

Kvantitativ bestemmelse av etylacetat i tynner med Vernier mini gasskromatograf – en laboratorieoppgave for videregående skole?

Svein Tveit



Bacheloroppgave (20 stp) ved Kjemisk institutt, Det
matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

29.05.2015

Kvantitativ bestemmelse av etylacetat i tynner med Vernier mini gasskromatograf – en laboratorieoppgave for videregående skole?

Svein Tveit



Bacheloroppgave (20 stp) ved Kjemisk institutt, Det
matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

29.05.2015

© Svein Tveit

2015

Kvantitativ bestemmelse av etylacetat i tynner med Vernier mini gasskromatograf – en laboratorieoppgave for videregående skole?

Svein Tveit

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Sentrallageret, UiO

Utdrag

I arbeidet med denne bacheloroppgaven har det blitt undersøkt om en Vernier mini gasskromatograf (GC) Plus er egnet til å gjøre en kvantitativ bestemmelse av etylacetat Bilemas tynner nr. 3 innenfor rammene til en kjemi 2 klasse på videregående skole. Vernier mini GC Plus kan kjøpes fra et læremiddelfirma for kr 20.000 eks. MVA, og prisen gjør at videregående skoler vil kunne kjøpe instrumentet. Dette åpner muligheten for at instrumentell analyse kan trekkes inn i større grad i skolekjemien. Det er et eksplisitt læringsmål i læreplanen for kjemi 2 at elevene skal utføre kromatografi, et mål som frem til nå har blitt knyttet til utførelse av tynnsjikt- og papirkromatografi.

Arbeidet med oppgaven har i sin helhet blitt utført på et laboratorium. Det har blitt arbeidet med å finne en egnet prøve og et egnet temperaturprogram for analyse av prøven. Det har blitt lagt stor vekt på at analysen skal være så robust at elevene får oppleve at analyseresultatet ligger innenfor det oppgitte konsentrasjonsintervallet for etylacetat i Bilemas tynner nr. 3, og at analysen fungerer hver gang den gjennomføres. Det har også blitt jobbet for at den kvantitative bestemmelsen skal kunne gjennomføres på 90 minutter. Tid og robusthet for analysen har blitt sett på som forutsetninger for at det skal være aktuelt for lærere i videregående skole å gjennomføre den kvantitative bestemmelsen. Målet er ikke å finne den «sanne» konsentrasjonen av analytt i prøven, men at elevene skal bli introdusert for instrumentell kjemi, bli kjent med metoden for kvantitativ bestemmelse med gasskromatografi med internstandard, og lære om prinsippene for separasjon med gasskromatografi.

Det ser i stor grad ut som om Vernier mini GC Plus er egnet til å gjøre denne typen kvantitative bestemmelser. Analysemetoden som er utarbeidet, er robust og det er grunn til å tro at det er mulig å produsere repeterbare resultater også i skolesammenheng. Den største utfordringen er tidsrammen. Den kvantitative bestemmelsen er relativt omfattende, og det er mye å sette seg inn i for elevene innenfor en tidsramme på 90 minutter. Muligheter for å redusere tidsbruken ved å forbedre temperaturprogrammet er drøftet i oppgaven. På bakgrunn av arbeidet har det blitt utarbeidet en laboratorieoppgave tiltenkt bruk i videregående skole, med elevark og lærerveiledning. Laboratorieoppgaven vil på et senere tidspunkt bli prøvd ut på lærere og elever i videregående skole.

Forord

Arbeidet med denne bacheloroppgaven har vært interessant og utfordrende. Jeg har en personlig interesse for analytisk kjemi, og er i tillegg opptatt av å jobbe for å gjøre skolekjemien mer instrumentell. Vernier mini GC Plus, et instrument som videregående skoler kan kjøpe, åpner muligheten å introdusere elever for en analytisk metode, og samtidig gjøre skolekjemien mer instrumentell. Det finnes lite litteratur om instrumentet, og den litteraturen som finnes, omhandler i liten grad bruk av instrumentet til kvantitative analyser. Jeg har derfor tatt utgangspunkt i generell teori om kvantitative analyser med gasskromatografi, og undersøkt om det er mulig å bruke Vernier mini GC Plus til å gjøre en slik analyse. Det har vært givende å få jobbe med en oppgave som har hatt dette som mål.

Jeg vil takke min kone, Linn-Kristin H. Bjørklund, og mine tre barn Alma, Adrian og Mads, for støtte og tålmodighet. Jeg vil takke mine veiledere, Elsa Lundanes og Brit Skaugrud ved Kjemisk institutt, for all den hjelp og veiledning jeg har fått. Jeg vil også takke en lærer i videregående skole, May-Britt Stjerna, for innspill på laboratorieoppgaven som er utviklet med tanke på bruk i videregående skole.

Oslo, 29.05.2015

Svein Tveit

Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon	1
1.1	Innledning.....	1
1.2	Problemstilling.....	1
1.3	Motivasjon for oppgaven.....	2
1.4	Teoretisk bakgrunn	2
1.4.1	Kromatografisk prinsipp – fordelingskromatografi	3
1.4.2	Stasjonærfasen.....	3
1.4.3	On-column injeksjon	4
1.4.4	«Chemicapacitive» detektor	4
1.4.5	Internstandard.....	5
1.5	Vitenskapelig perspektiv	6
1.6	Mål med oppgaven	7
2	Eksperimentelt.....	8
2.1	Instrumenter og utstyr.....	8
2.2	Kjemikalier	8
2.3	Kalibreringsløsninger og prøver	10
2.4	Problemer knyttet til kvantitativ bestemmelse med Vernier mini GC Plus	11
2.4.1	Avbrutt datalogging under analyser	11
2.4.2	Ustabil grunnlinje.....	11
2.4.3	Problem under injeksjon.....	13
3	Risikovurdering.....	14
4	Resultater og diskusjon	16
4.1	Finne en egnet blanding som kunne fungere som prøve	16
4.2	Etablering av kalibreringskurve.....	19
4.3	Finne et egnet temperaturprogram til gjennomføring av hele den kvantitative bestemmelsen	22
4.4	Gjennomføring av den kvantitative bestemmelsen	27
4.4.1	Metodens presisjon.....	28
4.5	Tilpasning av analysen til bruk i kjemi 2 i videregående skole.....	29
4.5.1	Analysens egnethet i videregående skole.....	30
4.6	Mulig forbedring av temperaturprogrammet	32

4.6.1	Økt temperatur på kolonnen.....	32
4.6.2	Økt mobilfasehastighet.....	33
4.6.3	Start av den lineære temperaturøkningen tidligere i analysen	34
5	Konklusjon	36
	Litteraturliste	37
	Vedlegg 1 – Elevark til laboratorieoppgaven.....	39
	Vedlegg 2 – Lærerveiledning til laboratorieoppgaven.....	47
	Vedlegg 3 – Rådata fra gjennomføring av den kvantitative bestemmelsen	58

Figur 1 Strukturen til stasjonærfasen, polydimetylsiloksan(crossbonded) 4

Figur 2 Prinsippskisse av en CCD. En CCD er i prinsippet en vanlig parallellplatekondensator. Mellomrommet mellom de to platene (elektrodene) er fylt med en absorberende polymer. Flyktige organiske forbindelser vil i ulike grad løses i polymeren og endre dens dielektriske egenskaper. Dette fører til en endring i kondensatorens kapasitans, og det er endringen i kapasitans som registreres..... 5

Figur 3 Kalibreringskurve for internstandard metoden, der A er analytt og IS er internstandard i kalibreringsløsningene 6

Tabell 1 Kjemikaliene som er brukt, med tilhørende kvalitet og informasjon og produsenter. 9

Tabell 2 Innhold i Bilemas tynner, med tilhørende kokepunkter og strukturer..... 9

Tabell 3 Innhold i Bilemas tynner nr. 3, med tilhørende kokepunkter og strukturer..... 10

Figur 4 Kromatogram fra analyse av løsning for å bestemme retensjonstiden til etylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Isoterm separasjon, 30 °C i tre minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet. 12

Figur 5 Kromatogram fra analyse av løsning for å bestemme retensjonstiden til butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Isoterm separasjon, 30 °C i tre minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet. 12

Figur 6 Kromatogram fra analyse av kalibreringsløsning. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Isoterm separasjon, 30 °C i tre minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet. . 13

Figur 7 Melding som kommer når det oppstår problemer under injeksjonen. 13

Tabell 4 Risikovurdering knyttet til bruken av kjemikaliene som inngår i oppgaven. 14

Figur 8 Kromatogram fra analyse av Shells fuelsave 95 blyfri bensin. Injeksjonsvolum på 0,5 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 100 °C som ble holdt i 10 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min i to minutter. Det ble brukt et trykk på 7,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,8 mL/min. Detektoren var satt på «high» sensitivitet. 17

Figur 9 Kromatogram fra analyse av Bilemas tynner. Injeksjonsvolum på 0,1 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i to minutter. Deretter

var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min i fire minutter. Det ble brukt et trykk på 3,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 1,6 mL/min. Detektoren var satt til «high» sensitivitet.	17
Figur 10 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3. Injeksjonsvolum på 0,1 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 40 °C med en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 130 °C, og temperaturen ble deretter holdt på 130 °C i fire minutter. Det ble brukt et trykk på 7,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,8 mL/min. Detektoren var satt til «high» sensitivitet.	18
Tabell 5 Temperaturprogrammet som ble brukt i forsøket på å etablere en kalibreringskurve for bestemmelse av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3.	20
Tabell 6 Sammensetningen av kalibreringsløsningene og prøven som ble brukt i forsøket på å etablere en kalibreringskurve for bestemmelse av etylacetat i biltemas tynner nr. 3.	20
Figur 11 Kromatogram fra analyse av en kalibreringsløsning, analysert med temperaturprogrammet vist i tabell 5. Injeksjonsvolum på 0,1 µL. Det ble brukt isotherm separasjon, 60 °C i åtte minutter. Det ble brukt et trykk på 5,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 2,7 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	21
Figur 12 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3, analysert med temperaturprogrammet vist i tabell 5. Injeksjonsvolum på 0,1 µL. Det ble brukt isotherm separasjon, 60 °C i åtte minutter. Det ble brukt et trykk på 5,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 2,7 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	21
Figur 13 Kalibreringskurven etablert med temperaturprogrammet vist i tabell 5.	22
Tabell 7 Temperaturprogram som ble testet ut for å gjennomføre hele analysen	23
Figur 14 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	23
Figur 15 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 35 °C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	24
Figur 16 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 40 °C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	24

Figur 17 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 45 °C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	25
Figur 18 Grafisk fremstilling av temperaturprogrammet som gir fullstendig grunnlinjeseparasjon i alle analyser av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt internstandard.	25
Tabell 8 Temperaturprogram som gir fullstendig grunnlinjeseparasjon i alle kromatograferinger av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt internstandard.....	26
Figur 19 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i 10 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt i 8 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	26
Tabell 9 Oversikt over analysene som ble gjort for å kunne si noe om metodens presisjon. Temperaturprogrammet i tabell 8 ble brukt. Injeksjonsvolumet var på 0,2 µL	27
Tabell 10 Middelverdi, absolutt standardavvik og relativt standardavvik beregnet på bakgrunn av analysene i tabell 9	28
Tabell 11 Oversikt over analysen som tenkes brukt i kjemi 2 i videregående skole.....	29
Figur 20 Kalibreringskurven for gjennomgang 1 av elevvarianten av analysen.....	30
Tabell 12 Beregnet konsentrasjon av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3 i de fire gjennomgangene av analysen som skal brukes i videregående skole.	30
Figur 21 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i 10 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 20 minutter. Det ble brukt et trykk på 10,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 5,4 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	34
Figur 22 Kromatogram fra analyse av en kalibreringsløsning. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble isoterm separasjon, 30 °C i seks minutter. Det ble brukt et trykk på 10,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 5,4 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.	34
Figur 23 Kromatogrammer fra analyser av to kalibreringsløsninger. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. For det oransje kromatogrammet ble det brukt isoterm separasjon, 30 °C i seks minutter. For det røde kromatogrammet ble det brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i to minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 5 °C/min til 50 °C. For begge analysene ble det brukt et trykk på 10,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 5,4 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet. .	35

1 Introduksjon

1.1 Innledning

Moderne kjemi er i høy grad instrumentell, mens skolekjemien i liten grad er det. Dette skyldes blant annet at de ulike instrumentene som brukes er kostbare. Det er ønskelig å innføre mer instrumentell kjemi i skolekjemien, slik at skolekjemien i så stor grad som mulig avspeiler moderne kjemi.

Gasskromatografi er den kromatografiske metoden som gir høyest effektivitet per tidsenhet. Det er derfor en mye brukt metode i analyselaboratorier. *Vernier Software and Technology* har produsert en mini gasskromatograf (GC) for i videregående skole og i lavere grads høyere utdanning. Gasskromatografen koster under en tidel av en ordinær gasskromatograf og det vil være mulig for videregående skoler å gå til anskaffelse av instrumentet.

1.2 Problemstilling

Utgangspunktet for denne bacheloroppgaven, heretter også kalt oppgaven, er følgende problemstilling: «Kan Vernier mini GC Plus brukes til å gjøre en kvantitativ analyse innenfor rammene til en Kjemi 2 klasse på videregående skole?»

Vernier mini GC Plus kan kjøpes fra et læremiddelfirma for om lag kr 20.000 eks. MVA. Instrumentet er relativt enkelt, og analysene må ses på som «semi» kvantitative. Målet med en kvantitativ bestemmelse vil ikke være å finne den «sanne» konsentrasjonen av analytten, men å gjøre elevene i Kjemi 2 i videregående skole kjent med prinsippet for kvantitativ bestemmelse med gasskromatografi med internstandard. For at analysen skal ha kunne ha en verdi som elevforsøk i videregående skole må den være robust på den måten at den fungerer i hver gjennomføring, og den bør være så presis at resultatene ligger innenfor det oppgitte konsentrasjonsintervallet. Da det gjennom arbeidet med oppgaven har vist seg at det er mulig å bruke Vernier mini GC Plus til å gjøre en kvantitativ bestemmelse av etylacetat i Biltomas tynner nr. 3 innenfor rammene til en kjemi 2 klasse i videregående skole, har en del av oppgaven omhandlet utvikling av en laboratorieoppgave med elevark og lærerveiledning til bruk i videregående skole. Laboratorieoppgaven er ikke prøvd ut i skolen, og oppgaven omhandler derfor ikke dette.

1.3 Motivasjon for oppgaven

Boken «*Gas chromatography – Investigations with the mini GC*» følger med Vernier mini GC Plus. Den inneholder fem forslag til laboratorieoppgaver. Disse berører varierte emner fra kjemien, men ingen omhandler kvantitative bestemmelse [1]. Det er heller ikke funnet andre publikasjoner som omhandler bruk av Vernier mini GC Plus til kvantitative bestemmelse. Kvantitative bestemmelse med gasskromatografi er en svært utbredt metode i analyselaboratorier. Det er også en metode som bachelorstudenter i kjemi blir introdusert for, og det virker derfor fornuftig at elever i Kjemi 2 videregående skole kjenner til metoden. Grunnet dyr instrumenteringen har dette tidligere ikke vært mulig, men nå som et instrument med en akseptabel pris har kommet på markedet, kan elevene introduseres for metoden.

I læreplanen for kjemi 2, under hovedområdet organisk kjemi finner vi følgende kompetansemål:

Målet for opplæringen er at eleven skal kunne gjøre rede for og utføre kromatografi, destillasjon og omkrystallisering [2].

De gjeldene lærebøkene i Kjemi 2 legger opp til at elevenes utføring av kromatografi skal dreie seg om separasjon og kvalitativ analyse med tynnsjikt- og papirkromatografi [3-5]. Dette skyldes trolig tilgjengelighet og pris på nødvendig utstyr for å utføre slik kromatografi. I dag kan Vernier mini GC Plus brukes i videregående skole til å utføre kromatografi, og dermed bidra til å gjøre skolekjemien mer instrumentell. Artikkelen «Implementation of gas chromatography and microscale distillation into the general chemistry laboratory curriculum as vehicles for examining intermolecular forces», publisert i Journal of Chemical education, omhandler bruken av Vernier mini GC i et opplegg for å lære studentene om intermolekylære krefter i et begynnerkurs på universitetsnivå. Der fremkommer det at noe av hensikten nettopp er å eksponere studentene for instrumentell kjemi i større grad, og at studentene responderte positivt på læringsutbyttet knyttet til bruken av gasskromatografen [6].

1.4 Teoretisk bakgrunn

Vernier mini GC Plus er andregenerasjons mini GC fra «Vernier Software And Technology». Forskjellen på Vernier mini GC Plus og forgjengeren *Vernier mini GC*, er at det i den nye modellen kan brukes noe høyere temperatur på kolonnen (160°C mot 120°C). I tillegg kan

detektoren stilles inn på to sensitivitetsnivåer, og det er derfor mulig å detektere flere forbindelser [7, 8]. Oppgaven tar utgangspunkt i grunnleggende teori om kvantitativ bestemmelse med gassvæskerkromatografi (GLC) med internstandard. I det følgende skisseres det kromatografiske prinsippet som benyttes, egenskaper til, og oppbygning av stasjonærfasen, injeksjonsmetoden og internstandarden. I tillegg vil detektoren, en ny type kjemisk detektor som kalles en «chemicapacitor» (CCD), forklares noe mer detaljert. For utdypende lesning om gasskromatografi henvises leseren til annen litteratur, for eksempel «*Chromatography : basic principles, sample preparations and related methods*» eller «*Quantitative chemical analysis*» [9, 10].

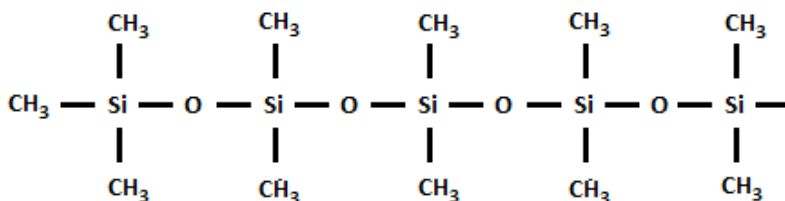
1.4.1 Kromatografisk prinsipp – fordelingskromatografi

Kromatografi deles inn i ulike prinsipper ut i fra hvordan analytten har interaksjon med stasjonærfasen. I GLC benyttes prinsippet fordelingskromatografi. I fordelingskromatografi er stasjonærfasen en ikke-flyktig væske som ligger som en film på innsiden av veggen i en kapillærkolonne. Brukes en upolar stasjonærfase vil stoffene som beveger seg gjennom kolonnen ha liten eller ingen interaksjon med stasjonærfasen, og stoffene vil separeres ut i fra kokepunkt (B_p). På kolonnen vil stoffene ha en fordeling mellom mobil- og stasjonærfasen. Stoffe med lave kokepunkter vil til en hver tid ha flere molekyler i mobilfasen enn stoffer med høyere kokepunkter. Retensjonen på kolonnen øker dermed med økt kokepunkt. Brukes en mer polar stasjonærfase vil stoffene separeres ut i fra deres polaritet (interaksjon) i tillegg til kokepunkt [9].

1.4.2 Stasjonærfasen

I Vernier mini GC Plus er stasjonærfasen en film av polydimetylsiloksan(crossbonded). En skisse av stasjonærfasens struktur er vist i figur 1.

Dimetylsiloksan er en upolar stasjonærfase. I kolonner med upolare stasjonærfaser separeres stoffer i all hovedsak ut i fra kokepunkt, slik at stoffer med lavt kokepunkt får liten retensjon på kolonnen, mens stoffer med høyere kokepunkt får større retensjon [7, 9].



Figur 1 Strukturen til stasjonærfasen, polydimetylsiloksan(crossbonded)

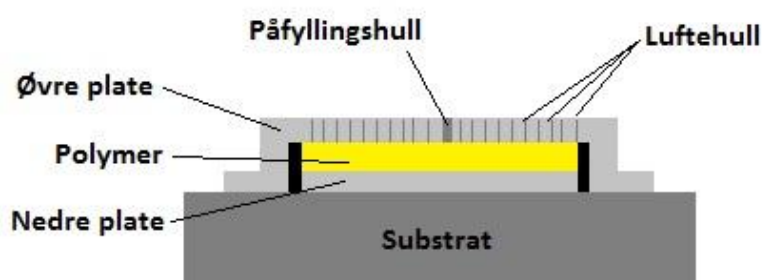
1.4.3 On-column injeksjon

I Vernier mini GC Plus brukes on-column injeksjon. Prøver og kalibreringsløsninger introduseres på kolonnen ved romtemperatur med en sprøyte, gjennom en ventil direkte inn på kolonnen. Denne typen injeksjon brukes til vanlig bare for analytter som ikke er termostabile og dermed risikerer å bli ødelagt i den noe høyere temperaturen som brukes i splitt/splittfri injektorer. Når prøven er injisert lukkes ventilen, bæregassen (mobilfasen) startes igjen og et temperaturprogram begynner. Ved on-column injeksjons brukes ofte et retensjonsgap mellom ventil og kolonneinngang, og stoffer i prøven som har liten eller ingen retensjon i retensjonsgapet, beveger seg til kolonneinngangen der de fokuseres før de separeres gjennom temperaturprogrammet. Det er ikke oppgitt fra produsent om Vernier mini GC Plus er utstyrt med et retensjonsgap, men kolonnens indre diameter er 0,53 mm og sprøyten som følger med instrumentet har en ytre diameter på 0,515 mm. Grunnet prisen på instrumentet er det rimelig å anta at instrumentet ikke er utstyrt med et retensjonsgap [9, 11, 12].

1.4.4 «Chemicapacitive» detektor

Vernier mini GC Plus er utstyrt med en CCD, en ny type kjemisk detektor som gjør det mulig å bruke luft fra rommet som mobilfase. En CCD er i prinsippet en vanlig parallellplatekondensator der rommet mellom platene (elektrodene) er fylt med en absorberende polymer. Figur 2 viser en prinsippskisse av en CCD. Når en flyktig organisk forbindelse når detektoren, passerer noen av molekylene gjennom luftehullene i den perforerte toppplaten og absorberes i polymeren. Dette endrer polymerens dielektriske egenskaper, og dermed kondensatorens kapasitans, dens evne til å lagre elektrisk ladning. Det er endringen i kapasitans som måles ved hjelp av en elektronisk enhet (readout chip). Mengden analytt som absorberes i polymeren avhenger av polymerens kjemiske egenskaper. Upolare analytter

absorberes i større grad i upolare polymerer, mens polare analytter absorberes i større grad i mer polare polymerer. En CCD egner seg best til deteksjon av polare forbindelser som alkoholer, ketoner og organiske syrer, og er mindre egnet til å detektere forbindelser med lav polaritet, men med en nøye valgt absorberende polymer er det også mulig å detektere stoffer som heksan og benzen. Vernier mini GC Plus er utstyrt med en enkelt CCD, men det finnes også instrumenter der flere CCD er med ulike polymerer settes sammen for en mer selektiv deteksjon av analytter. CCD i Vernier mini GC Plus er en selektiv detektor som ikke har respons på upolare forbindelser som hydrokarboner. Detektoren kan stilles inn på to ulike sensitivitetnivåer. «High sensitivity» egner seg til å detektere substituerte aromatiske forbindelser, halogenerte hydrokarboner og mer polare analytter med lav konsentrasjon. «Standard sensitivity» egner seg generelt til å detektere polare analytter [7, 13, 14].



Figur 2 Prinsippskisse av en CCD. En CCD er i prinsippet en vanlig parallelplatekondensator. Mellomrommet mellom de to platene (elektrodene) er fylt med en absorberende polymer. Flyktige organiske forbindelser vil i ulike grad løses i polymeren og endre dens dielektriske egenskaper. Dette fører til en endring i kondensatorens kapasitans, og det er endringen i kapasitans som registreres.

