

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
BILTHOVEN

Rapport nr. 502501056

**Toepassingsmogelijkheden van groot-volume-
injectie gaschromatografie met
infraroodspectrometrische detectie**

T. Visser, M.J. Vredenburg, Th. Hankemeier*,
E. Hooischaar* en R. van der Laan*

juli 1997

* Vrije Universiteit Amsterdam
Vakgroep Analytische Chemie
De Boelelaan 1083
1081 HV AMSTERDAM

Dit onderzoek is verricht in opdracht van de directie van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu in het kader van het project Analytisch Chemische Meetmethoden (projectnummer 502501).

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven
tel. 030-2749111, fax 030-2742971

Verzendlijst

1	Directie RIVM
2	Dr. R.A. Baumann
3	Dr. Ir. R.F.M.J. Cleven
4	Dr. H.J.G.M. Derks
5	Dr. L.A. van Ginkel
6	Dr. Ir. E.H.J.M. Jansen
7	Dr. Ir. A.P.J.M. de Jong
8	Dr. H.A. van't Klooster
9	Drs. A.K.D. Liem
10	Dr. R.W. Stephany
11	Drs. E.G. van de Velde
12	Dr. G. Zomer
13	Dr. P. van Zoonen
14	Hoofd Bureau Voorlichting en Public Relations
15-19	Auteurs
20-22	Bibliotheek RIVM
23	Bureau Rapportenregistratie
24-44	Bureau Rapportenbeheer

Mede ter informatie aan:

45 Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie

Inhoudsopgave

Verzendlijst	2
Summary	4
Samenvatting	5
1. Inleiding	6
2. Methoden en materialen	6
2.1 Chemicaliën	6
2.2 Infraroodspectrometrie	7
2.3 Gaschromatografie	8
2.3.1 Loop-type LVI-GC-IR	8
2.3.2 On-column LVI-GC-IR	10
3. Resultaten en discussie	11
3.1 Loop-type LVI-GC-IR	11
3.2 On-column LVI-GC-IR	14
4. Conclusies	17
Referenties	18
Bijlage	19

SUMMARY

Research has been carried out to enlarge the analyte detectability of gaschromatography with infrared spectrometric detection (GC-IR) by techniques that allow injection of large volumes of liquid samples (100 μL typical). Two techniques have been investigated; loop-type and on-column interfacing. Alkanes dissolved in various solvents have been used for optimisation. Pesticides, polyaromatic hydrocarbons and other micro-contaminants have been used to test the usefulness of the developed system in environmental trace analysis.

The increase in analyte detectability of high boiling compounds compared to conventional 1 μL split/splitless injection is almost proportional to the injected volume for injection of 100 μL . At larger sample volumes, the increase of the relative sensitivity is partly detracted by impurities of the solvent. The performance of the on-column interface is better due to the reduced loss of volatiles and the incorporation of a detector switching module that minimizes interfering solvent condensation in the IR detection interface.

The potentials of LVI-GC-IR are demonstrated by the analysis of samples of drinking and surface water spiked at levels of 0.1-1 $\mu\text{g/L}$ with components that commonly occur as micro-contaminants. Analytes have been detected and identified (i) by direct injection of solutions obtained by liquid-liquid extraction and (ii) by on-line desorption of at site sampled solid phase extracted cartridges. The possibility of (LVI-)GC-IR of selective screening on the presence of specific compound classes by means of functional group chromatograms makes the technique a valuable tool in addition to GC with mass spectrometric and atomic emission detection.

SAMENVATTING

Onderzoek is uitgevoerd naar verbetering van de relatieve detectiegrenzen van gaschromatografie met infraroodspectrometrische detectie (GC-IR) door toepassing van zogenaamde 'large-volume' injectie (LVI) technieken. Twee technieken zijn onderzocht, 'loop-type interfacing' en 'on-column interfacing'. Optimalisatie is uitgevoerd met *n*-alkanen in verschillende oplosmiddelen. Pesticiden, polyaromatische koolwaterstoffen en andere contaminanten zijn gebruikt voor het testen van de bruikbaarheid van het ontwikkelde systeem in de milieu-analyse.

Bij 100 μL injecties blijkt de relatieve detecteerbaarheid van de niet vluchtige analieten in vergelijking met 1 μL split/splitless injecties, voor beide typen interfacing vrijwel evenredig toe te nemen met het ge-injecteerde volume. Bij injectie van grotere volumes (200-400 μL) wordt de winst in relatieve gevoeligheid gedeeltelijk teniet gedaan door verontreinigingen in het oplosmiddel. De prestaties van de on-column interfacing zijn relatief beter door het geringere verlies aan vluchtige componenten en de inbouw van een detector-schakelsysteem.

De praktische mogelijkheden van LVI-GC-IR worden gedemonstreerd aan de hand van de analyse van enkele monsters drink- en oppervlaktewater waaraan veel voorkomende contaminanten zijn toegevoegd op een niveau van 0.1-1 $\mu\text{g/L}$. De toegevoegde componenten zijn gedetecteerd en geïdentificeerd (i) via injectie van extracten verkregen via vloeistof-vloeistof extractie en (ii) door on-line desorptie van elders bemonsterde 'solid phase extracted' (SPE) cartridges. De mogelijkheid van (LVI-)GC-IR om door middel van functionele groepschromatogrammen te 'screenen' op de aanwezigheid van specifieke stofklassen is een waardevolle aanvulling op gaschromatografie met massaspectrometrische en atoomemissie detectie.

1 INLEIDING

De identificatie van analieten in de milieu- en residu-analyse stelt hoge eisen aan de bepalingsmethoden vanwege het lage concentratieniveau waarop moet worden gemeten. Voor bestrijdingsmiddelen in drinkwater is het maximaal toegestane niveau bijvoorbeeld 0.1 µg/L. Voor de analyse wordt bij voorkeur gaschromatografie (GC) gebruikt in combinatie met selectieve detectoren zoals de vlamionisatie- (FID), stikstof/fosfor- (NPD) en 'electron-capture-' (ECD) detector. In toenemende mate wordt massaspectrometrische (MS) detectie toegepast in het bijzonder indien specifieke structuurinformatie is gewenst. Identifikatie met behulp van MS is echter niet altijd mogelijk en aanvullende informatie is dan gewenst, bijvoorbeeld om gegevens van MS te bevestigen of om onderscheid te maken tussen stoffen met gelijke massa. Infrarood(IR) spectrometrische detectie is dan een goed alternatief [1–4].

De meest gevoelige GC-IR techniek is directe depositie of cryotrapping. Deze methode is gebaseerd op het immobiliseren van het chromatogram bij zeer lage temperatuur (77K) gevolgd door het opnemen van de IR-spectra van de ingevroren componenten. De gevoeligheid van de techniek ligt rond de 1 ng geïnjecteerd en is een factor 100 hoger dan die van conventionele GC-IR gebaseerd op het principe van de doorstroomcel [5]. Zonder voorconcentratie van het monster of het extract is de gevoeligheid van cryotrapping GC-IR echter onvoldoende voor analyses op laag ppb nivo.

Een manier om de relatieve detectiegrens te verbeteren is injectie van monstervolumes groter dan de gebruikelijke 1 tot 2 µL. Hiertoe zijn diverse technieken ontwikkeld al dan niet afgeleid van de on-line koppeling van vloeistofchromatografie met GC. Voorbeelden zijn het 'on-column' interface [6], het 'loop-type interface' [7] en de 'programmed temperature vaporizer' (PTV) [8]. Diverse toepassingen van deze 'large-volume' injectie (LVI) technieken zijn inmiddels gepubliceerd [9–12].

