

ONTWIKKELING VAN INSTRUMENTASIE VIR OMVATTENDE TWEEDIMENSIONELE GASCHROMATOGRAFIE

deur

TERTIA SNYMAN

Proefskrif ingelewer vir die graad

Doktor in die Wysbegeerte

aan die

Pectora roburant cultus recti

Universiteit van Stellenbosch

Promotor: Prof. B.V. Burger

Medepromotor: Dr. M. le Roux

Stellenbosch

November 2001

VERKLARING

Ek, die ondergetekende, verklaar hiermee dat die werk in hierdie proefskrif vervat my eie oorspronlike werk is en dat ek dit nie vantevore in die geheel of gedeeltelik by enige universiteit ter verkryging van 'n graad voorgelê het nie.

T. SNYMAN

OPSOMMING

Volledige skeiding van die verbindings in 'n komplekse mengsel is selfs met kapillêre gaschromatografie nie altyd moontlik nie. Oor die afgelope paar dekades is verskillende tweedimensionele gaschromatografiese tegnieke ontwikkel om hierdie probleem te bowe te kom en redelik onlangs is 'n tegniek bekend gestel wat as omvattende tweedimensionele gaschromatografie bekend staan en wat die piekkapasiteit van 'n kapillêre gaschromatografiese skeiding teoreties met sowat twee ordegroottes kan verhoog. Hierdie tegniek berus op die aanwending van die verskillende skeidingsmeganismes van twee chromatografiese kolomme wat aan mekaar gekoppel word en waardeur verbeterde skeiding van komplekse mengsels verkry kan word. Hierdie tegniek kan egter slegs as omvattende tweedimensionele gaschromatografie beskou word as die analiete wat van die primêre kolom elueer volledig na die sekondêre kolom oorgedra word in die vorm van skerp gedefinieerde monsterpulse, byvoorbeeld deur fokussing van analiete. Fokussing van die analiete kan verkry word deur die eluaat van die primêre kolom te immobiliseer in 'n kort kapillêr tussen die twee kolomme waarna dit as 'n skerp puls op die sekondêre kolom ingelaat kan word deur die kapillêr, wat dus as modulator dien, vinnig, dit wil sê binne breuke van 'n sekonde, te verhit. Hierdeur word optimum skeiding in die sekondêre kolom verseker asook die onafhanklikheid van die retensietye van verbindings op die twee kolomme.

In hierdie projek is gebruik gemaak van 'n modulator wat bestaan uit 'n kapillêr (modulorkapillêr) belaag met 'n dik laag van 'n apolêre stasionêre fase om die analiete te immobiliseer. Die kapillêr is in 'n vlekvrystaalbuis (verhitter) geplaas wat in 'n aantal gelyke segmente verdeel is (maksimum van 10) en die segmente is vinnig opeenvolgend verhit om die analiete vanaf die inlaat- na die uitlaatkant van die modulator uit die stasionêre fase in die kapillêr te desorbeer en as 'n skerp gefokusseerde puls na die sekondêre kolom oor te dra. In 'n tipiese analise sou elkeen van die segmente van 'n 10-segment verhitter, byvoorbeeld, binne 200 millisekondes tot 'n temperatuur 50°C hoër as die temperatuur van die gaschromatograafoond (50°C verhittingsinkrement) verhit word, waarna die betrokke segment toegelaat word om oombliklik tot die oondtemperatuur af te

koel. Na verhitting van die laaste segment volg 'n wagtyd van, byvoorbeeld, twee sekondes om analiete wat uit die primêre kolom elueer toe te laat om in die modulorkapillêr gesorbeer te word waarna die siklus herhaal word tot die einde van die analise.

Om verskeie redes is besluit om die segmente elektries te verhit deur verkieslik hoë stroomsterktes van tussen 1 en 20 Ampere te gebruik in plaas daarvan om van hoë spannings gebruik te maak. 'n Gerekenariseerde kragbron is ontwikkel wat dit moontlik gemaak het om enige kombinasie van verhittingstyd per segment tussen 10 en 2500 millisekondes, wagtye van 100 millisekondes tot 100 sekondes tussen verhittings en temperatuurinkremente van 100°C en selfs hoër met bevredigende presisie en hoë reproduseerbaarheid vir omvattende tweedimensionele gaschromatografiese skeidings te gebruik.

Ondersoek is ingestel na die effektiwiteit van fokussing wat verkry word deur verhitters met verskillende getalle segmente, modulorkapillêre met verskillende binnedeursnitte, verskillende verhittingsinkremente, asook verskillende tempo's waarteen die modulorkapillêr verhit word, te gebruik. Die beste resultate is verkry met 8- en 10-segment verhitters, 'n modulorkapillêr met 0.2 mm binnedeursnit, 'n verhittingsinkrement tussen 50°C en 100°C en 'n verhittingsiklus bestaande uit 'n twee sekonde totale verhittingstyd gevolg deur twee tot drie sekondes wagtyd voor die volgende siklus begin.

'n Ligte aardolie-fraksie is gekies as die eerste monster vir die evaluering van die omvattende tweedimensionele sisteem wat ontwikkel is. In hierdie stadium van die projek is die invloed van verskillende parameters soos die gemiddelde vloeisnelheid van die draergas, die temperatuurprogram, asook die lengte van die sekondêre kolom ondersoek. Daar is gevind dat verandering van een parameter, byvoorbeeld die lengte van die sekondêre kolom, die heroptimering van die ander parameters vereis. Die konsentrasie van die monster het ook 'n bepalende invloed op die parameters wat 'n optimum skeiding van verbindings lewer. 'n Lae konsentrasie mag 'n hoër vloeï, vinniger

temperatuurprogram of heelwat langer wagtyd vereis om bevredigende fokussering van die analiete te verkry, terwyl 'n te hoë konsentrasie tot deurbraak van die analiete in die modulorkapillêr kan lei.

Die tweedimensionele gaschromatografiese sisteem is ook aan 'n kwadрупool-massaspektrometer gekoppel en analise van 'n aardolie-monster het massaspektra van verbasende goeie kwaliteit gelever ten spyte van die hoë skandeerspoed wat deur die baie smal gaschromatografiese pieke wat deur die sisteem geproduseer word, vereis word. Die tweedimensionele sisteem wat ontwikkel is, stel klaarblyklik 'n koste-effektiewe alternatief daar vir die enkele ander sisteme wat deur ander navorsingsgroepe ontwikkel is en waarin van ander modulortipes gebruik gemaak word.

Een oorblywende probleem is egter die onbevredigende sinchronisasie van die tydhousisteme van die kragbron en die rekenaar waarmee die data versamel word. Hoewel uiters gering, bring die verskil in tydsmeting van die twee komponente mee dat sekere sagtewarepakette nie vir die tweedimensionele voorstelling van die data gebruik kan word nie. Van verskillende moontlike oplossings vir hierdie probleem, sal die herontwerp van die beheerstelsel van die kragbron eerste ondersoek word.

'n Belangrike oorweging in die ontwikkeling van die huidige sisteem was om 'n modulator sonder bewegende dele te ontwikkel wat sonder moeite in enige gaschromatograaf geïnstalleer sou kon word. Daar is dus nie voorsiening gemaak vir die installering van die twee kapillêre kolomme en die modulator in afsonderlik temperatuurprogrammeerbare kompartemente in die gaschromatograafvoond nie. Gedurende die ondersoek het dit egter geblyk dat die parameters wat bevredigende resultate lewer, as gevolg van hierdie ontwerpskriterium, tussen redelike nou grense lê. Die mees beperkende faktor is die feit dat die modulator nie benede die oondtemperatuur afgekoel kan word nie. 'n Eenvoudige oplossing vir hierdie probleem is afkoeling van die modulator tot 'n geskikte selekteerbare temperatuur benede dié van die gaschromatograafvoond met druklug waarvan die vloei met behulp van 'n rekenaarbeheerde klep geprogrammeer kan word. Aangesien hierdie ontwikkeling buite

die bestek van die huidige ondersoek geval het, is die idee nie geïmplementeer en volledig geëvalueer nie. Voorlopige eksperimente waarin die lugvloei meganies beheer is, is wel suksesvol uitgevoer. 'n Prototipe van 'n geskikte onderdeel waarin die modulator afgekoel word, is vervaardig en die massavloei regulerende klep, beheer-eenheid en sagteware sal eersdaags in gebruik geneem word.

SUMMARY

Even capillary gas chromatography does not always give complete separation of the components of complex mixtures. During the last few decades several two-dimensional gas chromatographic techniques were developed to circumvent this problem and towards the end of the previous century, a technique that became known as comprehensive two-dimensional gas chromatography, was introduced with which the peak capacity of capillary gas chromatography could be increased by at least two orders of magnitude. This technique is based on utilizing different separation mechanisms of two coupled chromatographic columns to get a better separation of complex mixtures than would be possible with the individual columns. To be classified as comprehensive two-dimensional gas chromatography, the analytes eluted from the first or primary column must all be transferred to the second column as sharp sample pulses by, for example, focusing of analytes. Focusing of the analytes can be achieved by trapping or immobilizing the analytes in a short capillary tube that serves as a connection between the two columns, after which the trapped material is released as a sharp pulse into the secondary column by rapidly, i.e. within a fraction of a second, heating this capillary which therefore serves to modulate the effluent from the primary column. This ensures optimum separation on the secondary column and the independence of retention times of the analytes on the two columns.

A modulator consisting of a capillary (modulator capillary) coated with a thick film of an apolar stationary phase was used in the present project to immobilize or trap the analytes. This capillary was housed in a stainless-steel tube (heater) which was subdivided into a number of segments of equal lengths (maximum of 10). These segments were heated sequentially to desorb the analytes from the inlet end of the modulator to its outlet end at such a rate as to generate and transfer a sharply focused analyte pulse into the secondary column. In a typical analysis each of the 10 segments of a 10-segment heater would, for example, be heated to a temperature 50°C higher than that of the gas chromatograph's oven (50°C temperature increment) within 200 milliseconds, after which each segment would be allowed to immediately cool down to the temperature of the oven. After the

last segment had been heated, a pause of, for example, two seconds followed to allow analytes to be trapped in the modulator capillary after which the cycle was repeated until the analysis had been completed.

For several reasons, heating the segments resistively by using a current of between 1 and 20 Ampere was preferred to the application of high voltages. A computer controlled power supply was developed with which any combination of duration of the energizing pulses of the segments from 10 to 2500 milliseconds, pause times from 100 milliseconds to 100 seconds and temperature increments of 100°C or higher could be used with acceptable precision and high reproducibility in comprehensive two-dimensional gas chromatographic analyses.

The effectivity of the focusing that can be achieved with heaters having different numbers of segments, modulator capillaries with different inside diameters, different heating increments, as well as different rates at which the modulators are heated, were investigated. The best results were obtained with heaters having 8 and 10 segments, a modulator capillary with an inside diameter of 0.2 mm, a heating increment between 50°C and 100°C, and a heating cycle composed of a total heating time of two seconds followed by a pause time of two to three seconds before the next cycle is started.

A light petroleum oil fraction was used in a preliminary evaluation of the comprehensive two-dimensional system that was developed. At this stage of the project the influence of various parameters such as the average carrier gas velocity, the temperature program and the length of the secondary column was investigated. It was found that changing one parameter required the re-optimization of the other parameters. The concentrations of the sample also had a marked influence on the parameters that had to be used to achieve optimum results. A low sample concentration appeared to require a higher carrier gas velocity, a higher temperature-programming rate or considerably longer pause times to achieve satisfactory focusing of analytes, whereas too high a concentration resulted in breakthrough of the analytes from the modulator capillary.

The two-dimensional gas chromatographic device was also interfaced to a quadrupole mass spectrometer. A GC-MS analysis of a petroleum oil sample gave mass spectra of surprisingly good quality in spite of the high scanning speed that was required by the sharp constituent peaks produced by the gas chromatographic component of the system. The two-dimensional system that was developed therefore appears to offer a cost-effective alternative to other systems that have been developed elsewhere in which other modulation mechanisms are used.

One remaining problem that still has to be solved is the unsatisfactory synchronization of the timing device of the power supply with that of the computer on which data are accumulated. Although the difference in timing may seem negligible, the result is that certain software packages cannot be used for the two-dimensional visualization of the data. Of several possible solutions to the problem, redesigning the control circuitry of the power supply will be the first option to be explored.

An important consideration in the development of the system was to avoid having moving parts so that the modulator could be installed in any gas chromatograph without requiring structural alterations to the instrument. No provision was therefore made to install the two columns and the modulator in separate temperature-programmable compartments in the oven of the gas chromatograph. During the evaluation of the present system it was, however, found that the parameters which gave acceptable results were confined to rather narrow limits. Not being able to cool the modulator to temperatures below that of the oven was found to be the most important limiting factor. A simple solution to this problem is to cool the modulator to a selected suitable temperature below the oven temperature with compressed air, the flow of which is regulated by a computer controlled mass flow regulator to maintain the same increment below the oven temperature right through an analysis. As this development was considered to be outside the scope of the present project, this idea was not implemented and evaluated. However, successful exploratory experiments were done in which the flow was mechanically regulated. A prototype of the component in which the modulator can be cooled was built and the mass flow regulator, control unit and software will be commissioned shortly.

BEDANKINGS

Hiermee wil ek my opregte dank en waardering aan die volgende persone en instansies uitspreek:

- Prof. B.V. Burger, vir onvoorwaardelike hulp en leiding in die navorsing.
- Dr. M. le Roux, vir ondersteuning en proeflees van die tesis.
- Mev. W.J.G. Burger, vir die maak van kolomme en motivering.
- Michelle Carstens, vir hulp tydens die projek.
- Mnr. W.F van Rooyen en sy span, vir hul onmisbare bydraes.
- Dr. B. Hopkins, vir ontwikkeling van sagteware.
- Mnre. Gauernack en Botha, vir hulp met meganiese werk.
- Mnr. R. Wright, vir sy belangstelling en hulp.
- Mnr. Ward, vir glasblaaswerk.
- Sasol, SNO en Harry Crossley, vir finansiële ondersteuning.
- Al my kollegas in die laboratorium, vir hulle motivering en belangstelling.
- Ma en sussa, vir hulle geduld en belangstelling.
- Jacque wat my nie laat opgee het nie.

INHOUDSOPGAWE

HOOFSTUK 1

| | |
|--------------|---|
| INLEIDING | 1 |
| Doelstelling | 4 |
| Verwysings | 7 |

HOOFSTUK 2

| | |
|---|----|
| TWEEDIMENSIONELE SKEIDINGSMETODES | 8 |
| Omvattende Tweedimensionele Gaschromatografie | 42 |
| Verwysings | 52 |

HOOFSTUK 3

| | |
|---|----|
| INSTRUMENTELE ONTWIKKELING | 55 |
| Afkoeling van die Modulator | 56 |
| Bepaling van die Temperatuur van die Modulator | 58 |
| Sorbering van Analiete in die Modulatorkapillêr | 59 |
| Desorbering van Analiete in die Modulatorkapillêr | 64 |
| Verwysings | 83 |

HOOFSTUK 4

| | |
|--|-----|
| MODULERING | 84 |
| Modulatorkapillêr met Binnedeursnit 0.2 mm | 85 |
| Modulatorkapillêr met Binnedeursnit 0.1 mm | 98 |
| Verwysings | 103 |

| | |
|---|-----|
| HOOFSTUK 5 | |
| TWEEDIMENSIONELE GASCHROMATOGRAFIE | 104 |
| Sekondêre Kolom met Binnedeursnit 0.2 mm | 104 |
| Sekondêre Kolom met Binnedeursnit 0.1 mm | 109 |
| HOOFSTUK 6 | |
| GC x GC-MS | 122 |
| HOOFSTUK 7 | |
| EKSPERIMENTEEL | 131 |
| Instrumentele Ontwikkeling | 131 |
| Afkoeling van die modulator | 131 |
| Vervaardiging van die termokoppels | 132 |
| Vervaardiging van die modulorkapillêr | 133 |
| Vervaardiging van vlekvrêe staal verhitters | 134 |
| Verhitting van modulators | 136 |
| Modulering | 138 |
| Tweedimensionele Gaschromatografie | 145 |
| GC X GC-MS | 148 |
| Verwysings | 150 |
| HOOFSTUK 8 | |
| VOORUITSIGTE | 151 |
| ADDENDUM A | 155 |

HOOFSTUK 1

INLEIDING

Gaschromatografie het vinnig die belangrikste skeidingsmetode geword vir die analise van komplekse mengsels van vlugtige organiese verbindings. Die hoofrede vir die sukses van die metode is die selektiwiteit, sensitiwiteit en akkuraatheid waarmee die bepaling van komponente van sulke mengsels uitgevoer kan word. Die vooruitgang van gaschromatografie kan onder andere daaraan toegeskryf word dat 'n gaschromatografiese sisteem uit 'n aantal interafhanklike komponente bestaan. Verbetering van een van die komponente van die sisteem het meestal tot verdere ontwikkeling van die ander komponente van die sisteem gelei. Die aanwending van 'n kolom wat beter skeidings lewer, vereis byvoorbeeld die ontwikkeling van 'n detektor met 'n kleiner dooie volume en 'n meer effektiewe inlaatsisteem, wat dit vervolgens weer moontlik sou maak om selfs 'n nóg beter kolom te gebruik. Hierdie situasie het tot voortdurende vooruitgang van die tegniek gelei.

Aanvaarding van nuwe ontwikkelinge in gaschromatografie deur die wetenskaps-gemeenskap het egter stadig plaasgevind. Dekades nadat kapillêre kolomme teen redelike lae pryse kommersieel beskikbaar geraak het, word gepakte kolomme nog steeds in sekere laboratoria gebruik, terwyl die gebruik van kapillêre kolomme tyd en koste sou kon bespaar. Een moontlike rede hiervoor kan die mens se weerstand teen verandering wees, hoewel navorsers normaalweg nie in beginsel teen vooruitgang gekant is nie. Gelukkig word gevorderde gaschromatografiese tegnieke wat vroeër net deur spesialiste gebruik is, tog toenemend in analitiese laboratoria aanvaar.

Dit is egter ook in die aard van die meeste analitici om die verbeterde skeidingsvermoë van 'n kolom as 'n uitdaging te beskou om steeds meer komplekse mengsels daarmee te probeer skei. Omdat dit natuurlik nie moontlik is om die skeidingsvermoë van gaschromatografiese kolomme onbeperk te verbeter nie, het analitici na ander metodes

gesoek om oorvleuelende pieke in gaschromatogramme te analiseer en te kwantifiseer. Een metode wat in sekere gevalle aangewend kan word, is die gebruik van selektiewe detektors. Indien twee komponente koëlueer en 'n detektor word gebruik wat net die komponent waarin belang gestel word waarneem, is dit vanselfsprekend nie nodig om die twee komponente te skei nie. Onder sekere omstandighede kan koëluerende komponente ook byvoorbeeld met behulp van geskikte massaspektrometriese tegnieke gekwantifiseer word indien 'n massaspektrometer as detektor aan 'n gascromatografiese kolom gekoppel sou word (GC-MS) en die massaspektra van die verbindings voldoende verskil. Deur 'n monster agtereenvolgens met behulp van bepaalde universele en selektiewe detektors te analiseer of deur die detektors in parallel te gebruik, kan die probleem van onvolkome resolusie van pieke van verskillende verbindingstipes dus in sommige gevalle opgelos word. Daar is vandag 'n wye verskeidenheid gaschromatografiese detektors beskikbaar, maar die meeste is egter nie in algemene gebruik nie. Die vlamionisasiedetektor word waarskynlik die meeste gebruik, terwyl verskillende massaspektrometertipes ook toenemend veld wen. Die volgende detektore word ook redelik algemeen in goed toegeruste laboratoria gebruik:

- warmtegeleidingsvermoëdetektor (universele detektor)
- elektronvangsdetektor
- stikstof-fosfordetektor
- fotometriese detektor
- fotoïonisasiedetektor
- atoomemissiedetektor
- infrarooispektroskopiese detektor

Die belangrikste mikpunt in die optimering van die effektiwiteit van chromatografiese skeidings is die verbetering van die resolusie van spesifieke komponente in 'n monster. Schomburg het vroeër reeds die gebruik van temperatuurprogrammering, vloeiprogrammering en kolomskakeling met terugspoeling voorgestel om meer effektiewe skeiding van verbindings met wyd uiteenlopende vlugtigheede te verkry¹. Volgens hom kan die drie tegnieke afsonderlik of gekombineerd aangewend word. Vandag word temperatuurprogrammering algemeen gebruik.

Ontwikkeling van nuwe inlaattegnieke, bv. direkte inlaat op die kolom en verdeelde-onverdeelde inlaat, die gebruik van kapillêre kolomme met kruisgebonde stasionêre fases en die ontwikkeling van rekenaars met geskikte sagteware vir die verwerking van data, het dit ook moontlik gemaak om spooranalises van sommige komplekse mengsels en termies sensitiewe verbindings te doen.

Ten spyte van al die verbeteringe wat hier genoem is, kom analitici nog steeds voor skeidingsprobleme te staan wat nie met die bogenoemde tegnieke en tegnologie opgelos kan word nie. Dit is dié onvermoë van die bestaande gaschromatografiese sisteme om effektiewe skeiding van komplekse mengsels te lewer, wat aanleiding gegee het tot die ontwikkeling van tweedimensionele gaschromatografie wat ook onder die akronieme GC x GC, TD GC en 2D GC bekend staan.

DOELSTELLING

In die Laboratorium vir Ekologiese Chemie aan die Universiteit van Stellenbosch (LECUS) is een van die hoofaktiwiteite die skeiding en analise van soogdierferomone. Die meeste van die afskeidings wat van die diere verkry word is egter te kompleks om volledig met eendimensionele gaschromatografie te skei. Die aanwending van kapillêre kolomme wat met verskillende stasionêre fases belaag is, die aanwending van selektiewe detektors in byvoorbeeld GC-MS en GC-IR analyses, hoë-resolusie GC-HRMS, asook die derivatisering van die totale natuurlike ekstrakte met die oog op afleidings wat uit die massaspektra of die relatiewe retensietydverskuiwings van die resulterende derivate gemaak kon word, het wel bygedra tot die identifikasie van talle van die komponente van die mengsels, maar het meestal 'n geweldige volume data gelewer wat soms baie verwarrende inligting bevat het. Die rede hiervoor lê tot 'n sekere mate in die feit dat 'n groot piek in 'n gaschromatogram nie noodwendig 'n hoofkomponent verteenwoordig nie, maar wel 'n mengsel van komponente. Indien 'n ander stasionêre fase dus gebruik word kan dit moeilik wees om die verandering in die retensietyd van die betrokke komponente te bepaal. Hierdie tipe probleem het dus die behoefte aan 'n tweedimensionele gaschromatografiese tegniek geskep. Verkieslik sou so 'n nuwe tweedimensionele skeidingstegniek met GC-MS koppeling versoenbaar moes wees om die identifikasie van die komponente van komplekse mengsels te vergemaklik. In Hoofstuk 2 word 'n oorsig gegee van die ontwikkeling van verskillende tweedimensionele sisteme, onder andere van besonder gesofistikeerde omvattende tweedimensionele sisteme.

Omvattende tweedimensionele gaschromatografie genereer geweldige hoeveelhede data en vereis dus die gebruik van gesofistikeerde sagteware. Indien die sisteem met 'n massaspektrometer gekoppel moet word, is 'n vlugtydmassaspektrometer nodig wat hoë kostes meebring. Die onvermydelike gevolg is dus dat slegs navorsingslaboratoria van kapitaalkragtige maatskappye en institute hierdie tipe instrumentasie tans kan bekostig. Die situasie word verder gekompliseer deurdat omvattende tweedimensionele gaschromatografie baie effektief deur 'n patent gedek word. Sover bekend is daar tans net een maatskappy wat 'n omvattende tweedimensionele sisteem op die mark het en die

koste verbonde aan die verkryging van vervaardigingsregte is so hoog dat dit onwaarskynlik is dat ander maatskappye die risiko sal wil loop om in hierdie stadium groot beleggings op hierdie gebied te maak. Die patent, die gevolglike hoë prys van die instrumentasie en die gebrek aan kompetisie tussen vervaardigers kan, soos in die geval van die ontwikkeling van kapillêre kolomme, die gevolg hê dat die verdere ontwikkeling van die tegniek ernstig aan bande gelê word. Die doel van hierdie ondersoek is dus om 'n sisteem te ontwikkel wat dit in die eerste plek moontlik sal maak om die komplekse eksokriene afskeidings van soogdiere meer effektief te ondersoek deur onder andere 'n konvensionele kwadрупoolmassaspektrometer met 'n omvattende tweedimensionele gaschromatografiese sisteem te koppel. 'n Verdere doelstelling is om 'n omvattende tweedimensionele sisteem te ontwikkel wat in enige gaschromatograaf geïnstalleer kan word sonder dat strukturele veranderings vereis word. 'n Verdere doelstelling is om 'n sisteem te ontwikkel wat so eenvoudig as moontlik is en dit só te beskryf dat dit binne enkele weke deur 'n fynmeganiese werkswinkel, waartoe 'n laboratorium toegang mag hê, vervaardig kan word.

In omvattende tweedimensionele gaschromatografie word van komponentverrykingstegnieke, verhitting en fokussering gebruik gemaak. Die verrykingstegniek behels die vasvang van komponente in 'n modulatorbuis of -kapillêr wat uit die laaste gedeelte van die primêre kolom, of die eerste gedeelte van die sekondêre kolom of 'n addisionele kapillêr tussen hierdie twee kolomme, kan bestaan. Aangesien verskeie probleme deur navorsers ondervind is met die verhitting van die modulatorbuis om die materiaal wat in die dikker laag stasionêre fase vasgevang is as 'n nou band na die sekondêre kolom oor te dra, is besluit om die fokussering van die materiaal te bewerkstellig sonder om van die vee-tegniek² (Hoofstuk 2) wat deur ander navorsers ontwikkel is, gebruik te maak ten einde enige bewegende dele in die gaschromatografiese oond te vermy.

Hoewel bewegende dele in die gaschromatograaf ongewens is, is die fokussering van die vlugtige materiaal wat met desorbering deur middel van die vee-tegniek gepaard gaan, 'n besonder gewenste eienskap van sommige van die bestaande tweedimensionele sisteme. Die ontwikkeling van 'n sisteem waarmee moontlik minstens 'n vergelykbare fokussering

van die vlugtige materiaal verkry kan word sonder om van bewegende dele gebruik te maak, is beoog.

Aangesien daar geen moontlikheid bestaan het dat 'n vinnige vlugtydmassaspektrometer vir die analise van die eksokriene afskeidings van soogdiere beskikbaar sou wees nie, sou die relatief stadige kwadрупoolmassaspektrometer 'n beperkende faktor wees. Dit is egter in hierdie verband nodig om in gedagte te hou dat die sisteem vir die analise van komplekse semiochemiese afskeidings gebruik sou word en dat hierdie mengsels nie naastenby so kompleks soos byvoorbeeld natuurlike petroleummengsels is nie. 'n Laaste doelstelling van die ondersoek is om ten minste enkele GC x GC-MS analyses van aardolie-monsters uit te voer ten einde vas te stel of die beoogde tweedimensionele sisteem aanvaarbare resultate sou kon lewer, of dit suksesvol met 'n tafelmodel kwadрупoolmassaspektrometer gekoppel kan word en aan watter beperkinge so 'n sisteem onderworpe sou wees.

VERWYSINGS

1. G. Schomburg en F. Weeke, Gas Chromatography 1972, red. S.G. Perry, Applied Science Publishers, Barking, (1973), p. 285 – 294.
2. J.B. Phillips, R.B. Gaines, J. Blomberg, F.W.M. v.d. Wielen, A. Dimandja, V. Green, J. Granger, D. Patterson, L. Racovalis, H. de Geus, J. de Boer, P. Haglund, J. Lipsky, V. Sinha en E.B. Ledford, Jr., J. High Resol. Chromatogr. **22**, 3 – 10 (1999).

HOOFSTUK 2

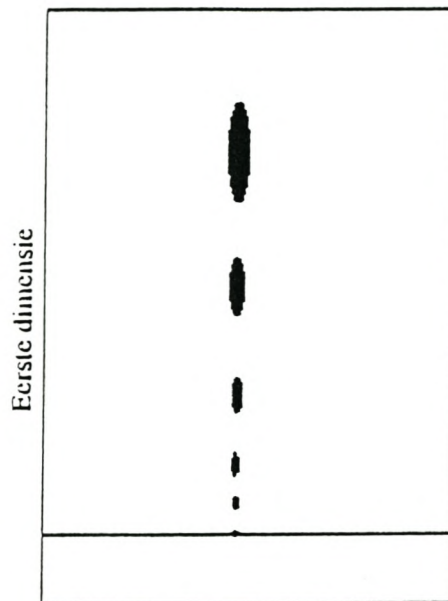
TWEEDIMENSIONELE SKEIDINGSMETODES

Tweedimensionele papierchromatografie, wat reeds vir meer as vyf dekades gebruik word, bestaan daaruit dat 'n mengsel van verbindings eers met 'n bepaalde mobiele fase langs die een as van 'n vel papier gechromatografeer word (eerste dimensie) waarna die mobiele fase toegelaat word om te verdamp en die (moontlik) onvolledig geskeide komponente met 'n ander mobiele fase langs die ander as van die papier gechromatografeer word (tweede dimensie). Vir diskrete skeiding word 'n klein monster aangewend by 'n punt, gewoonlik 'n rand of hoek, van die tweedimensionele bed. Goeie skeiding kan verkry word selfs as daar oorvleueling langs elkeen van die afsonderlike asse voorkom.

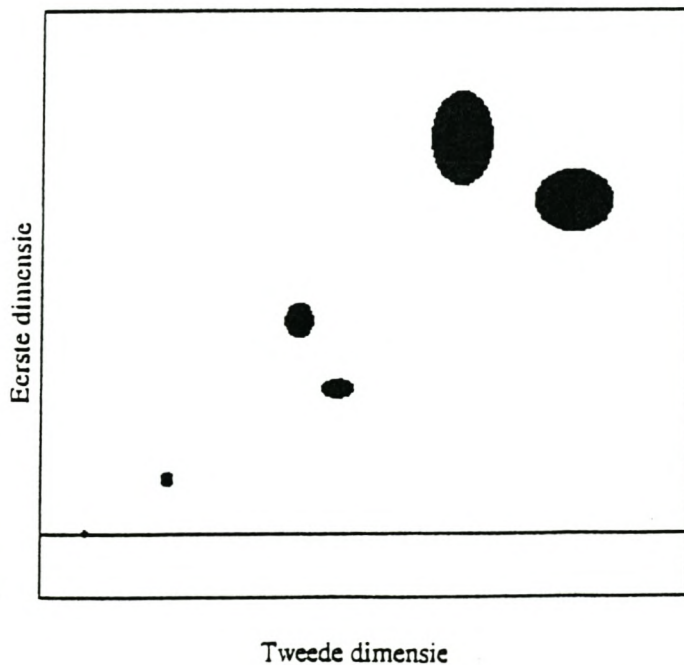
As gevolg van diffusie en ander prosesse word die aanvanklike sone of kol waarin die mengsel van verbindings op die papier aangebring is, groter hoe langer die skeiding in een dimensie verloop en hoe verder die komponente beweeg. As gevolg hiervan kan slegs 'n beperkte aantal verbindings volkome in een dimensie geskei word (Figuur 2.1). 'n Skeiding in twee dimensies verhoog dus die kapasiteit van die metode om meer komponente te skei (Figuur 2.2). Die verhoogde resolusie word verkry as gevolg van die groter, tweedimensionele ruimte wat beskikbaar is vir die verspreiding van sones. As die kolle op die papier as Gausvormige pieke voorgestel word, kan dus gesê word dat tweedimensionele papierchromatografie 'n hoër piekkapasiteit (die maksimum aantal pieke wat in die beskikbare ruimte sal inpas) lewer as die eendimensionele variant daarvan.

In gaschromatografiese omgewings-analises, onder andere, word komplekse mengsels verkry waarvan die individuele komponente as gevolg van die beperkte piekkapasiteit en

selektiwiteit van bestaande sisteme, nie behoorlik met behulp van eendimensionele gaschromatografie geskei kan word nie. Met 'n toename in die aantal komponente in 'n monster is 'n groter mate van piekoovertuening ter sprake, en die aantal sistematiese foute wat kan intree, neem toe.



Figuur 2.1: Voorstelling van eendimensionele papierchromatografie.



Figuur 2.2: Voorstelling van tweedimensionele papierchromatografie.

Tweedimensionele tegnologie steun op die tegnieke (boublokke) van eendimensionele skeidingsmetodes wat reeds beskikbaar is. Die ontwikkeling van tweedimensionele skeidings gaan om die effektiewe kombinasie van verskillende boublokke, terwyl navorsing op eendimensionele metodes op die verbetering van die boublokke self konsentreer. Moderne gaschromatografie met kapillêre kolomme is 'n hoogs ontwikkelde boublok vir tweedimensionele metodes as gevolg van die hoë effektiwiteit van die tegniek wat nog hoër piekkapasiteite moontlik maak as twee selektiewe chromatografiese boublokke gebruik word. Indien die piekkapasiteit van die betrokke eendimensionele sisteem n is, kan die piekkapasiteit van 'n tweedimensionele sisteem ongeveer n^2 wees¹. Aangesien die effektiwiteit van 'n skeidingsmetode gemeet word aan die piekkapasiteit², neem die effektiwiteit van die metode dus vermenigvuldigend toe met die toename in die getal dimensies. Giddings het in 1984 die teorie, aanwendingsveld en beperkings van tweedimensionele metodes in chromatografie bespreek¹.

Een van die hoofdoelwitte van optimering van chromatografiese skeidings is die verbetering van die resolusie van sekere komponentgroepe van 'n analitiese monster en die gevolglike meer suksesvolle analitiese toepassing van chromatografie. Die doelstellings van multidimensionele gaschromatografie kan soos volg uiteengesit word:

1. Verhoogde piekkapasiteit, veral in die analise van monsters wat uit 'n groot aantal komponente bestaan.
2. Hoë resolusie vir isomere en enantiomere indien 'n kolom met spesiale selektiwiteit as die sekondêre kolom gebruik word. Hoogs selektiewe kolomme kan slegs suksesvol aangewend word met nou eluaatsnitte wat 'n beperkte aantal komponente bevat. Chirale skeidings moet veral uitgevoer word met hoogs effektiewe kapillêre chirale kolomme om sodoende die optimum enantioselektiwiteit te kombineer met hoë effektiwiteit.
3. Korter analisetye kan verkry word deur snitte uit 'n voorafskieding van baie komplekse mengsels in die tweede skeidingsstelsel onder geoptimeerde toestande met hoë resolusie en sein-tot-geraas verhoudings te chromatografeer. Op preparatiewe skaal moet multidimensionele gaschromatografiese skeidings met

kolomme met 'n hoë stasionêre fase-belading en ooreenkomstig hoër monsterkapasiteit aangewend word. Kort analysesiklusse vir geselekteerde piekgroepe is slegs moontlik indien komponente met veel laer vlugtighele verhoed word om die hoofkolom te bereik. Matrikskomponente met lae vlugtighele en ooreenkomstig hoë retensietye moet dus verwyder word deur byvoorbeeld terugspoeling vanaf die kort primêre kolom.

4. Verbeterde bepaling van spoorkomponente wat naby aan die pieke van oplosmiddels of hoofkomponente elueer deur kernsnitte (*heart cuts*)³ te analiseer.
5. Vermydning van hoë kolomtemperature vir die eluering en/of uitskakeling van minder vlugtige komponente wat nie van belang is vir die analise nie, deur kort primêre kolomme en/of terugspoeltegnyke te gebruik.

Buiten die kombinasie van totaal verskillende eendimensionele skeidingsmetodes soos byvoorbeeld elektroforese (EF) en isoëlektriese fokussing (IEF) om 'n tweedimensionele metode (EF x IEF) te lewer, kan die kombinasie van kolomchromatografiese tegnyke soos adsorpsiechromatografie op 'n normale fase (NFC) en op 'n omgekeerde fase (OFC) ook as 'n tweedimensionele skeidingstegnyk (NFC x OFC) beskou word. Die tegnyse probleme bring egter mee dat die kombinasie van sommige tegnyke prakties baie moeilik gerealiseer kan word. Die kombinasie van twee gaschromatografiese skeidings met kolomme wat met twee verskillende stasionêre fases belaag is (GC x GC), is egter prakties uitvoerbaar en verdere bespreking sal tot hierdie tipe tweedimensionele skeiding beperk word.

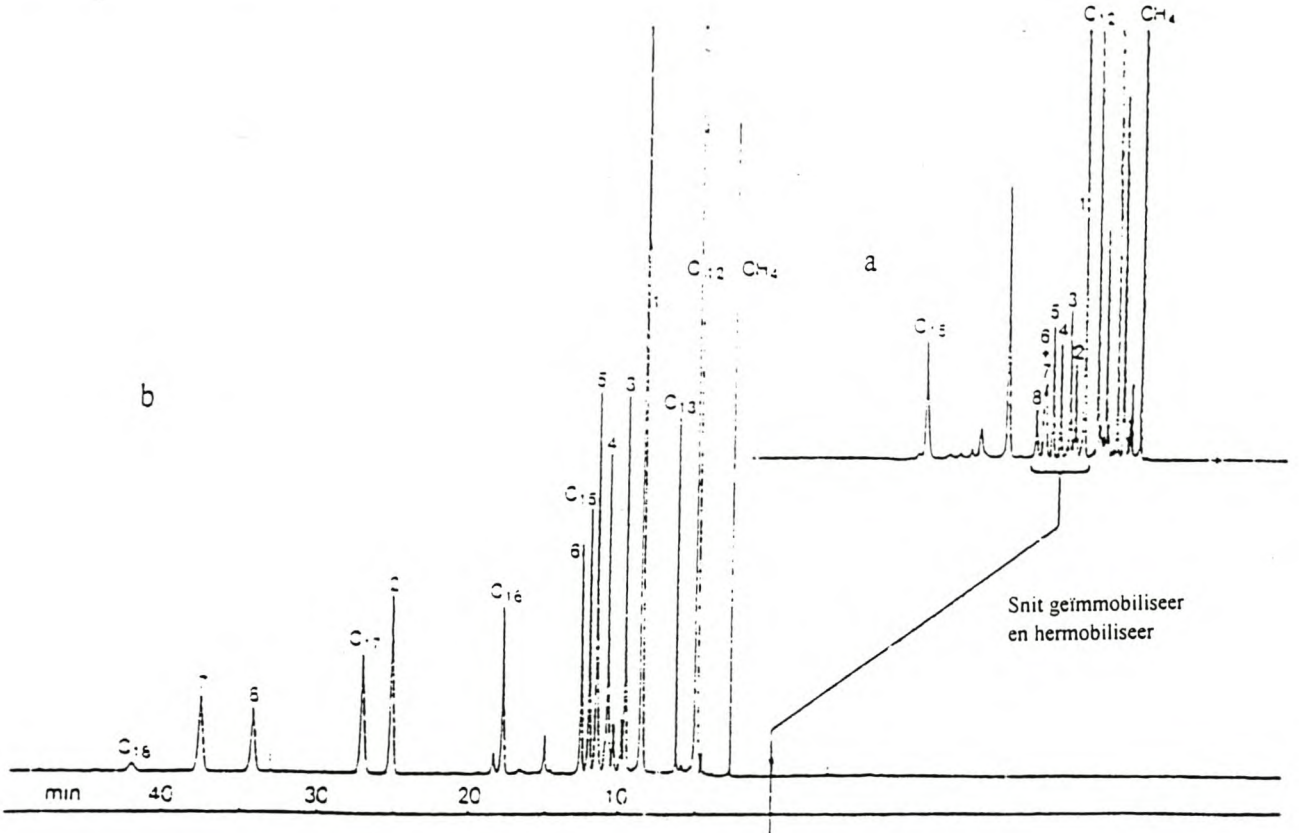
Volgens klassieke terminologie word na kolomchromatografiese skeidings verwys as twee- of multidimensioneel indien skeiding van alle of geselekteerde groepe van monsterkomponente herhaal word in twee of meer kolomme van verskillende polariteite wat in serie gekoppel is. Die eenvoudigste manier om 'n verbinding uit 'n komplekse mengsel te skei is deur chromatografie op 'n primêre kolom, versameling van die fraksie wat die verlangde verbinding bevat en chromatografie op 'n sekondêre kolom met 'n ander selektiwiteit. Vir tweedimensionele skeiding kan die twee kolomme egter nie eenvoudig gekoppel word sodat die monster vanaf die primêre kolom na die sekondêre

kolom vloei nie, aangesien dit slegs eendimensionele skeiding tot gevolg sal hê wat die invloed van beide skeidingsmeganismes (kolomselektiwiteit) toon. 'n Metode moet gevind word om die eluaat van die primêre kolom te fokusseer voordat dit oorgedra word na die sekondêre kolom, byvoorbeeld deur die neem van kernsnitte of deur die eluaat van die primêre kolom te moduleer voordat dit na die sekondêre kolom oorgedra word.

Retensiedata op stasionêre fases met verskillende selektiwiteit is uitstekend vir die identifikasie van 'n verbinding indien aan sekere kriteria voldoen word. Kubler en sy medewerkers het 'n sisteem bekend gestel wat die versameling van drie stelle hoogs akkurate retensiedata moontlik maak⁴. Die data wat so verkry is, maak ondubbelsinnige identifikasie moontlik gebaseer op piekareas en retensiedata. Aangesien die toekenning van retensiedata afhang van die herkenning van pieke, word die toepassing van hierdie metode beperk tot monsters van gemiddelde kompleksiteit en in die praktyk is dit ook voordelig indien die monster uit verbindings met ietwat verskillende konsentrasies bestaan. Die behoefte aan presiese kwantifisering en die bepaling van retensie-indekse maak die gebruik van 'n rekenaar onontbeerlik.

Die voordeel van twee stelle retensiedata wat in tweedimensionele gaschromatografie met fases van verskillende selektiwiteit verkry word, word in Figuur 2.3⁵ getoon wat met 'n nie-polêre primêre kolom en 'n polêre sekondêre kolom verkry is. Figuur 2.3a toon 'n chromatogram van 'n parfuumolie verryk met vier alkane en metaan vir bepaling van retensiedata. Verbindings genummer 1 tot 8 is van belang. Onbelangrike verbindings word verwyder deur snitte na die atmosfeer uit te laat of deur terugspoeling voordat die verlangde fraksie na die sekondêre kolom oorgedra word. Die selektiewe oordrag is hier noodsaaklik aangesien dit nie geredelik bekend is watter piek in die sekondêre chromatogram ooreenstem met watter verbinding in die primêre kolom nie, terwyl addisionele pieke slegs onnodige komplikasies sal meebring. Vir die sekondêre skeiding word 'n aantal geskikte *n*-alkane met behulp van die addisionele inlaat by die oorgedraagde fraksie gevoeg. Die chromatogram in Figuur 2.3b wys noemenswaardige toename in die retensie van verbindings 2, 7 en 8 wat 'n aanduiding is van hul polêre

karakter. Isotermiese kondisies is gebruik in albei skeidings om die berekening van presiese retensiedata moontlik te maak.



Figuur 2.3: Isotermiese tweedimensionele gaschromatografie op 'n nie-polêre primêre kolom en 'n polêre sekondêre kolom. (a) Chromatogram van 'n parfuumolie verryk met vier alkane en metaan verkry met die nie-polêre primêre kolom. (b) Chromatogram van geselekteerde snit uit chromatogram (a) gechromatografeer op die polêre sekondêre kolom.*

Die oordrag na die sekondêre kolom van óf die hele eluaat óf snitte wat geneem word uit die eluaat wat die primêre kolom verlaat, word geaffekteer deur die draergasvloeï in die kolomme. Indien die sekondêre kolom 'n laer draergasvloeï vereis, kan slegs 'n gedeelte van die eluaat van die primêre kolom toegelaat word om deur die sekondêre kolom te

*Opmerking: Figure wat voorkom in die hoofstuk is verkry uit die literatuur en die kwaliteit van die figure is nie almal ewe goed nie.

vloei. Die res van die eluaat moet toegelaat word om tussen die twee kolomme te ontsnap. Deur gedeeltes van die eluaat van die primêre kolom uit te laat na die atmosfeer, kan ook verhoed word dat onbelangrike komponente oorgedra word na die sekondêre kolom. Dit is ook 'n effektiewe metode om 'n gunstiger verhouding tussen hoof- en spoorkomponente te verkry deur die meeste van die hoofkomponente *via* die uitlaat uit die eluaat te verwyder voordat die analiese die sekondêre kolom bereik. Die tegniek verkort dus die analisetyd en vereenvoudig ook die chromatogram wat die sekondêre kolom lewer.

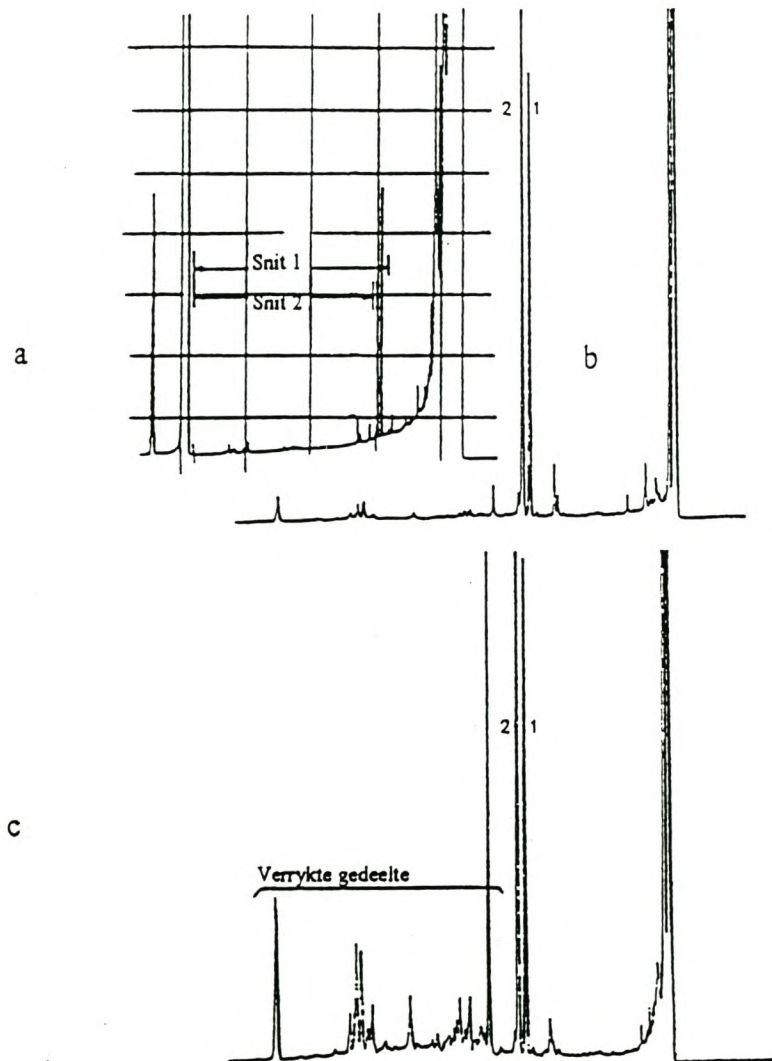
Die oordrag van een of meer geselekteerde groepe verbindings wat uit 'n chromatografiese kolom elueer na 'n sekondêre kolom, word na verwys as die neem van kernsnitte³. Die twee hooftoepassings van die tegniek is die analiese van komplekse mengsels en die bepaling van spoorkomponente. Die neem van kernsnitte gaan gepaard met die terugspoeling en uitlaat van sekere komponente van die eluaat van die primêre kolom na die atmosfeer. In spooranalises kan die resolusie van oorvleuelende pieke van twee komponente wat in grootliks verskillende konsentrasies in 'n monster aanwesig is en waarvan die mindere komponent bepaal moet word, verbeter word deur die oordrag van kernsnitte na die sekondêre kolom. 'n Snit word op so 'n wyse geneem dat die mindere komponent in 'n gunstiger kwantitatiewe verhouding in die snit aanwesig is.

Die seleksie van snitte word bepaal deur die beoogde analitiese toepassing. In analitiese toepassings is die toename in piekkapasiteit van skeidings meestal nie vir die hele multikomponent-mengsel belangrik nie. Die verwydering van oninteressante komponente uit die skeiding in die primêre kolom kan versnel word deur hoër draergasvloei, verhoogde temperature of temperatuurprogrammering. Hierdie vinnige skoonmaak en herkondisionering van die primêre kolom kan gelyktydig met die skeiding van die belangrike komponente in die sekondêre kolom gedoen word. Die hele multidimensionele gaschromatografiese sisteem kan dus vinnig gereed wees vir die volgende analiese indien roetine analises gedoen moet word.

Vir monsters met verbindings wat 'n wye omvang van kookpunte het, kan die analisetyd aansienlik verkort word deur van terugspoeling gebruik te maak. Die eenvoudigste benadering om terugspoeling te bewerkstellig is deur die byvoeging van 'n addisionele draergasinlaat aan die einde van die primêre kolom en die installasie van 'n hittebestande afsluitklep in die detektorlyn. 'n Opstelling van hierdie tipe is deur Mellor op 'n dubbelkolom sisteem met 'n gepakte intermediêre val en 'n addisionele inlaat getoets⁶. Dit het goeie resultate gelever met gepakte kolomme, maar die tipe opstelling wat deur Mellor beskryf is, kan as gevolg van die groot dooie volume en aktiewe metaaloppervlaktes van die afsluitklep in die detektorlyn, nie in in kapillêre gaschromatografie gebruik word nie. Terugspoeling kan ook gebruik word indien verhoed moet word dat swaarder komponente die sekondêre kolom bereik en onnodige lang analisetye tot gevolg het.

Deur die oordrag van geselekteerde snitte vanaf een kolom na 'n ander met 'n verskillende polariteit en selektiwiteit, word die resolusie van die piekgroepe in hierdie snitte verbeter. Die resolusie van die geselekteerde snitte kan verder verhoog word in kolomme met 'n hoë skeidingsvermoë. Die nut van hierdie metodologie is reeds vroeg ingesien, ook vir gaschromatografiese analyses in roetine laboratoria. Gepakte kolomme⁷ is tradisioneel verkies vir die tweedimensionele skeiding van komplekse mengsels, maar kapillêre kolomme is later meer geredelik gebruik, veral in die tweede dimensie^{8,9}. Alhoewel liniêre koppeling van twee kapillêre kolomme 'n uiters kragtige kombinasie is en smal fraksies wat selfs enkele verbindings bevat oorgedra kan word na die sekondêre kolom, word gepakte primêre kolomme tog verkies vir sekere toepassings. Een só 'n geval is spoorverryking. Dikwels is 'n monster nie genoegsaam gekonsentreer sodat dit geanaliseer kan word deur direkte inspuiting nie, selfs al word die primêre kolom doelbewus oorlaai. In gevalle waar slegs 'n beperkte aantal van die verbindings van belang is, is dit wenslik om ontslae te raak van die oplosmiddel of ander ongewenste produkte sodat die analyses beperk word tot die kookpuntgebied van die verlangde verbindings. Dit word bereik deur herhaaldelike inspuitings, die neem van snitte wat in 'n sogenaamde val 'gestoor' word en terugspoeling. Figuur 2.4a⁵ is 'n chromatogram van gesilileerde suikers. Figuur 2.4b is 'n chromatogram van dieselfde monster waarvan die

meeste van die oplosmiddel uitgesny en die hoogkokende verbindings terugspoel is. Vir die chromatogram in Figuur 2.4c is die snit van die monster wat pieke 1 en 2 uitsluit verder verryk deur die herhaalde neem van snitte en terugspoeling. Met elke siklus word addisionele materiaal in die val bygevoeg wat lei tot noemenswaardige algehele verryking.



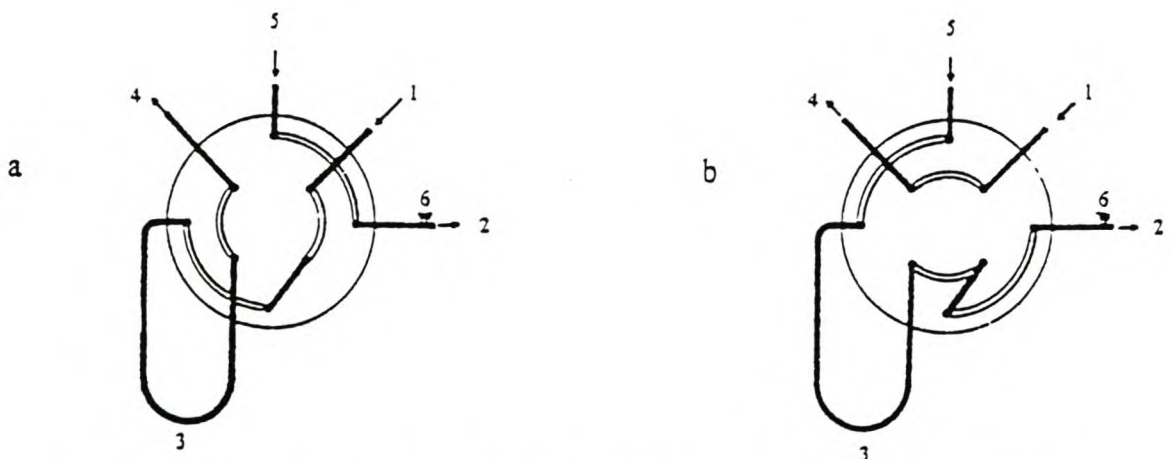
Figuur 2.4: Chromatogramme van gesilileerde suikers. (a) Gedeelte van oorspronklike chromatogram. (b) Chromatogram met snitte en terugspoeling. (c) Chromatogram met snitte, terugspoeling en verryking.

Die kontinue oordrag van die eluaat of die oordrag van geselekteerde snitte vanaf die primêre kolom na verdere kolomme word beheer deur die rigting en snelheid van die draergas in die gekoppelde kolomme te beheer. Die nodige veranderinge in die draergasvloeï kan verkry word deur die gebruik van kleppe binne óf buite die gaschromatografiese oond³. Laasgenoemde word verkies wanneer skeidings uitgevoer word met kapillêre kolomme met 'n hoë skeidingseffektiwiteit. Die gebruik van kapillêre kolomme in multidimensionele gaschromatografiese sisteme vereis spesiale instrumentasie as gevolg van die lae draergasvloeï, klein piekvolumes en die lae monsterkapasiteit in die algemeen.

