\% \cdot 2 \cdot 10 = 0,9877\% \approx 1,00\%.$$

d) Giv et konkret forslag til, hvordan man kan ændre kørselsbetingelserne så analysetiden nedsættes.

Det ville være en god idé at lave gradienteluering, da de først tre toppe ser fornuftige ud (har en tilpas "spidshed"). For at eluere hurtigere, skal mængden af acetonitril i eluenten øges, så eluenten kommer til at ligne kolonnen mere. Det kunne altså være en ide at ændre eluentsammensætningen til f.eks. acetonitril/H₂O 85/15 efter ca. 4. min.

e) Beregn genfindingsprocenterne for fructose og lactose.

	Ubehandlet kontrolopløsning areal	Behandlet kontrolopløsning areal
Fructose	1,575%	1,232%
Lactose	1,428%	1,108%

Den ubehandlede kontrolopløsning fortyndes 200mL/25,0mL = 8 gange, og den behandlede kontrolopløsning fortyndes 10 gange.

$$\text{genfinding(fructose)} = \frac{10 \cdot 1,232}{8 \cdot 1,575} \cdot 100\% = 97,8\%$$

$$\text{genfinding(lactose)} = \frac{10 \cdot 1,108}{8 \cdot 1,428} \cdot 100\% = 97,0\%$$