Combinaties van LVI en GC-IR zijn incidenteel gerapporteerd en alleen voor systemen met een doorstroomcel. Hu et al [13] gebruikten een on-column interface en Fehl en Marcott [14] ontwikkelden een twee-traps PTV-type injector voor de injectie van 100-µL hoeveelheden. Een verbetering van de relatieve detectiegrens met een factor 100 wordt geclaimd maar kwantitatieve gegevens ontbreken. Full et al [15] gebruikten eveneens een on-column interface maar detectiegrenzen worden niet vermeld.

Gezien de hoge gevoeligheid van cryotrapping GC-IR in vergelijking met doorstroomcel detectie is combinatie ervan met LVI een logische stap om de relatieve detectiegrens van GC-IR te verbeteren. Hiertoe zijn twee LVI-technieken onderzocht: (1) het loop-type interface vanwege de eenvoudige optimalisatie, en (2) het on-column interface vanwege de hoge recoveries van de vluchtige componenten. Systemoptimalisatie is uitgevoerd met standaardoplossingen van *n*-alkanen. De toepasbaarheid is onderzocht aan de hand van drink- en oppervlaktewater monsters waaraan veel voorkomende milieucontaminanten zijn toegevoegd op een niveau van 0.1-1 µg/L.

2. METHODEN EN MATERIALEN

2.1 Chemicaliën

Standaardoplossingen van de oneven *n*-alkanen C₁₁ t/m C₂₅ in *n*-pentaan, *n*-hexaan, toluen, acetonitril en ethylacetaat met een concentratie van 50 pg/µL per alkaan zijn gemaakt

door verdunning van een stockoplossing in *n*-hexaan met een concentratie van circa 20 µg/mL per component. Een standaardoplossing van 200 pg/µL per component van de *n*-alkanen C₁₀ t/m C₁₅ en C₁₇ t/m C₂₀ in *n*-hexaan is gemaakt door verdunning van een stockoplossing in *n*-hexaan met een concentratie van circa 20 µg/mL.

Ethyl acetaat, *n*-pentaan en *n*-hexaan (Nanograde) van Mallinckrodt zijn betrokken van Promochem (Wesel, Duitsland). Toluëen (glas gedestilleerd) en acetonitril (HPLC grade) zijn afkomstig van Rathburn Chemicals (Walkerburn, Engeland). In voorkomende gevallen zijn oplosmiddelen vóór gebruik vers gedestilleerd.

Oplossingen van PAK zijn bereid uit de gecertificeerde standaard 'Standard Reference Material' nr 2260 (NIST, C.N. Schmidt, Amsterdam). Deze standaard SRM2260 is een oplossing van 16 PAK in toluëen met een nominale concentratie van 60 µg/mL per component. De oplossing is gebruikt voor het maken van verdunningen in hexaan en in ethylacetaat in concentraties van 0.6 µg/mL en 0.06 µg/mL. SRM2260 is tevens gebruikt als toevoeging aan een monster Rijnwater (Lobith, 1994). Het toevoegingsniveau van de PAK bedroeg 0.5 µg per component per liter water. 1 liter van dit monster is tweemaal geëxtraheerd met 0.6 mL hexaan via micro vloeistof-vloeistof extractie zoals beschreven in ref. [16]. 1 mL van het extract is gedroogd boven watervrij natriumsulfaat (Baker, Deventer).

Een 8-componenten mengsel van milieucontaminanten is gebruikt als toevoeging aan een drietal watermonsters: (1) drinkwater uit Amsterdam; toevoegingsniveau 1 µg/L per component, (2) drinkwater uit Amsterdam; toevoegingsniveau 0.1 µg/L per component, en (3) havenwater uit Rotterdam; toevoegingsniveau 1 µg/L per component. Per watermonster is 10 mL geëxtraheerd op een C₁₈ SPE-cartridge met behulp van een Prospekt systeem. De SPE-cartridges met dimensies 10 x 2 mm I.D., waren gepakt met 20 µm deeltjes van 10 nm PLRP-S styreen-divinylbenzeen copolymeer (Spark Holland). De cartridges zijn, voorafgaand aan de on-column LVI-GC-IR analyse, gedurende 10 min gedroogd met stikstofgas.

2.2 Infraroodspectrometrie

De IR-spectrometer is een Digilab FTS-40 Fourier transform instrument (Biorad, Cambridge, USA) met Digilab Tracer cryotrapping GC interface [1]. Data acquisitie en processing is uitgevoerd met een SPC 3200 computer (Bio-Rad).

Het LVI-GC systeem is met de Tracer interface verbonden via een 1-m gedeactiveerd fused-silica transferlijn van 150 µm I.D welke eindigt in depositietip met I.D. 75 µm. De temperatuur van de tip en de transferlijn was 275°C en van het ZnSe depositievenster 80 K. De interne druk van het interface was 10⁻⁵ Pa. In het onderzoek aan loop-type interfacing was de transferlijn direct gekoppeld aan het uiteinde van de GC column met behulp van een press fitt connector. In het onderzoek aan on-column interfacing was de transferlijn verbonden met een detector-schakel-module via een Swagelock connector voorzien van gouden ferrules.

Geïmmobiliseerde chromatogrammen zijn 'on-the-fly' gescand met 2 scans per sec. 'Post-run' scanning ter verbetering van de signaal/ruisverhouding van spectra is uitgevoerd door herpositionering van venstercoördinaten in de IR-bundel. On-the fly spectra: 4 scans gemiddeld, post-run spectra 256 scans; data punt resolutie 4 cm⁻¹.

GC-IR chromatogrammen van de geïntegreerde IR-absorptie als functie van de tijd zijn geconstrueerd door standaard Gram-Schmidt vector orthogonalisatie. Naast 'full-scan' zijn functionele groeps chromatogrammen van vooraf geselecteerde golfgetalgebieden gebruikt om het traceren van stoffen uit een bepaalde stofklasse te vergemakkelijken [2]. Verwijzingen naar spectranummers en Tracer-runfilenummers staan in de bijlage.

2.3 Gaschromatografie

De GC-scheidingen zijn uitgevoerd op een Carlo Erba MEGA 5160 GC met standaard split/splitless injector en FID. De injector temperatuur was 250° C. Helium 4.0 was dragergas met een gasflow van 0.9 mL/min.

Het loop-type interface en het on-column interface zijn in huis ontwikkeld en ingebouwd, op basis van literatuurgegevens. Uitgebreide beschrijvingen van het principe en de werking zijn te vinden in referenties [5, 6, 16]. De technische specificaties van de interfaces die zijn toegepast in dit onderzoek zijn samengevat in de secties 2.3.1 en 2.3.2.

Loop-type interfacing LVI-GC-IR is eerst onderzocht. Naar aanleiding van de conclusies van dit onderzoek is een detector-schakel-module (DSM) ontwikkeld. Deze module maakt schakeling tussen IR-detectie en FID mogelijk op ieder gewenst moment tijdens de GC-run en beperkt de vervuiling van de IR-interface met oplosmiddel. De DSM leidt de kolomeffluent naar de FID óf naar de Tracer interface door een flowverandering in een splitter-unit te bewerkstelligen met een purge-gas (helium). De flowverandering in deze unit wordt gestuurd door een elektronische schakelkraan welke zich buiten de oven bevindt. Hierdoor wordt de werking niet beïnvloed door de oventemperatuur. De DSM is bij alle experimenten met de on-column interfacing toegepast. De precieze werking en de specificaties worden elders beschreven [17].

