

Pelatihan gas chromatography mass spectrometry (GC/MS)

Chandra W Purnomo

Outline

- Dasar – dasar kromatografi
- Gas chromatography (GC)
- Mass spectrometry (MS)

Dasar – dasar Chromatography (KROMATOGRAFI)

Pengertian

Chromatography (kromatografi) adalah cara analisis yang paling umum dan paling berdaya guna bila dibandingkan dengan alat-alat analisis yang lain.

Prosesnya merupakan proses dinamis meliputi dua fase yang tidak dapat bercampur, satu merupakan fase bergerak (*mobile phase*) dan yang lain merupakan fase diam (*stationary phase*).

Fase bergerak: berupa gas (untuk GC/gas chromatography) atau cairan (untuk LC/liquid chromatography)

Fase diam: -butiran padatan atau

-butiran padatan berongga

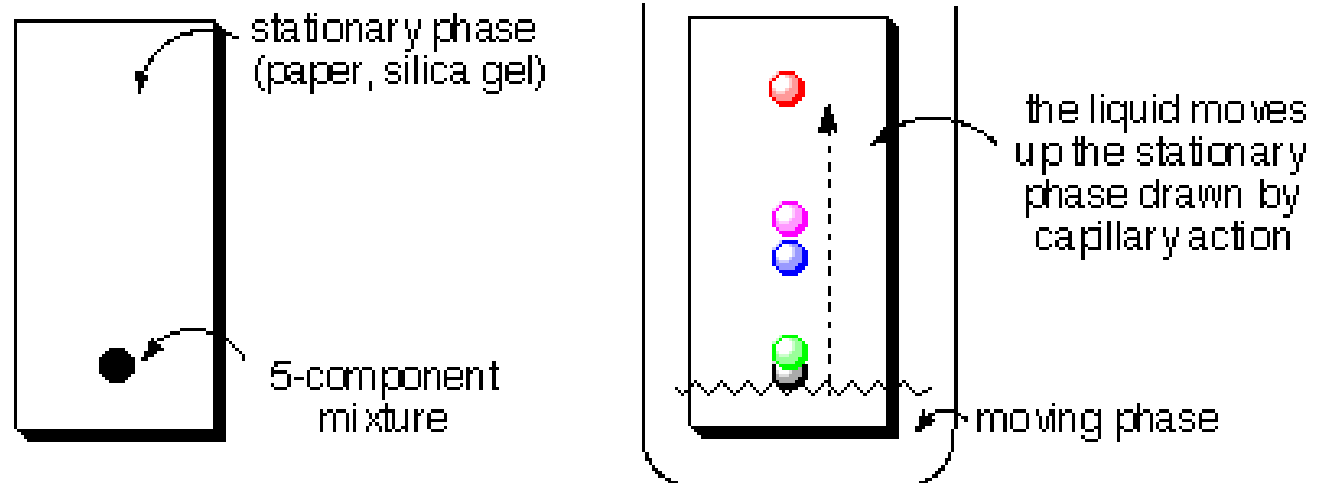
-atau lapisan tipis cairan yang disangga oleh padatan

Fase diam ini berada dalam kolom.

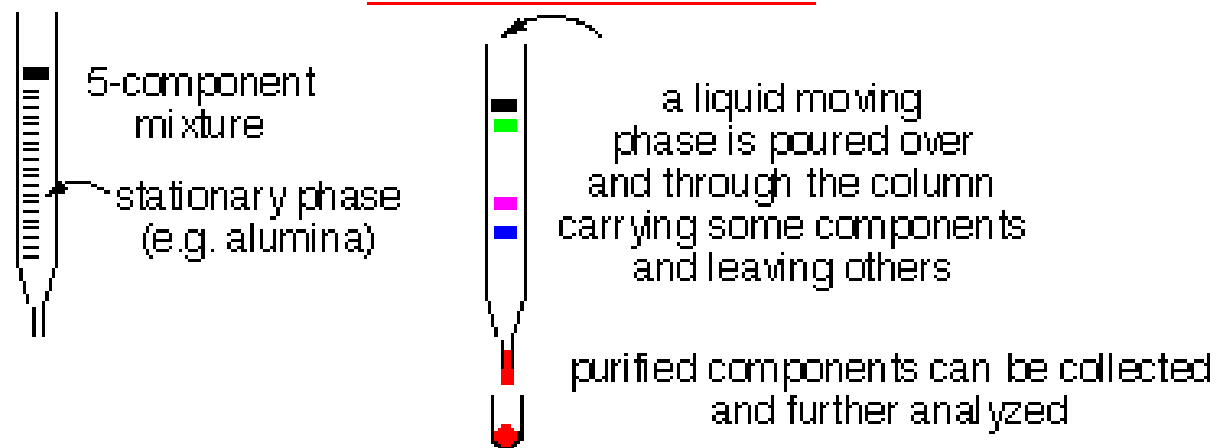
JENIS-JENIS KROMATOGRAFI

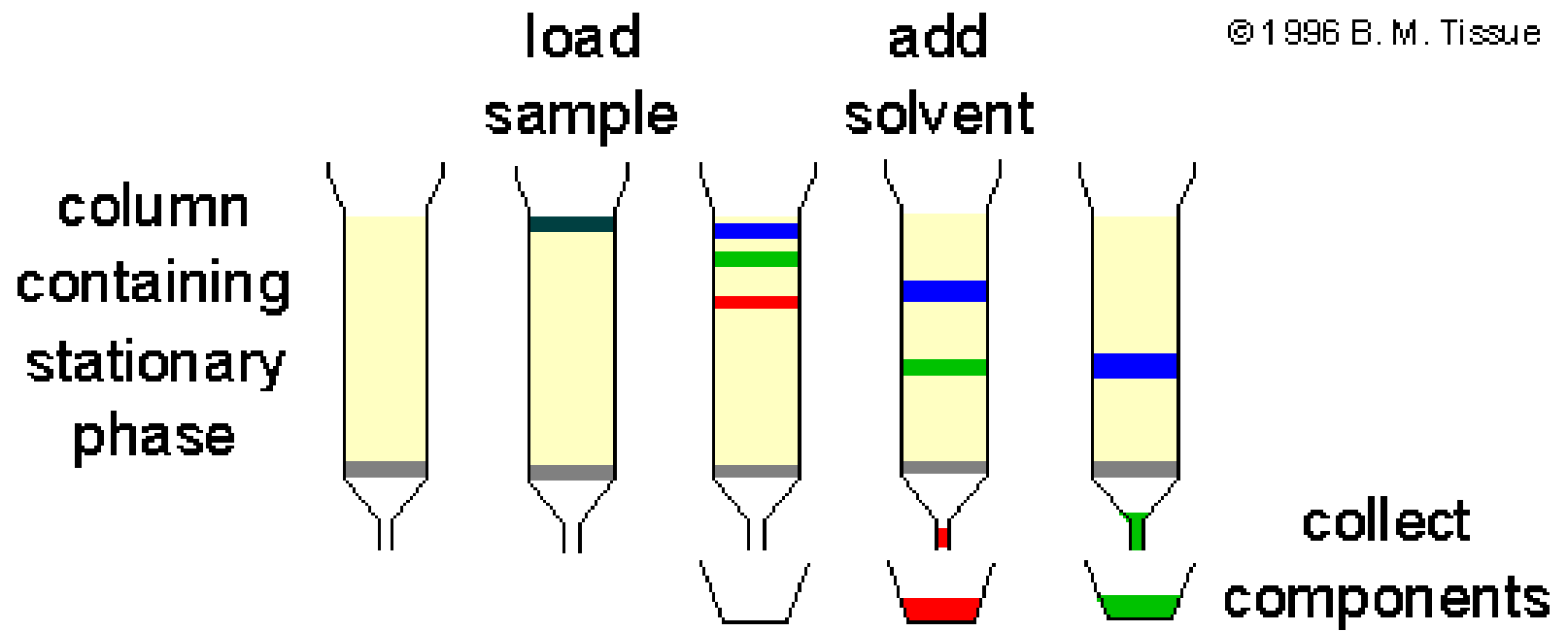
- *Gas Chromatography* (GC)
- *Liquid Chromatography* (LC)
 - *Paper Chromatography* (PG)
 - *Thin-layer Chromatography* (TLC)
 - *Column chromatography*

Example of paper or thin layer chromatography

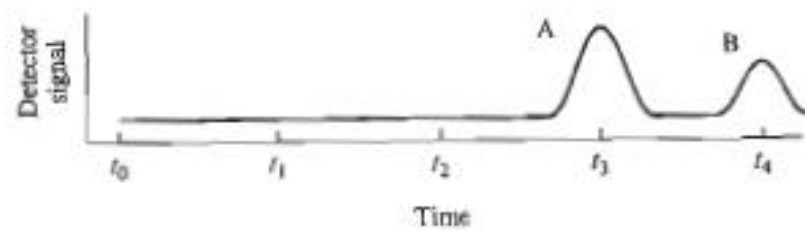
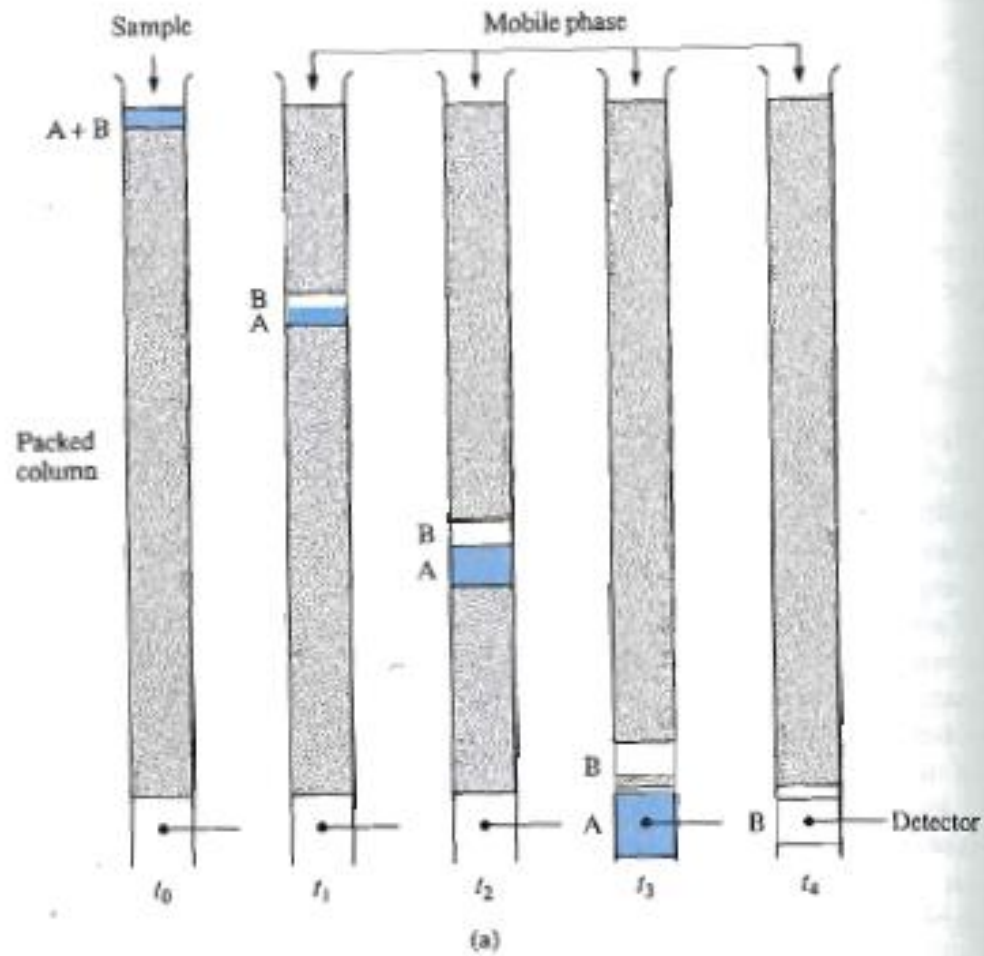


Example of column chromatography

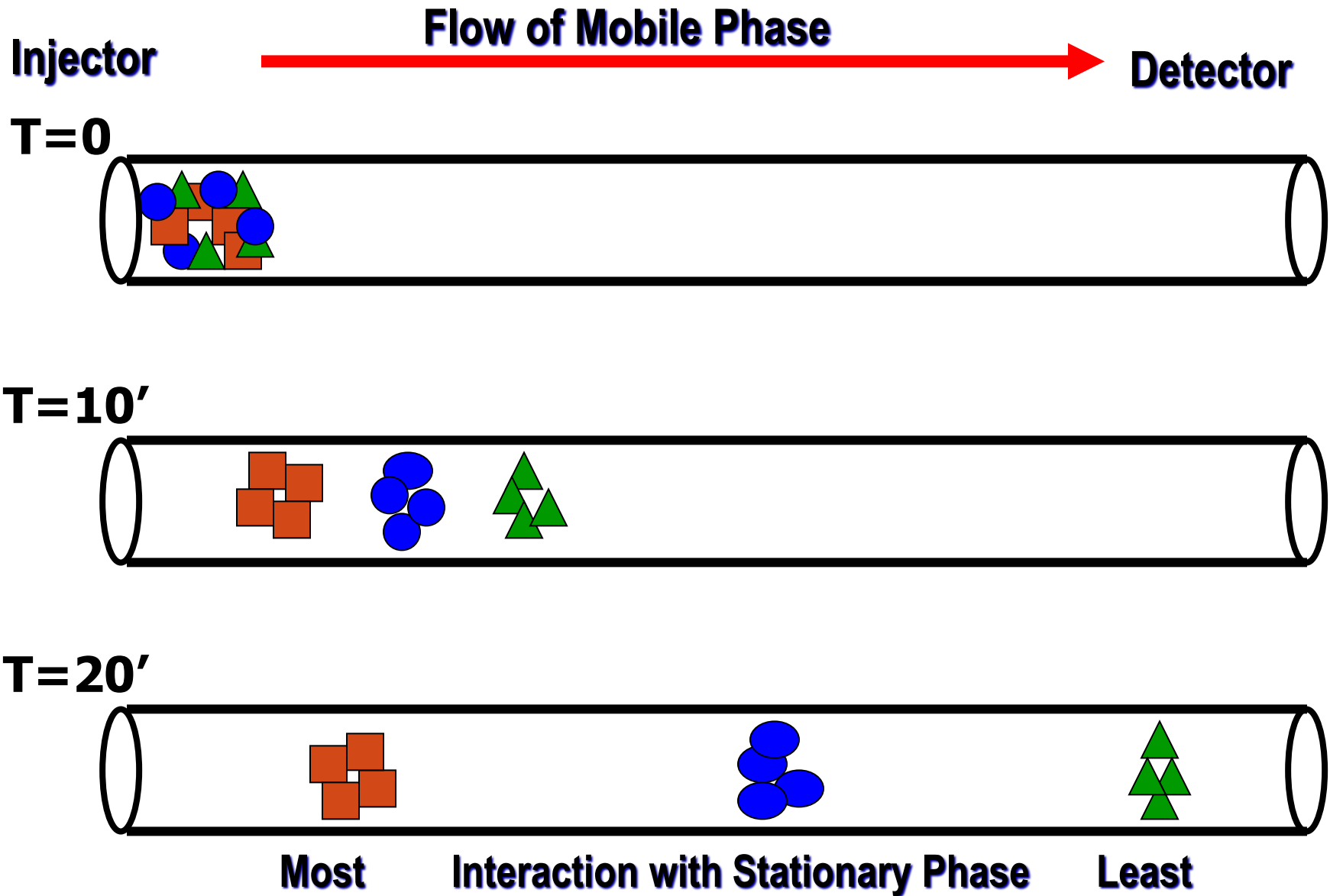




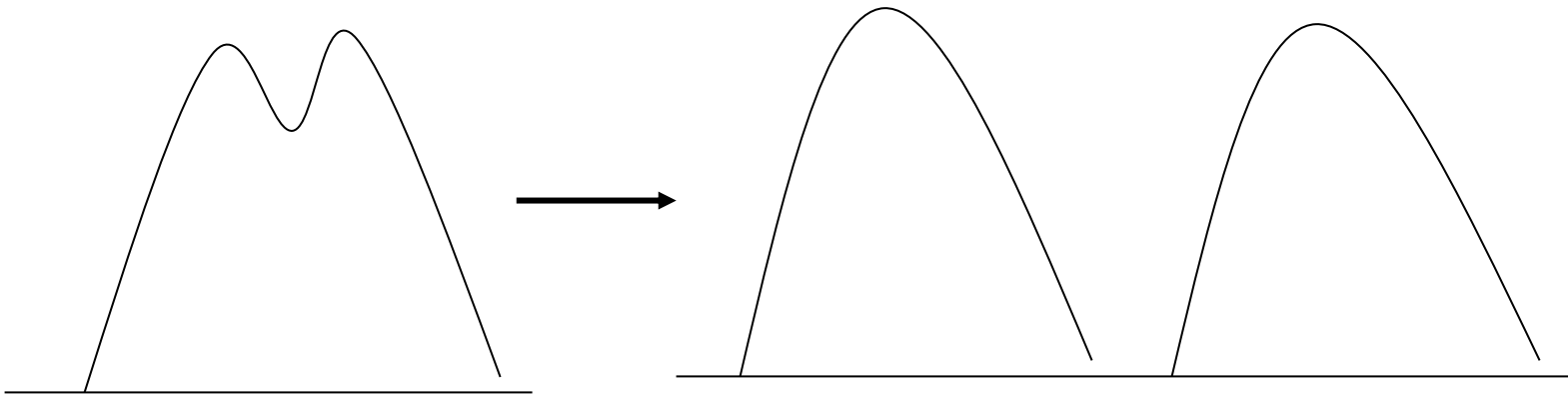
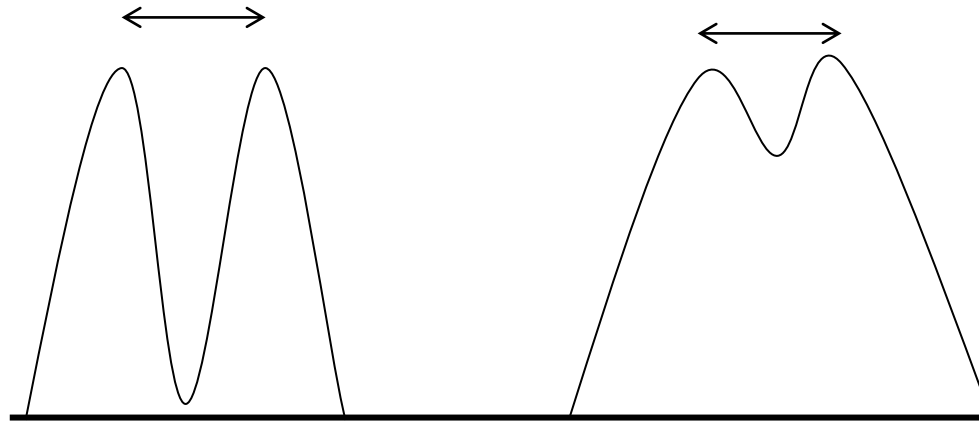
- Pemisahan zat-zat dalam sampel semakin baik kalau fase diam yang dilewatinya semakin panjang.
- Jadi, kolom yang panjang cenderung memberikan resolusi puncak/*peak* yang baik.
- Supaya terjadi pemisahan yang baik, maka sampel harus disuntikkan ke kolom dalam jumlah yang kecil dan tidak menyebar, sehingga semua komponen mulai mengalir dari pangkal kolom pada waktu yang sama.



- Fase diam dan fase bergerak harus dipilih agar ada perbedaan “interaksi /solubility” masing-masing komponen dalam sampel di tiap fase.
- Komponen yang “mudah berinteraksi” dengan fase diam akan lebih lambat melewati kolom dibandingkan komponen yang “lebih sulit berinteraksi” dengan fase diam tetapi “mudah berinteraksi” dalam fase bergerak.
- Dengan perbedaan mobilitas ini, komponen dalam sampel akan terpisah satu sama lain pada saat bergerak melalui fase diam.



Separation of Peaks



Retention (waktu tinggal)

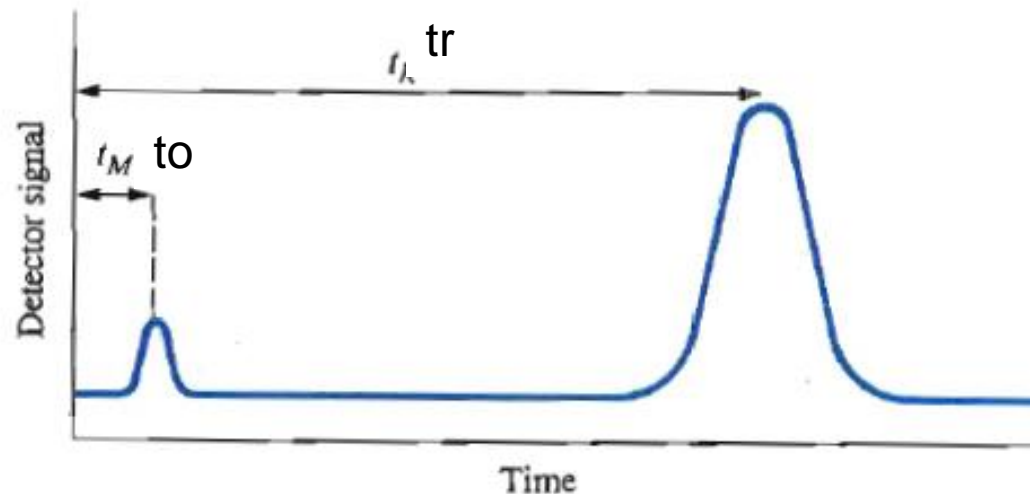
$$k = (t_r - t_o) / t_o$$

t_r = the retention time

t_o = the dead time

Semakin besar nilai k maka analit akan tinggal lebih lama didalam kolom. Semakin lama waktu tinggal maka peak akan semakin lebar.

