

**Instrumentizacija u analitici održivoga razvoja**  
**Plinska kromatografija - masena spektrometrija**  
**GC-MS**

*Instrumentation in sustainable development analytics*  
*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*  
*GC-MS*

<sup>1</sup>Dorotea Žvorc, <sup>2</sup>Marija Purić-Hranjec, <sup>3</sup>Andrea Varga, <sup>4</sup>Lana Pintarić

<sup>1</sup>Medicinska škola Varaždin, Ul.Vinka Međerala 11, 42000, Varaždin

<sup>2,4</sup>OŠ Ivanovec, U. bana Jelačića 26, 40000 Čakovec

<sup>3</sup>OŠ Donja Dubrava, Krbulja ul.21, 40328 Donja Dubrava

e-mail: <sup>1</sup>dorotea.zvorc@mev.hr, <sup>2</sup>marija.ph@hotmail.com, <sup>3</sup>andreav861@hotmail.com,

<sup>4</sup>lana.varga0207@gmail.com

**Sažetak:** *Potreba za jasnom identifikacijom komponenata u složenim biološkim i nebiološkim uzorcima dovela je do razvoja vezanih instrumentalnih tehnika, a jedna od takvih je široko i uspješno korištena plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (engl. Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS). GC-MS je analitička metoda koja objedinjuje plinsko-tekućinsku kromatografiju (odjeljuje pojedine komponente uzorka i kvantificira ih) i spektrometriju masa (identificira svaku od komponenata pojedinačno). Veza tih dviju tehnika međusobno povećava njihovu pojedinačnu specifičnost i osjetljivost čime se omogućuje analitičkom kemičaru da istodobno može učinkovito kvantitativno i kvalitativno analizirati složene smjese ili ekstrakate uzoraka koji sadrže stotine spojeva. Osim toga, visoka osjetljivost, preciznost, pouzdanost, selektivnost i male količine uzoraka potrebnih za analizu čine ovu tehnikom jednom od najkorištenijih u analitičkim laboratorijima. Odlične performanse uređaja rezultat su savršeno usklađenih komponenti konfiguracije koje se naveliko razlikuju vrstom ovisno o modelu uređaja koji se koristi tj. vrste uzoraka koje analitičar obrađuje. Konfiguracija*

GC-MS sustava je uglavnom sastavljena od tri su glavne komponente: jedinica za ubrizgavanje uzorka, koja zagrijava tekući uzorak i isparava ga; kolona koja se koristi za odvajanje svakoga spoja; i detektor, koji otkriva spojeve i prikazuje njihove koncentracije kao električne signale. Primjene GC-MS uključuju otkrivanje droga, istraživanje požara, analizu okoliša, istraživanje eksploziva i identifikaciju nepoznatih uzoraka, uključujući uzorke materijala dobivenih s planeta Mars, također može koristiti u osiguranju zračne luke za otkrivanje tvari u prtljazi ili na ljudima. Uz to, može identificirati elemente u tragovima u materijalima za koje se prije smatralo da su se raspali izvan identifikacije.

**Ključne riječi:** plinska kromatografija s masenom spektrometrijom, GC-MS, kvantitativna i kvalitativna analiza

**Summary:** *The need for clear identification of components in complex biological and non-biological samples has led to the development of related instrumental techniques, one of which is the widely and successfully used gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). GC-MS is an analytical method that combines gas-liquid chromatography (separates the individual components of the sample and quantifies them) and mass spectrometry (identifies each of the components individually). The interrelation of these two techniques mutually increases their individual specificity and sensitivity thus enabling the analytical chemist to simultaneously efficiently quantitatively and qualitatively analyze complex mixtures or extracts of samples containing hundreds of compounds. In addition, the high sensitivity, precision, reliability, selectivity, and small amounts of samples required for analysis make this technique one of the most used in analytical laboratories. The excellent performance of the device is the result of perfectly matched configuration components that differ greatly in type depending on the device model used, ie the types of samples that the analyst processes. The configuration of the GC-MS system mainly consists of three main components: a sample injection unit, which heats the liquid sample and evaporates it; a column used to separate each joint; and a detector, which detects compounds and displays their concentrations as electrical signals. Applications of GC-MS include drug detection, fire research, environmental analysis, explosives research, and identification of unknown samples, including samples of materials obtained from the planet Mars, can also be used in airport security to detect substances in luggage or on humans. In addition, it can identify trace elements in materials previously thought to have disintegrated beyond identification.*