2.3.1 Loop-type LVI-GC-IR

De experimentele opstelling van het LVI-GC-IR systeem met loop-type interface is schematisch weergegeven in Fig. 1. Het interface is uitgerust met een roterende zes-poorts monsterkraan (SV) en een roterende zes-poorts gaskraan (GV), beiden Rheodyne. De gaskraan is aangesloten op het heliumnet en voorzien van een flow-controller (FC) en een druk-controller (PC). De monsterkraan is voorzien van een injectie 'loop' (100, 200 of 400 μ L). De loop wordt gevuld met een injectiespuit. Een geïnjecteerde oplossing wordt uit de loop in de GC-oven geïntroduceerd in de 'retention gap'. Deze is verbonden met een 'retaining pre-column' via een press-fit connector. De retaining pre-column staat op haar beurt via een T-

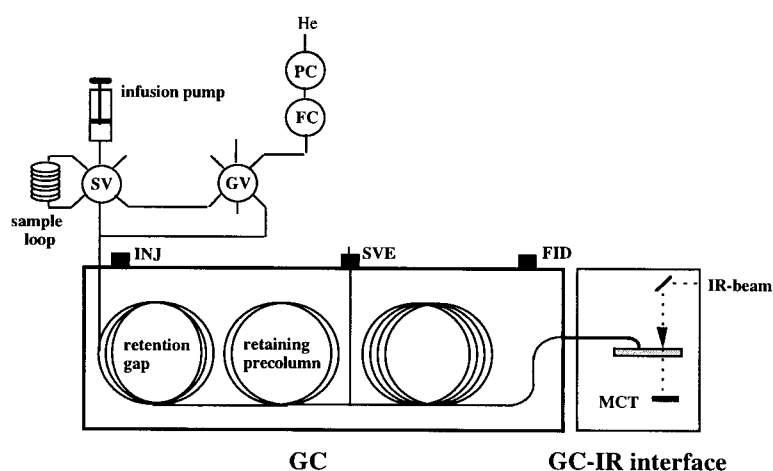


Fig. 1 Schematische weergave van het LVI-GC-IR systeem met loop type interfacing. SV: sample valve (6-poort), GV: gas valve (6-poort), FC: flow controller, PC: pressure controller INJ: injector, SVE: solvent vapour exit, MCT: gekoelde IR detector

vormige press-fit in verbinding met de analytische kolom en met een 'solvent vapour exit' (SVE). Deze SVE dient voor de afvoer van de oplosmiddelbulk en wordt met de hand geopend en gesloten via een press-fit connector die is gekoppeld aan een 0.60 m x 50 μm I.D. restrictie-capillair. Introductie van oplossingen of monsterextracten in de GC vindt plaats door de SVE te openen en de monster- en gaskraan gelijktijdig te schakelen zodat de monsterplug door het dragergas uit de injectieloop in de retention gap wordt geduwd. Na voltooiing van de monsterintroductie, aangegeven door een drukval op de nanometer achter een flowcontroller, worden beide zes-poorts kranen (SV en GV) teruggedraaid in de injectiepositie. Na 30 s wordt de SVE gesloten en wordt het GC-programma en de acquisitie van de IR data gestart.

Optimalisatie

De optimale introductietemperatuur (T) van vijf oplosmiddelen, *n*-pentaan, *n*-hexaan, acetonitril, ethylacetaat en toluen, is bepaald aan de hand van 100 μL injecties van oplossingen van de oneven *n*-alkanen C_{11} t/m C_{25} met een concentratie van 50 $\text{pg}/\mu\text{L}$ per component. Het criterium voor de optimale injectietemperatuur is maximale chromatografische performance in termen van piekvorm en recovery (te lage T resulteert in piekvervorming, te hoge T in verlies van de vluchtige componenten).

De injecties zijn uitgevoerd met als 'retention gap' een fused silica kolom van 5 m x 0.53 mm I.D. welke is gedeactiveerd met diphenyl-tetramethyl-disilazane (BGB Analytik). De 'retaining precolumn' was een 1 m CP-Sil-5 CB kolom (Chrompack) met een I.D. van 0.25 mm I.D. en een filmdikte van 0.25 μm . De analytische kolom was van hetzelfde CP-Sil-5 CB materiaal in een lengte van 25 m.

Het GC-programma was: start bij de transfertemperatuur T (zie Tabel 1) en met 20° C/min naar 290° C, 10 min isotherm. Voor de 200 en 400 μL injecties is T met 3° C verhoogd. De herhaalbaarheid van 100 μL injecties is bepaald met de 50 $\text{pg}/\mu\text{L}$ *n*-alkaanoplossing in hexaan middels 6 opeenvolgende analyses.

Kwantificering van de *n*-alkanen is uitgevoerd aan de hand van de piekhoogte in het Gram Schmidt GC-IR chromatogram (golfgetalinterval 4000-700 cm^{-1}), het -C-H rek functionele groeps GC-IR chromatogram (interval 2980-2820 cm^{-1}) en de meest intensieve piek in de IR spectra (circa 2925 cm^{-1}). De resultaten van de 100 μL injecties van de *n*-alkanen in pentaan zijn vergeleken met die van 1 μL split (1:10), 1 μL splitless en 200 en 400 μL large-volume injecties van dezelfde absolute hoeveelheden.

Toepassing

De toepasbaarheid op praktijkmonsters is getest met de verdunningen van de PAK standaardoplossing SRM2260 in hexaan en met de hexaanextracten van Rijnwater waaraan SRM2260 was toegevoegd. De resultaten van de 100 μL LVI injecties zijn vergeleken met die van eerder uitgevoerde experimenten met 1 μL splitless en 1 μL split (1:10) injecties van evenredig verdunde standaardoplossingen van SRM2260.

De analyses zijn uitgevoerd met als retention gap een fused silica kolom van 5 m x 0.53 mm I.D. gedeactiveerd met diphenyl-tetramethyl-disilazane. De retaining pre-column was 1 m DB-17 (J&W Scientific) met 0.25 mm I.D. en een filmdikte van 0.15 μm . De analytische kolom was van hetzelfde DB-17 materiaal, lengte 15 m.

Het GC-programma was: start 95° C (de transfertemperatuur van hexaan), met 20° C/min naar 180° C en vervolgens met 5° C/min naar 290° C en tenslotte 10 min isotherm op 290° C. De PAK zijn gekwantificeerd op het Gram Schmidt GC-IR chromatogram, het -C-H out-of-plane functionele groeps GC-IR chromatogram (interval 950-700 cm^{-1}) en de meest intensieve piek in de IR spectra.

2.3.2 On-column LVI-GC-IR

De experimentele opstelling van het on-column interface is weergegeven in Fig. 2. Het interface is uitgerust met één roterende zes-poortkraan (V) welke is voorzien van (i) een houder voor desorptie van een 'solid-phase extraction' (SPE) cartridge en (ii) een injectieloop van 100 μ L die wordt gevuld met een injectiespuit.

Een retaining pre-column is niet toegepast. Oplossingen en extracten worden direct geïntroduceerd in de retention gap. De retention gap is via een T-vormige press-fit connector verbonden met de analytische kolom en met de solvent vapour exit (SVE). De analytische kolom is verbonden met de detector-schakel module (DSM).