The dead time (t_o) is the time it takes for an un retained species to pass through a column.



Selektifitas

$$\alpha = k_B/k_A$$

Faktor selektifitas α adalah indikasi seberapa baik campuran dipisahkan. Semakin besar nilai α berarti semakin besar perbedaan retention time sehingga semakin baik pemisahannya.



Efisiensi

Efisiensi adalah istilah yang biasa digunakan untuk mendeskripsikan lebar peak. Efisiensi tinggi akan menghasilkan peak yang sempit.

Untuk menjelaskan efisiensi dari suatu kolom dipakai “number of theoretical plates” atau N

$$N = L/H$$

L = panjang kolom

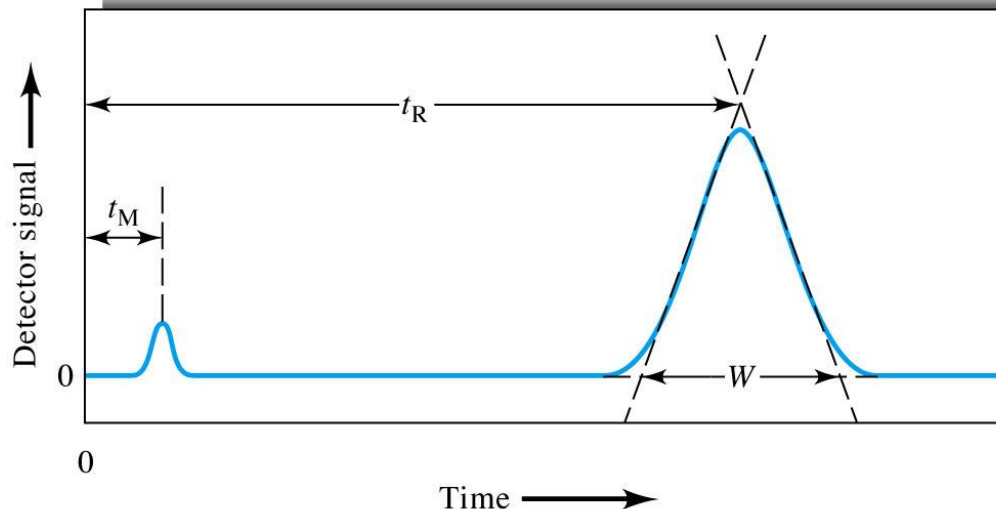
H = tinggi plat

N pada tataran praktis

N dapat diukur dari peaks pada kromatogram dan dihitung dengan rumus berikut

$$N = 5.54 \left(\frac{t_r}{W_{1/2}} \right)^2$$

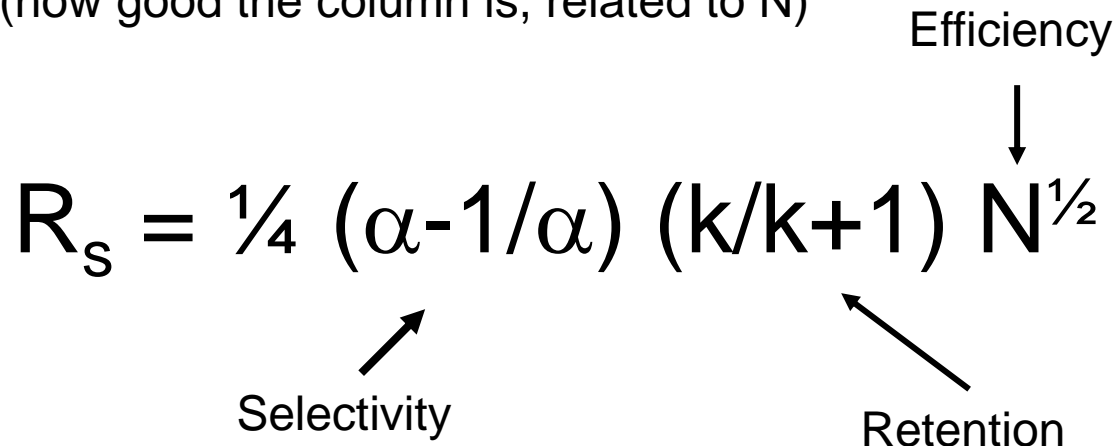
$W_{1/2}$, the width of peak at half its maximum height



Resolusi

Tujuan dari kromatografi adalah memisahkan komponen-komponen dalam campuran. Pemisahan atau jarak dari dua peak dikenal dengan **resolusi** dan merupakan fungsi dari 3 faktor yaitu:

1. **retention** (the time it takes for the analytes to elute, related to k),
2. **selectivity** (how different the analytes are from each other and related to α)
3. **efficiency** (how good the column is, related to N)

$$R_s = \frac{1}{4} (\alpha - 1/\alpha) (k/k+1) N^{1/2}$$


Efficiency

Selectivity

Retention

$R_s = 1.0$, dua peaks overlap sekitar 4%.

$R_s < 1.0$ indicate peaks that overlap,

$R_s \geq 1.5$, peaks terpisah sempurna

Resolusi (R_s)

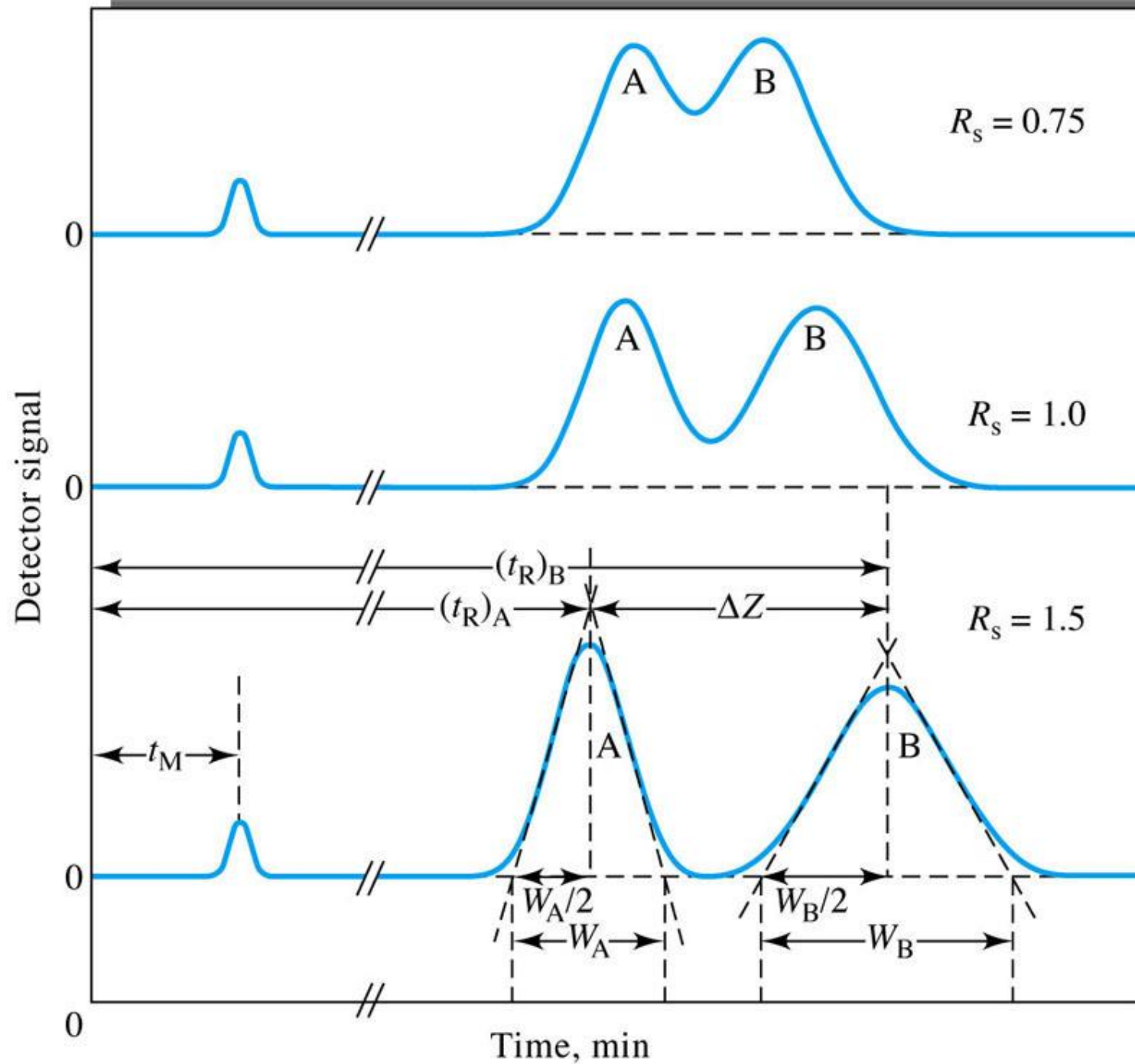
R_s dapat dihitung dari pengukuran langsung dari peak retention times (t_R) dan measured lebar peak (w).

$$R_s = 2 (t_{R-B} - t_{R-A}) / (w_{b-A} + w_{b-B})$$

A dan B adalah 2 peak dari dua komponen berbeda

t_R = retention time

w_b = the peak width pada dasar peak



Kembali pada N....

$$N = L/H$$

Nilai H bergantung dari 4 faktor:

- 1) Kecepatan mobile phase,
- 2) Eddy diffusion atau multipath diffusion,
- 3) Diffusi dari campuran dalam mobile phase
- 4) Transfer campuran antara stationary phase dan mobile phase.

H - Theoretical Plate Height

The van Deemter equation

$$H = A + B/u + (C_s + C_m) u$$

u = kecepatan linear rata-rata mobile phase

$A \rightarrow$ mewakili multipath diffusion

$B/u \rightarrow$ longitudinal diffusion

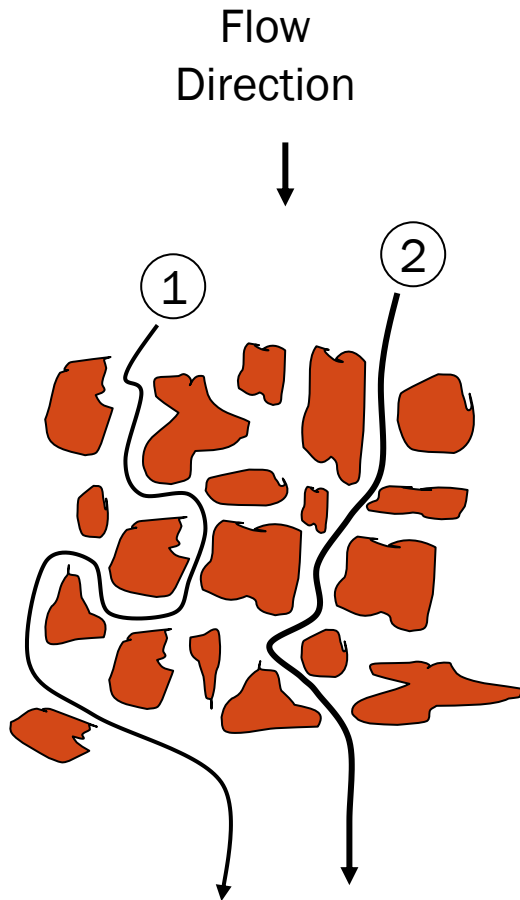
$C_s \rightarrow$ mass transfer pada stationary phase

$C_m \rightarrow$ mass transfer pada mobile phase

TABLE 26-3 Processes That Contribute to Band Broadening

| Process | Term in Equation 26-23 | Relationship to Column* and Analyte Properties |
|--|------------------------|--|
| Multiple flow paths | A | $A = 2\lambda d_p$ |
| Longitudinal diffusion | B/u | $\frac{B}{u} = \frac{2\gamma D_M}{u}$ |
| Mass transfer to and from stationary phase | $C_S u$ | $C_S u = \frac{f(k)d_f^2}{D_S} u$ |
| Mass transfer in mobile phase | $C_M u$ | $C_M u = \frac{f'(k)d_p^2}{D_M} u$ |

A Multipath



- Efek penyebaran tergantung dari material yang tersusun didalam kolom serta cara packing material dalam kolom tersebut.
- Faktor diatas secara umum berkaitan dengan ukuran butir material isian
- Faktor ini (A) harus diperhitungkan dalam kolom bahan isian, tetapi untuk pipa kapiler A tidak perlu diperhitungkan karena tidak ada bahan isian didalam pipa kapiler.

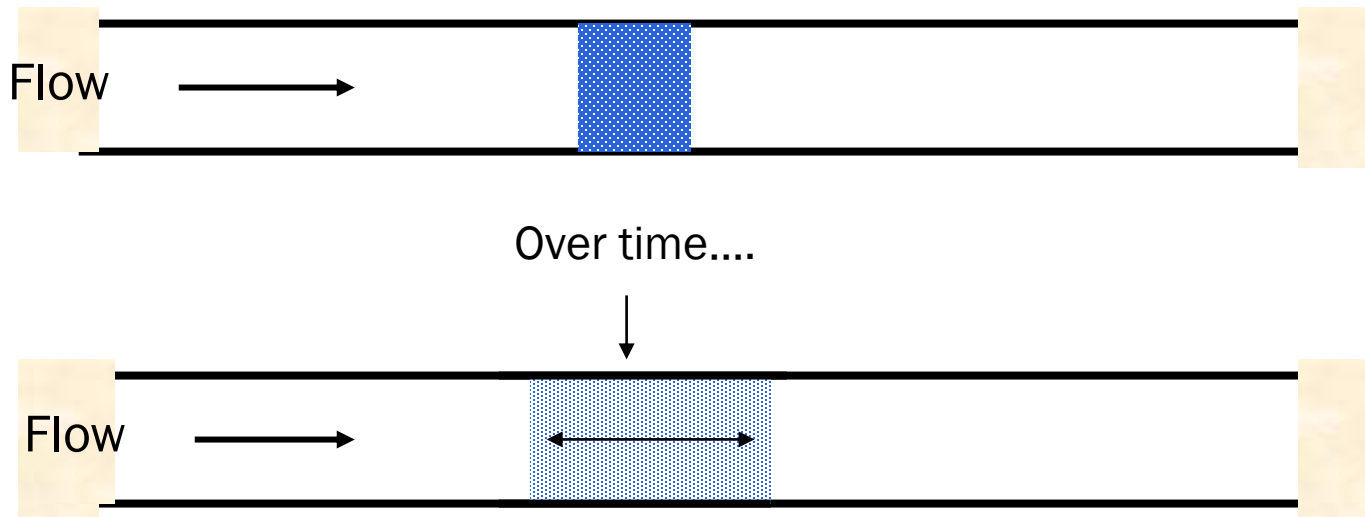
Pathways of two molecules during elution. Distance traveled by molecule 1 is longer than that traveled by molecule 2, thus molecule 1 will take longer to elute.

B Longitudinal Diffusion

Pada kecepatan aliran rendah, difusi longitudinal (B) memiliki efek negatif terhadap resolusi, tetapi bisa dianbaikan pada kecepatan tinggi.

Difusi ini sangat penting pada gas kromatografi dibanding pada liquid chromatography..

Molecules diffuse from areas of high concentration to areas of low concentration.

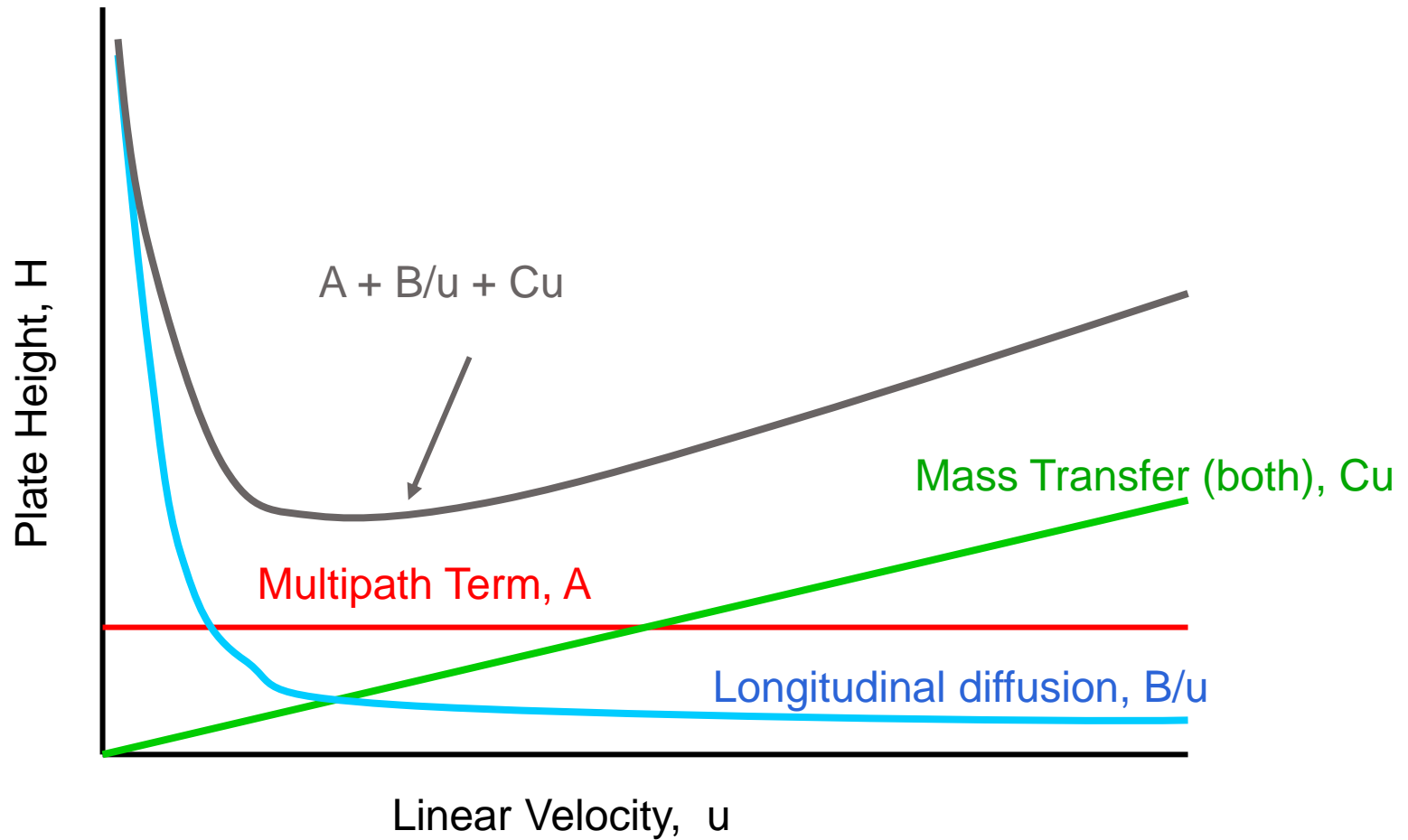


Mass Transfer C_s & C_m

Equilibrium between the mobile and stationary phases is never realized

- Analit membutuhkan waktu untuk berpindah dari fasa mobil ke fasa statis.
- Karena kesetimbangan tidak tercapai, sebagian analit akan tersapu didepan pita/band utama.
- Juga diperlukan waktu untuk molekul melepaskan diri dari fasa statis sehingga sebagian dari molekul analit akan tertinggal dibelakang.
- Semakin cepat fasa mobil mengalir, semakin sedikit waktu untuk terjadinya kesetimbangan sehingga akan berpengaruh terhadap pelebaran peak.

van Deemter Plot



The Effect of Retention and Selectivity Factors on Resolution

Relationship between the resolution of a column and the retention factors k'_A and k'_B for two solutes, the selectivity factor, and the number of plates

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} (\alpha - 1) \left(\frac{k'}{1+k'} \right)$$

$$N = 16R_s^2 \left(\frac{1}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1+k'}{k'} \right)^2$$