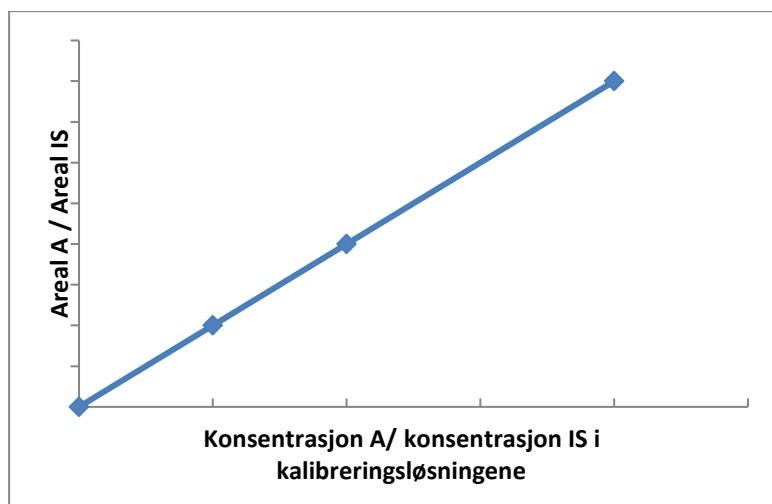
1.4.5 Internstandard

De små prøvevolumene som introduseres på kolonnen i gasskromatografi er ikke repeterbare, og det brukes derfor alltid en internstandard i GC analyser. Det lages en kalibreringskurve på bakgrunn av analyser av kalibreringsløsninger med kjent konsentrasjon av analytt (A) og internstandard (IS), der forholdet mellom konsentrasjonen av analytt og intern standard plottes mot forholdet mellom arealene under toppene til analytt og internstandard[9, 10].

Figur 3 viser prinsippet for en slik kalibreringskurve. Ved valg av internstandard må en del kriterier være oppfylt. Internstandarden må separeres fra de andre stoffene i prøven. Den må ha en retensjonstid som er nær analyttens retensjonstid, og må «oppføre» seg som analytten på kolonnen og i detektoren, altså ha lignende kjemiske og fysiske egenskaper.

Internstandarden må ikke finnes naturlig i prøven, og må være stabil og ikke reagere med andre stoffer i prøven. I tillegg må internstandarden være tilgjengelig i høy kvalitet med hensyn på renhet [9].

Butylacetat ble valgt som internstandard i analysen som det er arbeidet med i denne bacheloroppgaven fordi butylacetat tilfredsstiller kravene ovenfor.



Figur 3 Kalibreringskurve for internstandard metoden, der A er analytt og IS er internstandard i kalibreringsløsningene

1.5 Vitenskapelig perspektiv

Det finnes ikke veldig mye publisert materiale som omhandler bruk av Vernier mini GC Plus.

Artikkelen «A low-cost, low-power gas chromatograph for field and educational use» fra 2010, gjør rede for CCD. Det ses også på responsen fra detektoren for ulike mengder injisert aceton, og det fremkommer at det er lineær sammenheng mellom mengden injisert aceton og detektorrespons. Dette gjelder så fremt den injiserte mengden ikke er så stor at detektoren mettes og kurven flater ut. I artikkelen vises også et eksempel på anvendelse av gasskromatografen, der den brukes til å overvåke en destillasjonsprosess [13].

Prof. Robert Noll ved Indiana State University, har jobbet med å undersøke muligheten for å bruke Vernier mini GC som et bærbart instrument som kan brukes til å detektere

forurensinger i felt. I denne Bacheloroppgaven er det noen steder referert til personlig kommunikasjon (epost) med Robert Noll [12, 15].

Artikkelen «Chemicapacitive microsensors for volatile organic compound detection» fra 2003 gjør grundig rede for virkemåten til CCD. Det nevnes i artikkelen at responsen til slike detektorer generelt ikke er lineære. Det pekes på at dette kan skyldes at polymeren sveller og får redusert tetthet, noe som medfører at den får redusert permittivitet (dielektrisk konstant). Det pekes også på at den ikke-lineære responsen kan skyldes at når polymeren i detektoren absorberer analytt endres polymerens evne til å interagere med analytten [16].

Artikkelen «Implementation of gas chromatography and microscale distillation into the general chemistry laboratory curriculum as vehicles for examining intermolecular forces», publisert i Journal of Chemical education, omhandler bruken av Vernier mini GC til å undersøke intermolekylære krefter. Her pekes det på at et av målene med arbeidet er å eksponere studentene for instrumentell kjemi i større grad. Det vises også til at studentene er positive til bruken av Vernier mini GC i arbeidet med å lære om intermolekylære krefter [6].

1.6 Mål med oppgaven

Målet med denne bacheloroppgaven er å undersøke om det er mulig å bruke Vernier mini GC Plus til å gjøre en kvantitativ bestemmelse av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3, og deretter utvikle en laboratorieoppgave til bruk i kjemi 2 i videregående skole. Laboratorieoppgaven som utviklers må være robust, på den måten at den virker hver gang. I tillegg må analysetiden være kort, slik at det er mulig å gjennomføre laboratorieoppgaven innenfor rammene til en kjemi 2 klasse. Sikkerhet er et annet viktig moment, og i valg av prøve vil et viktig kriterium være at prøven og andre kjemikalier som skal brukes i laboratorieoppgaven, er klassifisert på en måte som gjør laboratorieoppgaven egnet til bruk i videregående skole.

2 Eksperimentelt

2.1 Instrumenter og utstyr

Gasskromatografen er en Vernier mini GC Plus med CCD som kan stilles inn på to sensitivitetsnivåer, «High» og «standard» sensitivitet. «Standard» sensitivitet har hovedsakelig blitt benyttet i denne oppgaven. Mini gasskromatografen er utstyr med en 11 meter Restek MXT®-1 (Siltek®-treated stainless steel, nonpolar phase; Crossbond® dimethyl polysiloxane) kapillærkolonne med 0,53 mm indre diameter. Filmtykkelse for stasjonærfasen er ikke oppgitt fra produsent. Kolonnen har et bruksområde fra 30 °C – 160 °C med mulighet for temperaturprogrammering. Instrumentet bruker luft fra rommet som bæregass. Luften trekkes inn av en liten pumpe (mobulfasehastigheter fra 1,4 – 10,8 mL/min). Det benyttes on-column injeksjon med injeksjonsvolumer for væsker opp til 0,8 µL, og for gasser opp til 1 mL. Mini gasskromatografen ble koblet opp mot LoggerPro programvare (versjon 3.9) på en bærbar datamaskin [7, 12, 13]. Typen septum som brukes er ikke oppgitt fra produsent. Gasskromatografen og septa er kjøpt hos Fybikon AS, Norge. Vekten som har blitt brukt til innveiling er en Brainwight b300d, brukt med tre desimaler. Opphavet til vekten er ukjent. Vekten har en presisjon på $\pm 0,001$ g [17]. Det er brukt en Hamilton microliter™ #7001KH 1,0 µL sprøyte med en nålstørrelse på 25 gauge som svarer til en ytre diameter på 0,515 mm. Det er forsøkt med ulike injeksjonsvolumer, men i laboratorieoppgaven som er utviklet til bruk i videregående skole er injeksjonsvolumet på 0,2 µL. Sprøyten fulgte med Vernier mini GC Plus og er produsert av Hamilton, Bonaduz, Sveits [11]. Det er brukt drammglass, begerglass og plastdråpetellere. Dette utstyret er kjøpt hos ordinære lærermiddelfirmaer. Microsoft Excel 2010 er brukt til alle beregninger og kalibreringskurver.

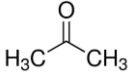
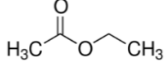
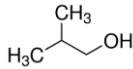
2.2 Kjemikalier

I tabell 1 vises en oversikt over kjemikaliene som er bruk i denne oppgaven, med tilhørende kvalitet og informasjon om produsent. Tabell 2 og 3 viser en oversikt over sammensetningen som er oppgitt i databladene til de to tynnerne som ble undersøkt [18, 19]. Kjemikaliene i tabell 2 og 3 er ordnet etter stigende kokepunkter som er hentet i sikkerhetsdatablader hos Sigma-Aldrich.

Tabell 1 Kjemikaliene som er brukt, med tilhørende kvalitet og informasjon og produsenter.

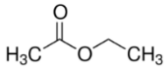
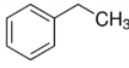
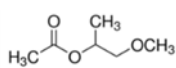
Kjemikalier	Kvalitet	Produsent
bensin, fuelsave 95 blyfri	-	Shell
butylacetat	for kromatografi	Merck, Darmstadt, Tyskland
etylacetat	p.a.	Merck, Darmstadt, Tyskland
n-heptan	puriss p.a. Reag. Ph, Eur.	Sigma-Aldrich, Steinheim, Tyskland
n-oktan	ukjent	Chiron AS, Trondheim, Norge
Biltemas tynner	ukjent	Biltema, Helsingborg, Sverige
Biltemas tynner nr. 3	ukjent	Biltema, Helsingborg, Sverige

Tabell 2 Innhold i Biltemas tynner, med tilhørende kokepunkter og strukturer.

Kjemikalier	Konsentrasjon (%)	Kokepunkt (°C)	Struktur
acetone	10 – 25	56	
etylacetat	10 – 25	76,5 - 77,5	
2-metylpropan-1-ol	5 – 10	108	
xylen ¹	60 – 70	137 – 140	

¹ CAS-nummeret i databladet til Biltemas tynner viser til en blanding av ortho- meta- og paraxylen. I tabellen vises bare strukturen til metaxylen.

Tabell 3 Innhold i Bilemas tynner nr. 3, med tilhørende kokepunkter og strukturer.

Kjemikalier	Konsentrasjon (%)	Kokepunkt (°C)	Struktur
etylacetat	30 – 40	76,5 - 77,5	
etylbenzen	1 – 3	137 - 140	
xyl ²	10 – 12,5	137 - 140	
2-metoksy-1-metyletylacetat	40 – 50	145 - 146	

2.3 Kalibreringsløsninger og prøver

Alle løsninger ble laget ved innveining, og konsentrasjonene som omtales i denne rapporten er derfor masseprosent. I tillagningen av kalibreringsløsninger og prøver ble stoffene overført fra begerglass til drammsglass som stod plassert på vekten. Det ble brukt plastdråpetellere for å overføre stoffene. De eksakte massene av overført stoff ble notert og ført inn i regneark. I starten av arbeidet med bacheloroppgaven, ble løsningene laget slik at de hadde en total masse på 10,00 g. I løpet av arbeidet ble den totale massen av hver kalibreringsløsning og prøve redusert til 5,00 g. Det har blitt forsøkt ulike fortynninger av prøven. I laboratorieoppgaven som er utarbeidet med tanke på bruk i videregående skole, består kalibreringsløsningene av 7 – 9 % etylacetat og 8 % butylacetat i n-heptan. Prøven består av 25 % Bilemas tynner nr. 3 og 8 % butylacetat i n-heptan.

For å unngå at feilen fra innveiningen skal bli $\geq 0,1$ %, når vekten har en presisjon på $\pm 0,001$ g, må det veies inn ≥ 1 g av hvert stoff. Dette er det ikke tatt hensyn til i denne oppgaven da kravet til nøyaktighet ikke er det mest sentrale i laboratorieoppgaven som skal brukes i videregående skole. Det har i stedet blitt lagt vekt på at mengden merkepliktige kjemikalier skal være så liten som mulig.

² CAS-nummeret i databladet til Bilemas tynner nr. 3 viser til en blanding av ortho- meta- og paraxylene. I tabellen vises bare strukturen til metaxylene.

2.4 Problemer knyttet til kvantitativ bestemmelse med Vernier mini GC Plus

Noen problemer som kan oppstå ved bruk av Vernier mini GC Plus er nevnt i de følgende avsnittene.

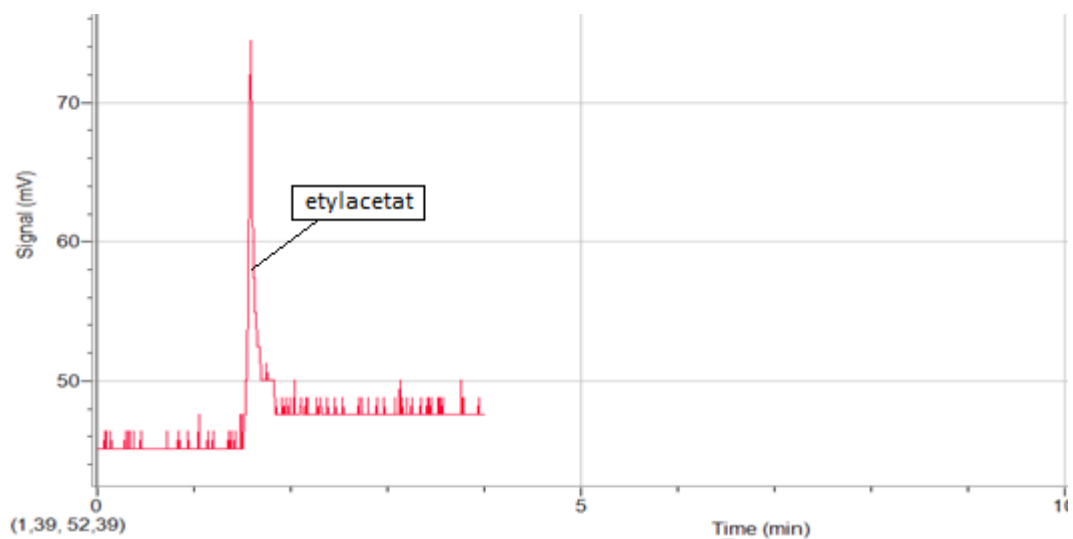
2.4.1 Avbrutt datalogging under analyser

I starten av arbeidet med denne oppgaven ble dataloggingen avbrutt midt i flere av analysene. Vernier mini GC Plus var koblet til stikkontakt i avtrekkskap. Grunnen til problemet var at bryteren på vifta i avtrekkskapet ble endret fra «min» til «max» under analysen. Problemet oppstod også når vekten, som var koblet til strømuttaket på avtrekkskapet, ble slått av og på. Det kan se ut som om instrumentet er følsomt for spenningsendringer.

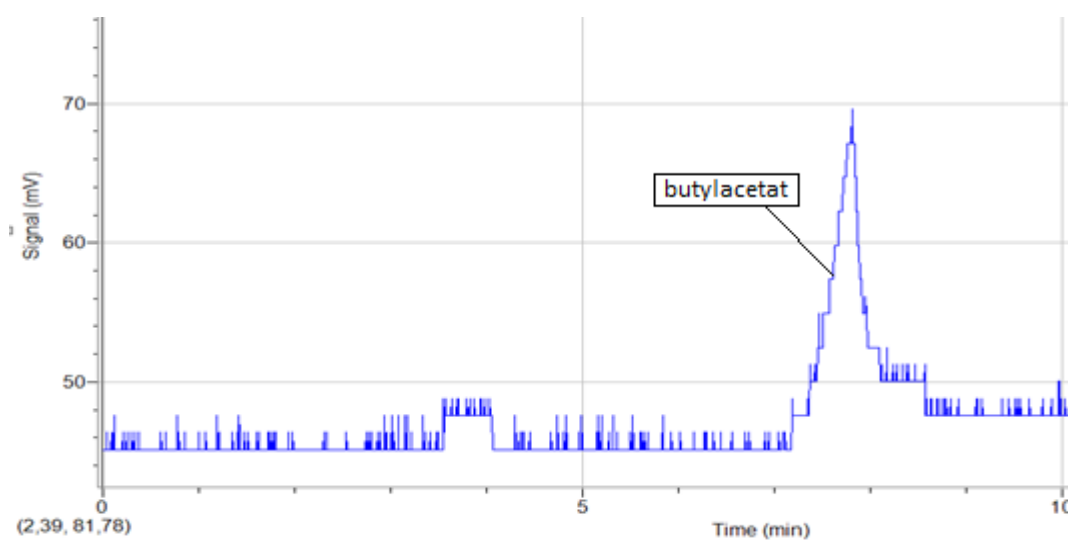
2.4.2 Ustabil grunnlinje

Detektoren kan settes på to ulike sensitivitetsnivåer. Når detektoren er satt på «standard sensitivitet» ligger grunnlinjen på enten 45,2 mV eller 47,6 mV. Når instrumentet ikke har vært i bruk på en stund er grunnlinjen stort sett på 45,2 mV, men etter at løsninger er injisert på kolonnen varierer grunnlinjen noe. Etter at en forbindelse har eluert kan grunnlinjen ligge stabilt på 47,6 mV i flere minutter, for så å gå ned til 45,2 mV.

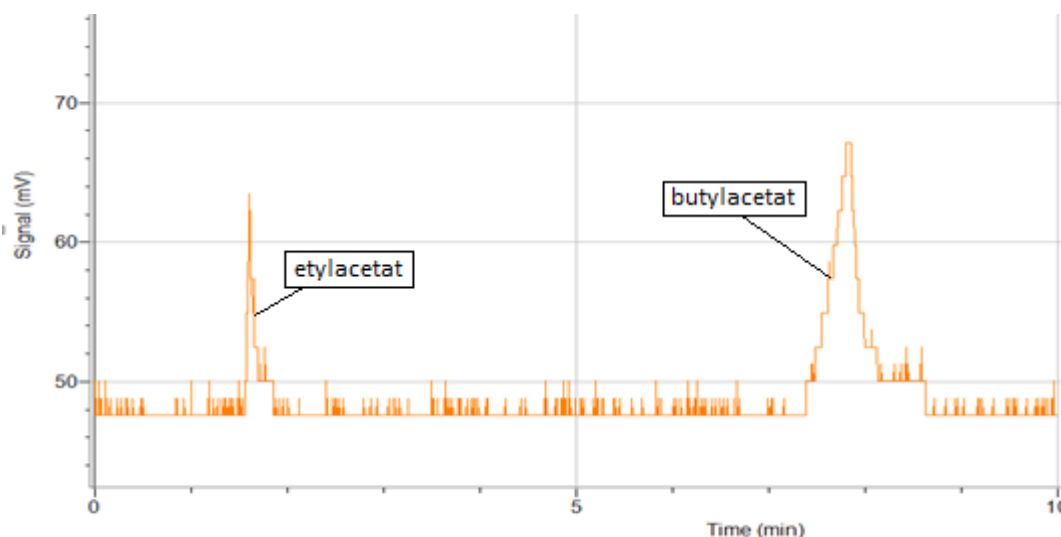
En utfordring det har vært jobbet med i denne oppgaven er å få stabil og lik grunnlinje i alle analysene der topper skal integreres. Uten en stabil og lik grunnlinje blir usikkerheten knyttet til integreringen av toppene høyere. Integrasjonsverktøyet i LoggerPro programvaren har relativt få valgmuligheter, og det har derfor vært fordel at grunnlinjen er lik i alle kromatogrammene. Figur 4, 5, og 6 viser kromatogrammene for to analyser der retensjonstiden for etylacetat og butylacetat bestemmes, samt en analyse av en kalibreringsløsning. Som figurene viser blir grunnlinjen stabil på 47,6 mV etter analysen for å bestemme retensjonstiden til butylacetat. Deretter har grunnlinjen vært stabil på 47,6 mV for de andre kalibreringsløsningene og for prøven i de fleste analysene som er gjennomført i arbeidet med denne oppgaven. Ved høy kolonnetemperatur og høy mobilfasehastighet har problemet med å få en stabil grunnlinje vært økende.



Figur 4 Kromatogram fra analyse av løsning for å bestemme retensjonstiden til etylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 μ L. Isoterm separasjon, 30 °C i tre minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.



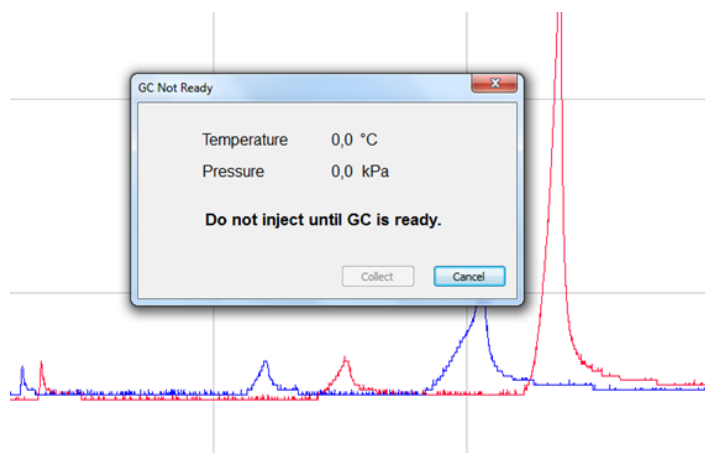
Figur 5 Kromatogram fra analyse av løsning for å bestemme retensjonstiden til butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 μ L. Isoterm separasjon, 30 °C i tre minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.



Figur 6 Kromatogram fra analyse av kalibreringsløsning. Injeksjonsvolum på 0,2 μ L. Isoterm separasjon, 30 $^{\circ}$ C i tre minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobulfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.

2.4.3 Problem under injeksjon

I det sprøyten settes inn i mini gasskromatografen har dataprogrammet ved en del anledninger vist en kolonnetemperatur på 0,0 $^{\circ}$ C og et trykk på 0,0 kPa over atmosfærisk trykk. Problemet har vært økende med antall injeksjoner på samme septum. Løsningen på problemet har vært å skifte septum. Problemet har også oppstått med nytt septum, men i mindre grad. Når problemet oppstår løses det i første omgang ved å avbryte temperaturprogrammet for å starte det på nytt i mens sprøyten står i mini gasskromatografen. Figur 7 viser bildet som kommer opp på dataskjermen når problemet oppstår.



Figur 7 Melding som kommer når det oppstår problemer under injeksjonen.

3 Risikovurdering

Alle kjemikaliene som har blitt brukt i oppgaven er merkepliktige. Tabell 4 viser en risikovurdering knyttet til bruken av kjemikaliene.

Tabell 4 Risikovurdering knyttet til bruken av kjemikaliene som inngår i oppgaven.

kjemikalie	Faresymbol og varselord	Faresetninger	Tiltak
etylacetat	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Gir alvorlig øyeirritasjon Kan forårsake døsighet eller svimmelhet	Benytt vernebriller. Benytt hansker Arbeidet utføres i avtrekk. Unngå bruk av åpen flamme. Samle rester i avfallsdunk for organisk avfall.
butylacetat	 Advarsel	Brannfarlig væske og damp Kan forårsake døsighet eller svimmelhet	
n-heptan	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Kan være dødelig ved svelging om det kommer ned i luftveiene. Irriterer huden. Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Meget giftig, med langtidsvirkninger, for liv i vann	
n-oktan	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Kan være dødelig ved svelging om det kommer ned i luftveiene. Irriterer huden. Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Meget giftig, med langtidsvirkninger, for liv i vann	
Shell fuelsave 95 blyfri bensin	F+ Ekstremt brannfarlig. T Giftig. N Miljøskadelig. 	R12 Ekstremt brannfarlig R38 Irriterer huden R45 Kan forårsake kreft R46 Kan forårsake arvelige skader R63 Mulig fare for fosterskader R65 Farlig; kan forårsake lungeskade ved svelging R67 Damp kan forårsake døsighet eller svimmelhet R51/53 Giftig for vannlevende organismer. Kan forårsake uønskede langtidsvirkninger i vannmiljøet	
Biltemas tynner	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Kan være dødelig ved svelging om det kommer ned i luftveiene. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeskade Kan forårsake irritasjon av luftveiene Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Kan forårsake organskader	
Biltemas tynner nr. 3	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Irriterer huden Gir alvorlig øyeirritasjon Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Kan forårsake organskader	

I tillegg til kjemikaliebruken er det knyttet risiko til bruken av sprøyten, risiko for stikkskader. Sprøyten må behandles med varsomhet. Risikovurderingen tar utgangspunkt i at vanlige regler for arbeid på et laboratorium overholdes. Disse nevnes ikke her.