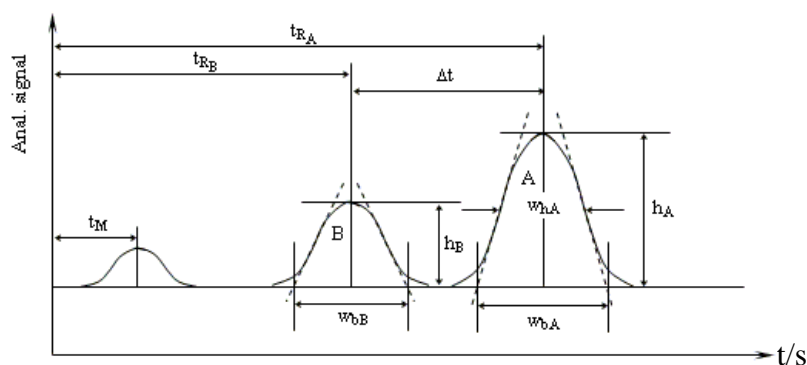
**Keywords:** *gas chromatography with mass spectrometry, GC-MS, quantitative and qualitative analysis*

## 1.Uvod

Kromatografija je zbirni naziv za grupu laboratorijskih tehnika za razdvajanje smjese. Ona uključuje kretanje ispitivane smjese, otopljene u "mobilnoj fazi" (pokretnoj), kroz "stacionarnu fazu" (nepokretnu), čime se stvaraju reverzibilna međusobna djelovanja sastojaka smjese između nepokretne i pokretne faze i dijelovi smjese se razdvajaju i izoliraju, te ih je moguće analizirati i kvantitativno odrediti. Pokretna faza može biti tekućina, plin ili superkritični fluid, te ona prenosi sastojke smjese preko nepokretne faze, pri čemu se sastojci smjese neprestano vežu i odcjepljuju od nepokretne faze. Nepokretna faza može biti čvrsta ili tekuća, te mora selektivno zadržavati sastojke smjese, kako bi sastojci putovali različitom brzinom i na taj način se odijelili.<sup>(1)</sup> Kromatografske tehnike najčešće se klasificiraju prema fizikalnom stanju, odnosno prema agregatnom stanju pokretne faze, stoga razlikujemo plinsku (GC) i tekućinsku kromatografiju (LC)<sup>(2)</sup> Opsežnije podklasifikacija ovisi o agregacijskim stanjima pokretne i mobilne faze.

Odjeljivanje komponenata u uzorku i njihovo kvantificiranje, u kromatografskom sustavu pomoću pokretne i nepokretne faze, detektira se različitim detektorima. Rezultati provedene analize uzorka u kromatografskom procesu predočavaju se kromatogramom, odnosno grafičkom ovisnošću detektiranoga signala komponenata o vremenu u koordinatnom sustavu<sup>(3)</sup>. Detektirani signali komponenata vizualiziraju se u obliku pikova (Slika 1).

Slika 1. Kromatogram komponenata A i B<sup>(4)</sup>



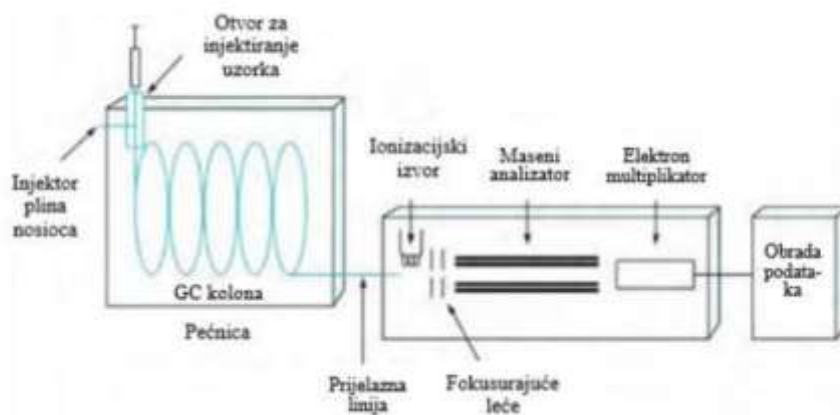
Pik definiraju: njegov maksimum, koji se definira kao udaljenost od bazne linije kromatograma i vrha pika; potom visina pika ( $h$ ), koja predstavlja udaljenost od maksimuma pika i bazne linije kromatograma; nadalje retencijsko vrijeme ( $t_R$ ), vrijeme potrebno za eluiranje komponente od trenutka injektiranja u sustav do detektiranja kromatografskog pika; zatim