Where k' is the average of k'_A and k'_B

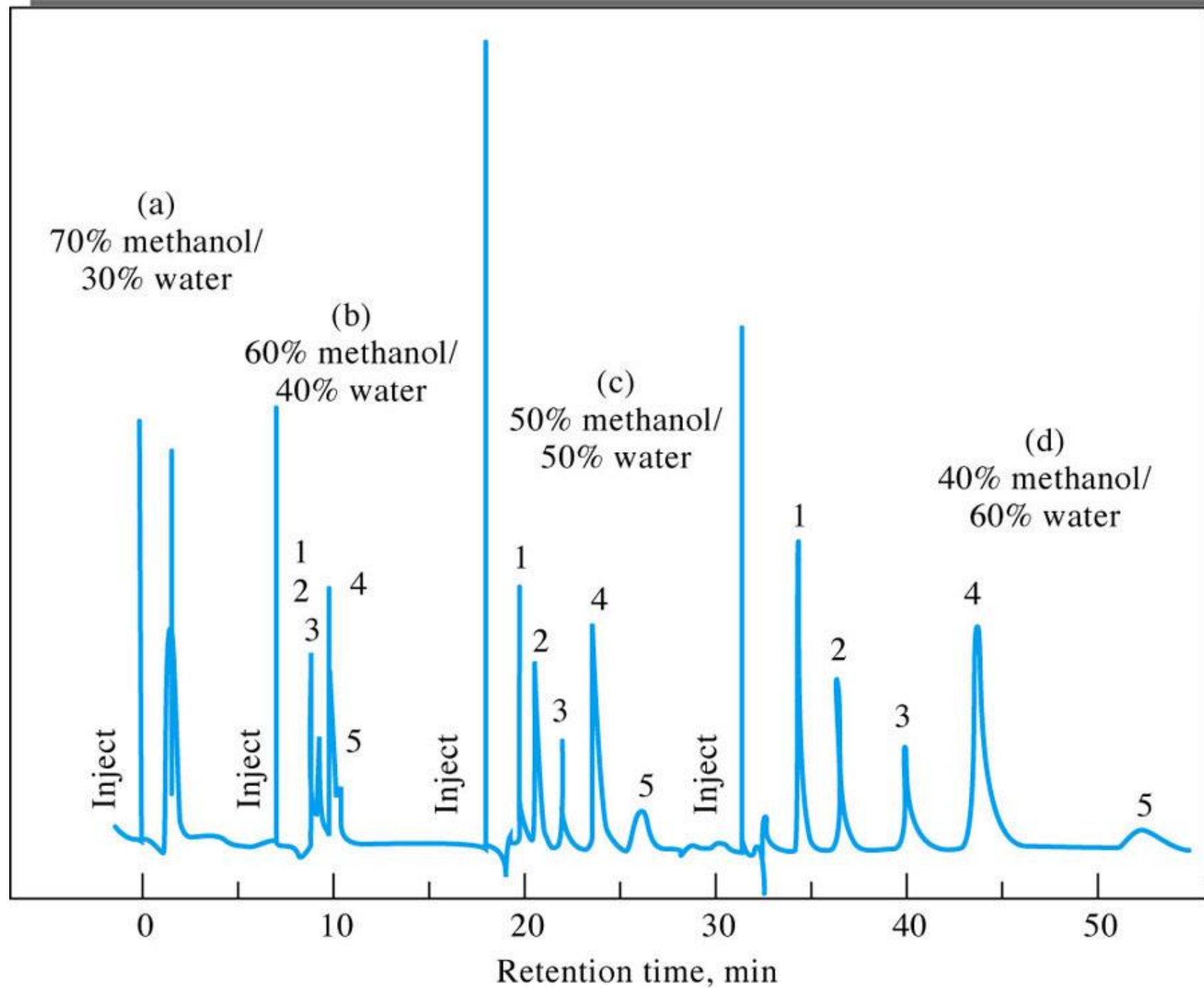
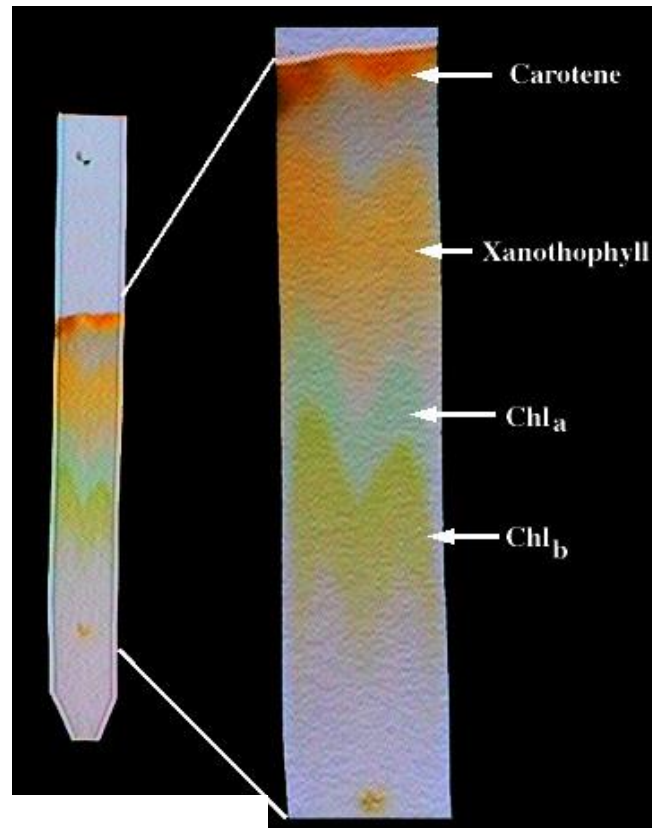
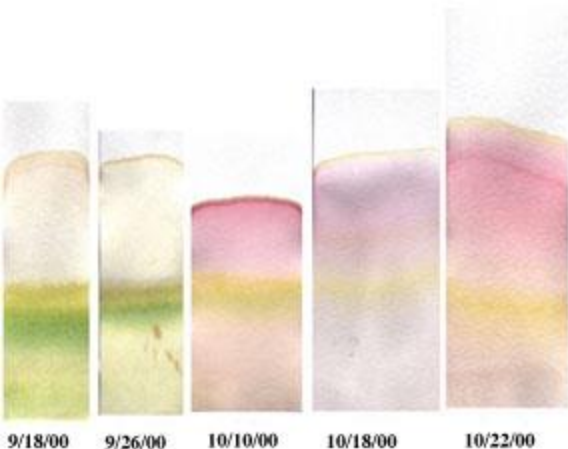


TABLE 26-5 Important Derived Quantities and Relationships

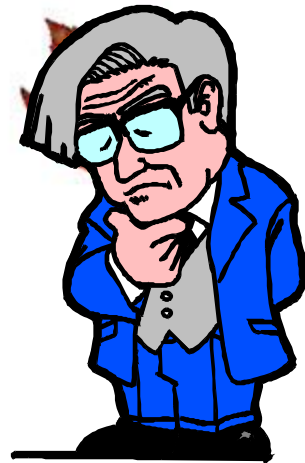
| Name | Calculation of Derived Quantities | Relationship to Other Quantities |
|------------------------------|---|--|
| Linear mobile-phase velocity | $u = \frac{L}{t_M}$ | |
| Volume of mobile phase | $V_M = t_M F$ | |
| Retention factor | $k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$ | $k = \frac{KV_S}{V_M}$ |
| Distribution constant | $K = \frac{kV_M}{V_S}$ | $K = \frac{c_S}{c_M}$ |
| Selectivity factor | $\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}$ | $\alpha = \frac{k_B}{k_A} = \frac{K_B}{K_A}$ |
| Resolution | $R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B}$ | $R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_B}{1 + k_B} \right)$ |
| Number of plates | $N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$ | $N = 16 R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k_B}{k_B} \right)^2$ |
| Plate height | $H = \frac{L}{N}$ | |
| Retention time | $(t_R)_B = \frac{16 R_s^2 H}{u} \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \frac{(1 + k_B)^3}{(k_B)^2}$ | |



Michael Tswett (1872–1919), a Russian botanist, discovered the basic principles of column chromatography. He separated plant pigments by eluting a mixture of the pigments on a column of calcium carbonate. The various pigments separated into colored bands; hence the name chromatography.



Red Maple



Gas Chromatography (GC)

GAS CHROMATOGRAPHY (GC)

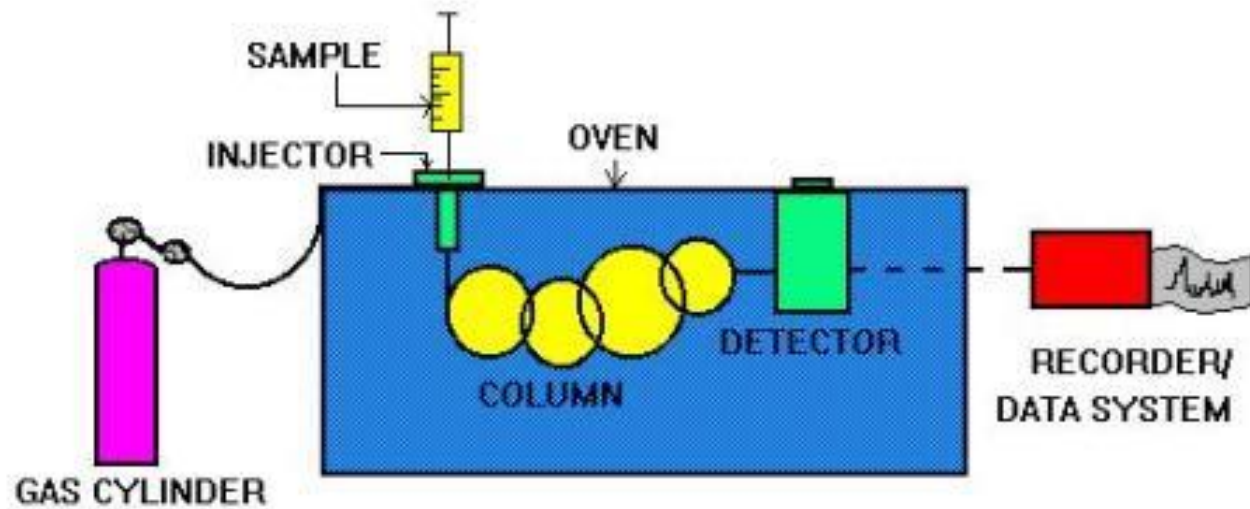
Dari semua cara analisis yang ada, GC merupakan alat yang paling banyak digunakan untuk analisis sampel, terutama analisis kuantitatif sampel-sampel dengan kandungan zat organik.

Dengan GC kandungan zat dalam sampel dapat ditentukan dengan cepat dan mudah.

GAS CHROMATOGRAPHY



GAS CHROMATOGRAPHY



PRINSIP KERJA GC

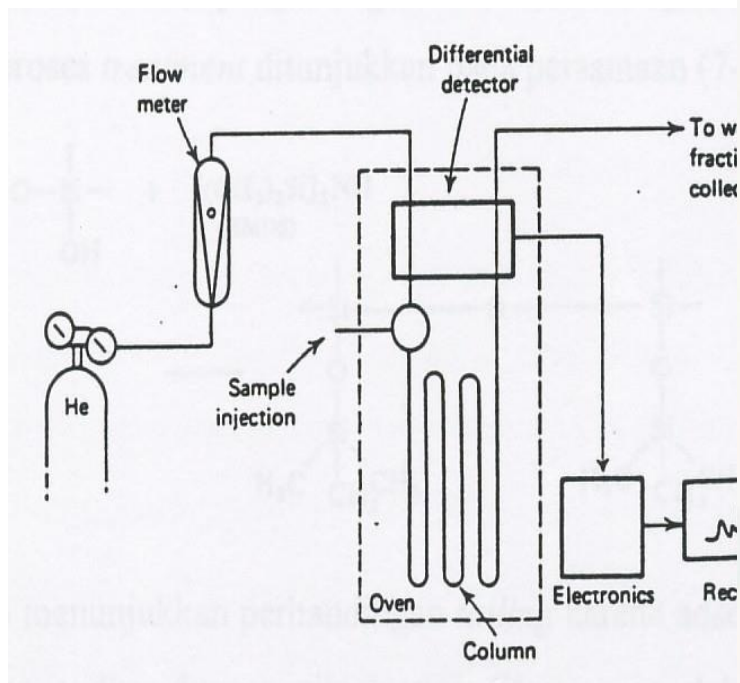
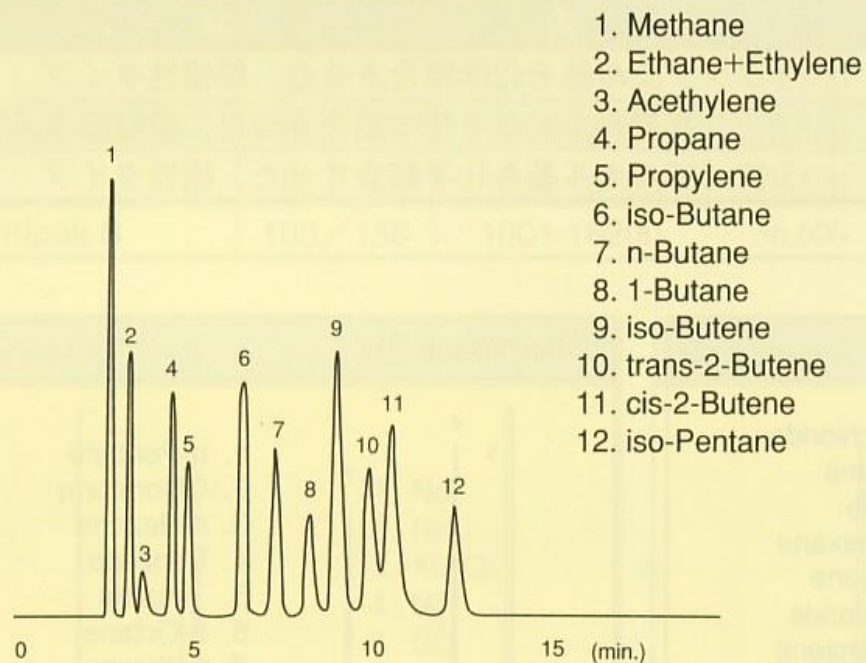
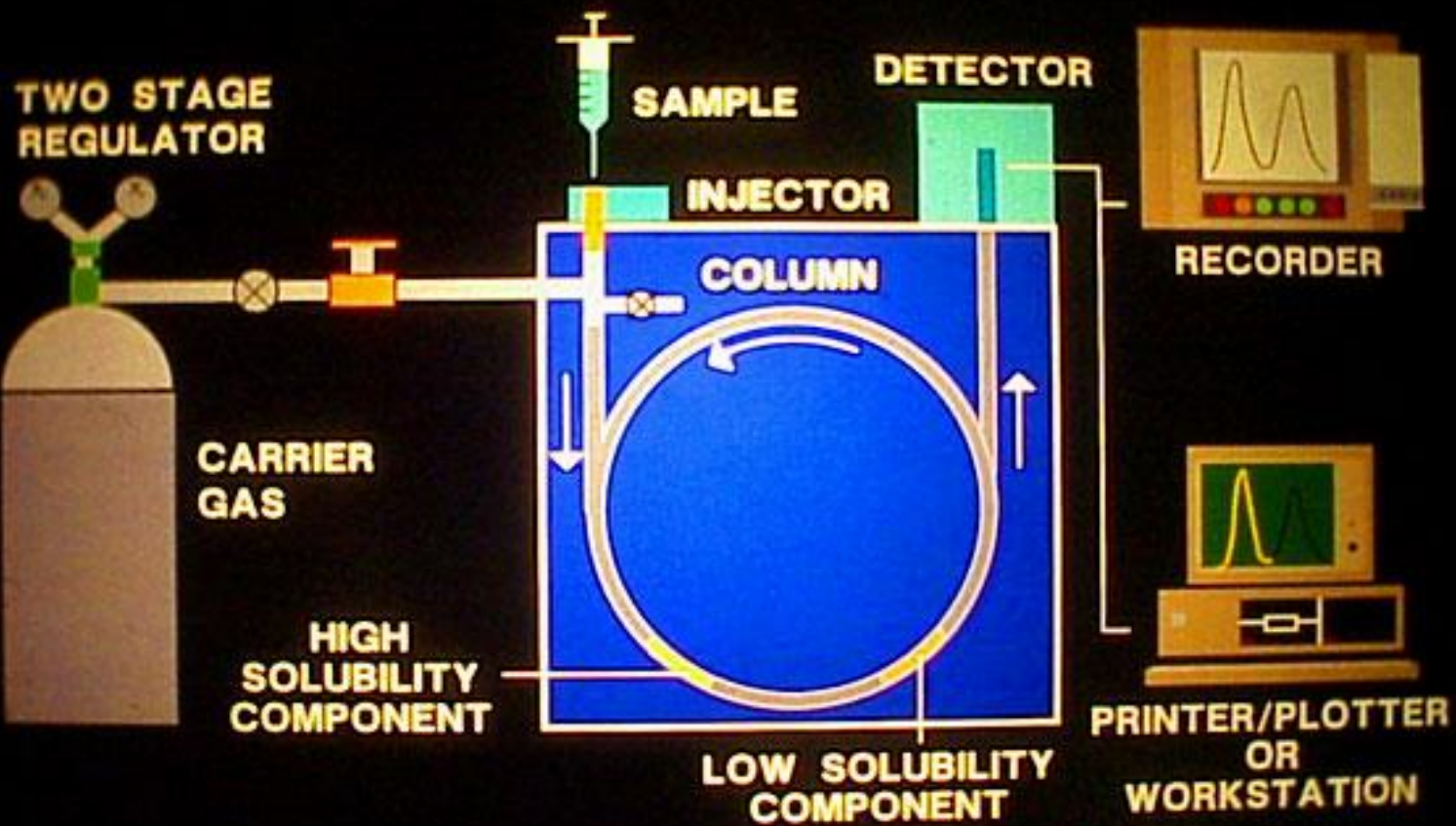


Fig.1 C4炭化水素の分析 (Chemipack NOT)



Column: Chemipack NOT SUS 4m×2mm I.D. Col.Temp.: 40°C
Carrier Gas: N₂ 10mL/min. Detector: FID 10×32 Sample Size: 0.2mL

GC ANALYSIS



**Carrier gas/
Regulator**

**Varian 3350 Gas
Chromatograph**

**Computer Controls for
Method and Output**



Fase Diam

- Menurut sifat-sifat dari fase diamnya, GC dibagi menjadi 2 yaitu:
 - *gas-solid chromatography* (GSC)
 - *gas-liquid chromatography* (GLC)

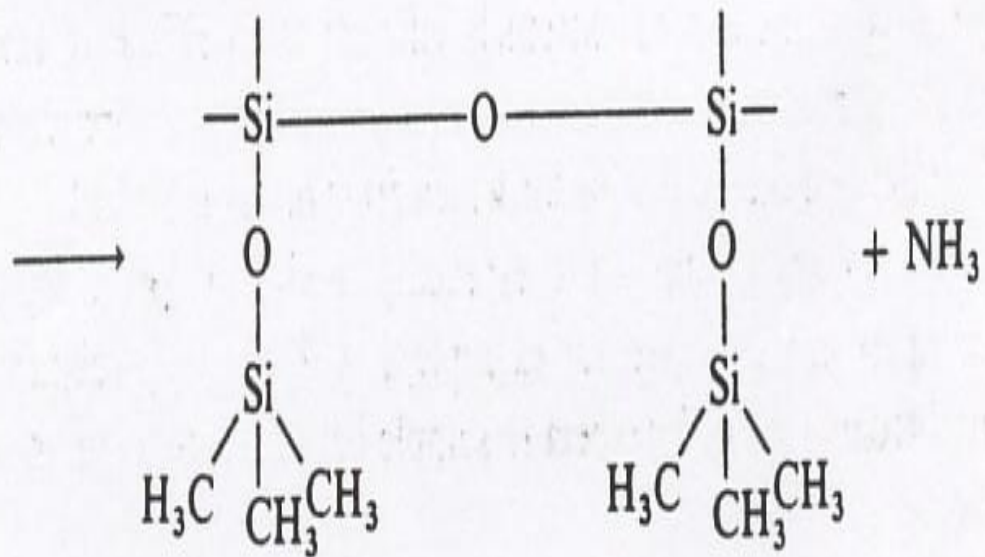
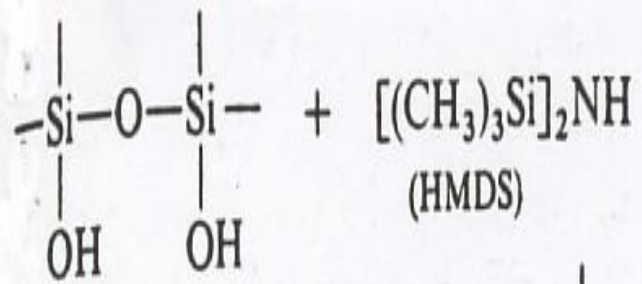
Gas-solid Chromatography

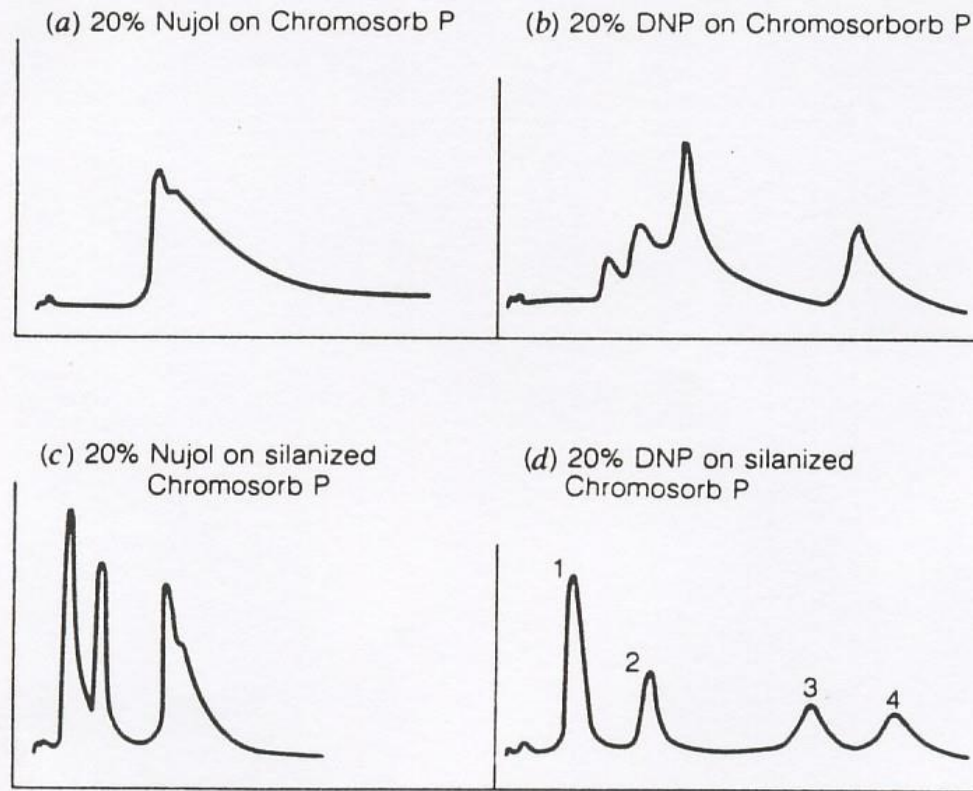
- fase diamnya adalah zat padat seperti:
silica, alumina, atau karbon
- Proses pemisahannya karena adanya adsorpsi pada permukaan padatan.
- GSC sangat terbatas penggunaannya, karena adanya masalah *tailing* pada *peak* yang disebabkan oleh adsorpsi isotherm *non linear*, yang disebabkan oleh adanya penutupan permukaan padatan oleh gas-gas yang mudah bereaksi, sehingga luas permukaan padatan menjadi berkurang.