Introductie in het GC-systeem (desorptie van SPE-cartridges of injectie van de monsterloop) geschiedt door achtereenvolgens de SVE te openen, de monsterkraan V naar injectie te schakelen en de infusiepomp (Harvard) te starten. Na het verstrijken van de injectietijd en de transfertijd, nodig om het oplosmiddel te verdampen, wordt schakelkraan V gesloten en 2 seconden later de SVE. Gedurende de injectie en elutie van het oplosmiddel is de DSM geschakeld naar de FID om te voorkomen dat (te) grote hoeveelheden oplosmiddel de IR-detector vervuilen. Dertig seconden na sluiting van de SVE wordt het GC-programma gestart. IR data acquisitie wordt vervolgens naar keuze gestart afhankelijk van het moment van detectorschakeling en de beschikbare ruimte op het depositievenster. Als gevolg hiervan zijn de retentietijden arbitrair.

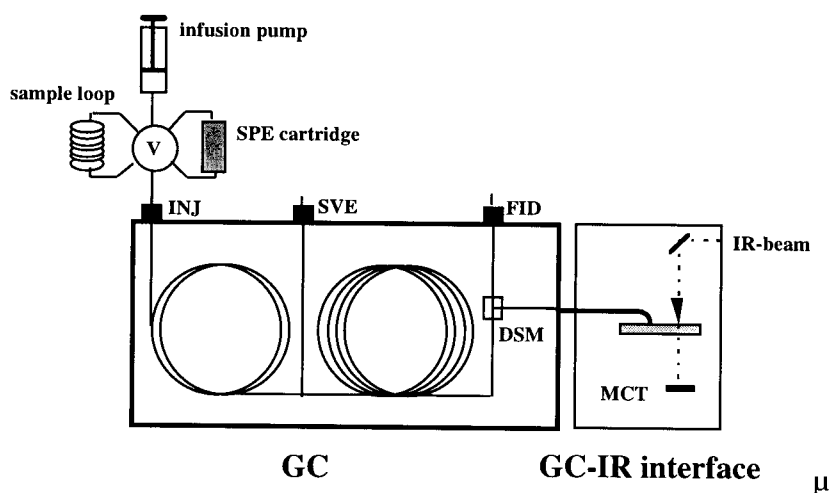


Fig. 2. Schematische weergave van het LVI-GC-IR systeem met on-column interfacing. V: sample valve (6-port), INJ: injector, SVE: solvent vapour exit, FID: vlam ionisatie detector, DSM: detector schakel module, MCT: gekoelde IR detector

Optimalisatie

De systeemoptimalisatie is uitgevoerd met een standaardoplossing van de *n*-alkanen C₁₀ t/m C₂₀ in hexaan en met een acht-componenten mengsel milieucontaminanten in ethylacetaat. Het criterium voor optimale performance is maximale recovery van de (vluchtige) analieten in combinatie met correcte piekvorm (geen 'flooding'). Experimenten zijn alleen uitgevoerd met ethylacetaat als oplosmiddel. De pompsnelheid is 50 μ L/min hetgeen resulteert in een injectietijd van 100 sec.

De retention gap was een 3 m x 0.53 mm I.D. fused silica kolom gedeactiveerd met diphenyl-tetramethyl-disilazane (BGB Analytik). De analytische kolom was een 25 m HP-5-

MS (Hewlett Packard), I.D. 0.25 mm I.D. en filmdikte 0.25 μm . Een retaining pre-column is niet toegepast. De relatief snellere sluiting van de SVE in vergelijking met loop-type interfacing maakt toepassing overbodig.

Het GC-programma was: injectie-temperatuur 77° C (transfertijsd 125 sec), met 10° C/min naar 290° C, en tenslotte 10° C min isotherm op 290° C.

Toepassing

Na optimalisatie is het systeem is getest door middel van on-line desorptie van 'solid-phase' geextraheerde monsters drink- en oppervlaktewater, waaraan het eerder het genoemde acht-componenten mengsel is toegevoegd. Desorptie van de SPE-cartridges is uitgevoerd met 100 μL ethylacetaat.

Kwantificering is uitgevoerd aan de hand van (i) de piekhoogten in het Gram Schmidt GC-IR chromatogram, (ii) de piekhoogten in de functionele groeps GC-IR chromatogrammen en (iii) de meest intensieve piek in de IR spectra..

3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Loop-type LVI-GC-IR

Grote hoeveelheden oplosmiddel geïnjecteerd via een loop-type interface kunnen isotroop in de retention gap worden verdampt mits de transfertemperatuur T juist is gekozen. T moet hoger zijn dan het kookpunt van het oplosmiddel omdat anders de verdamping te traag is en het oplosmiddel als vloeistof de retaining precolumn bereikt. Dit veroorzaakt verstoring van de piekvorm. Als T daarentegen te hoog is zullen de vluchtige componenten verloren gaan.

Het moment van sluiting van de SVE is eveneens van belang. Op basis van deze factoren zijn voor 100 μL injecties de T -waarden van de verschillende oplosmiddelen en de sluitingstijd van de SVE geoptimaliseerd. De sluitingstijd is bepaald op 30 sec na voltooiing van de transfer, de overige resultaten zijn weergegeven in Tabel 1.

Het verschil tussen het kookpunt en de transfertemperatuur T blijkt circa 25° C voor n -pentaan, n -hexaan en ethylacetaat, en circa 31° C voor acetonitril en toluen. Het verschil tussen T en de elutietemperatuur T_e van de eerste volledig kwantitatief getransfereerde alkaan is ongeveer 140° C. Voor efficiënte transfer van 200 en 400 μL injecties van oplossingen in hexaan moet T met 3° C worden verhoogd.

De relatieve standaarddeviatie (RSD) van 6 opeenvolgende 100 μL injecties van de n -alkanen in pentaan is 15% bij gebruik van het GC-IR functionele groepschromatogram voor de detectie van alkanen: 2980-2820 cm^{-1} . Bij gebruik van de meest intensieve band in het spectrum zijn de RSD-waarden hoger als gevolg van variaties in de achtergrond.

Het effect van het geïnjecteerde volume op de detectiegrenzen van GC-FID en GC-IR is weergegeven in Tabel 2. De resultaten van 100, 200 en 400 μL injecties zijn vergeleken met die van 1 μL splitless en 1 μL split 1:10. De invloed op de gevoeligheid van GC-IR blijkt groter dan op die van GC-FID. De detecteerbaarheid van de n -alkanen is voor FID onafhankelijk van het volume maar neemt voor IR-detectie af met circa 15% bij een volume van 200 en 400 μL . De relatieve detecteerbaarheid van PAK neemt voor zowel FID als IR-detectie af.

De verschillen in de GC-IR functionele groeps chromatogrammen bij injectie van 60 ng per component met 1 μL splitless injectie en met 100 μL LVI zijn weergegeven in Fig. 3. Het

Tabel 1. Transfertemperatuur (T) en toepassingsgebied van verschillende oplosmiddelen voor loop-type LVI-GC-IR. Temperaturen in °C. T_e is de elutietemperatuur van de eerst eluerende alkaan met recovery>90%. Alkanen opgegeven naar ketenlengte.