širina pika koja je paralelna s baznom linijom pika ( $w_b$ ), te predstavlja širinu pika dobivenu povlačenjem tangenti iz točaka infleksije s jedne i druge strane pika (Slika 1). Širina pika također se može izraziti kao širina pika na polovici njegove visine, te se tada označava ( $w_h$ ) ili kao širina pika između točaka infleksije s jedne i druge strane pika ( $w_i$ ).<sup>(4)</sup>

Plinska kromatografija (GC) odabrana je vrsta tehnike koja se koristi u analitičkoj kemiji za odvajanje i analizu tvari koji se mogu isparavati bez razgradnje kao što su manje hlapljive i poluhlapive organske molekule npr. ugljikovodici, alkoholi i aromati, kao i pesticidi, steroidi, masne kiseline i hormoni primjenjiva do vrijednosti temperatura do 350 °C, te uzoraka molekularne mase do 600 D<sup>(5)</sup>, što ovu analitičku tehniku čini uobičajenom u mnogim područjima primjene i segmentima industrije, posebno za sigurnost hrane i ispitivanja okoliša.<sup>(6)</sup> U kombinaciji s detekcijskom snagom masene spektrometrije (MS), tehnike koja koristi mjerenje odnosa mase i naboja iona, GC-MS može se koristiti za odvajanje složenih smjesa, kvantificiranje analita, prepoznavanje nepoznatih pikova i određivanje razina onečišćenja u tragovima. Veza tih dviju tehnika međusobno povećava njihovu pojedinačnu specifičnost i osjetljivost čime se omogućuje analitičkom kemičaru da istodobno može kvantitativno i kvalitativno učinkovito razrješiti složene smjese ili ekstrakte uzoraka koji sadrže stotine spojeva.

GC-MS se smatra "zlatnim standardom" za forenzičku identifikaciju tvari jer se koristi za provođenje 100 % specifičnog testa, međutim visoke temperature (300 °C) koje se koriste u otvoru za ubrizgavanje GC-MS (i pećnici) mogu rezultirati toplinskom razgradnjom ubrizganih molekula, što rezultira mjerenjem produkata razgradnje umjesto stvarnih molekula (molekula) od interesa.<sup>(7)</sup>

Slika 2. Shematski prikaz plinskoga kromatografa s masenim spektrometrom (GC-MS)



Izvor: Shematski prikaz rada GC-MS uređaja (FAO/WHO, 2006)

Slika 3. GC-MS uređaj Shimadzu Nexis 2030



## 2. Princip rada instrumenta

GC-MS se sastoji od dva glavna gradivna bloka: plinskoga kromatografa i masenoga spektrometra. Konfiguracija GC-MS sustava sastavljena je od tri glavne komponente: jedinice za ubrizgavanje uzorka, koja zagrijava tekući uzorak i isparava ga; kolone koja se koristi za odvajanje svakog spoja; i detektora koji otkriva spojeve i prikazuje njihove koncentracije kao električne signale. <sup>(8)</sup>

### 2.1. Injektiranje

Analiza započinje plinskim kromatografom, pri čemu se uzorak unosi pomoću injektora (ručnoga ili automatskoga- engl. *autosampler*), u kojemu se prvo zagrijava u plinovito stanje, a zatim nošen strujom mobilne faze (plin-nosač) putuje do stacionarne faze u koloni i dolazi do međusobne interakcije stacionarne faze i uzorka.

Plin nosač je inertni plin koji se koristi za prijenos uzorka. Često se koriste helij (He), dušik (N<sub>2</sub>), vodik (H<sub>2</sub>) i argon (Ar). Helij ostaje najčešće korišteni plin-nosač u oko 90 % instrumenata, iako je vodik poželjan za poboljšana odvajanja. Kako plin nosač neprestano ulazi u detektor, treba koristiti plin visoke čistoće od najmanje 99,995 %. (Korištenje plina visoke čistoće smanjuje početnu buku.) Učinkovitost kolone varira u skladu s kombinacijom vrste upotrebljenog plina nosača i uvjeta analize (linearna brzina). <sup>(8)</sup>

Pri korištenju plina nosača potrebno je odrediti prikladnu linearnu brzinu. U konvencionalnoj analizi pomoću kapilarne kolone koristi se oko 30 cm / s linearne brzine, jer se helij često koristi kao nositeljski plin.

Postoje razne metode ubrizgavanja uzoraka dostupne za kapilarnu analizu: <sup>(8)</sup>

#### Vruće ubrizgavanje

*Split* (podijeljen): Većina uzorka eliminira se jer se samo jedan dio ubrizga u kolonu.