Gas-liquid chromatography (GLC).

- Di sini fase diamnya adalah *liquid/cairan non volatile* yang disangga pada permukaan padatan dalam bentuk lapisan tipis.
- Padatannya harus tidak mempunyai efek pada proses pemisahan dan hanya sebagai penyangga untuk fase cairnya.
- Zat padat yang biasa digunakan adalah *diatomaceous earth* yang juga dikenal sebagai *kieselguhr* dan tersedia dalam berbagai bentuk.
- Ukuran yang tersedia adalah 60~80 mesh (kira-kira 0,25~0,18 mm), 80~100 mesh (kira-kira 0,18~0,15 mm), 100~120 mesh (kira-kira 0,15~0,13 mm).

- *Diatomaceous earth* berbentuk silika hidrat, mengandung banyak gugus OH pada permukaannya.
- Gugus OH ini dapat menyerap molekul-molekul zat terlarut, sehingga pembebasan zat terlarut dari lapisan cairan ke *carrier gas*/gas pembawa menjadi lambat. Akibatnya terjadi *tailing* pada *peak*.
- Untuk mengatasi *tailing* maka dilakukan *treatment* dengan *silanizing agent* seperti hexamethyldisilazene (HMDS), yang mengubah Si–O–H menjadi Si–O–Si (CH₃)₃.
 - Contoh: sampel yang mengandung ethanol, methyl ethyl ketone, methyl propyl ketone, dan n-butanol dianalisis menggunakan kolom dg Chromosorb P (gambar a dan b) dan silanized Chromosorb P (gambar c dan d). Terlihat bahwa *tailing* berkurang jika digunakan kolom silanized Chromosorb P.





Tailing karena adsorpsi pada Chromosorb P, dan pengurangan *tailing* dengan silanization. Komponen dalam sampel adalah: (1) ethanol, (2) methyl ethyl ketone, (3) methyl propyl ketone, dan (4) n-butanol.

Terlihat bahwa fase diam (cairan) juga berpengaruh pada hasil pemisahan. Untuk sampel di atas, analisis dengan fase diam DNP (dinonyl phthalate) lebih baik daripada nujol.

1. Kolom

- Ada 2 tipe kolom yaitu:

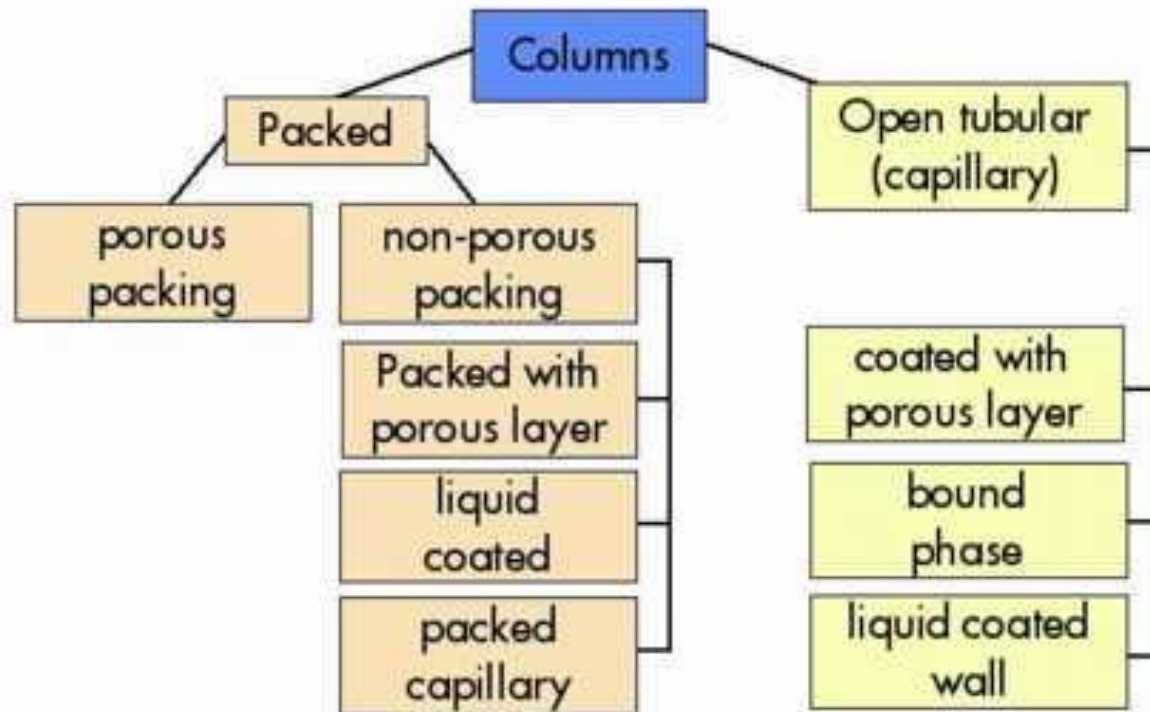
Packed column

Capillary column (disebut juga *open tubular*)

Packed column (kolom dengan bahan isian)

- *Packed column* berisi zat padat (seperti diatomaceous earth) dilapisi dengan cairan nonvolatile sebagai fase diamnya.
- *Pack column* umumnya mempunyai panjang 1,5 – 10 m dengan diameter dalam 2 – 4 mm.

Types of columns



Kolom kapiler (*capillary column*)

- o Kolom kapiler ada yang terbuat dari gelas atau silika.
- o Dinding kolom berfungsi sebagai penyangga fase cairan diam.
- o Ukuran kolom kapiler biasanya adalah diameter dalam 0,2 mm dan panjangnya 50~100 m.
- o Kolom kapiler sangat efisien karena tiap 1 mm setara dengan *height equivalent to a theoretical plate* (HETP), sehingga jumlah *plate* teoretisnya jauh lebih besar dibanding dengan kolom dengan bahan isian.
- o Satu kolom kapiler = 500.000 plate teoretis, sedangkan satu kolom bahan isian = 5.000 plate teoretis.
- o Kolom kapiler sangat bermanfaat untuk pemisahan komponen-komponen dari campuran senyawa-senyawa yang kompleks.

Ada 2 jenis kolom kapiler:

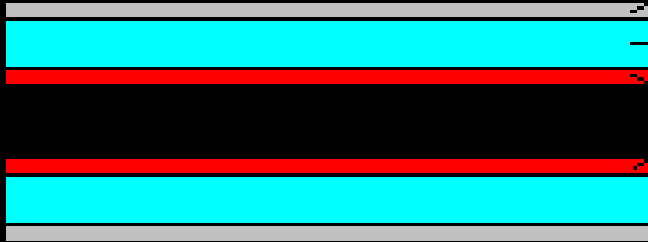
❖ ***Wall-coated open tubular (WCOT)*** : Kolom kapiler yang dinding dalamnya dilapisi cairan sebagai fase diam.

❖ ***Support-coated open tubular (SCOT)*** : dinding dalam kolom diberi lapisan tipis padatan (diatomaceous earth) yang mengadsorpsi cairan sebagai fase diam.

Kolom SCOT umumnya kurang efisien dibandingkan kolom WCOT.

Kedua jenis kolom kapiler (SCOT maupun WCOT) lebih efisien dibandingkan packed column.

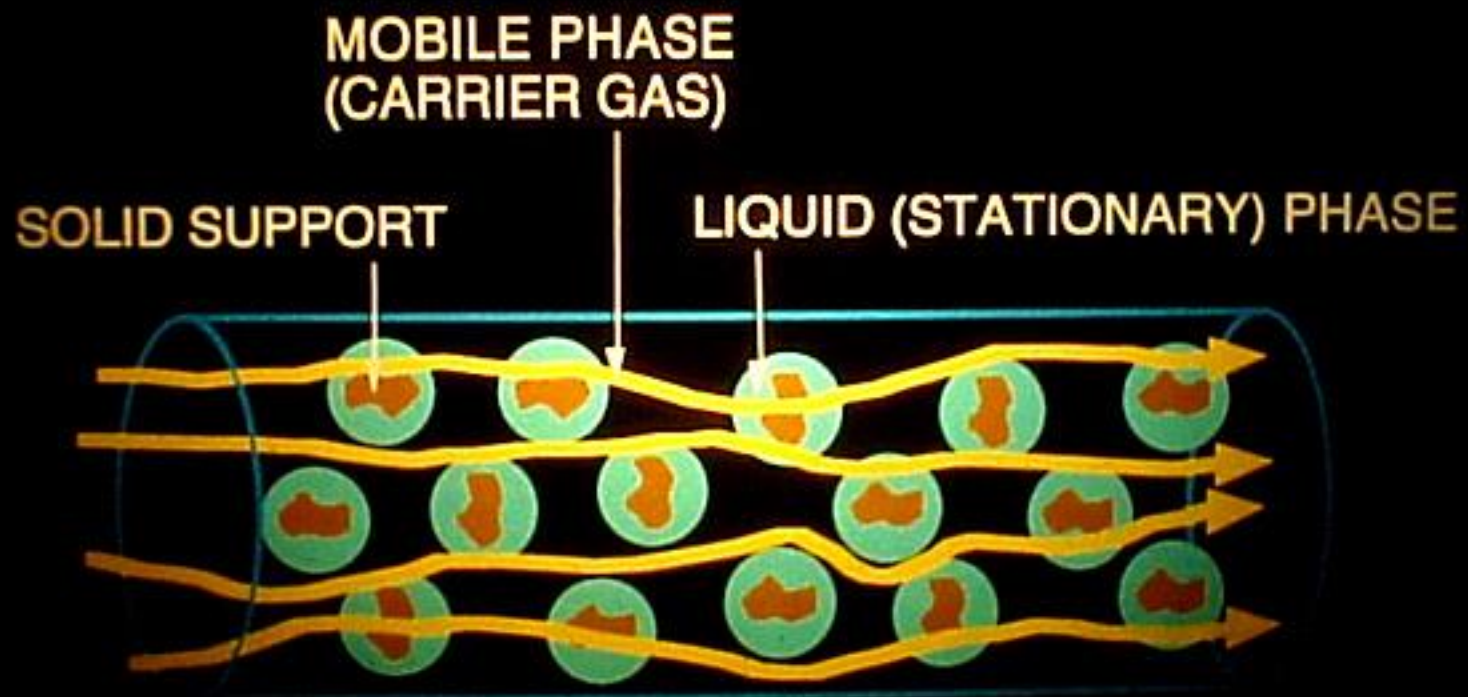
Contoh tipe kolom WCOT : *Fused Silica Open Tubular (FSOT) column*.



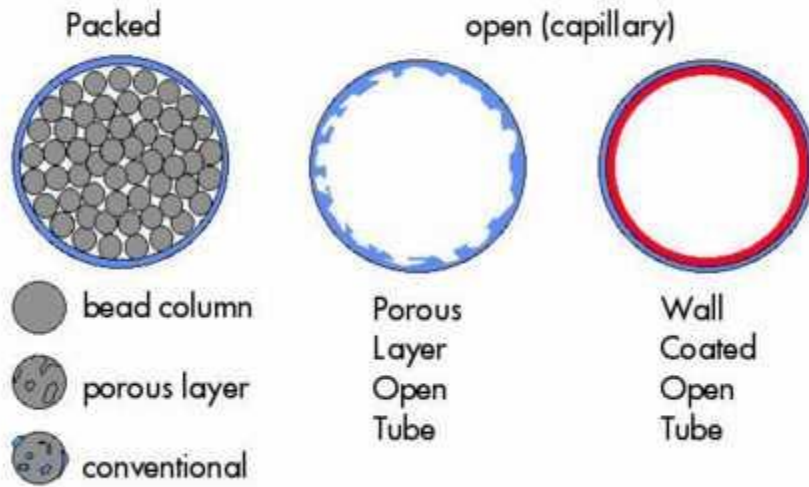
- Dinding kolom ini lebih tipis daripada kolom kapiler yang terbuat dari gelas.
- Kolom ini lebih fleksibel dan dapat dibentuk coil.

Suhu kolom harus dikendalikan. Suhu optimum kolom tergantung pada titik didih sampel. Umumnya suhu kolom diatur sedikit di atas suhu didih komponen yang paling tidak volatil dalam sampel.

GC COLUMN



Types of columns



1/4" packed column



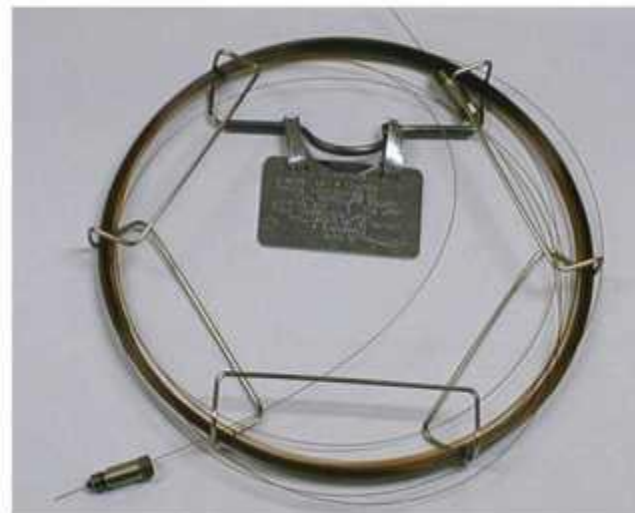
Stainless steel capillary column

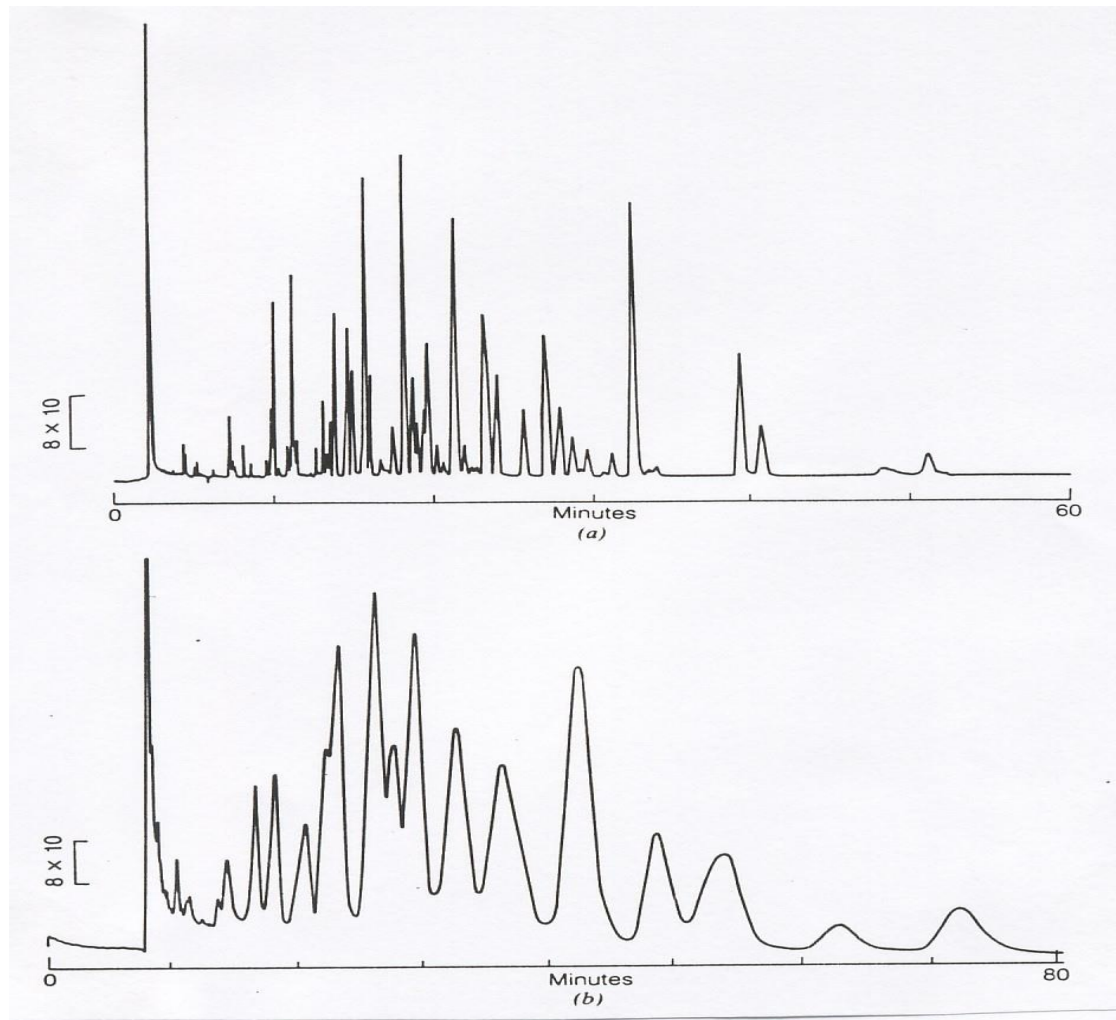


This is a real antique.

All of these were internally coated.

Fused silica capillary column





Perbandingan kromatogram yang diambil pada operasi dengan sebuah kolom kaliper yang terbuat dari kaca (gambar a) dan yang diambil pada operasi dengan kolom bahan isian (gambar b). Keduanya menggunakan fase cairan diam yang sama dan suhu yang sama.

Stationary Liquid Phase (Fase diam)

Umumnya zat-zat itu bersifat padat seperti lilin, karet, atau gelas, pada suhu kamar, tetapi menjadi cair pada suhu operasi kolom GC.

Beberapa Jenis Fase Cair untuk GC

| Material | Kisaran Suhu Operasi (°C) |
|---|---------------------------|
| Cairan Nonpolar: | |
| Apiezon L | 50–300 |
| Silicone DC-200 | 50–350 |
| Silicone SE-30 | 50–350 |
| Squalane | 20–150 |
| Cairan Antaral <i>intermediate</i> | |
| Silicone DC-QF-1 | 0-275 |
| Silicone OV-17 | 0-280 |
| Cairan Polar | |
| Carbowax 20M | 60-225 |
| Diethylene glycol succinate | 20-200 |
| Ethylene glycol adipate | 20-190 |

- Sampel yang berisi senyawa-senyawa non-polar seperti pentana, butana, dan propana dapat dipisahkan dengan baik bila fase diam berupa *non-polar liquid* seperti squalane, sebaliknya jika digunakan kolom berisi *polar liquid* maka *peak-peaknya* akan jauh lebih berdekatan.
- Jenis bahan isian lainnya merupakan intermediate antara GSC dan GLC.
- Bahan isian ini merupakan butiran-butiran berongga dari *cross-linked organic polymer* seperti *copolymerized* styrene dan divinylbenzene. Suhu operasi maksimumnya sekitar 250°C.
- Bahan isian ini tersedia dalam berbagai merek dagang, misalnya PORAPAK (Waters), CHEMIPAK (Gaskuro Kogyo), CHROMOSORB-100 SERIES (John Manville), dll.

Carrier Gas/Gas Pembawa (fase bergerak)

- Gas pembawa harus inert (He , N_2 , Ar , atau CO_2). Pemilihan gas pembawa tergantung pada jenis detektor yang dipakai.
- Gas pembawa yang paling umum digunakan adalah He .
- Alasan pemilihan tersebut adalah detektor yang paling sering digunakan kerjanya tergantung pada konduktivitas panas dari gas.
- Diantara gas-gas yang ada, H_2 dan He mempunyai konduktivitas panas yang besar.
- Karena kedua gas ini mempunyai berat jenis yang kecil, maka diperlukan laju aliran massa yang lebih besar dibanding bila menggunakan gas-gas lain untuk mengurangi pengaruh difusi yang menyebabkan pelebaran *peak*.

- Kerugian penggunaan gas H_2 sebagai gas pembawa adalah karena sifatnya yang mudah terbakar, mudah meledak, dan mudah bereaksi dengan sampel.
- Gas-gas lain seperti argon atau nitrogen diperlukan untuk jenis detektor tertentu.