Oplosmiddel	kookpunt	T	T _e	alkaan (C)
n-Pentaaan	36	60	200	C15
n-Hexaaan	69	95	240	C19
Ethyl acetaat	77	100	240	C19
Acetonitril	81	112	260	C21
Tolueen	111	143	280	C23

Tabel 2. Relatieve detectiegrenzen in pg/μL van n-alkanen en PAK met GC-IR en GC-FID bij toepassing van split-, splitless - en loop-type groot-volume injectie. IR-detectie op basis van functionele groepschromatogram (alkanen 2980–2820 cm⁻¹, PAK: 700–950 cm⁻¹) bij S/N >3)

Analiet	Detector	Detectiegrens (pg/μL)				
		split (1:10)	splitless	LVI		
				1 μL	1 μL	100 μL
n-Alkanen	FID	200	20	0.2	0.1	0.05
	IR	2500	250	2.5	1.5	0.75
PAK	FID	700	70	1	0.5	
	IR	30000	3000	90	60	

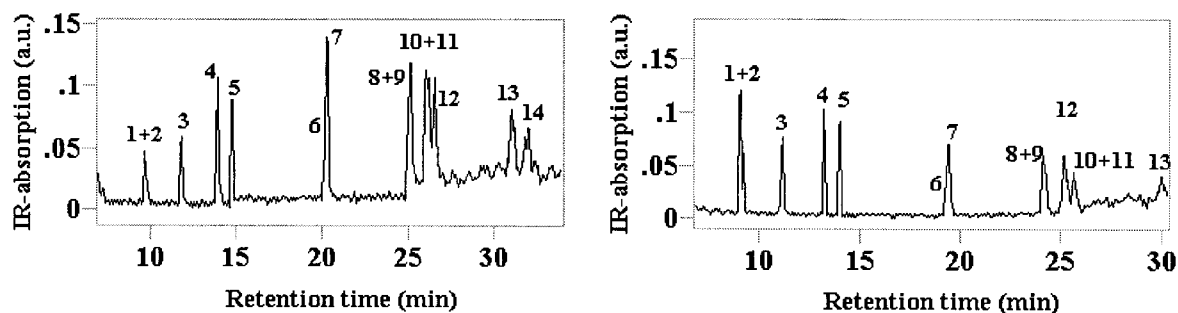


Fig. 3. Loop-type LVI-GC-IR en splitless GC-IR van PAK in hexaan. Functionele groepschromatogram (950-700 cm⁻¹) van 100 μL loop-type injectie 600 pg/ μL (links) en 1 μL splitless injectie 60000 pg/ μL . 1=phenanthreen; 2=anthraceen; 3=1-methyl-phenanthreen; 4=fluorantheen; 5=pyreen; 6=benz[a]anthraceen; 7=chryseen; 8=benzo[b]fluorantheen; 9=benzo[k]fluorantheen; 10=benzo[e]pyreen; 11=benzo[a]pyreen; 12=peryleen.

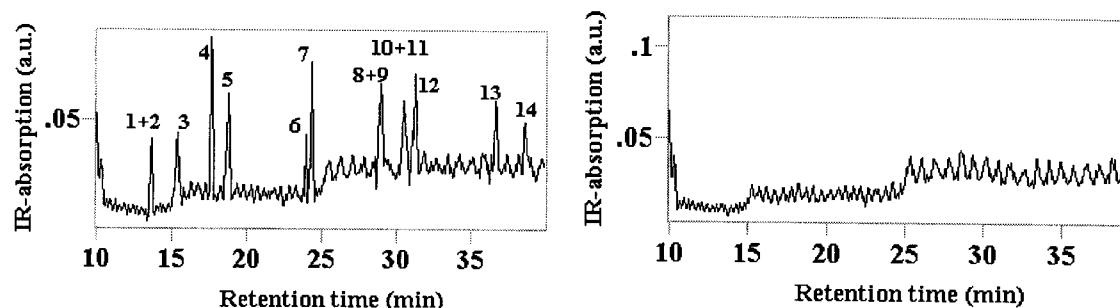


Fig. 4. Loop-type LVI-GC-IR functionele groeps-chromatogram (700–950 cm^{-1}) voor PAK detectie in een hexaanextract van Rijnwater. Links toevoegingsniveau 0.5 $\mu\text{g/L}$; rechts geen toevoeging. Voor toekenning van de pieken zie legenda van Fig. 3.

illustreert het relatieve verlies van de vluchtige PAK (vgl. componenten 1-5). De recoveries van deze componenten bij 100 en 200 μL injecties zijn, in vergelijking met de 1 μL split/splitless injecties, 70% met FID en respectievelijk 35% en 20% met IR. Eén van de oorzaken voor de afname in GC-IR is piekverbreding als gevolg van de verspreiding van de analieten over de retention gap tijdens de transfer, voordat refocusering door het phase-ratio effect plaatsvindt [20]. Dit effect wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van actieve plaatsen in de retention gap. Ten aanzien van IR is de afname tevens het gevolg van interferentie van oplosmiddelabsorpties door kristallisatie op het depositievenster, en van basislijneffecten die worden veroorzaakt door verontreinigingen in het oplosmiddel. Deze effecten worden groter naarmate het geïnjecteerde volume groter wordt. Om die reden zijn verdere experimenten beperkt tot 100 μL injecties en zijn oplosmiddelen vóór gebruik gedestilleerd.

Een technisch probleem van loop-type LVI is het grote aantal press-fit connectoren en de twee zes-poorts schakelkranen in de experimentele opzet. Enerzijds zijn lekkages daardoor nauwelijks te voorkomen terwijl anderzijds cryotrapping GC-IR extreem gevoelig is voor waterdamp. Daardoor is het achtergrondniveau van atmosfeerabsorpties in de spectra hoog en de performance navenant lager dan bij gewoon gebruik. Het hoge achtergrondniveau uit zich in de chromatogrammen als een golfpatroon (zie Fig. 4).

De lagere gevoeligheid van GC-IR voor PAK heeft ook spectroscopische oorzaken. Ten eerste is de extinctiecoëfficiënt van de aromatische C–H absorptiebanden kleiner dan van de alifatische. Ten tweede moet voor de detectie van PAK een breder golfgetalinterval (700–950 cm^{-1}) worden genomen dan voor de alkanen (2980–2820 cm^{-1}) terwijl de detectorruis in dit gebied relatief hoog is. Bij kwantificering op basis van de meest intensieve piek in het spectrum in plaats van het GC-IR chromatogram zijn de detectiegrenzen van de verschillende PAK echter een factor 10 beter. De detectiegrens voor fluorantheen bij 100- μL LVI is bijvoorbeeld 100 $\text{pg}/\mu\text{l}$ op basis van het functionele groepschromatogram en 10 $\text{pg}/\mu\text{l}$ op basis van het spectrum.

Het functionele groeps LVI-GC-IR chromatogram van de PAK-analyse in het Rijnwater-extract is weergegeven in Fig. 4. Alle PAK, toegevoegd op een niveau van 0.5 $\mu\text{g/L}$, zijn zichtbaar in het chromatogram. In de blanco zijn geen PAK aangetoond. De chromatografische pieken zijn weliswaar niet allemaal basislijn gescheiden maar van alle componenten zijn interferentie-vrije en identificeerbare spectra verkregen, direkt danwel indirect door acquisitie van spectra uit de flanken van een GC-piek. Alle componenten zijn op basis van hun IR-spectra geïdentificeerd. De spectra van de isomeren benzo[a]pyreen en benzo[e]pyreen in Fig. 5 zijn daarvan voorbeelden en illustreren het discriminerende

vermogen van IR. De berekende recoveries op basis van de meest intensieve piek in de spectra liggen tussen de 80 en 90% .

Evenals voor de standaarden blijkt de gevoeligheid op basis van de IR-spectra een factor 10 beter dan bij gebruik van het functionele groepschromatogram. De detectiegrens van de verschillende PAK in het Rijnwater is geschat op 0.1–0.25 µg/L voor fluorantheen, pyreen, benz[a]anthraceen en chryseen (pieken 4–7 in Fig. 4) en op circa 0.4 µg/L voor benzo[b]fluorantheen, benzo[k]fluorantheen, benzo[e]pyreen, benzo[a]pyreen en peryleen (pieken 8-12). In het blanco monster zijn geen PAK gedetecteerd, noch in het functionele groep chromatogram noch in de spectra die verkregen zijn door langdurige post-run scanning op de betreffende retentietijden.