Aangesien die meeste gaschromatografiese skeidings by hoë temperature uitgevoer word, behoort die verandering in die draergasvloeï vir die oordrag van snitte en die uitlaat of terugspoeling van ander monsterkomponente kleploos gedoen te word, met ander woorde sonder hardeware waarmee monsterkomponente by hoë temperature in kontak kan kom. Kleppe kan slegs in die chromatografiese sisteem self gebruik word indien gasvormige verbindings of verbindings met redelike hoë vlugtigheede ondersoek word. Die skakeling tussen twee kolomme lewer probleme aangesien die materiaal wat geskei word, met die klep waarmee die skakeling bewerkstellig word, in aanraking kom. Aangesien die klep by dieselfde temperatuur as die kolom moet wees, moet dit binne-in die oond wees terwyl dit van buite die oond beheer moet word. Dooie volumes wat deur die klep veroorsaak word en adsorpsie van verbindings aan aktiewe oppervlaktes gee aanleiding tot verlaagde skeidings-effektiwiteit en sisteme van hierdie tipe is dus nie geskik vir gebruik saam met hoë effektiwiteit kolomme nie. Twee metodes wat vir kolomskakeling gebruik word, naamlik met meganiese kleppe en pneumaties, word vervolgens bespreek.

Die eenvoudigste manier om die eluaat oor te skakel van een kolom na 'n ander is deur gebruik te maak van meganiese kleppe. Die kwaliteit van 'n klep vir hierdie toepassing is van kritiese belang. Dit moet chemies inert wees, dig wees by alle temperature, werk sonder smeermiddels en dit moet feitlik geen dooie volume hê nie. In die afgelope paar jaar het nuwe termostabiele materiale beskikbaar geword en uitstekende kleppe is nou beskikbaar in 'n verskeidenheid van ontwerpe, insluitende geminiaturiseerde kleppe met

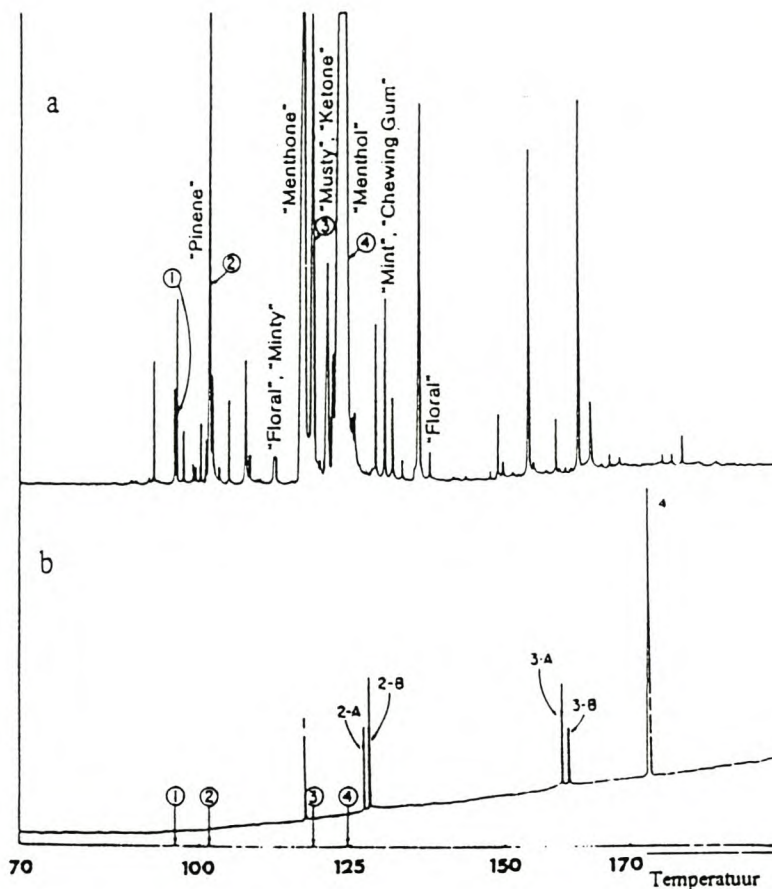
tot twaalf poorte en afstandbeheer. In vroeëre toepassings is kleppe slegs gebruik vir die uitlaat van onbelangrike komponente tydens die analise, of vir terugspoeling^{10,11}. Geminiaturiseerde kleppe word gebruik in skeidings met beide gepakte en kapillêre kolomme^{12,13}. Multipoort kleppe is veral nuttig aangesien verskeie kolomme gelyktydig gekoppel kan word vir vooruitspoeling of terugspoeling^{14,15}. Jennings het 'n interessante toepassing beskryf in reuk-analises deur gebruik te maak van twee kapillêre glaskolomme, twee detektors en 'n mikroklep wat toegerus is met 'n monster-lus¹⁶. Figuur 2.5¹⁶ toon 'n diagram van die klep en sy konneksies. In die eerste stap van die skeiding (Figuur 2.5a) gaan die eluaat vanaf die primêre kolom deur die nie-vernietigende fotoïonisasiedetektor en die monster-lus na die atmosfeer waar dit geruik kan word terwyl die sekondêre kolom terselfdertyd gespoel word met 'n onafhanklike draergasvloeï. Vir verder resolusie in die tweede dimensie word die inhoud van die monster-lus na die sekondêre kolom oorgedra deur rotasie van die klep (Figuur 2.5b).



Figuur 2.5: Skematiese diagram van 'n meganiese klep en skakelings. (a) Eluaat word na atmosfeer uitgelaat via monster-lus. (b) Inhoud van monster-lus word oorgedra na sekondêre kolom.

1-Vanaf primêre kolom via fotoïonisasiedetektor; 2-Sekondêre kolom; 3-Monster-lus; 4-Ruik- en versamelingsuitlaat; 5-Draergas vir sekondêre kolom; 6-Verstelbare lek.

Figuur 2.6a¹⁶ toon 'n chromatogram van die skeiding van peppermintolie waarvan vier snitte geneem is vir herchromatografie op 'n sekondêre kolom (Figuur 2.6b). Dit is duidelik dat snitte 2 en 3 elk minstens twee verskillende komponente voorstel.

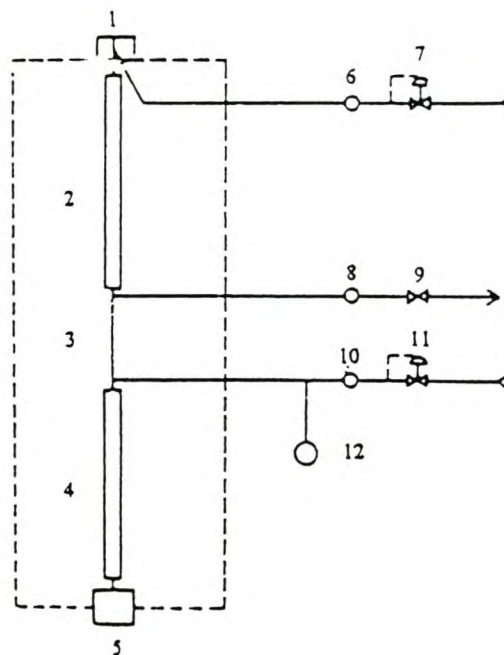


Figuur 2.6: Analise van peppermintolie. (a) Oorspronklike chromatogram. (b) Chromatogram van vier snitte wat na 'n sekondêre kolom oorgedra is.

Hierdie voorbeeld kan gebruik word om sekere kritiese areas uit te wys en modifikasies voor te stel vir ontwerpe wat meganiese kleppe inkorporeer. Dun kapillêre kolomme vereis spesiale aanpassings om verlies in effektiwiteit te verhoed wat as gevolg van dooie volumes in verbindingstukke, kleppe en detektors plaasvind. Hiervoor word gekompenseer deur addisionele spoelgas in te laat en te verdeel tussen die monster-lus en die sekondêre kolom¹⁶. Die kleppe lewer 'n eenvoudige oplossing indien slegs 'n paar komponente aan tweedimensionele analise onderwerp moet word. Indien temperatuurgeprogrammeerde skeidings gebruik word, kan die termiese inersie van selfs

die kleinste en modernste meganiese klep 'n negatiewe invloed op die effektiwiteit van die sisteem uitoefen.

In 1968 het Deans se pneumatiese skakeling in chromatografie bekendgestel³. Die prinsiep is gebaseer op die balans van vloei in die kolom deur gebruik te maak van in-lyn restriksies en addisionele spoelgas. Die rigting van vloei tussen die kolomme kan verander word deur eenvoudig die eksterne kleppe oop of toe te maak. Geen bewegende dele kom voor binne-in die gaschromatograaf nie. Figuur 2.7³ is 'n voorstelling van die mees fundamentele rangskikking uit Deans se klassieke artikel.



Figuur 2.7: Kolomskakeling volgens Deans met kleppe buite die gaschromatografiese oond.

1-Inlaat; 2-Primêre kolom; 3-Kapillêr; 4-Sekondêre kolom; 5-Detektor; 6-Klep; 7-Drukreguleerder; 8-Klep; 9-Klep; 10-Klep; 11-Drukreguleerder; 12-Drukmeter.

Vir voorwaartse vloei in die sisteem kom die draergas die sisteem binne deur 'n drukreguleerder 7 en klep 6 terwyl klep 8 toe gehou word. 'n Tweede drukreguleerder 11 word ingestel by (of effens bo) die druk wat opbou in die aansluiting tussen die kolomme en sodoende word 'n minimum voorwaartse vloei verkry. Hierdie druk kan direk afgelees word van die drukkometer 12 voor klep 10. In hierdie posisie vloei die draergas gewoon

deur albei kolomme. Om 'n komponent uit te laat na die atmosfeer word klep 8 oopgemaak. Die vloeispoed in die twee kolomme bly redelik konstant aangesien die druk van die sisteem gereguleer word. Die draergas vanaf die primêre kolom 2, en die komponent wat uitgelaat word, verlaat nou die sisteem deur klep 8. Draergas van die primêre kolom 2 kan nou nie die sekondêre kolom 4 binnegaan nie aangesien 'n klein hoeveelheid addisionele gas opwaarts vloei deur die aansluiting tussen die kolomme vanaf klep 10. Draergasvloei in die primêre kolom 2 kan ook maklik gestop word deur klep 6 toe te maak terwyl vloei in die sekondêre kolom 4 konstant gehou word deur klep 10 oop te hou terwyl klep 8 oop of toe kan wees.

Die voordele van hierdie sisteem kan soos volg saamgevat word:

- Die dooie volume wat geassosieer word met kleppe in die monsterpad word geëlimineer en die tegnieke wat skakeling tussen kolomme vereis, soos terugspoeling, kan dus ook toegepas word op kapillêre kolomme.
- Die afwesigheid van kleppe in die monsterpad skakel ook die moontlikheid uit van ongewenste adsorpsie van monsterkomponente en die probleme wat deur die termiese massa van die kleppe meegebring word.
- Die kleppe wat in hierdie sisteem gebruik word, is buite die oond geleë en spesiale ontwerpe is dus nie nodig nie. Dit maak die sisteem bekostigbaar en dit kan in 'n bestaande gaschromatograaf geïnstalleer word.

Die eenvoud van die beginsel van pneumatiese skakeling is misleidend en in die praktyk moet voorsorg getref word om te verhoed dat terugwaartse diffusie, wat 'n geheue-effek tot gevolg kan hê, in die lyne plaasvind. Dit is ook voordelig om 'n tweede detektor in te voeg as 'n monitor by die aansluiting tussen die twee kolomme. Die sisteem kan geredelik aangepas word vir 'n wye verskeidenheid van vloeiende en is vry van dooie volume effekte in die konneksies aangesien daar geen ongespoelde volumes is nie. Alle operasies word van buite die oond beheer en die gebruik van volledige glassisteme is dus moontlik. Die enigste baie kritiese faktor is die reproduseerbaarheid van drukke onder alle omstandighede en dus moet slegs uiters betroubare drukreguleerders gebruik word.

'n Spesiale toepassing van pneumatiese kolomskakeling is die opeenvolgende oordrag van eluaat vanaf 'n primêre kolom, wat dien as 'n inlaat, na 'n sekondêre kolom met 'n ander selektiwiteit. Die metode laat die storig van komponente in die primêre kolom toe, wat op *in situ* fraksionering neerkom¹⁷. 'n Aantal toepassings van pneumatiese skakeling is al beskryf, onder andere deur Rijks en sy medewerkers wat indiepte studies in verband met die bepaling van presisie retensiedata uitgevoer het en 'n tweedimensionele sisteem met hoë akkuraatheid voorgestel het^{18,19}. Die ontwerp is gebaseer op twee kolomme wat in serie gekoppel is met behulp van 'n Deans-klep. 'n Klein porsie van die eluaat van die primêre kolom word kontinu afgetap na 'n vlamionisasiedetektor wat as monitor by die aansluiting tussen die twee kolomme dien. Hierdie opstelling laat die neem van snitte na die sekondêre kolom op presiese tye toe. Die retensietye wat by die sekondêre kolom waargeneem word, is die som van die retensies in albei kolomme en is 'n nadeel van hierdie tipe rangskikking aangesien dit moeilik is om die komponente wat na die sekondêre kolom oorgedra word se beweging te volg indien verskeie snitte geneem word en boonop is die volgorde waarin die komponente uit die sekondêre kolom elueer nie noodwendig dieselfde as die snitvolgorde nie.

Deans-kleppe word meestal gebruik as aan/af skakelaars en oordragtye tussen kolomme kan dus uiters kort wees (millisekondes) wat baie skerp snitte moontlik maak²⁰, maar aan die ander kant kan die graad van skakeling ook kontinu verander word^{21,22}. Een van die tekortkominge van Deans se oorspronklike ontwerp is die opbou van druk in die aansluiting tussen die kolomme. Die inlaatdruk van die primêre kolom moet dus ooreenkomstig verhoog word om voldoende vloei deur die kolomme te handhaaf.

Indien komponente vanaf die primêre kolom elueer met retensietye wat bepaal word deur die polariteit van dié kolom en nie geïmmobiliseer (vasgekeer/gekondenseer) word voordat hulle die sekondêre kolom binnegaan nie, gaan die komponente die sekondêre kolom binne op verskillende tye en die totale retensie aan die einde van die sekondêre kolom hang dus af van die retensie in die stasionêre fase van die sekondêre kolom sowel as die tydstip wat die komponent die kolom binnegegaan het. Die verskynsel staan

bekend as gemengde polariteite. Gemengde polariteite word vermy deur intermediêre immobilisering van die komponente wat geselekteer is vir verdere chromatografie op 'n sekondêre kolom, in 'n val tussen die kolomme of in die inlaat van die sekondêre kolom^{5,23}. Verhitting en verkoeling van die stasionêre fase sal onderskeidelik die komponente vrystel in die draergas of daaruit opneem. Die sekondêre skeiding word dus geïnisieer deur die verhitting van die val en word nie beïnvloed deur bandverbreding en simmetriedistorsies wat onvermydelik in die primêre skeiding voorkom nie. Dit is veral van belang in gevalle waar die effektiwiteit van die primêre kolom laag is in vergelyking met die effektiwiteit van die kolom waarop die finale skeiding gedoen word en intermediêre immobilisering maak tweedimensionele chromatografie met 'n gepakte kolom gevolg deur 'n kapillêre kolom, dus moontlik.

Die beginsel van termiese immobilisering in 'n kolom met 'n negatiewe temperatuurgradiënt is goed bekend²⁴. Soos die naam impliseer word verbindings gekondenseer in 'n buis onder die invloed van 'n negatiewe temperatuurgradiënt. 'n Bekende toepassing van hierdie tegniek is die konsentrasie van spoorverbindinge uit groot volumes gas²⁵. 'n Wiskundige beskrywing van die wyse waarop komponente in 'n kolom met 'n negatiewe temperatuurgradiënt geïmmobiliseer word, is ontwikkel deur Jaraki en Itaya²⁴. Daar is vasgestel dat die geïmmobiliseerde komponentbande tot stilstand kom nadat hulle aansienlik verskerp is en daar is getoon dat feitlik geen bandverbreding met tyd plaasvind nie, mits die valle by 'n temperatuur gehou word wat laag genoeg benede die kookpunt van die komponente is. Die wiskundige berekening waarvolgens die geïmmobiliseerde komponente, deur vinnige verhitting van die val, skerp sal elueer, is eksperimenteel bevestig²⁶.

Daar is 'n verdere rede waarom 'n goedgedefinieerde temperatuurgradiënt in die val belangrik kan wees. 'n Geskikte temperatuurgradiënt voorkom naamlik mikromisvorming (aerosolvorming) wat kan plaasvind wanneer dampe deur steil temperatuursones beweeg, 'n ongunstige verskynsel wat goed bekend is in preparatiewe chromatografie²⁷. Dit is egter te betwyfel of hierdie verskynsel so 'n belangrike rol kan speel in gewone kapillêre gaschromatografie.

Die ontwerp van die intermediêre val is uiters belangrik indien dit vir kapillêre kolomme aangewend word. Die val moet nie alleenlik die verbindings wat daardeur gaan effektief immobiliseer nie, maar moet ook 'n lae termiese massa hê sodat dit vinnig verhit kan word om vinnige oordrag van die vasgekeerde fraksie na die sekondêre kolom te verseker. Die verhitings tempo van die kriogeniese val vir herchromatografie op 'n warm kapillêre kolom, moet in die orde van 20 millisekondes wees om effektiwiteit te behou²⁸. 'n Elektroniese stroombaan wat ontwerp is om die temperatuur van 'n lae massa Pt/Ir-val vanaf -180°C tot $+300^{\circ}\text{C}$ binne tien millisekondes te verhoog, is bekendgestel deur Hopkins²⁸ en ook suksesvol gebruik²². Die vinnige verhitting is egter nie nodig indien die temperatuur van die val toegelaat word om saam met die oondtemperatuur te styg nie. Dit is 'n beginsel wat vir jare reeds gebruik word²⁹ en in meer besonderhede bespreek word deur Grob³⁰. 'n Vertraging van die temperatuurtoename in die val moet egter vermy word.

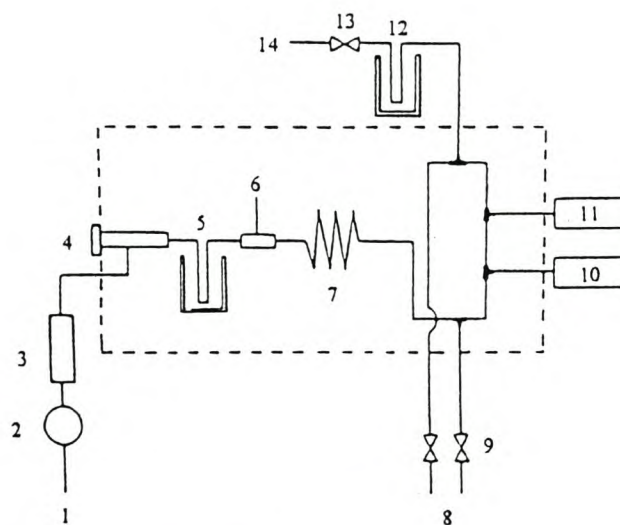
Schomburg en sy medewerkers maak gebruik van glas kapillêre kolomme met 'n glas kapillêr as 'n val wat verhit en verkoel word deur onderskeidelik warm en koue stikstof deur 'n metaalbuis, wat die kapillêr omsluit, te laat vloei deur twee afsonderlike inlate⁵. Volgens Schomburg is daar vier voordele in die gebruik van 'n val in 'n dubbelkolom sisteem, naamlik

- die eliminerings van breë of vervormde pieke as gevolg van chromatografering op die primêre kolom,
- die verryking van spoorkomponente deur herhaalde skeidings op die primêre kolom en kumulatiewe versameling in die val,
- retensie-indeks identifikasie met hoë reproduceerbaarheid indien die sekondêre skeiding uitgevoer word onder isotermiese toestande en
- twee stelle onafhanklike retensie-indeks data word verkry indien stasionêre fases met verskillende polariteit in die twee kolomme gebruik word.

'n Nadeel van die meeste tweedimensionele sisteme wat twee kapillêre kolomme en intermediêre immobilisering behels, is dat komplekse kontroles en 'n aparte eenheid vir die afkoeling en verhitting van die val vereis word, terwyl die meeste chromatografici nie

die begeerte óf die fasiliteite het om 'n instrument af te staan vir die neem van kernsnitte indien probleme wat hierdie tipe benadering vereis, slegs af en toe voorkom nie.

Bertsch het 'n tegniek voorgestel wat gebruik maak van opeenvolgende chromatografie in kolomme van verskillende selektiwiteit en meganiese immobilisering van geselekteerde verbindings gevolg deur kolomruiling³¹. Figuur 2.8³¹ is 'n voorstelling van hierdie sisteem.



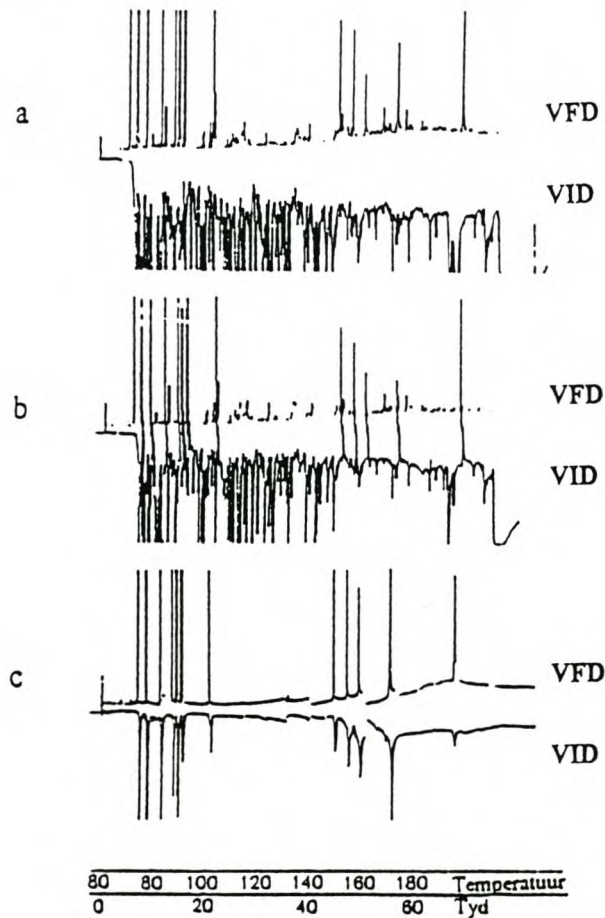
Figuur 2.8: Skematiese diagram van 'n gaschromatografiese vloeisisteem.

1-Draergas inlaat; 2-Drukreguleerder; 3-Vloeikontrolle; 4-Inlaat; 5-Val; 6-Konneksie; 7-Kapillêre kolom; 8-Addisionele gasinlate; 9-Fyn metingskleppe; 10-Vlamfotometriese detektor; 11-Vlamionisasiedetektor; 12-Val; 13-Aan/af klep; 14-Vakuüm.

Die val 5 direk na die inlaat 4 is in hierdie geval gebruik om die monster te versamel. Die val 12 by die uitlaat is afgekoel in 'n koelmiddel en *via* 'n aan/af klep 13 aan 'n vakuümbron 14 gekoppel wat dit moontlik maak om 'n swavelbevattende verbinding, wat waargeneem word deur 'n swawelspesifieke detektor 10 net voor die val 12 te plaas, uit die fraksie te sny deur eenvoudig die klep 13 vir die verlangde tydperk oop te maak.

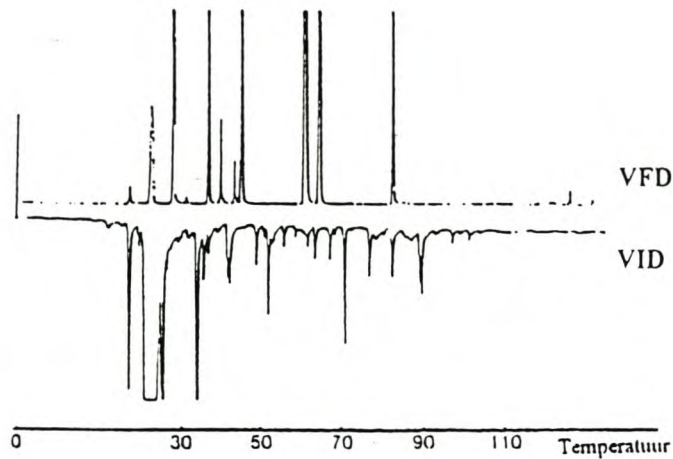
Die effek van die uitsny van die swavelverbindings uit 'n fraksie van sigaretrookkondensaat word getoon in Figuur 2.9³¹ waar die gerekonstrueerde chromatogram (Figuur 2.9b) toon dat die meeste steurings verwyder is. Die

chromatogram in Figuur 2.10³¹ is verkry deur die inhoud van die val te chromatografeer op 'n kolom met 'n ander selektiwiteit. Alle meganiese operasies was maklik uitvoerbaar aangesien nikkel kapillêre kolomme gebruik is en dit is interessant dat die swavelverbindings, waarvan baie beskou word as labiel en moeilik chromatografeerbaar, intakt deur nikkelbuis beweeg het. Ander metodes om steurings met behulp van tweedimensionele chromatografie en meganiese immobilisering te verwyder, is deur Bertsch³² en Kirsten³³ beskryf. In werk op plaagdoders is gevind dat meganiese kleppe gemaak van goudgeplateerde buise en teflon, nie geskik is nie en 'n volledige glassistiem met 'n Deans-klep moes geïnstalleer word om die ongewenste oppervlakeffekte van die klepmateriaal te vermy³⁴.



Figuur 2.9: Chromatogramme van sigareetrookkondensaat. (a) Volledige chromatogramme. (b) Chromatogram van die kernsnit van geselekteerde swavelverbindings. (c) Gerekonstrueerde chromatogram.

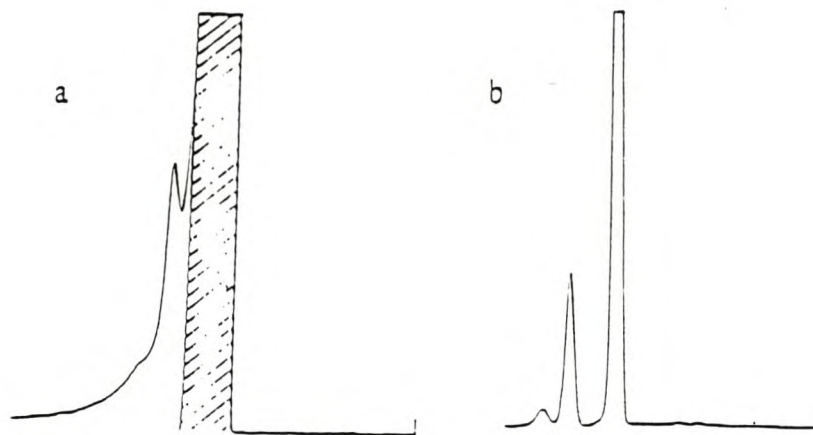
VFD-Vlamfotometriese detektor, VID-Vlamionisasiedetektor.



Figuur 2.10: Chromatogram van die fraksie van sigaretrookkondensaat wat in die val versamel is op 'n kolom met 'n ander selektiwiteit.

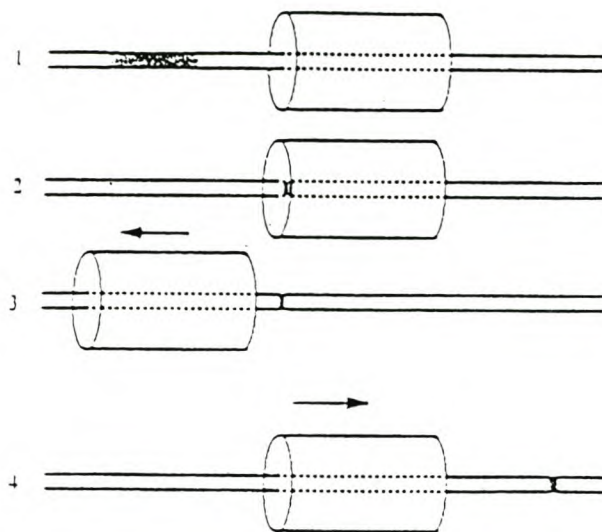
VFD-Vlamfotometriese detektor; VID-Vlamionisasiedetektor.

Die gebruik van 'n intermediêre val gekombineer met die neem van kernsnitte is 'n baie nuttige tegniek wat gedemonstreer is deur Schomburg en die resultaat word getoon in Figuur 2.11²³. Die chromatogram in Figuur 2.11a word verkry deur die val te verhit tot dieselfde temperatuur as die kolom en die hele monster deur die kolom te laat beweeg. Vir die chromatogram in Figuur 2.11b is die vloeï in die kolom omgekeer sodra die detektor die gearseerde gedeelte van die chromatogram in Figuur 2.11a waarneem. Die gedeelte van die monster wat op daardie oomblik in die kolom is, naamlik die spoorcomponente en 'n gedeelte van die oplosmiddel, word dan teruggespoel na die val wat nou verkoel is en word hier versamel. Sodra alles in die val versamel is, word die vloeï weer omgekeer en met vinnige verhitting van die val word die versamelde monsterfraksie op die kolom ingelaat. Die terugspoeling en versameling van die fraksie lewer 'n meer gunstige verhouding van spoorcomponente tot oplosmiddel en die vinnige verhitting gee 'n skerp monsterband vir herchromatografering op die sekondêre kolom.



Figuur 2.11: Kernsnit gevolg deur intermediêre immobilisering. (a) Gaschromatogram met val by oondtemperatuur. (b) Chromatogram verkry na die neem van 'n kernsnit en hermobilisering van die snit.

Marriott het 'n metode beskryf vir die immobilisering van die eluaat van 'n kolom deur gebruik te maak van 'n verkoelde val wat 'n kapillêre kolom omsluit³⁵. Die val óf die kolom kan beweeg word en die frekwensie of die manier van relatiewe beweging bepaal die tipe resultate wat verkry word. Figuur 2.12³⁵ is 'n voorstelling van die prosedure vir die immobilisering en hermobilisering van die chromatografiese band. Daar is getoon dat die eluaat in die eerste sentimeter van die val geïmmobiliseer word. In hierdie tegniek is dit nie nodig dat die verkoelde gedeelte van die kolom enigsins bo die oondtemperatuur vir hermobilisering van die fraksie verhit hoef te word nie, mits dit vinnig die oondtemperatuur bereik wanneer die val wegbeweeg word. In 'n enkelkolom sisteem word die piekwydtes aansienlik verminder indien die toestel direk voor die detektor aangebring word.



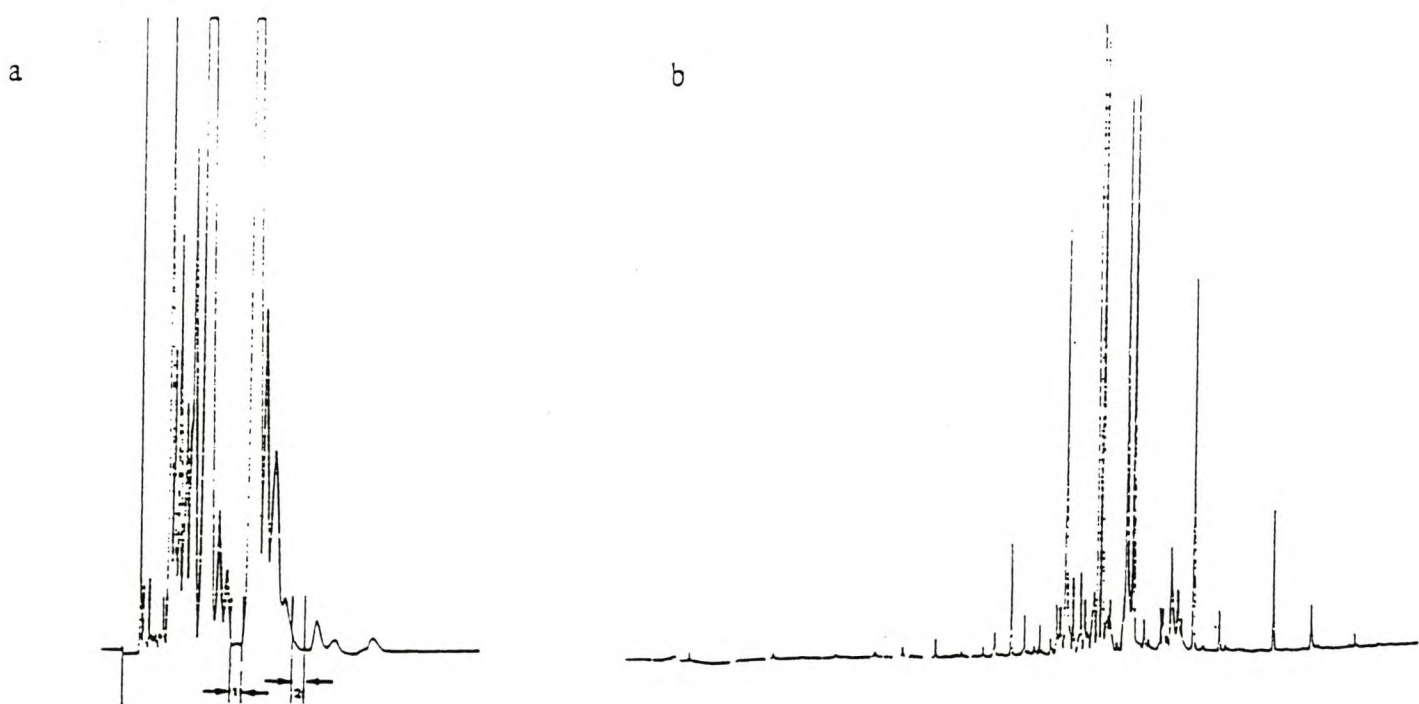
Figuur 2.12: Skematiese voorstelling van die prosedure vir die immobilisering en hermobilisering van die chromatografiese band met behulp van die longitudinaal-gemoduleerde kriogeniese sisteem.

1-Migrerende piek; 2-Geïmmobiliseerde piek; 3-Val beweeg sodat piek hermobiliseer word; 4-Val beweeg terug na oorspronklike posisie terwyl piek na die einde van die kolom beweeg met min verbreding.

Selektiewe detektors lewer dikwels 'n baie vereenvoudigde chromatogram, maar sommige van hierdie detektors is dikwels baie sensitief en is meer onderhewig aan steurnisse. Fenimore en sy medewerkers het prosedures beskryf vir die bepaling van Δ^9 -tetrahydrokannabinol (THK), die aktiewe bestanddeel van dagga, in bloed deur gebruik te maak van 'n elektronvangsdetektor (EVD)³⁶. Derivatisering van serum met die gepaste reagense het baie intense en gekompliseerde patrone gelewer in die EVD-chromatogram wat die derivaat van belang heeltemal versluier het. Tweedimensionele chromatografie met 'n gepakte primêre kolom en 'n kapillêre sekondêre kolom het in hierdie geval die beste resultate gelewer. Die gederivatiseerde monster is op die gepakte kolom ingespuut en die fraksie wat die THK bevat, is afgekeer na 'n monster-lus wat gekoppel is aan 'n meganiese klep, waarna dit oorgedra is na die kapillêre kolom.

Klimes en sy medewerkers het 'n toepassing van hierdie tegniek op mikroskaal voorgestel³⁷. Figuur 2.13³⁷ demonstreer die toepassing in reukanalises deur die gebruik

van 'n gepakte primêre kolom en 'n kapillêre sekondêre kolom. In die chromatogram in Figuur 2.13a word twee posisies aangedui, genummer 1 en 2, waarin die twee komponente van belang aanwesig is. Die chromatogram in Figuur 2.13b is verkry met die inspuiting van fraksie 1 op 'n polêre kapillêre kolom. Inspuiting van fraksie 2 op dieselfde polêre kolom lewer 'n chromatogram, wat nie hier gewys word nie, van dieselfde kompleksiteit. Direkte inspuiting van die volle monster op óf 'n polêre óf nie-polêre kapillêre kolom het gelei tot komplekse chromatogramme en die verlangde verbindings kon nie chromatografies geskei word nie. Die probleem kon slegs opgelos word deur die aanwending van tweedimensionele tegnieke. Die voorbeeld beklemtoon die voordele wat die kernsnitmetode en die gebruik van twee fases met verskillende selektiwiteite inhou.



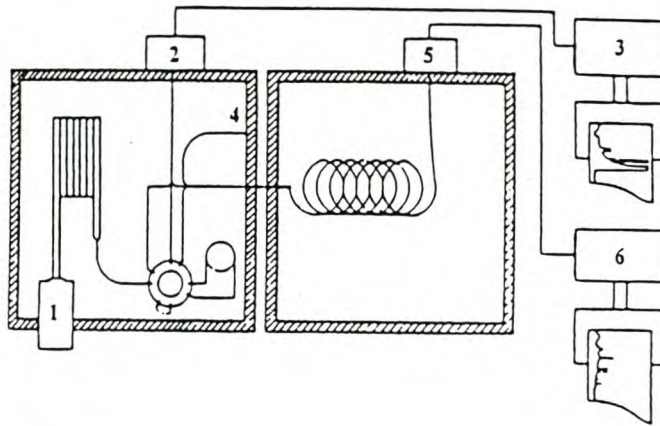
Figuur 2.13: Versameling en herinspuiting van fraksies vanaf 'n gepakte primêre kolom na 'n kapillêre sekondêre kolom vir verdere analise. (a) Oorspronklike chromatogram van gepakte kolom. (b) Chromatogram van fraksie 1 ingespuut op 'n polêre kapillêre kolom.

Volgens definisie kan skeidings met oordrag van eluaatsnitte vanaf 'n primêre kolom na 'n gekoppelde sekondêre kolom slegs as multidimensioneel beskryf word indien addisionele stelle kwalitatiewe, asook verbeterde kwantitatiewe data verkry word. Dit kan slegs die geval wees indien die polariteit van die stasionêre fase of die temperature vir die skeidingsisteme in die gekoppelde kolomme verskillend is. Temperatuurprogramme in die kolomme beïnvloed natuurlik ook die verskil in selektiwiteit tussen die primêre en die sekondêre skeidingsstelsel. 'n Belangrike voorvereiste vir betroubare gaschromatografiese analyses is die gebruik van matige kondisies, veral 'n matige kolomtemperatuur. Deur van 'n gepaste temperatuurprogram gebruik te maak, kan hoë kolomtemperatuur vermy word en die reeds hoë piekkapasiteit van analitiese skeidings met kapillêre kolomme word ook verder verhoog deur sodanige temperatuurprogrammering³⁸. In tweedimensionele gaschromatografie word die retensievermoë van die sekondêre kolom verminder as 'n funksie van die vordering in die primêre chromatogram deur van 'n temperatuurprogram gebruik te maak en die retensiemeganisme van die primêre kolom word dus geëlimineer in die tweede dimensie³⁹. Retensie van 'n verbinding in die sekondêre kolom word dus bepaal deur die verskil in die interaksie daarvan met die twee stasionêre fases.

Selfs met temperatuurprogrammering is gaschromatografiese skeidings beperk tot verbindings met voldoende vlugtigheid en stabiliteit by temperature tot 350°C. Tweedimensionele skeidings by hoër temperature is nog nie gerapporteer nie. Een van die hoofredes hiervoor is die tekort aan stasionêre fases, veral polêre fases, wat stabiel genoeg is by hoër temperature. Skeiding van minder vlugtige verbindings kan egter by laer temperature uitgevoer word met dun-film kapillêre kolomme.

Eluaatoordrag tussen gekoppelde kolomme deur vloeiskakeling, terugspoeling deur die primêre kolom en ander tegnieke van tweedimensionele gaschromatografie, is belangrike tegnieke om analisetyd te verkort, resolusie te verbeter en beter chromatografiese inligting te verkry. Deur die twee kolomme by verskillende temperature te hou, of te verhit met verskillende temperatuurprogramme, word die moontlikhede vir tweedimensionele gaschromatografie uitgebrei. 'n Dubbeloond instrument is nodig vir hierdie doel.

Figuur 2.14³⁶ is 'n voorstelling van so 'n dubbeloond sisteem wat deur Fenimore en sy medewerkers gebruik is vir die bepaling van Δ^9 -tetrahydrokannabinol in bloed.



Figuur 2.14: Voorstelling van 'n dubbelkolom-dubbeloond gaschromatograaf.

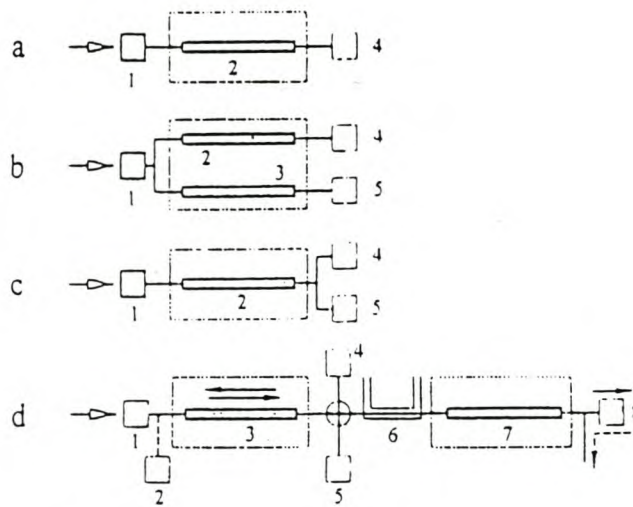
1-Inlaat; 2-Vlamionisasiedetektor; 3-Elektrometer; 4-Ar/CH₄ draergas; 5-Elektronvangsdetektor; 6-Kontrole module.

'n Dubbelkolom-dubbeloond sisteem wat gebruik maak van pneumatiese skakeling, 'n intermediêre val tussen die oonde en 'n addisionele inlaat, maar wat gebruik maak van 'n ander benadering vir skakeling, is voorgestel deur Anderson⁴⁰. In dié apparaat word gebruik gemaak van restriktors om die druk tussen die oonde te reguleer en die opbou van druk tussen die kolomme, wat 'n nadeel is van Deans se sisteem, word dus uitgeskakel.

Instrumentasie vir tweedimensionele gaschromatografie varieer van baie elementêre apparatuur tot hoogs komplekse en geoutomatiseerde sisteme. 'n Sterk argument word aangevoer vir die outomatisering van alle stappe, nie slegs vir roetinerwerk nie maar ook vir die verbetering van algehele akkuraatheid. Die inkorporering van 'n addisionele detektor as monitor en 'n addisionele inlaat tussen die einde van die primêre kolom en die val word voorgestel vir sekere toepassings, byvoorbeeld om te verhoed dat ongewenste komponente die val binnegaan deur die eluaat na die atmosfeer uit te laat sodra die betrokke verbinding waargeneem word deur die detektor voor die val. Met behulp van die tweede inlaat kan 'n kalibrasiestandaard bygevoeg word vir die presiese bepaling van retensiedata met die sekondêre kolom.

In die eenvoudigste opstelling word slegs 'n konvensionele gaschromatograaf met 'n enkele inlaat, een detektor, twee verskillende kolomme en 'n diklaagval vir die fokussing van komponente gebruik. Instrumente wat spesiaal vir multidimensionele gaschromatografie ontwerp is, kan 'n magdom van funksionele elemente inkorporeer, soos kleplose skakelings, intermediêre valle, 'n addisionele inlaat, selektiewe detektors, dubbeloonde, outomatiese tydsisteme en vele meer. Sulke veelsydige instrumente is dikwels uniek en kan geprogrammeer word vir talle funksies, onder andere vir die oordrag van 'n enkele komponent vanaf 'n komplekse chromatogram met behulp van kernsnitte vir byvoorbeeld 'n spoorelement wat oorvleuel met die piek van 'n hoofkomponent of oplosmiddel.

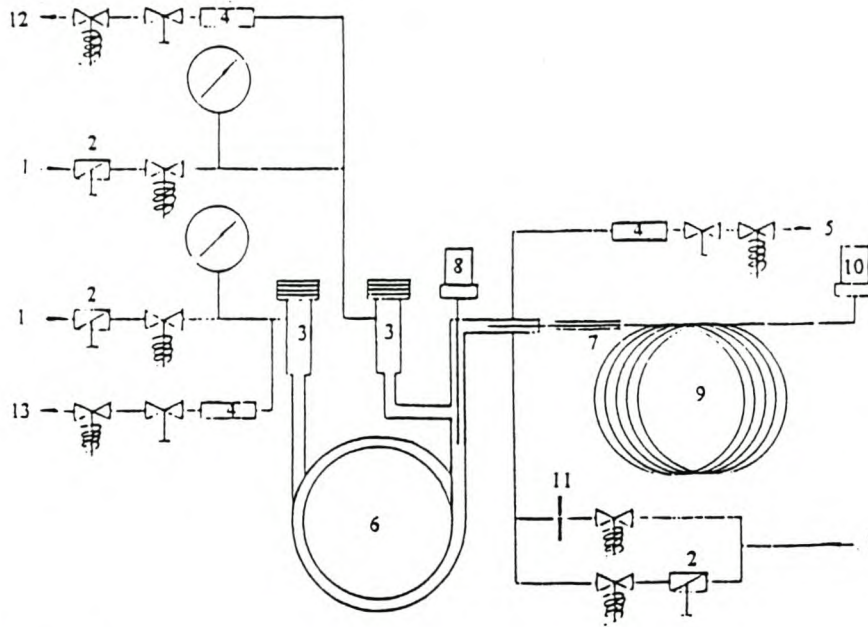
Figuur 2.15³⁸ toon die verskillende instrumentele sisteme vir chromatografiese skeidings wat uitgevoer word in enkel- en multikanaal asook multidimensionele sisteme wat gekarakteriseer word deur drie elemente naamlik 'n inspuitblok, kolom en detektor. In Figuur 2.15a word 'n enkelkanaalsisteam met 'n kolom wat belaag is met 'n stasionêre fase waarvan die polariteit vir optimum selektiwiteit en resoluksie gekies is, geïllustreer. Die skeiding word isotermies of met temperatuurprogrammering uitgevoer. Met temperatuurprogrammering verander absolute en relatiewe chromatografiese vlugtigheide (retensies en selektiwiteite) gedurende die chromatografiese proses. In die multikanaal sisteam wat in Figuur 2.15b getoon word, word twee parallelgeskakelde kolomme, wat verskillende polariteite behoort te hê, aangewend. Met behulp van inlaatstroomverdeling word dieselfde monster na albei kolomme oorgedra. Twee verskillende selektiewe detektors word gebruik om die eluering van die geskeide spesies te monitor. Uit retensiedata en piekareas kan die aanwesigheid van komponente met verskillende polariteite byvoorbeeld afgelei word, of komponente wat in een van die twee kolomme oorvleuel, gekwantifiseer word. Die sisteam in Figuur 2.15c is van die enkelkanaal tipe met betrekking tot die skeiding, maar is multikanaal met betrekking tot die parallelle waarneming met verskillende detektors. Figuur 2.15d toon 'n tipiese sisteam vir multidimensionele chromatografiese skeidings en word hier in meer diepte bespreek slegs met betrekking tot gaschromatografiese skeidings.



Figuur 2.15: Konfigurasië vir gekoppelde chromatografiese sisteme. (a) Enkelkanaalsisteam. (b) Multikanaalsisteam. (c) Enkelkanaal met betrekking tot skeiding en multikanaal met betrekking tot waarneming. 1-Inlaat; 2-Primêre kolom; 3-Sekondêre kolom; 4-Detektor 1; 5-Detektor 2; (d) Multidimensionele gaschromatografiese sisteam. 1-Eerste inlaat; 2-Detektor 1; 3-Primêre kolom; 4-Tweede inlaat; 5-Detektor 2; 6-Val; 7-Sekondêre kolom; 8-Detektor 3.

Figuur 2.16⁵ gee 'n beter voorstelling van 'n multidimensionele gaschromatografiese sisteam. Twee kolomme met verskillende polariteite word in serie gekoppel. Verkieslik word die temperatuur van die kolomme afsonderlik isotermies of temperatuur-geprogrammeerd beheer. Die koppeling van kapillêre kolomme met 'n klein binnedeursnit vereis miniatuur koppelstukke met 'n klein dooie volume waarvan die oppervlak ook gedeaktiveer is ten opsigte van adsopsie en katalitiese aktiwiteit. In baie gevalle kan 'n gepakte kolom as die primêre kolom gebruik word met die oog op die hoë monsterkapasiteit van sulke kolomme en die voordeel wat 'n groter monsterkapasiteit in spooranalises inhou. Die skeiding van geselekteerde snitte in die gekoppelde sekondêre kolom behoort egter uitgevoer te word met die hoë effektiwiteit van 'n kapillêre kolom om die maksimum resolusie te verkry. Verskillende sisteme is ontwikkel waarin die inspuitblok voor die primêre kolom of tussen die kolomme geplaas word, afhangende van die verlangde elueringsrigting in die primêre kolom tydens die voorafskieding. Detektors

word geïnkorporeer ná die inlaat, tussen die twee kolomme en aan die einde van die sekondêre kolom om beide die primêre en die sekondêre skeiding te monitor. Die seleksie van gepaste smal of wye snitte van die eluaat van die primêre skeiding berus op die resultate van voorafgaande toetskeidings wat met 'n detektor tussen die gekoppelde kolomme gemonitor word.



Figuur 2.16: Multidimensionele gaschromatografiese sisteem.

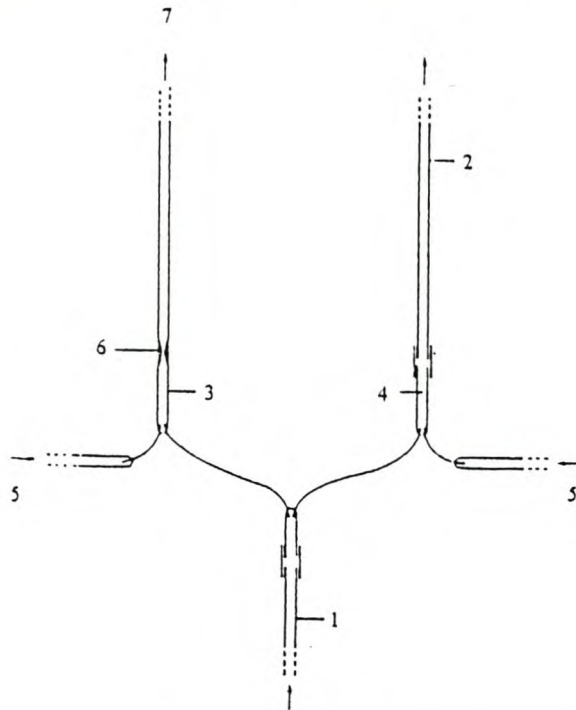
1-Draergas; 2-Drukreguleerder; 3-Inlaat; 4-Filter; 5-Verdeler; 6-Primêre kolom; 7-Val; 8-Kontrolle detektor; 9-Sekondêre kolom; 10-Detektor; 11-Inlaat vir addisionele gas; 12-Uitlaat na atmosfeer na primêre skeiding; 13-Uitlaat vir teruggespoelde komponente vanaf primêre kolom.

Die koppelingstukke vir kleplose vloeiverandering moet dus ook die dooie volume-vrye konneksie van 'n addisionele detektor tussen die kolomme toelaat om die skeidingsproses in die primêre kolom te monitor. *Via* hierdie koppelingstuk kan vir die omkeer van die vloeirigting in die primêre kolom en die oordrag van geselekteerde eluaatsnitte na die sekondêre kolom, voorsiening gemaak word. In die gevalle van terugspoeling vanaf die primêre kolom, of wanneer die monster met behulp van die inspuitblok tussen die kolomme ingespuut word en die primêre kolom in die omgekeerde rigting aangewend word as wat die draergas normaalweg vloei, kan die eluering van komponente ook gemonitor word deur 'n verdere detektor aan te bring by die tradisionele inlaat van die

primêre kolom. Dit is voordelig om sekere tipes monsters tussen die twee gekoppelde kolomme in te spuit indien die monster baie verdun is en oplosmiddels of hoofkomponente met kort retensietyd bevat. Die minder vlugtige komponente kan sterk teruggehou word in die inlaatgedeelte van die primêre kolom terwyl die vlugtige oplosmiddel hierdie kolom met 'n baie kort retensietyd verlaat. Die oordrag van die minder vlugtige komponente vanaf die inlaatgedeelte van die primêre kolom deur die hele lengte van die kolom na die sekondêre kolom neem lank, of moet versnel word deur die temperatuur van die primêre kolom of die draergasvloeï daardeur, te verhoog. Indien die monster tussen die kolomme ingespuut word en die vloeï in die primêre kolom is in die omgekeerde rigting, hoef die minder vlugtige komponente nie deur die primêre kolom te beweeg nie. Kort siklustyd kan dus in, byvoorbeeld, analises wat vir proseskontrole gebruik word, behaal word. Tussen die kolomme kan toestelle geïnkorporeer word vir die fokussing van die komponente in die eluaatsnit wat geselekteer is vir oordrag na die sekondêre kolom. Deur fokussing kan die resolusie van die betrokke skeiding heelwat verhoog word. Fokussing voor die sekondêre skeiding skakel die probleem van sogenaamde gemengde polariteite uit, wat sou beteken dat die finale retensietyd van die verskillende komponente 'n kombinasie sou wees van hulle retensie in kolomme met verskillende polariteite. Hoewel die verskynsel vir sekere toepassings nie 'n nadeel mag wees nie, kan die voordeel van die gebruik van 'n sekondêre kolom met 'n ander polariteit moontlik in sommige gevalle opgehef word. Indien die komponente na die voorafskeding in die primêre kolom gefokusseer word, word die skeiding in die sekondêre kolom slegs deur die polariteit van die sekondêre kolom beïnvloed.

In teenstelling met die bogenoemde hoë presisie werk het Grob 'n semi-geoutomatiseerde benadering voorgestel⁴¹. Figuur 2.17⁴¹ is 'n diagram van 'n mikroweergawe van 'n Deans-klep, gebou met Pt/Ir en glas. Die primêre kolom word gebruik vir chromatografie in die eerste dimensie en word opgestel in die gaschromatograaf. Die sekondêre kolom word buite die oond gehou by kamertemperatuur. Vloeïtoestande in die vertakkings 3 en 4 kan nou ingestel word deur verstelling van die drukke van die twee onafhanklike stikstoftoevoere 5. Om die verdeler by gepaste druk te hou word 'n restriksie 6 van die grootte-orde van die sekondêre kolom tussen die stikstofinlaat (aan die linkerkant) en die

vlamionisasiedetektor 7 geplaas. Die eluaat van die primêre kolom kan nou verdeel word volgens enige verdelingsverhouding tussen die detektor en die sekondêre kolom deur eenvoudig die relatiewe drukke van die stikstoftoevoere 5 te verander.