Konduktivitas Panas Beberapa Gas

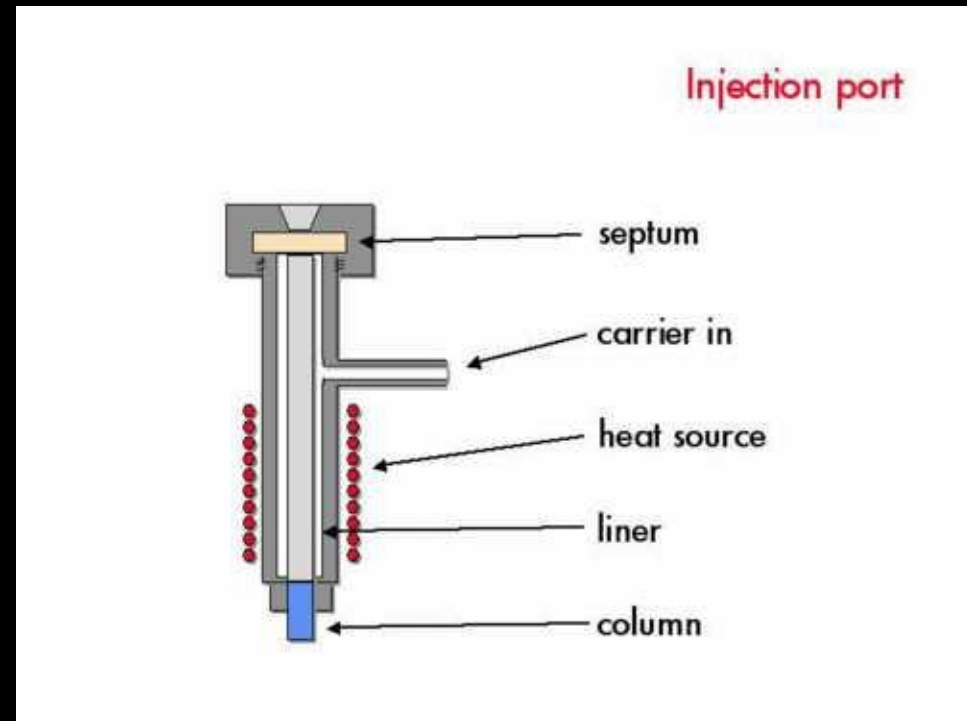
| Gas | Konduktivitas Panas [cal/(detik.cm.K)] |
|-----------------|--|
| H_2 | 44,5 |
| He | 36,0 |
| Ne | 11,6 |
| CH_4 | 8,18 |
| O_2 | 6,35 |
| N_2 | 6,24 |
| CO_2 | 3,96 |
| CH_3OH | 3,68 |
| Gas-gas Organik | 1-4 |

2. Sample injection port

- Supaya efisiensi kolom bisa optimum, jumlah sampel yang diinjeksikan harus sedikit dan dalam waktu singkat. Kalau sampel terlalu banyak maka akan terjadi pelebaran peak.
- Alat yang digunakan yaitu *microsyringe* yang disuntikkan melalui septum karet pada ujung kolom.
- Suhu *sample port* biasanya 50°C di atas titik didih senyawa yang paling tidak volatil.
- Untuk packed column, sampel hanya sekitar 10 – 20 µL. Untuk kolom kapiler jumlah sampel jauh lebih sedikit.
- Sampel gas berkisar antara 0,5 – 5 mL.



The split injector
 (biasanya untuk kolom kapiler)



The splitless injector

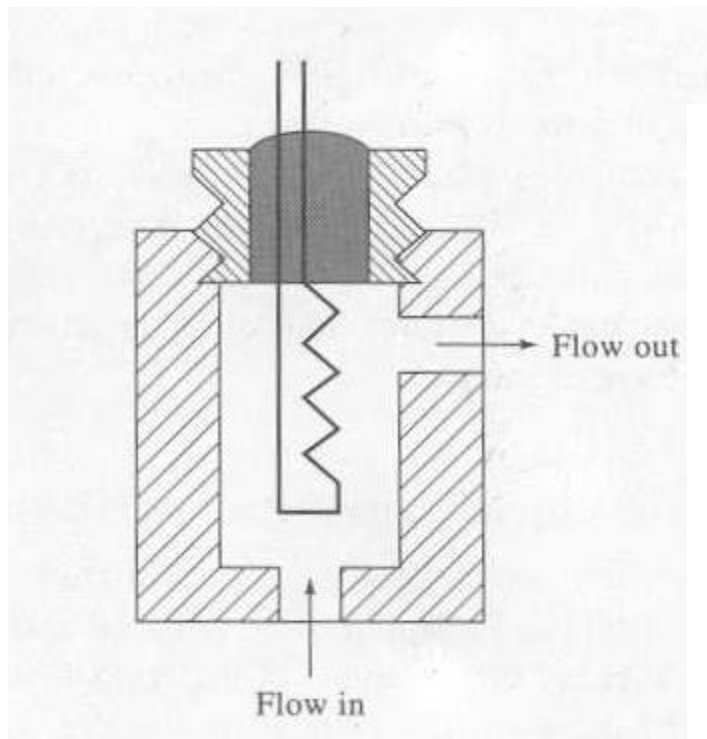


3. Detektor

- Detektor pada GC dikelompokkan menjadi 2 golongan.
- Golongan yang pertama memberikan respon proporsional dengan konsentrasi sampel/*concentration dependant detector* (dinyatakan dalam fraksi mol), dan tidak tergantung pada kecepatan aliran gas.
- Respon untuk detektor golongan kedua tergantung pada kecepatan aliran sampel yang datang ke sensor/*mass flow dependant detector*, tetapi tidak berhubungan dengan tingkat pengenceran oleh gas pembawa.

Detektor Golongan I

- Kelompok ini mengandung perlengkapan/alat yang tidak terpengaruh sama sekali oleh sifat-sifat gas.
- Perlengkapan/alat yang ada pada kelompok ini tidak bereaksi dengan gas pembawa.
- Jenis dari detektor golongan I ini adalah:
 - *Thermal Conductivity Detector* (TCD)
 - *Electron Capture Detector* (ECD)
 - Berdasarkan penyerapan radiasi UV (PID) atau IR.



TCD

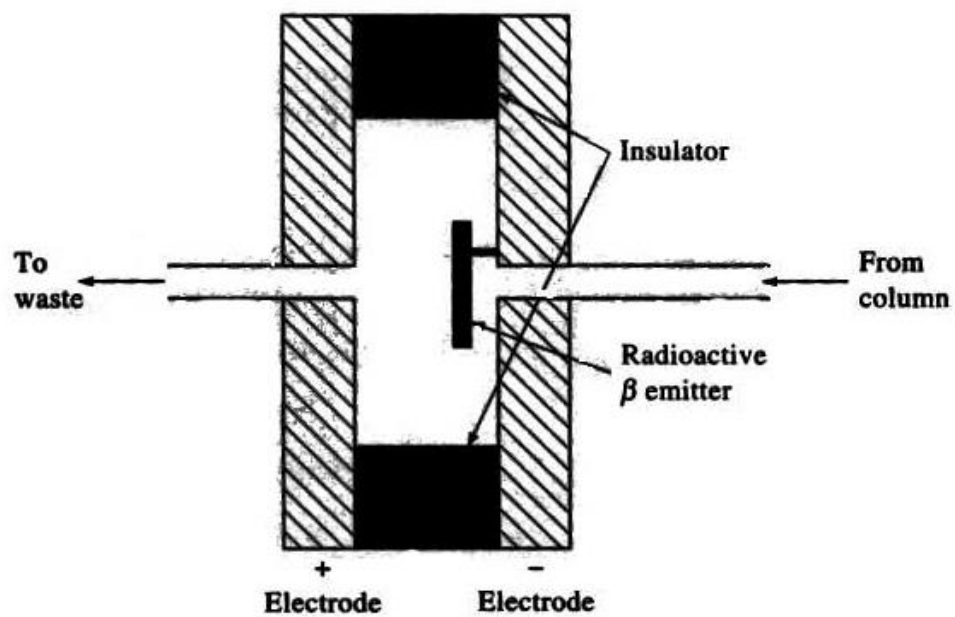
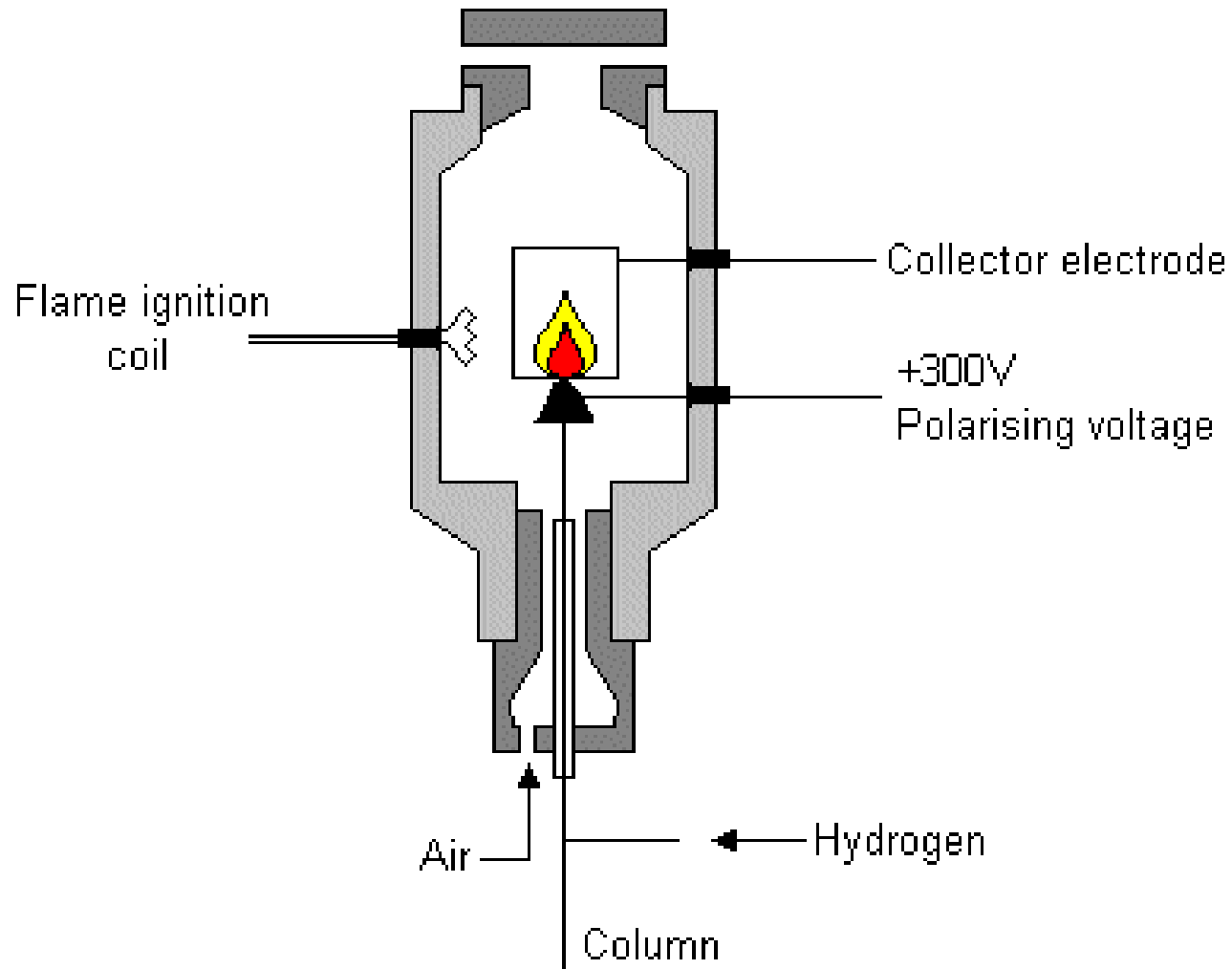


Figure 27-8 A schematic of an electron-capture detector.

Detektor Golongan II

- Kebanyakan senyawa organik bila dimasukkan ke nyala hidrogen-oksigen akan segera terbakar, dan menghasilkan ion-ion.
- Dalam beberapa hal menghasilkan/ mengeluarkan radiasi UV atau *visible*.
- Detektor golongan ini adalah:
 - *Flame Ionization Detector (FID)*
 - *Flame Photometric Detector (FPD)*

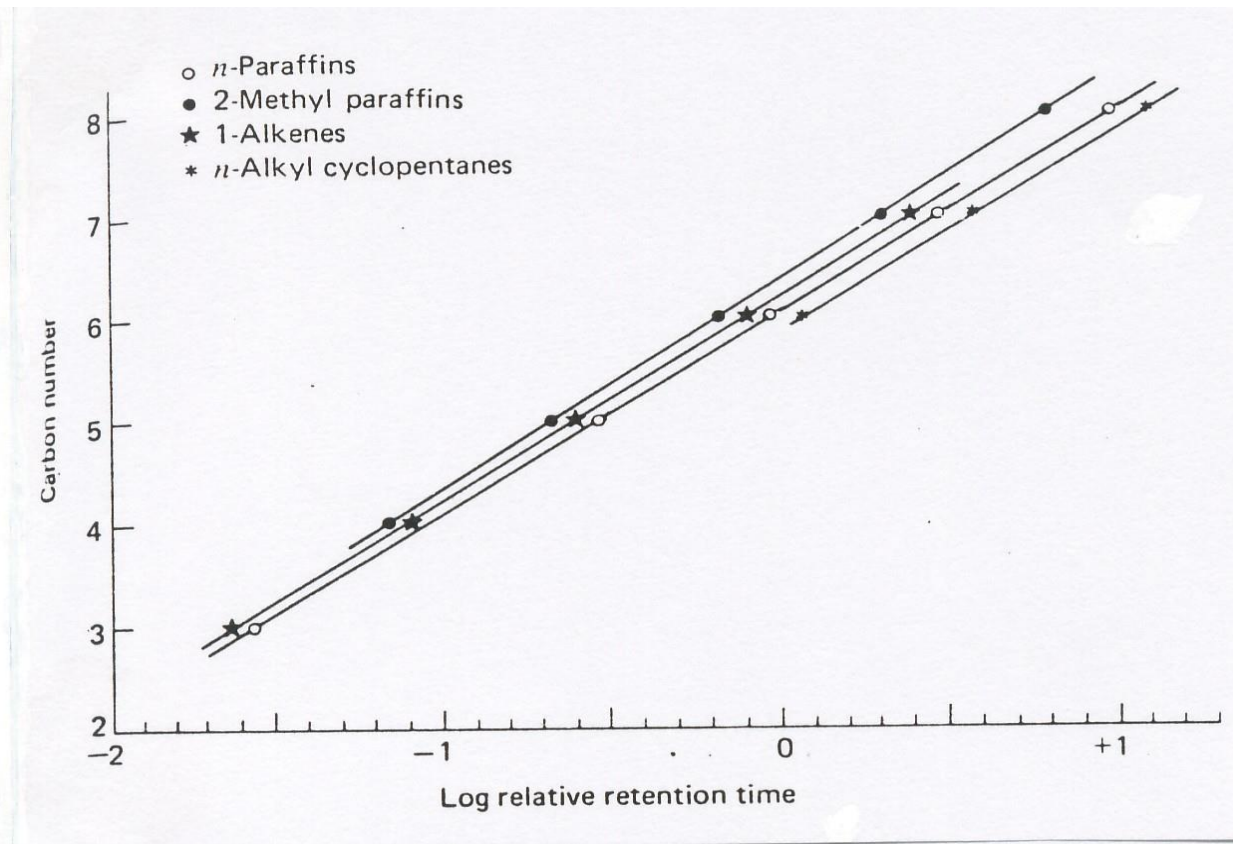
The Flame Ionisation Detector



| Detector | Type | Selectivity |
|--------------------------------|---------------|--|
| Flame ionization (FID) | Mass flow | Most organic compounds |
| Thermal conductivity (TCD) | Concentration | Universal |
| Electron capture (ECD) | Concentration | Halides, nitrates, nitriles, peroxides, anhydrides, organometallics |
| Nitrogen-phosphorus | Mass flow | Nitrogen, phosphorus |
| Flame photometric (FPD) | Mass flow | Sulphur, phosphorus, tin, boron, arsenic, germanium, selenium, chromium |
| Photo-ionization (PID) | Concentration | Aliphatics, aromatics, ketones, esters, aldehydes, amines, heterocyclics, organosulphurs, some organometallics |
| Hall electrolytic conductivity | Mass flow | Halide, nitrogen, nitrosamine, sulphur |

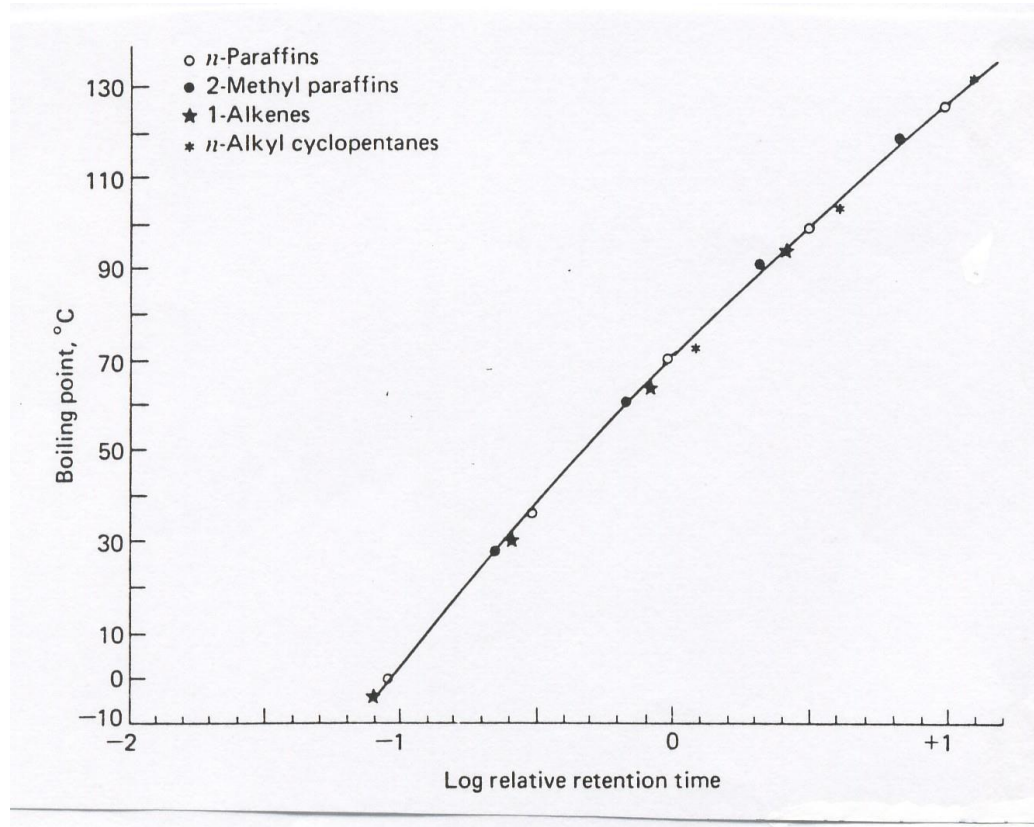
Analisis Kualitatif

- Dalam analisis kualitatif, kita harus memeriksa *retention times*, yaitu waktu yang diperlukan oleh komponen dari saat injeksi sampel sampai dengan tampak/muncul di detektor.
- Untuk jenis kolom, *flow ratio*, dan suhu tertentu, *retention time* untuk senyawa tertentu akan tetap.
- Prinsip analisis kualitatif adalah membandingkan *retention time* zat pada sampel dengan zat standar.
- *Retention time* relatif juga sering ditentukan.
- Pada penentuan *retention time* relatif, zat standar ditambahkan ke dalam larutan sebelum diinjeksikan ke kolom, dan *retention time* diambil relatif terhadap zat standar. Untuk tujuan ini banyak dipakai n-Pentana.
- Untuk kolom polar pada suhu tinggi sebagai zat standar lebih tepat dipakai methyl palmitate.



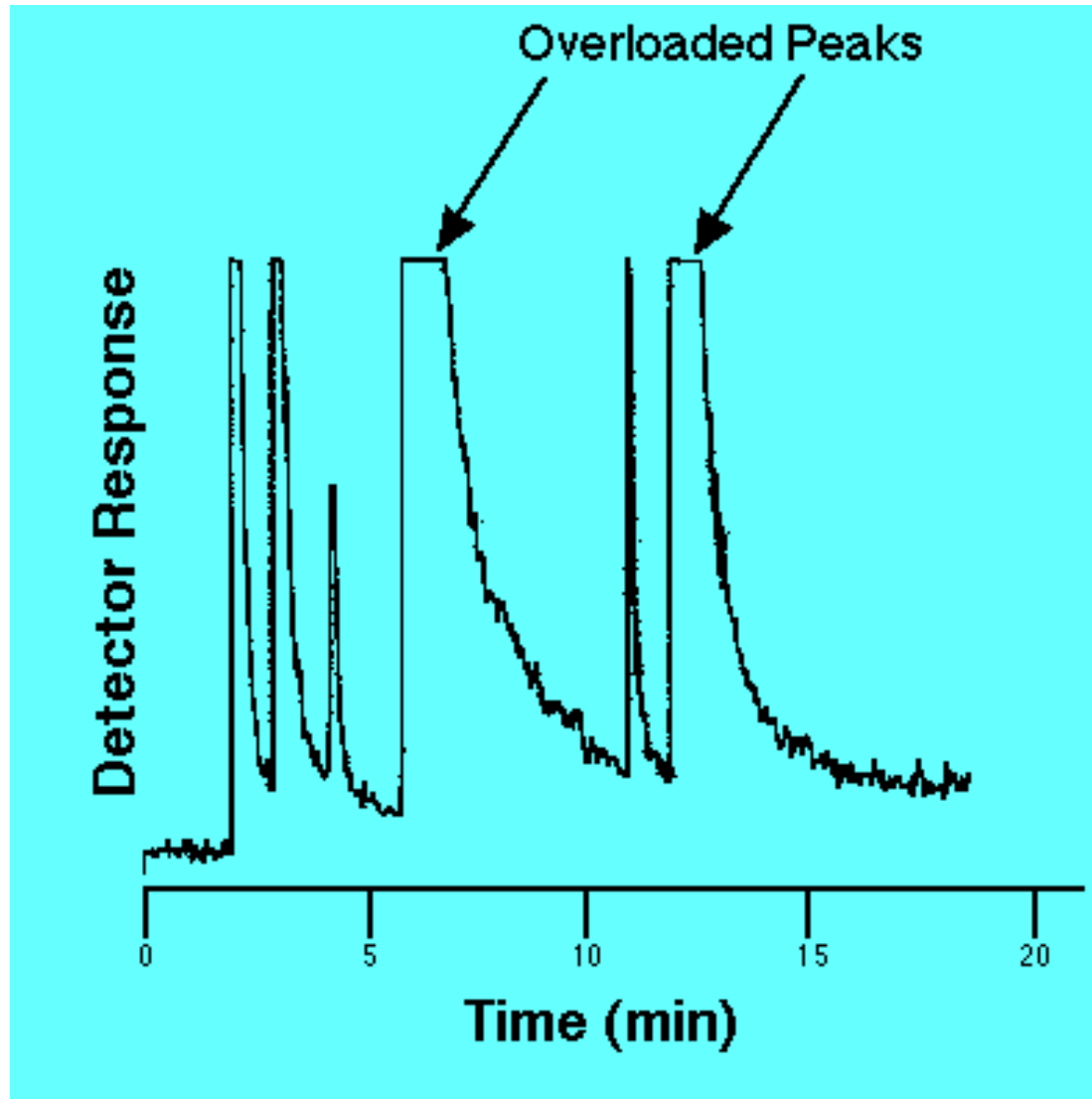
Hubungan antara *retention time* relatif dengan jumlah atom karbon untuk beberapa hidrokarbon.