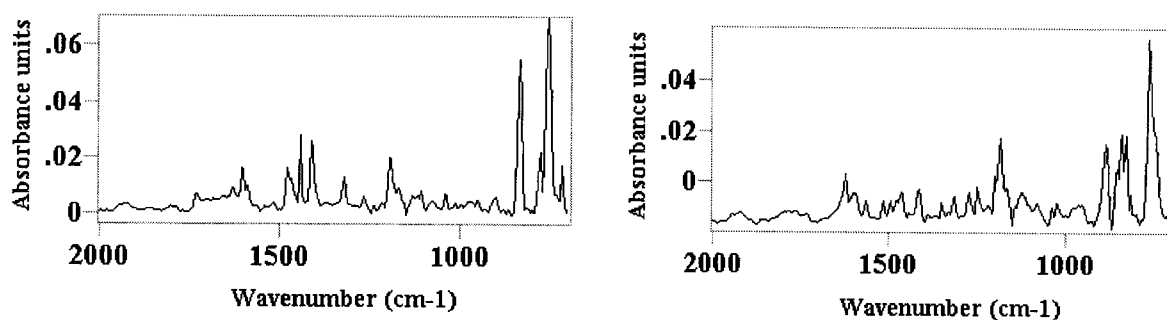


Fig. 5. Loop-type LVI-GC-IR spectra van benz[e]pyreen (links) en benz[a]pyreen (rechts) van Rijnwater met toevoeging van PAK (niveau 0.5 g/L). De spectra corresponderen met pieken 10 en 11 in Fig. 4.

3.2 On-column LVI-GC-IR

On-column LVI-GC-IR vereist een injectietemperatuur net beneden het kookpunt van het oplosmiddel zodanig dat de oplossing zich als een film verspreidt over de retention gap alvorens volledig te verdampen. Om de verdamping tijdens de injectie zo klein mogelijk te maken is gekozen voor een retention gap met een relatief grote capaciteit (5 m x 0.53 mm). Hierdoor is ook de optimalisatie minder kritisch is. Als gevolg van de voordruk in de retentiongap ligt de injectietemperatuur in de praktijk meestal op of net boven het kookpunt onder atmosferische omstandigheden. De injectietemperatuur voor ethylacetaat, geoptimaliseerd met de *n*-alkanen standaard, is bepaald op 77° C en de bijbehorende transfertijd voor 100 µL hoeveelheden op 125 sec. Onder deze condities kunnen alkanen vanaf *n*-decaan (C₁₀) kwantitatief worden gedetecteerd (zie GC-IR functionele groepschromatogram in Fig. 6).

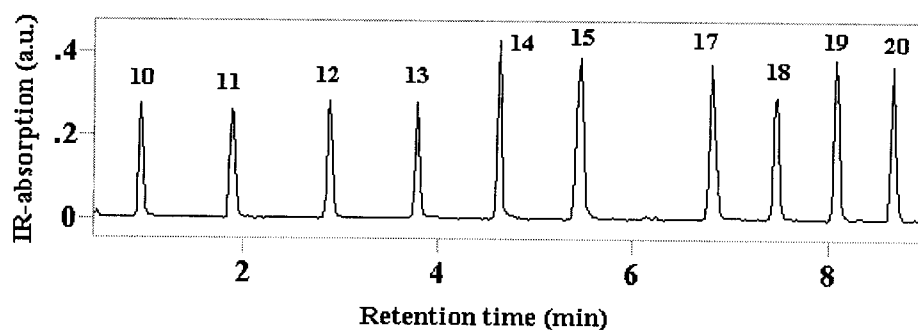


Fig. 6. On-column LVI-GC-IR functionele groeps-chromatogram ($2980-2820\text{ cm}^{-1}$) van n-alkanen in ethylacetaat. Concentratie $200\text{ }\mu\text{g/L}$. Injectievolume $100\text{ }\mu\text{L}$.

Twee chromatogrammen van de gecombineerde SPE-LVI-GC-IR analyse van het drinkwatermonster met het toevoegingsniveau van $1\text{ }\mu\text{g/L}$, zijn weergegeven in Fig. 7, links het Gram-Schmidt GC-IR chromatogram en rechts het functionele groeps GC-IR chromatogram van het gebied $1670-1640\text{ cm}^{-1}$ (rechts).

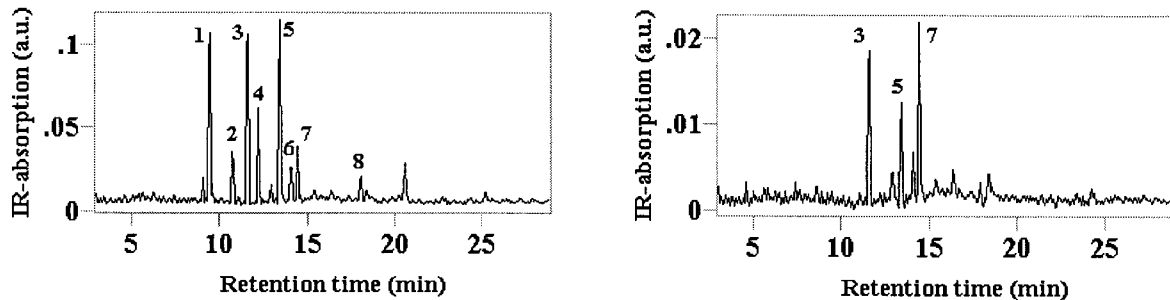


Fig. 7. On-column SPE-LVI-GC-IR analyse van drinkwater met toevoeging van milieucontaminanten. Concentratieniveau na toevoeging: $1\text{ }\mu\text{g/L}$ per component. Gram-Schmidt chromatogram (links) en functionele groeps chromatogram $1670-1640\text{ cm}^{-1}$ (rechts). Componenten: Diethylfalaat(1); Sulfotep(2); Atrazine(3); Diazinon(4); Simetryn(5); Caffeine(6); Metolachlor(7); Triazophos(8). Desorptie: $100\text{ }\mu\text{L}$ ethylacetaat.

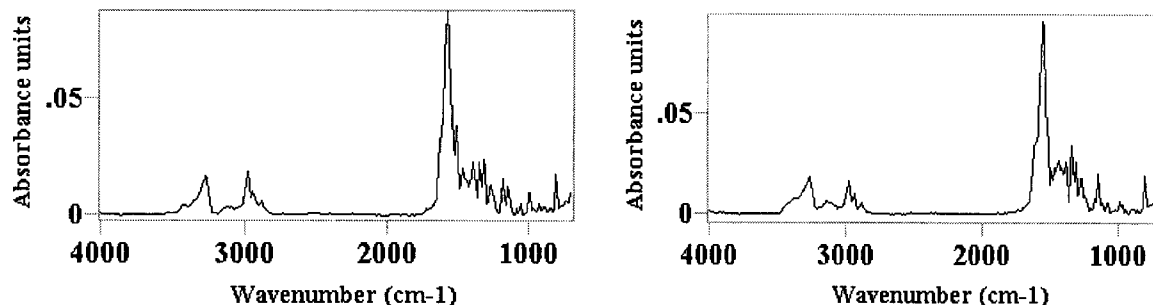


Fig. 8. On-column SPE-LVI-GC-IR spectra van Atrazine (links) en Simetryn (rechts) uit drinkwater (pieken 3 en 5 in de chromatogrammen van Fig 7). Toevoegingsniveau: $1\text{ }\mu\text{g/L}$ per component. Aantal scans; 4 (on-the-fly detectie).