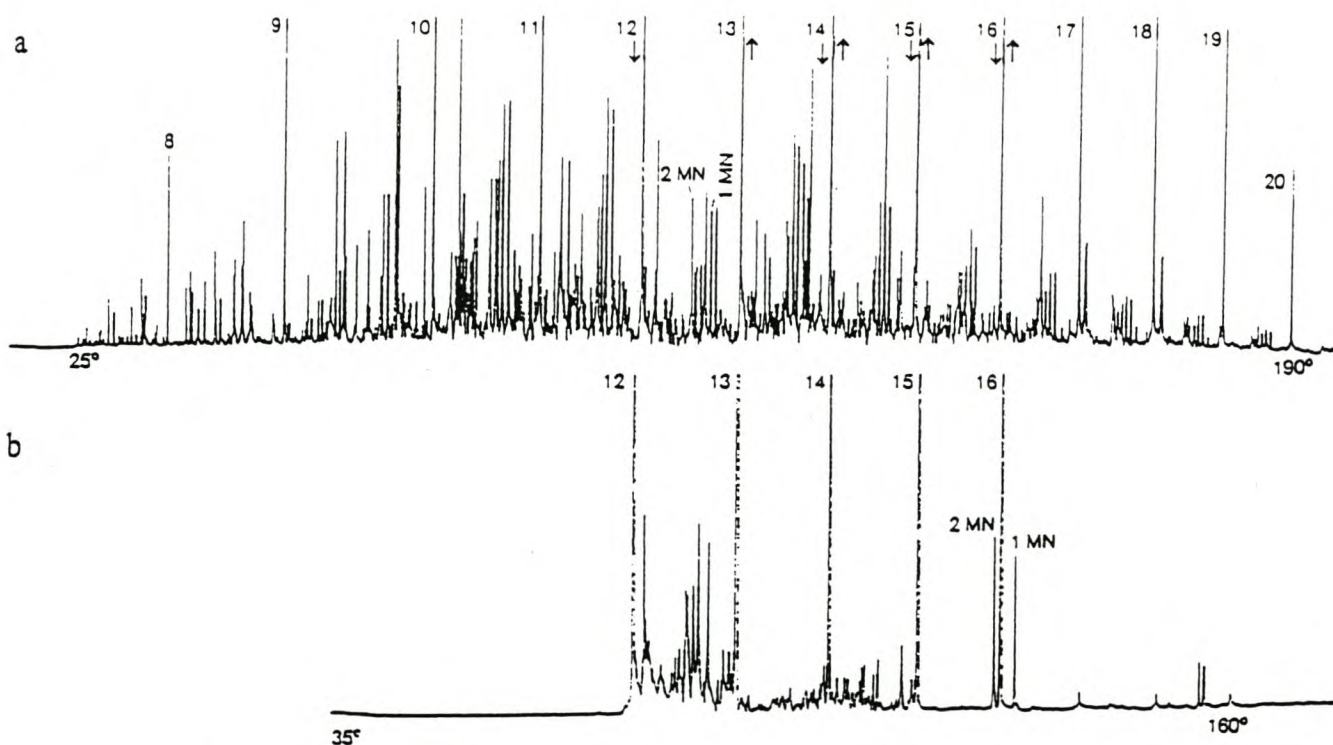


Figuur 2.17: Diagram van 'n verdelingstoestel vir beheerde oordrag van eluaat na onderskeidelik die vlamionisasiedetektor en die sekondêre kolom.

1-Uitlaat van primêre kolom; 2-Inlaat van sekondêre kolom; 3-Vertakking; 4-Vertakking; 5-Stikstoftoevoer; 6-Restriksie; 7-Vlamionisasie-detektor.

Figuur 2.18⁴¹ toon die chromatogramme verkry deur 'n toepassing van hierdie metode in 'n analise van diesel-olie. In Figuur 2.18a word 'n gaschromatogram gegee wat verkry is deur die totale eluaat deur die detektor te stuur. Met die eluering van $n\text{-C}_{12}$ is die druk in vertakking drie effens verhoog sodat ongeveer 40 persent van die eluaat oorgedra word na die sekondêre kolom. Nadat $n\text{-C}_{13}$ volledig geelueer het is die druk verlaag na die oorspronklike instelling. Gedurende die eluering van $n\text{-C}_{14}$, $n\text{-C}_{15}$ en $n\text{-C}_{16}$ is die eluaat vanaf die primêre kolom weer vir elkeen van hierdie komponente vir 'n paar sekondes deur die sekondêre kolom gestuur. Na afloop van die analise is die sekondêre kolom verwyder en in 'n ander gaschromatograaf geïnstalleer. Die chromatogram in Figuur 2.18b toon dat geen verlies van effektiwiteit voorgekom het as gevolg van hierdie

eenvoudige manipulasie nie. Die gemiddelde piekwydte is nouer as wat verwag word, wat 'n verrassende waarneming is aangesien daar verwag word dat die direkte koppeling van chromatografiese kolomme die finale bandwydte sou vergroot. Dit wil voorkom of 'n mate van termiese fokussing plaasgevind het in die sekondêre kolom. Die analise in die polêre sekondêre kolom lewer 'n meer gedetailleerde patroon van die verbindings wat elueer tussen $n\text{-C}_{12}$ en $n\text{-C}_{13}$ op die nie-polêre kolom. Die verbindings is nou uitgesprei en die isomeriese metielnaftaleen (1 MN en 2 MN) word noemenswaardig vertraag as gevolg van hul polariteit.



Figuur 2.18: Analise van diesel-olie. (a) Volledige chromatogram.

(b) Chromatogram van gedeelte oorgedra na 'n sekondêre kolom.

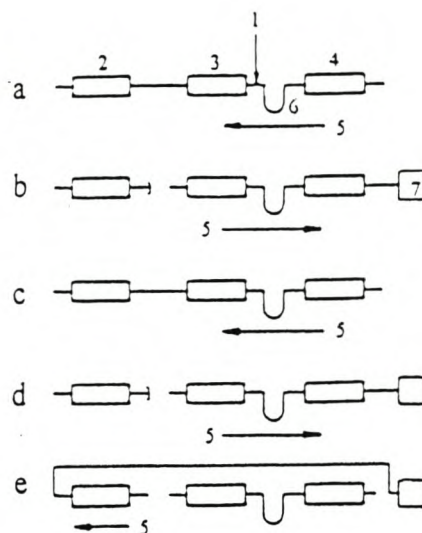
(Pyltjie af (↓) dui op die begin en pyltjie op (↑) dui op die einde van die oordrag na die tweede kolom).

1 MN - 1-metielnaftaleen; 2 MN - 2-metielnaftaleen.

Een van die eerste industriële toepassings van tweedimensionele gaschromatografie was die karakterisering van petroleum met betrekking tot die aanwesige paraffiene (P), naftene (N) en aromate (A). Ru-olie is 'n geweldige komplekse mengsel en analise daarvan in slegs een kolom lewer nie bruikbare inligting ten opsigte van die algehele samestelling nie, ongeag die kolomeffektiwiteit. Vir roetine klassifisering word geoutomatiseerde multidimensionele gaschromatograwe (PNA analiseerders) dus ekstensief in die industrie gebruik.

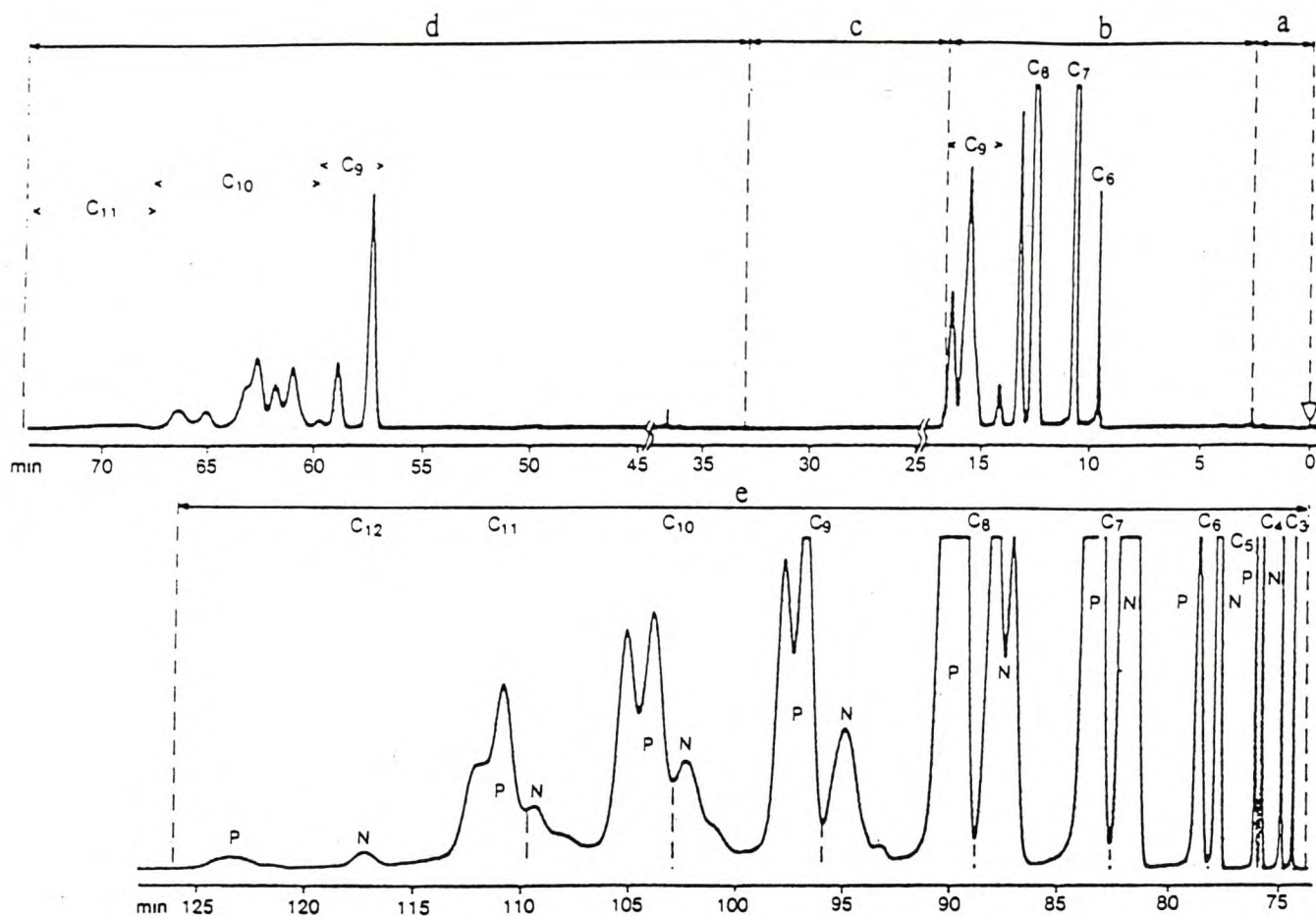
Boer en sy medewerkers het die beginsel van so 'n geoutomatiseerde analiseerder in 1971 beskryf⁴². Aromatiese koolwaterstowwe word geskei van die paraffien en naftene fraksie volgens polariteit en die naftene en paraffiene word op 'n molekulêre sif geskei. 'n Probleem ontstaan egter indien kookpuntskeidings hierdie groep-tipe skeiding teenwerk. Aromatiese koolwaterstowwe kan geredelik van paraffiene geskei word op kolomme met hoë polariteit, maar die selektiwiteit vir naftene is egter nie so gunstig nie. Die situasie kan verbeter word indien voorafskedings volgens kookpunte gedoen word, waardeur die fraksie wat die polêre kolom binnegaan beperk en oorvleueling dus verminder word. Figuur 2.19⁴² toon die beginsel van 'n geïntegreerde sisteem wat gebruik maak van drie verskillende tipes monster-substraat interaksies asook terugspoeling. Die monster word as 'n geheel ingespuut op die polêre kolom 3 en die ligte versadigde verbindings word geëlueer en gekondenseer op kolom 2 (Figuur 2.19a). Die oorblywende komponente in die polêre kolom 3 word vervolgens teruggespoel deur die kolom en geïmmobiliseer in die val 6 waarna dit herchromatografeer word op die nie-polêre kolom 4 en die ligte aromate geëlueer en waargeneem word (Figuur 2.19b). Die oorblywende komponente word weer teruggespoel deur die nie-polêre kolom 4 en geïmmobiliseer in die val 6 vir herchromatografering op die polêre kolom 3 waarvan die swaar versadigde verbindings nou geëlueer en op kolom 2 gekondenseer word (Figuur 2.19c). Komponente in die polêre kolom 3 word weer teruggespoel, geïmmobiliseer en op die nie-polêre kolom 4 gechromatografeer vir die eluering en waarneming van die swaar aromate (Figuur 2.19d). Laastens word kolom 2 aan die detektor 7 gekoppel en die naftene en paraffiene word geëlueer en waargeneem (Figuur 2.19e). Die funksie van die val is nie slegs om die fraksie wat teruggespoel word te versamel nie, maar ook om 'n skerp

monsterband vir die volgende skeiding te lewer. Figuur 2.20⁴² toon 'n reeks chromatogramme van hierdie groep-tipe skeiding. Resolusie van paraffiene en naftene is voldoende tot by ongeveer C₁₀. Verbeterings in hierdie komplekse instrumentasie is deur Boer beskryf²⁶.



Figuur 2.19: Skeidingstappe van PNA analiseerder. (a) Monster word as 'n geheel ingespuut op polêre kolom. Die ligte versadigde verbindings elueer en kondenseer op kolom 2. (b) Komponente in polêre kolom terugspoel, geïmmobiliseer in die val en herchromatografeer op nie-polêre kolom. (c) Terugspoeling van nie-polêre kolom, immobilisering en herchromatografering op polêre kolom. Die swaar versadigde verbindings elueer en kondenseer op kolom 2. (d) Komponente in polêre kolom terugspoel, geïmmobiliseer in die val en herchromatografeer op nie-polêre kolom. (e) Eluering en waarneming van naftene en paraffiene.

1-Inlaat; 2-Kolom; 3-Polêre kolom; 4-Nie-polêre kolom; 5-Draergasrigting; 6-Val; 7-Detektor.



Figuur 2.20: Chromatogram verkry met 'n PNA analiseerder. (a), (b), (c), (d) en (e) verwys na die prosedures in Figuur 2.19.

Die samestelling en verspreiding van olefiene in petroleum is ook van belang in petroleum-analises en die olefiene-inhoud word gewoonlik indirek bepaal deur selektiewe verwydering van sekere komponente uit die draergasstroom met behulp van 'n kolom. Hierdie metodes toon nie-selektiewe absorpsie probleme⁴³ tensy die temperatuur en vglvlak in die absorbeerder beheer word⁴⁴. Om dié probleme te oorkom is 'n noukeurige sisteem voorgestel waarin vyf kolomme gebruik word⁴⁵. Die algemene benadering hiervan lê baie klem op groep-tipe reaksies wat die gebruik van gepakte kolomme insluit. Kapillêre kolomme kom met die eerste oogopslag voor asof dit bestem is vir die analise van komplekse mengsels en is ook reeds gebruik in petroleum-analise⁴⁶. Dit is een van

die vroeë suksesse van hierdie tegnologie⁴⁷. Kapillêre kolomme is egter algemeen aangewend in ander aspekte van petroleum-analise en is eers later gebruik vir geoutomatiseerde analises⁴⁸.

Hoewel metodes soos kapillêre kolom GC-MS van smal fraksies die aanwendungsveld van tweedimensionele gaschromatografie kan uitbrei, veral as daar van 'n vlugtydmassaspektrometer en dekonvolusie sagteware gebruik gemaak word, word daar as gevolg van die hoë koste van só 'n sisteem, 'n bepaalde aanwendingsnis gesien vir 'n metode wat moontlik nie die hoogste skeidingseffektiwiteit mag lewer nie, maar wel 'n bekostigbare kombinasie van gaschromatografie en seker selektiewe detektors, soos byvoorbeeld 'n kwadрупoolmassaspektrometer beskikbaar sal stel. Dit was dus nodig om 'n ander metode te ontwikkel.

OMVATTENDE TWEEDIMENSIONELE GASCHROMATOGRAFIE

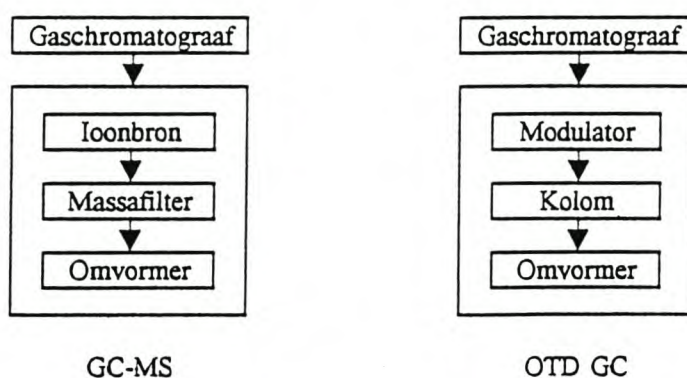
Multidimensionele gaschromatografie is nie algemeen deur navorsers as 'n skeidingstegniek aanvaar nie as gevolg van die ingewikkelde instrumentasie wat benodig word. Die aanwending van hierdie tegniek in roetine laboratoria is makliker uitvoerbaar as in navorsing laboratoria waar kolomme gereeld omgeruil word. Daar is ook tekortkominge in konvensionele tweedimensionele gaschromatografie waar van kernsnitte gebruik gemaak word. Gordon het byvoorbeeld 'n metode beskryf waarin kernsnitte geneem kan word by verskeie posisies in 'n komplekse gaschromatogram⁴⁹. Elke addisionele kernsnitbepaling vereis egter 'n addisionele skeiding op die primêre kolom. Wilkins het 'n instrument beskryf met veelvuldige koue valle waarmee verskeie kernsnitte vanaf een analise op die primêre kolom gestoor kan word vir opeenvolgende analises op 'n sekondêre kolom⁵⁰. In albei tegnieke is die aantal sekondêre chromatogramme beperk - in die eerste geval deur die tydsduur van die skeidings en die hoeveelheid monster wat benodig word vir die herhaaldelike chromatogramme, en in die

tweede geval deur die tydsduur en die beperkte aantal koue valle wat gebruik kan word. Afgesien van die feit dat meer as een kernsnit per analise geneem kan word vir verdere skeiding, is dit steeds nodig om verskeie analises van komplekse mengsels te doen om voldoende resolusie van al die oorvleuelende pieke te verkry. Om hierdie probleem te oorkom, is sogenaamde omvattende tweedimensionele gaschromatografie (OTD GC) as 'n ander moontlikheid ontwikkel. Die tegniek berus daarop dat die eluaat van die primêre kolom volledig na die sekondêre kolom oorgedra word.

OTD GC is 'n multidimensionele analitiese metode en is ook 'n voorbeeld van die familie van gekoppelde analitiese metodes waarin die gekoppelde tegnieke nie noodwendig skeidings is nie. OTD GC stem basies ooreen met gaschromatografie-massaspektrometrie (GC-MS) in die sin dat albei metodes onafhanklike analitiese tegnieke kombineer en omvattende tweedimensionele data genereer. OTD GC is egter nog 'n nuwe en redelik onontwikkelde tegniek. Dit het die potensiaal om die resolusie van gaschromatografiese skeidings dramaties te verhoog en kan dus toegepas word vir die analise van geweldig komplekse mengsels soos petroleumprodukte, terwyl dit ook die analisespoed vir minder komplekse mengsels kan verhoog. Enige mengsel wat meer as 30 komponente bevat sal waarskynlik vinniger geskei word met behulp van hierdie metode as met enige eendimensionele metode en enige mengsel wat meer as 'n paar honderd komponente bevat sal die gebruik van hierdie tegniek vereis.

GC-MS en OTD GC instrumentasie word in Figuur 2.21⁵¹ vergelyk. In albei instrumente word die monsterkomponente volgens 'n tydbasis deur 'n gaschromatograaf geskei waarna dit oorgedra word na die sekondêre analitiese instrument, óf individueel óf ten minste in grootliks vereenvoudigde submengsels. Die primêre skeiding skep 'n primêre retensietyd. Die sekondêre analitiese instrument tree op as 'n detektor vir die primêre gaschromatograaf. Anders as die meer algemene gaschromatografiese detektors het hierdie detektor 'n resolusie van sy eie en verskaf 'n onafhanklike analise van die geskeide monster wat uit die primêre gaschromatograaf elueer. In GC-MS ioniseer en fragmenteer die sekondêre instrument, 'n massaspektrometer, die monsterkomponente en versprei die fragmente langs 'n sekondêre massa-ladingverhouding (m/z) as. In OTD GC is die

sekondêre instrument 'n tweede gaschromatograaf wat die vereenvoudigde submengsels versprei langs 'n sekondêre retensietydas. In albei gevalle versprei die sekondêre instrument die monster langs 'n as wat gerieflikshalwe ortogonaal geplaas is met betrekking tot die primêre retensietydas om sodoende 'n tweedimensionele dataruimte te skep. Die ontwerp van die twee instrumente is in beginsel baie dieselfde. Om 'n GC-MS om te skakel na 'n OTD GC word die massaspektrometer eenvoudig vervang met 'n vinnige gaschromatograaf en die sekondêre as verander van 'n m/z -as na 'n retensietydas.



Figuur 2.21: Vergelykende skematiese diagram van GC-MS en OTD GC instrumentasie.

GC-MS en OTD GC verskil in een fundamentele aspek. In GC-MS kan een verbinding verskeie seine langs die sekondêre as genereer terwyl een verbinding slegs een sein by een spesifieke posisie langs die sekondêre as genereer in OTD GC. Dié verskil beïnvloed die interpretasie van die data vanaf die twee instrumente. GC-MS data kan eenvoudig geïnterpreteer word as 'n stel massaspektra waar die inlaatgaschromatograaf gebruik word om die monsterkomponente afsonderlik aan die massaspektrometer te voorsien. Die informasie-inhoud van die inlaatgaschromatograaf se retensietydas en die tweedimensionele aard van die data kan geïgnoreer word en vereenvoudig dus die data na eendimensioneel. Die vereenvoudiging is toelaatbaar aangesien die massaspektra alleen gewoonlik genoeg is om 'n verbinding te identifiseer en die inligting wat in die gaschromatografiese retensietye vervat is, meestal oorbodig is. Dié eienskap van GC-MS lei tot 'n probleem aangesien óf die primêre gaschromatografiese skeiding teen 'n hoë

resolusie moet geskied, óf die metode slegs toegepas kan word op relatief eenvoudige mengsels om te verseker dat alle verbindings geskei word en die massaspektra nie gekontamineer word deur oorvleuelende verbindings nie. Interpretasie van OTD GC data as eenvoudig 'n stel vinnige gaschromatogramme is oor die algemeen nie baie nuttig nie. Die twee retensiedasse bevat komplimentêre inligting en albei is nodig vir betroubare identifikasie van verbindings. Aangesien een verbinding slegs 'n beperkte en goedgedefinieerde gedeelte van die sekondêre as beslaan, hoef die primêre gaschromatograaf in OTD GC nie skeiding van alle verbindings te gee nie en kan dus laer resolusie lewer en gevolglik vinniger wees as die gaschromatograaf wat benodig word vir GC-MS. OTD GC data word algemeen voorgestel in volledige tweedimensionele vorm, eerder as individuele chromatogramme, om al die inligting te toon.

In konvensionele tweedimensionele gaschromatografie, ook bekend as tweedimensionele gaschromatografie met kernsnitte³, word ook twee verskillende chromatografiese kolomme in serie gekoppel. Dit is egter nie 'n omvattende gekoppelde metode nie aangesien die sekondêre instrument nie aangewend word vir chromatografie van die volledige eluaat van die primêre gaschromatograaf nie. Die sekondêre gaschromatograaf, wat beskou word as 'n onafhanklike instrument, is veels te stadig om te dien as 'n detektor vir die primêre gaschromatografiese kolom. In enige omvattende gekoppelde metode, GC-MS, OTD GC, of enige soortgelyke metode, moet die sekondêre instrument dus vinnig genoeg metings kan neem om die inligting wat in die primêre instrument verkry word, te behou. In 'n ware gekoppelde of OTD GC instrument opereer die sekondêre gaschromatograaf vinnig genoeg om ten minste een volledige chromatogram te genereer in die tyd wat een piek neem om te elueer vanaf die primêre kolom en dit moet moontlik wees om die primêre chromatogram te herkonstrueer uit die tweedimensionele data, net soos 'n chromatogram herkonstrueer kan word uit GC-MS data.

Die identifikasie van een verbinding in 'n komplekse mengsel mag 'n tweedimensionele skeiding vereis om die verbinding te isoleer, maar 'n omvattende skeiding is egter nie nodig indien die res van die mengsel nie van belang is nie. Vir hierdie toepassings is die kernsnitmetode meer geskik as OTD GC. Dit is analoog aan sekere vereenvoudigde

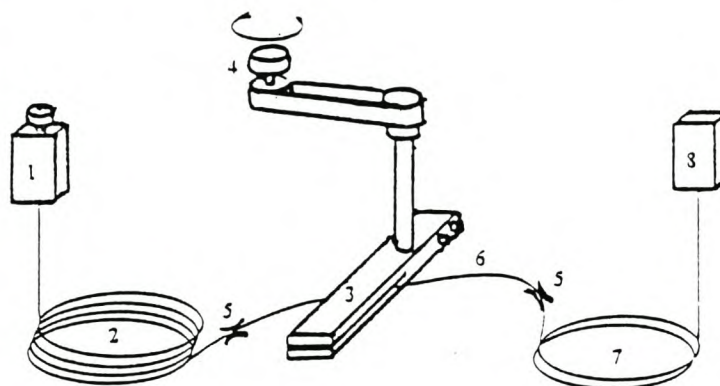
GC-MS metodes waarin die massaspektrometriese data óf by slegs een spesifieke retensietyd, óf die seinintensiteit vir een geselekteerde m/z -verhouding, oorweeg hoef te word.

Phillips en Xu se waarneming dat die skeidingsmeganismes in die twee dimensies van OTD GC onafhanklik is⁵¹, is aanvanklik verrassend aangesien beide dimensies gaschromatografie is en interaksie met monsterkomponente dus chemies dieselfde is. Daar sou moontlik verwag kon word dat verbindings wat in die primêre kolom sterk teruggehou word, ook sterk teruggehou sou word in die sekondêre kolom wat dan 'n tweedimensionele gaschromatogram met hoogs korreleerbare retensietye sou lewer. Die temperatuurprogram wat op albei die kolomme toegepas word, verlaag egter die retensie in die sekondêre kolom as 'n funksie van die skeidingsvordering in die primêre kolom en elimineer retensiekorrelasie. In die ontwikkeling van 'n gekoppelde metode is dit dus nie nodig om twee instrumente te gebruik wat gebaseer is op verskillende beginsels, soos byvoorbeeld GC-MS, nie. Twee soortgelyke instrumente kan ook gekoppel en ingestel word om ortogonale data te genereer.

Phillips het 'n dubbeloond sisteem beskryf vir OTD GC⁵¹ waar die twee kolomme verbind word deur 'n lengte chromatografiese kolom wat tussen die twee oonde by kamertemperatuur gehou word. Dié gedeelte dien as modulator. 'n Termiese modulator is 'n koppelingstoestel waarmee twee kapillêre kolomme in serie verbind word en waarmee die eluaat vanaf die primêre kapillêre kolom oorgedra word na die sekondêre kolom as 'n reeks skerp monsterpulse, deur elektriese verhitting van die modulator, wat geskik is vir hoë-spoed chromatografie op die sekondêre kapillêre kolom.

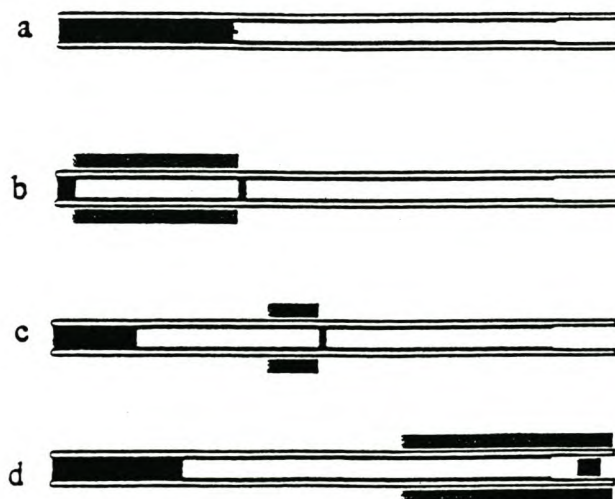
Onlangs is 'n termiese modulator ontwikkel wat met 'n vee-meganisme werk⁵². Dit bestaan uit 'n roterende gesplete verhitter wat oor die modulator beweeg in dieselfde rigting as die draergasvloei om sodoende 'n fraksie van die eluaat in die kolom te versnel. Die monsterkomponente in die verhitte gedeelte van die modulator word uit die stasionêre fase verplaas en vooruitgejaag totdat dit weer in die koeler stasionêre fase van die volgende gedeelte van die kolom vasgevang word en gevolglik word 'n skerp

chromatografiese band verkry aan die einde van die modulator. Figuur 2.22⁵³ is 'n voorstelling van die roterende verhitter en in Figuur 2.23⁵² word geïllustreer hoe 'n monsterpuls in die betrokke modulator gevorm word. Die instrument is egter onderhewig aan meganiese probleme en slegs twee van die sisteme wat deur vyf navorsingsgroepe ontwikkel is, het suksesvol gewerk.



Figuur 2.22: Skematiese diagram van tweedimensionele gaschromatografiese stelsel met 'n roterende verhitter termiese modulatorsisteam.

1-Inlaat; 2-Primêre kolom; 3-Verhitte spleet; 4-Motor; 5-Kolomkonneksie; 6-Modulatorkapillêr; 7-Sekondêre kolom; 8-Detektor.



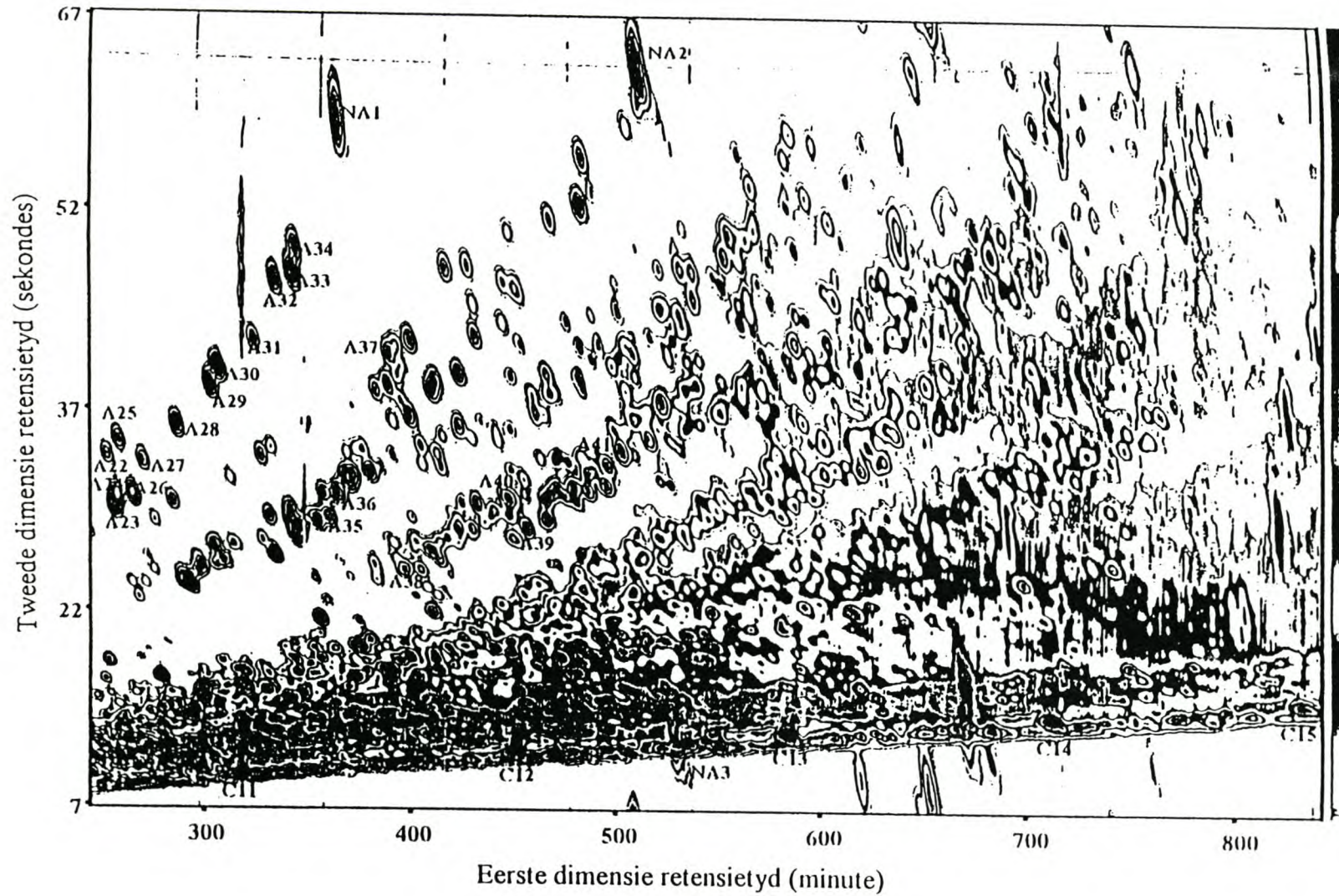
Figuur 2.23: Illustrasie van vorming van monsterpuls: (a) versameling, (b) snit, (c) fokussering, (d) dra monsterpuls oor na sekondêre kolom.

■ Analiete; ■ Bewegende verhite sone; — Kolom; — Stasionêre fase.

OTD GC is gedemonstreer deur Liu en Phillips⁵⁴. Die sleuteleienskappe van hierdie tegniek is die gebruik van 'n termiese modulator, asook om, deur temperatuur-programmering, die variasie van retensie in die sekondêre kolom as 'n funksie van die retensie in die primêre kolom moontlik te maak en die skeiding sodoende te orthogonaliseer^{55,56}. Die metode is reeds toegepas in die analise van komplekse petroleummengsels⁵⁷ asook die identifikasie van plaagdoders in menslike serum⁵⁸.

Figuur 2.24⁵¹ toon 'n gedeelte van 'n tweedimensionele gaschromatogram van kerosen. Die primêre kolom se retensietyd is gekalibreer in minute en dié van die sekondêre kolom in sekondes. Die chromatogram demonstreer duidelik dat die skeidings in die twee dimensies onafhanklik is. Die retensie van 'n verbinding langs die een as hou nie verband met die retensie daarvan langs die ander as nie. Byvoorbeeld, die *n*-alkene word langs die primêre kolom retensietyd versprei volgens hul vlugtigheide, maar het almal ongeveer dieselfde retensie op die sekondêre kolom retensietyd. Die eerste dimensie skeiding van hierdie homoloë reeks geskied as gevolg van die variasie in vlugtigheide. Lede van dié reeks word nie voldoende geskei in die tweede dimensie nie aangesien daar nie genoegsame verskille in enige chemiese eienskap van die verbindings, anders as vlugtigheide, is nie. Ander verbindings wat toevallig dieselfde vlugtigheid het as een van die *n*-alkene, word nie daarvan geskei in die eerste dimensie nie, maar dit word wel geskei in die tweede dimensie. Wat ookal die chemiese meganisme is waarvolgens verbindings langs die eerste dimensie retensietyd versprei word, is nie beskikbaar in die tweede dimensie nie. Die tweede dimensie skeiding moet dus gebaseer word op 'n ander en onafhanklike meganisme. In Figuur 2.24 is die skeiding in die eerste dimensie grootliks gebaseer op vlugtigheide aangesien die primêre kolom belaag is met 'n nie-polêre stasionêre fase. Skeiding in die tweede dimensie is minder afhanklik van vlugtigheide en meer van die polariteit van die verbindings aangesien die sekondêre kolom met 'n polêre fase belaag is.

Die chromatogram in Figuur 2.24 illustreer van die voordele van die OTD GC metode. Eerstens is die piekkapasiteit baie hoog, heelwat hoër as dié van enige praktiese eendimensionele chromatografiese skeiding. Die chromatogram in Figuur 2.24 het 'n



Figuur 2.24: Gedeelte van 'n tweedimensionele gaschromatogram van keroseen.

piekkapasiteit van 30 000 en bevat ongeveer 4 000 pieke. Tweedens is retensie in die tweede dimensie onafhanklik van retensie in die eerste dimensie en is dus 'n maatstaf van 'n sekondêre molekulêre eienskap. Aangesien die sekondêre kolom wat hier aangewend is meer polêr is as die primêre kolom, is die tweede dimensie retensie 'n aanduiding van die polariteit van die verbindings. Derdens word elke verbinding geïdentifiseer deur twee onafhanklike retensieydbepalings en kan dus meer akkuraat van ander verbindings onderskei word. Die sekondêre retensieydas gee bevestigende identifikasie, baie soos die m/z -as van GC-MS. Die identifikasie van geweldige komplekse mengsels met behulp van OTD GC sal meer akkuraat wees as identifikasie met GC-MS aangesien oorvleuelende verbindings beter geskei word. Vierdens bied die tweedimensionele chromatogram 'n baie meer volledige beeld van die mengsel as 'n geheel. Die verspreiding van verbindings volgens beide vlugtigheid en polariteit is voor die hand liggend en die struktuur in die chromatogram illustreer chemiese verwantskappe tussen die verbindings. Die besonderhede van die verspreiding van verbindings oor die retensievlak hang af van die stasionêre fases wat gebruik word.

Aangesien OTD GC baie meer inligting genereer as eendimensionele of kernsnit gaschromatografiese metodes, is dit redelik om te verwag dat die analyses langer sal neem. Meer informasie vereis 'n meer komplekse sein wat langer neem om te genereer en deur die detektor verwerk te word. Die temperatuurprogrammeerspoed wat gebruik is vir die chromatogram in Figuur 2.24 is redelik stadig, om tyd toe te laat vir die groot aantal sekondêre chromatogramme. Die gebruik van die primêre kolom by hierdie baie stadige verhitting affekteer nie waarneming en kwantifikasie nie aangesien die heelwat vinniger sekondêre kolom bepaal hoe lank 'n piek in die detektor verkeer. Die sensitiwiteit van OTD GC is oor die algemeen aansienlik beter as dié van hoë resolusie eendimensionele gaschromatografie aangesien pieke skerper en dus hoër is.

Aansienlik vinniger analyses is egter ook moontlik. Die spoed van die sekondêre kolom kan verhoog word sonder die verlies van resolusie deur eenvoudig die binnedeursnit en lengte te verminder. Die gebruik van 'n 50 μm sekondêre kolom in plaas van die 250 μm wat vir die chromatogram in Figuur 2.24 gebruik is, behoort die analisetyd met ten minste

'n faktor van vyf te verminder wat die tydsduur van hierdie metode vergelykbaar sou maak met dié van hoë resolusie eendimensionele gaschromatografie waarvan die resolusie 'n grootte-orde laer is. Vir minder komplekse mengsels kan albei kolomme verkort word om sodoende die analisetyd dramaties te verkort terwyl steeds groter piekkapasiteit verkry word as in enige praktiese eendimensionele metode. Die tydkonstante van die detektor beperk uiteindelik die analysespoed.

Hoë resolusie gaschromatogramme met komponente versprei oor twee of meer dimensies verskil fundamenteel van die bekende eendimensionele gaschromatogramme. Ondubbelsinnige inligting oor molekulêre eienskappe soos polariteit en vorm kan nou verkry word. Interpretasie en toepassing van hierdie inligting is egter steeds onderontwikkel. Patrone wat gevorm word deur 'n mengsel oor 'n retensievlak te versprei, het potensiële nut om die chemie van die mengsel as 'n geheel te verstaan, maar tans is daar nog baie min gedoen om hierdie inligting te interpreteer.

Die tegniese vereistes van OTD GC is groter as dié van konvensionele eendimensionele gaschromatografie, maar aansienlik minder as dié van ander aanvaarde gekoppelde instrumentele metodes soos GC-MS. Aangesien die metode nog redelik onontwikkel is, lyk dit tegnies meer uitdagend as wat dit behoort te wees. Sodra die nodige instrumentele komponente, soos termiese modulators en die rekenaarsagteware, kommersieel beskikbaar word, behoort die tegniek so roetine te word soos wat GC-MS tans is.

OTD GC is nie tot slegs twee dimensies beperk nie. 'n GC x GC x GC metode kan ontwikkel word deur drie onafhanklike chromatografiese skeidings te koppel. Elke volgende dimensie moet egter aansienlik vinniger wees as die vorige dimensie. Selfs 'n derde dimensie met 'n relatief lae piekkapasiteit kan nuttig wees aangesien die piekkapasiteit van multidimensionele omvattende gaschromatografie die produk is van die piekkapasiteite van die samestellende dimensies. GC x GC-MS wat gebruik maak van 'n vinnige massaspektrometer sal ook 'n baie kragtige analitiese metode wees.

VERWYSINGS

1. J.C. Giddings, *Anal. Chem.* **56** (12), 1258A – 1270A (1984).
2. J.C. Giddings, *Anal. Chem.* **39** (8), 1027 – 1028 (1967).
3. D.R. Deans, *Chromatographia* **1**, 18 – 22 (1968).
4. W. Bertsch, E.L. Anderson en M. Thomason, Two-Dimensional GC with Glass Capillary Columns and Selective Detectors; verwysing in W. Bertsch, *Recent Advances in Capillary Gas Chromatography*, Chromatographic Methods Series, Hüthig Verlag, Heidelberg, (1981), p. 3 – 55, verw. 77.
5. G. Schomburg, H. Husmann en F. Weeke, *J. Chromatogr.* **112**, 205 – 217 (1975).
6. N. Mellor, *Analyst* **96**, 164 – 171 (1971).
7. T.R. Kemp, *Phytochemistry* **14**, 2637 – 2638 (1975).
8. A. Zlatkis, J.W. Anderson en G. Holzer, *J. Chromatogr.* **142**, 127 – 129 (1977).
9. J.V. Brunnock en L.A. Luke, *Anal. Chem.* **40** (14), 2158 – 2167 (1968).
10. I.L. Martin, *J. Chromatogr.* **96**, 232 – 234 (1974).
11. C.R. Warner, M.C. Johnson, D.G. Preu en B.T. Kho, *J. Chromatogr.* **82**, 263 – 268 (1973).
12. D.J. McEwen, *Anal. Chem.* **36** (2), 279 – 282 (1964).
13. P.A. Schenck en C.H. Hall, *Anal. Chim. Acta* **38**, 65 – 71 (1967).
14. R.A. McCormack (red.), New Dedicated Gas Chromatograph Measures Benzene in Gasoline Using Latest ASTM Method; verwysing in W. Bertsch, *Recent Advances in Capillary Gas Chromatography*, Chromatographic Methods Series, Hüthig Verlag, Heidelberg, (1981), p. 3 – 55, verw. 35.
15. D.E. Willis, *Anal. Chem.* **50** (6), 827 – 830 (1978).
16. W.G. Jennings, S.G. Wyllie en S. Alves, *Chromatographia* **10**, 426 – 429 (1977).
17. K.A. Goode, *Chromatographia* **10**, 521 – 528 (1977).
18. J.A. Rijks en C.A. Cramers, *Chromatographia* **7**, 99 – 106 (1974).
19. J.A. Rijks, J.H.M. van den Berg en J.P. Diependaal, *J. Chromatogr.* **91**, 603 – 612 (1974).
20. R.E. Kaiser, *Chromatographia* **7**, 688 – 695 (1974).
21. F. Etzweiler en N. Neuner-Jehle, *Chromatographia* **6**, 503 – 507 (1973).

22. E.L. Anderson, Multidimensional High Resolution Gas Liquid Chromatography in Trace Organic Analysis: Heartcutting with Intermediate Trapping; verwysing in W. Bertsch, Recent Advances in Capillary Gas Chromatography, Chromatographic Methods Series, Hüthig Verlag, Heidelberg, (1981), p. 3 – 55, verw. 43.
23. G. Schomburg en F. Weeke, Gas Chromatography 1972, red. S.G. Perry, Applied Science Publishers, Barking, (1973), p. 285 – 294.
24. T. Haruki en M. Itaya, Linear Trap for Combined Gas Chromatography Analysis without Direct Coupling R-Stock; verwysing in W. Bertsch, Recent Advances in Capillary Gas Chromatography, Chromatographic Methods Series, Hüthig Verlag, Heidelberg, (1981), p. 3 – 55, verw. 54.
25. R.E. Kaiser, Anal. Chem. **45** (6), 965 – 967 (1973).
26. H. Boer, Gas Chromatography 1972, red. S.G. Perry, Applied Science Publishers, Barking, (1973), p. 109 – 132.
27. K.P. Hupe, Preparative Gas Chromatography, red. A. Zlatkis en V. Pretorius, Wiley Interscience, (1971), p. 143 – 162.
28. B. Hopkins en V. Pretorius, A Circuit for Rapid Heating of Traps; verwysing in W. Bertsch, Recent Advances in Capillary Gas Chromatography, Chromatographic Methods Series, Hüthig Verlag, Heidelberg, (1981), p. 3 – 55, verw. 57.
29. K. Grob en G. Grob, J. Chromatogr. Sci. **8**, 635 – 639 (1970).
30. K. Grob en K. Grob, Jr., J. Chromatogr. **151**, 311 – 320 (1978).
31. W. Bertsch, F. Hsu en A. Zlatkis, Anal. Chem. **48** (6), 928 – 931).
32. W. Bertsch, E.L. Anderson en G. Holzer, Chromatographia **10**, 449 – 454 (1977).
33. W.J. Kirsten en P.E. Mattsson, Anal. Letters **4**, 235 – 246 (1971).
34. W.J. Kirsten, P.E. Mattsson en H. Alfons, Anal. Chem. **47** (12), 1974 – 1979 (1975).
35. P.J. Marriot en R.M. Kinghorn, Anal. Chem. **69** (13), 2582 – 2588 (1997).
36. D.C. Fenimore, R.R. Freeman en P.R. Loy, Anal. Chem. **45** (14), 2331 – 2335 (1973).
37. I. Klimes, W. Stünzi en D. Lamparsky, J. Chromatogr. **136**, 23 – 36 (1977).
38. G. Schomburg, J. Chromatogr. **703**, 309 – 325 (1995).
39. C.J. Venkatramanie, J. Xu en J.B. Phillips, Anal. Chem. **68** (9), 1486 – 1492 (1996).
40. E.L. Anderson en W. Bertsch, Heartcutting with Glass Capillary Columns and Selective Detectors; verwysing in W. Bertsch, Recent Advances in Capillary Gas

Chromatography, Chromatographic Methods Series, Hüthig Verlag, Heidelberg, (1981), p. 3 – 55, verw. 75.

41. K. Grob, *Chromatographia* **8**, 423 – 433 (1975).
42. H. Boer en P. van Arkel, *Chromatographia* **4**, 300 – 308 (1971).
43. W.N. Sanders en J.B. Maynard, *Anal. Chem.* **40** (3), 527 – 535 (1968).
44. N.L. Soulages en A.M. Brieva, *J. Chromatogr. Sci.* **9**, 492 – 496 (1971).
45. H. Siegert, H.H. Oelert en J. Zajontz, *Chromatographia* **7**, 599 – 603 (1974).
46. R.E. Leveque, *Anal. Chem.* **39** (14), 1811 – 1818 (1967).
47. R.D. Schwartz en D.J. Brasseaux, *Anal. Chem.* **35** (10), 1374 – 1382 (1963).
48. M.G. Bloch, R.B. Callen en J.H. Stockinger, *J. Chromatogr. Sci.* **15**, 504 – 512 (1977).
49. B.M. Gordon, M.S. Uhrig, M.F. Borgerding, H.L. Chung, W.M. Coleman, III, J.F. Elder, Jr., J.A. Giles, D.S. Moore, C.E. Rix en E.L. White, *J. Chromatogr. Sci.* **26**, 174 – 180 (1988).
50. N. Ragunathan, K.A. Krock en C.L. Wilkins, *Anal. Chem.* **65** (8), 1012 – 1016 (1993).
51. J.B. Phillips en J. Xu, *J. Chromatogr.* **703**, 327 – 334 (1995).
52. J.B. Phillips, R.B. Gaines, J. Blomberg, F.W.M. v.d. Wielen, A. Dimandja, V. Green, J. Granger, D. Patterson, L. Racovalis, H. de Geus, J. de Boer, P. Haglund, J. Lipsky, V. Sinha en E.B. Ledford, Jr., *J. High Resol. Chromatogr.* **22**, 3 – 10 (1999).
53. J. Blomberg, P.J. Schoenmakers, J. Beens en R. Tijssen, *J. High Resol. Chromatogr.* **20**, 539 – 544 (1997).
54. Z. Liu en J.B. Phillips, *J. Chromatogr. Sci.* **29**, 227 – 231 (1991).
55. J.B. Phillips en Z. Liu, U.S. Pat. 5,135,549 (1992).
56. J.B. Phillips en Z. Liu, U.S. Pat. 5,196,039 (1993).
57. C.J. Venkatramani en J.B. Phillips, *J. Microcol. Sep.* **5**, 511 – 516 (1993).
58. Z. Liu, S.R. Sirimanne, D.G. Patterson, Jr. en L.L. Needham, *Anal. Chem.* **66** (19), 3086 – 3092 (1994).

HOOFSTUK 3

INSTRUMENTELE ONTWIKKELING

Hierdie navorsing en ontwikkeling van tegnieke het deur verskeie stadia gegaan. Antwoorde op die volgende vrae het aanleiding gegee tot nuwe idees en metodes:

- Hoe vinnig kan 'n vlekvrystaalbuis verhit word?
- Is addisionele afkoeling nodig om die staalbuis ná weerstandsverhitting in die gaschromatograaf vinnig af te koel?
- Hoe beïnvloed die dimensies van die metaalbuis die tempo waarteen dit verhit en afkoel kan word?
- Watter stroomsterkte is nodig vir verhitting van 'n vlekvrystaalbuis?
- Uit watter materiale, byvoorbeeld wolfram, kan die verhitte vervaardig word.
- Is dit nodig om van hoë spannings vir weerstandsverhitting gebruik te maak?

'n Kapillêre val waarin die analiete wat van die primêre kolom elueer vasgevang of geïmmobiliseer kan word, is die kernstuk van enige omvattende tweedimensionele gaschromatograaf. Soos in die vorige hoofstuk uiteengesit, is daar verskillende meganismes wat aangewend kan word om die eluerende analiete te immobiliseer, maar dit is belangrik om daarop te let dat die hermobilisering van die vasgevangde analiete op so 'n wyse moet geskied dat die materiaal in die vorm van 'n baie kompakte monster, oftewel 'n nou band in die sekondêre kolom ingelaat word. In die verdere bespreking sal na die kapillêr waarin die eluerende analiete vasgevang word as die *modulorkapillêr* verwys word. Indien van 'n metaalbuis wat byvoorbeeld elektries verhit word, gebruik gemaak word, sal na hierdie metaalbuis as die *verhitter* en na die kombinasie van die modulorkapillêr en verhitte as die *modulator* verwys word. Figuur 3.1 is 'n voorstelling van die modulator (die modulorkapillêr in die verhitte) met die modulorkapillêr gekoppel aan die primêre en sekondêre kolomme met behulp van drukkoppelstukke.



Figuur 3.1: Voorstelling van 'n modulator met die modulorkapillêr in die verhitte en gekoppel aan die primêre en sekondêre kolom.

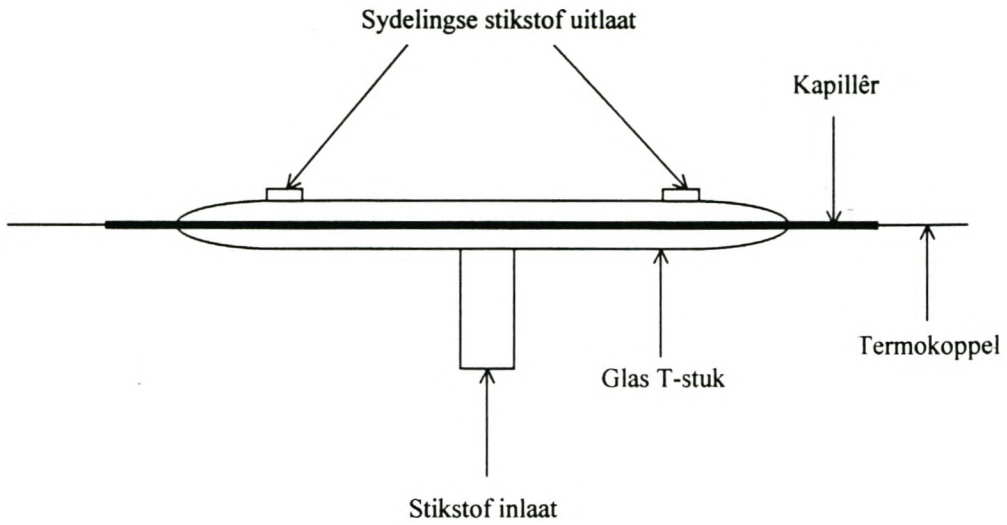
In hierdie projek is die manipulasie van die retensievermoë van die stasionêre fase in die modulorkapillêr onder andere ondersoek. Die volgende aspekte het aandag geniet:

- Afkoeling van die modulator
- Temperatuurbepaling van die modulator
- Sorbering (immobilisering) van die analiete in die modulorkapillêr
- Desorbering (hermobilisering) van die analiete in die modulorkapillêr

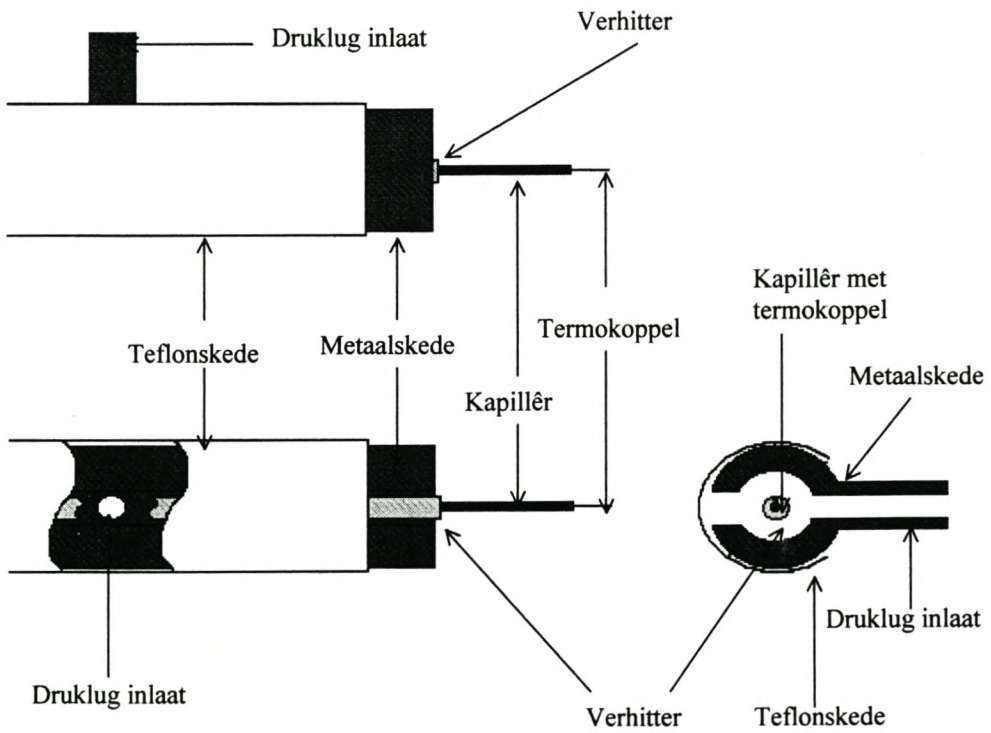
AFKOELING VAN DIE MODULATOR

Aanvanklik is die moontlikheid van fokussing van analiete deur afkoeling van die modulorkapillêr ondersoek. Eksperimente is eerstens uitgevoer met onderkoelde stikstof. 'n Glas T-stuk is vir die doel gemaak volgens die skets in Figuur 3.2. Daar is egter gevind dat daar selfs by 'n oondtemperatuur van 300°C ys om die kapillêr by die eindpunte van die T-stuk vorm ten spyte van die sydelingse uitlate wat aangebring is om juis hierdie probleem te voorkom. Die ysvorming het ongewenste afkoeling van die gedeeltes van die kapillêr wat by oondtemperatuur moet bly, tot gevolg.