Dari slope dapat dilihat bahwa penambahan gugus CH_2 pada rantai alifatik menyebabkan *retention time*-nya naik menjadi 2 kali.



Hubungan antara *retention time* relatif dengan titik didih untuk beberapa hidrokarbon.

Titik didih juga dipengaruhi oleh panjang rantai, maka hubungan antara titik didih dengan *retention time* memberikan grafik yang mendekati linier.



Overloaded peak menunjukkan bahwa konsentrasi komponen dalam sampel terlalu tinggi.

Sebelum dianalisis sampel harus diencerkan lebih dulu.

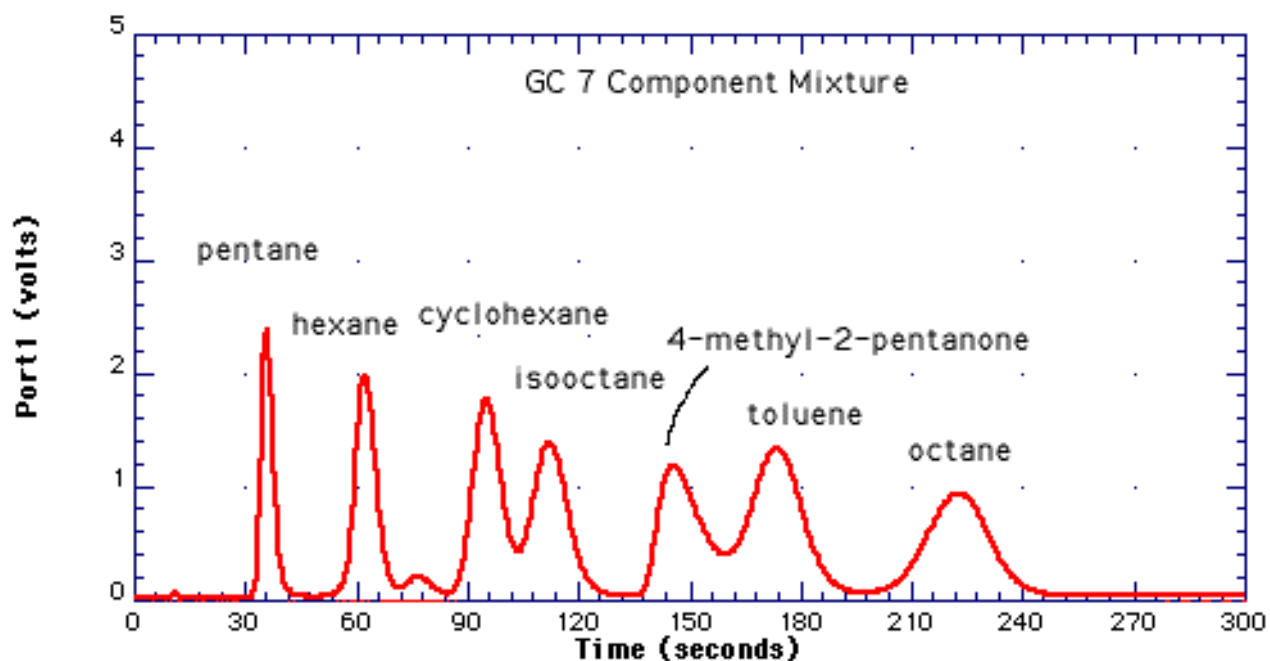
Faktor-faktor yang berpengaruh pada pemisahan dg GC

Pemisahan senyawa dengan GC tergantung pada perbedaan kecepatan dari senyawa pada saat melewati kolom. Faktor-faktor yang berpengaruh antara lain adalah:

- Volatilitas senyawa: senyawa dengan titik didih rendah akan lewat lebih cepat daripada senyawa yang titik didihnya tinggi.
- Polaritas senyawa: senyawa polar bergerak lebih lambat, terutama bila kolom bersifat polar.
- Temperatur kolom: temperatur kolom yang makin tinggi akan mempercepat proses pemisahan.
- Polaritas bahan isian (fase diam) kolom: biasanya semua senyawa akan berjalan lebih lambat pada kolom polar, tetapi senyawa polar menunjukkan efek lebih besar.
- Kecepatan aliran gas melalui kolom: menaikkan flow rate gas menambah kecepatan semua senyawa melalui kolom.
- Panjang kolom: makin panjang kolom, semakin baik proses pemisahan senyawa.

Pada umumnya perbedaan polaritas senyawa hanya penting bila senyawa-senyawa yang ada dalam sampel mempunyai polaritas yang berbeda jauh.

| Compound | Boiling Point (°C) |
|------------------------------------|--------------------|
| pentane | 36 |
| hexane | 69 |
| cyclohexane | 80 |
| isooctane (2,2,4-trimethylpentane) | 99 |
| toluene | 110 |
| 4-methyl-2-pentanone | 117 |
| octane | 126 |

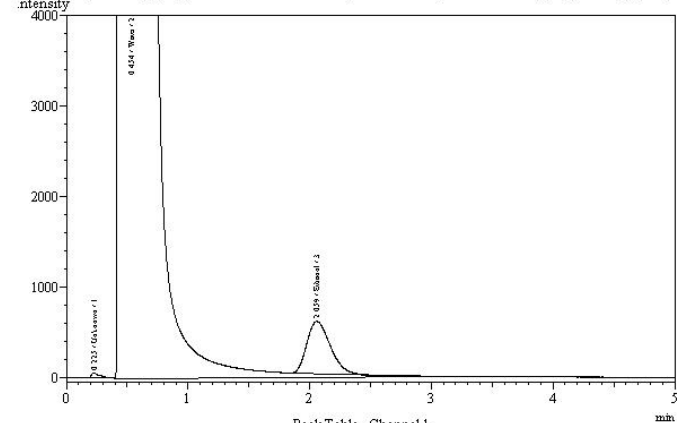


Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif suatu sampel dengan GC pada prinsipnya dilakukan dengan membuat kromatogram (menggunakan alat pemroses data) dari sampel tersebut dan menghitung prosentase luas *peak* untuk komponen tertentu dalam sampel terhadap luas total dari *peak-peak* yang ada.

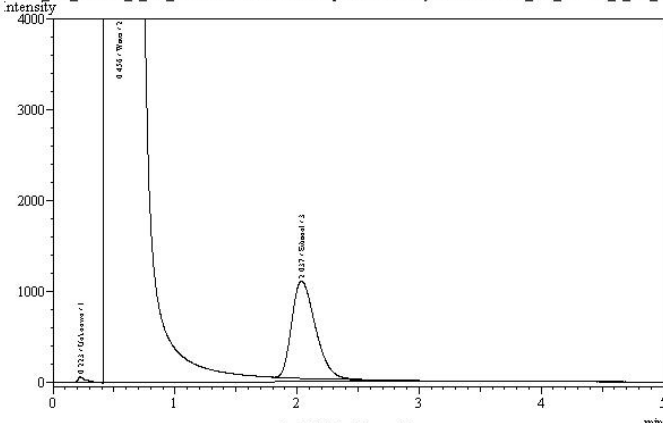
Prosentase atau kadar yang dihitung dengan cara ini menunjukkan prosentase mol dari suatu komponen terhadap jumlah komponen zat yang ada dalam sampel kecuali air (kalau detektor FID, air tidak muncul).

Kadar air dalam sampel dapat dideteksi dengan menggunakan bahan isian tertentu (misal Unisol F-200) dan dengan detektor TCD.



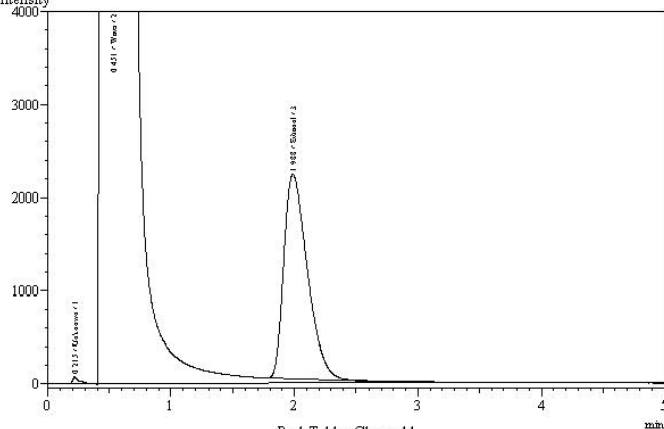
| Peak# | Ret.Time | Area | Height | Mark | Name |
|-------|----------|---------|--------|------|---------|
| 1 | 0.225 | 241 | 52 | | Unknown |
| 2 | 0.454 | 1238276 | 122041 | S | Water |
| 3 | 2.059 | 7724 | 573 | T | Ethanol |
| Total | | 1246241 | 122666 | | |

a



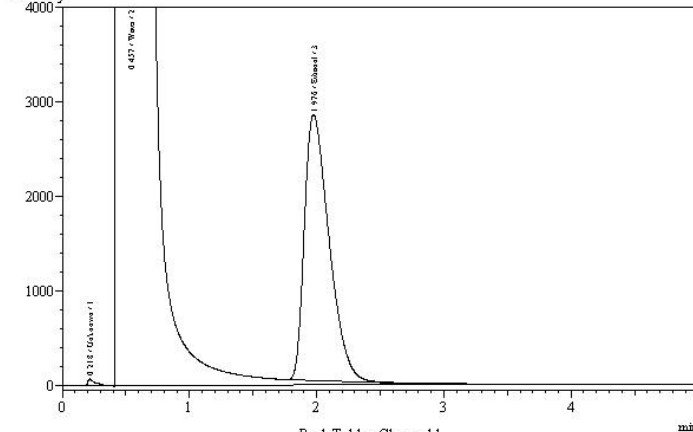
| Peak# | Ret.Time | Area | Height | Mark | Name |
|-------|----------|---------|--------|------|---------|
| 1 | 0.223 | 256 | 61 | | Unknown |
| 2 | 0.456 | 1214514 | 122403 | S | Water |
| 3 | 2.037 | 14293 | 1065 | T | Ethanol |
| Total | | 1229063 | 123529 | | |

b



| Peak# | Ret.Time | Area | Height | Mark | Name |
|-------|----------|---------|--------|------|---------|
| 1 | 0.215 | 249 | 68 | | Unknown |
| 2 | 0.451 | 1186641 | 124011 | SV | Water |
| 3 | 1.988 | 29484 | 2196 | T | Ethanol |
| Total | | 1216374 | 126275 | | |

c



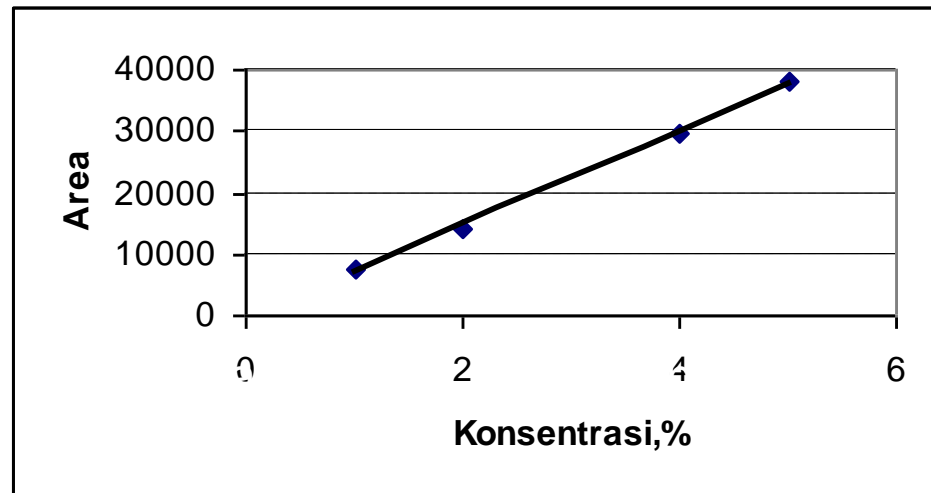
| Peak# | Ret.Time | Area | Height | Mark | Name |
|-------|----------|---------|--------|------|---------|
| 1 | 0.218 | 251 | 68 | | Unknown |
| 2 | 0.457 | 1185024 | 125835 | SV | Water |
| 3 | 1.976 | 37891 | 2812 | T | Ethanol |
| Total | | 1223176 | 128715 | | |

d

Kromatogram etanol untuk konsentrasi (a) 1%, (b) 2%, (c) 4%, dan (d) 5%

Dari kromatogram akan didapat area untuk etanol pada berbagai konsentrasi yang diketahui, lalu kurva standard dibuat dari data yang diperoleh

| Konsentrasi, % | Area |
|----------------|-------|
| 1 | 7724 |
| 2 | 14293 |
| 4 | 29484 |
| 5 | 37891 |

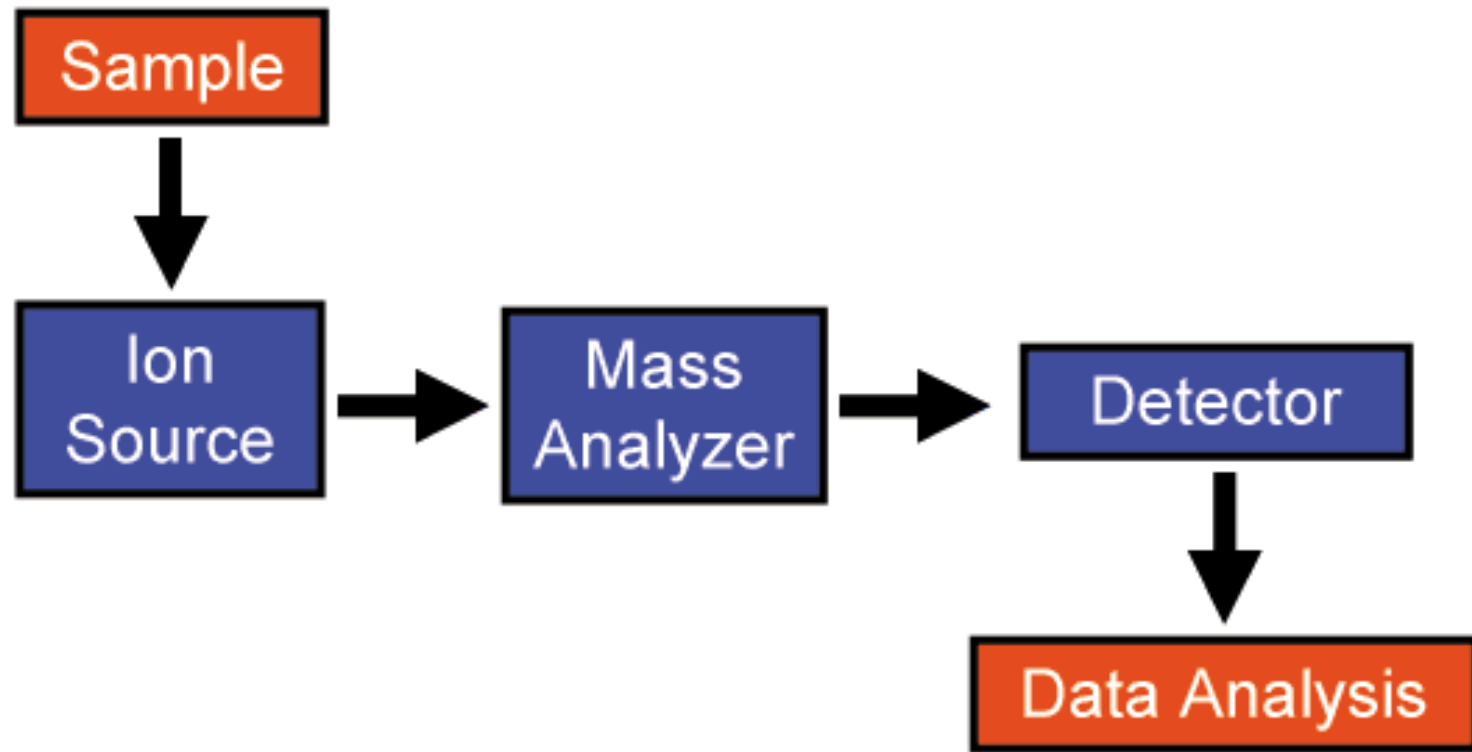


Mass Spectrometry

Mass spectrometry

Instrumen MS terdiri atas:

1. Sumber ion yang mengkonversi molekul dalam sampel gas menjadi ion.
 2. Mass analyzer yang memisahkan ion-ion menurut massa dengan menggunakan medan elektromagnetik,
 3. Detektor menghitung jumlah ion yang mempunyai massa tertentu. Informasi ini dikirimkan ke komputer untuk dibuat *mass spectrumnya*.
- Cara ini bisa untuk analisis baik kualitatif maupun kuantitatif.
 - Juga termasuk identifikasi senyawa dan menentukan struktur senyawa dalam sampel.
 - Saat ini MS banyak digunakan di laboratorium analisis yang mempelajari sifat-sifat fisika, kimia, dan biologi dari berbagai senyawa.

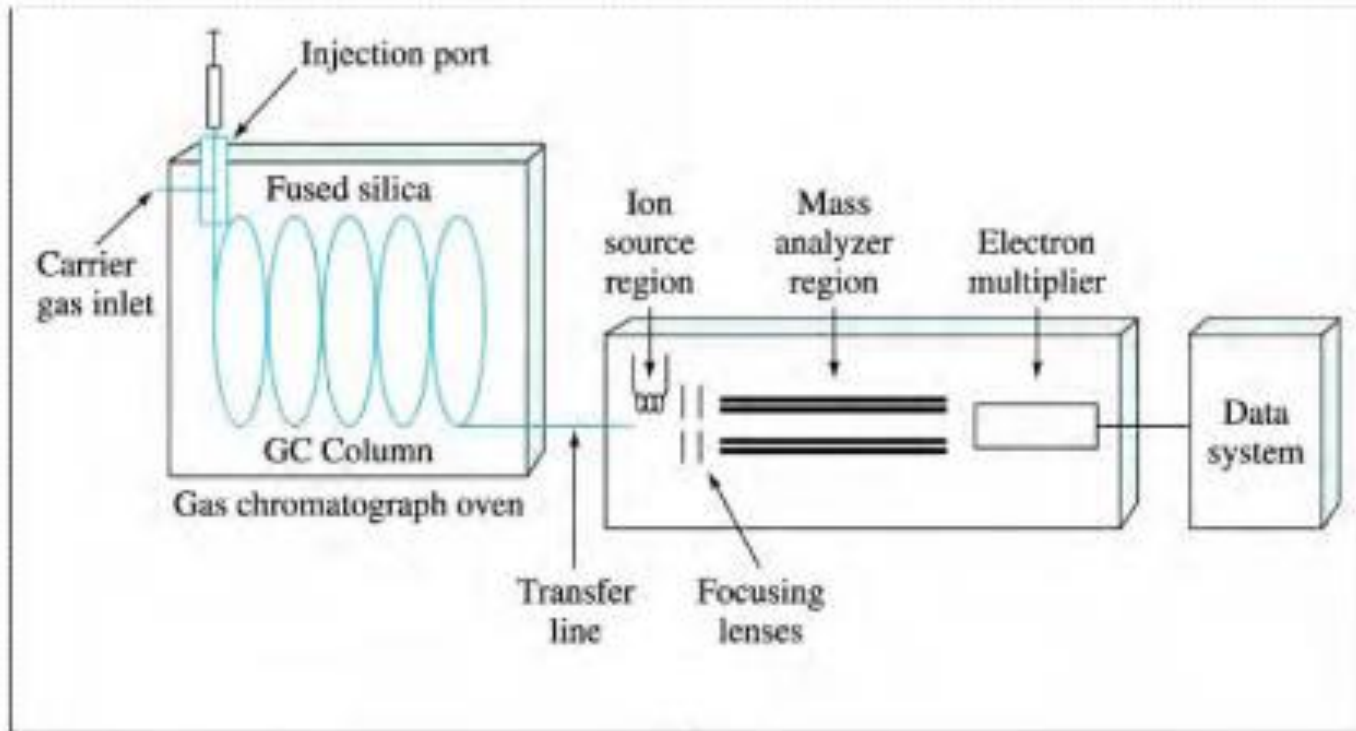


Gambar 1. Skema analisis menggunakan MS (mass spectrometer)

MS bisa digabung dengan GC menjadi GC/MS. GC untuk memisahkan komponen, MS mengidentifikasi. Dalam GC/MS, sebagai detektor adalah MS.