Grunnen til at Biltemas tynner nr. 3 er klassifisert som STOT RE 2 (specific target organ toxicity – repeated exposure, kategori 2), som er fareklassen som gir opphav til faresetningen *Kan forårsake organskader*, skyldes i følge sikkerhetsdatabladet til Biltemas tynner nr. 3 innholdet av xylen og etylbenzen [19]. I den harmoniserte klassifiseringen av xylen, som finnes i «Classification and Labelling Inventory» (C&L Inventory)[20] fremgår det ikke at stoffet skal klassifiseres som STOT RE 2. For etylbenzen viser den harmoniserte klassifiseringen at etylbenzen skal klassifiseres i fareklassen STOT RE 2. Innholdet av etylbenzen i Biltemas tynner nr. 3 er i sikkerhetsdatabladet oppgitt å være 1 – 3 % [19]. I «Classification, Labelling and Packaging» (CLP) forordningen, som er det gjeldende regelverk for klassifisering av stoffer og stoffblandinger, finnes tabeller med generiske konsentrasjonsgrenser for de ulike fareklassene. I følge tabell 3.9.4 i forordningen må konsentrasjonen av stoffer i fareklassen STOT RE 2 i en blanding være ≥ 10 % for at blandingen må klassifiseres i denne fareklassen [21].

Biltemas tynner nr. 3 må med andre ord ikke være klassifisert som STOT RE 2, og trenger ikke være merket med faresetningen *Kan forårsake organskader*.

Elever i kjemi 2 skal lære seg å jobbe med og håndtere farlige kjemikalier, men det er en forutsetning at stoffene som brukes i kjemiundervisningen ikke er av en slik art at de kan gi varige skader. Det er en fordel med lavest mulig risiko i laboratorieoppgaver i skolen. I laboratorieoppgaven som er utarbeidet i denne bacheloroppgaven, brukes svært små mengder merkepliktige kjemikalier. På bakgrunn av dette, og opplysningene ovenfor, anses det som uproblematisk å gjennomføre en slik laboratorieoppgave i videregående skole.

4 Resultater og diskusjon

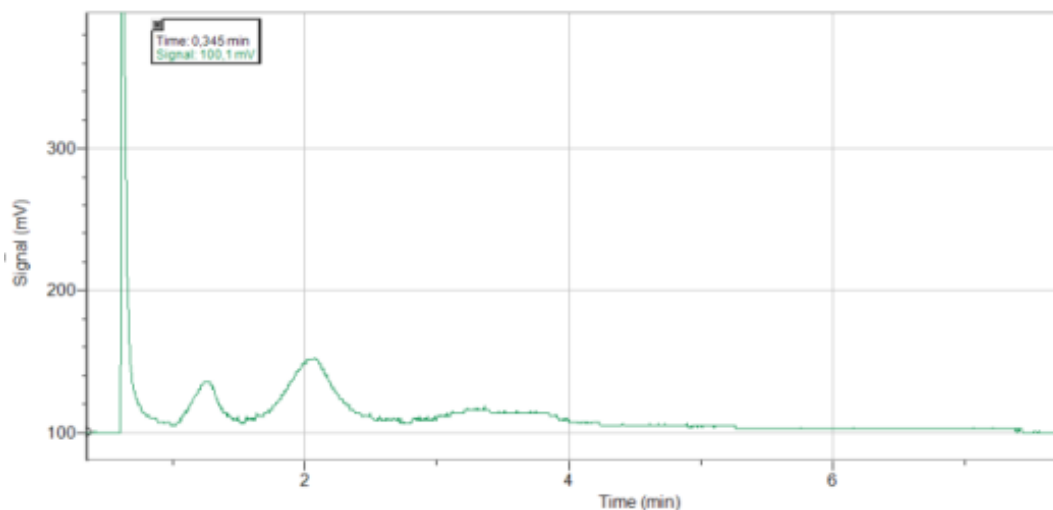
4.1 Finne en egnet blanding som kunne fungere som prøve

I oppstarten av prosjektet ble det jobbet med å finne en lett tilgjengelig blanding som kunne egne seg som prøve. Følgende kriterier ble lagt til grunn for valg av blanding:

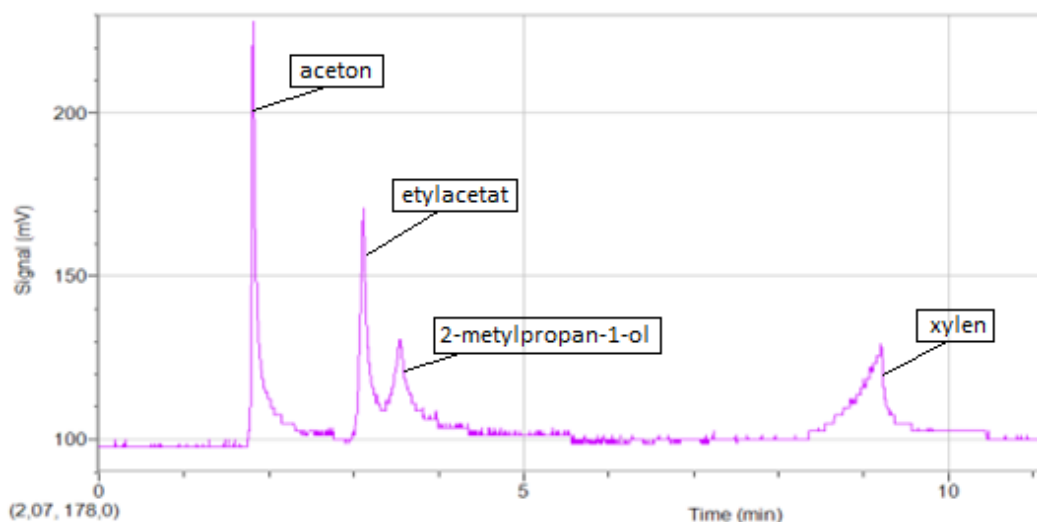
- Analytten må kunne separeres med tilstrekkelig oppløsning fra de andre stoffene i blandingen
- Blandingen må være klassifisert på en måte som egner seg for bruk i videregående skole
- Blandingen bør være lett tilgjengelig i hele landet
- Analytten bør være et kjemikalie som er relativt vanlig i videregående skole
- Det må være mulig å tilsette en internstandard som separeres med tilstrekkelig oppløsning fra de andre stoffene i blandingen.

Når det skal utarbeides en laboratorieoppgave til bruk i Kjemi 2 i videregående skole, ville det ideelle vært om det var mulig å bestemme en analytt i for eksempel mat. Da hadde risikoen knyttet til prøven vært svært lav. Utfordringen ved en slik analyse er at den ville kreve mer avansert prøveopparbeiding, noe som kan være kostbart og er tidkrevende. En av hovedutfordringene ved å skulle gjennomføre omfattende laboratorieoppgaver i skolen er tidsbruken. Kjemi 2 er et femtimers fag som vil si at elevene har faget i fem timer hver uke. Hvordan timene organiseres varierer fra skole til skole, men mange skoler organiserer dette ved å ha en totimers økt og en tretimers økt i uken. I forhold til tidsbruk og eventuelle kostnader knyttet til prøveopparbeiding ble det vurdert som mest hensiktsmessig å finne en lett tilgjengelig, flyktig blanding som ikke krevde noen form for prøveopparbeiding.

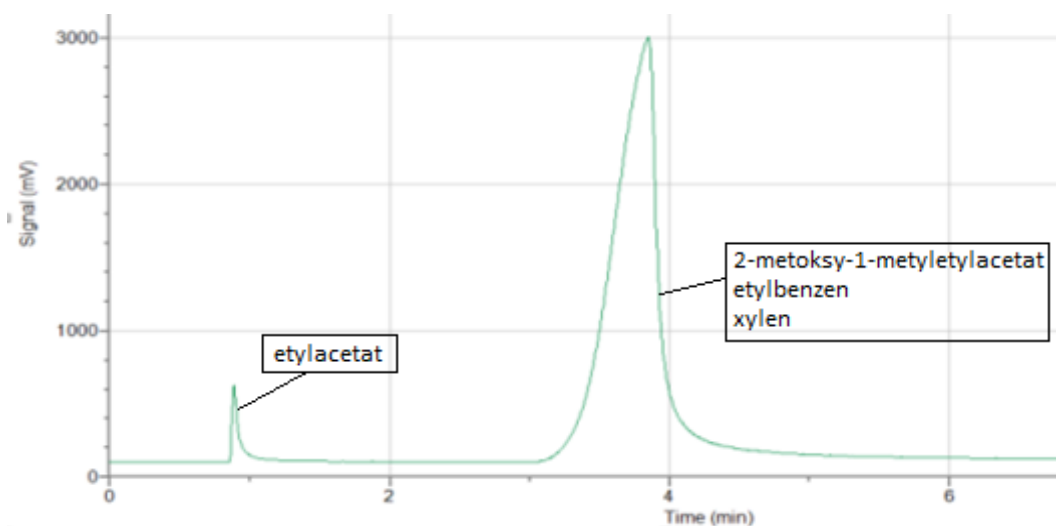
Tre blandinger ble undersøkt: Shells 95 fuelsave blyfri bensin, Biltemas tynner og Biltemas tynner nr. 3. Figur 8, 9 og 10 viser kromatogrammer fra analyse av henholdsvis Shells fuelsave 95 blyfri bensin, Biltemas tynner og Biltemas tynner nr. 3.



Figur 8 Kromatogram fra analyse av Shells fuelsave 95 blyfri bensin. Injeksjonsvolum på 0,5 μL . Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 100 $^{\circ}\text{C}$ som ble holdt i 10 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ i to minutter. Det ble brukt et trykk på 7,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,8 mL/min. Detektoren var satt på «high» sensitivitet.



Figur 9 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner. Injeksjonsvolum på 0,1 μL . Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 $^{\circ}\text{C}$ som ble holdt i to minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ i fire minutter. Det ble brukt et trykk på 3,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 1,6 mL/min. Detektoren var satt til «high» sensitivitet.



Figur 10 Kromatogram fra analyse av Bilemas tynner nr. 3. Injeksjonsvolum på 0,1 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 40 °C med en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 130 °C, og temperaturen ble deretter holdt på 130 °C i fire minutter. Det ble brukt et trykk på 7,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobulfasehastighet på 3,8 mL/min. Detektoren var satt til «high» sensitivitet.

En fordel ved å bruke bensin som prøve er at blandingen er svært lett tilgjengelig og billig. Noen utfordringer ved å bruke bensin som prøve er at det er variasjoner i sammensetningen som følge av årstidene, og at sammensetningen i mindre grad enn for tynnerne, er kjent på forhånd. Bensin inneholder i tillegg kjemikalier med kreftfremkallende, arvestoffskadelige og/eller reproduksjonsskadelige egenskaper (CMR-stoffer). Bruk av CMR-stoffer i skolen krever ekstra tiltak for at elevene ikke skal bli eksponert for disse stoffene. Siden sammensetningen til bensin ikke er kjent på forhånd, medfører dette at toppene i kromatogrammet måtte ha blitt identifisert ved hjelp av for eksempel gasskromatografi med massespektrometer (GC-MS) før det videre arbeidet med den kvantitative analysen kunne fortsette. Dette ville ført til at en god del av den disponible tiden ville gått med til arbeidet med å identifisere toppene. Figur 8 viser kromatogrammet fra en analyse av 95 blyfri bensin. I kromatogrammet observeres tre tydelige topper. Analysen ble gjort med en kolonnetemperatur på 95 °C, og bedre oppløsningen mellom toppene kunne blitt oppnådd ved å senke kolonnetemperaturen. Det ses derfor på som mulig å utvikle et opplegg der det analyseres på en av bestanddelene i bensin, men bensin ble valgt bort på grunn av tidsrammen til denne oppgaven.

En fordel med Bilemas tynner er at sammensetningen er angitt i sikkerhetsdatabladene til blandingene. Tabell 2 og 3 viser sammensetningen for de to tynnerne. Bilema har butikker i

store deler av Norge, og har også butikker i Sverige, Danmark og Finland. Tynnerne er derfor relativt tilgjengelige.

I arbeidet med denne bacheloroppgaven ble det jobbet en del med Biltemas tynner i et forsøk på å få god nok oppløsning mellom etylacetat og 2-metylpropan-1-ol. Både kolonnetemperaturen og mobilfasehastigheten ble senket til minimum, men det viste seg vanskelig å få noen særlig bedre oppløsning på toppene enn det som vises i figur 9.

Biltemas tynner nr. 3 inneholder fire forbindelser. Tre av forbindelsene har relativt like kokepunkter, og siden gasskromatografen er utstyrt med en upolar stasjonærfase får de tre forbindelsene tilnærmet lik retensjonstid. Kromatogrammet av Biltemas tynner nr. 3 har derfor bare to topper. Toppene ligger så langt fra hverandre at det er mulig å tilsette en internstandard med en retensjonstid som ligger mellom retensjonstiden til etylacetat og til de tre andre forbindelsene. Kromatogrammet av Biltemas tynner nr. 3 er derfor godt egnet i et didaktisk perspektiv da elevene kan settes til å diskutere årsaken til at det kun er to topper i kromatogrammet, i tillegg til internstandard. Dette kan forklares med utgangspunkt i stasjonærfasen, men det kan også forklares på bakgrunn av selektiviteten til detektoren. I figur 10 er detektoren satt på «high» sensitivitet, og er dermed følsom for substituerte aromater. I det videre arbeidet med den kvantitative bestemmelsen av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3 brukes standard sensitivitet på detektoren. Detektoren er da i utgangspunktet mer selektiv og er ikke følsom for substituerte aromater. Dette åpner for at elevene kan diskutere og dermed lære om både stasjonærfasens egenskaper, om begrepet *selektivitet* knyttet til detektorer og prinsippet for gasskromatografiske separasjoner.

På bakgrunn av dette ble Biltemas tynner nr. 3 valgt som prøve. Etylacetat ble valgt som analytt, og butylacetat ble valgt som internstandard.

4.2 Etablering av kalibreringskurve

Det ble arbeidet med å få etablert en kalibreringskurve som viste lineær sammenheng mellom forholdene mellom konsentrasjonen til etylacetat(analytt) og butylacetat(internstandard), og forholdet mellom arealene av toppene deres (se figur 3). Det ble først forsøkt med et temperaturprogram der butylacetat kom ut midt i en lineær temperaturstigning i temperaturprogrammet. Med denne fremgangsmåten viste det seg vanskelig å få etablert en lineær kalibreringskurve. Det ble senere i arbeidet med denne bacheloroppgaven gjort videre

utprøving med analyser der butylacetat kommer ut i den lineære temperaturstigningen. Dette er beskrevet nærmere i kapittel 4.6.3. Det ble i stedet forsøkt med et temperaturprogram med isoterm separasjon. Tabell 5 viser temperaturprogrammet og tabell 6 viser sammensetningen av kalibreringsløsningene og prøven.

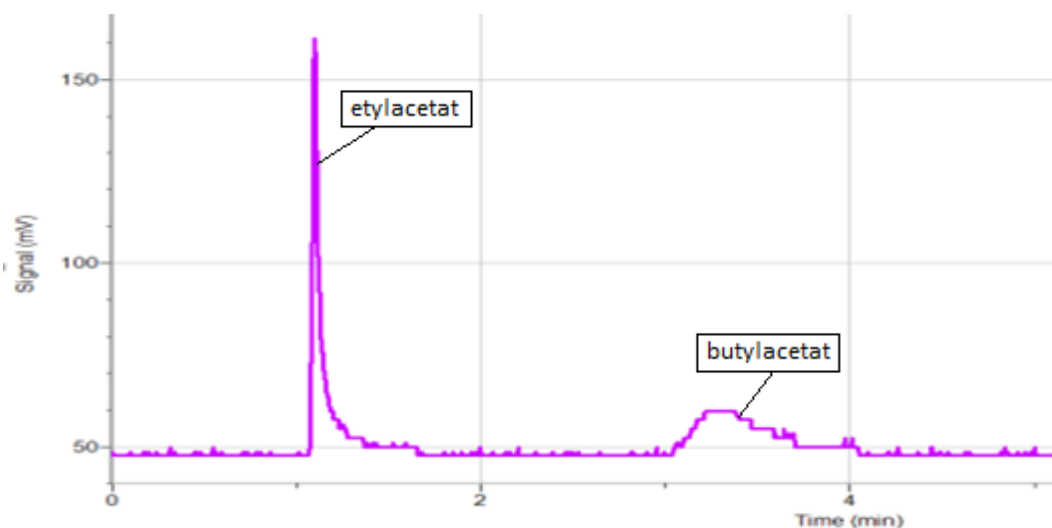
Tabell 5 Temperaturprogrammet som ble brukt i forsøket på å etablere en kalibreringskurve for bestemmelse av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3.

Start temperatur (°C)	60
Hold (min)	8
Lineær temperaturstigning (°C/min)	0
Slutt temperatur (°C)	60
Hold (min)	0
Trykk (kPa)	5,0
Sensitivitet (detektor)	Standard

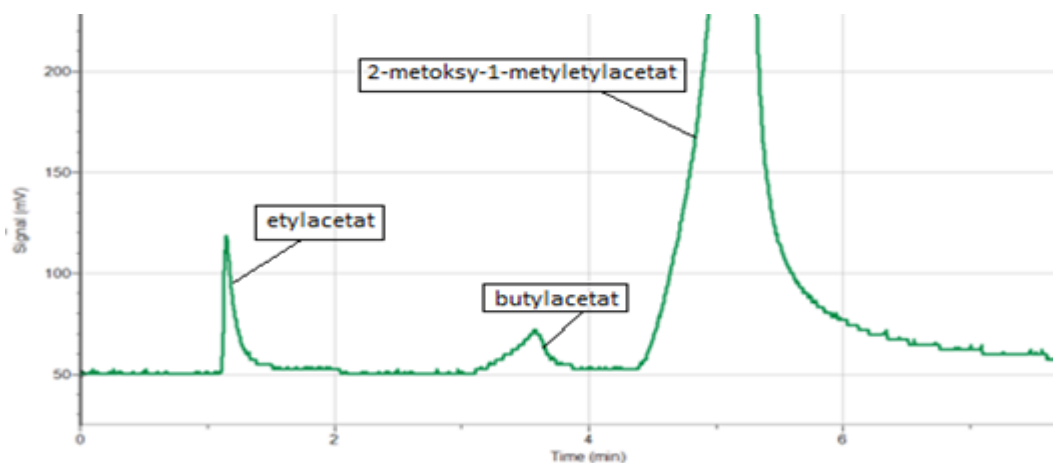
Tabell 6 Sammensetningen av kalibreringsløsningene og prøven som ble brukt i forsøket på å etablere en kalibreringskurve for bestemmelse av etylacetat i biltemas tynner nr. 3.

Løsning	Sammensetning
Kalibreringsløsning 1	1,50 g etylacetat + 0,50 g butylacetat + n-oktan til 10,00 g
Kalibreringsløsning 2	1,60 g etylacetat + 0,50 g butylacetat + n-oktan til 10,00 g
Kalibreringsløsning 3	1,70 g etylacetat + 0,50 g butylacetat + n-oktan til 10,00 g
Kalibreringsløsning 4	1,80 g etylacetat + 0,50 g butylacetat + n-oktan til 10,00 g
Prøve	5,00 g tynner 3 + 0,50 g butylacetat + n-oktan til 10,00 g

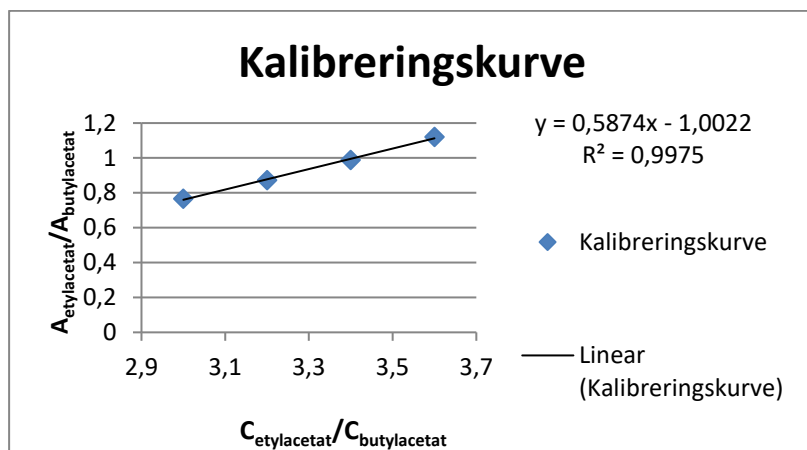
Fra disse analysene ble det etablert en standardkurve med $R^2 = 0,9975$. Massene ble veid inn nøyaktig som vist i tabell 6. Figur 11 og 12 viser kromatogrammene til en kalibreringsløsning og til prøven analysert med dette programmet, og figur 13 viser kalibreringskurven som ble etablert fra analyse av de fire kalibreringsløsningene.



Figur 11 Kromatogram fra analyse av en kalibreringsløsning, analysert med temperaturprogrammet vist i tabell 5. Injeksjonsvolum på 0,1 μ L. Det ble brukt isotherm separasjon, 60 $^{\circ}$ C i åtte minutter. Det ble brukt et trykk på 5,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 2,7 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.



Figur 12 Kromatogram fra analyse av Biltomas tynner nr. 3, analysert med temperaturprogrammet vist i tabell 5. Injeksjonsvolum på 0,1 μ L. Det ble brukt isotherm separasjon, 60 $^{\circ}$ C i åtte minutter. Det ble brukt et trykk på 5,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 2,7 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.



Figur 13 Kalibreringskurven etablert med temperaturprogrammet vist i tabell 5.

I artikkelen «Chemicapacitive microsensors for volatile organic compound detection» fra 2003 blir det antydnet at CCD generelt ikke gir lineær respons som funksjon av mengden injisert analytt, og det pekes på ulike årsaker til dette [16]. I artikkelen «A low-cost, low-power gas chromatograph for field and educational use» fra 2010, fremkommer det derimot at det med Vernier mini GC fås lineær detektorrespons som funksjon av mengden injisert aceton.[13]. I arbeidet med denne bacheloroppgaven er det vist at det er mulig å etablere en lineær kalibreringskurve når metoden med internstandard benyttes.