Verdere afkoelingseksperimente is uitgevoer deur druklug oor 'n kapillêr te blaas met behulp van die opstelling wat in Figuur 3.3 getoon word. Omdat daar in hierdie beginstadium nog nie van elektroniese vloeibeheer gebruik gemaak is nie, kon die gasvloei nie akkuraat beheer word nie, wat tot nie-reproduseerbare afkoeling gelei het.



Figuur 3.2: Glas T-stuk vir afkoeling van modulator met behulp van onderkoelde stikstof.



Figuur 3.3: Opstelling vir afkoeling van die modulator met behulp van druklug.

As gevolg van die bogenoemde probleme is besluit om die fokuseringseksperimente voorlopig voort te sit sonder om van afkoeling gebruik te maak.

BEPALING VAN DIE TEMPERATUUR VAN DIE MODULATOR

Die bepaling van die temperatuur van die modulator met behulp van die smeltpunt van geskikte vaste stowwe is oorweeg aangesien beskikbare verbindings gebruik kan word en dit 'n baie eenvoudige metode is. Die metode lewer egter nie bevredigende resultate nie, aangesien dit nie moontlik is om die presiese temperatuur van die modulator te bepaal nie, maar slegs onderskei kan word tussen temperature bó of ónder die smeltpunt van die verbinding en indien die verbinding sublimeer, is selfs dié bepaling nie moontlik nie. Dit is ook nie prakties moontlik om die temperatuur van die modulator binne die gaschromatograafond met hierdie metode te bepaal nie, aangesien die kristalle van die betrokke verbinding(s) van die modulator afgewaaï sou word deur die turbulensie in die oond en dit ook nie moontlik is om die smeltproses in die geslote oond waar te neem nie. Dié metode kan ook nie aangewend word om die afkoeling van die modulator te volg nie.

Die volgende tegniek wat oorweeg is vir temperatuurbepaling, is die gebruik van 'n termokoppel wat in 'n onbelaagde kapillêr binne-in die verhitter geplaas is. Twee kapillêre met binnedeursnitte van onderskeidelik 0.2 mm en 0.1 mm sou gebruik word en aangesien termokoppels met die geskikte dimensies nie kommersieel beskikbaar is nie, is die termokoppels self vervaardig. Die verandering in termokopelspanning in millivolt is met behulp van 'n registreerder opgeneem en met behulp van beskikbare tabelle in °C omgesit. Temperatuurbepalings is vooraf as 'n afsonderlike eksperiment uitgevoer onder die kondisies wat in verdere eksperimente gebruik sou word aangesien dit vanselfsprekend nie moontlik is om gaschromatografiese werk te doen terwyl daar 'n termokoppel in die modulatorkapillêr aanwesig is nie.

SORBERING VAN ANALIETE IN DIE MODULATORKAPILLÊR

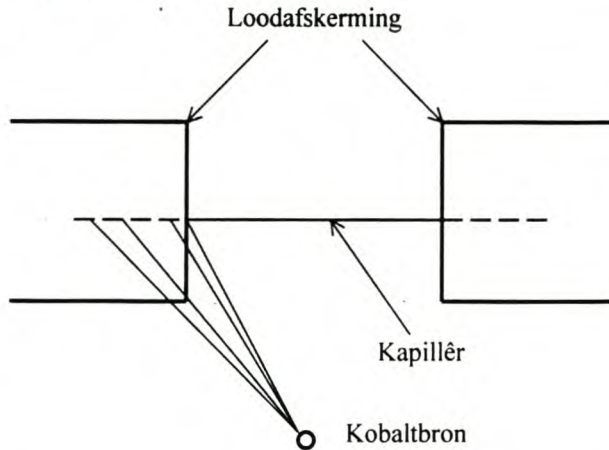
Soos in Hoofstuk 2 verduidelik is, word die analiete wat uit die primêre kolom elueer nie direk na die sekondêre kolom oorgedra nie, maar dit word eers tussen die kolomme gefokusseer. In die huidige navorsingsprojek is die analiete in 'n modulorkapillêr, belaag met 3 μm van 'n apolêre fase (polidimetielsiloksaan, PS-255), geïmmobiliseer. Op grond van vorige ondervinding met die aanwending van kapillêre valle vir die bepaling van vlugtige organiese verbindings¹ en die instrumentasie wat deur ander navorsingsgroepe vir tweedimensionele gaschromatografie ontwikkel is², is besluit om 'n modulorkapillêr met 'n lengte van 100 mm te gebruik. Vir vinnige en kwantitatiewe desorbering van die geïmmobiliseerde analiete is dit absoluut noodsaaklik dat die totale belaagde gedeelte van die modulorkapillêr verhit moet word en dus is besluit om die gedeelte wat met 'n dik laag fase belaag sou word tot 95 mm te beperk om aan hierdie vereiste te voldoen. Aan die inlaatkant van die modulorkapillêr is voorsiening gemaak vir 'n addisionele onbelaagde lengte van 50 mm wat aan die primêre kolom gekoppel sou kon word. Ten einde die effektiwiteit van die modulator te bepaal sou die modulorkapillêr eers direk aan die detektor van die gaschromatograaf gekoppel word, waarna die sekondêre kolom tussen die modulator en die detektor ingelas sou word om 'n omvattende tweedimensionele sisteem te vorm. In die vervaardiging van die modulorkapillêr is dus voorsiening gemaak vir 'n verdere 100 mm onbelaagde kapillêr ten einde die modulator volgens voorskrif van die vervaardigers van die gaschromatograaf (Carlo Erba Mega) direk aan die vlamionisasiedetektor te kan verbind.

Vir effektiewe modulering van analiete moet die gedeelte van die modulorkapillêr wat met 'n diklaag stasionêre fase belaag is, skerp begrens wees aangesien die vlugtige materiaal skerp tot 'n spesifieke area beperk moet word wanneer dit in die modulorkapillêr gesorbeer word, ten einde die materiaal skerp gefokusseer in die sekondêre kolom in te laat. Dit is ook uiters belangrik om presies te weet waar die diklaag begin en eindig vir die akkurate posisionering van die modulorkapillêr in die

verhitter. Ander navorsingsgroepe¹ het tot 'n mindere of meerdere mate daarin geslaag om aan hierdie vereiste te voldoen deur die verlangde lengte van 'n dikbelaagde kapillêr met behulp van 'n polisiloksaangom en kort, leë poliimiedbelaagde silika kolomme, wat dien as omhulsel oor die las, aan die primêre en sekondêre kolomme te koppel. Die gebruik van die polisiloksaangom in die twee baie kritiese posisies is egter problematies en die gebruik van die omhulsels sou meebring dat die modulorkapillêr nie uit die verhitter verwyder kan word sonder om die kapillêr tussen die belaagde deel en die omhulsel af te sny en dus die belaagde kapillêr te verkort nie. Daar is dus besluit om pogings aan te wend om die stasionêre fase uit gedeeltes van 'n dikbelaagde kapillêr uit te spoel. Dit is egter onmoontlik om die stasionêre fase uit 'n kapillêre kolom met 'n nie-polêre oplosmiddel, soos pentaan, uit te spoel sonder om die oorblywende fase te laat opswel en sonder om 'n gedeelte van die opgeloste fase dieper in die kolom te laat inbeweeg en sodoende 'n dikker laag in die omgewing van die fasetermineringsposisie te vorm. Dit is egter moontlik om so 'n fase op te los sonder om dit te laat opswel deur die nie-polêre oplosmiddel met 'n geskikte konsentrasie van 'n polêre oplosmiddel te verdun, byvoorbeeld deur 'n mengsel van pentaan en asetoon te gebruik.

Dikbelaging van 'n geskikte kapillêr, immobilisering van die stasionêre fase, oftewel kruiskoppeling, deur γ -bestraling³ van 'n gedeelte van die kapillêr, gevolg deur die uitspoeling van die onbestraalde stasionêre fase, is een van die metodes wat vir die vervaardiging van modulorkapillêre oorweeg is. 'n Opstelling bestaande uit loodblokke is vervaardig om die punte van die modulorkapillêr teen γ -bestraling af te skerm. Dit is bekend dat afskerming met 5 cm lood 'n 90% afname in die bestralingsdosis tot gevolg het. Aangesien besluit is op 'n dosis van 150 kGray (15 MRad) sou die gedeelte van die kapillêr wat onbestraal moet bly slegs aan 'n dosis van 15 kGray blootgestel word en volgens Bertsch *et al*³ sou kruiskoppeling in die afgeskermdede gedeeltes van die kapillêr met hierdie lae bestralingsdosis nie beduidend wees nie. 'n Vel deursigtige, harde plastiek is gebruik om die modulorkapillêr tydens die bestraling te stut. Die bestraling het die plastiek verkleur en dit het geblyk dat die bestraalde gedeelte nie skerp begrens is nie aangesien die strale vanaf die kobaltbron nie oral loodreg op die bestraalde gedeelte inval nie, maar wel teen 'n hoek. Die loodafskerming is dus nie voldoende vir die

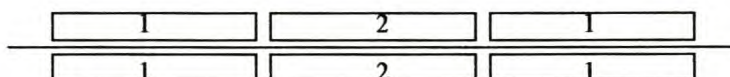
gedeeltes van die kapillêr wat die bestraalde gedeelte begrens nie. Die verduideliking word in Figuur 3.4 geïllustreer.



Figuur 3.4: Illustrasie van onvoldoende afskerming van gedeeltes van kapillêr wat bestraalde gedeelte begrens.

Die beskikbare Co^{60} bron het tans 'n aktiwiteit van 5000 Curie. Ten einde die verlangde bestralingsdosis van 150 kGray binne 'n aanvaarbare tydskuur te verkry, moes die kapillêr vir bestraling so na as moontlik aan die bron geplaas word. Soos uit Figuur 3.4 blyk, is die invalshoek sodanig dat die kapillêr aan geleidelike verandering van bestralingsdosis blootgestel sou word vanaf die blootgestelde 95 mm tot etlike sentimeters aan weerskante van die gedeelte wat veronderstel is om kruisgebind te word. Met 'n puntbron sou hierdie probleem oorkom kon word deur die konfigurasie van die afskerming te verander. Aangesien die Co^{60} bron nie 'n puntbron is nie, sou dit egter nodig wees om die kapillêr so ver as moontlik van die bron te plaas om die onvolledige afskerming van kapillêr te beperk. Die vertrek waarin die Co^{60} bron gehou word, is sodanig dat die kapillêr maksimaal 1.34 m van die bron geplaas kan word, wat na regte 'n onvoldoende afstand is. Maar selfs met hierdie afstand tussen bron en teiken sou bestaling met 'n dosis van 150 kGray egter reeds 29 weke duur, wat die metode as geheel onaanvaarbaar maak. Die modulorkapillêr wat volgens hierdie metode vervaardig is, kon dus nie gebruik word nie, maar kon nogtans benut word om vas te stel of die spoeling met 'n mengsel van aseton en pentaan 'n geskikte metode sou wees om die stasionêre fase wat nie kruisgebind is nie, uit die kapillêr te verwyder.

Kruiskoppeling van die stasionêre fase kan egter ook deur radikaalgeïnisieerde polimerisasie verkry word en 'n eenvoudige toestel is vervaardig wat dit moontlik maak om die verlangde gedeelte van 'n kapillêr te verhit en kruiskoppeling te verkry terwyl die gedeeltes waar kruiskoppeling nie moet plaasvind nie, koud gehou word. Figuur 3.5 is 'n eenvoudige voorstelling van die beginsel en Figuur 3.6 toon 'n foto van die toestel wat vervaardig is.



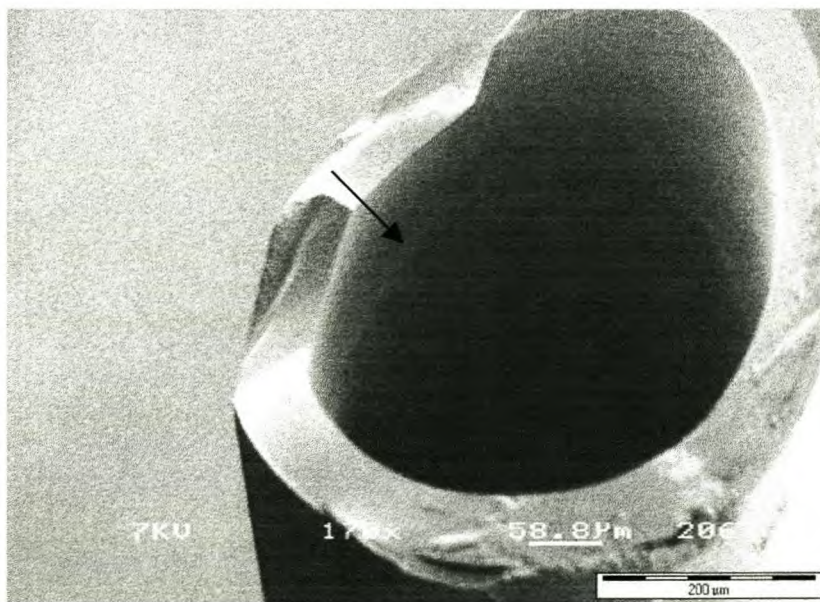
Figuur 3.5: Voorstelling van die toestel waarmee 'n gedeelte van die kapillêr verhit kan word terwyl die res van die kapillêr koud gehou word.

1-Aluminiumblokke afgekoel met ys; 2-Aluminiumblokke verhit tot 200°C



Figuur 3.6: Foto van die toestel waarmee 'n gedeelte van die kapillêr verhit kan word om radikaalgeïnisieerde polimerisasie van die stasionêre fase te verkry terwyl die res van die kapillêr koud gehou word.

Na voltooiing van die kruiskoppeling is die stasionêre fase uit die onverhitte gedeeltes gespoel. Die faseterminering in die modulorkapillêr is ondersoek deur elektronmikroskopie en 'n elektronmikroskoopfoto word in Figuur 3.7 getoon. Hoewel die posisie van terminering redelik duidelik op die skerm van die elektronmikroskoop gesien kon word, is die kwaliteit van die uitdruk in hierdie foto van só gehalte dat die terminering moeilik waargeneem kan word. In Figuur 3.7 word die terminering, wat as 'n effens ligter lyn gesien kan word, met 'n pyltjie uitgewys. Dit het geblyk dat die faseterminering nie absoluut skerp en egalig is nie, maar as die skaal van die foto in Figuur 3.7 in aanmerking geneem word, is dit duidelik dat die gebied waarvoor terminering plaasvind, minder as 0.1 mm is. Hieruit is dit duidelik dat die tegniek effektief is vir die vervaardiging van modulorkapillêre.



Figuur 3.7: Elektronmikroskoopfoto van faseterminering (uitgewys met 'n pyltjie) verkry met behulp van termiese radikaalgeïnisieerde polimerisasie van die fase in 'n silika kapillêr met 'n 0.53 mm binnedeursnit.

Dit sou vanselfsprekend onaanvaarbaar wees om 'n nuwe modulorkapillêr te moes gebruik elke keer as die verhitter omgeruil moet word. Dit was dus noodsaaklik om te

verseker dat 'n modulorkapillêr verwyder sou kan word nadat dit gebruik is. Dit het geblyk dat die poliimiedbelaagde kapillêr in die vlekvrystaal verhitte vasbrand. Hierdie probleem is opgelos deur beide die kapillêr en die metaalbuis deeglik met kolloïdale teflon te belaag.

DESORBERING VAN ANALIETE IN DIE MODULORKAPILLÊR

Desorbering van komponente in die modulorkapillêr deur die vinnige verhitting van die modulator, is vervolgens ondersoek. In die eksperimente wat uitgevoer is, is gebruik gemaak van weerstandsverhitting van 'n verhitte wat die modulorkapillêr styf omsluit. Daar is aanvanklik van 'n verhitte gebruik gemaak met buite- en binnedeursnitte van onderskeidelik 0.8 mm en 0.43 mm vir gebruik met modulorkapillêre met 'n binnedeursnit van 0.2 mm. Later is verhitters met buite- en binnedeursnitte van 0.52 mm en 0.34 mm vir hierdie doel gebruik en verhitters met buite- en binnedeursnitte van 0.32 mm en 0.16 mm is gebruik vir modulorkapillêre met 'n binnedeursnit van 0.1 mm. In die verdere bespreking word die dimensies van die verhitte deurgaans in die formaat *lengte x buitedeursnit x binnedeursnit* gegee.

VERHITTING VAN DIE MODULATOR MET BEHULP VAN 'n KRAGBRON EN REOSTAAT

Die vorming van ys om die modulorkapillêr in die eerste verkennende eksperimente in verband met modulering deur middel van afkoeling van die modulorkapillêr het gelei tot die besluit om modulering deur weerstandsverhitting, oorspronklik deur Phillips en Liu⁴ ontwikkel, weer te ondersoek. Antwoorde op die volgende vrae sou in hierdie verband gevind moes word.

- Is dit absoluut noodsaaklik om die termiese massa van die verhitte of verhittingselement(e) tot so 'n mate te beperk dat die gevaar bestaan dat die

element(e) kan uitbrand en is dit dus nodig om die modulotorkapillêr met 'n baie dun geleidende lagie te belaag?

- Sou dit moontlik wees om 'n baie dun metaalbuis vir die verhitting te gebruik in plaas van belaging van die modulotorkapillêr met 'n elektries geleidende materiaal?
- Sou dit moontlik wees om vir die hoër termiese massa van so 'n verhitter te kompenseer deur segmente van die buisie agtereenvolgens te verhit sodat die temperatuur van die eerste segment reeds weer die aanvangstemperatuur sou bereik voordat die laaste segment verhit word en die analiese die modulator verlaat?
- Watter tipe materiaal sou vir so 'n buisvormige verhitter in aanmerking geneem kan word? Is dit nodig om van 'n materiaal soos wolfram gebruik te maak of sou dit ook moontlik wees om byvoorbeeld vlekvrystaal wat makliker gemasjineer kan word, te gebruik?
- Sou elektriese weerstandverhitting met 'n lae spanning in plaas van 'n hoë spanning moontlik wees ten einde die risiko van werk met gevaarlik hoë spannings in die gaschromatograaf te skakel?

Na aanleiding van vorige ervaring in die Laboratorium vir Ekologiese Chemie is besluit om te probeer vasstel of die tentatiewe idees wat met hierdie vrae in verband staan, uitvoerbaar sou wees met 'n gesegmenteerde verhitter van vlekvrystaal wat elektries met behulp van redelike hoë stroomsterktes verhit sou moes word.

Dit was duidelik dat as 'n stroom van, byvoorbeeld, 10 A 'n segment van die verhitter tot 'n plafontemperatuur van byvoorbeeld 200°C sou verhit, die temperatuur oor die laaste gedeelte van die inkrement, van byvoorbeeld 180°C tot 200°C, relatief stadig sou plaasvind, wat vir die beoogde toepassing onaanvaarbaar sou wees. Die verlangde vinnige verhitting tot 200°C sou egter moontlik verkry kon word deur, byvoorbeeld, 15 A te gebruik, maar die elektriese stroom na 'n fraksie van 'n sekonde af te skakel sodra die verlangde temperatuur van 200°C bereik is. Hierdie benadering, naamlik die gebruik van vinnige en kort temperatuurinkrementpulsse, stem ook ooreen met die idee om die verhitter nie as 'n geheel te verhit nie, maar wel deur die opeenvolgende verhitting van segmente van die verhitter (*vide infra*). Ten einde hierdie idee uit te toets is 'n

spanningsbron en 'n swaarstroomreostaat gebruik. As verhitte is 'n vlekvrystaalbuis met 'n buitedeursnit van 1.60 mm en 'n binnedeursnit van 0.30 mm met behulp van ferrichloried tot 'n buitedeursnit van 0.80 mm en 'n binnedeursnit van 0.43 mm geëts. Dik koperkabels is aan die twee punte van 'n 70 mm lengte van hierdie buis gekoppel en die plafontemperatuur wat met verskillende reostaatinstellings behaal kan word, is bepaal. Die resultate word in Tabel 3.1 gegee. Uit die inligting in Tabel 3.1 is dit duidelik dat die verhoging van die spanning van 0 tot 1.0 V oor die verhitte by 'n oondtemperatuur van byvoorbeeld 100°C 'n plafontemperatuur van 200°C, dit wil sê 'n inkrement van 100°C, sou lewer. Deur die spanning van 0 tot $1 + 50\% = 1.5$ V te verhoog en daarna oombliklik te verminder tot 'n waarde om die verlangde temperatuur te handhaaf (instandhoudingsspanning), is die temperatuur van die verhitte baie vinniger tot die plafontemperatuur van 200°C verhit, wat getoon het dat die beoogde resultaat op hierdie manier behaal kon word.

Daar is besluit om vir verdere werk gebruik te maak van verhitters met 'n kleiner binnedeursnit wat styf sou pas om 'n kapillêr met 'n binnedeursnit van 0.2 mm en 'n buitedeursnit van 0.34 mm. Daar is ook besluit om 'n buis met 'n dunner wandsterkte te gebruik om vinniger verhitte en afkoeling moontlik te maak. Aangesien etsing van die vlekvrystaal baie tyd in beslag neem en egalige etsing feitlik onmoontlik is, is besluit om vlekvrystaalbuise met geskikte dimensies, naamlik 110 mm x 0.7 mm x 0.34 mm, deur die firma Schoeller Werk (Hellenthal/Eifel, Duitsland) te laat vervaardig. Daar is later besluit om die buitedeursnit van hierdie buise nog verder te verklein tot 0.52 mm deur etsing met die ferrichloriedoplossing op dieselfde wyse as vir die vorige verhitters.

In die ontwerp van verhitters is besluit om nie die koperdrade direk aan die verhitte te soldeer nie aangesien die hoë hittekapasiteit van die relatief dik koperdraad wat nodig is om die swaar stroom te dra, tot gevolg sou hê dat die temperatuur by elke kontakpunt laer as die teikentemperatuur van die modulator sou wees. Daar is dus gebruik gemaak van oorgangskontakte (10 mm lank), van dieselfde materiaal en deursnit as die verhitte, wat aan die verhitte gesoldeer is en die koperdrade is aan hierdie kontakte gesoldeer. Daar is

Tabel 3.1: Plafonspanning en instandhoudingspanning vir verhitting van die ongesegmenteerde verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) by verskillende oondtemperature tot verskeie stabiliseringstempore binne 1 sekonde.

| Oondtemperatuur (°C) | Plafonspanning (V) | Instandhouding- spanning (V) | Resulterende Buistemperatuur (°C) |
|-------------------------|-----------------------|------------------------------------|---|
| 50 | 1.0 | 0.7 | 103 |
| | 1.4 | 1.0 | 157 |
| | 1.8 | 1.15 | 202 |
| | 2.1 | 1.4 | 256 |
| | 2.35 | 1.6 | 298 |
| 100 | 1.15 | 0.75 | 150 |
| | 1.5 | 1.0 | 200 |
| | 1.8 | 1.25 | 251 |
| | 2.0 | 1.4 | 302 |
| 150 | 1.05 | 0.75 | 205 |
| | 1.45 | 1.0 | 254 |
| | 1.65 | 1.25 | 300 |
| 200 | 1.15 | 0.75 | 254 |
| | 1.45 | 1.0 | 302 |
| 250 | 1.15 | 0.8 | 305 |

van uiters klein hoeveelhede silwersoldeersel gebruik gemaak om die oorgangskontakte aan die verhitter te soldeer om te verhoed dat die soldeersel oor 'n groot gebied vloei waardeur die elektriese geleidingsvermoë verbeter sou word en die temperatuurinkrement dus laer sou wees in die omgewing van die soldeerlas. Die eerste en laaste oorgangskontakte is 5 mm van die twee punte van die metaalbuis aangebring om 'n verhitter met 'n effektiewe lengte van 100 mm te lewer. Vir die gesegmenteerde verhitters (twee, vier, ses, agt en tien segmente) is die nodige aantal oorgangskontakte op

die metaalbuis gespaseer om segmente van ekwivalente lengte te gee. Kontak met die kragbron is bewerkstellig deur koperdrade met 'n deursnit van 1.3 mm vir die ongesegmenteerde verhitter en 0.85 mm vir die gesegmenteerde verhitters, aan die oorgangskontakte te soldeer. Figuur 3.8 toon 'n skets van 'n ongesegmenteerde verhitter.



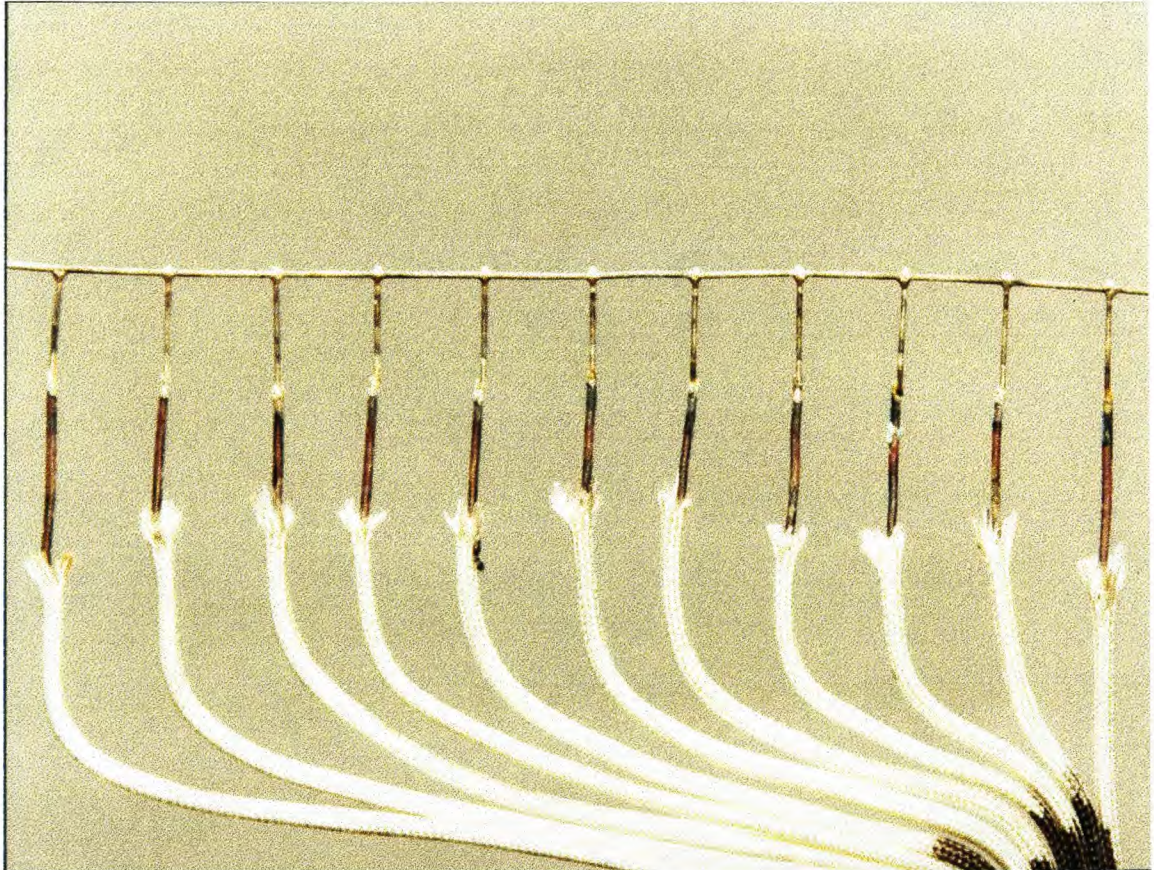
Figuur 3.8: Skets van 'n ongesegmenteerde verhitter.

Om die etsing van metaalbuis heeltemal uit te skakel is vlekvrye staalbuis met die dimensies 110 mm x 0.52 mm x 0.34 mm asook buise met 'n kleiner binnedeursnit en naastebly dieselfde wandsterkte (110 mm x 0.32 mm x 0.16 mm) vir die gebruik met die 0.1 mm kapillêr, laat maak. 'n Reeks verhitters met onderskeidelik twee, vier, ses en agt segmente is van die dunner buise vervaardig op dieselfde wyse as wat hierbo beskryf is.

In verdere eksperimente is dus gebruik gemaak van die langer metaalbuis (110 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) met heelwat dunner wandsterkte wat vinniger verhit kan word en ook vinniger en verder afkoel tussen verhittings. Groter verhittingsinkremente is ook ondersoek aangesien 'n vorige eksperiment met die 70 mm buis getoon het dat die benodigde elektriese stroom vir verhitting, nie onhaalbaar behoort te wees nie.

Twee ontwikkelings het uit hierdie en ander voorlopige eksperimente voortgevloei. Dit was gou duidelik dat dit onmoontlik sou wees om 'n reostaat op hierdie manier meganies reproduceerbaar te manipuleer. In die voorafgaande eksperimente is gebruik gemaak van 'n ongesegmenteerde verhitter wat as 'n eenheid verhit is. Daar is vermoed dat die verlangde fokussing van die chromatografiese band wat in die modulorkapillêr gesorbeer is, nie met eenmalige verhitting van die modulator verkry sou kon word nie. Die verdeling van die verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) in segmente, byvoorbeeld tien segmente van 10 mm elk, en die vinnige opeenvolgende verhitting van

die segmente, sou dus oorweeg moes word. Die doel van die opeenvolgende verhitting van die segmente is om, deur 'n effek wat as termiese skandering beskryf kan word, benaderd dieselfde tipe fokussing te verkry as met die bewegende verhitter wat deur Phillips *et al*² beskryf is. Figuur 3.9 toon 'n foto van die 10-segment verhitter.



Figuur 3.9: 'n Foto van die 10-segment verhitter.

AANWENDING VAN 'n REKENAARBEHEERDE KRAGBRON

Dit is duidelik dat dit onmoontlik is om die tien segmente van die verhitter agtereenvolgens vinnig en reproduceerbaar te verhit volgens die metode wat, soos genoem is, met 'n enkele segment reeds uiters moeilik was. Die behoefte het dus ontstaan

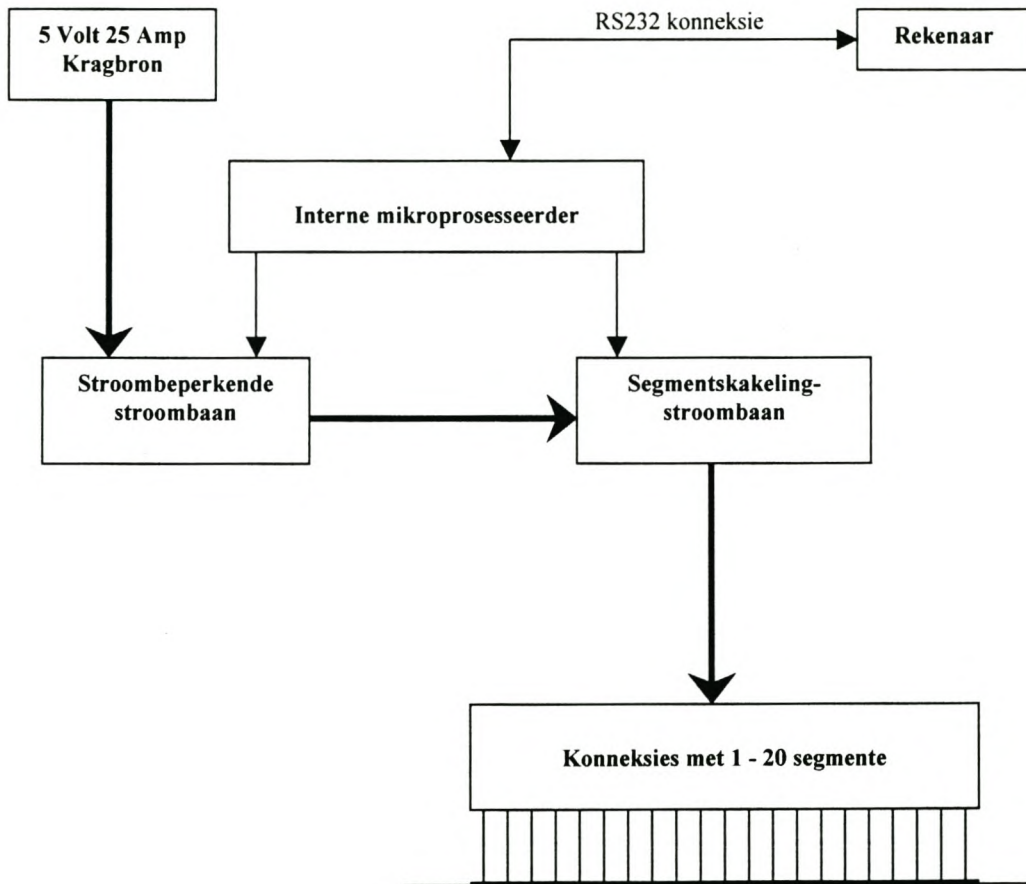
aan instrumentasie waarmee die stroom wat deur die verhitte gestuur word en die verhittingstyd* vir elke segment van die verhitte, akkuraat beheer kan word. Die Sentrale Elektroniese Dienste (SED) van die Universiteit van Stellenbosch het 'n toestel ontwerp in ooreenstemming met die basiese konsep wat in Figuur 3.10 geïllustreer word en die nodige sagteware ontwikkel vir 'n sisteem waarmee 'n kragbron *via* 'n rekenaar beheer kan word om 'n stroom van 1 tot 20 A vir enige tydspan tussen 10 en 2500 ms deur elke segment van die verhitte te stuur. Daar is voorsiening gemaak vir die verhitte van 1 tot 20 segmente. Uit eksperimentele werk is gevind dat 'n stroom van meer as 10 A onnodig hoog is en SED het 'n verdere twee kragbronne gebou wat slegs verskil van die prototipe in die opsig dat hulle 'n stroom van 1 tot 10 A kan lewer. Die skakelingsproses word beheer deur 'n mikro-prosesseerder. Die verhitteparameters word deur die rekenaar aan die apparaat oorgedra en gestuur in die geheue van die apparaat wat dan die bevele sonder verdere interaksie met die rekenaar uitvoer.

Met behulp van die sagteware kon die kragbron geprogrammeer word ten opsigte van die stroom, die verhitte per segment asook die aantal segmente, maar die kragbron moes fisies met behulp van die rekenaar aangeskakel word vir elke reeks verhitte siklusse en daarna weer afgeskakel word. Dié sagteware het ook nie voorsiening gemaak vir 'n wagtyd tussen verhitte nie. Die sagteware is egter later aangepas om voorsiening te maak vir die outomatiese aan- en afskakeling van die kragbron vir verhitte van die modulator vir geselekteerde periodes gedurende lang analises. Dit is gedoen deur die aanvang en die tydspan van elke reeks verhitte siklusse in 'n eenvoudige program in te voer (Figuur 3.11). Die kragbron word dus op elk van die geprogrammeerde tye outomaties aangeskakel en skakel weer outomaties af na voltooiing van 'n reeks siklusse. Die nuwe sagteware het ook

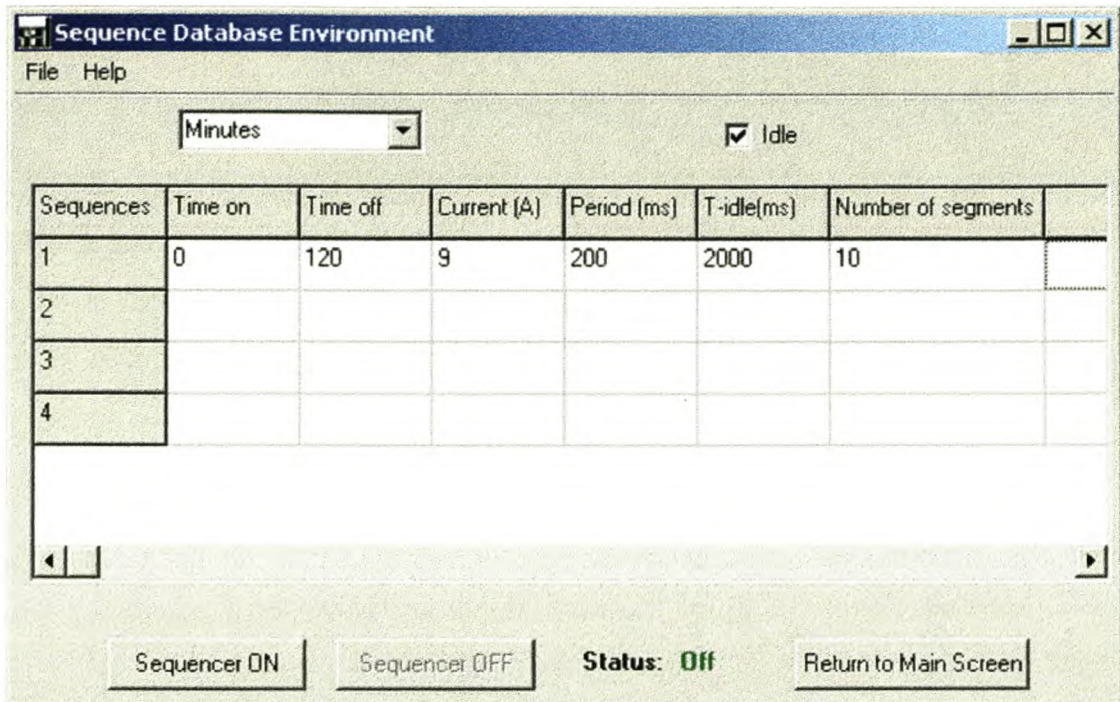
* In hierdie stadium is dit nodig om eenvoudige definisies te gee van terme wat vervolgens in die bespreking gebruik gaan word:

| | |
|-----------------|---|
| Verhitte | Die tyd wat dit neem om al die segmente van die modulator een keer te verhit, tensy die verhitte per segment gespesifiseer word. |
| Wagtyd | Die tyd tussen die verhitte van die laaste segment van die modulator en die volgende verhitte van die eerste segment van die modulator. |
| Verhitte siklus | Die som van die verhitte en die wagtyd. |

voorsiening gemaak vir die inkorporering van 'n wagtyd van 100 ms tot 100 s tussen opeenvolgende verhittings. Die aan- en afskakeling van die stroom word tans beheer deur *relais* waarvan die reaksietyd nie vinnig genoeg is nie. Die probleem kan oorkom word indien die *relais* gesluit bly en die stroom aan- en afgeskakel word met behulp van veld-effek transistors (*field effect transistors, FET*). Om hierdie verandering aan te bring, sal die sagteware later aangepas moet word.



Figuur 3.10: Diagrammatiese voorstelling van die rekenaarbeheerde kragbron.

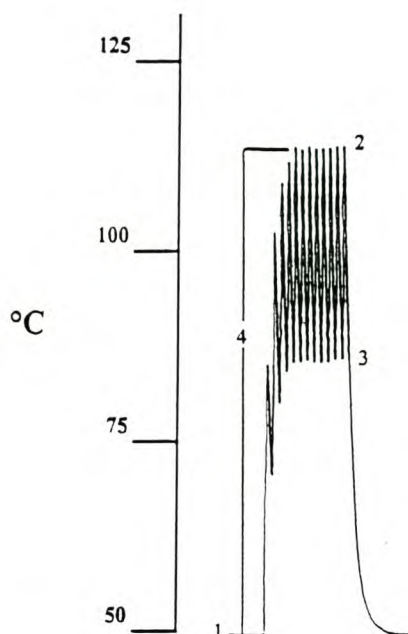


Figuur 3.11: Die program waarin parameters gevoer word vir beheer van die kragbron.

"Time on" en "Time off" dui die tydstop aan, keuse tussen minute en sekondes, waarop die kragbron aan- en afgeskakel word.

Verskeie probleme wat hieronder kortliks uiteengesit word, is geïdentifiseer en moes aandag kry voordat die sisteem gekalibreer kon word.

- Indien die modulator siklies met kort intervalle verhit word, is die temperatuur wat bereik word met die eerste verhitting laer as die daaropvolgende verhittings-temperatuur. Hierdie verskynsel is toegeskryf aan die feit dat die modulator nie weer tot die oondtemperatuur afkoel voordat die volgende verhittingsiklus begin nie en die modulatortemperatuur dus opbou totdat 'n gestabiliseerde maksimum- en minimum-temperatuur bereik word. Die verskynsel word duidelik waargeneem in die temperatuurprofiel in Figuur 3.12. Hierdie effek hoef nie noodwendig 'n probleem te wees nie aangesien sikliese verhitting in elk geval gebruik sal word in gaschromatografiese analises en geen analiese waarskynlik gedurende die eerste paar siklusse sal elueer nie. Na hierdie eerste paar siklusse word 'n stabiele toestand bereik wat betref die minimum en maksimum temperatuur wat bereik word.



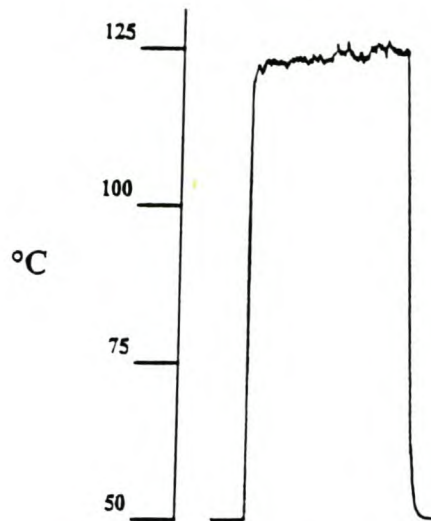
Figuur 3.12: Temperatuurprofiel wat die opbou van die modulortemperatuur demonstreer: 50°C isothermiese oondtemperatuur, 10-segment verhitter, 11 A, 1 s verhitting, geen wagtyd tussen verhittings.

1 – Oondtemperatuur; 2 – Plafontemperatuur; 3 – Minimum temperatuur van die segment tussen verhittingsiklusse; 4 – Verhittingsinkrement, ΔT .

- Die temperatuur wat met die eerste verhitting van die modulator bereik word is nie reproduseerbaar nie. Die invloed van die turbulensie in die gaschromatografiese oond en die temperatuurtoename van die geleidingsdrade (wat nie regtig as problematies beskou is nie, maar tog in ag geneem is) asook die toestand van die verskillende kontakpunte in die instrumentasie is ondersoek, maar geen verbetering in die resultate is waargeneem nie. Professor T. Welsch⁵ het daarop gewys dat rekenaars teen 'n sekere ritme werk as gevolg waarvan dit nie op enige arbitrêr gekose tydstop met gekoppelde instrumentasie, soos die kragbron, kan kommunikeer nie. Hierdie eienskap van 'n rekenaar beïnvloed nie die alledaagse gebruiker nie, maar aangesien hier met uiters kort tye gewerk word, het dit 'n beduidende invloed op die resultate. Hierdie probleem het egter net betrekking op die eerste verhitting van die modulator aangesien die opdrag vir die herhaalde verhitting van die modulator volledig aan die kragbron oorgedra word en dit slegs weer 'n opdrag van die rekenaar ontvang om af te skakel. 'n Metode om die probleem te vermy is deur die kragbron nie met behulp van

die rekenaar aan te skakel nie, maar met die skakelaar wat op die kragbron self vir hierdie doel aangebring is. In normale analyses wat etlike ure mag duur en waar die modulator voortdurend siklies verhit sal word, speel hierdie probleem vanselfsprekend nie 'n rol nie.

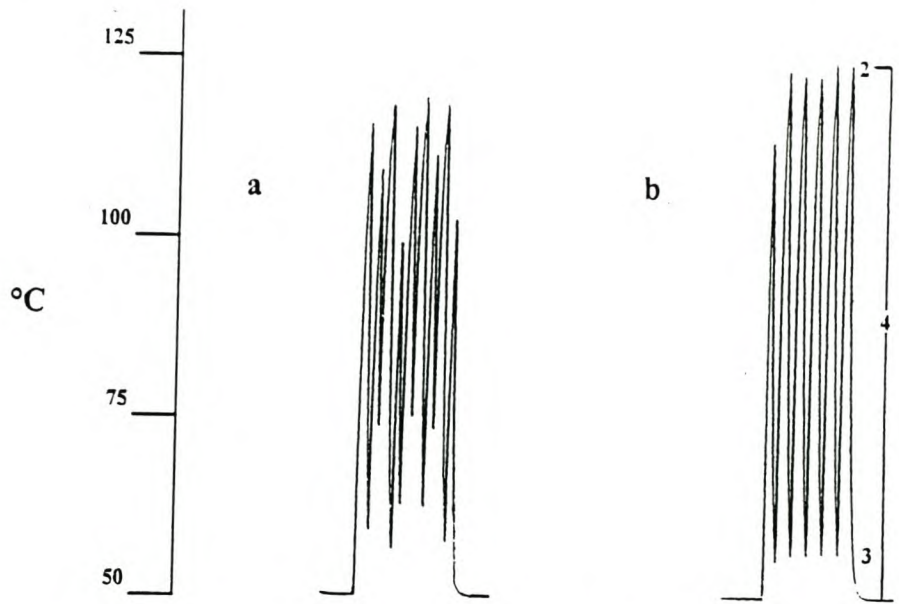
- Die temperatuurtoename wat die verhitting van een segment van 'n gesegmenteerde verhitter op die ander segmente tot gevolg sal hê as gevolg van termiese geleiding, is ondersoek, want dit is onwenslik dat 'n segment op hierdie manier verhit word vóór of ná die geprogrammeerde verhitting, aangesien dit die fokuserende effek van die presies gedefinieerde opeenvolgende verhitting van die segmente sal benadeel. Die termokoppel is in die eerste segment van die 10-segment verhitter posisioneer en die eerste kontak is ontkoppel sodat die buis slegs vanaf die tweede segment verhit word. Nadat die bepaling met verskeie stroomsterktes en verhittingstye gedoen is, is die tweede kontak ook ontkoppel sodat die verhitter slegs vanaf die derde segment verhit word. Daar is gevind dat verhitting met 'n verskeidenheid stroomsterktes wat deur elke segment gestuur is, 'n temperatuurtoename van slegs 2 of 3°C in die naasliggende segment tot gevolg het en ongewenste verhitting deur geleiding dus nie 'n wesenlike probleem is nie.
- Die wagtyd tussen herhaalde verhitting van die ongesegmenteerde verhitter is noodsaaklik aangesien die afwesigheid daarvan tot gevolg sal hê dat die verhitter konstant siklies verhit word en geen afkoeling van die modulator dus plaasvind waartydens komponente in die modulorkapillêr geïmmobiliseer kan word nie. Die afwesigheid van 'n wagtyd, wat ook as 'n versamelingstyd of verrykingstyd beskryf kan word, sou 'n beperkende uitwerking op die sensitiwiteit van die sisteem hê aangesien daar nie tyd sal wees vir komponente om in die modulorkapillêr te versamel om 'n beter sein/geraasverhouding te lewer nie. Figuur 3.13 toon die temperatuurprofiel van die ongesegmenteerde verhitter waar geen wagtyd tussen opeenvolgende verhitings gebruik is nie. Hoewel die eerste segmente van die gesegmenteerde verhitter teen die einde van 'n verhitingsiklus reeds weer tot naby die oondtemperatuur sou kon afgekoel het, mag dit nodig wees om meer materiaal in die modulorkapillêr te versamel as wat sonder 'n wagtyd moontlik sou wees. Met die gesegmenteerde verhitter is 'n wagtyd tussen verhitings verder ook nodig sodat



Figuur 3.13: Temperatuurprofiel vir verhitting van die ongesegmenteerde verhitte sonder 'n wagtyd tussen opeenvolgende verhittings (2 s verhittingstyd).

verbindings wat in die tweede dimensie stadig elueer nie deur vinnig eluerende komponente van die volgende puls wat met die volgende verhitting na die sekondêre kolom oorgedra word, "ingehaal" word nie. Daar moet dus noodwendig gewag word voordat die volgende puls na die sekondêre kolom oorgedra word. Daar is vroeër in hierdie hoofstuk reeds melding gemaak van die probleem van die nie-reproduseerbare traagheid van die *relais*. Die gevolg hiervan was 'n fluktuasie in die duur van verhittings- en wagtye wat onaanvaarbare resultate gelewer het. Soos verduidelik, kan hierdie probleem deur aanpassing van die sagteware opgelos word. In die tussentyd is egter 'n metode gevind om vir die wagtyd tussen verhittingsvoorsiening te maak sonder om die stroom voor en na wagtye af en aan te skakel. Dit is gedoen deur die kragbron te programmeer vir die sikliese verhitting van meer segmente as wat werklik aan die kragbron gekoppel is, byvoorbeeld in plaas van die herhaalde verhitting van vier segmente vir 200 ms elk met 'n wagtyd van 200 ms tussen verhittings, word die kragbron programmeer vir die sikliese verhitting van vyf segmente waarvan een fiktief is wat dan 'n effektiewe wagtyd van 200 ms tot gevolg het. Die verskil tussen die temperatuurprofiel wat met hierdie twee metodes verkry is, word die beste geïllustreer deur na 'n eksperiment met 'n ongesegmenteerde

verhitter te verwys. Die temperatuurprofiel in Figuur 3.14a is verkry met 'n wagtyd van 500 ms deur *relais*-skakeling voor en na elke wagtyd, terwyl die profiel in Figuur 3.14b verkry is deur gebruik te maak van sikliese verhitting van twee segmente. Die "verhitting" van die tweede fiktiewe segment het effektief 'n wagtyd van 500 ms tot gevolg.



Figuur 3.14: Temperatuurprofiel van 'n ongesegmenteerde verhitter met (a) *relais*-stroomskakeling en 'n werklike wagtyd van 500 ms tussen verhitings- en (b) 'n siklus waarin van 'n fiktiewe segment gebruik gemaak is by 'n isotermiese oondtemperatuur van 50°C.

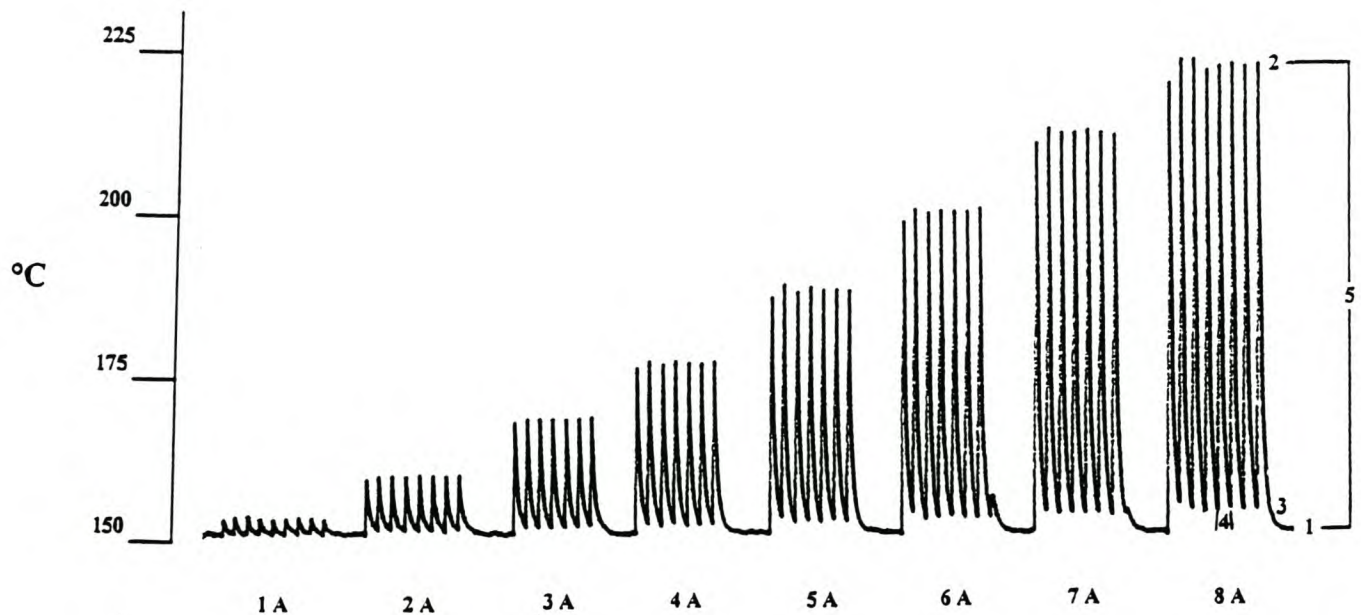
1 – Oondtemperatuur; 2 – Plafontemperatuur; 3 – Minimum temperatuur van die segment tussen verhitingsiklusse; 4 – Verhittingsinkrement, ΔT .