Alle toegevoegde componenten zijn aanwezig in het Gram-Schmidt GC-IR chromatogram en de bijbehorende spectra zijn geïdentificeerd met behulp van referentiespectra. Het functionele groepschromatogram illustreert de mogelijkheid tot selectieve detectie van verbindingen met gemeenschappelijke structuurkenmerken, in dit geval de stoffen Atrazine(3), Simetryn (5) en Metolachlor (7). Fig. 8 toont de 'on-the-fly' gedetecteerde spectra van Atrazine (links) en Simetryn (rechts). De overeenkomst in structuur van deze triazines blijkt uit de overeenkomsten in de IR-spectra maar de verschillen in het 'fingerprint' gebied $1300-900\text{ cm}^{-1}$ zijn, naast het verschil in retentie-index, voldoende om beide stoffen te kunnen identificeren.

Twee GC-IR chromatogrammen van het drinkwatermonster met het toevoegingsniveau van $0.1\text{ }\mu\text{g/L}$ zijn weergegeven in Fig. 9. Het Gram-Schmidt chromatogram (links) illustreert de grotere invloed van verontreinigingen en de verminderde signaal/ruisverhouding. Echter, met

behelp van functionele groepschromatogrammen, zoals bv. het gebied 1580-1520 cm^{-1} voor de selectieve detectie van triazines (Fig. 9 rechts), zijn alle toegevoegde milieucontaminanten getraceerd. Directe identificatie van de 'on-the-fly' opgenomen spectra wordt bemoeilijkt door het hoge ruisniveau maar door post-run meting van het geïmmobiliseerde chromatogram is van iedere component een spectrum van goede kwaliteit verkregen. Een voorbeeld daarvan is het 'on-the-fly' en het 'post-run' spectrum van Sulfotep (component 2) in Fig. 10.

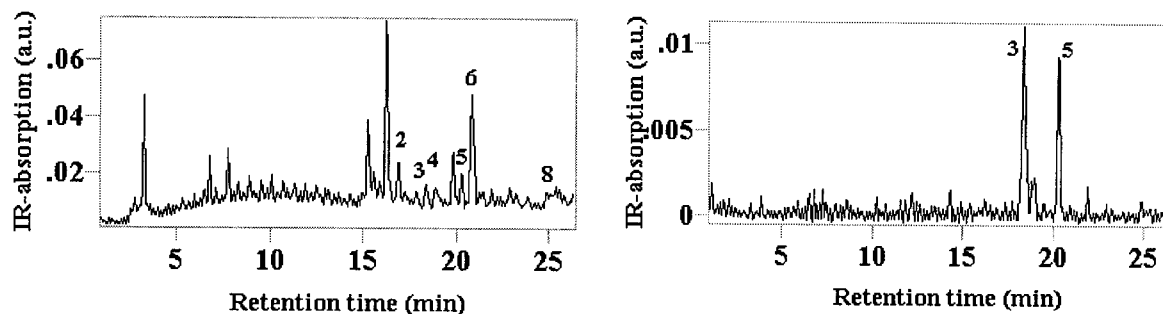


Fig. 9. On-column SPE-LVI-GC-IR analyse van drinkwater met toevoeging van milieucontaminanten. Concentratieniveau na toevoeging: 0.1 $\mu\text{g/L}$ per component. Gram-Schmidt chromatogram (links) en functionele groeps chromatogram 1580-1520 cm^{-1} voor detectie van triazines (rechts). Sulfotep(2); Atrazine(3); Diazinon(4); Simetryn(5); Triazophos(8). Desorptie: 100 μL ethylacetaat.

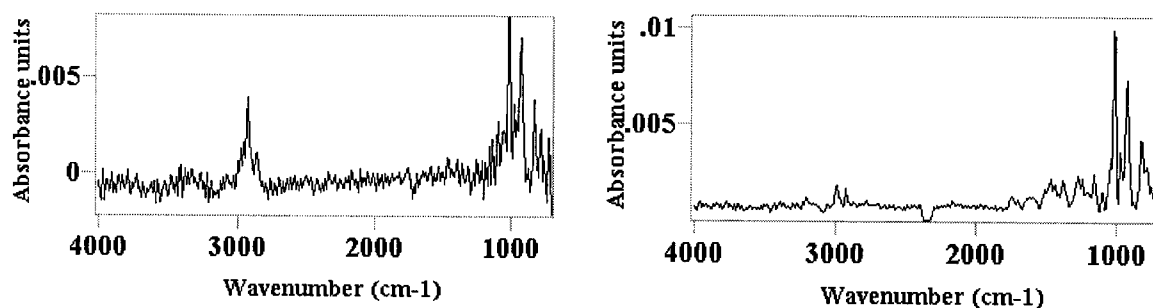


Fig. 10. On-column SPE-LVI-GC-IR spectra van Sulfotep (piek 2 in Fig. 9) uit drinkwater. Toevoegings-niveau: 0.1 $\mu\text{g/L}$ per component. On-the-fly detectie (4 scans) links, post-run detectie (256 scans) rechts.

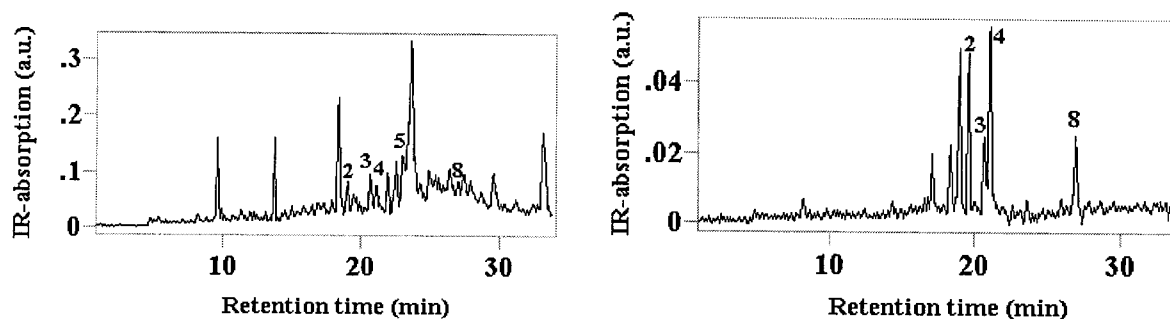


Fig. 11. On-column SPE-LVI-GC-IR analyse van havenwater met toevoeging van milieucontaminanten. Concentratieniveau na toevoeging: 1 $\mu\text{g/L}$ per component. Gram-Schmidt chromatogram (links) en functionele

groeps chromatogram 1050-1000 cm^{-1} (rechts). Componenten: Sulfotep(2); Atrazine(3); Diazinon(4); Simetryn(5); Triazophos (8). Desorptie: 100 μL ethylacetaat.

De resultaten van de SPE-LVI-GC-IR analyse van het monster havenwater met een toevoegingsniveau van 1 $\mu\text{g/L}$, zijn weergegeven in Fig. 11 en 12. Het Gram-Schmidt GC-IR chromatogram (Fig. 11 links) is complex en de chromatografische pieken van de toegevoegde contaminanten zijn nauwelijks herkenbaar door de grote hoeveelheid, uit de matrix afkomstige, organische verbindingen zoals ftalaten. De invloed van de matrix kan aanzienlijk worden verkleind door gebruik te maken van functionele groep chromatogrammen. Dit blijkt bijvoorbeeld uit het chromatogram voor de selectieve detectie van organofosfor bevattende verbindingen in Fig. 11 (rechts). Het betreffende golfgetalinterval van 1050-1000 cm^{-1} blijkt voldoende selectief om zes van de acht componenten te kunnen detecteren. Via post-run meting zijn vervolgens verbeterde IR-spectra opgenomen en geïdentificeerd. Een voorbeeld van de, op deze wijze verkregen, spectrumkwaliteit is gegeven in Fig. 12 aan de hand van de spectra van Diazinon en Triazophos.