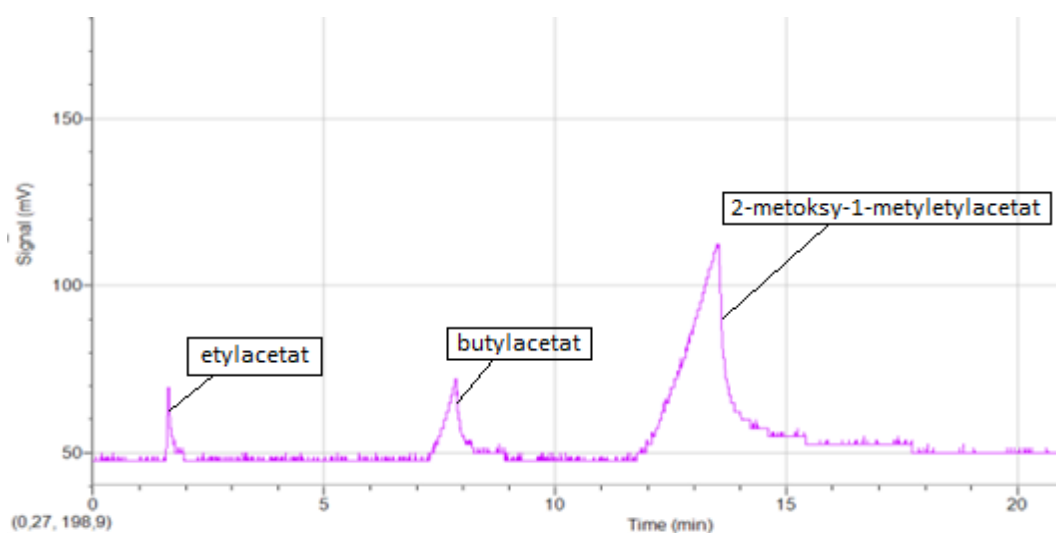
4.3 Finne et egnet temperaturprogram til gjennomføring av hele den kvantitative bestemmelsen

I kromatogrammet fra analyse av prøven som er vist i figur 12, er det ikke fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom butylacetattoppen og 2-metoksy-1-metyletylacetattoppen. Det ble arbeidet videre med å finne et temperaturprogram som ga fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom de to forbindelsene. Utfordringen gikk i stor grad ut på å få fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom butylacetattoppen og 2-metoksy-1-metylacetattoppen i hver analyse av prøven. Fra kromatogrammet i figur 12 kan det også se ut som om det var noe overbelastning på kolonnen siden spesielt butylacetattoppen har noe «fronting». I det videre arbeidet ble derfor prøven fortynnet fire ganger, i stedet for to, og standardene tilpasset denne fortynningen. I tillegg ble løsemiddelet byttet ut, til n-heptan fremfor n-oktan, for å redusere elueringstiden noe for løsemiddelet. Mengden tilsatt butylacetat til kalibreringsløsninger og prøver ble også økt, slik at signalet fra internstandardens skulle ha lik intensitet som signalet

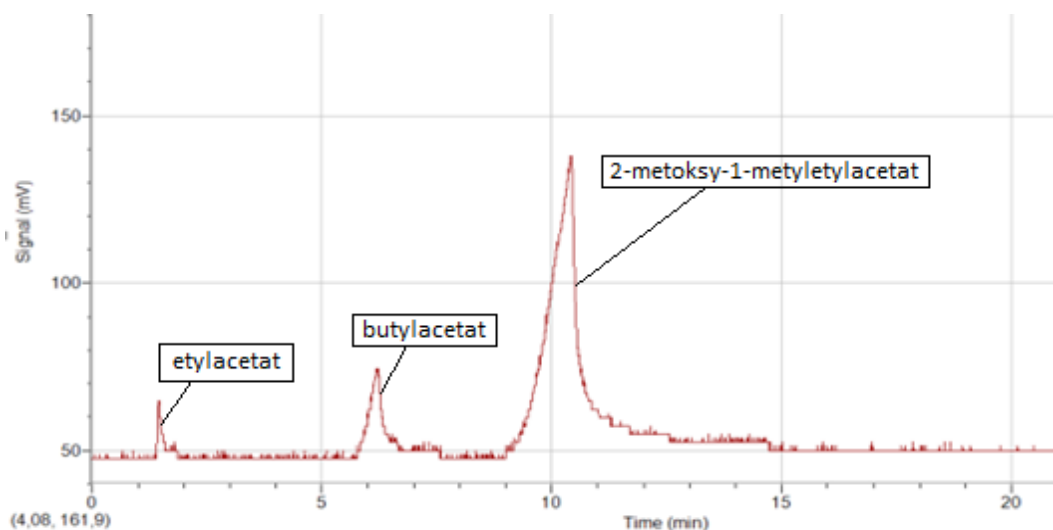
fra analytten. Det ble også lagt inn en temperaturøkning etter at butylacetat var kommet ut, slik at retensjonstiden for 2-metoksy-1-metyletylacetat skulle bli noe mindre. Figur 14 - 17 viser analyser av prøven ved ulike temperaturer med temperaturprogrammet som er vist i tabell 7. Injeksjonsvolumet er på 0,2 µL for å få et signal/støy forhold $\geq 10/1$.

Tabell 7 Temperaturprogram som ble testet ut for å gjennomføre hele analysen

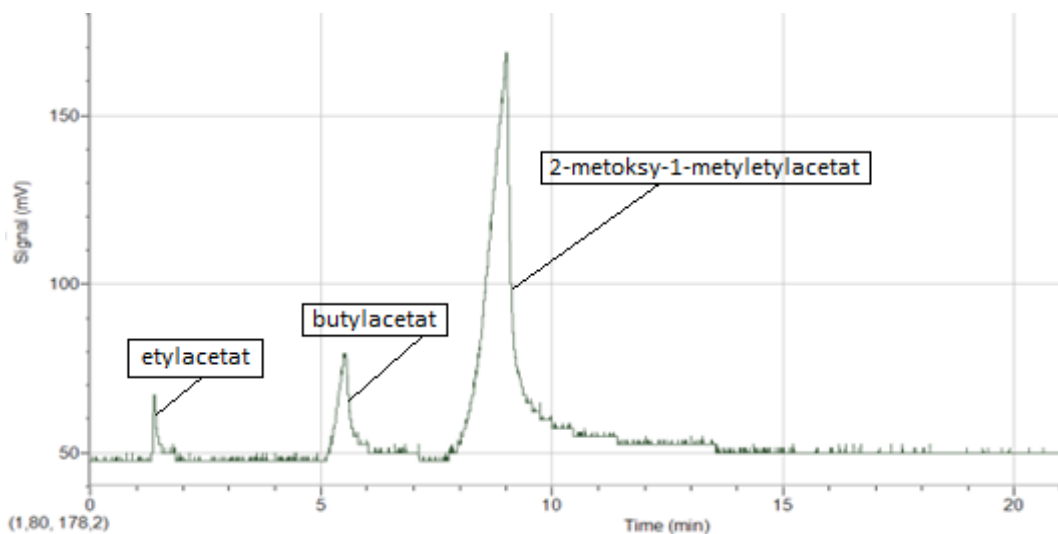
Start temperatur (°C)	30 - 45
Hold (min)	15
Lineær temperaturstigning (°C/min)	10
Slutt temperatur (°C)	100
Hold (min)	Til totalt 25
Trykk (kPa)	6,0
Sensitivitet (detektor)	Standard



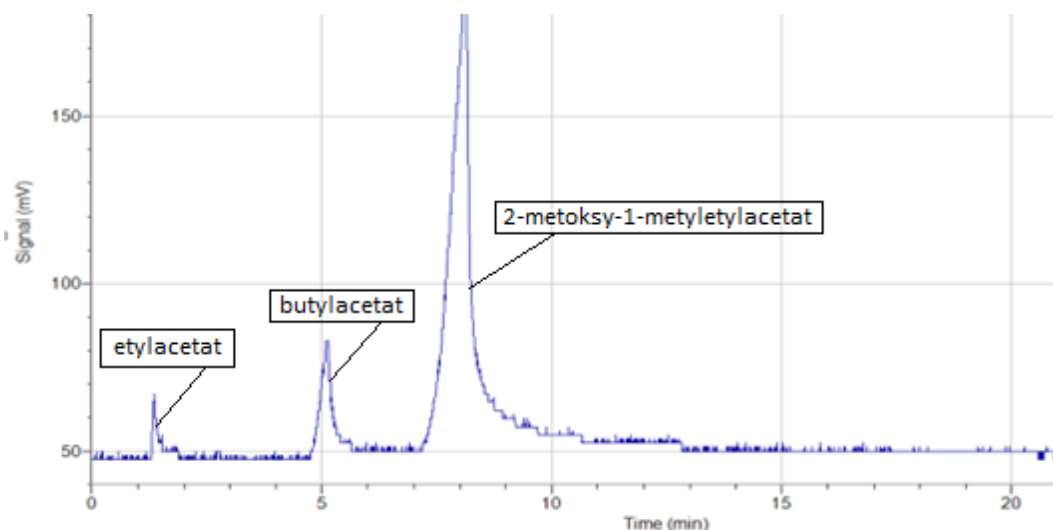
Figur 14 Kromatogram fra analyse av Biltermas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.



Figur 15 Kromatogram fra analyse av Bilemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 35 °C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.



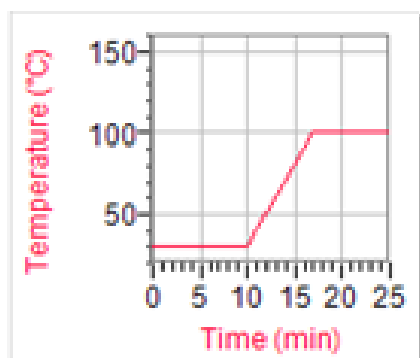
Figur 16 Kromatogram fra analyse av Bilemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 40 °C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.



Figur 17 Kromatogram fra analyse av Bilemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 μ L. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 45 $^{\circ}$ C som ble holdt i 15 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 $^{\circ}$ C/min til 100 $^{\circ}$ C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 25 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.

Som kromatogrammene viser ble toppene som eluerer sent, mer og mer symmetriske etter som temperaturen økte og retensjonstiden ble redusert. Dette gir også et høyere signal.

Utfordringen når temperaturen oversteg 30 $^{\circ}$ C var at det ikke ble oppnådd fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom butylacetatoppene og 2-metoksy-1-metyletylacetatoppene i alle analyser. Det ble forsøkt å starte den lineære temperaturstigningen noe tidligere i analysen, og det ble utarbeidet et nytt temperaturprogram som er vist i tabell 8. Figur 18 viser en grafisk fremstilling av temperaturprogrammet i tabell 8.

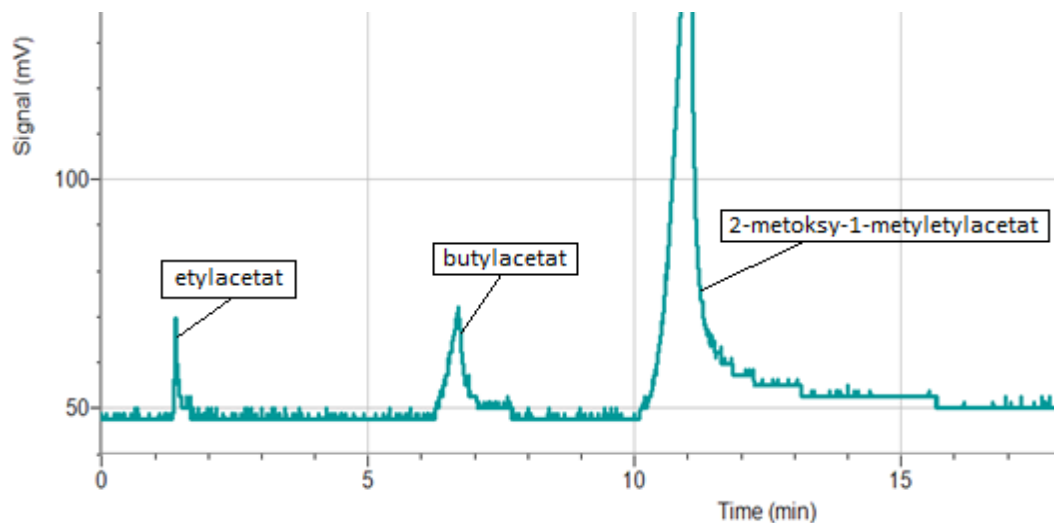


Figur 18 Grafisk fremstilling av temperaturprogrammet som gir fullstendig grunnlinjeseparasjon i alle analyser av Bilemas tynner nr. 3 med tilsatt internstandard.

Tabell 8 Temperaturprogram som gir fullstendig grunnlinjeseparasjon i alle kromatograferinger av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt internstandard.

Start temperatur (°C)	30
Hold (min)	10
Lineær temperaturstigning (°C/min)	10
Slutt temperatur (°C)	100
Hold (min)	8
Trykk (kPa)	6,0
Sensitivitet (detektor)	Standard

Med dette programmet ble det fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom butylacetattoppen og 2-metoksy-1-metyletylacetattoppen i hver analyse, og butylacetattoppen ble integrerbar. Et kromatogram av prøven med dette programmet er vist i figur 19.



Figur 19 Kromatogram fra analyse av Biltemas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i 10 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt i 8 minutter. Det ble brukt et trykk på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobelfasehastighet på 3,2 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.

4.4 Gjennomføring av den kvantitative bestemmelsen

Temperaturprogrammet som er vist i tabell 8 ble så brukt til å utføre en kvantitativ bestemmelse av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3. Det ble laget fire standarder og tre prøvereplikater for å kunne si noe om presisjonen i analysen. Det ble også laget to løsninger for å bestemme retensjonstiden til etylacetat og butylacetat. I tabell 9 vises en oversikt over analysene som ble foretatt.

Tabell 9 Oversikt over analysene som ble gjort for å kunne si noe om metodens presisjon. Temperaturprogrammet i tabell 8 ble brukt. Injeksjonsvolumet var på 0,2 µL

Analyse	Tid	Sammensetning (masseprosent)
Etylacetat – retensjon	5	10 % etylacetat i heptan
Butylacetat – retensjon	10	8 % butylacetat i heptan
Kalibreringsløsning 1	10	7 % etylacetat, 8 % butylacetat i heptan
Kalibreringsløsning 2	10	8 % etylacetat, 8 % butylacetat i heptan
Kalibreringsløsning 3	10	9 % etylacetat, 8 % butylacetat i heptan
Kalibreringsløsning 4	10	10 % etylacetat, 8 % butylacetat i heptan
Prøvereplikat 1	25	25 % tynner nr. 3, 8 % butylacetat i heptan
Prøvereplikat 2	25	25 % tynner nr. 3, 8 % butylacetat i heptan
Prøvereplikat 3	25	25 % tynner nr. 3, 8 % butylacetat i heptan
Kalibreringsløsning 4 - andre gjennomgang	10	10 % etylacetat, 8 % butylacetat i heptan
Kalibreringsløsning 4 - tredje gjennomgang	10	10 % etylacetat, 8 % butylacetat i heptan

Kalibreringskurven som ble etablert basert på de fire kalibreringsløsningene hadde en $R^2 = 0,9854$. På bakgrunn av dette ble det foretatt to ekstra analyser av standard 4, etter prøvereplikatene. De to kalibreringskurvene som ble etablert på bakgrunn av disse analysene av kalibreringsløsning 4, hadde en R^2 på henholdsvis 0,9996 og 0,9956. Etylacetat har med temperaturprogrammet vist i tabell 8 en retensjonstid på 1,600 minutter, og butylacetat har en retensjonstid på 7,755 min. Konsentrasjonen av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3 med tilhørende standardavvik, beregnet ut fra de tre ulike kalibreringskurvene, er presentert i tabell 10. Rådata fra analysen finnes i vedlegg 3.

Tabell 10 Middelverdi, absolutt standardavvik og relativt standardavvik beregnet på bakgrunn av analysene i tabell 9

	Kalibreringskurve 1 Kalibreringsløsning 4 – første gjennomgang	Kalibreringskurve 2 Kalibreringsløsning 4 – andre gjennomgang	Kalibreringskurve 3 Kalibreringsløsning 4 – tredje gjennomgang
$\bar{X}$ / masse%	31,7	31,8	31,8
S_{abs} / masse%	0,5	0,5	0,5
$S_{\%}$ / %	1,5	1,6	1,5

4.4.1 Metodens presisjon

Det har kun blitt gjort denne ene grundige gjennomgangen av analysen for å kunne si noe om metodens presisjon. Gjennomgangen sier ikke noe endelig om presisjonen i analysen, men kan være med å gi en indikasjon. Med et relativt standardavvik på ca. 1,5 % anses presisjonen i analysen til å være tilstrekkelig god til formålet. Arbeidet til Robert Noll, med Vernier mini GC, der han blant annet konkluderer med at det ser ut til at Vernier mini GC Plus gir repeterbare resultater, støtter også opp om dette [12]. Alle resultatene som har fremkommet gjennom arbeidet med denne bacheloroppgaven ligger innenfor det konsentrasjonsintervallet som er angitt i databladet for Biltemas tynner nr. 3 [19]. Dette er lovende med tanke på analysens anvendelighet i videregående skole.

De ulike kalibreringskurvene som har blitt etablert i arbeidet med denne bacheloroppgaven har variert noe, med R^2 verdier mellom 0,9699 og 0,9997. Det er en fordel at kalibreringskurvene har en høy R-kvadrert verdi, men til bruk i videregående skole bør dette ikke være avgjørende. I gjennomgang 3 og 4 av elevvarianten av analysen, som blir omtalt nærmere i kapittel 4.5, ble mengden etylacetat bestemt til å være henholdsvis 34,8 % og 34,6 %. I disse tilfellene hadde den ene kalibreringskurven en R^2 på 0,9699 og den andre på 0,9976. Målet med analysen er ikke å finne den «sanne» verdien av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3. Til det arbeidet brukes dyrere og mer avansert instrumentering. Målet er at elevene skal bli kjent med metoden for kvantitativ bestemmelse med gasskromatografi med

internstandard, bli introdusert til moderne instrumentell kjemi, og lære om gasskromatografi generelt.

4.5 Tilpasning av analysen til bruk i kjemi 2 i videregående skole

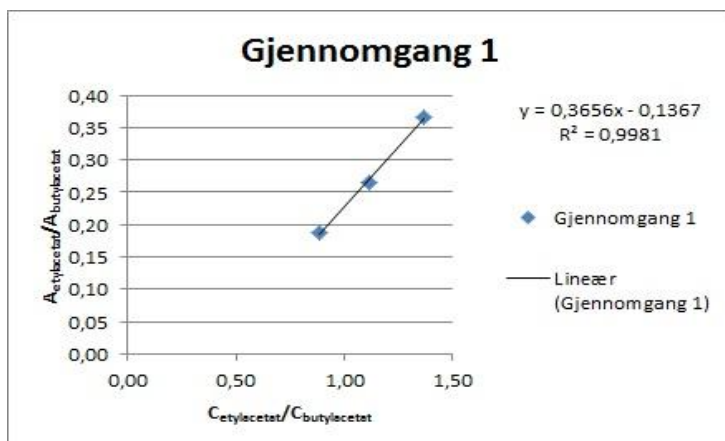
Den kvantitative bestemmelsen som er vist i tabell 9 er så tidkrevende at den vanskelig lar seg gjennomføre i en kjemi 2 klasse i videregående skole. Det ble derfor arbeidet med å tilpasse analysen til rammene i videregående skole. Målet var å få analysetiden ned til 90 minutter.

Antallet kalibreringsløsninger ble redusert fra fire til tre, og prøven analyseres bare en gang. Dette medfører at muligheten for statistisk analyse knyttet til den kvantitative bestemmelsen, faller bort. Det ble også gjort noen justeringer på tidsskjemaet ved at tiden for hver analyse ble minimert. Prøven analyseres bare i 19 minutter, og det må bli lærerens jobb å vaske kolonnen etter endt undervisning. Tabell 11 viser en oversikt over varianten som tenkes brukt i kjemi 2 klasser i videregående skole.

Tabell 11 Oversikt over analysen som tenkes brukt i kjemi 2 i videregående skole.

Analyse	Tid / min	Klargjøring av GC mellom analyser /min
10 % etylacetat i heptan (retensjon)	3	1,5
10 % butylacetat i heptan (retensjon)	9,5	1,5
Kalibreringsløsning 1 (K1)	9,5	1,5
Kalibreringsløsning 2 (K2)	9,5	1,5
Kalibreringsløsning 3 (K3)	9,5	1,5
Prøve	19	1,5
Sum	60	9
Totalt	69	

Det ble deretter gjennomført fire gjennomganger av analysen over to dager. I gjennomgang 1 og 2 (dag 1) ble det analysert på samme sett av standarder og prøve. Det ble deretter laget et nytt sett standarder og prøve til gjennomgang 3 og 4 (dag 2). Figur 20 viser kalibreringskurven for gjennomgang 1 av elevvarianten av analysen. Gjennomgang 2 hadde R^2 på 0,987, og gjennomgang 3 og 4 hadde R^2 på henholdsvis 0,9699 og 0,9976. Beregnet konsentrasjon av etylacetat i Bilemas tynner nr. 3 fra analysene er presentert i tabell 12.



Figur 20 Kalibreringskurven for gjennomgang 1 av elevvarianten av analysen

Tabell 12 Beregnet konsentrasjon av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3 i de fire gjennomgangene av analysen som skal brukes i videregående skole.

Gjennomgang	1	2	3	4
etylacetat / masse%	33,6	33,3	34,8	34,6

Det ble deretter arbeidet med å utforme en forsøksbeskrivelse (elevark) og en lærerveiledning til analysen, slik den er tenkt som en laboratorieoppgave i videregående skole. Disse ligger vedlagt som vedlegg 1 og 2.

4.5.1 Analysens egnethet i videregående skole

Til bruk i videregående skole er det tatt utgangspunkt i at tre viktige momenter må være på plass for at laboratorieoppgaven vil bli tatt i bruk av lærere i videregående skole.

Momentene er at laboratorieoppgaven:

- kan knyttes opp mot læringsmål for kjemi 2
- kan gjennomføres innenfor en relativ kort tidsramme
- er robust, på den måten at den fungerer hver gang og at resultatene ligger innenfor det oppgitte konsentrasjonsintervallet

I kjemi 2 er det et eksplisitt mål at elevene skal gjennomføre kromatografi. Dette har på grunn av dyr instrumentering i hovedsak vært knyttet til tynnsjikt og papirkromatografi. I denne

bacheloroppgaven gjøres det et poeng av at det bør jobbes for å gjøre skolekjemien mer instrumentell, og momentet om tilknytning til læreplanen i kjemi 2 ses på som ivarettatt på en tilfredsstillende måte.

I arbeidet med oppgaven har det vært jobbet for at det skal være mulig å gjennomføre laboratorieoppgaven på 90 minutter, som tilsvarer to vanlige skoletimer. Dette har medført at statistisk bearbeiding av data blir utelukket da det ikke er tid til å analysere flere prøvereplikater. I forhold til pensum i kjemi 2 er ikke dette et stort problem. Det er mer relevant å se på strukturen til molekylene som skal separeres og strukturen til stasjonærfasen, og drøfte rundt årsakene til at molekylene separeres på den måten de gjør.

Laboratorieoppgaven har i prosjektet blitt gjennomført på 90 minutter, men da av en person som kjenner opplegget godt. Med denne tidsrammen er det ikke rom for at det oppstår problemer med for eksempel avbrutte analyser. Skal elevene rekke å integrere toppene i løpet av økten er de sannsynligvis nødt til å kjenne til programvaren på forhånd. Dette er mulig, for eksempel ved å la elevene jobbe med en kvalitativ analyse med gasskromatografen i forkant av den kvantitative bestemmelsen. Laboratorieoppgaven er på nåværende tidspunkt ikke utprøvd av elever eller lærere. Dette må gjøres før det er mulig å si helt konkret om den er gjennomførbar innenfor den tidsrammen som er skissert. Etter en slik utprøving vil det kunne gjøres flere små justeringer, for eksempel med temperaturprogrammet for å optimalisere analysen, og få analysetiden noe ned.

Angående metodens robusthet, i den mening at den fungerer hver gang, tyder resultatene så langt på at dette er tilfelle. Arbeidet til Robert Noll med Vernier mini GC, støtter også opp om dette med tanke på at instrumentet ser ut til å produsere repeterbare resultater [12]. Dette er et helt avgjørende moment for om analysen vil kunne brukes av lærere. Laboratorieoppgaver som gjennomføres i skolen må være robuste, i den mening at de fungerer hver gang de gjennomføres. Alle resultatene fra analyser med fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom topper som skal integreres, har i arbeidet med denne bacheloroppgaven ligget innenfor konsentrasjonsintervallet av etylacetat (30 – 40 %) som er oppgitt i sikkerhetsdatabladet til Biltomas tynner nr. 3.

4.6 Mulig forbedring av temperaturprogrammet

I de fem kromatogrammene som er vist i figur 14 - 17 vises litt av arbeidet som er gjort med å lage et temperaturprogram. Viktige kriterier for valg av temperaturprogram var følgende:

- At toppene skal bli symmetriske og være eksempler på god kromatografi
- At tiden hver analyse tar, skal være så lav som mulig
- At etylacetat- og butylacetatoppene skal være integrerbare i alle kromatogrammene som lages med programmet

Her drøftes tre muligheter til å forbedre temperaturprogrammet i forhold til de nevnte kriterier.