KALIBRASIE VAN DIE KRAGBRON MET VERSKILLENDE VERHITTERS

Die sisteem is gekalibreer ten opsigte van die stroom (1 tot 20 A met inkremente van 1 A), die tyd wat die stroom deur die verhitter vloei en die temperatuur wat met verskillende kombinasies van hierdie parameters by verskillende oondtemperature bereik word. Die modulator is siklies verhit om reproduceerbaarheid en akkuraatheid van die verhittingstemperatuur te verseker. Die temperatuur van die modulator is weereens met

behulp van die chromel-alumel termokoppel, wat in 'n silikakapillêr geïsoleer is, bepaal. 'n Maksimum temperatuur van 300°C is in hierdie eksperimente toegelaat. Die kalibrasie is uitgevoer vir die twee reekse verhitters (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm en 100 mm x 0.32 mm x 0.16 mm).

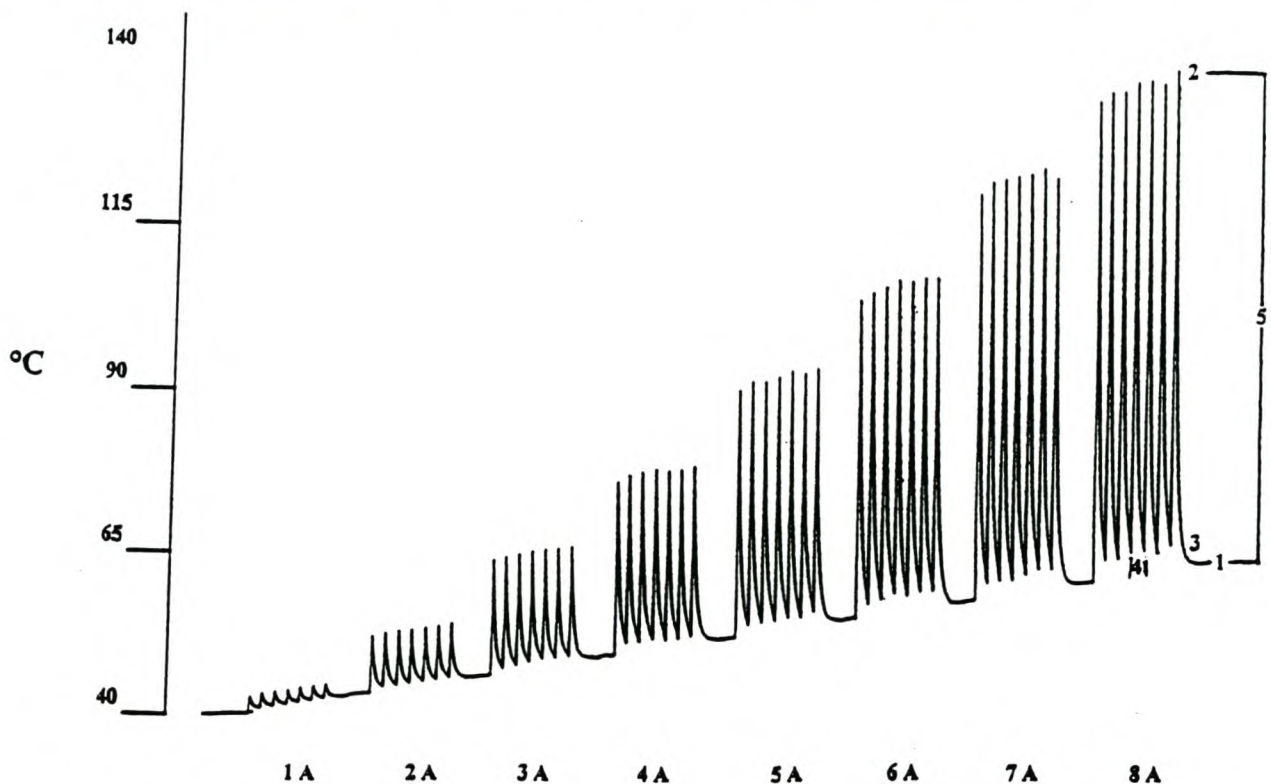
Figuur 3.15 gee 'n voorbeeld van 'n kalibrasiediagram vir die 10-segment verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) waarvan die segmente opeenvolgend verhit is deur 'n stroom van 1 tot 8 A vir 200 ms deur elke segment te stuur met 'n wagtyd van 3 s tussen verhittings by 'n oondtemperatuur van 150°C. Soortgelyke kalibrasiediagramme is verkry vir die ander verhitters. In Figuur 3.15 word die oondtemperatuur, die maksimum temperatuur behaal met die die betrokke stroom, die minimum temperatuur tussen verhittings, die tydsinterval tussen die begin van twee opeenvolgende verhittings, en die verhittingsinkrement (ΔT) aangedui.



Figuur 3.15: Kalibrasiediagram vir die 10-segment verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) met die termokoppel in die middel van een van die segmente: 150°C isoterme oondtemperatuur, 1 tot 8 A, 2 s verhitting, 3 s wagtyd.

1 – Oondtemperatuur (150°C); 2 – Maksimum temperatuur behaal met die betrokke stroom; 3 – Minimum temperatuur tussen verhittings; 4 – Tydsinterval tussen begin van opeenvolgende verhittings (5000 ms); 5 – ΔT .

Die invloed wat 'n temperatuurprogram op die verhitting van die modulator het, is ondersoek deur die kalibrasieprosedure te herhaal vir die 10-segment verhitter terwyl die oond geprogrammeer is teen $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Figuur 3.16 toon die kalibrasiediagram wat onder hierdie kondisies verkry is met strome van 1 tot 8 A, 200 ms verhitting per segment en 3 s wagtyd tussen verhittings. Die verhittingsinkremente verkry met die onderskeie stroomsterktes stem ooreen met dié wat verkry is onder isotermiese kondisies



Figuur 3.16: Kalibrasiediagram vir die 10-segment verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm): $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ temperatuurprogram, 1 tot 8 A, 2 s verhitting, 3 s wagtyd.

1 – Oondtemperatuur (150°C); 2 – Maksimum temperatuur behaal met die betrokke stroom; 3 – Minimum temperatuur tussen verhittings; 4 – Tydsinterval tussen begin van opeenvolgende verhittings (5000 ms); 5 – ΔT .

Uit die resultate van die kalibrasies word afgelei dat 'n sekere stroomsterkte, wat vir 'n konstante tyd deur die verhitter vloei, 'n redelik konstante temperatuurtoename (verhittingsinkrement) tot gevolg het, ongeag die oondtemperatuur of die wagtyd tussen opeenvolgende verhittings. Tabel 3.2 is 'n uittreksel uit die kalibrasietabelle van die 10-segment verhitter (100 mm x 0.32 mm x 0.16 mm) en illustreer hierdie bevinding. Daar is gebruik gemaak van twee 10-segment verhitters van verskillende tipes vlekvrue

staal vir analyses mét en s nder wagtye en die kalibrasie van die twee verhitters het getoon dat dieselfde stroomsterkte nie dieselfde mate van verhitting gee vir die twee verhitters nie. Dit is dus duidelik dat verhitters van verskillende tipes vlekvrystaal individueel gekalibreer moet word. Daar is ook bevestig dat vir 'n ekwivalente totale verhittingstyd van die ongesegmenteerde en multi-segment verhitters 'n sterker stroom nodig word vir die verhitting van die multi-segment verhitters tot dieselfde temperatuur as die ongesegmenteerde verhitter, aangesien die individuele verhittingstye van die segmente heelwat korter is as die verhittingstyd van die ongesegmenteerde verhitter en elke segment dus baie vinniger die verlangde temperatuur moet bereik. Kalibrasietabelle word in Addendum A verskaf.

Tabel 3.2: Temperatuur van die 10-segment modulator (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) en verhittingsinkrement (ΔT) by verskillende oondtemperature met 'n stroom van 6 A wat vir 200 ms deur elk van die segmente gestuur word met 'n wagtyd van 3 s tussen verhittings.

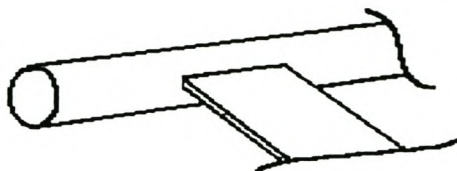
| Oondtemperatuur ($^{\circ}\text{C}$) | Verhittertemperatuur ($^{\circ}\text{C}$) | ΔT ($^{\circ}\text{C}$) |
|---|--|--------------------------------------|
| 50 | 99 | 49 |
| 150 | 201 | 51 |

TEMPERATUURVARIASIE OOR GESOLDEERDE KONTAKTE

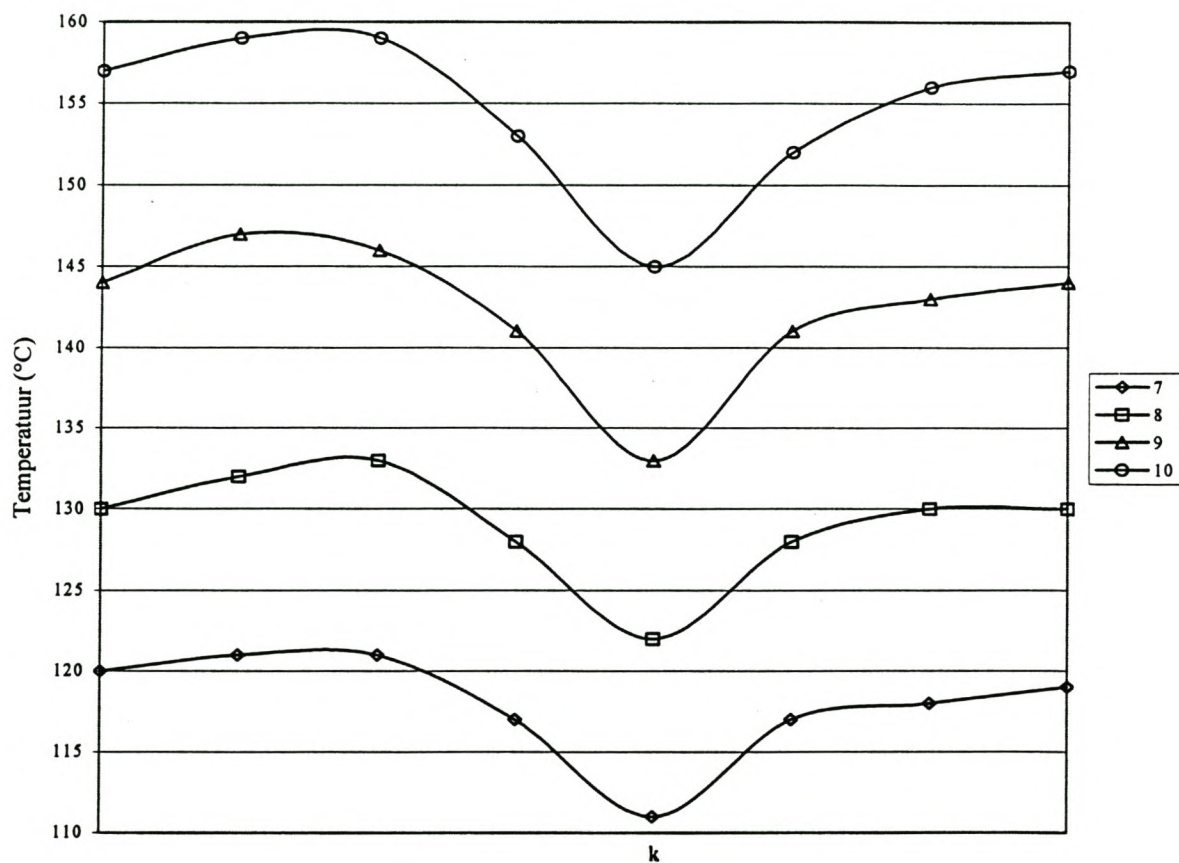
Die variasie in die temperatuur in die omgewing van die punte waar elektriese kontak met die verhitter gemaak word, is bepaal deur die temperatuur van die verhitter by verskeie posisies, met intervale van 1 mm, te bepaal tydens herhaalde verhittings. Die metings is gedoen vir die platgeslaande oorgangskontakte wat onderskeidelik horisontaal (Figuur 3.17a) en vertikaal (Figuur 3.18a) aan die metaalbuis gesoldeer is. Figuur 3.17b toon die temperatuurvariasie oor die horisontaalgesoldeerde oorgangskontak en Figuur 3.18b dié oor die vertikaalgesoldeerde oorgangskontak. Hieruit is dit duidelik dat die horisontale kontak wel koue areas op die verhitter veroorsaak terwyl die punt waar die

oorgangskontak vertikaal aan die metaalbuis gesoldeer is, effens warmer word as die res van die verhitter, 'n effek wat meer wenslik is as koue areas. Die verskynsels word toegeskryf aan die verskillende hoeveelhede soldeersel wat op die metaalbuis vloei of "uitsprei" tydens die soldeerproses.

a

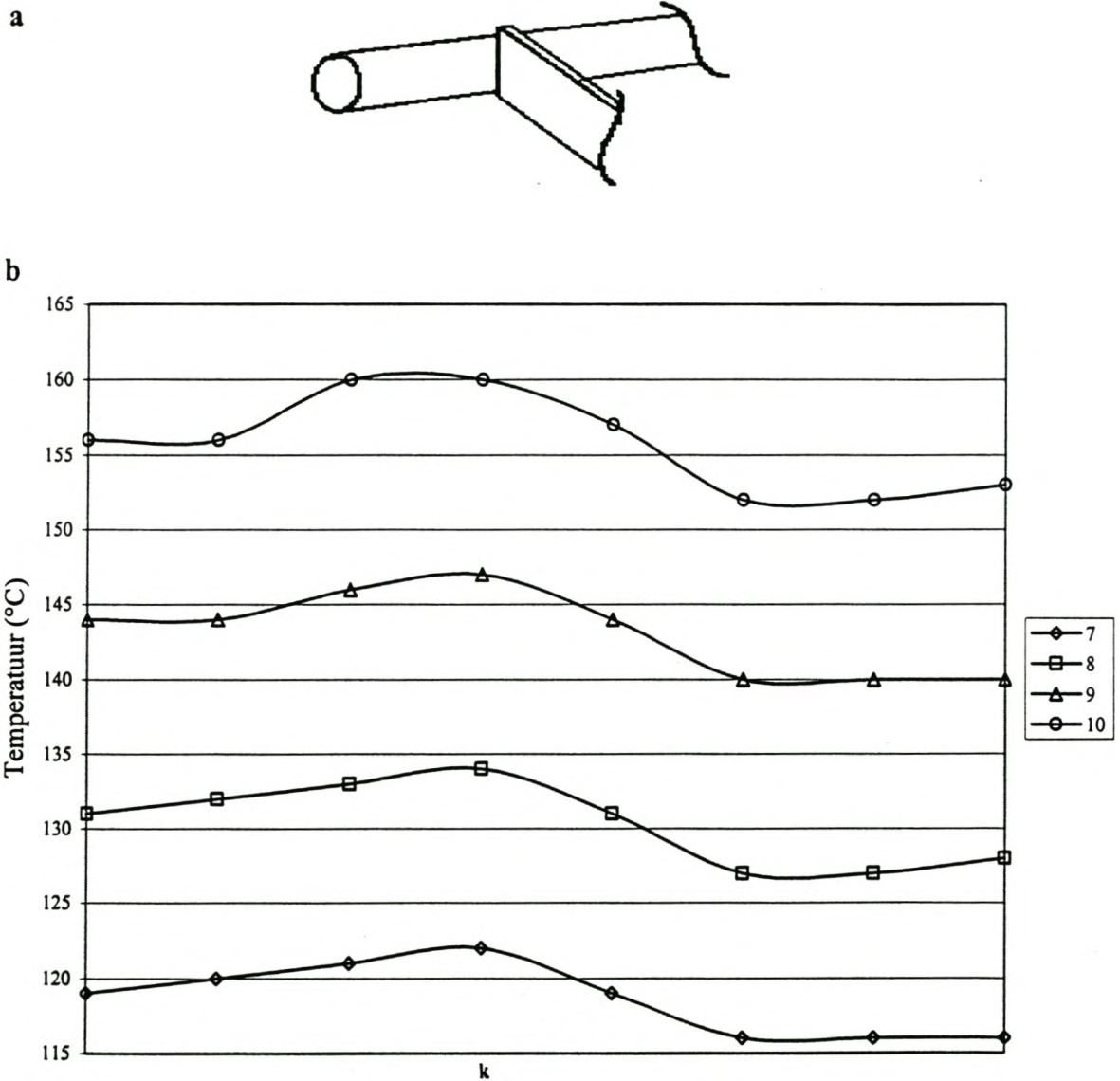


b



Figuur 3.17: (a) Voorstelling van oorgangskontak horisontaal aan metaalbuis gesoldeer. (b) Die temperatuurvariasie oor 'n horisontaalgesoldeerde oorgangskontak: 10-segment verhitte, 7 A, 8 A, 9 A en 10 A, 2 s verhitte, 2 s wagtyd.

k – Kontakpunt.



Figuur 3.18: (a) Voorstelling van oorgangskontak vertikaal aan metaalbuis gesoldeer. (b) Die temperatuurvariasie oor 'n vertikaalgesoldeerde oorgangskontak: 10-segment verhitte, 7 A, 8 A, 9 A en 10 A, 2 s verhitte, 2 s wagtyd.

k - Kontakpunt.

VERWYSINGS

1. B.V. Burger, M. le Roux, Z.M. Munro en M.E. Wilken, *J. Chromatogr.* **552**, 137 – 151 (1991).
2. J.B. Phillips, R.B. Gaines, J. Blomberg, F.W.M. v.d. Wielen, A. Dimandja, V. Green, J. Granger, D. Patterson, L. Racovalis, H. de Geus, J. de Boer, P. Haglund, J. Lipsky, V. Sinha en E.B. Ledford, Jr., *J. High Resol. Chromatogr.* **22**, 3 – 10 (1999).
3. W. Bertsch, V. Pretorius, M. Pearce, J.C. Thompson en N.G. Schnautz, *J. High Resol. Chromatogr.* **5**, 432 – 434 (1982).
4. J.B. Phillips en Z. Liu, U.S. Pat. 5,135,549 (1992) en U.S. Pat. 5,196,039 (1993).
5. T. Welsch, Universiteit van Ulm, Duitsland, persoonlike mededeling.

HOOFSTUK 4

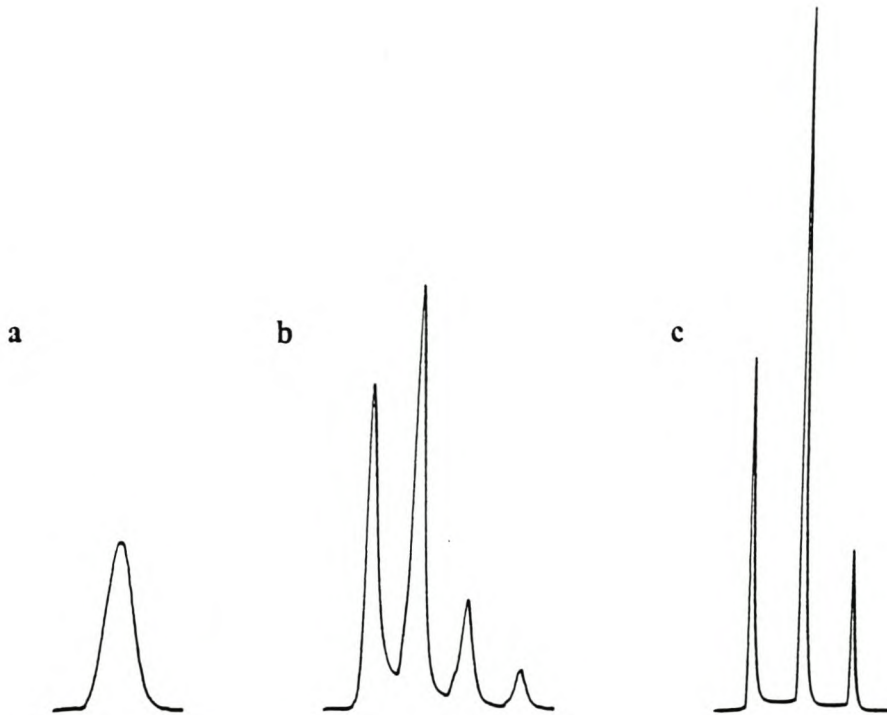
MODULERING

Die grootste gedeelte van die navorsing in hierdie projek is gedoen met 'n opstelling bestaande uit 'n primêre kolom, gevolg deur die modulorkapillêr in 'n verhitter (wat saam die modulator vorm) wat in die gaschromatograafond geïnstalleer is en met die modulorkapillêr direk aan die detektor gekoppel, terwyl waterstof deurgaans as draergas gebruik is. Hierdie opstelling is gebruik om parameters soos inlaatdruk, temperatuurprogram, verhittingsinkremente en verhittingsiklusse met verskillende verhitters te optimiseer. Die gebruik van modulorkapillêre met binnedeursnitte van onderskeidelik 0.2 mm en 0.1 mm is ondersoek. Verhitters met die dimensies 100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm en 100 mm x 0.32 mm x 0.16 mm is gebruik vir onderskeidelik 0.2 mm en 0.1 mm kapillêre. Die invloed van die aantal segmente van die verhitter, en dus effektief die lengte van die modulorkapillêr wat telkens verhit word, asook die verhittingstempo op die fokussering van pieke, is ondersoek deur 'n reeks verhitters te vervaardig met onderskeidelik een, twee, vier, ses, agt en tien segmente. Die resultate wat met die 0.1 mm en 0.2 mm modulorkapillêre verkry is, verskil baie min en die werk wat met die 0.2 mm kapillêre gedoen is, sal dus hoofsaaklik hier bespreek word.

VERGELYKING VAN MODULERING MET DIE 1- EN 10-SEGMENT VERHITTERS

Dekaan is op die primêre kolom gechromatografeer en gemoduleer met 'n 0.2 mm modulorkapillêr en onderskeidelik die 1- en 10-segment verhitters wat vir 2 s verhit is. Die piekwydtes op halfhoogte ($b_{0.5}$) van die gemoduleerde pieke is vergelyk. Die vermoede dat verhitting van die modulorkapillêr met die ongesegmenteerde verhitter nie besonder effektiewe fokussering van die chromatografiese band gee nie, is bevestig. Uit die resultate wat in Figuur 4.1 getoon word, is dit duidelik dat die chromatografiese

band slegs tot 20 % van die breedte van die oorspronklike piek vernou is deur modulering met die ongesegmenteerde verhitter, terwyl dit tot 10 % van die oorspronklike breedte vernou word deur modulering met die 10-segment verhitter.



Figuur 4.1: Gaschromatogramme van dekaan vir vergelyking van piekbreedtes op halfhoogte ($b_{0.5}$). (a) Geen modulering, $b_{0.5} = 3.84$ s; (b) Modulering met die ongesegmenteerde verhitter, $b_{0.5} = 0.78$ s; (c) Modulering met die 10-segment verhitter, $b_{0.5} = 0.36$ s.

MODULATORKAPILLÊR MET BINNEDEURSNIET 0.2 mm

Vir bepaling van optimum fokussing van analiete is eerstens gekyk na die vorm van die gefokusseerde pieke en tweedens na die piekbreedtes op halfhoogte. 'n Verskynsel wat kan voorkom is dat die analiete, as gevolg van chromatografiese prosesse, deur die modulorkapillêr beweeg voordat die modulator verhit word. Vervolgens sal daarna verwys word as deurbraak. Eksperimente is met die multi-segment verhitters en 0.2 mm

modulatorkapillêr uitgevoer om parameters soos die verhittingsinkrement, die verhittingsiklus, inlaatdruk en die temperatuurprogram te optimiseer.

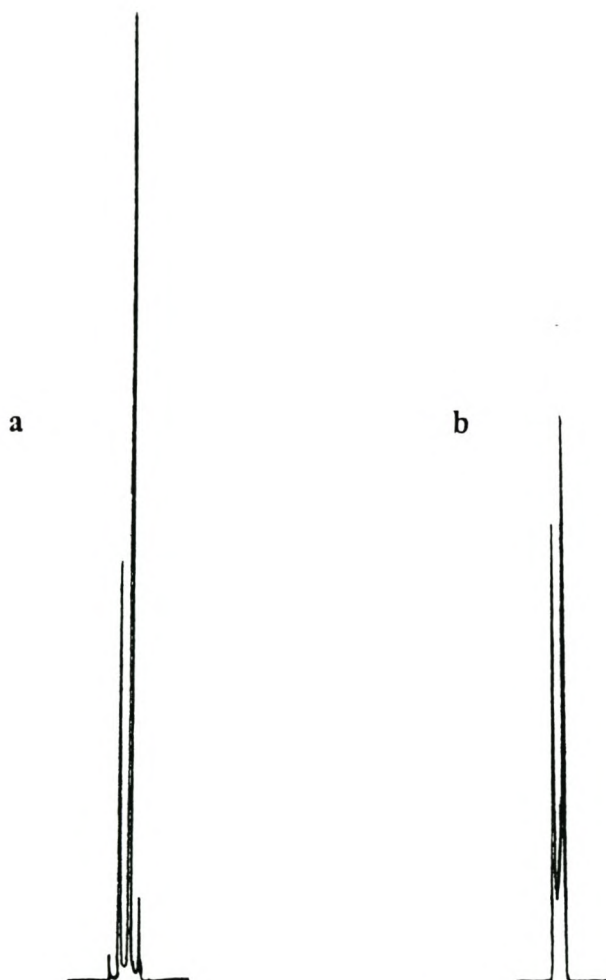
TEMPERATUURPROGRAM

Die effek wat die temperatuurprogram op die mate van definiëring van opeenvolgende pieke het, is ondersoek deur 'n mengsel van heksaan, dekaan, pentadekaan en 1-ikoseen te chromatografeer met temperatuurprogramme van 2°C/min, 4°C/min en 6°C/min. Verskeie verhittingstye en verhittingsinkremente met die 10-segment verhitter is vir die verskillende temperatuurprogramme ondersoek.

Die opeenvolgende pieke van 'n verbinding wat verkry word met die stadiger temperatuurprogram is baie beter gedefinieer (Figuur 4.2). Tydens die vinniger temperatuurprogram word deurbraak waargeneem as gevolg van versnelde chromatografie in die modulatorkapillêr. Dit beteken dat basislyndefiniëring van opeenvolgende pieke nie verkry word nie. Hierdie resultaat is ietwat verrassend, aangesien daar nie verwag is dat die temperatuurprogram só 'n groot invloed sou hê op die immobilisering wat in die modulatorkapillêr plaasvind nie. 'n Stadiger temperatuurprogram is dus beter vir die toepassing van hierdie tegniek met die bestaande sisteem waarin nie vir afkoeling van die modulator in 'n aparte kompartement voorsiening gemaak word nie.

VERHITTINGSINKREMENT

Dit is moontlik om analiete baie vinnig van die stasionêre fase in die modulatorkapillêr te desorbeer deur 'n baie groot verhittingsinkrement te gebruik. 'n Onnodig hoë inkrement het egter die nadeel dat dit langer neem vir die betrokke segment om weer af te koel tot 'n temperatuur waarby die analiete in die stasionêre fase sorbeer sal word. Verder word die stasionêre fase aan onnodig hoë temperature blootgestel wat tot verhoogde bloei en 'n



Figuur 4.2: Gaschromatogramme van dekaan: modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (6 A), 4 s verhitting, geen wagtyd, temperatuurprogramme van (a) 2°C/minute en (b) 4°C/min.

korter lewensduur kan lei. Dit was dus nodig om die kleinste verhittingsinkrement wat optimale fokusering en volledige desorbering tot gevolg sou hê, vas te stel. 'n Mengsel van heksaan, dekaan, pentadekaan en 1-ikoseen is gechromatografeer en gemoduleer met die 10-segment verhitter.

Verhittingsinkremente van 10°C, 20°C, 50°C en 100°C is ondersoek. Met sikliese verhitting van die modulator is gevind dat 'n verhittingsinkrement van 100°C en 50°C bo die oondtemperatuur goeie definiëring van opeenvolgende pieke gee vir middel- tot hoogkokende verbindings, byvoorbeeld dekaan, maar vir laagkokende verbindings,

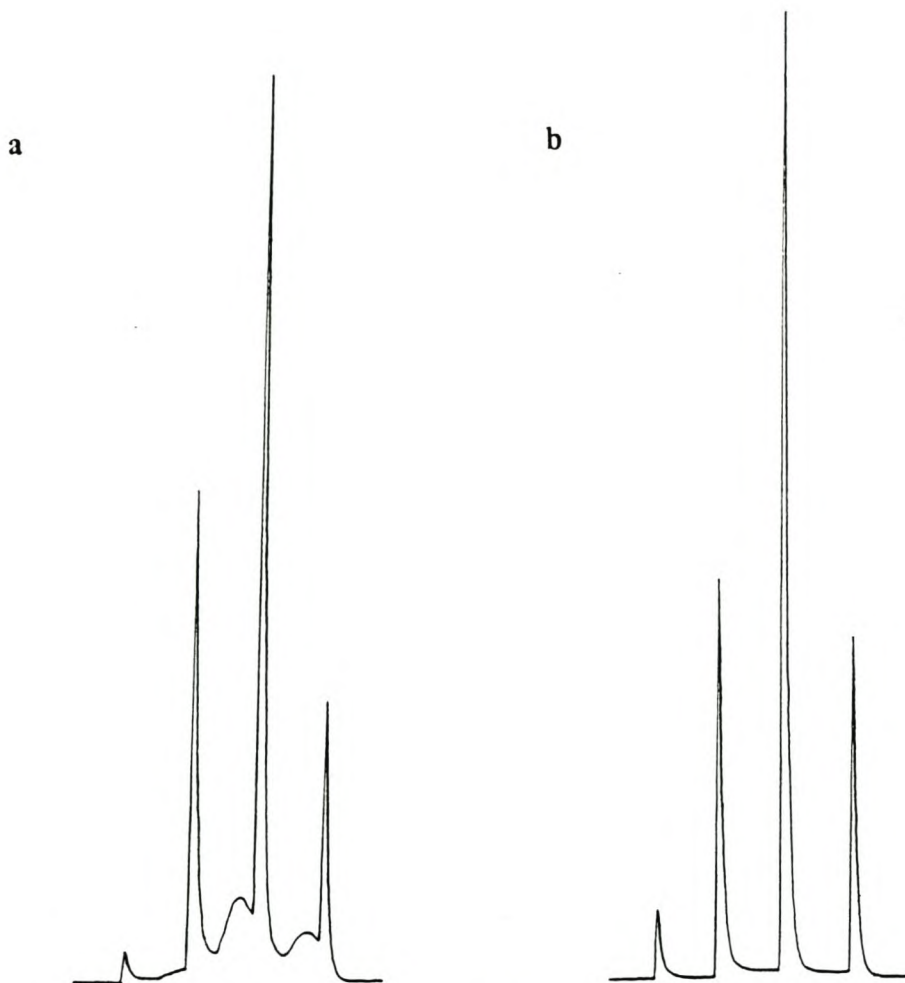
byvoorbeeld heksaan, is die definiëring van opeenvolgende pieke swak. Dit kan toegeskryf word aan die moontlikheid dat die segmente van die verhitter, en gevolglik die modulorkapillêr, nie vinnig genoeg of laag genoeg afkoel tussen die verhittings nie en die opeenvolgende pulse van die vlugtiger verbindings dus nie in die modulorkapillêr geïmmobiliseer word nie, maar feitlik vrylik daardeur beweeg.

'n Verhittingsinkrement van 20°C gee ook nie goeie definiëring van die opeenvolgende pieke van heksaan nie en daar is besluit om na afhandeling van die basiese ontwikkelingswerk ondersoek in te stel na die ontwikkeling van instrumentasie vir die addisionele afkoeling van die modulator vir effektiewe immobilisering van vlugtige verbindings.

INLAATDRUK

Die invloed van die inlaatdruk (draergasvloeï) is ondersoek deur chromatografie van 2-oktanoon en dekaan en modulering met die 8-segment verhitter. Aangesien die migrasie van analiete beïnvloed word deur die inlaatdruk sowel as die temperatuurprogram, is weer vlugtig gekyk na analyses by verskillende temperatuurprogramme. Die analyses is uitgevoer met temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en inlaatdrucke van 29 kPa, 50 kPa en 100 kPa wat onderskeidelik ooreenstem met 'n gemiddelde draergasvloeispoed van ongeveer 43 cm/s, 80 cm/s en 158 cm/s.

Met 'n vloeï van 158 cm/s, 1°C/min temperatuurprogram, 50°C verhittingsinkrement en 2 s verhitting met 2 s wagtyd (Figuur 4.3a) is swak fokussing van die analiete verkry as gevolg van deurbraak wat aan 'n te hoë draergasvloeï toegeskryf kan word. Daar is nie verder aandag gegee aan analyses by hierdie hoë inlaatdruk nie. Met dieselfde parameters is die resultate van die analyses met 'n 80 cm/s vloeï (Figuur 4.3b) ietwat beter as wat verkry is vir die analyses met 43 cm/s.



Figuur 4.3: Gaschromatogramme van dekaan: modulering met 8-segment verhitter, 50 °C verhittingsinkrement (5 A), 2 s verhitting, 2 s wagtyd, 1°C/min temperatuurprogram, gemiddelde vloeie van (a) 158 cm/s en (b) 80 cm/s.

Vervolgens is die fokussering wat verkry word met 'n vloeie van 43 cm/s en 80 cm/s en temperatuurprogramme van onderskeidelik 2°C/min en 4°C/min ondersoek. Uit die resultate is dit weereens duidelik dat die vinniger temperatuurprogram nie geskik is vir effektiewe fokussering van die analiete nie en dat 'n temperatuurprogram van 1°C/min beter fokussering van die verbindings moontlik maak. Modulering met 'n vloeie van 80 cm/s en 'n temperatuurprogram van 2°C/min is effens swakker as met die 43 cm/s vloeie. Die verbeterde fokussering wat verkry word met 'n temperatuurprogram van 1°C/min is nie sodanig dat dit die langer analisetyd regverdig nie en daar is verder net gewerk met 2°C/min en dus 'n gemiddelde draergasvloeie van ongeveer 43 cm/s.

Die moontlikheid dat die draergasvloeï nie by hoë eluasietemperature optimaal is nie, as gevolg van die viskositeit van die draergas wat met verhoogde temperatuur toeneem, het gelei tot die gedagte om die inlaatdruk (vloeï) te verhoog tydens die temperatuurprogram. Die invloed van die draergasvloeï is ondersoek deur 1-pentakosanol te chromatografeer met 'n gemiddelde vloeï van 43 cm/s (29 kPa) en 80 cm/s (50 kPa) onderskeidelik, en te moduleer met die 10-segment verhitter. Daar is nie 'n beduidende verskil in die definiëring van die pieke van hierdie hoogkokende verbinding waargeneem nie en die installasie van 'n vloeïprogrammeerder om die vloeï geleidelik te verhoog tydens die temperatuurprogram, is waarskynlik dus nie in hierdie stadium geregverdig nie.

VERHITTINGSTYD EN WAGTYD

Aangesien die verhittingstyd ook 'n invloed het op die volledigheid van die desorpsie van analiete, is die analyses gedoen met verskillende verhittingstye van die 10-segment verhitter. Verhittingstye van 200, 400 en 600 ms per segment is ondersoek. 'n Verhittingstyd van 200 ms per segment is gekies aangesien die pulse wat na die sekondêre kolom oorgedra word verkieslik so kort as moontlik moet wees, maar 'n verhittingstyd van minder as 2 s is as onnodig kort beskou as die 4 s siklustyd wat Beens *et al*¹ met die roterende verhitter gebruik, in gedagte gehou word. Die 400 ms en 600 ms verhitting per segment is oorweeg om vir die moontlikheid voorsiening te maak dat langer verhitting van die modulator hoogkokende analiete meer volledig sal desorbeer en daar gevolglik nie opbouing van die analiete in die modulorkapillêr sal voorkom nie. Te lang verhittingstye sal nie geskik wees vir komponente wat kort na mekaar uit die primêre kolom elueer nie, aangesien die primêre skeiding gedeeltelik opgehef kan word indien die tweede komponent die modulorkapillêr bereik voordat die eerste komponent met modulering na die sekondêre kolom oorgedra is.

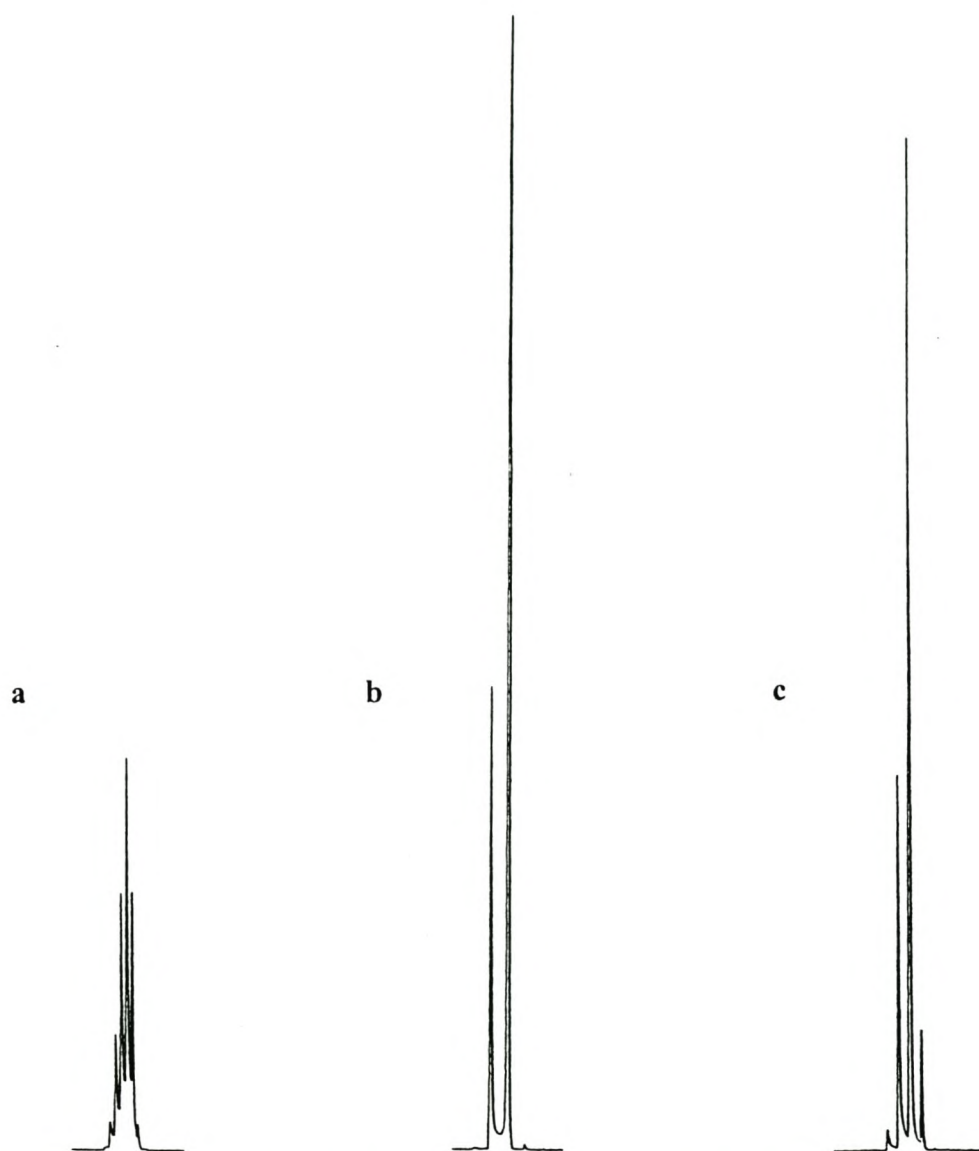
Modulering met 200 ms verhittingstyd per segment en geen wagtyd tussen verhittings nie, lewer nie goed-gefokusseeerde pieke van dekaan nie. Die swak resultate is moontlik toe te skryf aan die onvermoë van die modulator om voldoende af te koel tussen

verhittings en die chromatografiese band beweeg dus feitlik onvertraag deur die modulorkapillêr. Dit het 'n soort basislynheuwel tot gevolg wat 'n ongunstige verskynsel is aangesien die doel van die tweedimensionele tegniek juis is om pieke wat verskuil is, byvoorbeeld onder 'n stygende basislyn, te identifiseer. Figuur 4.4a toon 'n gaschromatogram van dekaan wat verky is deur die modulator siklies te verhit deur 'n stroom van 13 A vir 200 ms (100°C verhittingsinkrement) opeenvolgend deur elk van die verhittersegmente te stuur.

Figuur 4.4b toon 'n gaschromatogram van dekaan waar die modulator siklies verhit is deur 'n stroom van 7 A wat vir 600 ms (100°C verhittingsinkrement) deur elk van die verhittersegmente te stuur. In die chromatogram word nie basislynskeiding tussen opeenvolgende pieke gekry nie en dit kan toegeskryf word aan die onvermoë van die modulorkapillêr om die verbinding effektief te immobiliseer. Die tydsinterval tussen opeenvolgende verhittings van elke segment is moontlik te lank, wat beteken dat deurbraak van die analiete plaasvind. Daar is egter 'n aansienlike verbetering in die fokusering (geen basislynheuwel) in vergelyking met die 200 ms verhitting per segment.

Modulering van dekaan met 400 ms verhitting per segment met geen wagtyd tussen verhittings nie (Figuur 4.4c), toon beter definiëring van die pieke alhoewel daar steeds 'n mate van deurbraak plaasvind.

Daar is besluit op die inkorporering van 'n wagtyd tussen verhittings om voorsiening te maak vir die voltooiing van die analise in die tweede dimensie voordat die volgende verhitting plaasvind. 'n Lang verhittingstyd en dus relatief stadige temperatuurtoename is nie die oplossing nie aangesien die analiete nie voldoende gefokuseer word nie. 'n Verhittingsiklus wat saamgestel is uit 'n kort verhittingstyd wat goeie fokusering van die analiete gee en 'n wagtyd tussen verhittings om voorsiening te maak vir die verloop van die tweede dimensie analise, is dus logieserwys as 'n oplossing oorweeg. Dekaan en 2-oktanoon is gechromatografeer en modulering is gedoen met die multi-segment



Figuur 4.4: Gaschromatogramme van dekaan: modulering met 10-segment verhitter, (a) 100°C verhittingsinkrement (13 A), 2 s verhitting, geen wagtyd, (b) 100°C verhittingsinkrement (7 A), 6 s verhitting, geen wagtyd en (c) 100°C verhittingsinkrement (9 A), 4 s verhitting, geen wagtyd.

verhitters. Die beste piekbreedtes en piekvorm is verkry met 'n verhittingstyd van 2 s en wagtye van beide 2 s en 3 s, dit wil sê verhittingsiklusse van 4 s en 5 s. Verhittingsiklusse van dieselfde duur wat saamgestel is uit korter verhittings en langer wagtye, lewer deurbraak van die analiete en is dus nie gunstig vir die gebruik in tweedimensionele analyses nie. Verhittingsiklusse van dieselfde duur met langer

verhittings en korter wagtye lewer pieke wat beduidend breër is. Kortere verhittingsiklusse lewer nie goeie basislyndefiniëring van opeenvolgende pieke nie en langer verhittingsiklusse toon toenemende deurbraak van die analiete.

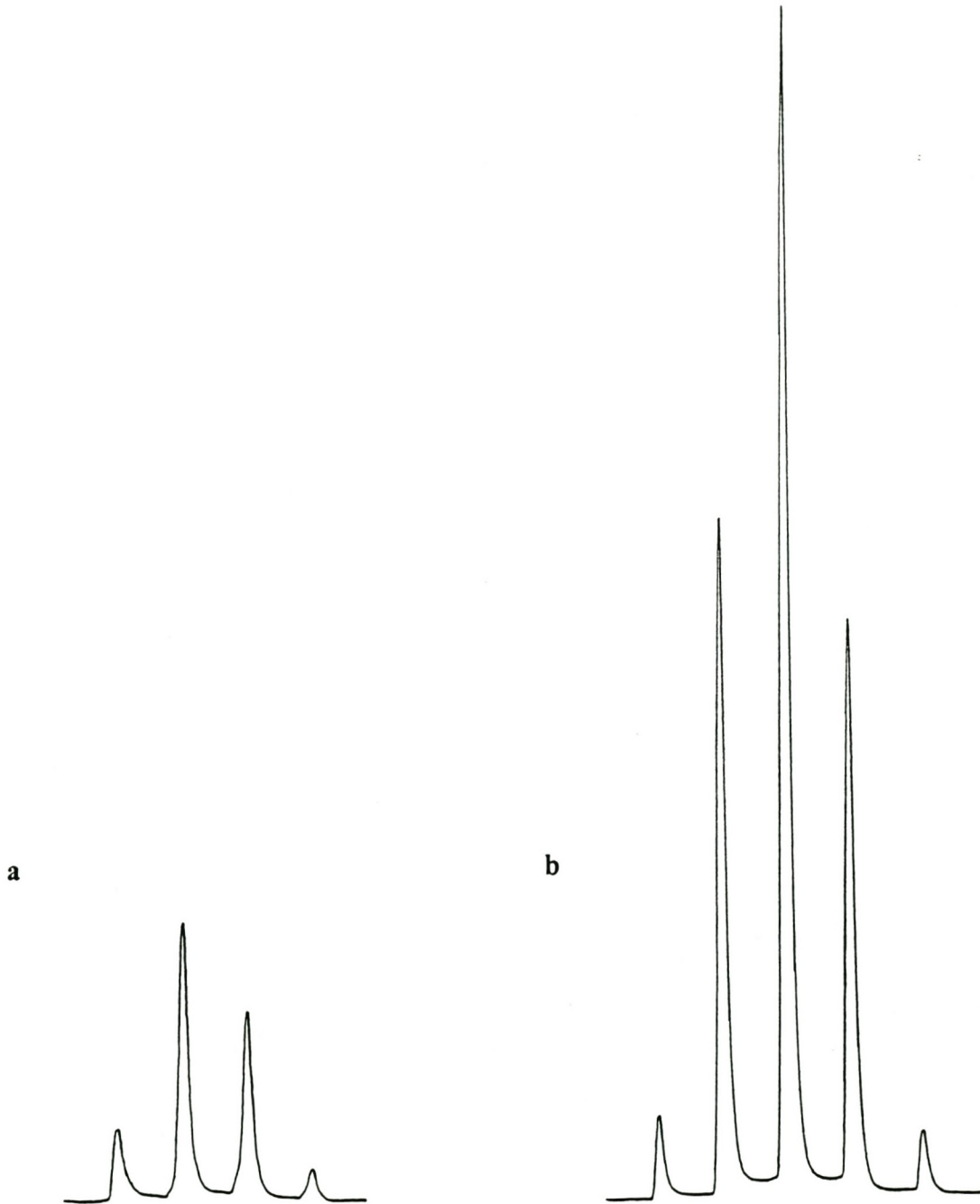
AANTAL SEGMENTE VAN DIE VERHITTER

Die invloed van die aantal segmente van die verhitter op die fokussering van analiete is ondersoek deur 2-oktanoon en dekaan te chromatografeer en te moduleer deur verhitting van die modulorkapillêr met 1-, 2-, 4-, 6-, 8- en 10-segment verhitters. Die totale verhittingstyd van die modulator en die wagtyd tussen verhittings is konstant gehou in hierdie analises.

Daar is reeds vroeër gewys op die swak fokussering wat verkry word met die ongesegmenteerde verhitter en daar is nie 'n ooglopende verbetering in die fokussering deur modulering met die 2-segment verhitter nie (Figuur 4.5a). Modulering met die 4-segment verhitter toon verbeterde fokussering terwyl modulering met die 6-segment verhitter (Figuur 4.5b) nie veel verbetering gee op die fokussering wat met die 4-segment verhitter verkry is nie en heelwat swakker is as die fokussering verkry met die 8-segment verhitter. Die fokussering van analiete wat verkry word deur modulering met onderskeidelik die 8- en 10-segment verhitters is feitlik dieselfde en hierdie twee verhitters is hoofsaaklik vir verdere eksperimente gebruik.

VERBINDINGS MET VERSKILLENDE VLUGTIGHEDE

Uit die bogenoemde eksperimente is bepaal dat modulering met die bestaande sisteem nie effektiewe fokussering van hekasaan gee nie, aangesien die verbinding te vlugtig is om effektief deur die modulorkapillêr geïmmobiliseer te word. 'n Mengsel van hekasaan, heptaan, oktaan, nonaan en dekaan is gechromatografeer met 'n temperatuurprogram van 2°C/min en gemoduleer met die 10-segment verhitter deur elke segment vir 400 ms te verhit met geen wagtyd tussen verhittings nie. Effektiewe fokussering is verkry vanaf



Figuur 4.5: Gaschromatogramme van dekaan: $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ temperatuurprogram, modulering met (a) 2-segment en (b) 6-segment modulators, 50°C verhittingsinkrement, 2 s verhitting en 2 s wagtyd.

nonaan. Deur gebruik te maak van addisionele afkoeling van die modulator sal die immobilisering van vlugtiger verbindings moontlik wees en dit moet dus ondersoek word indien die sisteem vir laer kokende verbindings gebruik moet word.

Die fokussering van swaarder verbindings is ondersoek deur pentakosaan, pentakosanol, oktakosanol en tetrakosanoësuur te chromatografeer en te moduleer met die 10-segment verhitte. Goeie fokussering van al die verbindings is gekry.

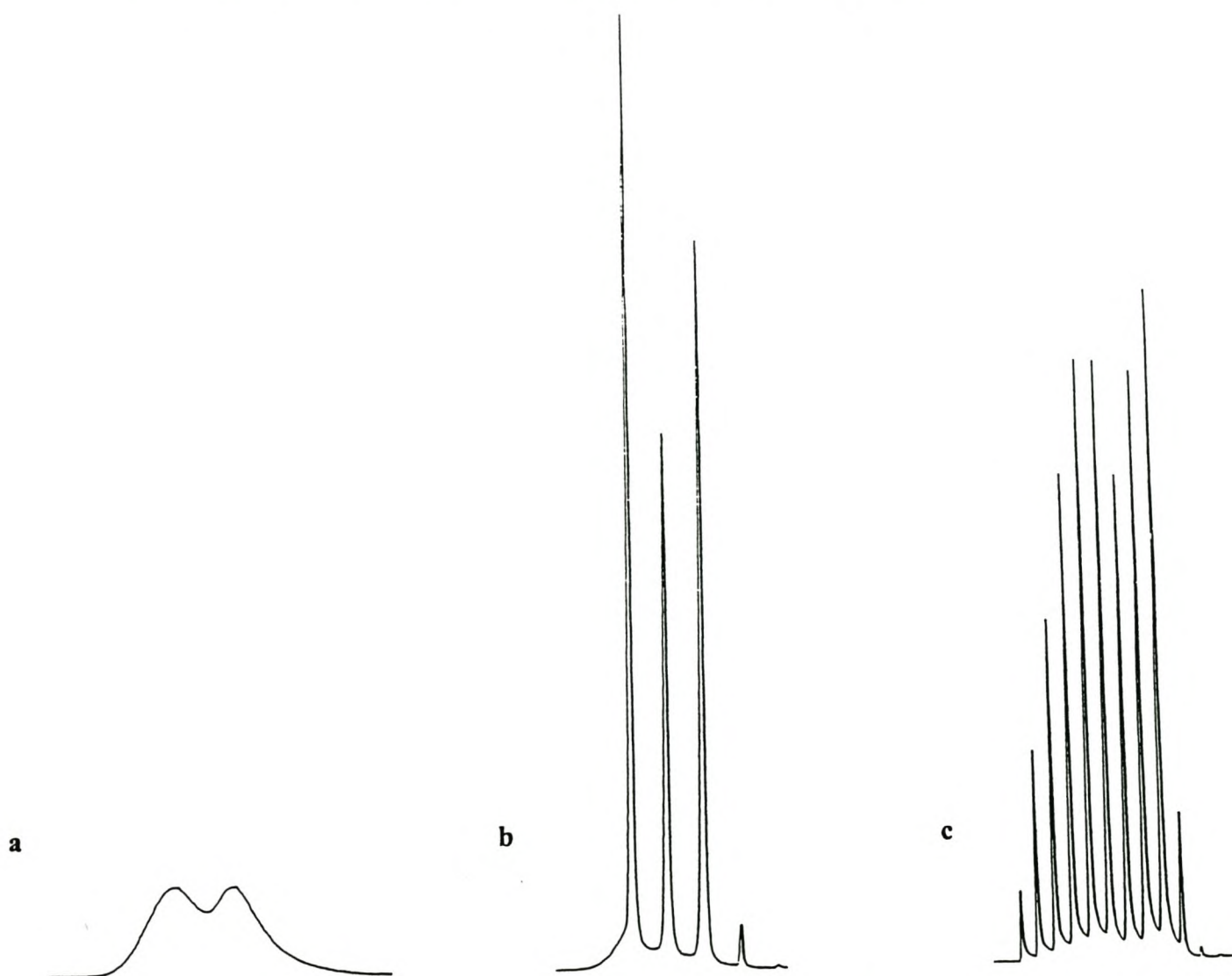
LAER AANVANGSTEMPERATUUR VIR TEMPERATUURPROGRAM

Die moontlikheid dat 'n laer aanvangstemperatuur vir die temperatuurprogram die modulering van vlugtiger verbindings moontlik sal maak, is ondersoek. Heksaan, heptaan, oktaan, nonaan en dekaan is gechromatografeer met temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min met die aanvangstemperatuur 30°C in plaas van 40°C wat gewoonlik gebruik is. Die invloed van die laer aanvangstemperatuur is die opvallendste in die analise met die 4°C/min program alhoewel die fokussering steeds baie swak is met geweldige deurbraak van die analiete. Met die 2°C/min en 1°C/min programme word verbeterde modulering van oktaan verkry wat dus as 'n verbeterde onderste grens van die sisteem beskou kan word.