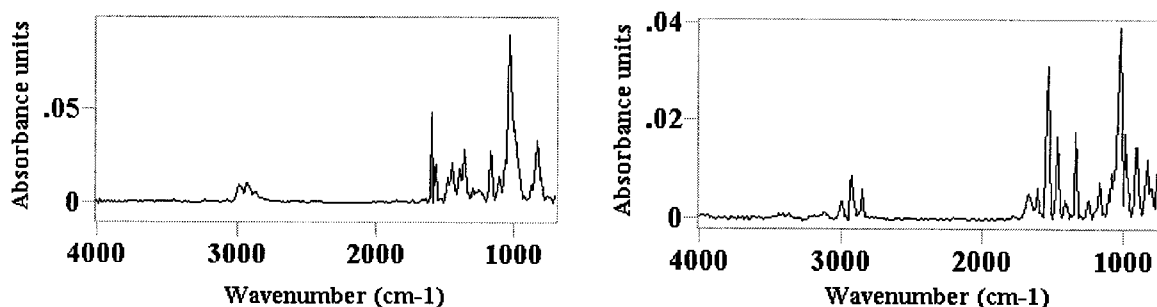


Fig. 12. On-column SPE-LVI-GC-IR spectra van Diazinon (piek 4 in Fig. 11) en Triazophos (piek 8 in Fig. 11) Toevoegingsniveau: 1 $\mu\text{g/L}$ per component. Post-run meting (256 scans).

4. CONCLUSIES

Loop-type en on-column interfacing zijn bruikbare technieken voor de injectie van grote hoeveelheden vloeistof in een gaschromatograaf met cryotrapping infrarood-detectie (IRD). Beide typen interfacing vergroten de relatieve detectiegrenzen van GC-IR met bijna twee orden van grootte in vergelijking met conventionele split- en splitless injectie. Injectievolumes van 100 μL blijken het meest geschikt. Grotere hoeveelheden kunnen aanleiding geven tot interfererende absorpties als gevolg van kristallisatie van resten oplosmiddel in de cryotrapping GC-IR interface. Dit probleem kan worden beperkt door middel van een detector-schakelsysteem waarmee het eluens tijdens de GC-run naar FID of IRD kan worden gedirigeerd.

Loop-type interfacing is chromatografisch gezien het meest robuust en meer geschikt voor koppeling met vloeistofchromatografie. Een nadeel is de geringe recovery van de vluchtige(r) analieten. Bij een injectievolume van 100 μL is de relatieve gevoeligheid van *n*-alkanen in hexaan circa 2.5 $\text{pg}/\mu\text{L}$ per component en voor PAK 60 $\text{pg}/\mu\text{L}$ per component. De herhaalbaarheid bij 6 opeenvolgende 100 μL injecties van 50 $\text{pg}/\mu\text{L}$ alkanen is 10-20%. In combinatie met een micro vloeistof-vloeistof extractie als voorbewerking is de methode

bruikbaar voor de detectie en identificatie van PAK in rivierwater op een 'spike' niveau van 0.5 µg/L.

Het verlies aan vluchtige analieten is bij on-column interfacing LVI-GC-IR veel kleiner. De 'overall' performance is beter dan van loop-type interfacing mede vanwege de beter te realiseren lektheid van het systeem en de toepassing van een detectorschakelsysteem. Het systeem is zowel bruikbaar voor injectie van extracten via een monster 'loop' als voor on-line desorptie van op lokatie bemonsterde SPE cartridges. Detectie en ondubbelzinnige identificatie van milieu-contaminanten in drink- en havenwater op een niveau van respectievelijk 0.1 en 1 µg/L, is mogelijk.

LVI-GC-IR is minder geschikt voor kwantificering. Als gevolg van matrix-effecten en fluctuaties in de spectrale basislijn is de spreiding in de kwantitatieve resultaten relatief groot. De techniek is vooral geschikt voor kwalitatieve doeleinden. Met name de mogelijkheid om via functionele groepschromatogrammen te 'screenen' op specifieke stofklassen biedt een waardevolle aanvulling op gaschromatografie met massaspectrometrische en atoomemissie detectie. De verkregen cryotrapping GC-IR-spectra stemmen goed overeen met de spectra uit (gedigitaliseerde) referentiebibliotheken waardoor snelle en geautomatiseerde identificatie en isomeerdiscriminatie mogelijk is.

REFERENTIES

- 1 N.R. Smyrl, D.M Hembree, W.E. Davis, D.M. Williams, J.C. Vance, *Appl. Spectrosc.*, 46 (1992) 277.
- 2 T. Visser, M.J. Vredendregt, A.P.J.M. de Jong, *J. Chromatogr. A*, 687 (1994) 303.
- 3 P.R. Griffiths, *Science*, 222 (1983) 297.
- 4 J.W. Childers, N.K. Wilson, R.L. Harless and R.K. Barbour, *Chemosphere*, 25 (1992) 1285.
- 5 P. Jackson, G. Dent, D. Carter, D.J. Schofield, J.M. Chalmers, T. Visser, M. Vredendregt, *J. High Resolut. Chromatogr.*, 16 (1993) 515.
- 6 K. Grob, D. Fröhlich, B. Schilling, H.-P. Neukom, P. Nägeli, *J. Chromatogr.*, 295 (1984) 55.
- 7 K. Grob and J.-M. Stoll, *J. High Resolut. Chromatogr.*, 9 (1986) 519.
- 8 H.G.J. Mol, H.-G. Janssen, C.A. Cramers, U.A.Th. Brinkman, *High Res. Chromatogr.*, 18 (1995) 19.
- 12 P.L. Morabito, T. McCabe, J.F. Hiller, D. Zakett, *J. High Resolut. Chromatogr.*, 16 (1993) 91.
- 13 H. Hu, M. Zhu, Y. He, K. Sun, *J. Chromatogr.*, 547 (1991) 494.
- 14 A.J. Fehl, C. Marcott, *Anal. Chem.*, 58 (1986) 2578.
- 15 G. Full, G. Krammer, P. Schreier, *J. High Resolut. Chromatogr.*, 14 (1991) 160.
- 16 Th. Hankemeier, H.T.C. van der Laan, J.J. Vreuls, M.J. Vredendregt, T. Visser, U.a.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 732 (1996) 75.
- 17 Th. Hankemeier, E. Hooisuur, T. Visser, *Appl Spectroscopy* (to be submitted)
- 18 R. Vreuls, Proefschrift, Vrije Universiteit Amsterdam 1994
- 19 H.G.J. Mol, H.-G. M. Janssen, C.A. Cramers, J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 703 (1995) 277.
- 20 K. Grob Jr., G. Karrer, M.-L. Riekkola, *J. Chromatogr.*, 334 (1985) 129.

BIJLAGE

Verwijzingen van figuren naar Tracer runfile en spectrun nummers.

Figuur 3	TR727fg6	TR834fg1
Figuur 4	TR875fg2	Tr873fg2
Figuur 5	TR875s28	TR875s30bc
Figuur 6	TR912fg5	
Figuur 7	TR944GS,	TR944fg12
Figuur 8	TR944s6	TR944s9
Figuur 9	TR952GS	TR952fg2
Figuur 10	TR952s7m	R952s7m2
Figuur 11	TR954gs	TR954fg11
Figuur 12	R954s3	R954s10