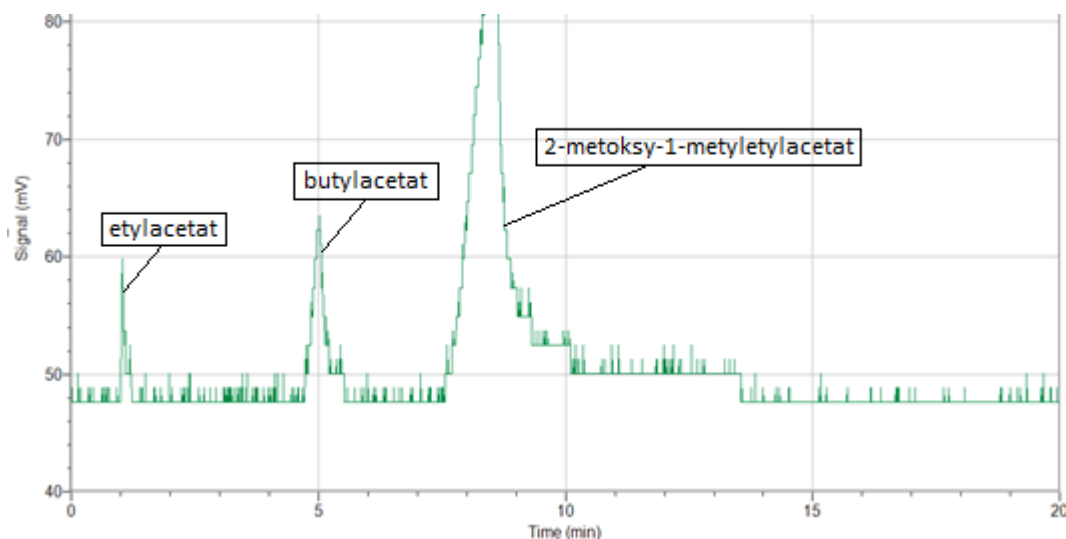
4.6.1 Økt temperatur på kolonnen

Økt temperatur på kolonnen minker retensjonstiden. Toppene blir mer symmetriske (og gausskurveformede) desto kortere retensjonstiden er. Kort retensjonstid fører også til et høyere signal/støy forhold og dermed lavere usikkerhet i analysen, og også lavere deteksjonsgrenser. Når prøven har blitt analysert på mer enn 30 grader har det i en del analyser vært problemer med at det ikke blir fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom butylacetatoppene og 2-metoksy-1-metyletylacetatoppene. Problemet har vært økende med økende temperatur. Det har blitt undersøkt med én analyse hvordan resultatet blir påvirket av at det ikke er fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom de to toppene. Kalibreringskurven i denne analysen hadde en R^2 på 0,9997. Resultatet var svært avhengig av hvordan butylacetatoppene ble integrert, og den beregnede konsentrasjonen av etylacetat varierte fra 37,9 % til 41,6 % avhengig av hvordan butylacetatoppene ble integrert. Selv om dette gir elevene mulighet til å diskutere rundt problematikken knyttet til hvordan ulike topper bør integreres, er ikke dette ønskelig i en laboratorieoppgave som skal brukes i videregående skole, da resultatene fra en slik øvelse bør ligge innenfor det angitte konsentrasjonsintervallet (30 – 40 % etylacetat). Det anses derfor som nødvendig å få fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom butylacetat og 2-metoksy-1-metylacetatoppene. Ved en starttemperatur på 35 °C kan analys tiden i laboratorieoppgaven som er beregnet på bruk i videregående skole kortes ned med om lag fem minutter. Når denne temperaturen brukes, er problemet knyttet til fullstendig grunnlinjeseparasjon mindre, og dette ses på som en mulighet til forbedring av

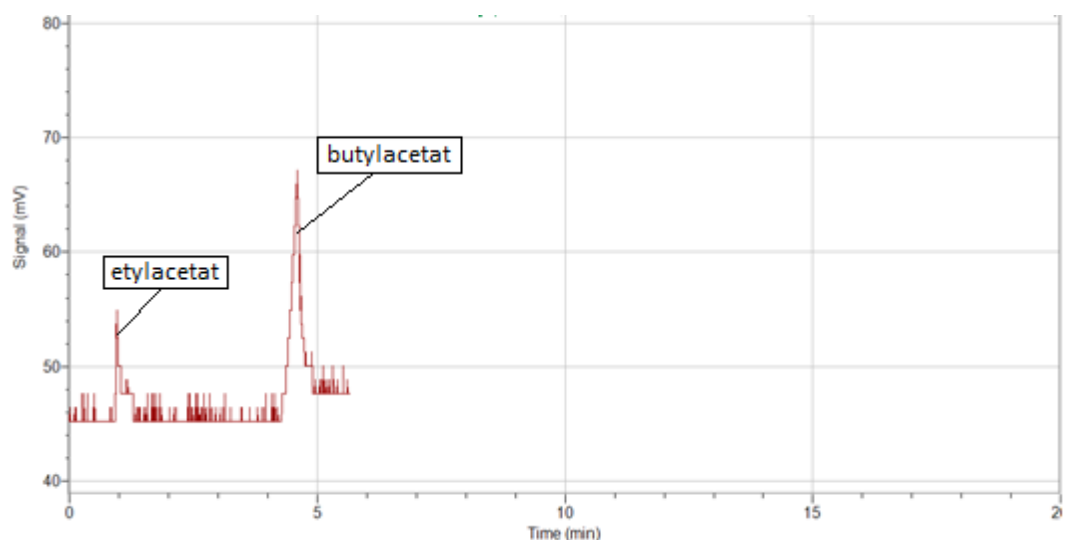
temperaturprogrammet. Problemet med ufullstendig grunnlinjeseparasjon er ved høye starttemperaturer så stor at det ikke anses som noen god løsning å bruke noen høyere starttemperatur enn 35 °C.

4.6.2 Økt mobilfasehastighet

Mobilfasehastigheten ble forsøkt økt fra 6,0 kPa over atmosfærisk trykk i et forsøk på å få ned analysetiden. I figur 21 vises et kromatogram av prøven analysert med et trykk på 10,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobilfasehastighet på 5,4 mL/min. Med denne mobilfasehastigheten vil analysetiden i laboratorieoppgaven som skal brukes i videregående skole, kortes ned med i underkant av 20 minutter. Utfordringen med høy mobilfasehastighet er å få en stabil grunnlinje. I kromatogrammet av prøven som er vist i figur 21 var det foretatt en rekke analyser av prøven i forkant, og grunnlinjen hadde stabilisert seg på 47,6 mV. I figur 22 vises kromatogrammet til en kalibreringsløsning analysert med et trykk på 10,0 kPa. Selv om det også her var analysert en rekke kalibreringsløsninger på forhånd, viste det seg vanskelig å få en stabil grunnlinje på 47,6 mV. Kromatogrammet i figur 22 viser at grunnlinjen ligger på 45,2mV. Når det ikke fås en stabil grunnlinje i alle analysene i den samme kvantitative bestemmelsen, medfører dette at usikkerheten øker. Det er ikke gjennomført noen full gjennomgang av den kvantitative bestemmelsen med denne mobilfasehastigheten. Det er mulig at det vil gi resultater som er brukbare i forhold til laboratorieoppgaven som skal brukes i skolen, men det antas at problemet knyttet til ulik integrering på grunn av ustabil grunnlinje, vil føre til kalibreringskurver med lav R^2 , og resultater som havner utenfor det oppgitte konsentrasjonsintervallet. Det er ikke gjort grundige undersøkelser med bruk av trykk mellom 6,0 kPa og 10,0 kPa. Med et trykk på 8,0 kPa kan for eksempel analysetiden i laboratorieoppgaven reduseres med om lag 10 minutter. Det er mulig at temperaturprogrammet kan forbedres ved å øke mobilfasehastigheten noe.



Figur 21 Kromatogram fra analyse av Biltermas tynner nr. 3 med tilsatt butylacetat. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i 10 minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 10 °C/min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til total analysetid på 20 minutter. Det ble brukt et trykk på 10,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 5,4 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.

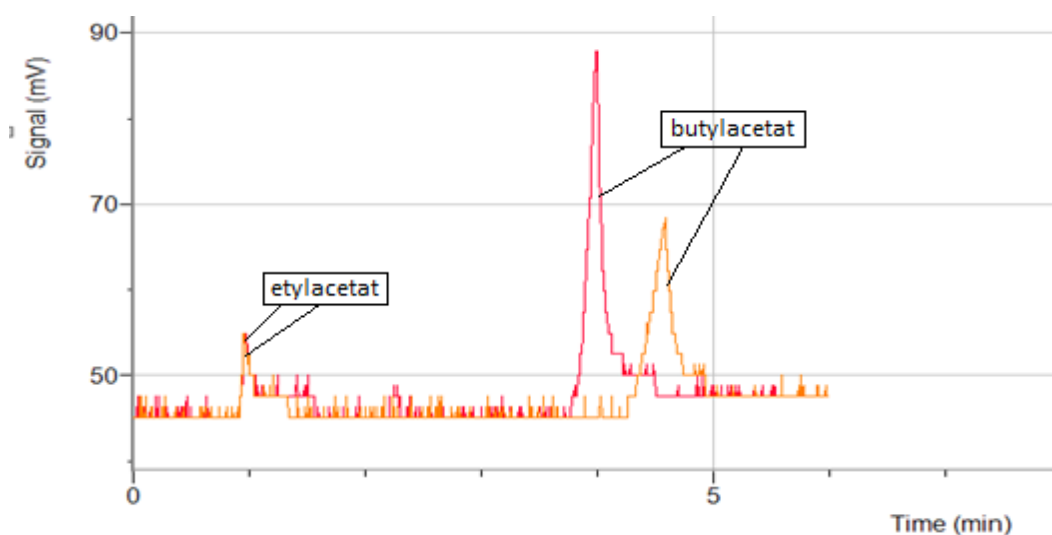


Figur 22 Kromatogram fra analyse av en kalibreringsløsning. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. Det ble isoterm separasjon, 30 °C i seks minutter. Det ble brukt et trykk på 10,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 5,4 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.

4.6.3 Start av den lineære temperaturøkningen tidligere i analysen

Når det brukes en lineær temperaturøkning fås høyere topper for forbindelser som eluerer ut sent. Figur 23 viser to kromatogrammer fra analyser av den samme kalibreringsløsningen. For det oransje kromatogrammet er det bruk isoterm separasjon på 30 °C, mens for det røde

kromatogrammet ble det brukt en starttemperatur på 30 °C som ble holdt i to minutter, før en lineær temperaturstigning på 5 °C /min ble startet. Når den lineære temperaturstigningen starter tidlig i analysen vil også retensjonstiden reduseres, og det vil være mulig å få ned analysetiden. Som tidligere nevnt viste det seg vanskelig å få etablert en god kalibreringskurve når butylacetat eluerte i en lineær temperaturstigning. Det har ikke blitt gjort noen skikkelig gjennomgang for å undersøke dette nærmere. Grunnen er at når programmet med lineær temperaturstigning brukes på en kalibreringsløsning som analyseres i 5 – 6 minutter, bruker Vernier mini GC Plus over fire minutter på å kjøle seg ned. Dermed er det liten eller ingen gevinst i forhold til tidsbruken, og selv om det blir bedre kromatografi, ses analysetiden på som en større utfordring i forhold til laboratorieoppgaven som skal brukes i skolen.



Figur 23 Kromatogrammer fra analyser av to kalibreringsløsninger. Injeksjonsvolum på 0,2 µL. For det oransje kromatogrammet ble det brukt isoterm separasjon, 30 °C i seks minutter. For det røde kromatogrammet ble det brukt et temperaturprogram med starttemperatur på 30 °C som ble holdt i to minutter. Deretter var det en lineær temperaturstigning på 5 °C/min til 50 °C. For begge analysene ble det brukt et trykk på 10,0 kPa over atmosfærisk trykk, som tilsvarer en mobilfasehastighet på 5,4 mL/min. Detektoren var satt til standard sensitivitet.

5 Konklusjon

Målet med denne bacheloroppgaven var å undersøke om Vernier mini GC Plus egnet seg til å gjøre en kvantitativ analyse innenfor rammene for en kjemi 2 klasse i videregående skole, og hvis instrumentet viste seg egnet, utarbeide en laboratorieoppgave med tilhørende lærerveiledning til bruk i skolen.

Det ble satt opp noen kriterier for å vurdere analysens egnethet så som tidsbruk og at analysen skulle være robust på den måten at den fungerer ved hver gjennomføring, og at resultatet ligger innenfor konsentrasjonsintervallet som er oppgitt i sikkerhetsdatabladet til Biltomas tynner nr. 3.

Så langt tyder alle gjennomføringer av den kvantitative bestemmelsen på at den er robust nok til å kunne brukes i skolen. Temperaturprogrammet som er utarbeidet har fungert i alle analysene som er gjennomført i arbeidet med denne oppgaven. Alle resultatene fra analyser med fullstendig grunnlinjeseparasjon mellom topper som skal integreres, ligger innenfor det oppgitte konsentrasjonsintervallet av etylacetat i biltomas tynner nr. 3. Det relative standardavviket er ut i fra en gjennomgang av analysen, beregnet til å være ca. 1,5 %. Annen litteratur støtter også opp om at Vernier mini GC Plus kan produsere repeterbare resultater, og at CCD gir lineær respons som en funksjon av mengden injisert analytt.

Den største utfordringen ser ut til å være tidsrammen, og det er i oppgaven pekt på noen muligheter som det kan jobbes videre med for å redusere tidsbruken.

Analysen er foreløpig bare prøvd ut i et laboratorium, og den må prøves ut på elever og lærere i videregående skole før det kan foretas en endelig konklusjon på om hvorvidt det er mulig å gjennomføre dette i en skoleklasse med de rammene som er der. En slik utprøving vil kunne medføre justeringer i laboratorieoppgaven (vedlegg 1) og lærerveiledningen (vedlegg 2).

Litteraturliste

1. Mlsna, D. and J. Randall, *Gas Chromatography - Investigations with the mini GC*. 2012, USA: Vernier software and technology.
2. Kunnskapsdepartementet, *Kunnskapsløftet LK06*. <http://www.udir.no/kl06/KJE1-01/Kompetansemaal/?arst=1858830314&kmsn=-1272176358>, 2006 (tilgjengelig på nett 18.05.2015).
3. Grønneberg, T., Hannisdal, M., Ringnes, V. and B. Skaugrud, *Kjemien stemmer : kjemi 2 : grunnbok : Studiebok : kjemi for studiespesialiserende utdanningsprogram på vg3*. Bokmål[utg.], 4. utg. ed. 2013, Oslo: Cappelen Damm.
4. Brandt, H. and O.T. Hushovd, *Kjemi 2 : studiespesialiserende utdanningsprogram*. Bokmål[utg.]. ed. 2011, Oslo: Aschehoug.
5. Steen, B.-G., *Aqua 2 : kjemi 2 : grunnbok : Studiebok*. Bokmål[utg.]. ed. 2011, Oslo: Gyldendal undervisning.
6. Csizmar, C.M., D.A. Force, and D.L. Warner, *Implementation of Gas Chromatography and Microscale Distillation into the General Chemistry Laboratory Curriculum as Vehicles for Examining Intermolecular Forces*. J. Chem. Educ., 2011. **88**(7): p. 966-969.
7. VernierSoftwareAndTechnology, *Vernier mini GC Plus - user manual*. <http://www.vernier.com/files/manuals/gc2-mini.pdf>, 2012 (Tilgjengelig på nett 18.05.2015).
8. VernierSoftwareAndTechnology, *Vernier mini GC - user manual*. <http://www2.vernier.com/booklets/gc-mini.pdf>, 2010 (tilgjengelig på nett 22.05.2015).
9. Lundanes, E., L. Reubsaet, and T. Greibrokk, *Chromatography : basic principles, sample preparations and related methods*. 2014, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim.
10. Harris, D.C., *Quantitative chemical analysis*. 8th ed. ed. 2010, New York: Freeman.
11. Hamilton, *Hamilton Syringe model 7001KH part nr. 80135*. http://www.hamiltoncompany.com/search/search_results/1-microL-Model-7001-KH-SYR-Knurl-Hub-NDL-25-ga-275-in-point-style-2, (Tilgjengelig på nett 20.05.2015).
12. *Personlig kontakt med Prof. Robert Noll om presentasjonen "Assessing the reproducibility and applicability of a miniature gas chromatograph"*. Robert.Noll@indstate.edu, Indiana State University, 2015.
13. Tolley, W., T. Mlsna, and B. Kunwar, *A low-cost, low-power gas chromatograph for field and educational use*. Proc. Annu. ISA Anal. Div. Symp., 2010. **55th**: p. toley1/1-tolley1/10.
14. Haerle, L.H., *Seacoast Science Inc - a chemical sensor company*. http://www.seacoastscience.com/Downloads/Seacoast_White_Paper.pdf, 2014 (tilgjengelig på nett 20.05.2015).
15. *Personlig kontakt med Prof. Robert Noll presentasjonen "Investigating the response of a miniature gas chromatograph"*. Robert.Noll@indstate.edu, Indiana State University, 2015.
16. Patel, S.V., et al., *Chemical capacitive microsensors for volatile organic compound detection*. Sens. Actuators, B, 2003. **96**(3): p. 541-553.
17. Ohaus, *Brainweight electronic balance - user manual*. <http://dmx.ohaus.com/WorkArea/showcontent.aspx?id=23312>, 1982 (tilgjengelig på nett 20.05.2015).

18. Biltema, *Sikkerhetsdatablad for Tynner*.
http://www.biltema.no/BiltemaDocuments/SecuritySheets/nb/361612_SDB.pdf, 2015
(tilgjengelig på nett 20.05.2015).
19. Biltema, *Sikkerhetsdatablad for tynner nr. 3*.
http://www.biltema.no/BiltemaDocuments/SecuritySheets/nb/30558_SDB.pdf, 2014
(tilgjengelig på nett 20.05.2015).
20. ECHA, *Harmonised classification - Annex VI of Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP Regulation) for Xylen CAS nr. 1330-20-7*. <http://echa.europa.eu/information-on-chemicals/cl-inventory-database/-/cl-inventory/view-notification-summary/87871>,
(Tilgjengelig på nett 20.05.2015).
21. *EUROPAPARLAMENTS- OG RÅDSFORORDNING (EF) nr. 1272/2008*.
<https://lovdata.no/static/SF/32008r1272u.pdf>, 2008 (tilgjengelig på nett 20.05.2015).

Vedlegg 1 – Elevark til laboratorieoppgaven

Elevark til laboratorieoppgaven slik den er tenkt gitt til elever i videregående skole.

Kvantitativ bestemmelse av etylacetat i tynner med gasskromatografi

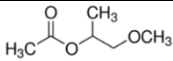
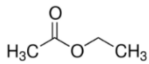
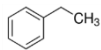
Hensikt

Hensikten med forsøket er å bestemme mengden etylacetat i Bilemas tynner nr. 3 ved å bruke Vernier mini gasskromatograf (GC) Plus. Gjennom arbeidet skal du gjøre deg kjent med fremgangsmåten for kvantitative bestemmelser med gasskromatografi med internstandard.

Bakgrunn og teori

En tynner er en blanding av organiske løsemidler. Det finnes mange typer tynnere til ulike formål. Bilemas tynner nr. 3 er beregnet til fortynning av 2-komponent, polyuretanbasert lakk som brukes på båter. Tynneren brukes både til sprøytelakkering og rengjøring. Tabell 1 viser en oversikt over innholdet i Bilemas tynner nr. 3.

Tabell 1 Innholdet i Bilemas tynner nr. 3, med tilhørende konsentrasjon, kokepunkt og struktur.

Kjemikalier	Konsentrasjon / %	Kokepunkt / °C	Struktur
Xylen	10 – 12,5	137 - 140	
2-metoksy-1-metyletylacetat	40 – 50	145 - 146	
Etylacetat	30 – 40	76,5 – 77,5	
Etylbenzen	1 - 3	137 - 140	

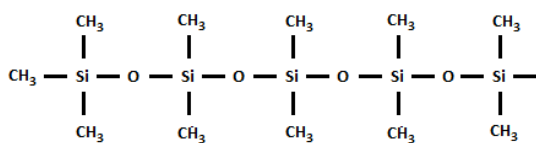
Til bestemmelsen brukes en Vernier mini GC Plus. Instrumentet er relativt enkelt instrument, og er beregnet på bruk i skolen. Av den grunn kan analyseresultatene avvike mer fra den «sanne» verdien enn ved bruk av et mer avansert instrument. Analyseresultatene må derfor ses på «semi» kvantitative. For bestemmelser med høy nøyaktighet og presisjon brukes instrumenter til mer enn ti ganger prisen av en Vernier mini GC Plus.

For at forbindelser skal kunne separeres ved GC må de være flyktige nok til å være i gassfase ved de temperaturer og trykk som benyttes, og de må i tillegg være termodynamisk stabile under disse betingelsene, slik at de ikke dekomponerer under separasjonen.

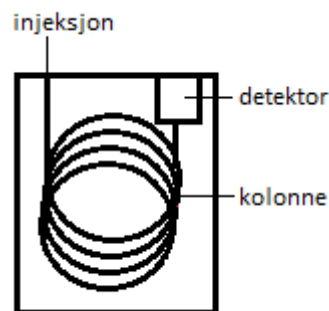
Vernier mini GC Plus er utstyrt med en 11 m kolonne med en indre diameter på 0,53 mm.

Veggene i kolonnen er dekket med en tynn væskefilm som utgjør stasjonærfasen.

Stasjonærfasen består av 100 % dimetylsiloksan (kryssbundet) som er en upolar stasjonærfase. Figur 1 viser strukturen til stasjonærfasen, og figur 2 viser en prinsippskisse av gasskromatografen. Upolare stasjonærfaser separerer i hovedsak stoffer ut i fra kokepunktet til stoffene. Stoffet med lavest kokepunkt vil ha lavest retensjon på kolonnen og komme ut først.



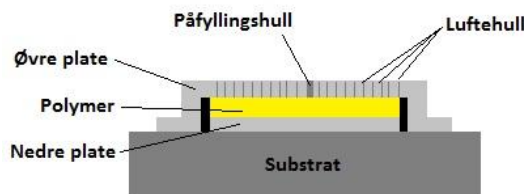
Figur 1 Strukturen til dimetylsiloksan



Figur 2 Prinsippskisse av gasskromatografen

Injeksjonen er en on-column injeksjon som betyr at hele prøvevolumet injiseres rett inn på kolonnen. I denne oppgaven injiseres det 0,2 µL væske i hver injeksjon.