MODULERING VAN KOËLUERENDE VERBINDINGS

Deur die retensie-indekse van verbindings te vergelyk² is vasgestel dat isobutiel-isobutiraat en *n*-nonaan nagenoeg koëluereer op 'n nie-polêre kolom (OV 101) en die verbindings is vir verdere ondersoeke met die moduleringsisteem gebruik. Figuur 4.6a toon die gaschromatogram van die onvolledig geskeide pieke. Die chromatogram in Figuur 4.6b is verkry deur die modulator te verhit deur 'n stroom van 6 A vir 400 ms deur elk van die verhittersegmente te stuur (4 s totale verhitting) met geen wagtyd tussen

verhittings nie. Die eerste piek sou moontlik net uit *n*-nonaan bestaan, die verbinding wat eerste elueer, en baie min van die isobutielisobutiraat bevat, terwyl die tweede piek heelwat minder van die alkaan en meer van die ester sou bevat. Die volgende piek behoort hoofsaaklik die ester te bevat en baie min van die alkaan en die laaste piek sal heel waarskynlik slegs uit die ester bestaan. Die voorafgenoemde is slegs tentatief en meer akkurate bepaling sal gemaak kan word wanneer die koppeling van 'n sekondêre



Figuur 4.6: Gaschromatogram van isobutielisobutiraat en *n*-nonaan: (a) sonder modulering, (b) modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (6 A), 4 s verhitting en geen wagtyd en (c) modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (9 A), 2 s verhitting en geen wagtyd.

kolom volledige skeiding van die verbindings in die tweede dimensie moontlik maak. Die patroon van die pieke in Figuur 4.6b is tipies van twee oorvleuelende pieke wat met behulp van die modulator in fraksies opgedeel word. Figuur 4.6c toon die chromatogram van isobutieliisobutiraat en *n*-nonaan wat verkry is deur die modulator te verhit deur 'n stroom van 9 A vir 200 ms deur elke verhittersegment te stuur (2 s totale verhitting) met geen wagtyd tussen verhittings nie. Die eluaat van die primêre kolom word dus in 'n groter aantal fraksies van kleiner hoeveelhede analiete gefokusseer.

KONSENTRASIE VAN ANALIETE

Die konsentrasie waarin die analiete die modulorkapillêr bereik het 'n invloed op die vorm van die gemoduleerde pieke. Deur gebruik te maak van die optimum kondisies wat tot dusver bepaal is, naamlik 2°C/min temperatuurprogram, 2 s verhitting met 3 s wagtyd en 'n verhittingsinkrement van tussen 50°C en 100°C, is analyses met dekaan en pentakosaan gedoen deur verskillende hoeveelhede van die analiete op die primêre kolom in te spuit. Daar is vermoed dat die grenswaarde vir die massa pentakosaan wat waarneembare piekverbreding gee, hoër sal wees as dié vir dekaan aangesien retensie van die swaarder molekule in die stasionêre fase beter is. Dit is dan ook bevestig met die waardes wat bepaal is: ongeveer 0.03 µg vir pentakosaan en 0.02 µg vir dekaan.

BESTE PARAMETERS MET 'n 0.2 mm MODULATORKAPILLÊR

Uit die voorafgaande resultate is bepaal dat die beste fokussing van analiete deur weerstandsverhitting van die modulator verkry word met 'n temperatuurprogram van 2°C/min of stadiger en 'n gemiddelde draergasvloei van ongeveer 43 cm/s. Verhittings van so kort as 1 s lewer fokussing van die analiete maar beter basislyndefiniëring van opeenvolgende fraksies word waargeneem met langer verhittingsiklusse. Die langer verhittingsiklusse word ook verkies om voorsiening te maak vir die volledige verloop van die tweede dimensie skeiding na oordrag van elke fraksie na die sekondêre kolom en die

optimum verhittingsiklus bestaan dus uit 2 s verhitting en 2 tot 3 s wagtyd. Die verhittingsinkremente wat die beste resultate gelewer het, is tussen 50°C en 100°C.

Vir monsters wat analiete in uiters lae konsentrasie bevat kan goeie fokussering byvoorbeeld ook verkry word deur 'n temperatuurprogram van 4°C/min te gebruik of die inlaatdruk (vloei) heelwat te verhoog, wat beteken dat die analiete meer gekonsentreerd vanaf die primêre kolom elueer.

Dit is belangrik om te besef dat verandering van een parameter, byvoorbeeld die vloei, beteken dat die sisteem weer geoptimeer moet word met betrekking tot die ander parameters, soos verhittingsiklus en temperatuurprogram.

MODULATORKAPILLÊR MET BINNEDEURSNIET 0.1 mm

Die ontwikkelingswerk is tot in hierdie stadium met 'n 0.2 mm modulorkapillêr gedoen. Aangesien die skeiding in die tweede dimensie voltooi moet wees voordat die volgende puls gedesorbeerde materiaal deur die modulator na die sekondêre kolom oorgedra word, is die aanwending van 'n kort sekondêre kolom met 'n baie klein binnedeursnit van byvoorbeeld 0.1 mm, absoluut essensiël. In ander omvattende tweedimensionele sisteme wat in die literatuur beskryf is, word meestal van modulorkapillêre met hierdie binnedeursnit gebruik gemaak en eksperimente in verband met die gebruik van soortgelyke modulorkapillêre was dus 'n logiese stap in die verdere ontwikkeling van die sisteem wat hier bespreek word.

Twee faktore moet hier in aanmerking geneem word. Eerstens moet die kapasiteit van die modulorkapillêr om analiete te immobiliseer teen die kapasiteit van die kolom wat in die tweede dimensie gebruik word, opgeweeg word. 'n Modulorkapillêr van 95 mm met 'n binnedeursnit van 0.2 mm en belaaig met 3 μm fase bevat 0.176 mm³ fase terwyl 'n kapillêr met 'n binnedeursnit van 0.1 mm met dieselfde fasebelaaing 0.087 mm³ fase bevat. Dis is dus moontlik dat die sekondêre kolom oorlaai sou kon word as die

maksimum kapasiteit van die 0.2 mm modulorkapillêr benut sou word. Daar mag dus 'n bepaalde voordeel aan die gebruik van 'n 0.1 mm modulorkapillêr verbode wees. Hierteenoor moet die verhouding van die vloeispoed deur die modulorkapillêr en die sekondêre kolom in gedagte gehou word. Dit sou byvoorbeeld nie tot die effektiwiteit van die sisteem bydra as die optimale vloeispoed deur die sekondêre kolom baie hoër is as die vloeispoed wat optimaal sou wees vir die modulorkapillêr met sy vyftienvoudig dikker belaging met stasionêre fase nie. Daar is besluit om sommige van die optimeringseksperimente te herhaal met 'n 0.1 mm modulorkapillêr belaa met 3 μm stasionêre fase. 'n Reeks verhitters (100 mm lank) met buite- en binnedeursnitte van onderskeidelik 0.32 mm en 0.16 mm is vervaardig met onderskeidelik twee, vier, ses en agt segmente.

INLAATDRUK

Dekaan is gechromatografeer met verskillende inlaatdrukke om die optimum vloei vir die betrokke sisteem te bepaal terwyl daar weer vlugtig gekyk is na die resultate wat verkry word met verskillende temperatuurprogramme. Daar is weereens gebruik gemaak van 2-oktanoon en dekaan vir die analyses wat uitgevoer is met inlaatdrukke van 35 kPa en 70 kPa wat onderskeidelik gemiddelde draergasvloei van ongeveer 20 cm/s en 40 cm/s lewer. Net soos met die 0.2 mm modulorkapillêr is gevind dat fokussering van die analiete met die vinniger vloeispoed (40 cm/s) en vinnige temperatuurprogram (4°C/min) uiters swak is. Met die 2°C/min program is die fokussering aansienlik beter, maar daar is nie veel verbetering met die 1°C/min program nie. Die fokussering wat verkry is met 'n vloei van 20 cm/s is ietwat beter as dié met 'n vloei van 40 cm/s en toon dieselfde tendens van stertvorming by kort verhittingsiklusse en deurbraak by langer verhittingsiklusse.

Die analyses is herhaal by 'n inlaatdruk van 45 kPa, 26 cm/s vloei, en 'n 2°C/min temperatuurprogram. Stertvorming word waargeneem by kort verhittingsiklusse en soos verwag kon word vind deurbraak plaas met selfs korter verhittingsiklusse as met 'n 20 cm/s vloei. Volgens vroeër bepaling sal analyses met 'n langer verhittingsiklus en 26 cm/s vloei selfs 'n groter mate van deurbraak toon as met 'n vloei van 20 cm/s.

Die effek van 'n laer vloeï (14 cm/s, 25 kPa) is volgende ondersoek. Baie beduidende stertvorming kom voor by die analyses en die pieke is baie breër as dié wat verkry word met 'n vloeï van 20 cm/s. Verdere aandag is nie gegee aan analyses by die laer vloeï nie.

Die analyses is ook gedoen by dieselfde kondisies met 'n inlaatdruk van 30 kPa wat 'n gemiddelde vloeï van 17 cm/s lewer. Die piekbreedtes vergelyk nie goed met dié verkry met 'n vloeï van 20 cm/s nie, alhoewel deurbraak eers by langer verhittingsiklusse voorkom. Stertvorming by die pieke is ook meer prominent as met die 20 cm/s vloeï.

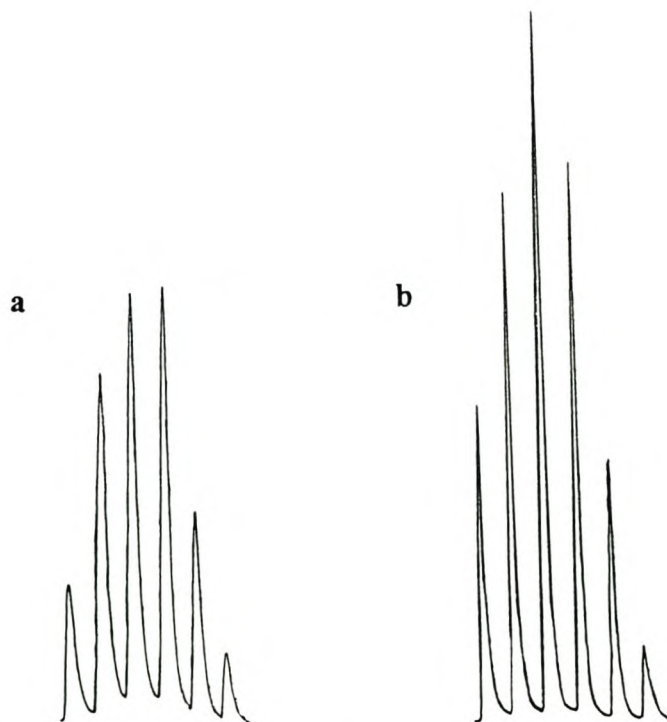
Analises by 40 kPa, 23 cm/s vloeï, toon ook deurbraak by korter verhittingsiklusse as met die 20 cm/s vloeï. Dit is belangrik om weer daarop te wys dat die verhittingsiklus nie onbeperk verkort kan word om deurbraak by hoë vloeïe te voorkom nie, aangesien ingedagte gehou moet word dat die analise in die tweede dimensie feitlik voltooi moet wees voordat die volgende puls analiete met behulp van die modulator na die sekondêre kolom oorgedra word sodat vinnige eluerende komponente nie die stadig eluerende komponente van die vorige fraksie "inhaal" nie.

Volgens piekvorms en –breedtes wil dit voorkom of die optimum vloeï vir effektiewe fokussing van pieke met 'n 0.1 mm modulorkapillêr in die omgewing van 20 cm/s is. Dekaan is gechromatografeer en gemoduleer by vloeïe nêr bo en nêr onder 20 cm/s. Die minimum piekbreedtes is wel verkry by 'n gemiddelde gasvloeïspoed van 20 cm/s.

Stertvorming en deurbraak vind plaas onder kondisies wat goeie resultate gelewer het met die 0.2 mm modulorkapillêr en hieruit kan afgelei word dat die vermoë van die 0.1 mm modulorkapillêr om die analiete te immobiliseer, nie so goed is nie. Dit is waarskynlik omdat die modulator in die gaschromatograaf is en nie afgekoel word nie, anders as sommige ander sisteme wat tans beskikbaar is.

VERHITTINGSINKREMENT

Onderzoek is weer ingestel na die optimum verhittingsinkrement wat op 'n 0.1 mm modulatorkapillêr van toepassing sou wees deur chromatografering van dekaan en modulering met verhittingsinkremente van 25°C, 50°C, 75°C, 100°C, 125°C en 150°C. Goeie fokussering is verkry met verhittingsinkremente van 75°C sowel as 100°C. Hierdie redelike wye verhittingsinkrementgebied is baie voordelig aangesien die toename in die verhittingsinkrement met stroominkremente van 1 A nie altyd sodanig is dat die verhittingsinkrement presies ingestel kan word nie. Figuur 4.7 toon die gaschromatogramme van dekaan wat verkry is met verhittingsinkremente van 50°C en 75°C.



Figuur 4.7: Gaschromatogramme van dekaan: modulering met 6-segment verhitter, 35 kPa inlaatdruk, 2°C/min temperatuurprogram, (a) 50°C verhittingsinkrement (3 A), 2 s verhitting, 1 s wagtyd en (b) 75°C verhittingsinkrement (4 A), 2 s verhitting, 1 s wagtyd.

BESTE PARAMETERS MET 'n 0.1 mm MODULATORKAPILLÊR

Resultate het weereens getoon dat die beste fokussering van analiete verkry word met 'n temperatuurprogram van 2°C/min of stadiger. Die optimum gemiddelde draergasvloei met die 0.1 mm modulorkapillêr is in die omgewing van 20 cm/s en die verhittingsinkrement wat die beste resultate gelewer het, is tussen 75°C en 100°C.

VERWYSINGS

1. J. Beens, H. Boelens, R. Tijssen en J. Blomberg, *J. High Resol. Chromatogr.* **21**, 47 – 54 (1998).
2. W. Jennings en T. Shibamoto, *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*, Academic Press, New York, (1980).

HOOFSTUK 5

TWEEDIMENSIONELE GASCHROMATOGRAFIE

In aanvanklike ondersoeke is gebruik gemaak van 'n 0.2 mm kapillêr as die sekondêre kolom omdat vermoed is dat 'n 0.1 mm kolom moontlik oorlaai sou kon word met die gebruik van die 0.2 mm modulorkapillêr. Latere ondersoeke is wel gedoen met 'n 0.1 mm sekondêre kolom en die 0.2 mm modulorkapillêr en dit het geblyk dat oorlading van die sekondêre kolom nie noodwendig as 'n groot probleem beskou hoef te word nie. Soos in die vorige hoofstuk verduidelik, is egter gevind dat 'n 0.1 mm modulorkapillêr in die sisteem wat hier bespreek word, minder bevredigende resultate gelewer het as 'n 0.2 mm kapillêr.

SEKONDÊRE KOLOM MET 0.2 mm BINNEDEURSNIET

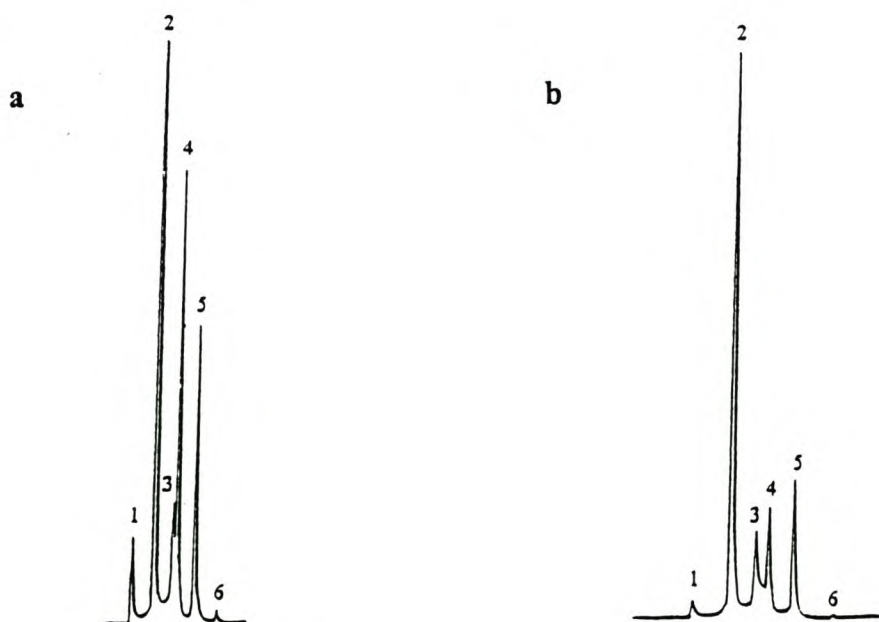
Die eerste tweedimensionele sisteem wat vir die navorsingsprojek opgestel is, het bestaan uit 'n primêre kolom (25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 μm PS-255), die modulorkapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255) in die 10-segment verhitte (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) en 'n sekondêre kolom (4.5m x 0.2 mm belaag met 0.14 μm OV-1701-OH). Die invloed wat die wagtyd, lengte van die sekondêre kolom en die temperatuurprogram op die tweedimensionele skeiding het, is ondersoek.

WAGTYD TUSSEN VERHITTINGS

Die modulator is nie siklies verhit nie, maar daar is 'n wagtyd tussen die verhittings gebruik aangesien die moontlikheid bestaan dat stadig eluerende komponente van een

fraksie wat na die sekondêre kolom oorgedra is, met vinnig eluerende komponente van die daaropvolgende fraksie kan koëlueer.

Figuur 5.1a toon die tweedimensionele gaschromatogram van isobutieliisobutiraat en *n*-nonaan verkry deur verhitting van die modulator deur 'n stroom van 4 A vir 400 ms deur elk van die verhittersegmente te stuur (4 s totale verhitting) met 'n wagtyd van 2.4 s tussen verhittings. Hierdie twee verbindings wat onvolledig deur die primêre kolom geskei is, is as vier fraksies, of pulse, deur die modulator na die sekondêre kolom oorgedra. Uit die chromatogram kan afgelei word dat die eerste fraksie slegs die alkaan bevat (piek 1) terwyl die tweede en derde fraksie elk die alkaan (piek 2 en 4 onderskeidelik) en die ester (piek 3 en 5 onderskeidelik) bevat. Die vierde fraksie bevat slegs die ester (piek 6). Die vinniger eluerende alkaan van die derde fraksie (piek 4) het



Figuur 5.1: Tweedimensionele gaschromatogram van isobutieliisobutiraat en *n*-nonaan: 4.5 m sekondêre kolom, modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (4 A), 4 s verhitting, (a) 2.4 s wagtyd en (b) 4 s wagtyd.

Toekenning van pieke: (a) Alkaan - 1, 2 en 4; Ester - 3, 5 en 6, (b) Alkaan - 1, 2 en 4; Ester - 3, 5 en 6.

feitlik die ester van die tweede fraksie (piek 3) "ingehaal" en om dit te voorkom is die wagtyd verleng na 4 s (Figuur 5.1b) sonder dat die skouervorming, as gevolg van deurbraak, meer prominent word.

Die moontlikheid van 'n langer verhittingstyd is ook ondersoek deur die modulator te verhit met 'n stroom van 3 A wat vir 600 ms deur elk van die verhittersegmente gestuur is (6 s totale verhitting). Dit is herhaal met 'n wagtyd van onderskeidelik 1.8 s, 2.4 s en 3 s tussen die opeenvolgende verhittings. Met 'n wagtyd van 1.8 s koëlueer die alkaan van een fraksie feitlik volledig met die ester van die vorige fraksie, 'n wagtyd van 3 s lei tot deurbraak van die analiete en 'n wagtyd van 2.4 s gee dus die beste resultate.

LENGTE VAN DIE SEKONDÊRE KOLOM

Die probleem van 'n vinnig-eluerende komponent wat 'n stadig-eluerende komponent van die vorige fraksie inhaal, kan ook vermy word deur die sekondêre kolom te verkort, mits die verkorte kolom steeds voldoende skeiding van die komponente in elke fraksie gee. In elk van die analyses met die 4.5 m sekondêre kolom is die skeiding van die alkaan en ester in elke fraksie op die sekondêre kolom baie goed en die sekondêre kolom is verkort tot 3.5 m. Aangesien die sekondêre skeiding dus nou vinniger plaasgevind het, was dit moontlik om die wagtyd tussen verhittings te verkort. Figuur 5.2 toon 'n gaschromatogram van isobutieliisobutiraat en *n*-nonaan verkry deur die modulator te verhit met 'n stroom van 4 A wat vir 400 ms deur elk van die verhittersegmente gestuur is met 'n wagtyd van 4 s tussen verhittings (vergelyk met Figuur 5.1b). In Figuur 5.2 is die skeiding tussen die alkaan en ester van elke fraksie steeds baie goed en die alkaan van die derde fraksie (piek 4) haal nie naastenby die ester van die tweede fraksie (piek 3) in nie. Verdere verkorting van die sekondêre kolom gee swak skeiding van die alkaan en ester in die tweede dimensie en om die skeiding met hierdie korter kolom te verbeter sal veranderinge van die ander parameters, soos die inlaatdruk of verhittingsiklus, nodig wees. Verdere werk is voorlopig gedoen met die 3.5 m sekondêre kolom.



Figuur 5.2: Tweedimensionele gaschromatogram van isobutielisobutiraat en *n*-nonaan: 3.5 m sekondêre kolom, modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (4 A), 4 s verhitting, 4 s wagtyd.

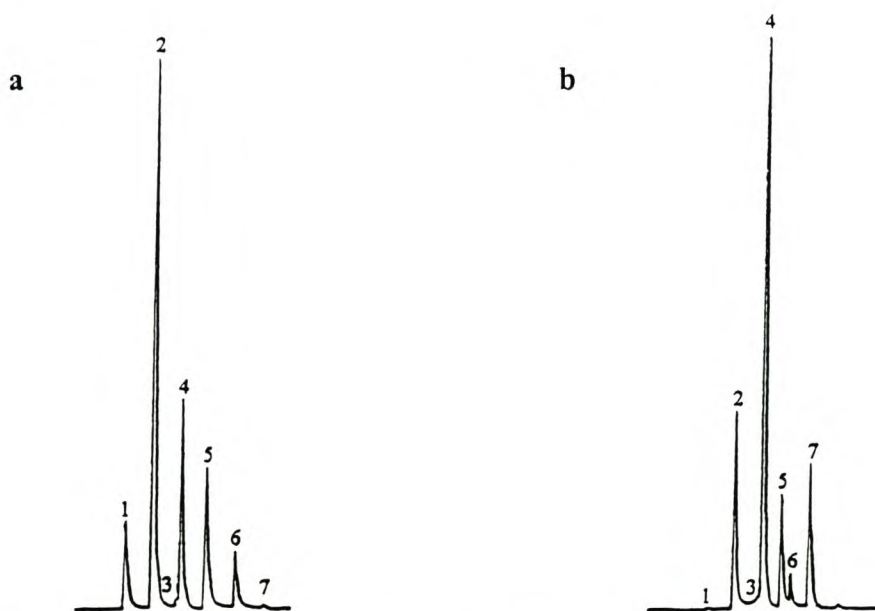
Toekenning van pieke: Alkaan - 1, 2 en 4; Ester - 3, 5 en 6.

TEMPERATUURPROGRAM

Die vorige analises is uitgevoer met 'n temperatuurprogram van 2°C/min en aangesien deurbraak van die komponente in die modulorkapillêr voorkom, is die moontlikheid van 'n stadiger program oorweeg wat sou beteken dat die analiete by 'n laer temperatuur elueer en beter in die modulorkapillêr geïmmobiliseer sou kon word. 'n Mengsel van isobutielisobutiraat en *n*-nonaan is op die tweedimensionele sisteem met die 3.5 m sekondêre kolom gechromatografeer met temperatuurprogramme van 1°C/min, 1.5°C/min en 2°C/min.

Die chromatogram van isobutielisobutiraat en *n*-nonaan in Figuur 5.2 is verkry met 'n temperatuurprogram van 2°C/min en die chromatogram in Figuur 5.3a is opgeneem met 'n temperatuurprogram van 1°C/min. Daar kom geen deurbraak voor in die chromatogram in Figuur 5.3a nie, wat die vermoede van verminderde deurbraak by 'n laer

oondtemperatuur bevestig. Die probleem van die alkaan van die derde fraksie (piek 4) wat die ester van die tweede fraksie (piek 3) inhaal, is egter nou weer ter sprake. Dit wil dus voorkom dat óf die wagtyd verleng moet word, wat weer deurbraak tot gevolg kan hê, óf die sekondêre kolom verkort moet word indien 'n stadiger temperatuurprogram gebruik word. Vanaf die chromatogram wat opgeneem is met 'n temperatuurprogram van 1.5°C/min (Figuur 5.3b) blyk dit dat deurbraak steeds nie noemenswaardig is nie. Die oorvleueling van die alkaan in die derde fraksie (piek 4) met die ester van die tweede fraksie (piek 3) is waarskynlik toe te skryf aan deurbraak van die alkaan wat plaasvind in fraksie vier as gevolg van die relatiewe hoë konsentrasie van die alkaan in die betrokke fraksie.



Figuur 5.3: Tweedimensionele gaschromatogram van isobutielisobutiraat en *n*-nonaan: modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (4 A), 4 s verhitting, 4 s wagtyd, temperatuurprogramme van (a) 1°C/min en (b) 1.5 °C/min.

Toekenning van pieke: (a) Alkaan - 1, 2 en 4; Ester - 3, 5 en 6, (b) Alkaan - 1, 2, 4 en 6; Ester - 3, 5 en 7.

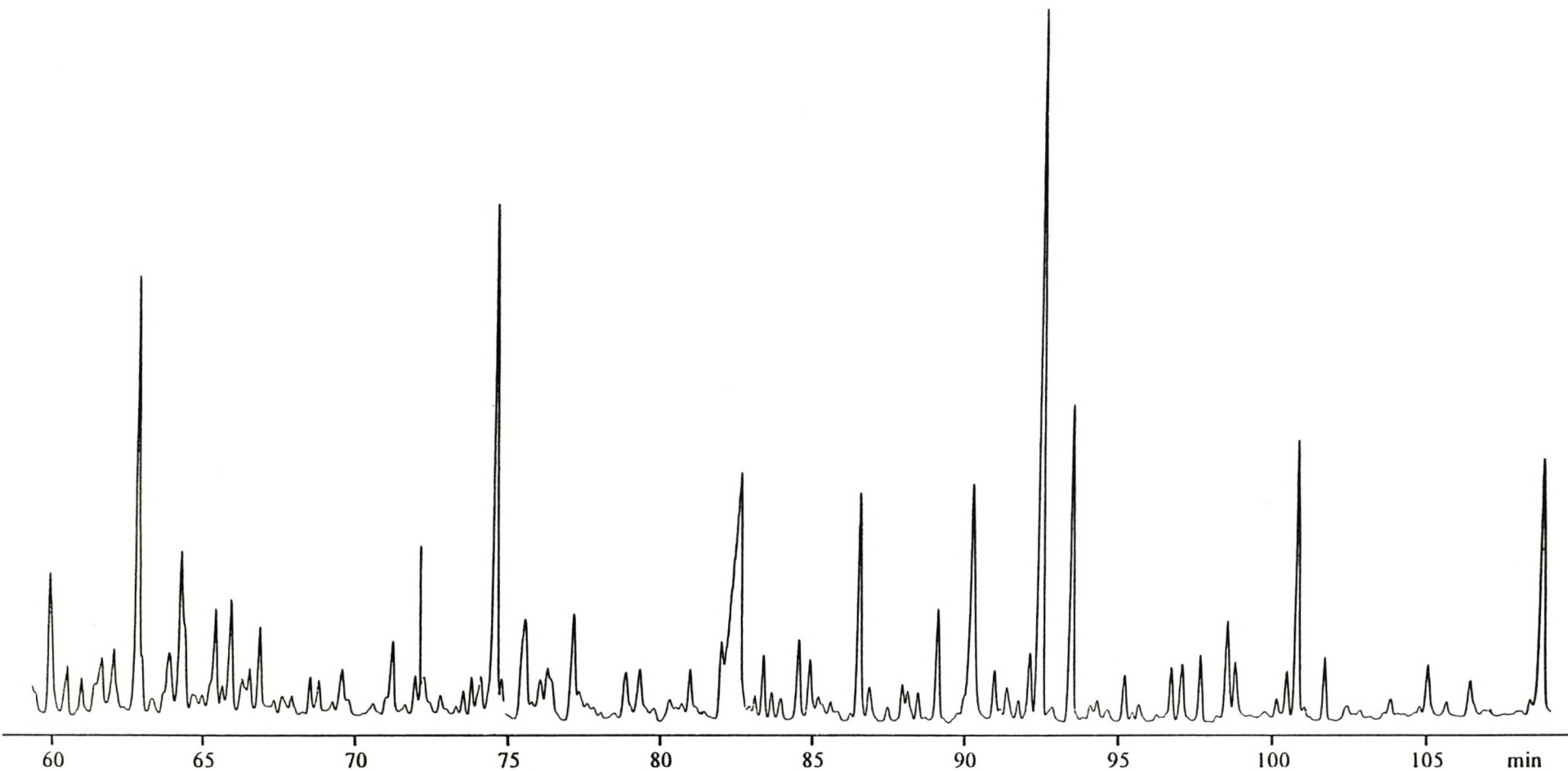
ANALISE VAN DIE PREORBITALE AFSKEIDING VAN 'n SUNIRAM

'n Gedeelte van 'n eendimensionele gaschromatografiese analise van die preorbitale afskeiding van 'n suniram (*Neotragus moschatus*) word in Figuur 5.4 getoon. Die afskeiding is vervolgens met die tweedimensionele sisteem gechromatografeer s nder modulering (Figuur 5.5). Die identifisering van ooreenstemmende pieke in die chromatogramme in Figuur 5.4 en Figuur 5.5 is nie eenvoudig nie aangesien die piekvolgorde tot 'n mate verskil, asook die algehele retensietye. Vervolgens is die afskeiding gechromatografeer m t modulering met die 10-segment verhitter deur 'n stroom van 4 A vir 400 ms deur elk van die verhittersegmente te stuur met 4 s wagtyd tussen verhittings. 'n Gedeelte van die gemoduleerde tweedimensionele gaschromatogram word in Figuur 5.6 getoon. Die skouers wat die pieke toon is moontlik 'n aanduiding van deurbraak van analiete uit die modulatorekapillêr. Pieke wat ooreenstem in die tweedimensionele chromatogram s nder modulering (Figuur 5.5) en die tweedimensionele chromatogram m t modulering (Figuur 5.6), is moeilik identifiseerbaar en die identifikasie van pieke staan oor totdat die tweedimensionele sisteem aan 'n massaspektrometer gekoppel kan word.

SEKONDÊRE KOLOM MET 0.1 mm BINNEDEURSNIET

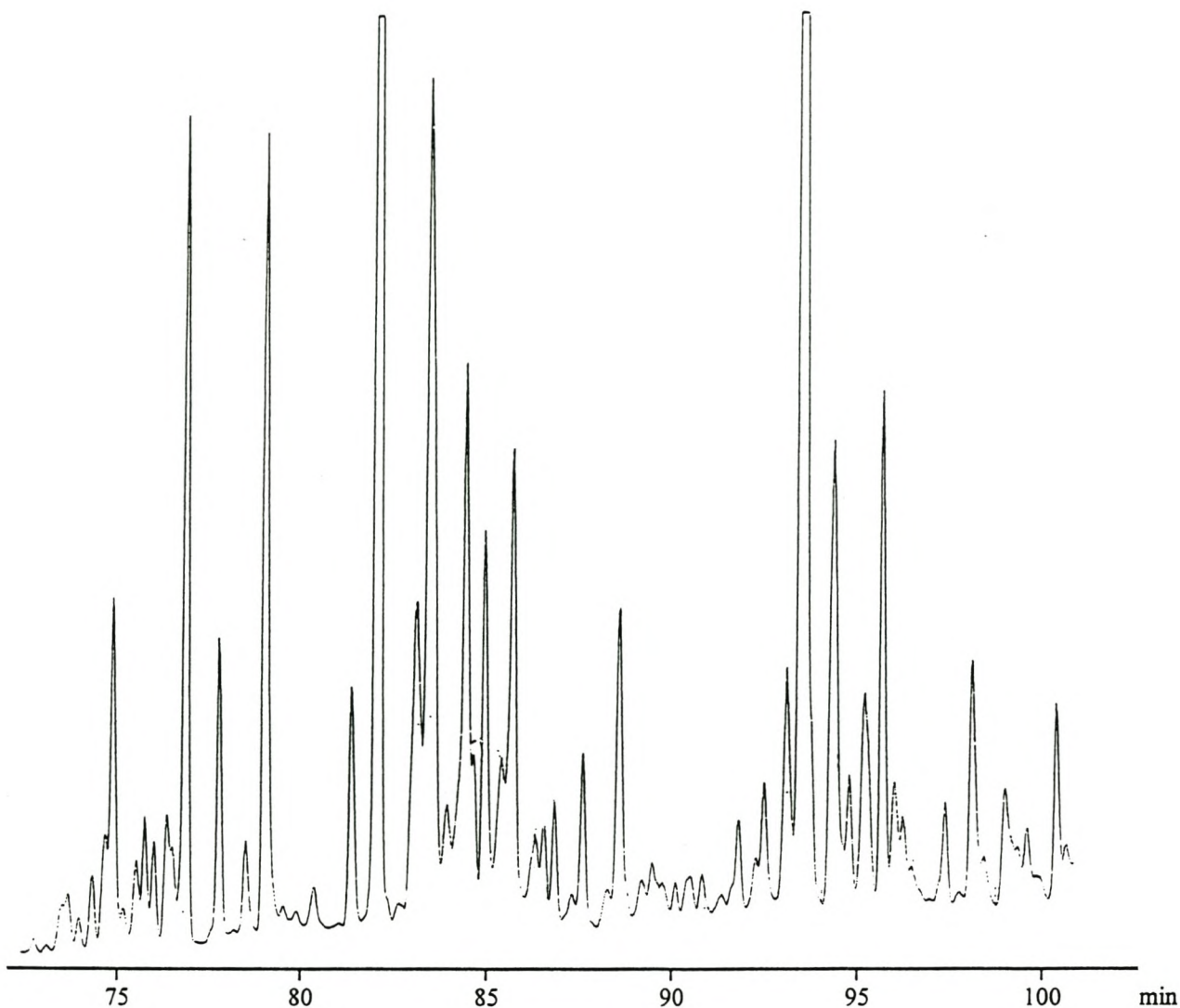
Die volgende opstelling wat ondersoek is, het bestaan uit 'n primêre kolom (20 m x 0.25 mm belaag met 0.25 μm PS-089), die modulatorekapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255) in die 10-segment verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) en 'n sekondêre kolom (1.2 m x 0.1 mm belaag met 0.2 μm OV-1701-OH).

Volgens 'n beskikbare sagteware pakket (Hewlett-Packard Method Translation Software) is die optimum vloeivertempo vir waterstof as draergas deur 'n 1.2 m kapillêr met 'n 0.1 mm binnedeursnit, ongeveer 0.5 ml/min. Kolomme met verskillende binnedeursnitte word in die tweedimensionele sisteem gekombineer en die optimale vloeivertempo deur die kolomme is nie dieselfde nie. Alhoewel die inligting dus waarskynlik nie sondermeer toegepas kan word



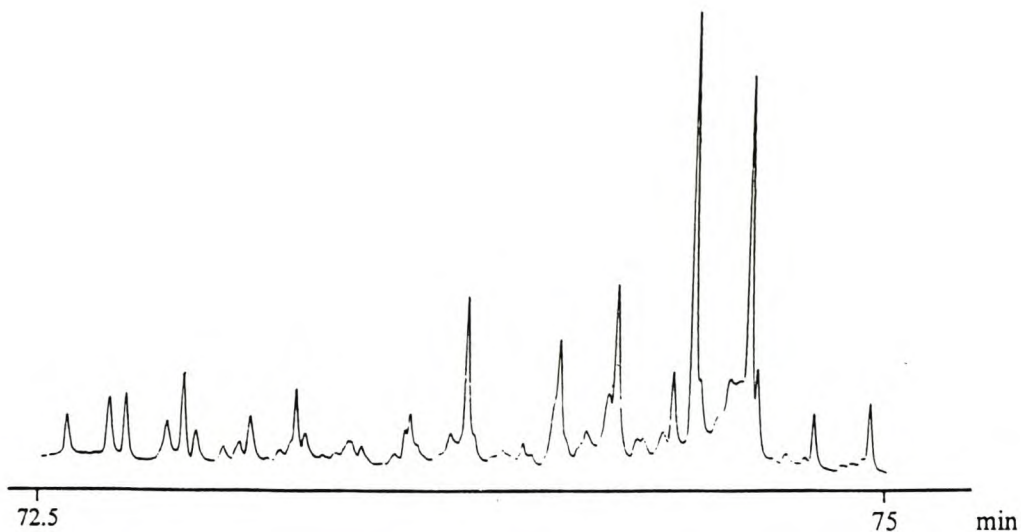
Figuur 5.4: 'n Gedeelte van die eendimensionele gaschromatogram van die preorbitale afskeiding van 'n suniram.

Kolom: 25 m x 0.32 mm belag met 0.500 μm PS-255. Temperatuurprogram: 2°C/min. Kaartloopspoed: 1 cm/min.



Figuur 5.5: 'n Gedeelte van die ongemoduleerde tweedimensionele gaschromatogram van die preorbitale afseiding van 'n suniram.

Primêre kolom: 25 m x 0.32 mm belaag met 0.500 μm PS-255. Sekondêre kolom: 3.5 m x 0.2 mm belaag met 0.14 μm OV-1701-OH. Modulatorkapillêr: 0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255. Temperatuurprogram: 2°C/min. Kaartloopspeed: 1 cm/min.



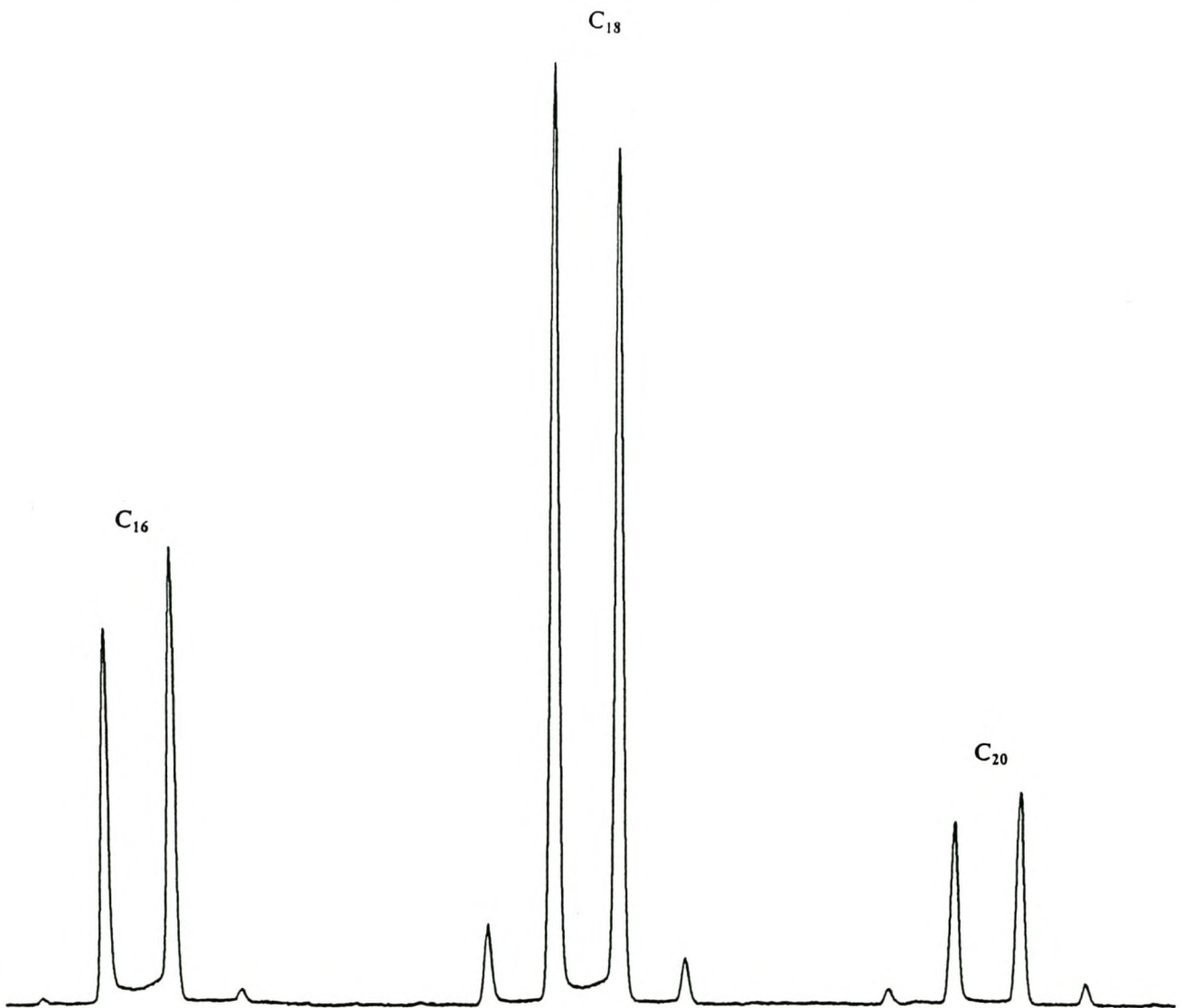
Figuur 5.6: 'n Gedeelte van die gemoduleerde tweedimensionele gaschromatogram van die preorbitale afskeiding van 'n suniram: modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (4 A), 4 s verhitting, 4 s wagtyd.

Primêre kolom: 25 m x 0.32 mm belaag met 0.500 μm PS-255. Sekondêre kolom: 3.5 m x 0.2 mm belaag met 0.14 μm OV-1701-OH. Modulatorkapillêr: 0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255. Temperatuurprogram: 2°C/min. Kaartloopspoed: 1 cm/min.

nie, is hierdie vloeitog as 'n uitgangspunt gebruik vir die analises. Vir 'n vloeitog van 0.5 ml/min is die inlaatdruk 70 kPa met 'n gemiddelde liniêre vloeisnelheid van 16.1 cm/s (137 s dooietyd vir die sisteem, gemeet by 40°C). Chromatografering van 'n ligte oliefraksie op die sisteem en verhitting van die 10-segment verhitter vir 3 s met 'n 3 s wagtyd lewer baie breë pieke. Die inlaatdruk is sistematies verhoog tot 150 kPa (85.0 cm/s, 26 s dooietyd), maar daar is nie 'n noemenswaardige verbetering in die piekbreedtes waargeneem nie en skeiding van die komponente was baie swak.

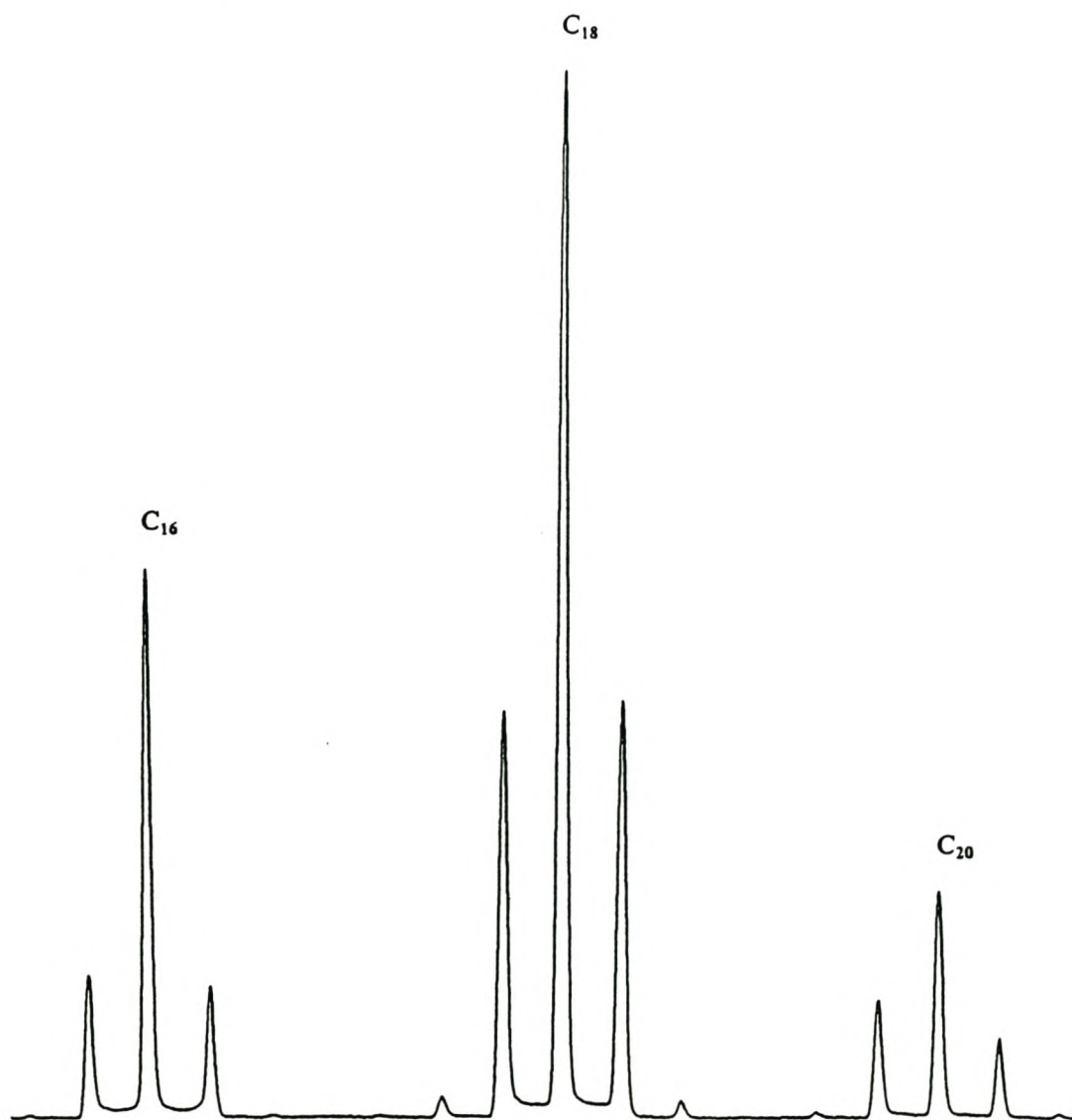
Die sekondêre kolom is verkort tot 0.6 m en die inlaatdruk is gehou op 150 kPa wat 'n vloeisnelheid van 94.1 cm/s gee (22 s dooietyd). Modulering is gedoen deur verhitting van die modulator vir 3 s met 3 s wagtyd tussen verhittings. Die piekbreedtes het aansienlik verbeter, maar skeiding was nog baie swak.

Verdere verhoging van die inlaatdruk tot 170 kPa (103.5 cm/s, 20 s dooietyd) lewer nie veel beter skeiding nie en op hierdie stadium is besluit om met behulp van die C₁₆, C₁₈ en C₂₀ alkene ondersoek in te stel na die optimum druk van die sisteem deur te kyk na piekbreedtes wat verkry word deur die modulator vir 3 s te verhit met 'n wagtyd van 3 s en 'n verhittingsinkrement van naastebly 50°C (5 A). Die minimum piekbreedtes is verkry by 110 kPa met 'n vloeisnelheid van 77.8 cm/s (26.6 s dooietyd) (Figuur 5.7).



Figuur 5.7: Gemoduleerde tweedimensionele gaschromatogram van die C₁₆, C₁₈ en C₂₀ alkene: gemiddelde vloei van 77.8 cm/s, modulering met 10-segment verhitte, 50°C verhittingsinkrement (5 A), 3 s verhitte, 3 s wagtyd.

By hierdie optimum vloeï is drie verhittingsiklusse ondersoek om te bepaal watter parameters die minimum piekbreedtes met modulering lewer. Daar is gekyk na 1 s verhitting met 3 s wagtyd, 2 s verhitting met 2 s wagtyd en 2 s verhitting met 3 s wagtyd (Figuur 5.8). Die minimum piekbreedtes is verkry met laasgenoemde parameters wat ooreengestem het met dié wat bepaal is vir die minimum piekbreedtes met die modulatorkapillêr direk aan die detektor gekoppel.

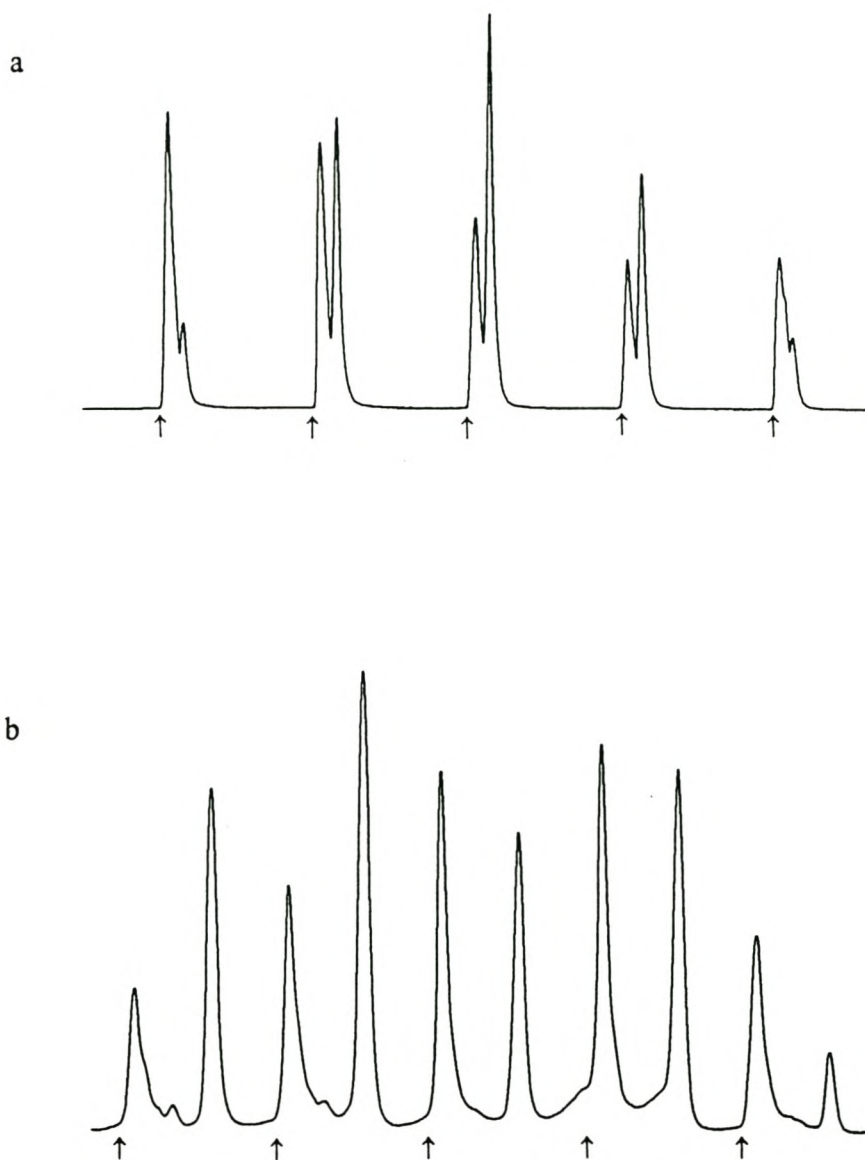


Figuur 5.8: Gemoduleerde tweedimensionele gaschromatogram van die C₁₆, C₁₈ en C₂₀ alkene: gemiddelde vloeï van 77.8 cm/s, modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (6 A), 2 s verhitting, 3 s wagtyd.

Om die piekbreedtes moontlik verder te verbeter is die sekondêre kolom verkort tot 0.3 m. Die vloeï neem nie juis toe met die verkorte kolom nie en die druk is gehou op 110 kPa (78.4 cm/s, 26.0 s dooietyd). Die piekbreedtes wat verkry is met dieselfde verhittingsiklus is feitlik dieselfde as wat verkry is met die 0.6 m sekondêre kolom en die korter kolom mag moontlik te kort wees vir effektiewe skeiding.

ANALISE VAN 'n LIGTE OLIE-FRAKSIE

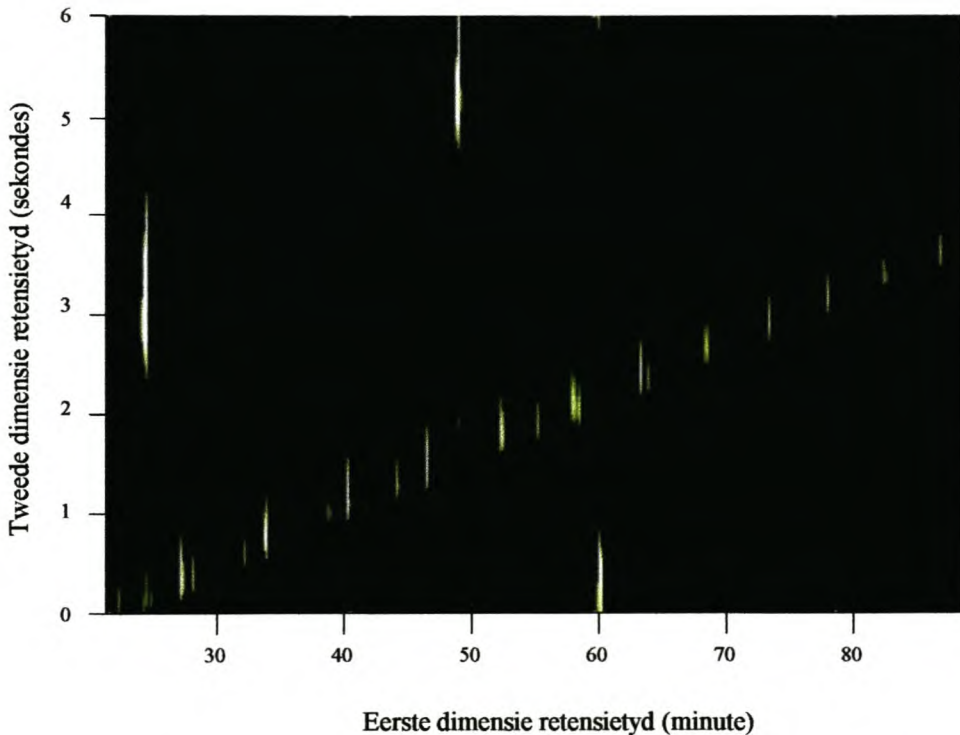
Soos vermoed is, word daar nie met hierdie baie kort sekondêre kolom goeie skeiding van komponente verkry in die tweedimensionele analise van die olie-fraksie met dieselfde verhittingsiklus (2 s verhitting met 3 s wagtyd) nie (Figuur 5.9a). Vir verbeterde skeiding is besluit om 'n sekondêre kolom van 1 m te gebruik. Om dieselfde vloeï te handhaaf as wat met die korter kolom gebruik is, moet die sisteem met die 1 m sekondêre kolom 'n dooietyd van 28.1 s hê. Die maksimum druk wat op die gaschromatograaf ingestel kan word is 250 kPa en lewer 'n minimum dooietyd van 32.9 s en gevolglik 'n gemiddelde vloeïsnelheid van 64.1 cm/s. Die skeiding van die komponente in die olie-fraksie met dieselfde verhittingsiklus as vir die vorige analise (2 s verhitting en 3 s wagtyd) is aansienlik beter (Figuur 5.9b). Die chromatogram in Figuur 5.9a, wat met die korter kolom verkry is, toon 'n lang basislyngedeelte tussen die pieke van opeenvolgende fraksies en die beskikbare skeidingsarea word nie optimaal gebruik vir skeiding van verbindings in die betrokke monster nie, terwyl die chromatogram in Figuur 5.9b toon dat die beskikbare tyd vir die sekondêre skeiding beter benut word met die langer kolom. Die lang basislyngedeelte in Figuur 5.9a is egter voordelig indien daar aromatiesse verbindings in die monster teenwoordig sou wees, aangesien die swaarder verbindings van die sekondêre kolom sal elueer voordat die volgende fraksie met vinnig eluerende komponente deur die modulator na die sekondêre kolom oorgedra word en moontlike koëluering van komponente dus voorkom word. In die twee chromatogramme in Figuur 5.9 word die aanvang van elke fraksie deur 'n pyltjie onder die chromatogram aangedui.