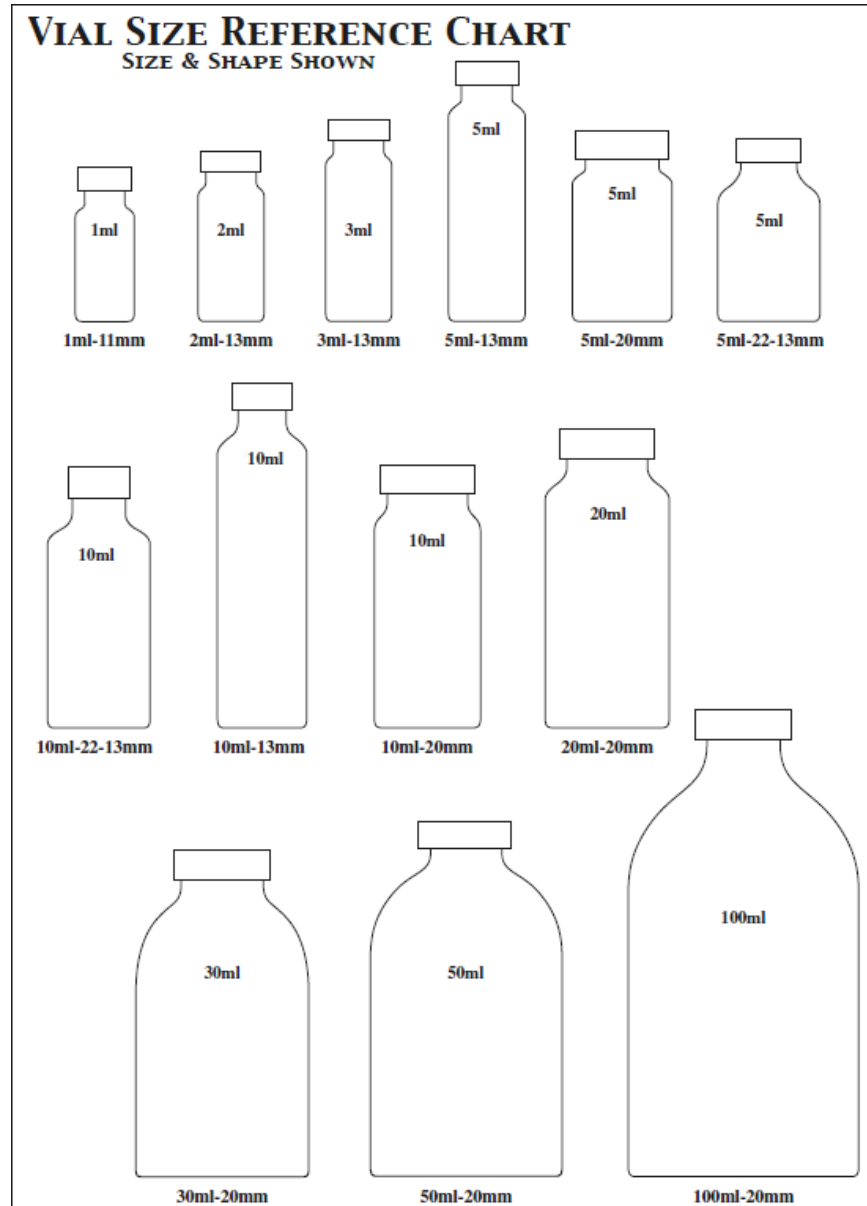


Gambar 2. GC/MS

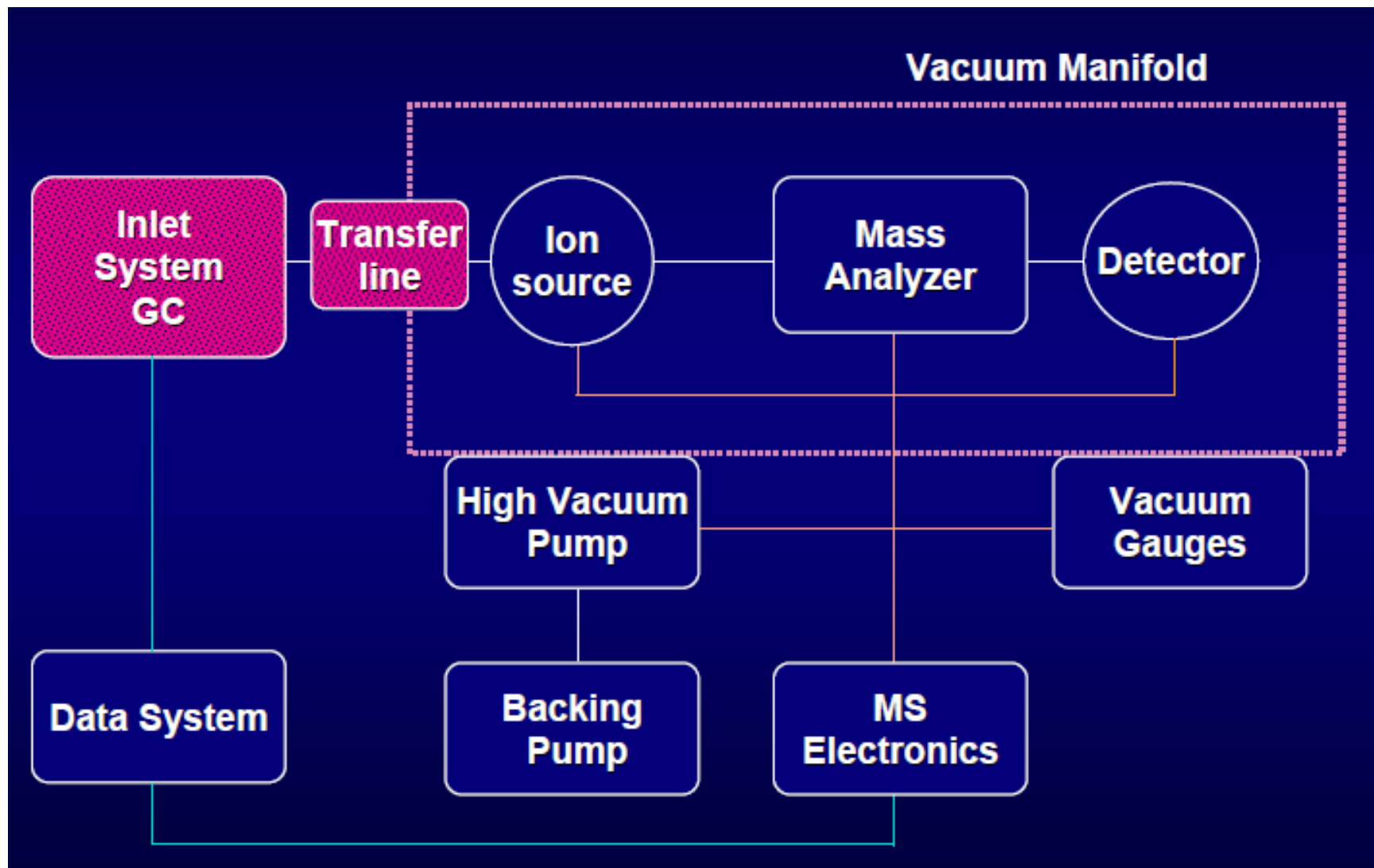


Gambar 3. Skema GC-MS

Injeksi sampel GC biasanya dilakukan manual menggunakan syringe. Untuk GC/MS sampel dimasukkan dalam vial dan diinjeksikan secara otomatis oleh alat.

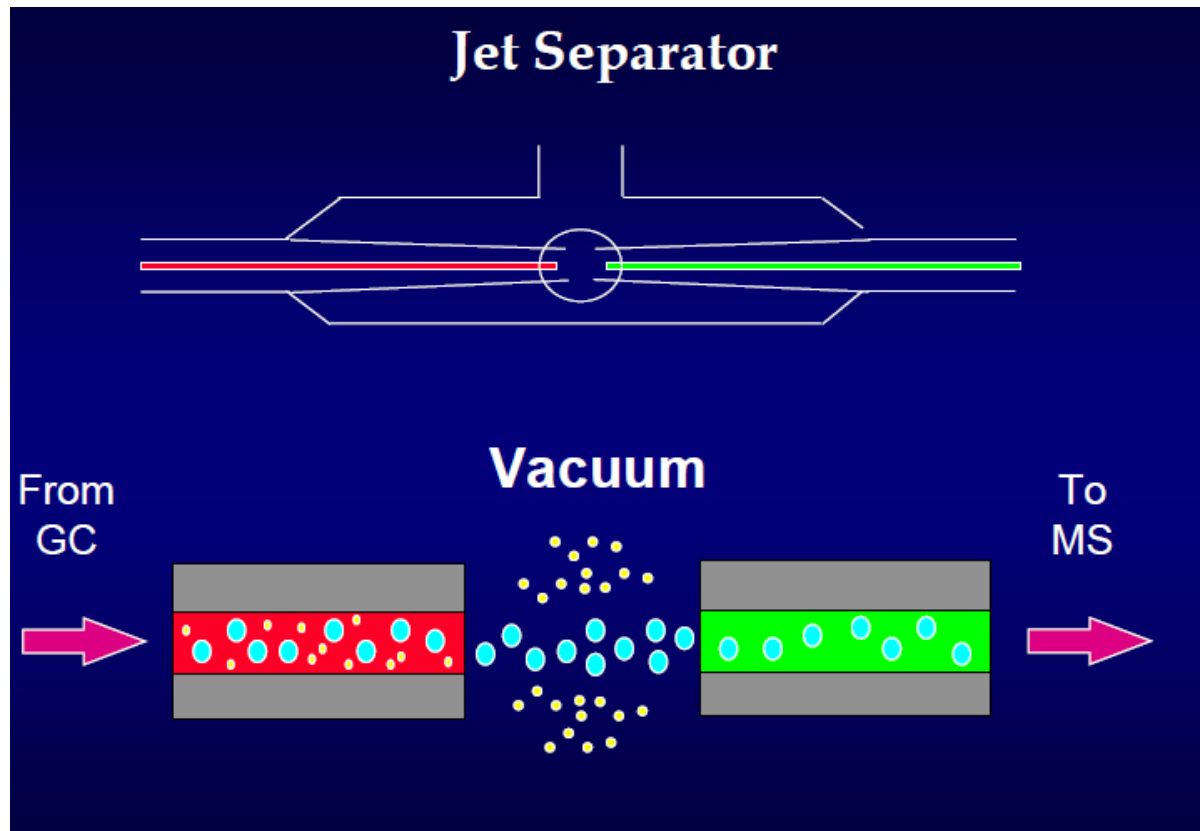


Gambar 4. Vial tempat sampel GS/MS



Gambar 5. Skema GC/MS

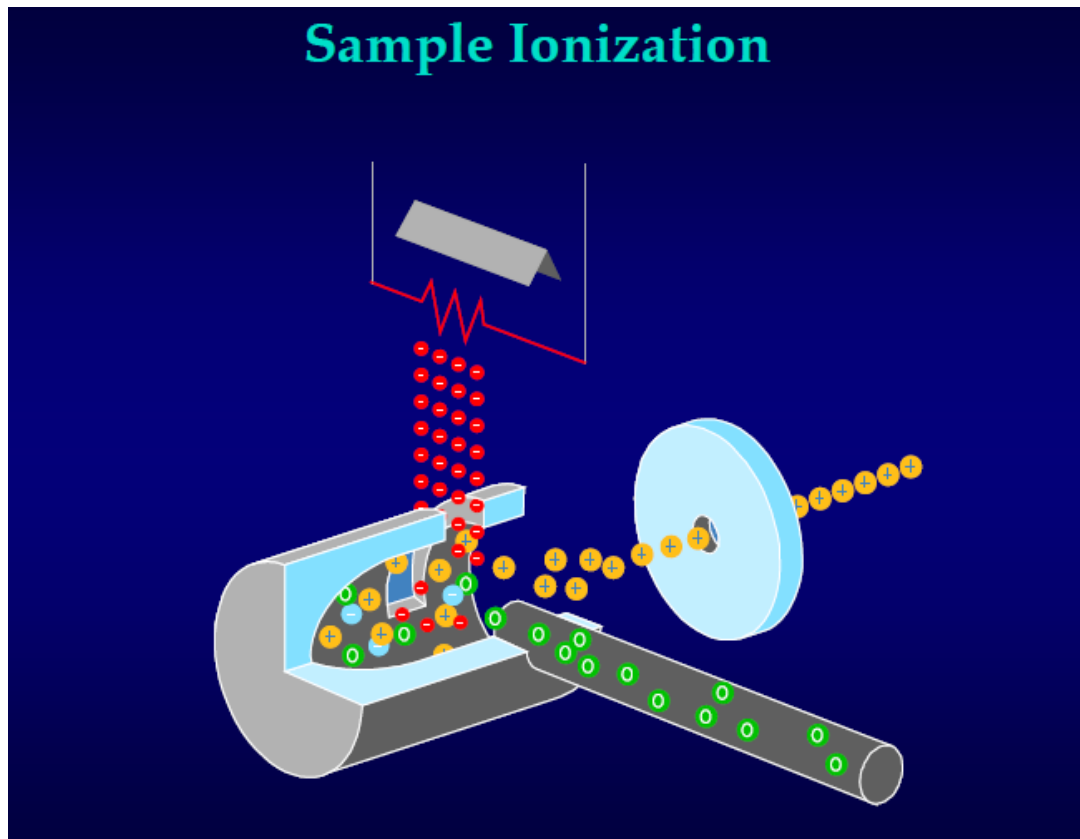
Senyawa yang keluar dari kolom GC bersama dengan gas pembawa dilewatkan interface/transfer line yang suhunya jg tinggi untuk menjaga agar yang akan masuk ke MS tetap dalam fase gas. Alat biasanya dilengkapi dengan jet separator untuk memisahkan gas pembawa dengan senyawa yang akan dianalisis.



1. ION SOURCE

Ionisasi dapat dilakukan dengan :

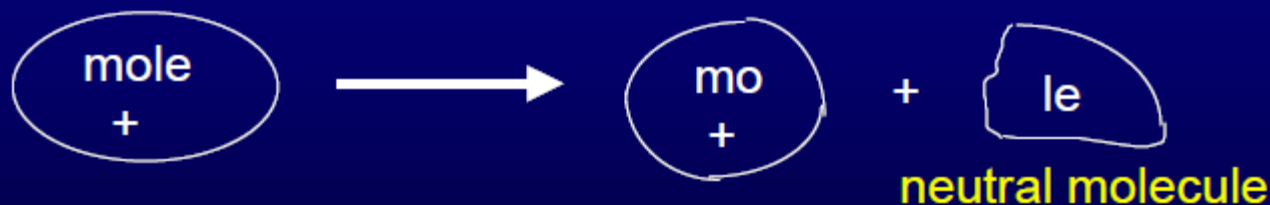
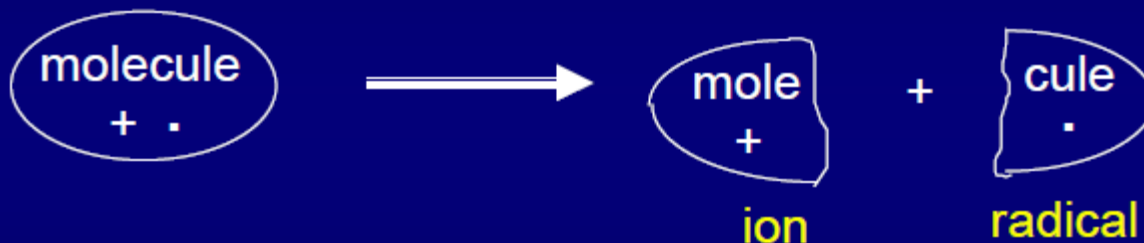
- **Electron impact ionization (EI)** (70eV) —→ banyak digunakan atau
- **Chemical ionization (CI)** —→ menggunakan reagen kimia (Methane, Isobutane, Ammonia)



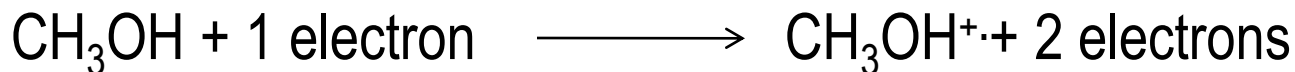
Electron Ionization Reactions



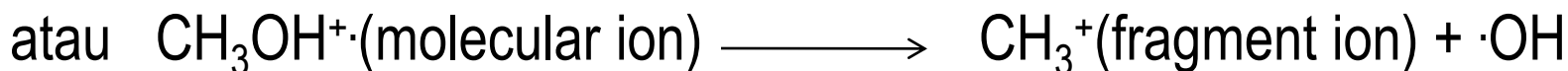
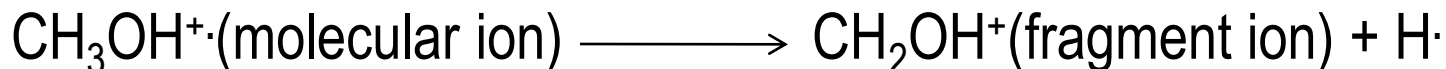
Fragmentation



Contoh:



(note: the symbols $^+ \cdot$ indicate that a radical cation was formed)



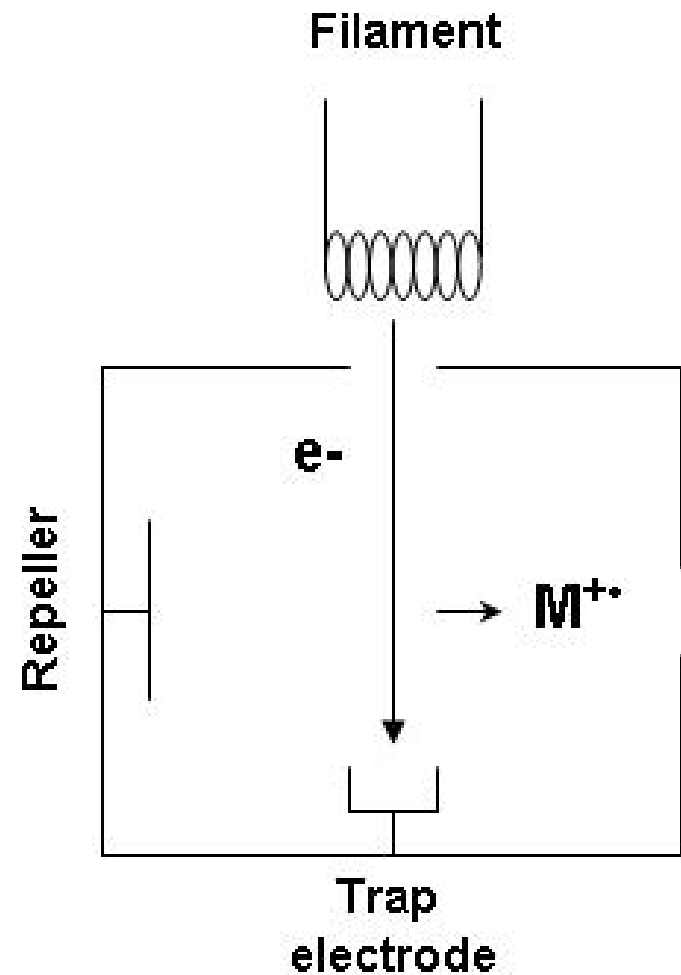
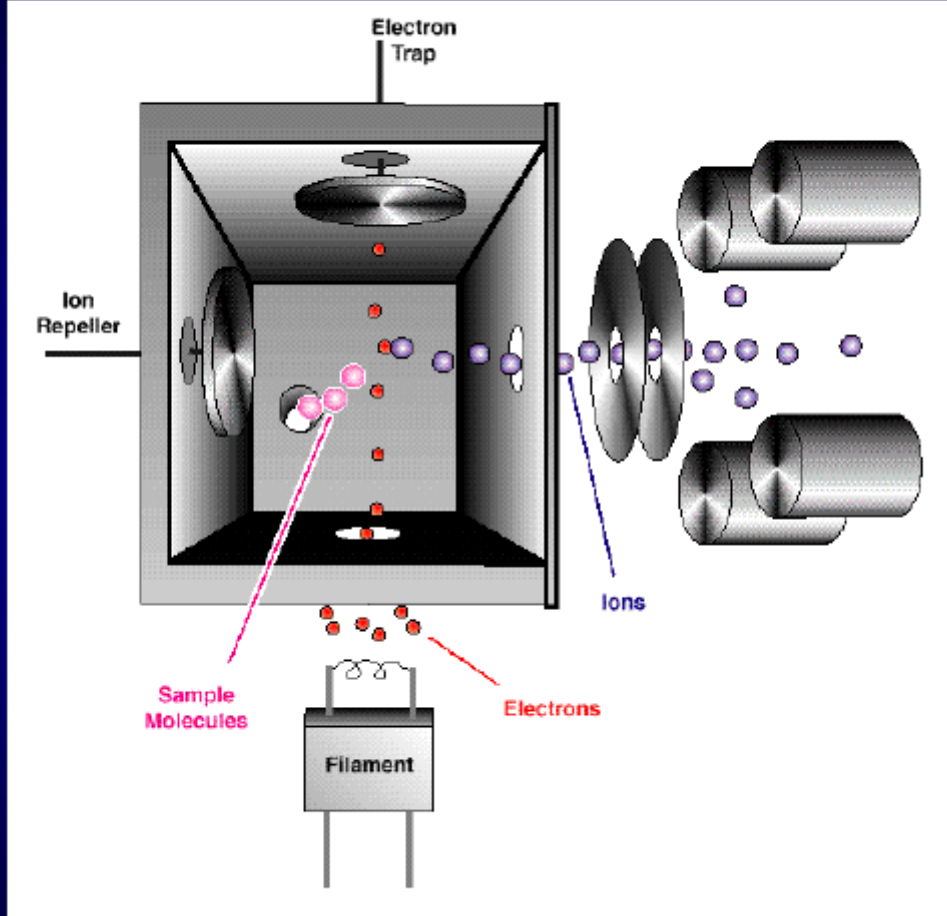


Diagram representing an electron ionization ion source

Electron Ionization Source



Setelah molekul diubah menjadi ion kemudian ion ini masuk ke mass analyzer.