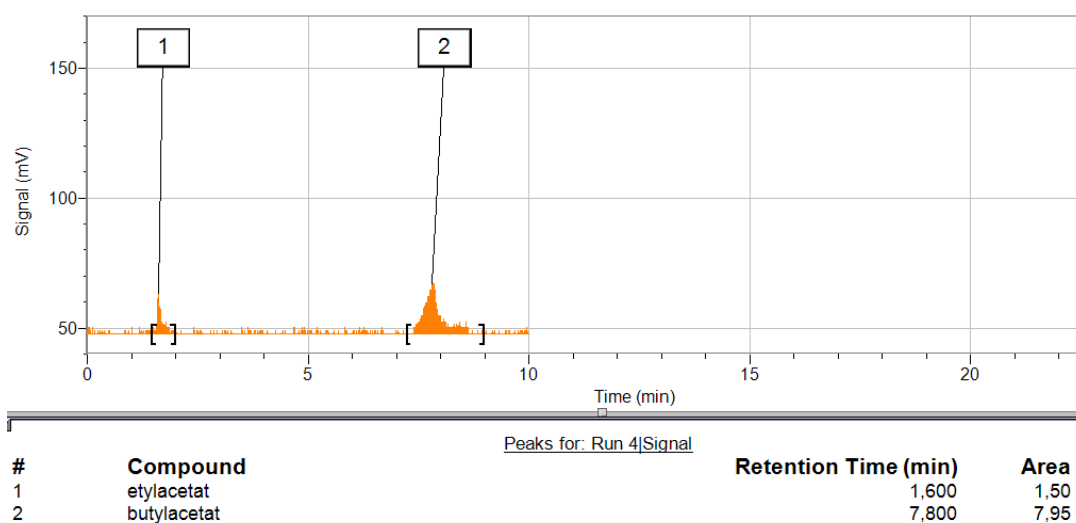
Detektoren er en «Chemicapacitive» detektor (CCD). Denne typen detektor gjør det mulig å bruke luft som bæregass (mobilfase). Til gasskromatografi er ellers de tre mest vanlige bæregassene He, N₂ og H₂. Detektoren er en kondensator som inneholder en polymer. Figur 3 viser en prinsippskisse av detektoren. Det er påsatt en spenning over den nedre og den øvre platen. Den øvre platen har masse små hull, og flyktige organiske forbindelsene som når detektoren vil i ulik grad løse seg i polymeren. Dette endrer kondensatorens evne til å lagre elektrisk ladning, og det er denne endringen som registreres av detektoren og gir utslag i kromatogrammet. Diameteren til kondensatoren er 360 µm. I Vernier mini GC Plus kan detektoren stilles inn på to ulike deteksjonsnivåer. «Standard sensitivitet» egner seg til å detektere mer polare forbindelser som alkoholer, ketoner og karboksylsyrer, mens «high sensitivitet» egner seg til å detektere mindre polare forbindelser som substituerte benzenforbindelser og halogenerte hydrokarboner i tillegg til analytter med lav konsentrasjon. Detektoren har ingen respons på helt upolare forbindelser som hydrokarboner.



Figur 3 Prinsippskisse av en CCD

I gasskromatografi er det ikke mulig å ha kontroll på det eksakte volumet som injiseres på kolonnen. Det brukes derfor alltid en internstandard med kjent konsentrasjon ved kvantitative bestemmelser. Forholdet mellom analytt og intern standard vil være likt uavhengig om vi injiserer 1 μ L eller 1 mL. En velegnet internstandard må separeres fullstendig fra analytten under de gitte betingelser og den må ha lignende struktur som analytten slik at den oppfører seg noenlunde likt på kolonnen og detektoren. Internstandarden kan ikke finnes naturlig i prøven. I denne analysen brukes butylacetat som internstandard. Butylacetat separeres fullstendig fra etylacetat under de gitte betingelsene og har lik struktur (en etylgruppe mer enn etylacetat). Butylacetat finnes ikke i naturlig i prøven.

For å bestemme konsentrasjonen av en analytt i en prøve må det lages en kalibreringskurve. Dette gjøres ved å lage og analysere tre standardløsninger med kjent konsentrasjon av analytt (etylacetat) og internstandard (butylacetat). Toppene integreres ved hjelp av programvaren LoggerPro, slik at arealet under toppene finnes. Figur 4 viser hvordan dette ser ut i LoggerPro programvaren.



Figur 4 Kromatogrammet for en standardløsning, samt informasjon fra integrering av toppene, hvor 1 er etylacetat og 2 er butylacetat.

Deretter plottes forholdet mellom konsentrasjonen til analytten (etylacetat) og intern standarden (butylacetat) langs førsteaksen og forholdet mellom arealene til toppene langs andreaksen i et regneark. Det lages så en lineær trendlinje med tilhørende formel. Når så prøven med tilsatt internstandard analyseres, finnes forholdet mellom arealet til analytt (etylacetat) og internstandard (butylacetat) i prøven og konsentrasjonen av etylacetat i prøven kan finnes fra kalibreringskurven.

Ved en normal analyse er det alltid flere prøvereplikater, og det beregnes en middsverdi med tilhørende standardavvik. Innenfor tidsrammen for denne laboratorieoppgaven er det lagt opp til at det kun analyseres ett prøvereplikat.

Kjemikalier og Utstyr

- etylacetat
- butylacetat
- n-Heptan
- tynner 3 (Biltema)
- 10 % etylacetat i heptan «etylacetat – retensjon» laget av lærer
- 10 % butylacetat i heptan «butylacetat – retensjon» laget av lærer
- Vernier mini GC Plus tilkoblet PC med LoggerPro programvare
- 1,0 µL sprøyte
- 5 drammsglass
- 5 begerglass, 50 mL
- 4 plastdråpetellere
- vekt (analysevekt eller vekt med tre desimaler)
- vannfast tusj

Risikovurdering

Det er foretatt en risikovurdering av forsøket. Risikovurderingen legger til grunn at generelle regler for arbeid på et laboratorium overholdes. Tabell 2 viser risikovurderingen av kjemikaliene.

Tabell 2 Risikovurdering av kjemikaliene. For en utfyllende risikovurdering henvises det til tabell 4 i hovedteksten.

Kjemikalier	Faresymbol og varselord	Faresetninger	Tiltak
Etylacetat	  Fare	Meget brannfarlig væske og damp Gir alvorlig øyeirritasjon Kan forårsake døsighet eller svimmelhet	Benytt vernebriller. Benytt hansker
butylacetat	  Advarsel	Brannfarlig væske og damp Kan forårsake døsighet eller svimmelhet	Arbeidet utføres i avtrekk. Unngå bruk av åpen flamme.
n-heptan	    Fare	Meget brannfarlig væske og damp Kan være dødelig ved svelging om det kommer ned i luftveiene. Irriterer huden. Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Meget giftig, med langtidsvirkninger, for liv i vann	Samle rester i avfallsdunk for organisk avfall.
Biltemas tynner nr. 3	   Fare	Meget brannfarlig væske og damp Irriterer huden Gir alvorlig øyeirritasjon Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Kan forårsake organskader	

Ut over bruken av kjemikaliene, er det i hovedsak knyttet risiko til bruken av sprøyten. Sprøyten må behandles med varsomhet. Fare for stikkskader.

Fremgangsmåte

- Slå på en datamaskin som har installert LoggerPro programvare. Datamaskinen bør være koblet til strøm.
- Koble Vernier mini GC Plus til strøm, og slå på ved å trykke på knappen på venstre side av instrumentet.
- Koble USB kabelen fra Vernier mini GC Plus inn i en USB-port på datamaskinen.
- Ha 10 mL etylacetat, 10 mL butylacetat, 30 mL heptan og 5 mL Biltemas tynner nr. 3 i hvert sitt begerglass. Merk glassene.
- Ha en plastdråpeteller i hvert av begerglassene. Klipp eventuelt av tuppen, slik at de står i glassene.
- Bruk dråpetelleren og overfør noen mL heptan til et nytt begerglass og merk glasset «Vask – heptan»
- Åpne LoggerPro på datamaskinen.
- Trykk på «COLLECT», den grønne store knappen i toppmenyen.
- Sett inn parametere fra tabell 3, og trykk «DONE»
- Meldingen «DO NOT INJECT UNTIL GC IS READY» kommer til syne og LED lampen på instrumentet lyser rødt.
- Imens instrumentet klargjøres, vasker du sprøyten 3 - 5 ganger med heptan ved å trekke heptan opp til 0,5 µL merket og tømme sprøyten på et «kleenex» papir. Vask deretter 3 – 5 ganger med løsningen som skal injiseres. Første løsning er 10 % etylacetat i heptan. Denne løsningen er laget ferdig av lærer, og skal injiseres slik at dere kjenner retensjonstiden til etylacetat. VIKTIG! Sprøytespissen er skjør. Unngå kontakt mellom sprøytespissen og begerglasset.
- Når instrumentet er klart, står det «INJECT AND SELECT COLLECT SIMULTANEOUSLY» på PC skjermen, og LED lampen på instrumentet lyser grønt.
- Trekk opp 0,2 µL 10 % etylacetat i heptan i sprøyten, og tørk utsiden av sprøytespissen med Kleenex. VIKTIG. Ikke bøy sprøytespissen. Hold en hånd på sprøyten og en hånd på beskyttelsen som vist på bilde. Stikk sprøyten forsiktig gjennom septumet, IKKE BRUK MAK. Hvis du møter motstand roterer du litt på sprøyten mens du fører den inn.

Start temp / °C	30
Hold / min	15
Ramp °C / min	10
Slutt temp / °C	100
Hold / min	3
Trykk / kPa	6,0
Sensitivitet (på detektor)	Standard

Tabell 3 Parameterne som skal skrives inn i punkt 9

14. Når du har satt sprøyten inn i mini GC en må du sjekke at det fortsatt står «INJECT AND SELECT COLLECT SIMULTANEOUSLY» på PC skjermen og at LED lampen på instrumentet lyser grønt. Hvis ikke lar du sprøyten stå i instrumentet og trykker «CANCEL» og deretter «CANCEL». Trykk så «COLLECT» og deretter «DONE» og vent på meldingen «INJECT AND SELECT COLLECT SIMULTANEOUSLY».
15. Injiser løsningen ved å trykke stampelet på sprøyten helt ned og raskt trekke sprøyten ut av instrumentet. Trykk «COLLECT» i det du injiserer løsningen. Her lønner det seg at dere samarbeider på gruppa, slik at en elev injiserer, mens en annen elev trykker «COLLECT»
16. Den første analysen skal avbrytes etter tre minutter. Utnytt tiden til å begynne å lage kalibreringsløsningene – se punkt 21. Tabell 4 viser en oversikt over de seks løsningene som skal analyseres i denne laboratorieoppgaven.

Tabell 4 oversikt over løsninger som skal analyseres i laboratorieoppgaven, samt hvor lange analysene skal vare

Løsninger som skal analyseres	Tid / min før analysene avbrytes
10 % etylacetatløsning (etylacetat – retensjon)	3
10 % butylacetatløsning (butylacetat – retensjon)	9,5
Standard 1	9,5
Standard 2	9,5
Standard 3	9,5
Prøven	19 (hele temperaturprogrammet)

17. Trykk «STOP» i toppmenyen etter tre minutter og bekreft med å trykke STOP
18. Lagre filen på ønsket sted.
19. Klargjør instrumentet til neste analyse ved å trykke «COLLECT» og deretter «DONE».
20. Gjenta punkt 10 – 15 for løsningen 10 % butylacetat i heptan. Denne løsningen skal analyseres slik at dere kjenner retensjonstiden til butylacetat. Analysen skal stoppes etter **9,5 minutter** – se punkt 17.
21. Mens løsningen analyseres fortsetter dere å lage kalibreringsløsningene og gjøre klar prøven. For å klare å gjennomføre analysen innenfor tidsrammen er det viktig at det ikke blir opphold mellom analysene. Sett derfor i gang neste analyse med en gang den forrige er ferdig. Når dere er ferdige med å lage de tre standardløsningene og prøven fører dere tabell 5 og 6 nedenfor inn i et regneark. Sett inn alle målte verdier i feltene merket M, og regn ut verdiene i feltene merket R.

Kalibreringsløsning 1: Sett et dramsglass på vekten og tarer. Tilsett 0,350 g etylacetat og 0,400 g butylacetat ved hjelp av plastdråpetellerne. Tilsett heptan til den totale massen er 5,000 g. Noter de eksakte massene i tabell 1. Merk glasset «K1».

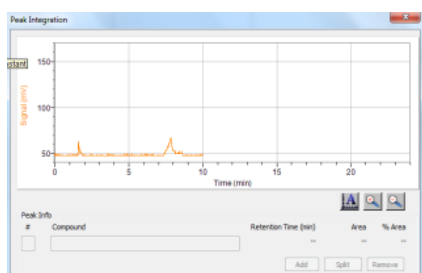
Kalibreringsløsning 2: Sett et dramsglass på vekten og tarer. Tilsett 0,400 g etylacetat og 0,400 g butylacetat ved hjelp av plastdråpetellerne. Tilsett heptan til den totale massen er 5,000 g. Noter de eksakte massene i tabell 1. Merk glasset «K2».

Kalibreringsløsning 3: Sett et dramsglass på vekten og tarer. Tilsett 0,450 g etylacetat og 0,400 g butylacetat ved hjelp av plastdråpetellerne. Tilsett heptan til den totale massen er 5,000 g. Noter de eksakte massene i tabell 1. Merk glasset «K3».

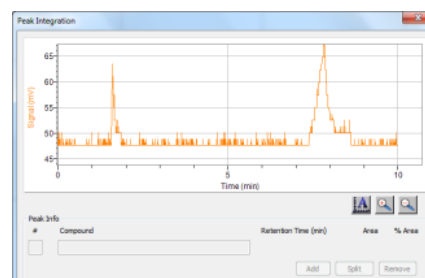
Prøven: Sett et dramsglass på vekten og tarer. Tilsett 1,250 g Biltemas tynner nr. 3 og 0,400 g butylacetat. Tilsett heptan til den totale massen er 5,000 g. Noter de eksakte massene i tabell 1. Merk glasset «Prøve»

22. Trykk «STOP» i toppmenyen etter 9,5 minutter og bekreft med å trykke STOP
23. Lagre filen mellom hver analyse.

24. Gjenta punkt 10 – 15 for de tre Kalibreringsløsningene. Alle skal stoppes etter **9,5 minutter** – se punkt 17.
25. Når alle kalibreringsløsningene er analysert, gjentar dere punkt 10 – 15 for prøven. Denne skal analyseres i **19 minutter** (hele temperaturprogrammet).
26. Nå skal dere integrere etylacetat- og butylacetatoppene i kromatogrammene til de tre kalibreringsløsningene og til prøven.
27. Velg PEAK INTEGRATION under ANALYZE i toppmenyen.
28. Velg RUN 3 (gitt at dette er kalibreringsløsning 1) og trykk OK.
29. Strekk aksene slik at du får et nærrere bilde av toppene, slik som det er vist på bildene under. Dette gjør dere ved å flytte pekeren nær utsiden av aksene. Da kan dere strekke aksene hvis pekeren befinner seg på øverste eller nederste tredjedel av aksene, og du kan flytte hele aksene hvis pekeren befinner seg på den midtre delen av aksene.

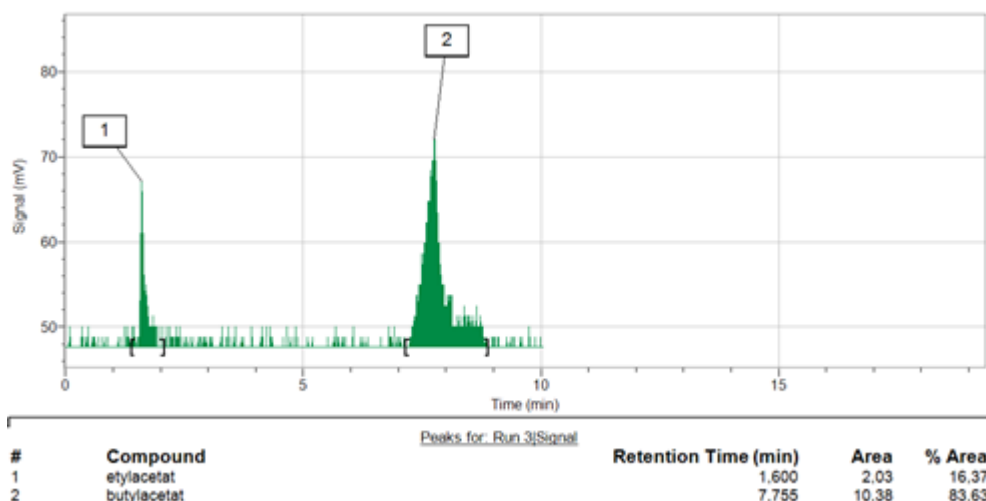


Figur 5 Opprinnelige akser



Figur 6 Akser som er strukket ut

30. Integrer ved å markere fra litt før til litt etter etylacetatoppene. Trykk «ADD» og skriv inn «etylacetat» i rubrikken under «COMPOUND». Hvis integreringen ikke ble riktig markerer du den integrerte toppen ved å trykke på den og trykker deretter på «REMOVE»
31. Merker butylacetatoppene. Trykk «ADD» og skriv butylacetat i rubrikken under COMPOUND.
32. Trykk «OK»
33. Du får nå opp en boks med informasjon om toppene som vist i figuren under. Før arealene for de to toppene inn i tabell 5 som du har laget i et regneark.



Figur 7 Informasjon fra LoggerPro etter integrering av topper

34. Gjenta punkt 27 – 33 for de to andre kalibreringsløsningene og for prøven.
35. Du er nå ferdig med å bruke LoggerPro.
36. Regn ut feltene i regnearket som er merket R2 i tabell 5 og 6 som du har laget i et regneark.

37. Lag et punktdiagram som viser A/A_{is} (y-aksen) som funksjon av C/C_{is} (x – aksen). Legg til en lineær trendlinje og velg vis formel i diagrammet og vis R^2 .
38. Bruk formelen til den lineære grafen til å regne ut C/C_{is}
39. Regn deretter ut konsentrasjonen av etylacetat i prøven
40. Regn til sist ut konsentrasjonen av etylacetat i Bilemas tynner nr. 3

Tabell 5 Regneark for laboratorieoppgaven

Analyse	Etylacetat (g)	Med tilsatt butylacetat (g)	Butylacetat (g)	Med tilsatt heptan (g)	Cetylacetat (%)	Cbutylacetat (%)	C / C _{is}	A	A _{is}	A/A _{is}
K1	M	M	R	M	R	R	R	A	A	R2
K2	M	M	R	M	R	R	R	A	A	R2
K3	M	M	R	M	R	R	R	A	A	R2

Tabell 6 Regneark for laboratorieoppgaven

Analyse	Tynner 3 (g)	Med tilsatt butylacetat (g)	Butylacetat (g)	Med tilsatt heptan (g)	Cetylacetat (%)	Cbutylacetat (%)	C / C _{is}	A	A _{is}	A/A _{is}
Prøve	M	M	R	M		R		A	A	R2

Resultater

Presenter resultatene fra analysen på en oversiktlig måte. Retensjonstider for etylacetat og butylacetat, og konsentrasjonen av etylacetat i Bilemas tynner nr. 3 må med.

Presenter også tabeller med utregningene som er gjort, og kalibreringskurven, og inkluder to figurer som viser kromatogrammer, ett av en kalibreringsløsning og ett av prøven.

Diskusjon (til ettertanke)

i) Bilemas tynner nr. 3 er en blanding av etylacetat, 2-metoksy-1-metyletylacetat, xylen og etylbenzen. Diskuter på en utfyllende måte ulike årsaker til at kromatogrammet av prøven bare viser to topper i tillegg til internstandarden (butylacetatoppet).

ii) Når en væske fordampes øker volumet omtrent med en faktor 1000.

Hvor stort volum vil løsningene som injiseres i denne laboratorieoppgaven ha på kolonnen?

Hva er det totale volumet til kolonnen?

Hvor stor andel av kolonnen er fylt med gass under analysene i denne laboratorieoppgaven?

Vedlegg 2 – Lærerveiledning til laboratorieoppgaven

Lærerveiledning til laboratorieoppgaven, slik den er tenkt utdelt til lærere i videregående skole.

Lærerveiledning – Kvantitativ bestemmelse av etylacetat i tynner med gasskromatografi

Introduksjon

Gasskromatografi er den kromatografiske metoden som gir høyest effektivitet per tidsenhet. Det er derfor en mye brukt metode i analyselaboratorier. Vernier har produsert en mini gasskromatograf(GC) som er tiltenkt bruk i videregående skole og i lavere grads høyere utdanning. I oppgaveheftet som følger med Vernier mini GC plus er det beskrevet fem elevforsøk. Da ingen av disse omhandler en kvantitativ bestemmelse kan denne laboratorieoppgaven ses på som et supplement som kan bidra til at elever i kjemi 2 blir introdusert til metoden for kvantitativ bestemmelse med gasskromatografi med internstandard. Vernier mini GC Plus er et relativt billig instrument sammenlignet med mer profesjonelle gasskromatografer. Bestemmelsen må derfor ses på som «semi» kvantitativ. Målet med laboratorieoppgaven er ikke å finne den «sanne» verdien av etylacetat i Bilemas tynner nr. 3, men å introdusere elevene til metoden som brukes for å gjøre kvantitative bestemmelser med gasskromatografi. Samtidig vil elevene få et resultat som ligger innenfor det oppgitte konsentrasjonsintervallet av etylacetat i Bilemas tynner nr. 3, som er 30 – 40 %. For detaljer om Vernier mini GC henvises det til brukermanualen som følger med instrumentet. Denne lærerveiledningen må leses som et tillegg til elevarket for laboratorieoppgaven da noe nødvendig informasjon ikke er gjengitt i begge dokumenter.

Tilknytning til læreplanen

Under hovedområdet *organisk kjemi* i Kjemi 2 finner vi følgende kompetansemål:

Målet for opplæringen er at eleven skal kunne gjøre rede for og utføre kromatografi, destillasjon og omkrystallisering.

De gjeldene lærebøkene i Kjemi 2 legger opp til at elevenes utføring av kromatografi dreier seg om separasjon og kvalitativ analyse med tynnsjikt- og papirkromatografi. Dette skyldes sannsynligvis tilgjengelighet og pris på nødvendig utstyr for å utføre slik kromatografi. Nå som det har kommet en gasskromatograf på markedet til en overkommelig pris gir dette muligheter for å introdusere gasskromatografi allerede i videregående skole, og på den måten bidra til å gjøre skolekjemien mer instrumentell.

Risikovurdering

Det er foretatt en risikovurdering av forsøket. Risikovurderingen legger til grunn at generelle regler for arbeid på et laboratorium overholdes. Tabell 1 viser risikovurderingen av kjemikaliene.

Tabell 1 Risikovurdering kjemikaliene. For utdypning av risikovurderingen henvises det til tabell 4 i hovedteksten.

kjemikalier	Faresymbol og varselord	Faresetninger	Tiltak
etylacetat	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Gir alvorlig øyeirritasjon Kan forårsake døsighet eller svimmelhet	Benytt vernebriller. Benytt hansker
butylacetat	 Advarsel	Brannfarlig væske og damp Kan forårsake døsighet eller svimmelhet	Arbeidet utføres i avtrekk. Unngå bruk av åpen flamme.
n-heptan	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Kan være dødelig ved svelging om det kommer ned i luftveiene. Irriterer huden. Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Meget giftig, med langtidsvirkninger, for liv i vann	Samle rester i avfallsdunk for organisk avfall.
Biltemas tynner nr. 3	 Fare	Meget brannfarlig væske og damp Irriterer huden Gir alvorlig øyeirritasjon Kan forårsake døsighet eller svimmelhet Kan forårsake organskader	

Ut over bruken av kjemikaliene, er det i hovedsak knyttet risiko til bruken av sprøyten. Sprøyten må behandles med varsomhet. Fare for stikkskader.

Tidsbruk

Laboratorieoppgaven er utarbeidet med tanke på at det skal være mulig å gjennomføre den på 90 minutter. Det er da helt nødvendig at elevene jobber effektivt. For at elevene skal klare å gjennomføre innenfor tidsrammen vil det være en stor fordel om de kjenner til LoggerPro programvaren, og har prøvd seg på integrering av topper på forhånd. Under selve gjennomføringen er det viktig å sørge for at det er minst mulig dødtid på gasskromatografen. Elevene må følge tidsplanen og sette i gang påfølgende analyse så fort som mulig.

Innenfor en ramme på 90 minutter vil elevene ha ca. 20 minutter til oppstarten, og til å integrere toppene. Dette er fullt mulig hvis elevene kjenner til programvaren. De mest effektive elevene vil nok også klare å utføre deler av beregningene, men det må påregnes at noen beregninger må gjøres ferdig utenom undervisningen. Tabell 2 viser en oversikt over analysene som skal gjøres med tilhørende tidsbruk.