Figuur 5.9: Gedeelte van die tweedimensionele gaschromatogram van 'n ligte olie-fraksie: modulering met 8-segment verhitte, 80°C verhittingsinkrement (7 A), 2 s verhitte, 3 s wagtyd, (a) 0.3 m sekondêre kolom en gemiddelde vloeitempo van 78.4 cm/s, (b) 1 m sekondêre kolom en gemiddelde vloeitempo van 64.1 cm/s.

Verdere verbetering van die skeiding impliseer 'n langer sekondêre kolom, maar aangesien die druk nie verder verhoog kan word om die vloeitempo aan te pas nie, sou dit breër pieke tot gevolg hê. Die moontlikheid bestaan ook dat vinnig eluerende komponente op

die sekondêre kolom die stadiger eluerende komponente kan inhaal indien die sekondêre kolom verleng word. Daar is dus in hierdie stadium volstaan met die 1 m sekondêre kolom. Die olie-fraksie is verryk met naftaleen, fluoreen en antraseen. Die analise is herhaal op die sisteem met die 1 m sekondêre kolom en modulering is gedoen met die 10-segment verhitte. In Figuur 5.10 word die tweedimensionele gaschromatografiese data van die analise in die vorm van 'n kontoerkaart (kontoerchromatogram) getoon wat verkry is met behulp van die IDL sagteware. Hiervolgens lyk dit of die retensietye van die onvertakte alkane op die sekondêre kolom geleidelik toeneem. Daar is in Hoofstuk 3 reeds daarop gewys dat die onreëlmatige *relais*-skakeling met die huidige kragbron probleme opgelewer het en dat daar 'n tydelike oplossing vir die probleem gevind is. By noukerige ondersoek is gevind dat hoewel die korttermyn akkuraatheid van die

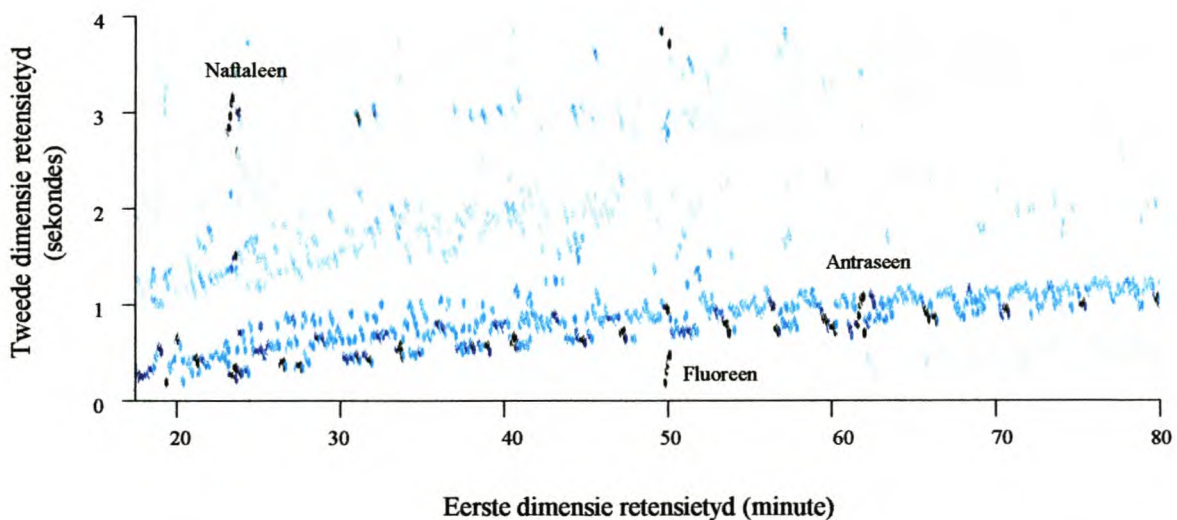


Figuur 5.10: Voorstelling met behulp van die IDL sagteware van 'n gedeelte van die tweedimensionele gaschromatogram van 'n ligte olie-fraksie vereik met naftaleen, fluoreen en antraseen: modulering met 10-segment verhitte, 80°C verhittingsinkrement (7 A), 3 s verhitte, 3 s wagtyd, 1 m sekondêre kolom en gemiddelde vloei van 64.1 cm/s.

tydsbepaling van verhittingsiklusse goed genoeg is vir die eksperimente wat tot dusver gedoen is, die langtermyn akkuraatheid, dit wil sê die voorkoms van die chromatogram as 'n geheel, geensins bevredigend is nie. Dit is moontlik om die data wat vir die generering van Figuur 5.10 gebruik is, só te manipuleer dat die onvertakte alkane in 'n band parallel aan die eerste dimensie retensietydas in die kontoerchromatogram verskyn. Dit is gedoen deur 'n data punt met intervalle van *ca* 400 te verwyder. Aangesien met meer as 400 000 datapunte gewerk word en die intervalle waarmee die datapunte verwyder moet word van een chromatogram na die volgende kan verskil, is dit 'n tydrowende proses en die huidige kragbron se tydsmeting is eenvoudig nie akkuraat genoeg nie. Tot tyd en wyl die kragbron herontwerp kan word, is besluit om 'n 2 V puls met die begin van elke verhittingsiklus te genereer en in die tweede detektorkanaal van die integreerder te registreer. Hierdie sein word in die verwerkte data weggelaat maar sorg daarvoor dat klein tydvariasies nie tot 'n langtermyn tydsverskuiwing opbou nie. Die 2 V puls is gegenereer deur 'n pulsgewende toestel wat aan een van die segmente van die kragbron gekoppel is. Die Pyramid sagteware is ontwerp om voorsiening te maak vir die inkorporering van hierdie verwysingspuls om sodoende die begin van die verhittingsiklusse te laat saamval met $t = 0$ op die tweede dimensie retensietydas. Hierdie funksie is nie beskikbaar in die IDL sagteware nie.

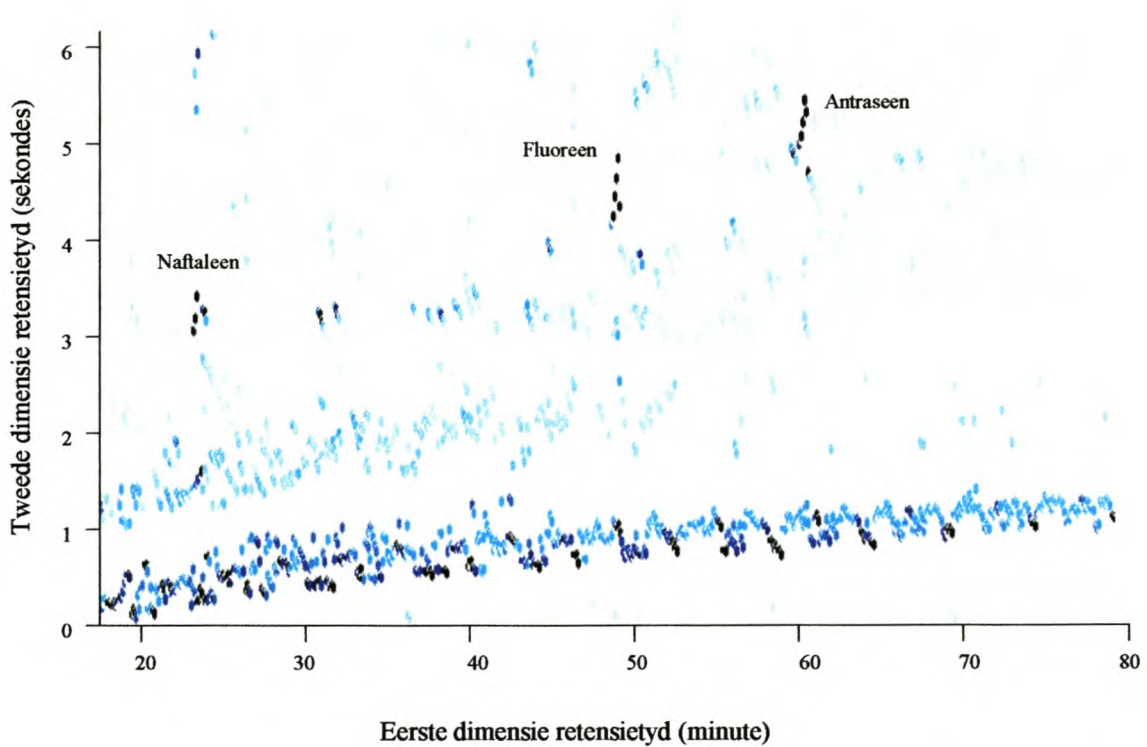
In Figuur 5.11 word 'n tweedimensionele voorstelling gegee van die tweedimensionele gaschromatogram wat verkry is van die verrykte olie-fraksie met 'n verhittingsiklus van 4 s (2 s verhitting, 2 s wagtyd). Die voorstelling van die data is gedoen met gehulp van die Pyramid sagteware wat spesiaal vir die doel ontwikkel is. In die chromatogram word elke gemoduleerde piek voorgestel deur 'n kolletjie waarvan die kleur bepaal word deur die hoogte van die betrokke piek. Vir dié chromatogram is die kleurskema gekies as wit vir die laagste intensiteit, deur skakerings van blou, tot swart vir die hoogste intensiteit. Uit die chromatogram in Figuur 5.11 is dit duidelik dat die vinniger eluerende alkane wel die aromatiese verbindings inhaal in die tweede dimensie aangesien dit voorkom asof die fluoreen en antraseen met die alkane koëlueer. Daar is besluit om die verhittingsiklus te verleng na 6 s (3 s verhitting, 3 s wagtyd) en die chromatogram in Figuur 5.12 toon die gevolglike goeie skeiding van die alkane en die aromatiese verbindings. 'n Swaarder

olie-fraksie, verkry in 'n olie-eksplorasië in die Indiese Oseaan aan die Suid-Afrikaanse kus, is op die sisteem gechromatografeer en gemoduleer met die 6 s verhittingsiklus en die resulterende tweedimensionele gaschromatogram word in Figuur 5.13 getoon. Dit is interessant dat in Figuur 5.12 en 5.13 die fraksies van komponente as reekse kolletjies voorgestel word. Indien die retensietye van die fraksies van 'n komponent in die tweede dimensie presies dieselfde is, sou verwag word dat 'n komponent in só 'n spitskaart as 'n horisontale ry kolletjies voorgestel sou word. Daar kan natuurlik geredeneer word dat die retensietye vir die verskillende fraksies van 'n komponent in die tweede dimensie as gevolg van 'n toename in temperatuur, soos in Figuur 5.13a, effens afneem met die gebruik van 'n temperatuurprogram. Dit is dus eenaardig dat die ry kolletjies in die geval van Figuur 5.12 skuins na bó verloop. 'n Verdere eenaardigheid is dat so 'n ry kolletjies, byvoorbeeld dié van fluoreen in Figuur 5.12, ook 'n verspreiding met betrekking tot die retensietyd in die eerste dimensie toon. Prof. E. Rohwer, van die

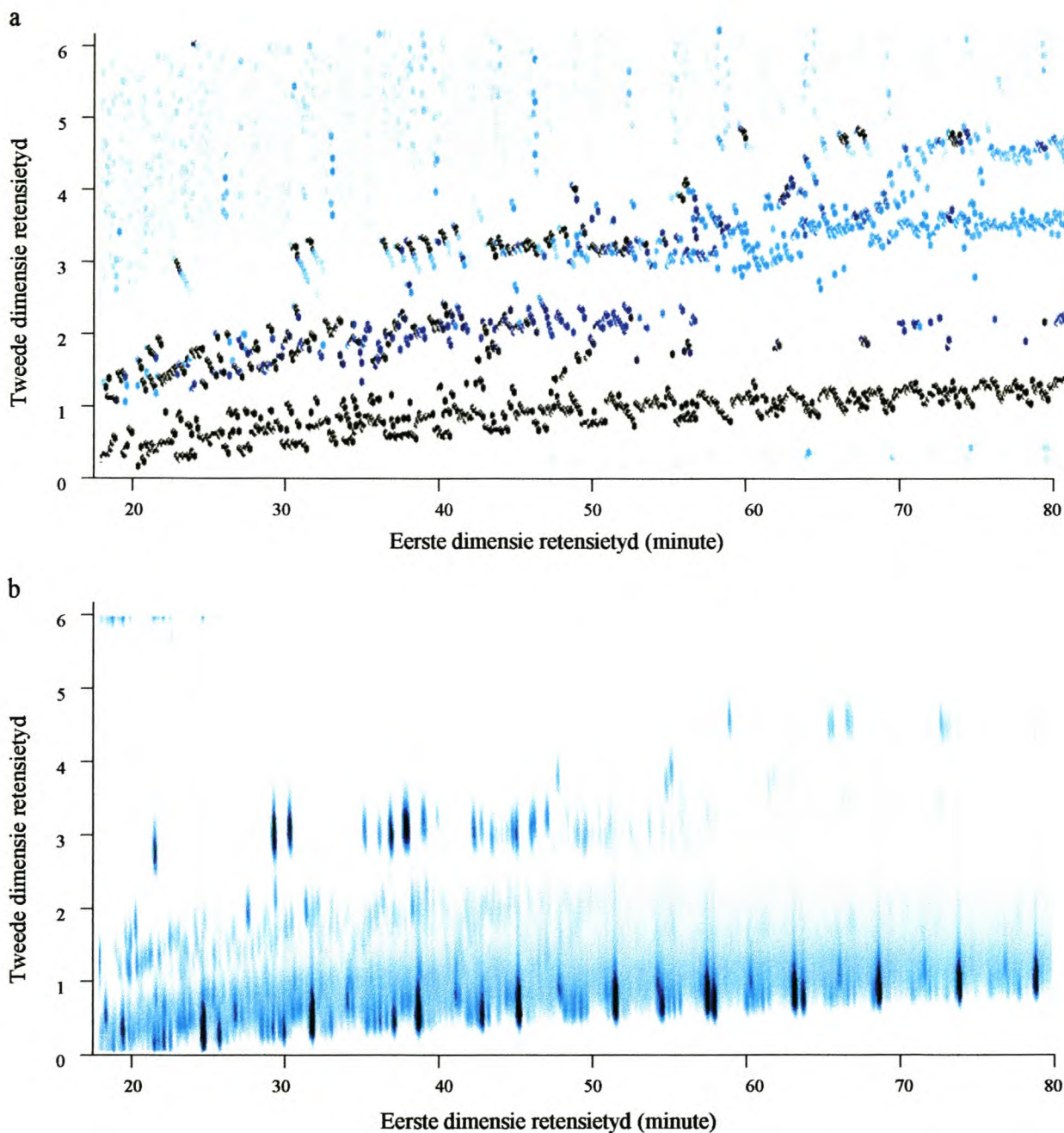


Figuur 5.11: Voorstelling met behulp van die Pyramid sagteware van 'n gedeelte van die tweedimensionele gaschromatogram van 'n ligte olie-fraksie vereik met naftaleen, fluoreen en antraseen: modulering met 10-segment verhitter, 80°C verhittingsinkrement (9 A), 2 s verhitting, 2 s wagtyd, 1 m sekondêre kolom en gemiddelde vloei van 64.1 cm/s.

Universiteit van Pretoria, is van mening dat hierdie verskynsel moontlik met die kersboomeffek vergelyk kan word. In die kontoerkaart (Figuur 5.13b) word die verskynsel nie waargeneem nie. Dis egter ook moontlik dat die verskynsel toegeskryf kan word aan die digitalisering van die data. Hierdie moontlikhede sal verder ondersoek moet word.



Figuur 5.12: Voorstelling met behulp van die Pyramid sagteware van 'n gedeelte van die tweedimensionele gaschromatogram van 'n ligte olie-fraksie vereik met naftaleen, fluoreen en antraseen: modulering met 10-segment verhitter, 80°C verhittingsinkrement (7 A), 3 s verhitting, 3 s wagtyd, 1 m sekondêre kolom en gemiddelde vloe van 64.1 cm/s.



Figuur 5.13: Voorstelling met behulp van die Pyramid sagteware, (a) 'n spitskaart en (b) 'n kontoerkaart, van 'n gedeelte van die tweedimensionele gaschromatogram van 'n olie-fraksie verkry in 'n olie-eksplorasië in die Indiese Oseaan aan die Suid-Afrikaanse kus: modulering met 10-segment verhitter, 80°C verhittingsinkrement (7 A), 3 s verhitting, 3 s wagtyd, 1 m sekundêre kolom en gemiddelde vloei van 64.1 cm/s.

HOOFSTUK 6

GC x GC-MS

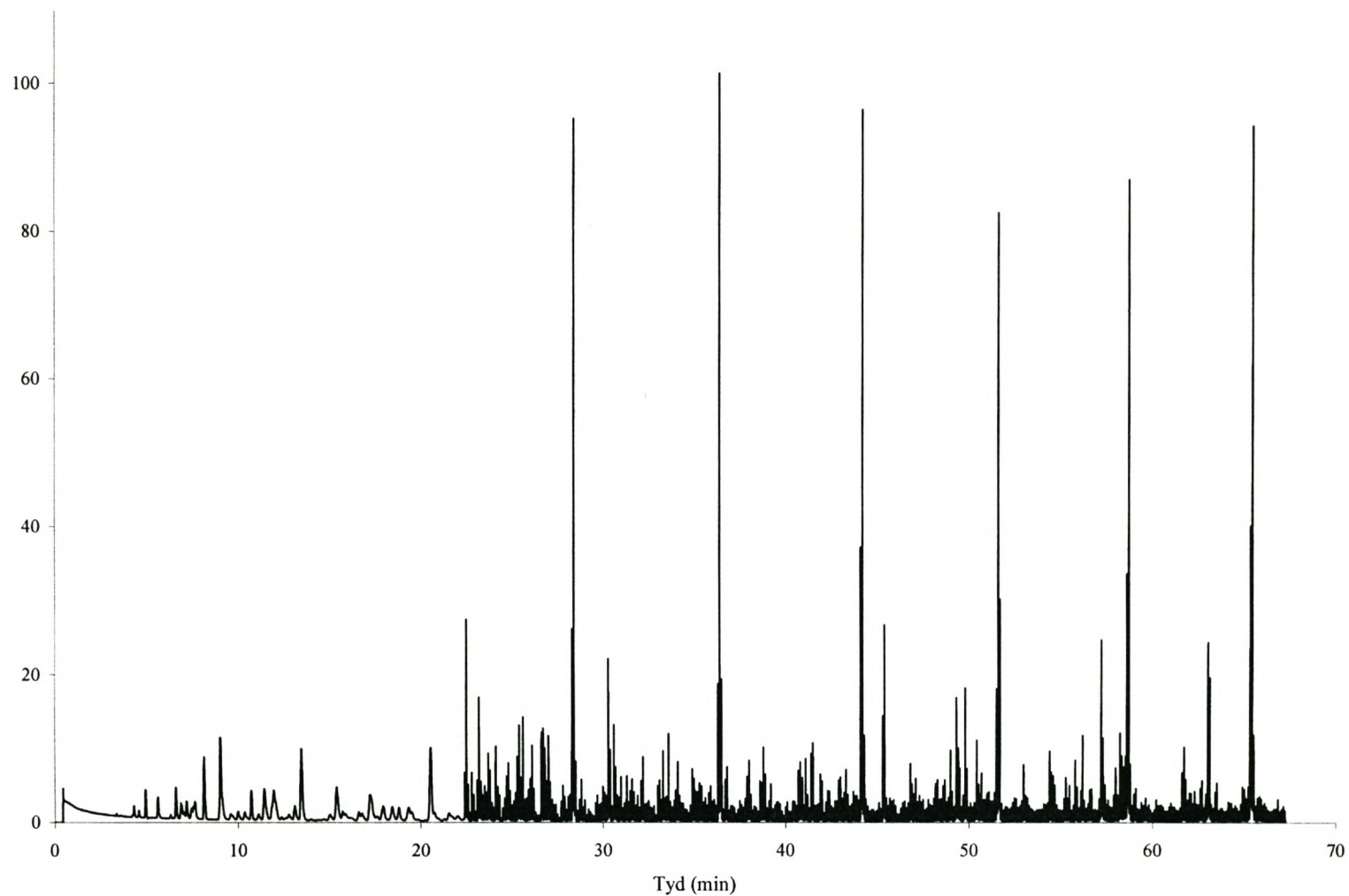
Aangesien die tweedimensionele gaschromatografiese sisteem ontwikkel is met onder andere die doel om dit met 'n kwadрупoolmassaspektrometer te kombineer, is die opstelling, bestaande uit 'n primêre kolom (25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 μm PS-255), die modulorkapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255), die 10-segment verhitter en 'n sekondêre kolom (2 m x 0.1 mm belaag met 0.1 μm OV-1701-OH) geïnstalleer in die gaschromatograaf van 'n GC-MS sisteem (Carlo Erba QMD 1000). Alhoewel tyd 'n beperkende faktor was en die GC x GC-MS sisteem nie volledig geoptimeer kon word nie, is enkele analyses uitgevoer met 'n mengsel van isobutieliisobutiraat en *n*-nonaan, asook 'n ligte olie-fraksie en die preorbitale afskeiding van 'n suniram (*Neotragus moschatus*). Tydens die analyses is deurgaans gebruik gemaak van waterstof as draergas en 'n aangeduide druk in die bron van 125 kPa. As gevolg daarvan dat die massaspektrometer nie vir die gebruik van waterstof as draergas geskik is nie, het hierdie parameters 'n druk in die bron gelever wat so hoog was dat baie swak spektra verwag is.

Tydens die analise van die ligte olie-fraksie is die modulator eers aangeskakel na 22 minute en die verandering in die gaschromatogram (Figuur 6.1a) kan duidelik waargeneem word. Figuur 6.1b toon 'n vergrote uittreksel van die chromatogram. Die massaspektra is teen 5 spektra per sekonde opgeneem en 'n verhittingsiklus van 6 s (3 s verhitting, 3 s wagtyd) is vir die modulator gebruik. Hieruit kan bereken word dat elke 30ste massaspektrum, byvoorbeeld spektra 15127 en 15157, dié van dieselfde verbinding sal wees. Die massaspektra van drie verbindings in Figuur 6.1b en die tentatiewe identifikasie van die verbindings op grond van gerekenariseerde vergelyking van die spektra met dié in die NBS biblioteek, word in Figuur 6.2a, b en c getoon. Die spektra is glad nie so swak as wat verwag is nie.

In die analise van die preorbitale afskeiding van 'n suniram is massaspektra opgeneem teen 10 spektra per sekonde. Dit het geblyk dat die aantal spektra wat per sekonde opgeneem kan word nie noodwendig 'n beperking is nie, maar wel die aantal pieke wat per sekonde deur die sagteware van die GC-MS apparaat verwerk kan word. Daar kan dus vir 'n hoër skandeerspoed gekompenseer word deur van 'n laer detektorsensitiwiteit gebruik te maak.

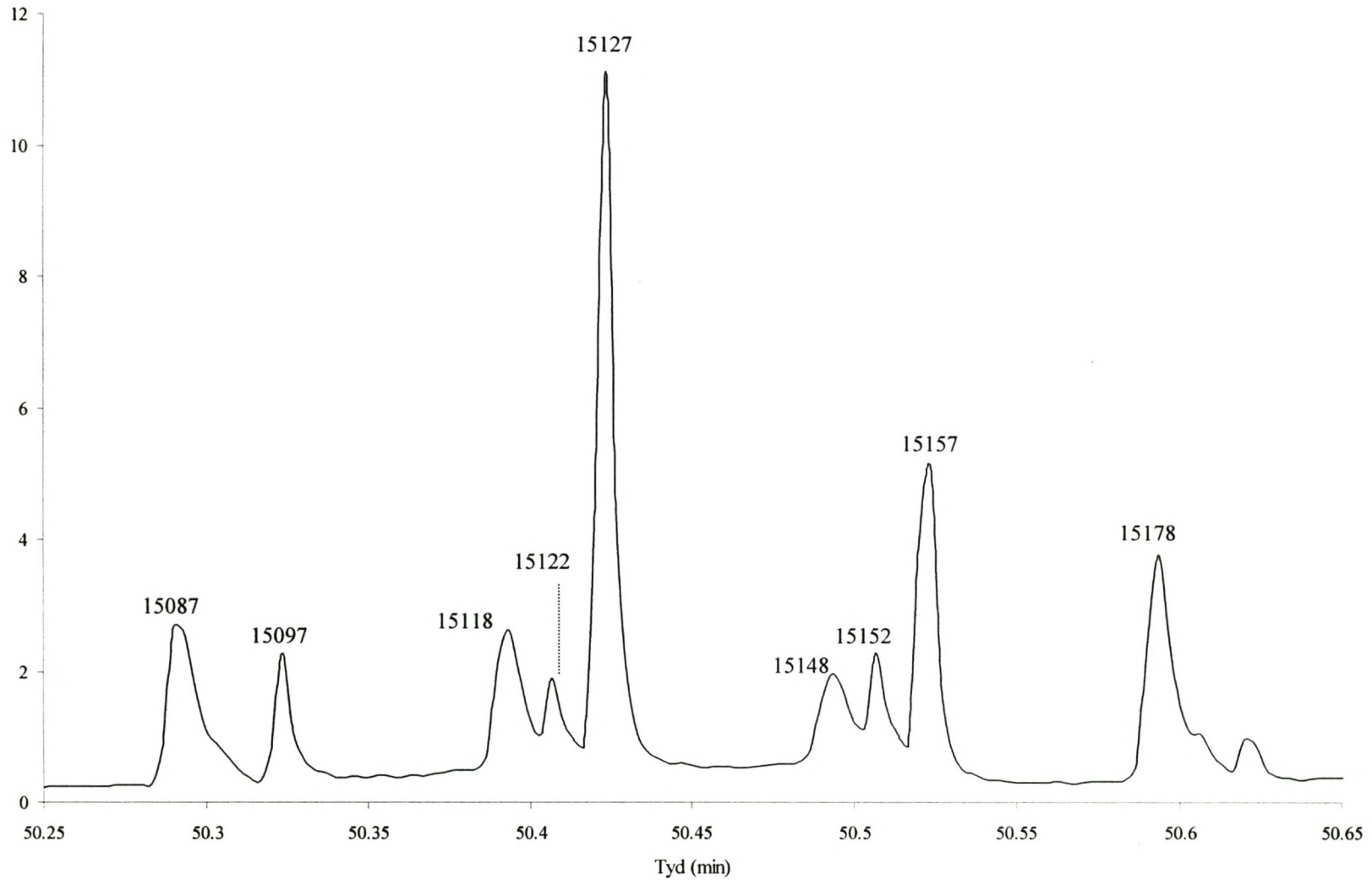
Figuur 6.3a toon die volledige tweedimensionele gaschromatogram van die preorbitale afskeiding van 'n suniram. Uit die vergroting van die chromatogram in Figuur 6.3b is dit duidelik dat die analise, in teenstelling met die analise van die olie-monster, nie bevredigend is nie. Die rede hiervoor is waarskynlik onder andere dat die preorbitale afskeiding van die suni hoofsaaklik uit polêre verbindings bestaan terwyl die olie-monster hoofsaaklik koolwaterstowwe van lae en medium polariteit bevat. Die kombinasie van 'n apolêre primêre kolom met 'n sekondêre kolom belaag met OV-1701-OH is dus klaarblyklik nie geskik vir die analise van die preorbitale afskeiding nie. Beter resultate sal waarskynlik verkry kan word deur OV-1701-OH as die fase vir die primêre kolom, en 'n fase soos Silar-10C vir die sekondêre kolom, te gebruik.

Die analise van die olie toon egter dat komponente wat voorheen nie waargeneem is nie, as gevolg van koëluering, nou geïdentifiseer kan word en uit hierdie baie voorlopige resultate is dit reeds duidelik dat die ontwikkelde tweedimensionele gaschromatografiese sisteem wel geskik is vir gebruik met 'n kwadрупoolmassaspektrometer vir kwalitatiewe werk.



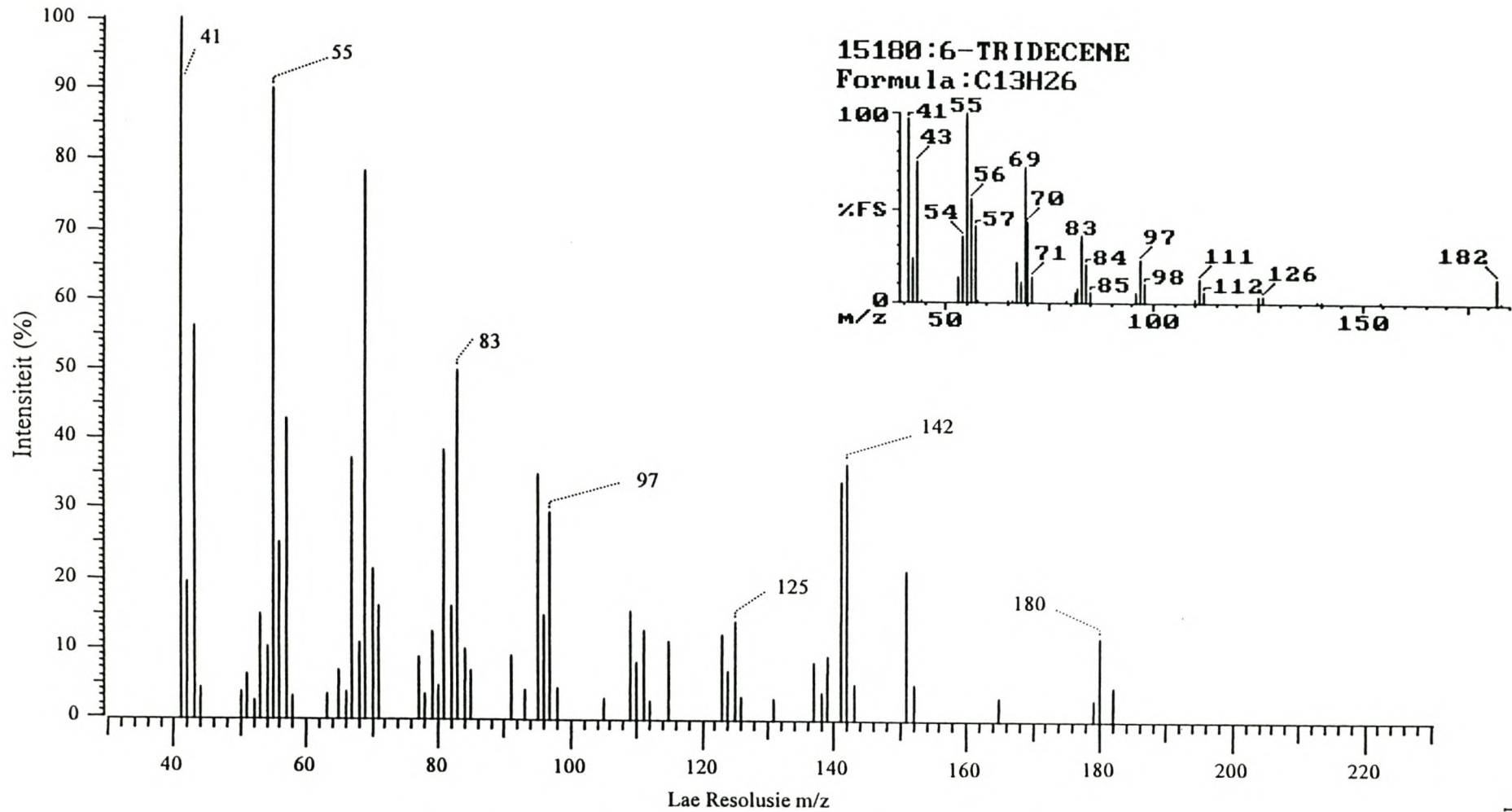
Figuur 6.1(a): 'n Tweedimensionele gaschromatogram van 'n ligte olie-fraksie: modulering met 10-segment verhitte, 50°C verhittingsinkrement (5 A), 3 s verhitte, 3 s wagtyd.

Primêre kolom: 25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 μm PS-255. Sekondêre kolom: 2 m x 0.1 mm belaag met 0.1 μm OV-1701-OH. Modulatorkapillêr: 0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255. Temperatuurprogram: 2°C/min.

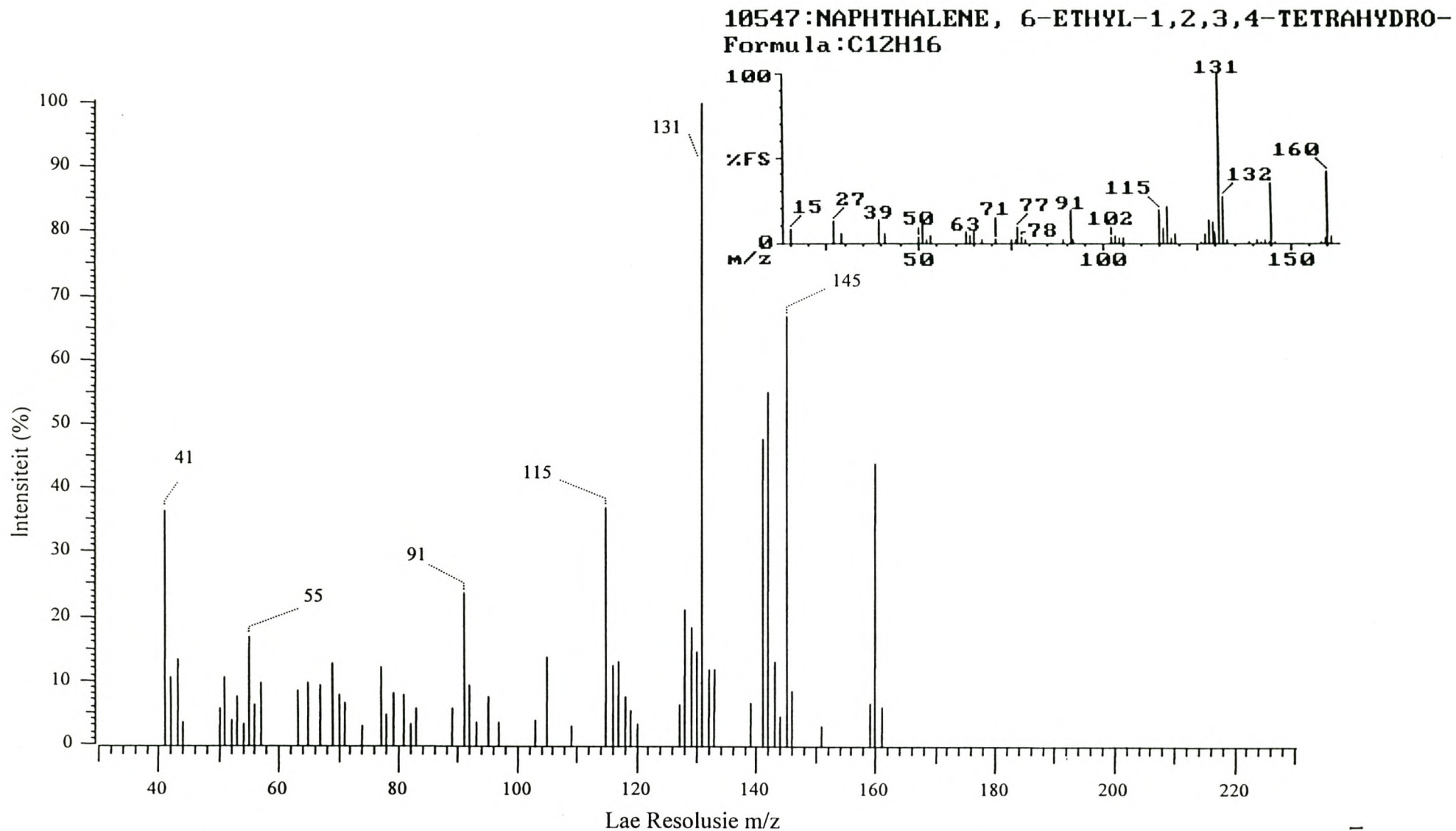


Figuur 6.1(b): 'n Vergrote uittreksel uit die tweedimensionele gaschromatogram van 'n ligte olie-fraksie: modulering met 10-segment verhitte, 50°C verhittingsinkrement (5 A), 3 s verhitte, 3 s wagtyd.

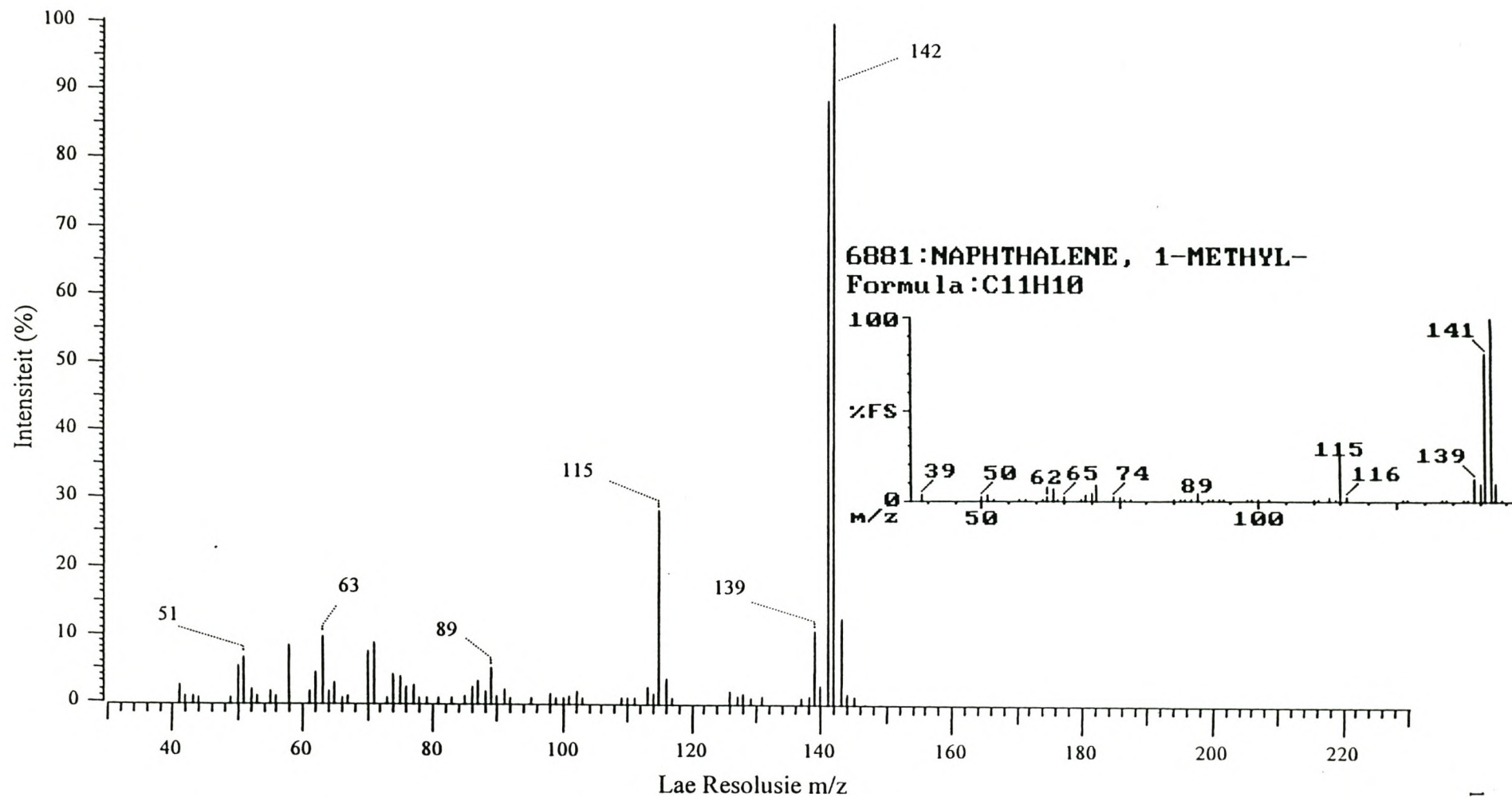
Primêre kolom: 25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 µm PS-255. Sekondêre kolom: 2 m x 0.1 mm belaag met 0.1 µm OV-1701-OH. Modulatorkapillêr: 0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 µm PS-255. Temperatuurprogram: 2°C/min.



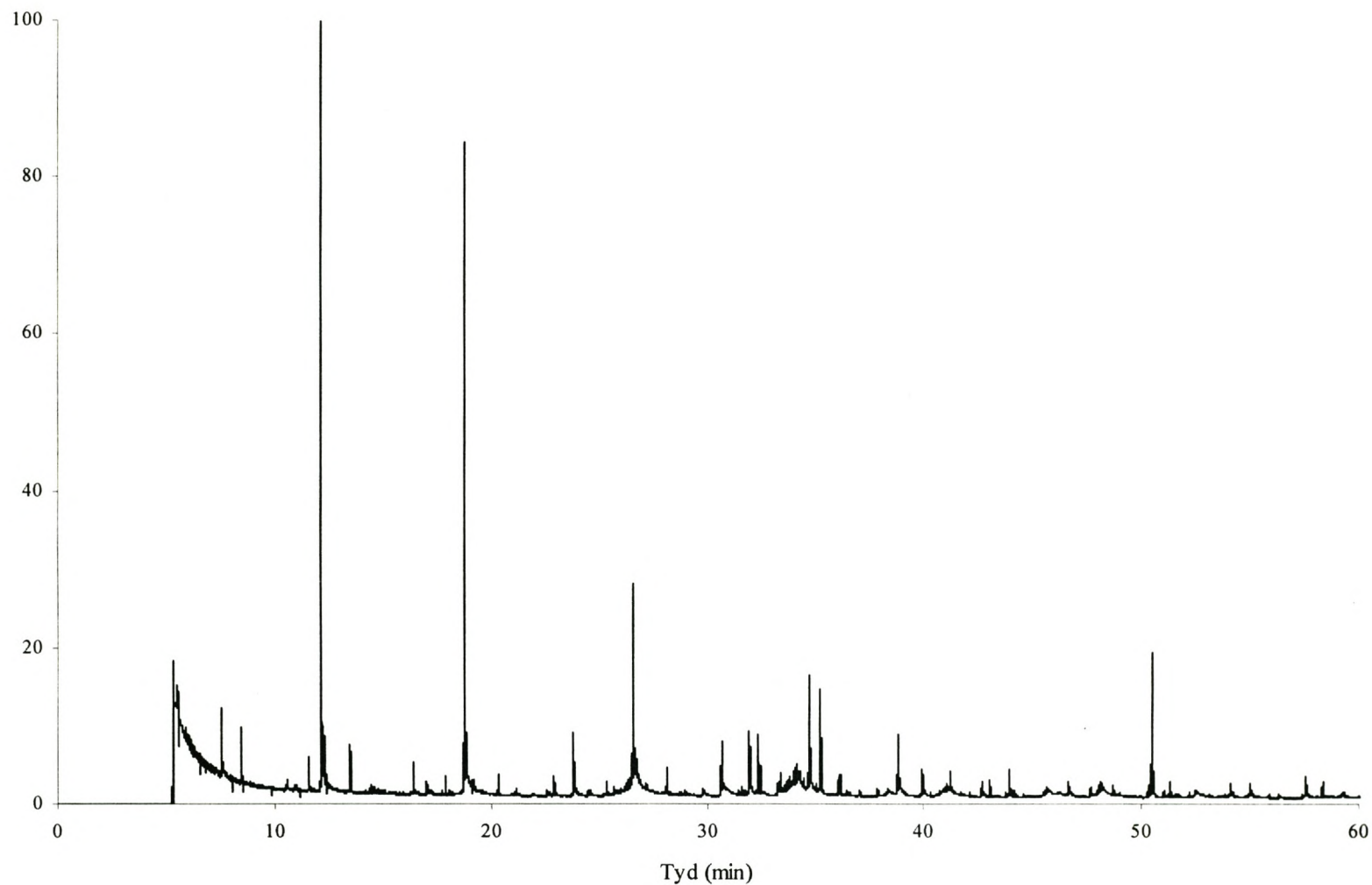
Figuur 6.2(a): Massaspektrum 15118 van 'n komponent in 'n ligte olie-fraksie met die insettel 'n tentatiewe identifikasie van die komponent.



Figuur 6.2(b): Massaspektrum 15122 van 'n komponent in 'n ligte olie-fraksie met die inset 'n tentatiewe identifikasie van die komponent.

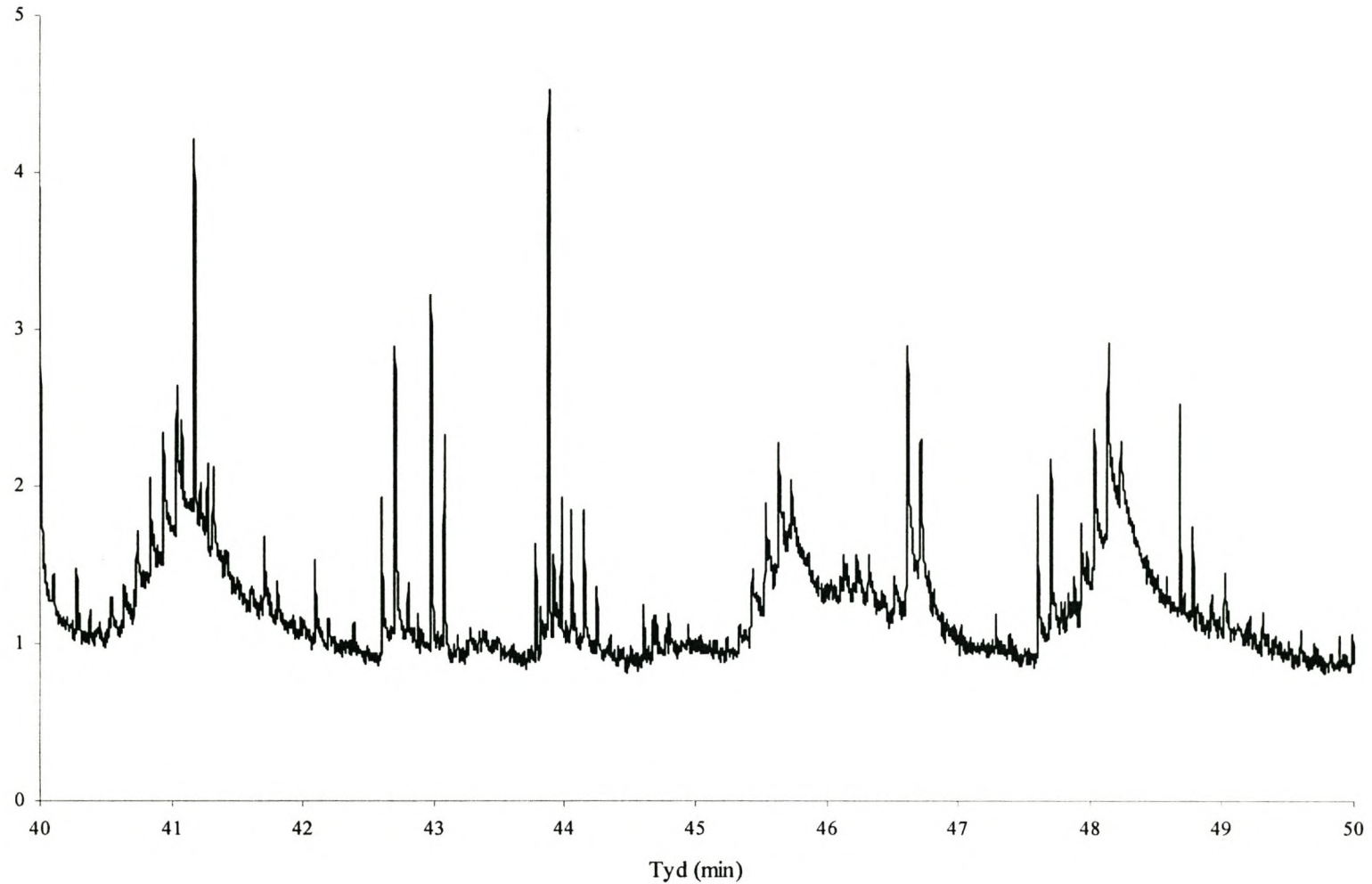


Figuur 6.2(c): Massaspektrum 15127 van 'n komponent in 'n ligte olie-fraksie met die inset 'n tentatiewe identifikasie van die komponent.



Figuur 6.3(a): 'n Tweedimensionele gaschromatogram van die preorbitale afskeiding van 'n suniram: modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (5 A), 3 s verhitting, 3 s wagtyd.

Primêre kolom: 25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 μm PS-255. Sekondêre kolom: 2 m x 0.1 mm belaag met 0.1 μm OV-1701-OH. Modulatorkapillêr: 0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255. Temperatuurprogram: 2°C/min.



Figuur 6.3(b): 'n Vergrote uittreksel uit die tweedimensionele gaschromatogram van die preorbitale afskeiding van 'n suniram: modulering met 10-segment verhitter, 50°C verhittingsinkrement (5 A), 3 s verhitting, 3 s wagtyd.

Primêre kolom: 25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 μm PS-255. Sekondêre kolom: 2 m x 0.1 mm belaag met 0.1 μm OV-1701-OH. Modulatorkapillêr: 0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255. Temperatuurprogram: 2°C/min.

HOOFSTUK 7

EKSPERIMENTEEL

Die eksperimentele werk wat gedoen is in die projek word uiteengesit in die volgorde van die stadia waardeur die ontwikkeling gegaan het. Die volgende harde- en sagteware is gebruik:

- Carlo Erba HRGC 5300 Mega;
- Carlo Erba QMD 1000 HRGC/MS;
- Die kragbron is beheer met behulp van 'n rekenaar, wat beskik oor 'n 100 MHz Pentium prosesseerder en 130 MB geheue, *via* 'n RS232 konneksie;
- Die gaschromatografiese data is opgeneem met Borwin integrasie sagteware (JMBS Developments, 38600 Fontaine, Frankryk);
- Tweedimensionele voorstelling van die data is gedoen met behulp van Pyramid sagteware (ontwikkel vir LECUS deur Dr. B. Hopkins, Mass Spec, Johannesburg, Suid-Afrika);
- IDL sagteware (Research Systems, Boulder, Colorado, VSA) is gebruik vir twee- en driedimensionele voorstelling van gaschromatografiese data.

INSTRUMENTELE ONTWIKKELING

AFKOELING VAN DIE MODULATOR

AFKOELING MET ONDERKOELDE STIKSTOF

'n Glas T-stuk is gemaak van 'n dun-wand glasbuis (40 mm x 2 mm buitedeursnit) volgens die diagram in Figuur 3.2. Voorsiening is gemaak vir die uitlaat van die stikstof sodat dit nie oor die gedeeltes van die kapillêr nêr buite die T-stuk blaas en ongewenste verkoeling veroorsaak nie. Die T-stuk is gekoppel aan 'n Dewar met vloeibare stikstof en die kapillêr is in die gaschromatograafond met onderkoelde stikstof afgekoel om die

verkoelingstemperature tydens 'n temperatuurprogram te bepaal. Die verkoelings-temperatuur is bepaal met behulp van 'n chromel-alumel termokoppel (kyk later) binne-in die kapillêr wat in die T-stuk geplaas is.

AFKOELING MET DRUKLUG

'n Metaalbuis (verkoelingsbuis/metaalskede) van dieselfde lengte as die modulator, met 'n spleet in die lengte daarvan net groot genoeg vir die modulator om gemaklik deur te pas, en met 'n toevoer vir druklug, is om die modulator geposisioneer en die spleet is toegemaak deur 'n teflonskede oor die opening van die metaalskede te plaas soos getoon in Figuur 3.3. Die teflonskede is effens korter as die metaalskede en is sodanig geposisioneer dat die opening in die metaalskede ongeveer 2 mm aan weerskante nie bedek word nie om as uitlaat vir die druklug te dien sodat die gedeeltes van die kapillêr nêr buite die verkoelingsbuis nie ook afgekoel word deur die lug wat die buis verlaat nie. Die opstelling is weereens in 'n gaschromatograafond geplaas om die verkoelingstemperature tydens 'n temperatuurprogram met behulp van 'n chromel-alumel termokoppel in die kapillêr wat in die verhitter geposisioneer is, te bepaal.

VERVAARDIGING VAN DIE TERMOKOPPELS

Die isolasie van die chromel- en alumel-drade van 'n chromel-alumel termokoppel (elk met 'n deursnit van 0.25 mm) is afgestroop en die drade is dunner gemaak deur gladde houtblokke met karborundumpapier (3M-314, tipe 360) te bedek en die drade tussen die skuurpapieroppervlaktes te rol totdat hulle 'n deursnit van *ca* 0.17 mm bereik het vir die 0.2 mm modulorkapillêr en 0.08 mm vir die 0.1 mm modulorkapillêr. Die verdunde draadjies is aanmekaar gesoldeer deur klein druppeltjies silwersoldeersel op die drade se punte te plaas en in die vlam van 'n mikrobrander met mekaar in kontak te bring. Na herhaalde pogings is daarin geslaag om die draadjies perfek in lyn te las. Die soldeersellas is afgewerk met die skuurpapier en houtblokke. Temperatuurbepalings wat gedoen is met die vervaardigde termokoppels stem ooreen met bepalinge met die oorspronklike termokoppel en die gebruik van silwersoldeersel vir die las van die twee legerings beïnvloed dus nie die gemete temperature nie, soos trouens ook verwag is.