2. Mass Analyzer

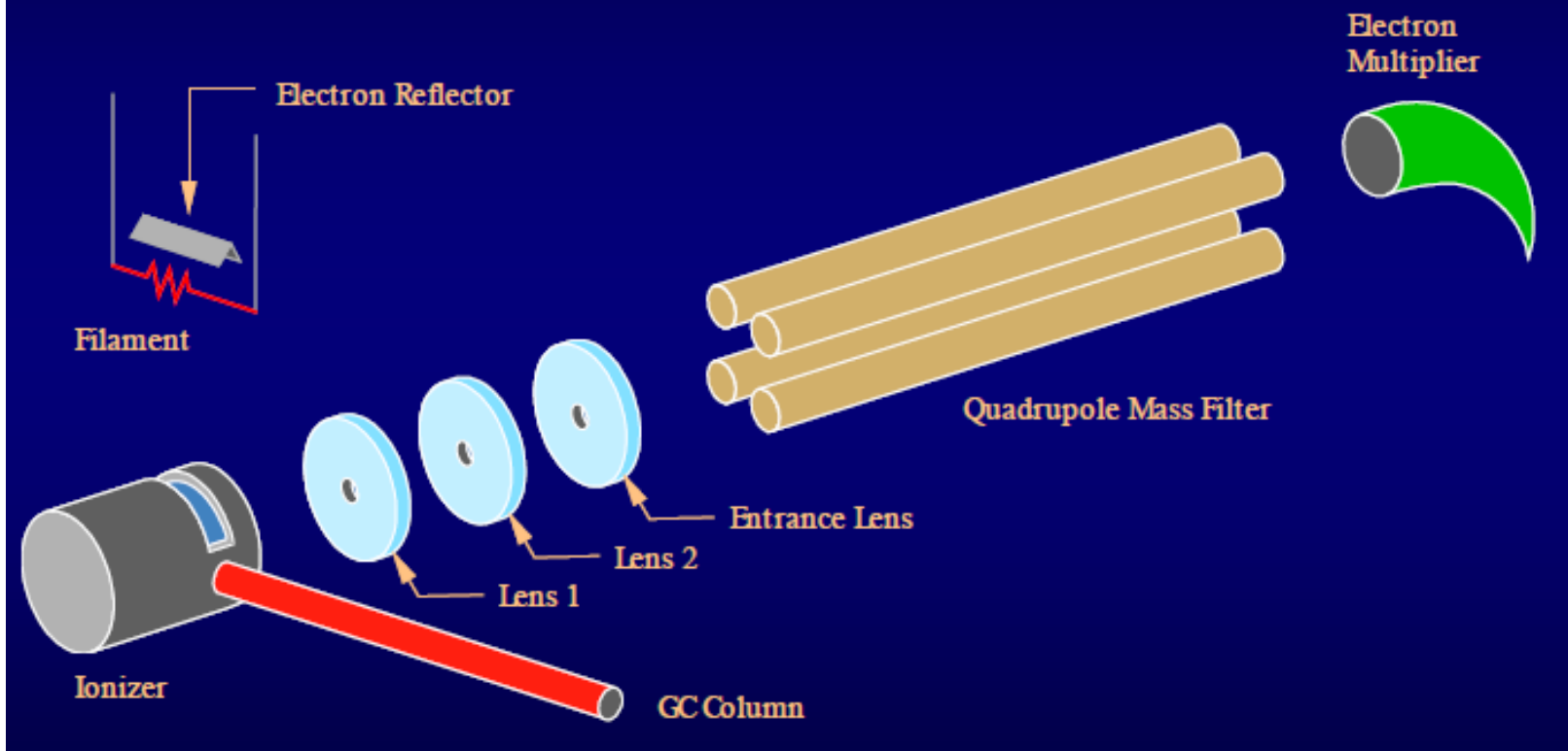
Jenis-jenis mass analyzer:

- Magnetic sector ———> high cost
- Time of flight (TOF) ———> high cost
- Ion trap ———> biasanya untuk MS/MS
- **Quadrupole** ———> scanning cepat, operasi mudah, dan sensitivitas tinggi. (banyak digunakan untuk GC/MS)

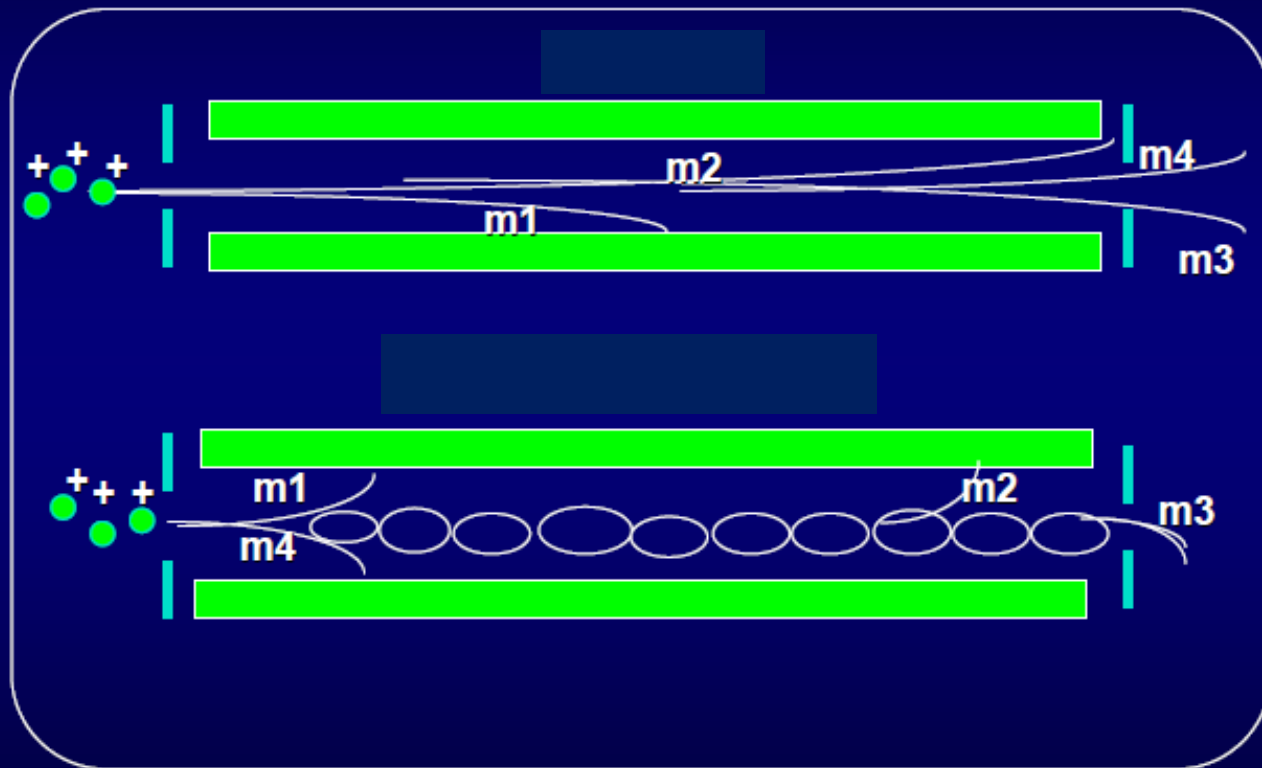


Quadrupole

Quadrupole



Quadrupole Mass Analyzer



3. Detector

mendeteksi ion-ion yang sudah dipisahkan menurut ratio m/z (mass to charge ratio).

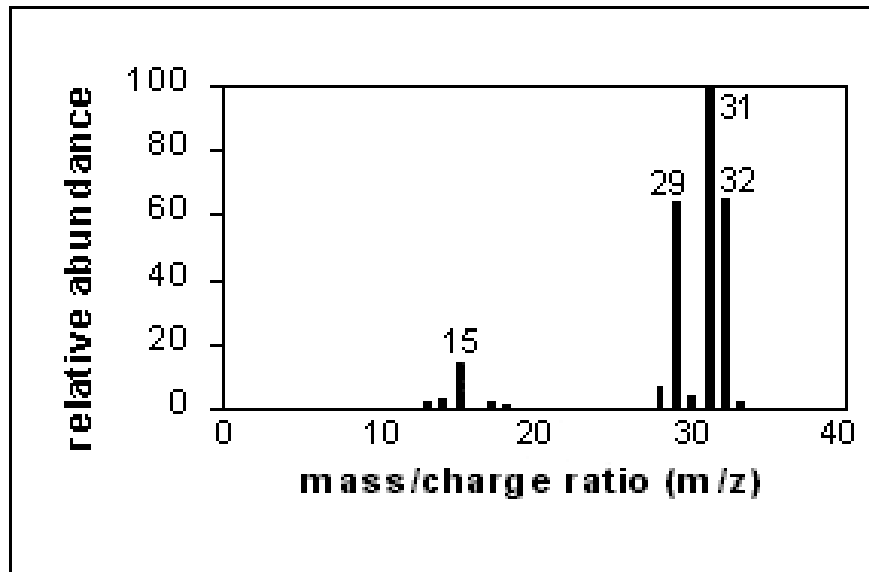
Jenis detector

- Electron multiplier —→ lebih sering digunakan, signal proporsional dengan ion yang terdeteksi.
- Photomultiplier

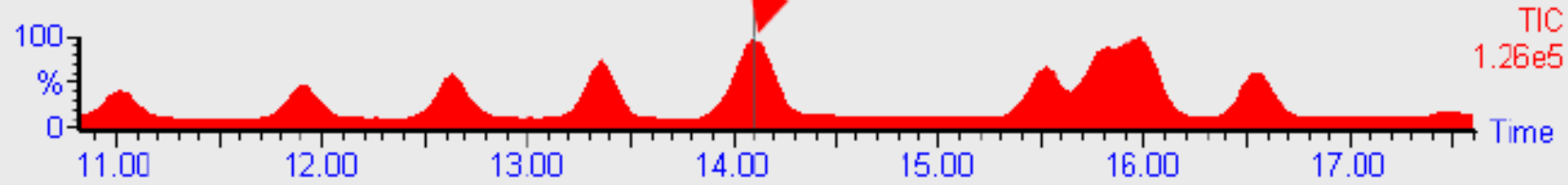
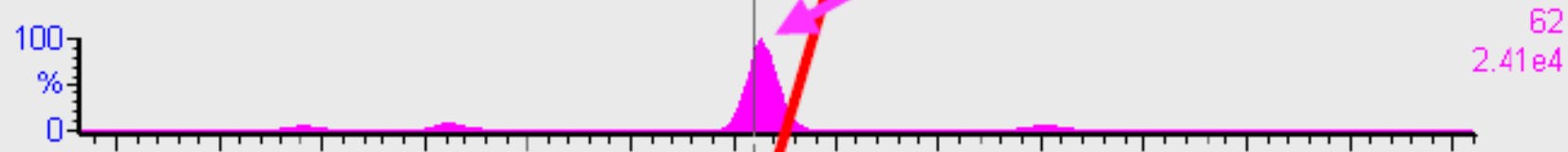
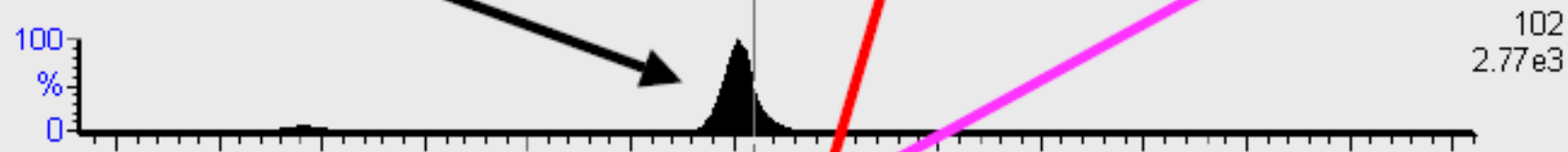
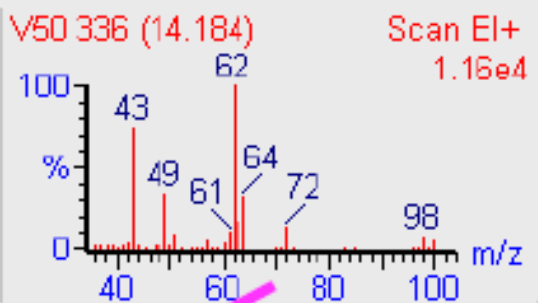
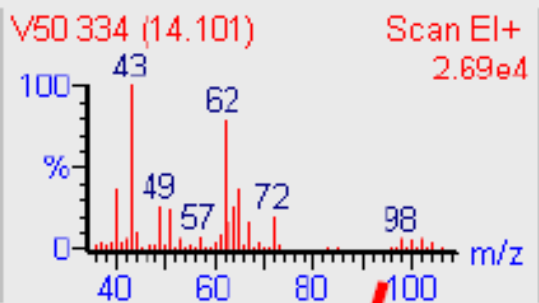
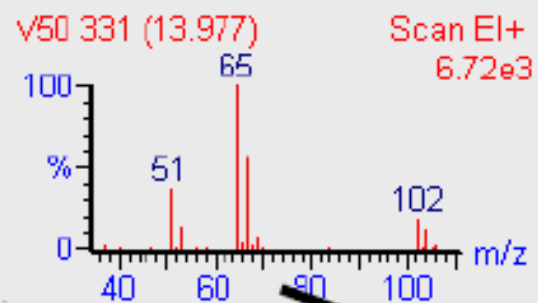
Hasil analisis dengan GC/MS berupa spektrum yang harus dibandingkan dengan spektrum strandard yang ada dalam library atau pustaka.

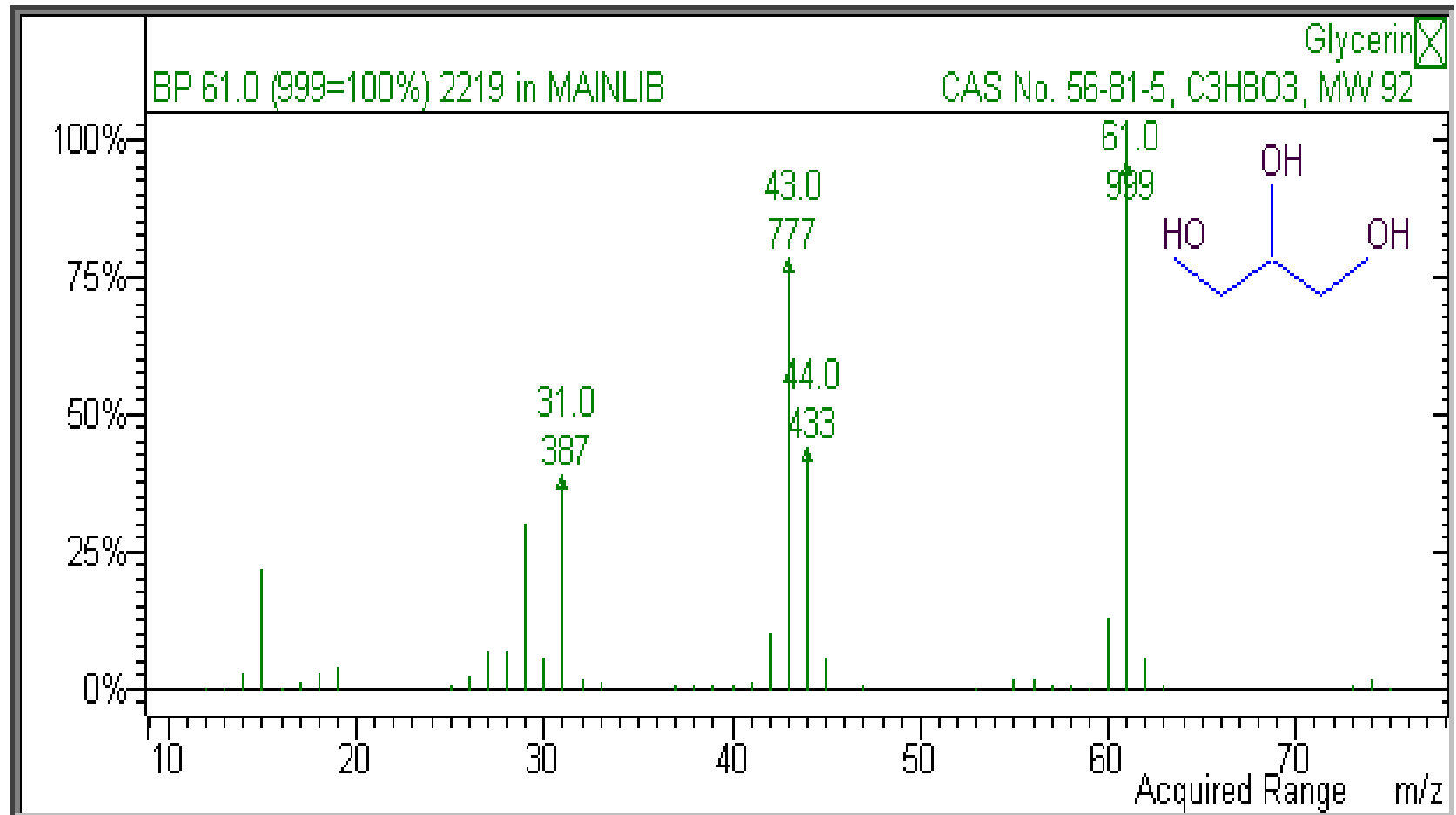
Alat akan menunjukkan berapa % kesesuaian spektrum sampel dengan yang ada di library.

Contoh spektrum metanol

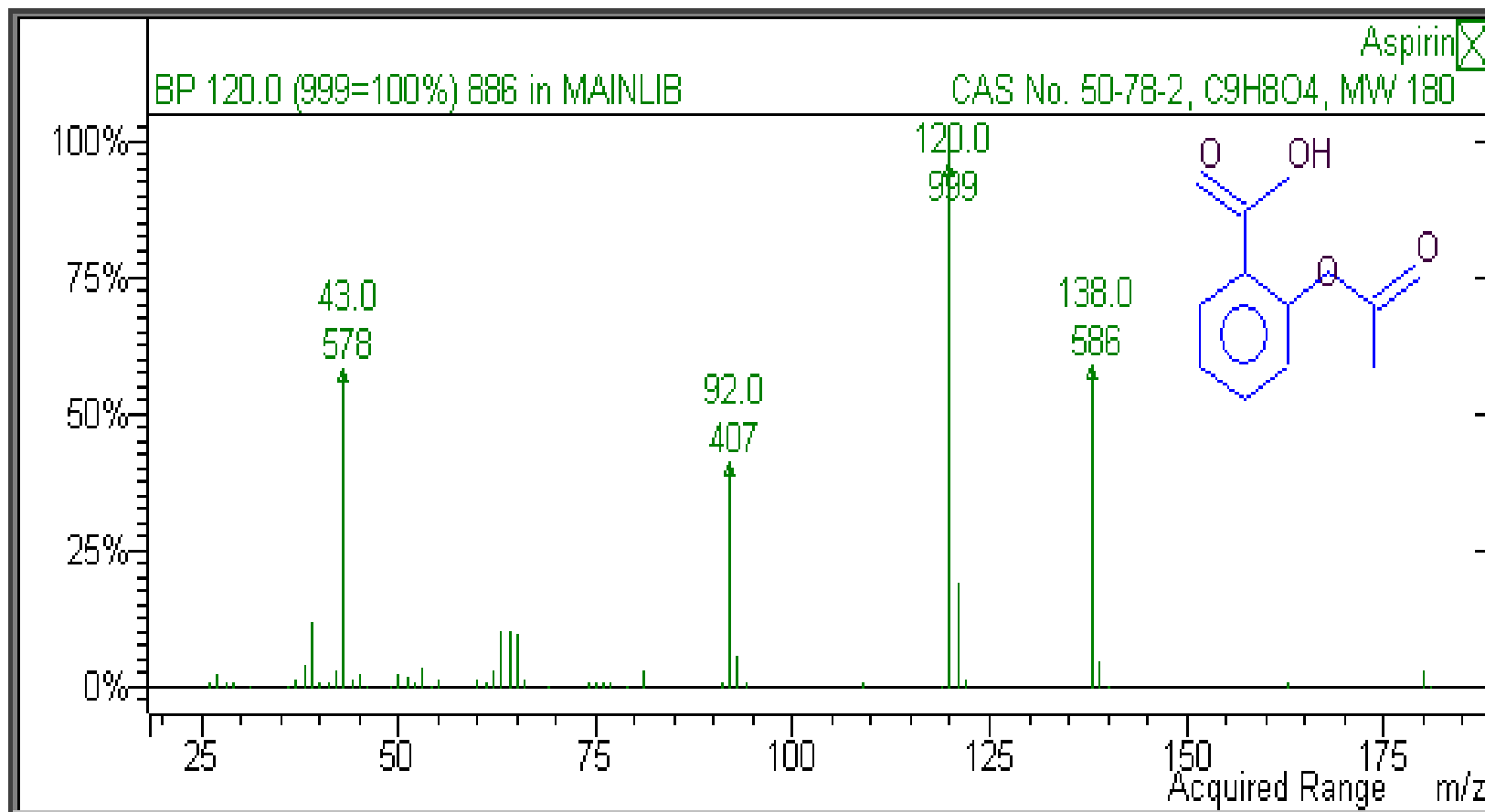


| ions | m/z |
|-----------------------------------|-----|
| $\text{CH}_3\text{OH}^{+\bullet}$ | 32 |
| $\text{H}_2\text{C}=\text{OH}^+$ | 31 |
| $\text{HC}\equiv\text{O}^+$ | 29 |
| H_3C^+ | 15 |





MS spektrum dari gliserol



MS spektrum aspirin