Tabell 2 viser et tidsskjema for de ulike analysene i laboratorieoppgaven

Analyse	Tid / min	Klargjøring av GC til analysen /min
10 % etylacetat i heptan (retensjon)	3	1,5
10 % butylacetat i heptan (retensjon)	9,5	1,5
Kalibreringsløsning 1 (K1)	9,5	1,5
Kalibreringsløsning 2 (K2)	9,5	1,5
Kalibreringsløsning 3 (K3)	9,5	1,5
Prøve	19	1,5
Sum	60	9
Totalt	69	

Etter undervisningen bør læreren sette i gang en vask av kolonnen. Bruk temperaturprogrammet som er brukt i laboratorieoppgaven, og injisert 0,2 µL 10 % etylacetat i n-heptan.

Hvordan gjennomføre forsøket i en kjemi 2 klasse?

En utfordring med å bruke noe kostbar instrumentering er at mange skoler kjøper inn kun ett instrument. Dette gir noen utfordringer i forhold til gjennomføringen da det er ønskelig at to – tre elever jobber sammen i laboratorieoppgaven. Det er ikke noen ny problemstilling i videregående skole at elever må jobbe på forskjellige stasjoner fordi det eksempelvis bare finnes ett instrument, men siden bestemmelsen med gasskromatografi tar 90 minutter, må arbeidet nødvendigvis organiseres over flere skoletimer. Tas det utgangspunkt i en kjemi 2 klasse med 15 elever, kan klassen deles inn i fem grupper med tre elever i hver gruppe. Det kan lages et opplegg over en periode på 5 uker som innebefatter 5 aktiviteter som skal gjennomføres. Tabell 3 viser ett forslag til gjennomføring i en kjemi 2 klasse.

Omhandler alle de fem aktivitetene analysearbeid, vil denne organiseringen gi en sammenhengende periode med analysearbeid der det arbeides med både kvantitative og kvalitative analyser innenfor organisk og uorganisk kjemi.

Tabell 3 Forslag til hvordan undervisningen kan organiseres slik at alle elevene får jobbet med laboratorieoppgaven

Gruppe	Uke 1	Uke 2	Uke 3	Uke 4	Uke 5
1	Kvantitativ analyse - gasskromatografi	Kvalitativ analyse – uorganiske forbindelser	Kvalitativ analyse - organiske forbindelser	Kvantitativ analyse -Redokstitrering	Kvantitativ analyse - kolorimetri
2	Kvantitativ analyse - kolorimetri	Kvantitativ analyse - gasskromatografi	Kvalitativ analyse – uorganiske forbindelser	Kvalitativ analyse - organiske forbindelser	Kvantitativ analyse -Redokstitrering
3	Kvantitativ analyse -Redokstitrering	Kvantitativ analyse - kolorimetri	Kvantitativ analyse - gasskromatografi	Kvalitativ analyse – uorganiske forbindelser	Kvalitativ analyse - organiske forbindelser
4	Kvalitativ analyse - organiske forbindelser	Kvantitativ analyse -Redokstitrering	Kvantitativ analyse - kolorimetri	Kvantitativ analyse - gasskromatografi	Kvalitativ analyse – uorganiske forbindelser
5	Kvalitativ analyse – uorganiske forbindelser	Kvalitativ analyse - organiske forbindelser	Kvantitativ analyse -Redokstitrering	Kvantitativ analyse - kolorimetri	Kvantitativ analyse - gasskromatografi

Organiseringen vil kreve at læreren bruker noe tid på forhånd til å gjennomgå de fem øvelsene, og det vil også kreve en god del forberedelser til den første uken. En fordel med denne måten å organisere på er at elevene kan jobbe med instrumenter og utstyr som det ikke er nok av til at hele klassen. En annen fordel er at fra og med uke 2 vil det være noen av elevene i klassen som kjenner til alle de fem forsøkene. Dermed vil det fra og med uke 2 være mulig for elevene å spørre medelever om råd og veiledning i tillegg til at de kan spørre læreren. En del av utstyret og kjemikaliene til de ulike forsøkene kan oppbevares samlet i for eksempel bokser slik at de er lett tilgjengelige hver uke, og forberedelsestiden fra og med uke 2 blir minimal.

Forberedelser

Kjemikalier

Tabell 4 viser en oversikt over kjemikaliene som trengs for å utføre forsøket per gruppe.

Tabell 4 Mengden kjemikalier hver gruppe trenger for å gjennomføre forsøket.

Kjemikalier	Mengde per gruppe /mL
Etylacetat	5
Butylacetat	5
n-heptan	20
Biltemas tynner nr. 3.	5

Biltema har butikker over hele Norge (også i Sverige, Danmark og Finland). På denne nettsiden kan du velge varehus og sjekke lagerstatus for tynner nr. 3:

<http://www.biltema.no/no/Innkjopsliste/>

Vernier anbefaler å bruke kjemikalier med analysekvalitet (p.a.) for forlenget levetid for kolonnen.

PC

Installer LoggerPro på PC en som skal brukes sammen med mini GC en. Installer eventuelt nyeste versjon av programvaren: <http://www.vernier.com/support/updates/logger-pro/>

Mini gasskromatografen

Sett inn et nytt septum i mini GC en før den kvantitative bestemmelsen. Septa er forbruksvare og Vernier anbefaler at du bytter etter ca. 150 injeksjoner. For å unngå problemer med stabil grunnlinje under den kvantitative bestemmelsen bør det settes inn et nytt septum før hver kvantitative bestemmelse. Du kan bestille septa fra læremiddelfirmaet som leverte mini gasskromatografen.

Løsninger

Lag klar de to løsningene som elevene skal bruke til å bestemme retensjonstiden til etyl- og butylacetat. Disse lages på forhånd for at det skal være mulig for elevene å gjennomføre forsøket på 90 minutter. Er det mer tid tilgjengelig kan elevene lage disse selv. Siden konsentrasjonen i disse løsningene ikke er avgjørende for forsøket er holdbarheten relativ god.

Løsning 1: 10 % etylacetat i heptan. For eksempel 0,5 g etylacetat og 4,5 g heptan. Stor nøyaktighet i innveilingen er ikke avgjørende for denne løsningen.

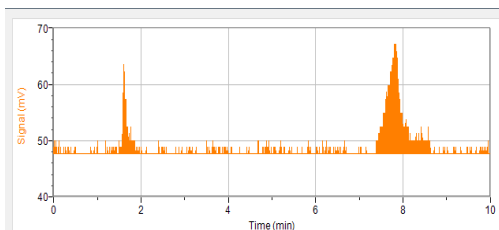
Løsning 2: 10 % butylacetat i heptan. For eksempel 0,5 g butylacetat og 4,5 g heptan. Stor nøyaktighet i innveilingen er ikke avgjørende for denne løsningen.

En beskrivelse av hvordan ulike topper bør integreres

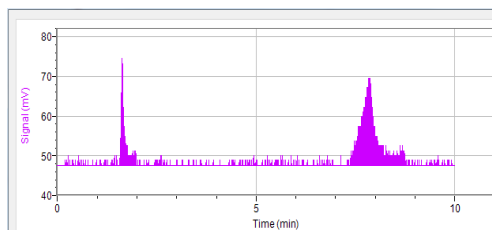
Fremgangsmåten for å integrere topper i LoggerPro er beskrevet i fremgangsmåten i elevarket. Her vises to eksempler på gjennomganger av hele forsøket.

Eksempel 1

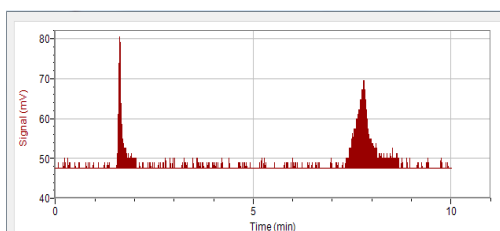
I eksempel 1 er det en stabil grunnlinje i alle analysene, og toppene kan integreres på helt lik måte både for kalibreringsløsninger og prøve. Figur 1 – 4 viser hvordan toppene skal integreres og figur 5 viser kalibreringskurven som laget på bakgrunn av kromatogrammene for de tre standardløsningene. Det er ønskelig med en rett kalibreringskurve og vi vil at denne skal ha $R^2 > 0,99$, noe den har i eksempel 1.



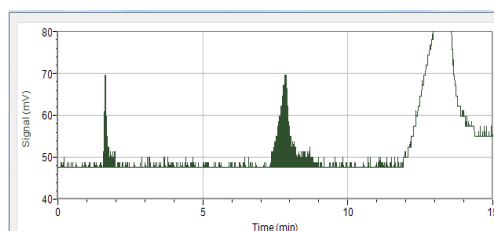
Figur 1 Integrering av toppene i kromatogrammet til K1.



Figur 2 Integrering av toppene i kromatogrammet til K2.

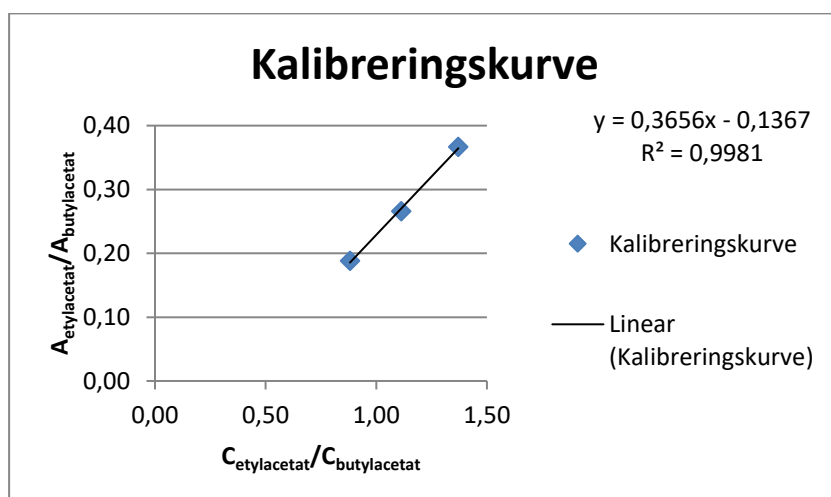


Figur 3 Integrering av toppene i kromatogrammet til K3.



Figur 4 Integrering av toppene i kromatogrammet til prøven.

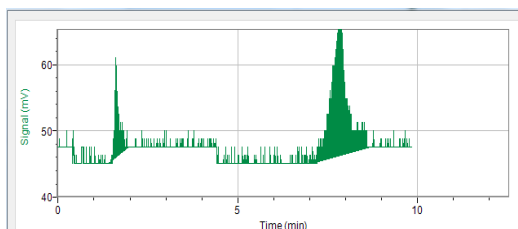
Konsentrasjonen av etylacetat i biltemas tynner nr. 3 ble ut i fra kalibreringskurven beregnet til 33,6 %



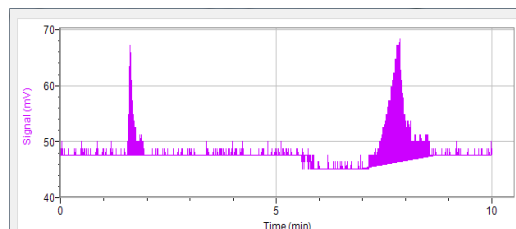
Figur 5 Kalibreringskurven som ble etablert fra analyser av de tre kalibreringsløsningene som er vist i figur 1 – 3.

Eksempel 2

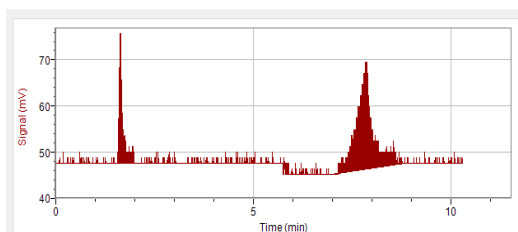
I eksempel 2 er ikke grunnlinjen like stabil som i eksempel 1. Figur 6 - 9 under viser hvordan disse toppene bør integreres, og figur 10 viser kalibreringskurven som ble etablert fra analyse av de tre kalibreringsløsningene.



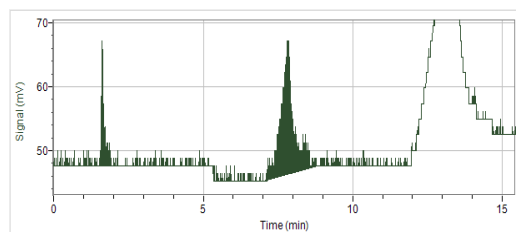
Figur 6 Integrering av toppene i kromatogrammet til K1.



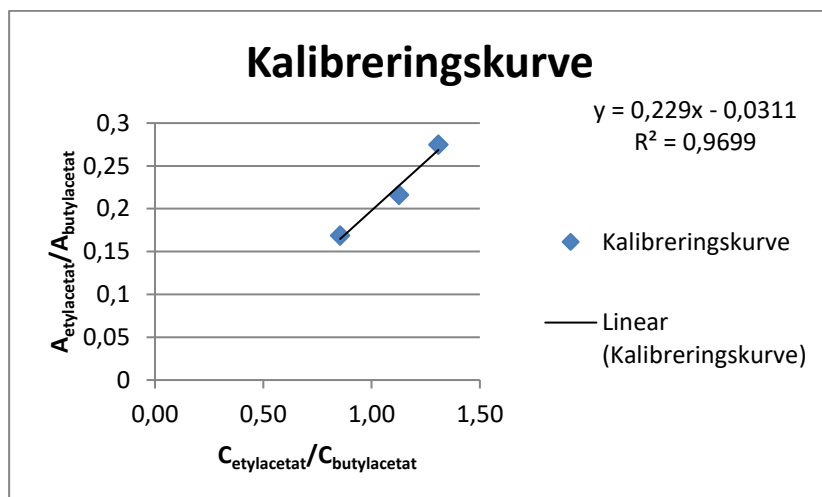
Figur 7 Integrering av toppene i kromatogrammet til K2.



Figur 8 Integrering av toppene i kromatogrammet til K3.



Figur 9 Integrering av toppene i kromatogrammet til prøven.



Figur 10 Kalibreringskurven for de tre kalibreringsløsningene vist i figur 6 – 8.

Konsentrasjonen av etylacetat i biltemas tynner nr. 3 ble ut i fra standardkurven beregnet til 33,3 %

Som vi ser avviker ikke det endelige resultatet så veldig mye fra eksempel 1, men kalibreringskurven er ikke like bra, med en $R^2 \approx 0,97$. I eksempel 2 må etylacetattoppen i kromatogrammet for K1 integreres på en annen måte enn de andre etylacetattoppene. I en

situasjon der flere topper må integreres på ulike måter vil usikkerheten knyttet til kalibreringskurven nødvendigvis bli enda større, og hvis noen av toppene i kromatogrammet til prøven må integreres på en annen måte enn det som er gjort for kalibreringsløsningene vil dette også føre til større usikkerhet i bestemmelsen. Hvordan ulike topper skal integreres er en velkjent problemstilling ved instrumentell kromatografi og dette vil elevene møte igjen hvis de velger å studere kjemi på universitetet.

Om usikkerheten i bestemmelsen vil bli stor for enkelte elever gjør ikke dette noe. Forsøket er ikke utarbeidet med tanke på at elevene skal finne denne «sanne» verdien av etylacetat i Bilemas tynner nr. 3, men at de skal bli introdusert til metoden som brukes for å gjøre kvantitative bestemmelser med gasskromatografi.

Internstandard

De små prøvevolumene som introduseres på kolonnen i gasskromatografi er ikke repeterbare, og det brukes derfor alltid en internstandard i GC analyser. Det lages en kalibreringskurve på bakgrunn av analyser av kalibreringsløsninger med kjent konsentrasjon av analytt (A) og internstandard (IS) der forholdet mellom konsentrasjonen av analytt og intern standard plottes mot forholdet mellom arealene under toppene til analytt og intern standard

Forslag til hvordan beregningene kan gjøres i Excel

Forslaget tar utgangspunkt i gjennomkjøringen av forsøket som er vist i eksempel 1 i beskrivelsen av hvordan integrere topper. Etter at toppene er integrert fås informasjonsbokser som vist i figur 11.

Peaks for: Run 4 Signal				
#	Compound	Retention Time (min)	Area	% Area
1	Peak 1	1,600	1,49	15,77
2	Peak 2	7,800	7,93	84,23
Peaks for: Run 5 Signal				
#	Compound	Retention Time (min)	Area	% Area
1	Peak 1	1,630	2,54	20,99
2	Peak 2	7,830	9,56	79,01
Peaks for: Run 6 Signal				
#	Compound	Retention Time (min)	Area	% Area
1	Peak 1	1,625	3,30	26,80
2	Peak 2	7,790	9,00	73,20
Peaks for: Latest Signal				
#	Compound	Retention Time (min)	Area	% Area
1	Peak 1	1,620	2,44	19,47
2	Peak 2	7,830	10,07	80,53

Figur 11 Data fra LoggerPro etter at etylacetat og butylacetattoppene i standardløsningen og prøven er integrert.

Forholdet mellom arealene til etylacetat toppen og butylacetat toppen i standardløsningene regnes så ut, og plottes som en funksjon av forholdet mellom konsentrasjonene. I tabell 5 og 6 vises tabellen elevene skal fylle ut i Excel. I rutene merket M fyller elevene inn massene når de lager kalibreringsløsninger og prøve, og rutene merket R regnes ut. Etter at elevene har integrert etyl- og butylacetat toppene fyller de inn arealene av toppene i rutene merket A, og deretter regner de ut rutene merket R2. Deretter bruker de formelen fra kalibreringskurven til å beregne C/C_{is} i prøven, og deretter regner de ut C (etylacetat) i prøven. Prøven er fortynnet så det siste elevene gjør er å regne ut konsentrasjonen av etylacetat i Biltoma tynner nr. 3. I tabell 7 og 8 vises beregningene gjort på eksempel 1, og i tabell 9 og 10 vises formlene i tabell 7 og 8. Figur 5 viser kalibreringskurven for standardløsningene.

Tabell 5 Tabell knyttet til kalibreringsløsningene som elevene skal fylle ut gjennom forsøket

Analyse	Etylacetat (g)	Med tilsatt butylacetat (g)	Butylacetat (g)	Med tilsatt heptan	Cetylacetat / (%)	Cbutylacetat / (%)	C / C _{is}	A	A _{is}	A/A _{is}
K1	M	M	R	M	R	R	R	A	A	R2
K2	M	M	R	M	R	R	R	A	A	R2
K3	M	M	R	M	R	R	R	A	A	R2

Tabell 6 Tabell knyttet til prøven som elevene skal fylle ut gjennom forsøket

Analyse	Tynner 3 (g)	Med tilsatt butylacetat (g)	Butylacetat (g)	Med tilsatt heptan	Cetylacetat (%)	Cbutylacetat (%)	C / C _{is}	A	A _{is}	A/A _{is}
Prøve	M	M	R	M		R		A	A	R2

Tabell 7 Beregninger på kalibreringsløsningene som er gjort i Excel i forbindelse med eksempel 1

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
4	Analyse	Etyl- acetat (g)	med butyl- acetat (g)	butylacetat (g)	med heptan (g)	C (%)	Cis (%)	C/Cis	A	Ais	A/Ais
5	K1	0,349	0,745	0,396	5,008	6,97	7,91	0,881	1,49	7,93	0,19
6	K2	0,453	0,86	0,407	5,006	9,05	8,13	1,113	2,54	9,56	0,27
7	K3	0,547	0,946	0,399	4,998	10,94	7,98	1,371	3,30	9,00	0,37

Tabell 8 Beregninger på prøven som er gjort i excel i forbindelse med eksempel 1

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1 0	Analyse	Tynner nr. 3 (g)	med butyl- acetat (g)	butyl- acetat (g)	med heptan (g)	C (%)	Cis (%)	C/Cis	A	Ais	A/Ais
1 1	prøve	1,248	1,653	0,405	5,002	8,394	8,0968	1,037	2,44	10,07	0,24

Tabell 9 Formlene i tabell 7

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
4	Analyse	etyl- acetat (g)	med butyl- acetat (g)	butyl- acetat (g)	med heptan (g)	C (%)	Cis (%)	C/Cis	A	Ais	A/Ais
5	K1	0,349	0,745	=D5-C5	=5,008	=C5/F5*100	=E5/F5 *100	=G5/H5	1,49	7,93	=J5/ K5
6	K2	0,453	0,86	=D6-C6	5,006	=C6/F6*100	=E6/F6 *100	=G6/H6	2,54	9,56	=J6/ K6
7	K3	0,547	0,946	=D7-C7	4,998	=C7/F7*100	=E7/F7 *100	=G7/H7	3,3	9	=J7/ K7

Tabell 10 Formlene i tabell 8

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1 0	Analyse	Tynner (g)	med butyl- acetat (g)	butyl- acetat (g)	med heptan (g)	C (%)	Cis (%)	C/Cis	A	Ais	A/Ais
1 1	prøve	1,248	1,653	=D11- C11	5,002	=I11* H11	=E11/F11 *100	=(L11+0,1367) /0,3656	2,44	10,07	=J11/ K11

Om diskusjonen (til ettertanke)

I elevarket står det følgende:

Biltemas tynner nr. 3 er en blanding av etylacetat, 2-metoksy-1-metyletylacetat, xylen og etylbenzen. Til tynneren tilsetter vi i tillegg heptan og butylacetat.

Diskuter på en utfyllende måte ulike årsaker til at kromatogrammet av prøven bare viser tre topper.

Her er tanken at elevene kan diskutere på en utfyllende måte hva som kan være mulige årsaker til at det bare kommer ut tre topper. Mulige årsaker kan være: i) at det er lite etylbenzen i blandingen og at dette muligens er for lav konsentrasjon til at det kan detekteres med denne detektoren. ii) At detektoren er selektiv og ikke ser aromatene når det er innstilt på

standard sensitivitet. Iii) At kolonnen er upolar og derfor separer ut i fra stoffenes kokepunkter. 2-metoksy-1-metyletylacetat, xylen og etylbenzen har svært like kokepunkter. iv) Detektoren er selektiv og har ingen respons på helt upolare forbindelser som hydrokarboner. Den kan derfor ikke «se» n-heptan.

Vedlegg 3 – Rådata fra gjennomføring av den kvantitative bestemmelsen

Rådata fra gjennomføring av den kvantitative bestemmelsen som er beskrevet i kapittel 4.4

Tabell 1 viser en oversikt over alle analysene som ble gjennomført i den kvantitative bestemmelsen som er beskrevet i kapittel 4.4. Volumet av hver løsning var på 10,0 g og injeksjonsvolumet på 0,2 µL. Temperaturprogrammet som ble brukt er vist i tabell 2. Kalibreringsløsning 4 ble analysert tre ganger. Tabell 3 - 6 viser rådata for kalibreringsløsninger og prøver basert på den første gjennomgangen av kalibreringsløsning 4, og figur 1 viser kalibreringskurven. Figur 2 – 10 viser kromatogrammene fra gjennomgangen av den kvantitative bestemmelsen med første gjennomgang av kalibreringsløsning 4.

Tabell 1 Oversikt over analysene som ble gjennomført i den kvantitative bestemmelsen av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3

Analyse	Tid	Sammensetning (masseprosent)
Etylacetat – retensjon	5	10 % etylacetat i n-heptan
Butylacetat – retensjon	10	8 % butylacetat i n-heptan
Kalibreringsløsning 1	10	7 % etylacetat, 8 % butylacetat i n-heptan
Kalibreringsløsning 2	10	8 % etylacetat, 8 % butylacetat i n-heptan
Kalibreringsløsning 3	10	9 % etylacetat, 8 % butylacetat i n-heptan
Kalibreringsløsning 4	10	10 % etylacetat, 8 % butylacetat i n-heptan
Prøvereplikat 1	25	25 % tynner nr. 3, 8 % butylacetat i n-heptan
Prøvereplikat 2	25	25 % tynner nr. 3, 8 % butylacetat i n-heptan
Prøvereplikat 3	25	25 % tynner nr. 3, 8 % butylacetat i n-heptan
Kalibreringsløsning 4 - andre gjennomgang	10	10 % etylacetat, 8 % butylacetat i n-heptan
Kalibreringsløsning 4 - tredje gjennomgang	10	10 % etylacetat, 8 % butylacetat i n-heptan

Tabell 2 Temperaturprogrammet som ble brukt i den kvantitative bestemmelsen av etylacetat i Biltemas tynner nr. 3.