VERVAARDIGING VAN DIE MODULATORKAPILLÊR

Redelike lang lengtes silikabuis (FS) met binnedeursnitte van onderskeidelik 0.2 mm en 0.1 mm is volgens algemeengebruikte metodes¹ met 3.0 μm PS-255 (1 % vinielgesubstitueerde polidimetielsiloksaan) belaag. Modulatorkapillêre is vervaardig deur 245 mm lengtes van hierdie material te neem en die stasionêre fase uit 50 mm van die een punt van die buis en uit 100 mm van die ander punt van die kapillêre te verwyder om 'n belaagte lengte van presies 95 mm in die kapillêre te lewer. Vir hierdie doel is drie metodes in oorweging geneem.

1. Uitspoeling van stasionêre fase sonder om van kruiskoppeling van die stasionêre fase gebruik te maak

Die stasionêre fase in die twee endpunte (onderskeidelik 50 mm en 100 mm) van die 245 mm modulatorkapillêr is baie versigtig met 'n mengsel van 30% pentaan in aseton uitgespoel. Die oplosmiddel is met behulp van 'n 10 μl spuit en 'n krimp teflon-koppelstuk in die kapillêr tot by 'n voorafgemerkte posisie gedruk terwyl die kapillêr in 'n horisontale posisie gehou is. Dit is vir ongeveer vyf minute in die kapillêr gelaat waarna dit met die spuit uitgesuig is en die kapillêr van die teenoorgestelde kant af met stikstof drooggeblaas is om alle damp uit die kapillêr te verwyder. Die prosedure is tien keer herhaal met die 30% oplossing en daarna nog tien keer met suiwer heksaan. Na elke uitspoeling is 'n druppel van die oplosmiddel wat uit die kapillêr gesuig is op 'n spieël geplaas en toegelaat om te verdamp om sodoende te bepaal of daar steeds stasionêre fase uitspoel. Indien daar stasionêre fase in die oplosmiddel teenwoordig is, laat dit 'n ringvormige residu op die spieël. Die spoeling is herhaal totdat geen residu op die spieël gelaat is nie.

2. Uitspoeling van die stasionêre fase na kruiskoppeling deur γ -bestraling van die sentrale 95 mm van die kapillêr

'n Opstelling waarmee die punte van die modulatorkapillêr waaruit die stasionêre fase ná bestraling gespoel moet word, van die bestraling afgeskerm word, is uit lood vervaardig (Figuur 3.4). Om volledige kruiskoppeling te verseker, is besluit op 'n dosis van

150 kGray (15 MRad)². Die stasionêre fase in die onbestraalde gedeeltes is uitgespoel deur die kapillêr vertikaal te hang en die oplosmiddel in 'n reservoir te plaas wat dan met gravitasie deur die kapillêr vloei. Die reservoir is eerstens gevul met *ca* 2 ml 30% pentaan in aseton en daarna met 2 ml suiwer pentaan. Die spieëltoets is gedoen terwyl die laaste pentaan deur die kapillêr vloei om te verseker dat alle stasionêre fase wat nie kruiskoppeling ondergaan het nie, verwyder is.

3. Uitspoeling van die stasionêre fase na chemiese kruiskoppeling van die stasionêre fase in die sentrale 95 mm van die kapillêr

'n Toestel is volgens die basiese idee wat in Figuur 3.5 vervat is, vervaardig om die stasionêre fase in 'n gedeelte van 'n kapillêr deur middel van verhitting en radikaal-geïnduseerde polimerisasie te kruisbind waarna die stasionêre fase in die gedeeltes wat koud gehou is, soos hierbo verduidelik met 'n mengsel van 30 % pentaan in aseton uitgespoel kon word. Die oplosmiddel is in 'n reservoir geplaas en gekoppel aan die kapillêr waarvan die uitlaatpunt só geposisioneer is dat die oplosmiddel baie stadig deur die kapillêr gevloei het.

VERVAARDIGING VAN VLEKVRYE STAAL VERHITTERS

Die verhitters met die gewenste buitedeursnitte is gemaak deur vlekvrysteal buis met 'n buitedeursnit van 1.60 mm en binnedeursnit van 0.30 mm met 'n ferrichloried oplossing (40 g FeCl₃, 50 ml gekonsentreerde HCl en 50 ml water) te ets. Die metaalbuis is byvoorbeeld stil in die etsmiddel laat hang en die neerslag van onopgeloste metaal en ystersoute met tussenposes met sneespapier van die metaaloppervlak afgevee, of die metaalbuis is in 'n houër geplaas wat gedurig heen en weer geskud is om egalige etsing te bevorder. Daar is gevind dat die mees effektiewe metode is om die metaalbuis koaksiaal in 'n glasbuis te stut met behulp van 'n silikakolom wat styf deur die metaalbuis pas en rus in 'n koniese holte in die onderpunt van die glasbuis en waarvan die ander punt deur die septum in die prop van die glasbuis steek. Die glasbuis is gevul met die etsmiddel en vir 10 min horisontaal laat lê waarna dit deur 90° gerol is en weer vir 10 min stil gehou is. Die neerslag is daarna van die metaalbuis afgevee, die etsmiddel is vervang en die

metaalbuis is met die ander punt eerste in die glasbuis geplaas om enige onegalighede as gevolg van moontlike etsmiddelkonsentrasie-effekte wat deur die effens nouer onderpunt van die glasbuis meegebring word, uit te kanselleer. Hierdie proses is voortgesit totdat die verlangde afmetings bereik is.

Addisionele vlekvrystaalbuise is tot dieselfde dimensies as die verhitters geëts en gesny in 10 mm stukke wat platgeslaan is om te verhoed dat die soldeersel in die kort buisies vloei en hulle elektriese geleidingsvermoë verbeter. Dit is gebruik as oorgangskontakte wat op die verhitters gesoldeer is met behulp van klein hoeveelhede silwersoldeersel (maksimum 0.4 mg). Die vlekvrystaalbuise en die oorgangskontakte is op 'n porseleinteël geposisioneer en vasgeplak om die individuele komponente tydens die soldeerproses in posisie te hou. Die platgeslaande buisies is aanvanklik horisontaal (Figuur 3.15) op die porseleinteël geplaas, maar met verfyning van die soldeerproses en ten einde die kontakpunt op die metaalbuis so klein as moontlik te maak, is die buisies vertikaal geposisioneer (Figuur 3.16). Die eerste en laaste oorgangskontakte is 5 mm vanaf die punte van die 110 mm metaalbuis aangebring om verhitters van 100 mm te lewer. Koperdrade, geïsoleer in glasvesel, is in 'n plat band vasgeklem en permanent in posisie gehou met poliimied wat in geskikte areas aangebring is en verhard is in 'n oond by die geskikte temperatuur. Die punte van die koperdrade is gebuig om ooreen te stem met die posisies van die oorgangskontakte op die verhitter en met silwersoldeersel aan die oorgangskontakte gelas.

Om te verhoed dat 'n modulatorkapillêr met verhitting geleidelik in die verhitter vasbrand en dus nie weer verwyder kan word nie, is die poliimiedlaag om die kapillêr en die binnekant van die verhitter met kolloïdale Teflon belaag deur hulle met Wynn's Wynflon (Wynn Oil South Africa (Pty) Ltd) te spuit, 30 minute te laat droog en weer te spuit.

VERHITTING VAN MODULATORS

VERHITTING MET BEHULP VAN KRAGBRON EN REOSTAAT

Die spanning wat oor die verhitter aangelê is, is gereël met behulp van 'n transformator (230 V / 6.3 V, 20 A) gevolg deur 'n swaarstroom reostaat (Powerstat[®] Variable Aurotransformer, tipe 236, spesifikasie BP 57515, The Superior Electric Company, Bristol, Connecticut, VSA).

VERHITTING MET BEHULP VAN 'n REKENAARBEHEERDE KRAGBRON

Die sisteem bestaan uit 'n 5 V 25 A (of 10 A) kragbron. 'n Beperkende stroombaan waarvan die stroom geskakel kan word na enige aantal van 20 segmente, beheer die stroom. Die stroombaan word beheer deur 'n interne mikroprosesseerder wat onafhanklik funksioneer nadat die nodige parameters met 'n eksterne rekenaar *via* 'n RS232 konneksie daaraan oorgedra is. Die parameters sluit in die stroomsterkte (1 tot 20 A), die aantal segmente van die verhitter wat aan die kragbron gekoppel is (1 tot 20), tydsduur wat die stroom deur elk van die segmente moet vloei (10 tot 2500 ms) en 'n wagtyd tussen verhittingsiklusse (100 ms tot 100 s).

KALIBRASIE VAN DIE REKENAARBEHEERDE KRAGBRON MET VERSKILLENDE VERHITTERS

Kalibrasies is uitgevoer om te bepaal watter temperature bereik word met verskillende kombinasies van stroomsterkte, verhittingstyd en wagtyd. Die kragbron is gekalibreer vir verhitters met buite- en binnedeursnitte van 0.52 mm en 0.34 mm asook 0.32 mm en 0.16mm by verskillende oondtemperature. Die verhittingstyd per segment, met die totale verhittingstyd in hakies, en die wagtyd tussen opeenvolgende verhittings wat vir elk van die verhitters gebruik is, word hieronder gegee. Dieselfde verhittings- en wagtye is vir die twee reekse verhitters gebruik. 'n Uittreksel uit die kalibrasietabelle word in Addendum A gegee.

- Een segment: Verhittingstyd - 100 ms (100 ms), 200 ms (200 ms), 300 ms (300 ms), 400 ms (400 ms), 500 ms (500 ms), 600 ms (600 ms), 1000 ms (1000 ms), 1500 ms (1500 ms), 2000 ms (2000 ms), 2500 ms (2500 ms).
Wagtyd – Telkens gelyk aan totale verhittingstyd.
- Twee segmente: Verhittingstyd - 500 ms (1 s), 1000 ms (2 s), 2000 ms (4 s), 2500 ms (5 s).
Wagtyd – Elk van die verhittings is herhaal met wagtye van 1 s, 2 s, 3 s en 4 s.
- Vier segmente: Verhittingstyd - 250 ms (1 s), 500 ms (2 s), 1000 ms (4 s), 1500 ms (6 s).
Wagtyd – Elk van die verhittings is herhaal met wagtye van 1 s, 2 s, 3 s en 4 s.
- Ses segmente: Verhittingstyd - 167 ms (1 s), 333 ms (2 s), 667 ms (4 s), 1000 ms (6 s).
Wagtyd – Elk van die verhittings is herhaal met wagtye van 1 s, 2 s, 3 s en 4 s.
- Agt segmente: Verhittingstyd - 125 ms (1 s), 250 ms (2 s), 500 ms (4 s), 750 ms (6 s).
Wagtyd – Elk van die verhittings is herhaal met wagtye van 1 s, 2 s, 3 s en 4 s.
- Tien segmente: Verhittingstyd - 50 ms (500 ms), 100 ms (1 s), 200 ms (2 s), 300 ms (3 s), 400 ms (4 s), 500 ms (5 s), 600 ms (6 s), 1000 ms (10 s).
Wagtyd – Geen wagtyd is gebruik met een van die 10-segment verhitters nie en met die ander verhitter is elk van die verhittings herhaal met wagtye van 1 s, 2 s, 3 s en 4 s.

Die kalibrasie van die 10-segment verhitter is herhaal met 'n temperatuurprogram van 4°C/min en 200 ms verhitting per segment (2 s totale verhitting) en 3 s wagtyd.

BEPALING VAN TEMPERATUURVARIASIE OOR GESOLDEERDE KONTAKTE

Die temperatuur van die 10-segment verhitter is bepaal by verskeie posisies deur die termokoppel en die leë kapillêr telkens 1 mm te skuif nadat 'n reeks verhittings gedoen is. Die bepaling is gedoen met stroomsterktes van 1 – 20 A wat vir 200 ms deur elke segment gestuur is (2 s totale verhitting) met 3 s wagtyd.

MODULERING

Eksperimente is aanvanklik uitgevoer met verhitters met buite- en binnedeursnitte van onderskeidelik 0.52 mm en 0.34 mm vir 'n 0.2 mm modulorkapillêr. Die doel van hierdie reeks eksperimente was om die optimum fokusering van die analiete te verkry, dit wil sê smal gemoduleerde pieke. Daar is deurgaans van waterstof as draergas gebruik gemaak.

VERGELYKING VAN MODULERING MET DIE 1- EN 10-SEGMENT VERHITTERS

'n Silika kapillêr (25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 μm PS-255) is aan die modulorkapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255) in die verhitter gekoppel. Die modulorkapillêr is direk aan die vlamionisasie detektor gekoppel. Dekaan (*ca* 600 dpm in dichlormetaan) is gechromatografeer met 'n temperatuurprogram van 40°C tot 240°C teen 4°C/min. Die ongesegmenteerde modulator is verhit deur 'n stroom van 3 A vir 2000 ms deur die verhitter te stuur met 2000 ms wagtyd en die 10-segment verhitter is verhit met 'n stroom van 5 A wat vir 200 ms deur elke segment gestuur is met geen wagtyd.

AANVANKLIKE EKSPERIMENTE MET DIE 10-SEGMENT VERHITTER

'n Silika kapillêr (25 m x 0.32 mm belaag met 0.5 μm PS-255) is aan die modulorkapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met 3 μm PS-255) in die 10-segment verhitter gekoppel. Die modulorkapillêr is direk aan die vlamionisasie detektor gekoppel.

VERHITTINGSINKREMENT EN VERHITTINGSTYD

'n Mengsel van heksaan, dekaan, pentadekaan en 1-ikoseen is gechromatografeer en die modulator is verhit deur van verskillende stroomsterktes gebruik te maak. Die verhittingstyd het ook 'n invloed op die temperatuur wat die modulator bereik en dus is die eksperiment vir verskillende verhittingstye herhaal. Die volgende moduleringsprogramme (met die verhittingsinkrement, ΔT) is vir die analises gebruik:

- 13 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)
- 9 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)
- 7 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)
- 6 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^\circ\text{C}$)
- 2 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 10^\circ\text{C}$)
- 9 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 5 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^\circ\text{C}$)

INVLOED VAN DIE TEMPERATUURPROGRAM OP FOKUSSERING VAN ANALIETE

'n Mengsel van heksaan, dekaan, pentadekaan en 1-ikoseen is gechromatografeer met temperatuurprogramme van onderskeidelik $4^\circ\text{C}/\text{min}$, $2^\circ\text{C}/\text{min}$ en $6^\circ\text{C}/\text{min}$. Die modulator is verhit deur gebruik te maak van verskeie stroomsterktes en verhittingstye. Die volgende modulerings- en temperatuurprogramme is gebruik:

- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^\circ\text{C}$), $4^\circ\text{C}/\text{min}$
- 6 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$), $4^\circ\text{C}/\text{min}$

- 5 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$), $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- 9 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$), $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$), $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- 6 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$), $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- 5 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$), $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- 9 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$), $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- 5 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$), $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$), $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$

MODULERING VAN VLUGTIGE VERBINDINGS

'n Mengsel van heksaan, heptaan, oktaan, nonaan en dekaan is gechromatografeer met 'n temperatuurprogram van $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$)
- 5 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$)

MODULERING VAN MINDER VLUGTIGE VERBINDINGS

'n Mengsel van ikosanol, dokosanol, pentakosanol, oktakosanol en tetrakosanoësuur is gechromatografeer met 'n temperatuurprogram van 40°C tot 210°C teen $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en daarna teen $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$)
- 5 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^{\circ}\text{C}$)

INVLOED VAN DIE DRAERGASVLOEI OP FOKUSSERING VAN ANALIETE

Die draergasvloeie by verskillende oondtemperature is bepaal deur die retensietyd van metaangas te bepaal. 1-Pentakosanol (ca 600 dpm in dichlorometaan) is gechromatografeer teen vloeie van 43 cm/s en 80 cm/s , 'n temperatuurprogram van 40°C tot 200°C teen $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en dan $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en 'n moduleringsprogram van 4 A, 400 ms per segment en geen wagtyd.

MODULERING VAN KOËLUERENDE VERBINDINGS

'n Mengsel van isobutieliisobutiraat en nonaan is gechromatografeer met 'n temperatuurprogram van 2°C/min en die volgende moduleringsprogramme:

- 5 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^\circ\text{C}$)
- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^\circ\text{C}$)
- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 20^\circ\text{C}$)

MODULERING MET DIE 1-, 2-, 4-, 6-, 8- EN 10-SEGMENT VERHITTERS

Vir die analyses is gebruik gemaak van 2-oktanoon en dekaan en die sisteem bestaande uit 'n silika kapillêr (25 m x 0.32 mm belaaag met 0.5 μm PS-089) en modulatorkapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaaag met 3 μm PS-255) wat direk aan die detektor van die gaschromatograaf gekoppel is en verhit word met behulp van die onderskeie verhitters. Die inligting hieronder word gegee in die volgorde waarin die eksperimente gedoen is aangesien sekere parameters geoptimeer is tydens eksperimente met een verhitter wat nie noodwendig met die volgende verhitters herhaal is nie.

MODULERING MET DIE 8-SEGMENT VERHITTER

Die analyses is uitgevoer met draergasvloeie van 43 cm/s (29 kPa), 80 cm/s (50 kPa) en 158 cm/s (100 kPa) en temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min. Verhittingsinkremente van 50°C en 100°C is ondersoek en die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 8 A, 125 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 14 A, 125 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)
- 5 A, 250 ms per segment (2 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 8 A, 250 ms per segment (2 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)
- 3 A, 500 ms per segment (4 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 5 A, 500 ms per segment (4 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)
- 3 A, 750 ms per segment (6 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 5 A, 750 ms per segment (6 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)

MODULERING MET DIE 2-SEGMENT VERHITTER

Analises is uitgevoer met draergasvloeie van 43 cm/s (29 kPa) en 80 cm/s (50 kPa), temperatuurprogramme 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en 'n verhittingsinkrement van 50°C. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 5 A, 500 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 1000 ms per segment (2 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 2 A, 2000 ms per segment (4 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 2 A, 2500 ms per segment (5 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

MODULERING MET DIE 4-SEGMENT VERHITTER

Die analises is uitgevoer met draergasvloeie van 43 cm/s (29 kPa) en 80 cm/s (50 kPa), oondtemperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en 'n verhittingsinkrement van 50°C. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 5 A, 250 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 4 A, 500 ms per segment (2 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 1000 ms per segment (4 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 1500 ms per segment (6 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

MODULERING MET DIE 6-SEGMENT VERHITTER

Die analises is weereens uitgevoer met draergasvloeie van 43 cm/s (29 kPa) en 80 cm/s (50 kPa), temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en 'n verhittingsinkrement van 50°C. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 6 A, 167 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 4 A, 333 ms per segment (2 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 667 ms per segment (4 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 1000 ms per segment (6 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

MODULERING MET DIE 10-SEGMENT VERHITTER

Draergasvloeie van 43 cm/s (29 kPa) en 80 cm/s (50 kPa) en temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min is gebruik met 'n verhittingsinkrement van 50°C. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 10 A, 100 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 6 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

Gaschromatografiese analises is uitgevoer met heksaan, heptaan, oktaan nonaan en dekaan en 'n temperatuurprogram wat by 30°C in plaas van 40°C begin. Temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en die volgende moduleringsprogram is gebruik:

- 6 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

Oplossings van verskeie konsentrasies van dekaan en pentakosaan is gechromatografeer met 'n temperatuurprogram van 2°C/min en die volgende moduleringsprogram:

- 6 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

MODULERING MET DIE ONGESEGMENTEERDE VERHITTER

Daar is weer gewerk met vloeie van 43 cm/s (29 kPa) en 80 cm/s (50 kPa), temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en 'n verhittingsinkrement van 50°C. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 3 A, 1000 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 2000 ms per segment (2 s totale verhitting), 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 2 A, 2500 ms per segment (2.5 s totale verhitting), 2.5 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

MODULERING MET 'n 0.1 mm MODULATORKAPILLÊR

Gaschromatografiese analises is herhaal met 2-oktanoon en dekaan en 'n sisteem bestaande uit 'n silika kapillêr (20 m x 0.25 mm belaag met 0.25 μm PS-089) en modulorkapillêr (0.095 m x 0.1 mm belaag met 3 μm PS-255) wat direk aan die detektor van die gaschromatograaf gekoppel is en verhit is met behulp van verskeie gesegmenteerde verhitters.

MODULERING MET DIE 8-SEGMENT VERHITTER

Die analises is uitgevoer met draergasvloeie van 20 cm/s (35 kPa) en 40 cm/s (70 kPa), temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en 'n verhittingsinkrement van 50°C. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 6 A, 125 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 3 A, 250 ms per segment (2 s totale verhitting), 1, 2, 3 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 2 A, 500 ms per segment (4 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 2 A, 750 ms per segment (6 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)

MODULERING MET DIE 6-SEGMENT VERHITTER

Die analises is uitgevoer met 'n draergasvloei van 20 cm/s (35 kPa), temperatuurprogramme van 1°C/min, 2°C/min en 4°C/min en 'n verhittingsinkrement van 50°C met die volgende moduleringsprogram:

- 3 A, 333 ms per segment (2 s totale verhitting), 1 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)

Analises is ook uitgevoer met 'n temperatuurprogram van 2°C/min, verhittingsinkremente van 50°C en 100°C en draergasvloeie van 14 cm/s (25 kPa), 17 cm/s (30 kPa), 20 cm/s (35 kPa), 23 cm/s (40 kPa) en 26 cm/s (45 kPa). Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 4 A, 167 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)
- 9 A, 167 ms per segment (1 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 100^\circ\text{C}$)
- 3 A, 333 ms per segment (2 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^\circ\text{C}$)

- 5 A, 333 ms per segment (2 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 100^{\circ}\text{C}$)
- 2 A, 667 ms per segment (4 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 667 ms per segment (4 s totale verhitting), 1 en 2 s wagtyd, ($\Delta T = 100^{\circ}\text{C}$)

Met die vloeï van 20 cm/s (35 kPa) en die $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ temperatuurprogram is 2-oktanoon en dekaan gechromatografeer met verhittingsinkremente van 25°C , 50°C , 75°C , 100°C , 125°C en 150°C terwyl die modulator vir 1 s verhit is met 1 s wagtyd.

TWEEDIMENSIONELE GASCHROMATOGRAFIE

Tweedimensionele analyses is uitgevoer met die 0.2 mm modulorkapillêr en sekondêre kolommette met onderskeidelik 0.2 mm en 0.1 mm binnedeursnitte. Die 8- en 10-segment verhitters is gebruik vir die tweedimensionele analyses.

SEKONDÊRE KOLOM MET 0.2 mm BINNEDEURSNIET

Die primêre kolom (25 m x 0.32 mm belaag met $0.5\ \mu\text{m}$ PS-255), modulorkapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met $3\ \mu\text{m}$ PS-255) in die verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) en die sekondêre kolom (4.5m x 0.2 mm belaag met $0.14\ \mu\text{m}$ OV-1701-OH) is aan mekaar gekoppel met behulp van drukkoppelstukke en die digtheid van die sisteem is getoets met behulp van Snoop ® (Nupro) terwyl draergas deur die sisteem vloeï.

WAGTYD TUSSEN VERHITTINGS

'n Mengsel van isobutielisobutiraat en *n*-nonaan is gechromatografeer op die tweedimensionele sisteem sônder en ook mét modulering met die 10-segment verhitter. Die volgende moduleringsprogramme is gebruik:

- 5 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), geen wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), 6 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), 1.8 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 3 A, 600 ms per segment (6 s totale verhitting), 2.4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), 2.4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

LENGTE VAN DIE SEKONDÊRE KOLOM

Die sekondêre kolom is verkort van 4.5 m na 3.5 m en 'n mengsel van isobutielisobutiraat en *n*-nonaan is gechromatografeer en gemoduleer met die 10-segment verhitter met die volgende moduleringsprogram:

- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

TEMPERATUURPROGRAM

Isobutielisobutiraat en *n*-nonaan is gechromatografeer en gemoduleer met die 10-segment verhitter op die sisteem met die 3.5 m sekondêre kolom met temperatuurprogramme van $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, $1.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en die volgende moduleringsprogram:

- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

ANALISE VAN DIE PREORBITALE AFSKEIDING VAN 'n SUNIRAM

Die preorbitale afskeiding van 'n suniram (*Neotragus moschatus*) is gechromatografeer op die primêre kolom alleenlik, asook op die tweedimensionele sisteem sônder modulering en mét modulering deur die 10-segment verhitter vir 4 s te verhit met 'n stroom van 4 A (50°C verhittingsinkrement) en 4 s wagtyd tussen verhittings.

SEKONDÊRE KOLOM MET 0.1 mm BINNEDEURSNIT

Die tweedimensionele sisteem bestaan uit die primêre kolom (20 m x 0.25 mm belaag met $0.25\ \mu\text{m}$ PS-255), modulatorekapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met $3\ \mu\text{m}$ PS-255) in die verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) en die sekondêre kolom (1.2 m x 0.1 mm belaag met $0.2\ \mu\text{m}$ OV-1701-OH) wat aan mekaar gekoppel is met behulp van drukkoppelstukke.

INLAATDRUK

Aanvanklike analyses is uitgevoer met 'n ligte olie-fraksie en die 1.2 m sekondêre kolom by 'n inlaatdruk van 70 kPa (16.1 cm/s). Die sekondêre kolom is vervolgens verkort tot 0.6 m en meer volledige ondersoek is ingestel na die piekbreedtes wat by verskeie inlaatdrukke verkry word deur analyses te doen met dekaan en die C₁₆, C₁₈ en C₂₀ alkene. Die analise is gedoen by inlaatdrukke vanaf 50 tot 190 kPa met inkremente van 10 kPa en modulering met die 10-segment verhitte met die volgende moduleringsprogram:

- 5 A, 300 ms per segment (3 s totale verhitte), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

VERHITTINGSIKLUS

Dekaan en die C₁₆, C₁₈ en C₂₀ alkene is gebruik in die analyses om die verhitingsiklus te bepaal wat die minimum piekbreedtes lewer by 'n inlaatdruk van 110 kPa. Modulering is gedoen met die 10-segment verhitte met die volgende moduleringsprogramme:

- 10 A, 100 ms per segment (1 s totale verhitte), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)
- 6 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitte), 2 en 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

VERDERE VERKORTING VAN DIE SEKONDÊRE KOLOM

Die sekondêre kolom is verkort tot 0.3 m. Vir dieselfde vloei as met die 0.6 m kolom moet die sisteem met die 0.3 m kolom 'n dooietyd van 26.2 s hê. Die dooietyd met die druk onveranderd op 110 kPa is 26.0 s wat as aanvaarbaar beskou is. Dekaan en die C₁₆, C₁₈ en C₂₀ alkene is gechromatografeer en gemoduleer met die 10-segment verhitte deur die volgende moduleringsprogramme te gebruik:

- 6 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitte), 2 en 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$)

ANALISE VAN 'n LIGTE OLIE-FRAKSIE

Tydens chromatografie van 'n ligte olie-fraksie is die 8-segment verhitte gebruik om die eluaat te moduleer. Die analise is gedoen met 'n 0.3 m sekondêre kolom met 26.7 s dooietyd vir die sisteem asook 'n 1 m sekondêre kolom met 32.9 s dooietyd met die volgende moduleringsprogram:

- 7 A, 250 ms per segment (2 s totale verhitte), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 80^{\circ}\text{C}$)

Die analise van 'n ligte olie-fraksie op die tweedimensionele sisteem met 'n 1 m sekondêre kolom, is herhaal vir modulering met die 10-segment verhitter. Die volgende moduleringsprogram is gebruik:

- 9 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), 2 s wagtyd, ($\Delta T = 80^{\circ}\text{C}$)

GC x GC-MS

GC x GC-MS analises is uitgevoer met 'n primêre kolom (25 m x 0.32 mm belaag met $0.5\ \mu\text{m}$ PS-255), 'n modulatorekapillêr (0.095 m x 0.2 mm belaag met $3\ \mu\text{m}$ PS-255) in die 10-segment verhitter (100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm) en 'n sekondêre kolom (2 m x 0.1 mm belaag met $0.1\ \mu\text{m}$ OV-1701-OH). Daar is gebruik gemaak van waterstof as draergas, 'n inlaatdruk van 125 kPa en 'n temperatuurprogram van $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Analises is met die volgende monsters en moduleringsprogramme uitgevoer:

NONAAN EN ISOBUTIELBUTIRAAT

- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), 2 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$), 1 en 10 skanderings per sekonde
- 6 A, 200 ms per segment (2 s totale verhitting), 2 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$), 10 skanderings per sekonde

PREORBITALE AFSKEIDING VAN DIE SUNIRAM (*Neotragus moschatus*)

- 4 A, 400 ms per segment (4 s totale verhitting), 2 en 4 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$), 5 skanderings per sekonde
- 5 A, 300 ms per segment (3 s totale verhitting), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$) 5 skanderings per sekonde

LIGTE OLIE-FRAKSIE

- 5 A, 300 ms per segment (3 s totale verhitting), 3 s wagtyd, ($\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$), 5 skanderings per sekonde

VERWYSINGS

1. K. Grob, Making and Manipulating Capillary Columns for Gas Chromatography, Hüthig Verlag, Heidelberg, (1986).
2. W. Bertsch, V. Pretorius, M. Pearce, J.C. Thompson en N.G. Schnautz, J. High Resol. Chromatogr. **5**, 432 – 434 (1982).

HOOFSTUK 8

VOORUITSIGTE

Een van die doelstellings van hierdie ondersoek was die ontwikkeling van 'n tweedimensionele gaschromatografiese sisteem wat geen bewegende dele in die gaschromatograaf sou bevat nie en wat met die minimum strukturele aanpassing in enige gaschromatograaf gebruik sou kon word. Hierdie doelstelling is tot 'n groot mate verwesenlik en die instrumentasie wat ontwikkel is, kan 'n belangrike bydrae maak tot die repertorium van gaschromatografiese tenieke wat in analitiese laboratoria beskikbaar behoort te wees. Daar is egter in die voorafgaande besprekings telkens daarop gewys dat beter resultate verkry sou kon word met afkoeling van die modulator tot temperature benede dié van die oond. In ander instrumente is hierdie probleem opgelos deur een of albei die kolomme en die modulator in afsonderlike temperatuurprogrammeerbare kompartemente te plaas. Hierdie oplossing bring egter mee dat die uiteindelijke sisteem noodwendig duur en elektronies kompleks sal wees en dat dit nie maklik en vinnig in enige gaschromatograaf geïnstalleer sal kan word nie.

Hoewel dit buite die bestek van die huidige projek val, is besluit om as voortsetting van die huidige ondersoek 'n sisteem te bou waarin die modulator wel tot benede die temperatuur van die gaschromatograaf oond afgekoel kan word. In 'n instrument op die intreevlak van so 'n ontwikkeling sou die modulator met druklug by kamertemperatuur afgekoel word, met die moontlikheid van opgradering tot 'n meer gesofistikeerde vlak deur afkoeling met onderkoelde lug of stikstof.

As die modulator egter regdeur die temperatuurprogram wat vir die gaschromatograaf oond gebruik word, tot 'n konstante lae temperatuur afgekoel sou word, sou dit meebring dat die verhitting van die modulator geprogrammeer moet word om vir 'n konstante toename in die verhittingsinkrement voorsiening te maak. Dit sou dus eenvoudiger wees om 'n sisteem te bou wat die gebruiker toelaat om te besluit tot watter temperatuur benede

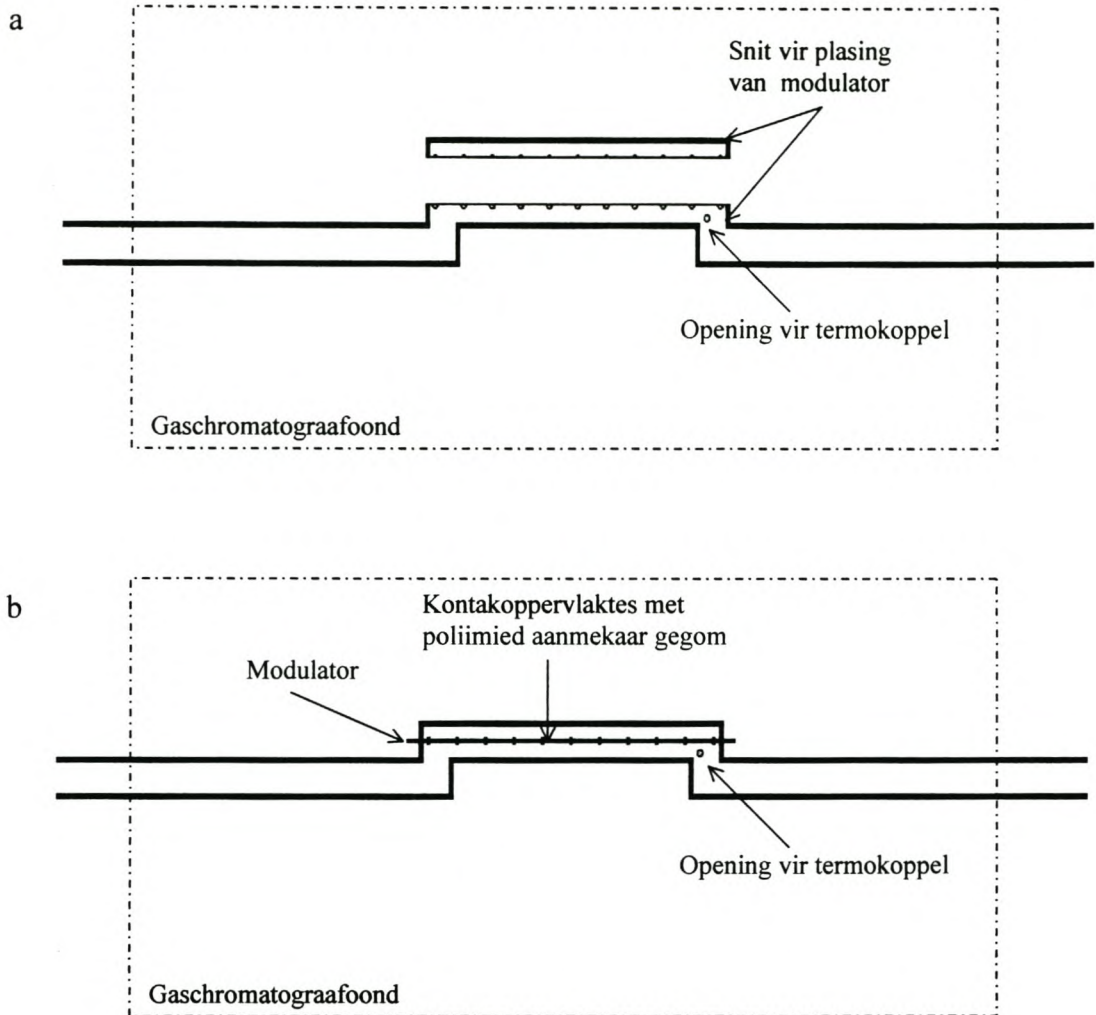
die oondtemperatuur die modulator regdeur die temperatuurprogram afgekoel moet word, byvoorbeeld 20°C by 'n oondtemperatuur van 40°C en 240°C by 'n oondtemperatuur van 260°C. Dit sou gedoen kon word deur die vloeï van koue (20°C) lug of stikstof oor die modulator te programmeer. Vanselfsprekend sou dit meebring dat die aanvangs-temperatuur van temperatuurprogramme nie laer as 40°C kan wees as lug teen 20°C vir afkoeling gebruik word en 'n temperatuurverskil van 20°C tussen oond en modulator gekies sou word nie. In die onderste temperatuurgebied sal dit probleme skep as groter temperatuurverskille nodig sou wees om deurbraak van analiete in die modulorkapillêr te verhoed, maar dit word in hierdie intreevlakinstrument nie as 'n groot probleem gesien nie aangesien laagkokende komponente van mengsels meestal nie baie moeilik geskei word nie. Voorlopige eksperimente het bewys dat so 'n sisteem waarskynlik aan sy doel sou kon beantwoord.

Die sisteem wat ontwerp is en tans gebou word, bestaan uit die volgende onderdele:

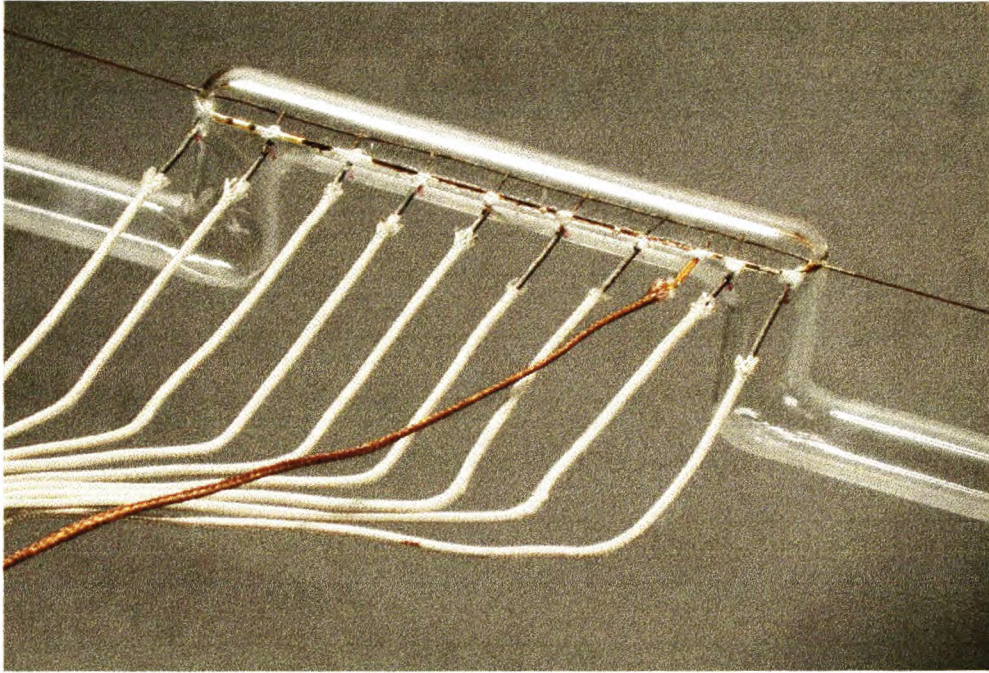
- 'n Buis waarin die modulator in 'n lugstroom gehuisves kan word sodat slegs die dele wat elektries verhit word deur die lug afgekoel word.
- 'n Eenvoudige kompressor wat druklug teen 'n vloeï van maksimaal 10 liter/min kan lewer indien druklug nie sentraal beskikbaar is nie.
- 'n Elektronies beheerde klep wat die vloeï van lug oor die modulator tussen 0 en 10 liter/min kan beheer.
- 'n Gerekenariseerde beheereenheid wat die lugvloeï aanpas om 'n geselekteerde temperatuurverskil tussen modulator en oond regdeur die temperatuurprogram te verseker.
- Twee termokoppels, een in die lugstroom wat oor die modulator vloeï en die ander een in die oond en albei verbind met die beheereenheid.

In hierdie stadium word van 'n glasbuis gebruik gemaak om die modulator af te koel omdat dit goedkoper en vinniger is om veranderinge aan die konfigurasie van die buis aan te bring. Later sal ander materiale vir hierdie doel oorweeg word. Die modulator is in die buis geplaas deur 'n gedeelte van die buis met 'n diamantsaag weg te saag en hierdie deel later met behulp van poliimied in sy oorspronklike posisie vas te plak. Die

lug wat oor die modulator vloei word buite die gaschromatograafdoon uitgelaat. Figuur 8.1 gee 'n skematiese voorstelling van die plasing van die modulator in die glasbuis en Figuur 8.2 is 'n foto van die glasbuis waarin die modulator afgekoel word.



Figuur 8.1: Skematiese voorstelling van die glasbuis waarin die modulator afgekoel word. (a) Glasbuis waarvan 'n gedeelte (100 mm) deurgesaag en kepies in die kontakoppervlakte gemaak is vir die oorgangskontakte van die verhitter. (b) Modulator in posisie en die twee kontakoppervlaktes met poliimied aanmekaar gegom.



Figuur 8.2: 'n Foto van die glasbuis waarin die modulator afgekoel word.

ADDENDUM A

KALIBRASJETABELLE

Tabel 1: Temperatuurkalibrasie van die ongesegmenteerde verhitter, 100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm, by 50°C isothermiese oondtemperatuur en die wagtyd tussen verhittings gelyk aan die verhittingstyd.

| Verhittingstyd (ms) | 2500 | 2000 | 1500 | 1000 | 600 | 500 | 400 | 300 | 200 | 100 |
|---------------------|------------------------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur | | | | | | | | | |
| 1 | 65 | 63 | 62 | 61 | 58 | 57 | 57 | 55 | 53 | 52 |
| 2 | 90 | 88 | 86 | 82 | 79 | 74 | 70 | 65 | 61 | 55 |
| 3 | 120 | 114 | 109 | 103 | 90 | 87 | 84 | 79 | 69 | 60 |
| 4 | 138 | 133 | 126 | 120 | 102 | 98 | 92 | 86 | 77 | 65 |
| 5 | 158 | 150 | 144 | 134 | 113 | 110 | 103 | 95 | 84 | 70 |
| 6 | 175 | 167 | 158 | 150 | 125 | 120 | 117 | 105 | 91 | 74 |
| 7 | 190 | 180 | 172 | 164 | 130 | 130 | 123 | 109 | 95 | 78 |
| 8 | 202 | 193 | 182 | 172 | 142 | 140 | 128 | 116 | 100 | 80 |
| 9 | 212 | 203 | 195 | 179 | 153 | 145 | 135 | 120 | 105 | 84 |
| 10 | 220 | 213 | 201 | 187 | 164 | 155 | 140 | 125 | 106 | 85 |
| 11 | 228 | 218 | 210 | 195 | 170 | 160 | 145 | 128 | 110 | 86 |
| 12 | 235 | 225 | 215 | 203 | 175 | 165 | 147 | 132 | 115 | 88 |
| 13 | 240 | 231 | 220 | 206 | 175 | 168 | 150 | 137 | 118 | 90 |
| 14 | 248 | 238 | 228 | 208 | 178 | 174 | 154 | 140 | 118 | 93 |
| 15 | 254 | 244 | 233 | 210 | 180 | 177 | 158 | 145 | 121 | 95 |
| 16 | 257 | 247 | 237 | 217 | 180 | 180 | 158 | 145 | 125 | 92 |
| 17 | 260 | 250 | 241 | 220 | 184 | 178 | 162 | 150 | 123 | 93 |
| 18 | 265 | 254 | 244 | 225 | 187 | 180 | 166 | 150 | 126 | 95 |
| 19 | 270 | 259 | 247 | 228 | 190 | 184 | 168 | 152 | 127 | 95 |
| 20 | 273 | 262 | 250 | 230 | 200 | 188 | 166 | 154 | 128 | 103 |

Tabel 2: Temperatuurkalibrasie van die 2-segment verhitter, 100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm, by 50°C isothermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 2500 | 2000 | 1000 | 500 |
|---------------------------------|-----------------------------|------|------|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 63 | 62 | 57 | 55 |
| 2 | 93 | 88 | 76 | 65 |
| 3 | 128 | 122 | 100 | 79 |
| 4 | 162 | 153 | 120 | 90 |
| 5 | 201 | 187 | 143 | 100 |
| 6 | 237 | 221 | 162 | 115 |
| 7 | 267 | 252 | 188 | 121 |
| 8 | 299 | 275 | 200 | 135 |
| 9 | - | - | 213 | 142 |
| 10 | - | - | 238 | 160 |
| 11 | - | - | 248 | 163 |
| 12 | - | - | 256 | 179 |
| 13 | - | - | 283 | 191 |
| 14 | - | - | - | 197 |
| 15 | - | - | - | 200 |
| 16 | - | - | - | 212 |
| 17 | - | - | - | 216 |
| 18 | - | - | - | 216 |
| 19 | - | - | - | 230 |
| 20 | - | - | - | 240 |

Tabel 3: Temperatuurkalibrasie van die 4-segment verhitter, 100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm, by 50°C isotermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 1500 | 1000 | 500 | 250 |
|---------------------------------|-----------------------------|------|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 61 | 57 | 54 | 53 |
| 2 | 88 | 77 | 67 | 60 |
| 3 | 126 | 102 | 83 | 70 |
| 4 | 161 | 129 | 98 | 80 |
| 5 | 205 | 160 | 118 | 92 |
| 6 | 252 | 192 | 138 | 105 |
| 7 | 300 | 227 | 159 | 118 |
| 8 | - | 258 | 175 | 128 |
| 9 | - | - | 194 | 139 |
| 10 | - | - | 215 | 150 |
| 11 | - | - | 233 | 160 |
| 12 | - | - | 244 | 169 |
| 13 | - | - | 258 | 177 |
| 14 | - | - | 277 | 185 |
| 15 | - | - | - | 193 |
| 16 | - | - | - | 200 |
| 17 | - | - | - | 208 |
| 18 | - | - | - | 214 |
| 19 | - | - | - | 220 |
| 20 | - | - | - | 223 |

Tabel 4: Temperatuurkalibrasie van die 6-segment verhitter, 100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm, by 50°C isothermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 1000 | 667 | 333 | 167 |
|---------------------------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 60 | 58 | 55 | 52 |
| 2 | 89 | 79 | 67 | 59 |
| 3 | 127 | 109 | 84 | 68 |
| 4 | 165 | 138 | 102 | 77 |
| 5 | 212 | 175 | 124 | 89 |
| 6 | 265 | 215 | 148 | 102 |
| 7 | - | 255 | 171 | 115 |
| 8 | - | 289 | 191 | 126 |
| 9 | - | - | 216 | 139 |
| 10 | - | - | 240 | 152 |
| 11 | - | - | 259 | 162 |
| 12 | - | - | 277 | 172 |
| 13 | - | - | 297 | 183 |
| 14 | - | - | - | 195 |
| 15 | - | - | - | 207 |
| 16 | - | - | - | 215 |
| 17 | - | - | - | 224 |
| 18 | - | - | - | 232 |
| 19 | - | - | - | 241 |
| 20 | - | - | - | 247 |

Tabel 5: Temperatuurkalibrasie van die 8-segment verhitter, 100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm, by 50°C isotermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 750 | 500 | 250 | 125 |
|---------------------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 58 | 56 | 53 | 52 |
| 2 | 80 | 72 | 61 | 56 |
| 3 | 110 | 93 | 74 | 62 |
| 4 | 139 | 115 | 86 | 68 |
| 5 | 179 | 143 | 103 | 77 |
| 6 | 219 | 173 | 118 | 85 |
| 7 | 259 | 201 | 136 | 95 |
| 8 | 290 | 226 | 150 | 102 |
| 9 | - | 255 | 167 | 111 |
| 10 | - | 283 | 182 | 121 |
| 11 | - | - | 196 | 129 |
| 12 | - | - | 209 | 136 |
| 13 | - | - | 225 | 143 |
| 14 | - | - | 239 | 151 |
| 15 | - | - | 250 | 157 |
| 16 | - | - | 260 | 164 |
| 17 | - | - | 274 | 171 |
| 18 | - | - | 287 | 178 |
| 19 | - | - | 296 | 183 |
| 20 | - | - | - | 187 |

Tabel 6: Temperatuurkalibrasie van die 10-segment verhitte, 100 mm x 0.52 mm x 0.34 mm, by 50°C isotermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 600 | 400 | 200 | 100 |
|---------------------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 57 | 55 | 53 | 51 |
| 2 | 75 | 68 | 59 | 55 |
| 3 | 101 | 87 | 68 | 60 |
| 4 | 125 | 105 | 77 | 66 |
| 5 | 156 | 129 | 89 | 72 |
| 6 | 190 | 152 | 102 | 78 |
| 7 | 222 | 176 | 114 | 86 |
| 8 | 251 | 198 | 124 | 92 |
| 9 | 283 | 222 | 135 | 99 |
| 10 | - | 245 | 147 | 106 |
| 11 | - | 267 | 155 | 114 |
| 12 | - | 285 | 164 | 120 |
| 13 | - | - | 173 | 127 |
| 14 | - | - | 191 | 133 |
| 15 | - | - | 198 | 140 |
| 16 | - | - | 205 | 147 |
| 17 | - | - | 213 | 153 |
| 18 | - | - | 220 | 159 |
| 19 | - | - | 228 | 165 |
| 20 | - | - | 233 | 170 |

Tabel 7: Temperatuurkalibrasie van die 2-segment verhitter, 100 mm x 0.32 mm x 0.16 mm, by 50°C isothermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 2500 | 2000 | 1000 | 500 |
|---------------------------------|-----------------------------|------|------|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 76 | 75 | 70 | 63 |
| 2 | 120 | 118 | 105 | 87 |
| 3 | 161 | 155 | 137 | 110 |
| 4 | 190 | 187 | 163 | 126 |
| 5 | 220 | 214 | 187 | 142 |
| 6 | 245 | 238 | 208 | 156 |
| 7 | 263 | 255 | 224 | 168 |
| 8 | 276 | 273 | 235 | 178 |
| 9 | 290 | 284 | 249 | 186 |
| 10 | - | 298 | 258 | 194 |
| 11 | - | - | 269 | 200 |
| 12 | - | - | 275 | 206 |
| 13 | - | - | 284 | 211 |
| 14 | - | - | 290 | 215 |
| 15 | - | - | - | 221 |
| 16 | - | - | - | 224 |
| 17 | - | - | - | 225 |
| 18 | - | - | - | 229 |
| 19 | - | - | - | 232 |
| 20 | - | - | - | 237 |

Tabel 8: Temperatuurkalibrasie van die 4-segment verhitter, 100 mm x 0.32 mm x 0.16 mm, by 50°C isothermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 1500 | 1000 | 500 | 250 |
|---------------------------------|-----------------------------|------|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 75 | 71 | 64 | 58 |
| 2 | 124 | 113 | 92 | 75 |
| 3 | 175 | 156 | 122 | 93 |
| 4 | 215 | 191 | 144 | 107 |
| 5 | 258 | 227 | 169 | 121 |
| 6 | 295 | 258 | 191 | 135 |
| 7 | - | 289 | 211 | 146 |
| 8 | - | - | 226 | 155 |
| 9 | - | - | 240 | 163 |
| 10 | - | - | 254 | 172 |
| 11 | - | - | 263 | 177 |
| 12 | - | - | 272 | 183 |
| 13 | - | - | 282 | 188 |
| 14 | - | - | 289 | 194 |
| 15 | - | - | 296 | 199 |
| 16 | - | - | - | 203 |
| 17 | - | - | - | 207 |
| 18 | - | - | - | 211 |
| 19 | - | - | - | 213 |
| 20 | - | - | - | 216 |

Tabel 9: Temperatuurkalibrasie van die 6-segment verhitter, 100 mm x 0.32 mm x 0.16 mm, by 50°C isotermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 1000 | 667 | 333 | 167 |
|---------------------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 75 | 69 | 61 | 56 |
| 2 | 126 | 110 | 85 | 69 |
| 3 | 180 | 153 | 113 | 84 |
| 4 | 226 | 191 | 136 | 96 |
| 5 | 273 | 229 | 159 | 110 |
| 6 | - | 265 | 181 | 123 |
| 7 | - | 297 | 200 | 133 |
| 8 | - | - | 218 | 141 |
| 9 | - | - | 233 | 150 |
| 10 | - | - | 247 | 160 |
| 11 | - | - | 260 | 166 |
| 12 | - | - | 269 | 171 |
| 13 | - | - | 280 | 178 |
| 14 | - | - | 290 | 183 |
| 15 | - | - | - | 188 |
| 16 | - | - | - | 192 |
| 17 | - | - | - | 197 |
| 18 | - | - | - | 202 |
| 19 | - | - | - | 205 |
| 20 | - | - | - | 206 |

Tabel 10: Temperatuurkalibrasie van die 8-segment verhitter, 100 mm x 0.32 mm x 0.16 mm, by 50°C isothermiese oondtemperatuur en 2 s wagtyd tussen verhittings.

| Verhittingstyd per segment (ms) | 750 | 500 | 250 | 125 |
|---------------------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|
| Stroom (A) | Verhittingstemperatuur (°C) | | | |
| 1 | 71 | 66 | 59 | 54 |
| 2 | 115 | 100 | 79 | 64 |
| 3 | 163 | 137 | 100 | 75 |
| 4 | 202 | 168 | 118 | 85 |
| 5 | 246 | 198 | 137 | 96 |
| 6 | 284 | 230 | 156 | 105 |
| 7 | - | 258 | 171 | 114 |
| 8 | - | 280 | 184 | 120 |
| 9 | - | 299 | 196 | 128 |
| 10 | - | - | 208 | 134 |
| 11 | - | - | 218 | 139 |
| 12 | - | - | 226 | 145 |
| 13 | - | - | 234 | 149 |
| 14 | - | - | 243 | 152 |
| 15 | - | - | 249 | 156 |
| 16 | - | - | 256 | 159 |
| 17 | - | - | 262 | 162 |
| 18 | - | - | 266 | 166 |
| 19 | - | - | 273 | 170 |
| 20 | - | - | 276 | 172 |

Curriculum Vitae

Tertia Snyman is gebore op 22 November 1974 in Bloemfontein. Sy het in 1992 van die Hoërskool Punt in Mosselbaai gematrikuleer as dux-leerling van haar klas. In 1993 het sy 'n jaar opleiding gedoen aan die Suid-Afrikaanse Lëer Vroue Kollege in George waarna sy haar studies aan die Universiteit van Stellenbosch begin het in 1994. Na voltooiing van die tweede jaar in chemiese ingenieurswese, het sy haar studies voortgesit in 'n suiwer BSc-rigting en in 1997 haar BSc-graad verwerf. Sy het in 1998 haar honeurs in chemie gedoen en daarna voortgegaan met 'n MSc in chemie. Na een jaar van navorsing is haar MSc-graad opgradeer na 'n PhD en na 'n verdere twee jaar het sy die graad behaal.