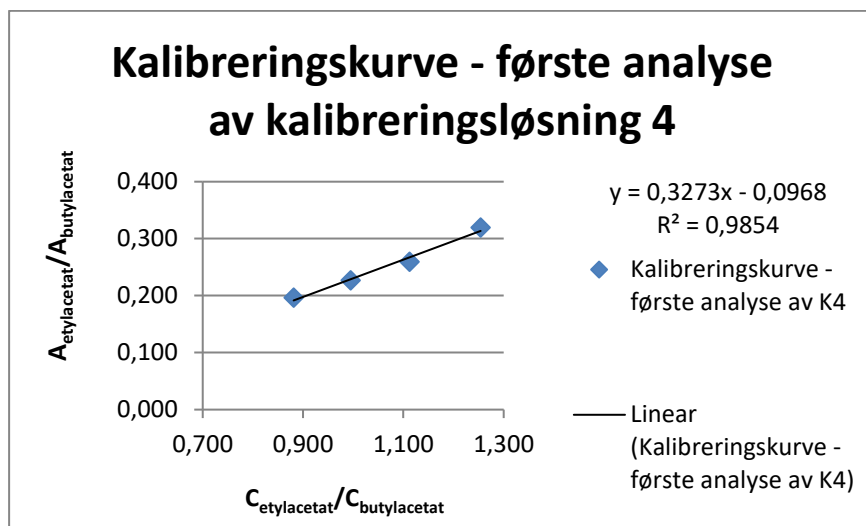
Start temperatur (°C)	30
Hold (min)	10
Lineær temperaturstigning (°C/min)	10
Slutt temperatur (°C)	100
Hold (min)	8
Trykk (kPa)	6,0
Sensitivitet (detektor)	Standard

Tabell 3 Rådata fra analyser av kalibreringsløsningene ved første gjennomgang av kalibreringsløsning 4.

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
2	Analyse	etylacetat (g)	butylacetat (g)	totalt (g)	C (%)	Cis (%)	C/Cis	A	Ais	A/Ais
3	K1	0,705	0,800	10	7,05	8,00	0,881	2,04	10,4	0,196
4	K2	0,800	0,804	10,002	8,00	8,04	0,995	2,37	10,46	0,227
5	K3	0,899	0,808	10,001	8,99	8,08	1,11	2,86	11,03	0,259
6	K4	1,002	0,799	10,002	10,0	7,99	1,25	3,32	10,4	0,319

Tabell 4 Formler brukt til beregninger i tabell 3.

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
		Etyl- acetat (g)	Butyl- acetat (g)							
2	Analyse	(g)	(g)	totalt (g)	C (%)	Cis (%)	C/Cis	A	Ais	A/ Ais
3	K1	0,705	0,8	10	=C3/E3*100	=D3/E3*100	=F3/G3	2,04	10,4	=I3 /J3
4	K2	0,8	0,804	10,002	=C4/E4*100	=D4/E4*100	=F4/G4	2,37	10,46	=I4 /J4
5	K3	0,899	0,808	10,001	=C5/E5*100	=D5/E5*100	=F5/G5	2,86	11,03	=I5 /J5
6	K4	1,002	0,799	10,002	=C6/E6*100	=D6/E6*100	=F6/G6	3,32	10,4	=I6 /J6



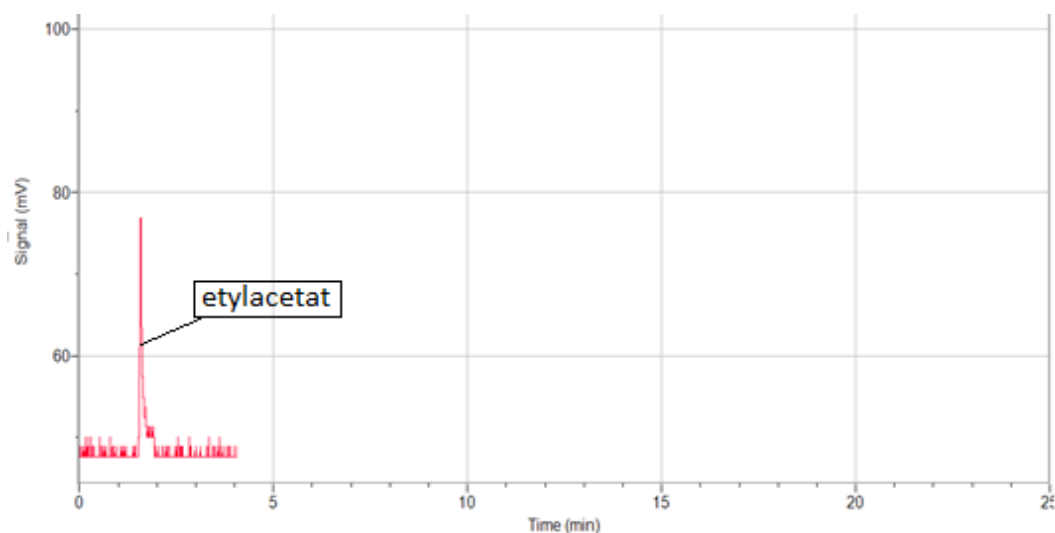
Figur 1 Kalibreringskurve fra første gjennomgang av kalibreringsløsning 4

Tabell 5 Rådata fra analyser av prøvene.

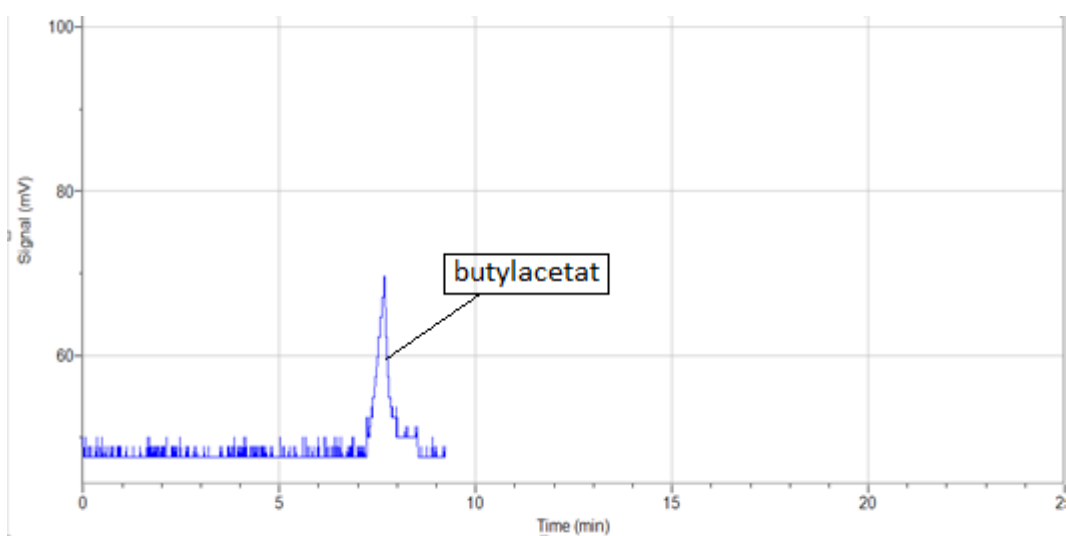
	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
9	Analyse	Tynner 3 (g)	Butyl- acetat (g)	totalt (g)	Ctynner (%)	Cis (%)	A	Ais	A/Ais	C/Cis	Cetyl- acetat i prøve (%)	Cetylacetat i tynner(%)
10	Prøve- replikant 1	2,499	0,806	9,998	24,99	8,06	2,53	11,29	0,224	0,98	7,90	31,6
11	Prøve- replikant 2	2,503	0,803	10,015	24,99	8,02	2,77	11,92	0,232	1,006	8,06	32,3
12	Prøve- replikant 3	2,502	0,799	9,999	25,02	7,99	2,54	11,41	0,223	0,976	7,80	31,2

Tabell 6 Formler brukt i tabell 5.

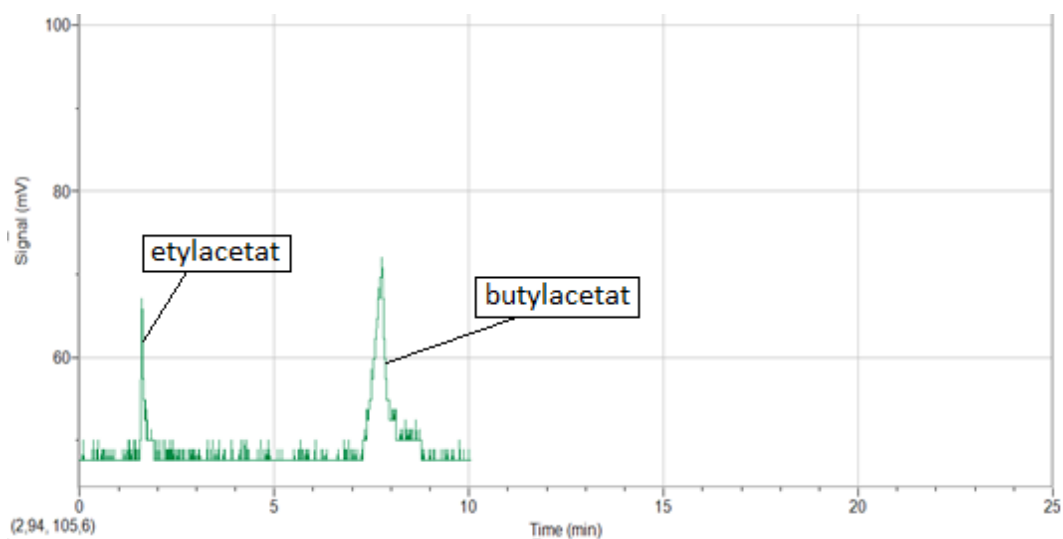
	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
9	Analyse	Tynner 3 (g)	Butyl- acetat (g)	totalt (g)	Ctynner (%)	Cis (%)	A	Ais	A/Ais	C/Cis	Cetylacetat i prøve(%)	Cetyl- acetat i tynner (%)
10	Prøve- replikant 1	2,499	0,806	9,998	=C10 /E10 *100	=D10 /E10 *100	2,53	11,29	=H10/ I10	=(J10+0,0968) /0,3273	=K10* G10	=L10 *100 /F10
11	Prøve- replikant 2	2,503	0,803	10,015	=C11 /E11 *100	=D11 /E11 *100	2,77	11,92	=H11/ I11	=(J11+0,0968) /0,3273	=K11* G11	=L11 *100 /F11
12	Prøve- replikant 3	2,502	0,799	9,999	=C12 /E12 *100	=D12 /E12 *100	2,54	11,41	=H12/ I12	=(J12+0,0968) /0,3273	=K12* G12	=L12 *100 /F12



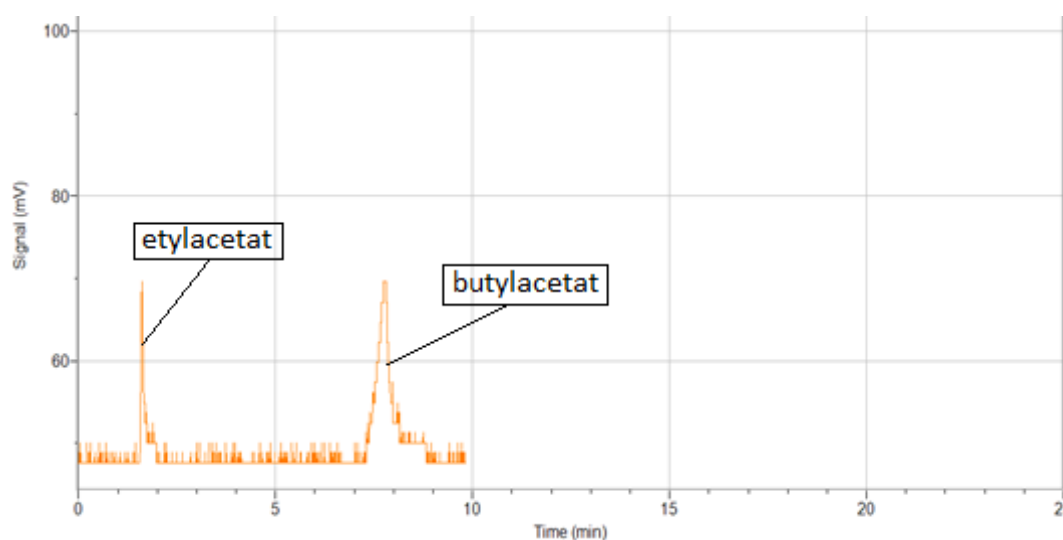
Figur 2 Kromatogram fra analyse av løsningen for å bestemme retensjonstiden til etylacetat. Isoterm separasjon på 30 °C i fire minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



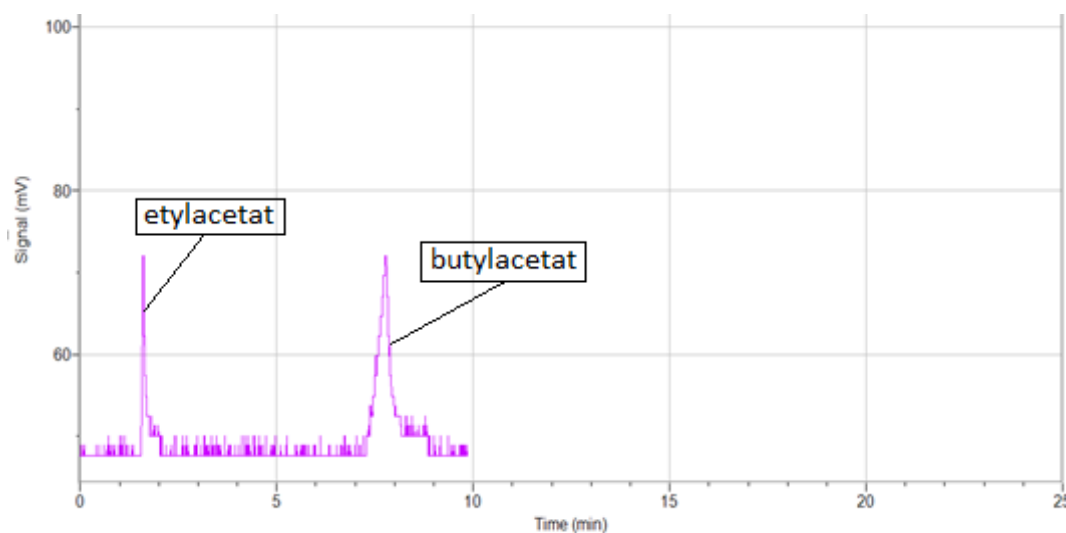
Figur 3 Kromatogram fra analyse av løsningen for å bestemme retensjonstiden til butylacetat. Isoterm separasjon på 30 °C i 10 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



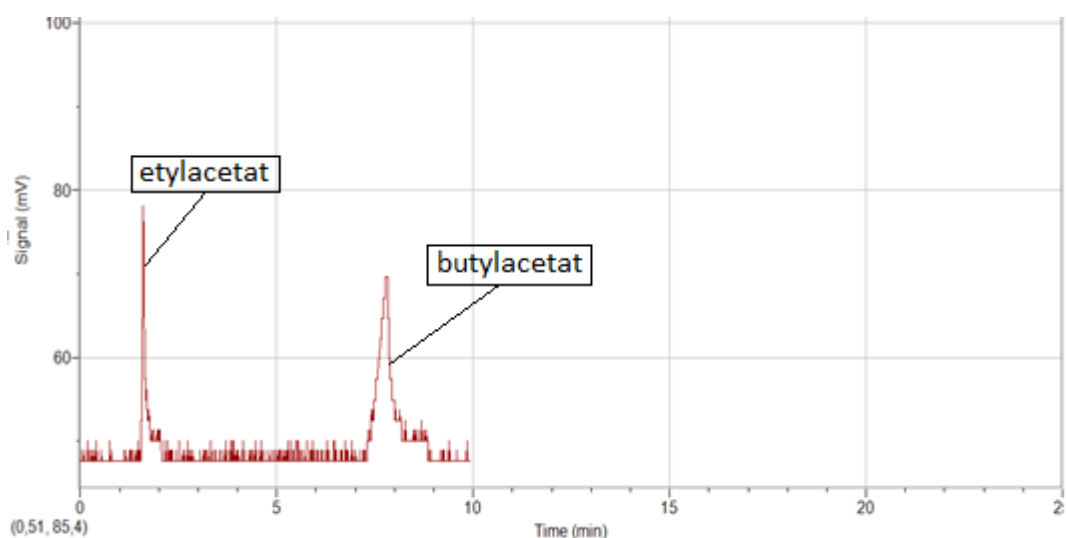
Figur 4 Kromatogram fra analyse av kalibreringsløsning 1. Isoterm separasjon på 30 °C i 10 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



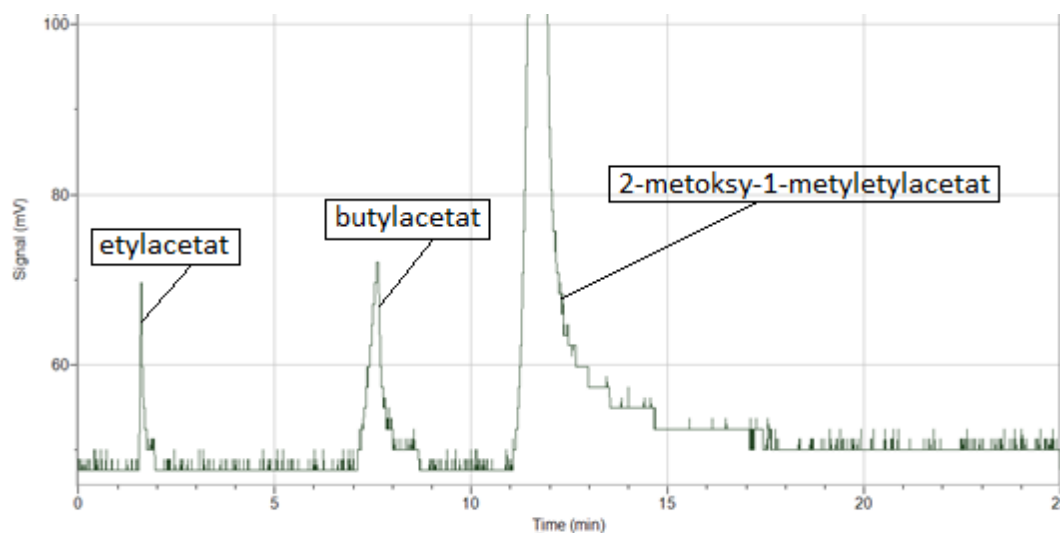
Figur 5 Kromatogram fra analyse av kalibreringsløsning 2. Isoterm separasjon på 30 °C i 10 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



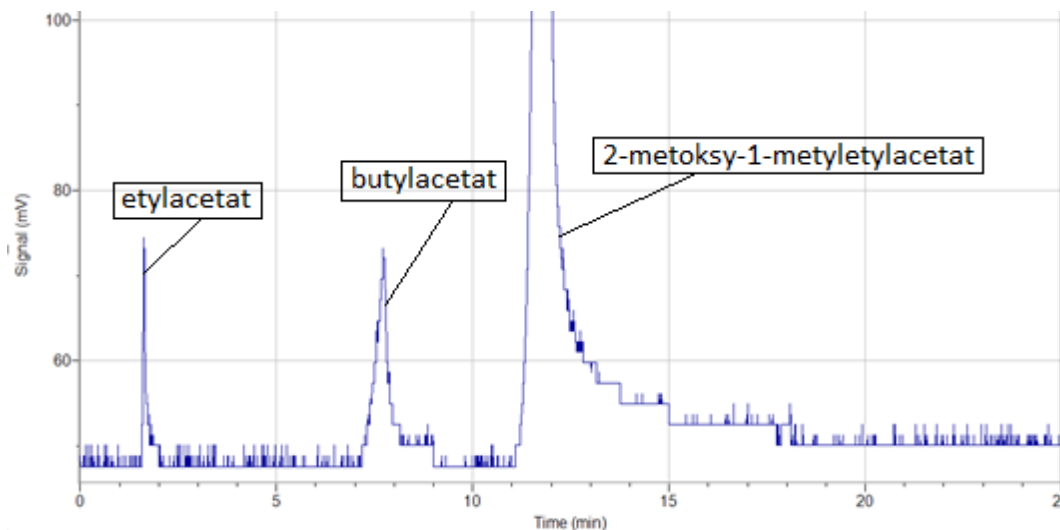
Figur 6 Kromatogram fra analyse av kalibreringsløsning 3. Isoterm separasjon på 30 °C i 10 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



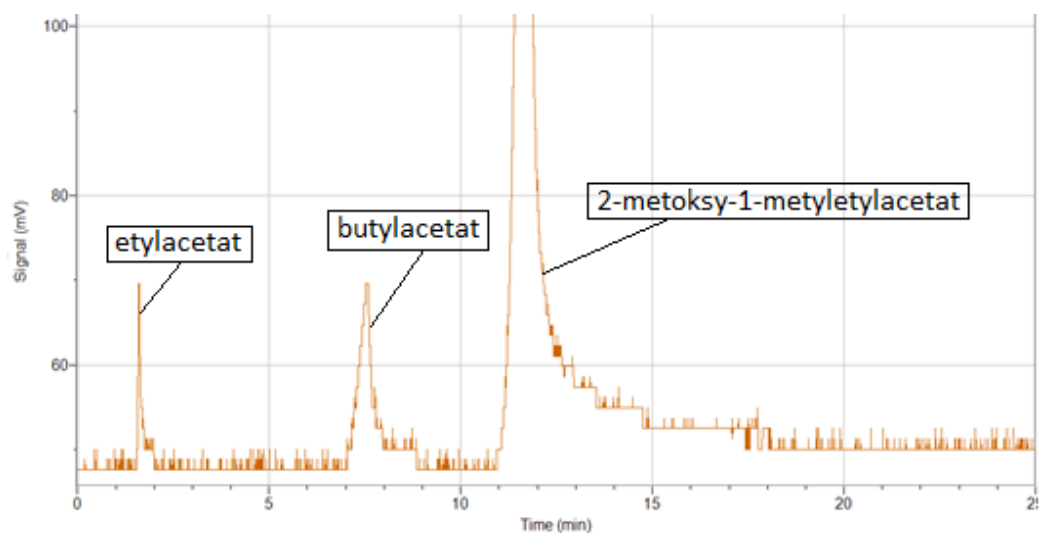
Figur 7 Kromatogram fra analyse av kalibreringsløsning 4. Isoterm separasjon på 30 °C i 10 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobilfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



Figur 8 Kromatogram fra analyse av prøvereplikat 1. Temperaturprogrammet hadde en starttemperatur på 30 °C som ble holdt stabil i 10 minutter. Deretter en lineær temperaturøkning på 10 °C /min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til en total analysetid på 25 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobulfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



Figur 9 Kromatogram fra analyse av prøvereplikat 2. Temperaturprogrammet hadde en starttemperatur på 30 °C som ble holdt stabil i 10 minutter. Deretter en lineær temperaturøkning på 10 °C /min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til en total analysetid på 25 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobulfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.



Figur 10 Kromatogram fra analyse av prøvereplikat 3. Temperaturprogrammet hadde en starttemperatur på 30 °C som ble holdt stabil i 10 minutter. Deretter en lineær temperaturøkning på 10 °C /min til 100 °C. Denne temperaturen ble holdt til en total analysetid på 25 minutter. Injeksjonsvolum 0,2 µL. Trykket på kolonnen var på 6,0 kPa over atmosfærisk trykk, noe som tilsvarer en mobulfasehastighet på 3,2 mL / min. Detektoren var satt på standard sensitivitet.