*Splitless* (nepodijeljen): Ne dijeli se, već samo 1 do 2 minute nakon injekcije

*Total volume injection* (Ubrizgavanje ukupnoga volumena - izravno ubrizgavanje): Ne postoji mehanizam cijepanja.

#### Hladno ubrizgavanje

Hladno ubrizgavanje u kolonu (OCI)

Programirano temperaturno isparavanje (PTV)

Za injektiranje uzoraka u GC jedinicu koriste se mikrošprice (za tekuće uzorke) dok se za uzorke plina koristi nepropusne šprice.

Slika 4. Injektori za plinski kromatograf <sup>(8)</sup>



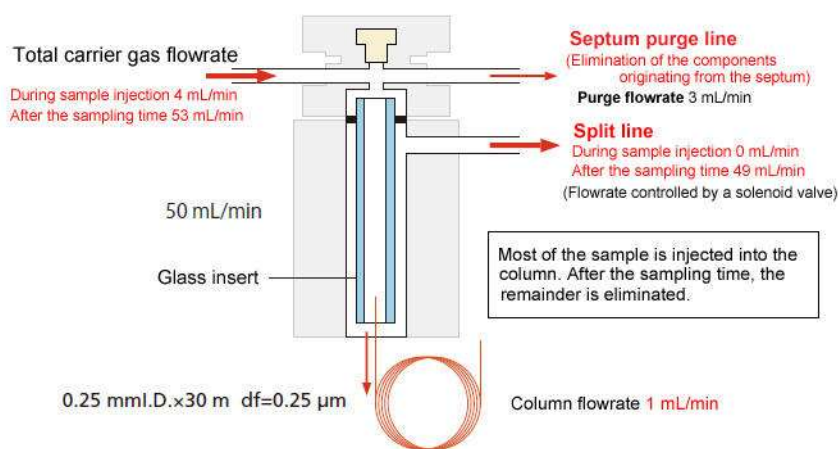
Smjernice za količine ubrizgavanja uzorka su za uzorke tekućina od približno 1 do 2  $\mu\text{L}$ , a uzoraka plina približno 0,2 do 1 ml, što odgovara pretvorbi u plinovitu fazu u koloni u nekoliko stotina do 1000  $\mu\text{L}$  volumena plina. Ako je volumen ubrizgavanja prevelik, oblik vrha će se deformirati ili će se otvor za ubrizgavanje zaprljati, što dovodi do problema. <sup>(8)</sup>

#### **2.1.1. Metoda podijeljenoga (engl. *split*) ubrizgavanja**

Najčešće je korištena metoda ubrizgavanja za kapilarnu analizu. Može se postaviti optimalni protok kolone (prosječna linearna brzina) za odvajanje, što omogućava analizu visokoga odvajanja. Veća brzina protoka kroz ulaz vodi do oštih, uskih pikova, istodobno smanjujući vrijeme nastanka štetnih interakcija. Analiza se može provoditi u širokom rasponu koncentracija, od srednje do visoke, a prikladna je za uzorke s relativno visokom koncentracijom.

Dio plina nosača ulijeva se u cijev za pročišćavanje septuma (engl. *septum purge line*) kako bi uklonio dijelove koji izlaze s dna septuma i smanjila moguća kontaminacija iz septuma. Ostatak teče u umetak (stakleni engl. *liner*) unutar jedinice za ubrizgavanje uzorka. Dio se grana na kolonu, dok se ostatak grana na razdvojni odvod (engl. *split line*). Ovom metodom ubrizgavanja uklanja se većina uzorka. Samo se jedan dio ubrizgava u kolonu. Iz tog razloga nije prikladan za analizu tragova. Odnos količine protoka koji odlazi na razdvojni otvor (engl. *split line*) i na kolonu je definirano omjerom podjele (engl. *split ratio*) kojeg određuje korisnik prije početka analize. Omjeri razdvajanja obično variraju između 5: 1 i 500: 1, što je veći omjer, to je manja količina uzorka koja ulazi u kolonu u odnosu na ono što ispušta odvojeni otvor, što daje oštrije i bolje vrhove. (Ako je omjer podjele mali, pik se nehotice može proširiti na otvoru za ubrizgavanje, smanjujući razdvajanje.) Tijekom ubrizgavanja uzorak se ubrizga u oblogu i isparava. Primjer na slici 5. ima omjer razdvajanja od 49: 1, jedan dio ide na stupac, dok 49 dijelova uzorka izlazi iz podijeljenog otvora. <sup>(8)</sup>

Slika 5. Jedinica za ubrizgavanje uzorka podijeljenom (*split*) metodom omjera podjele (*split ratio*) 49:1 <sup>(8)</sup>

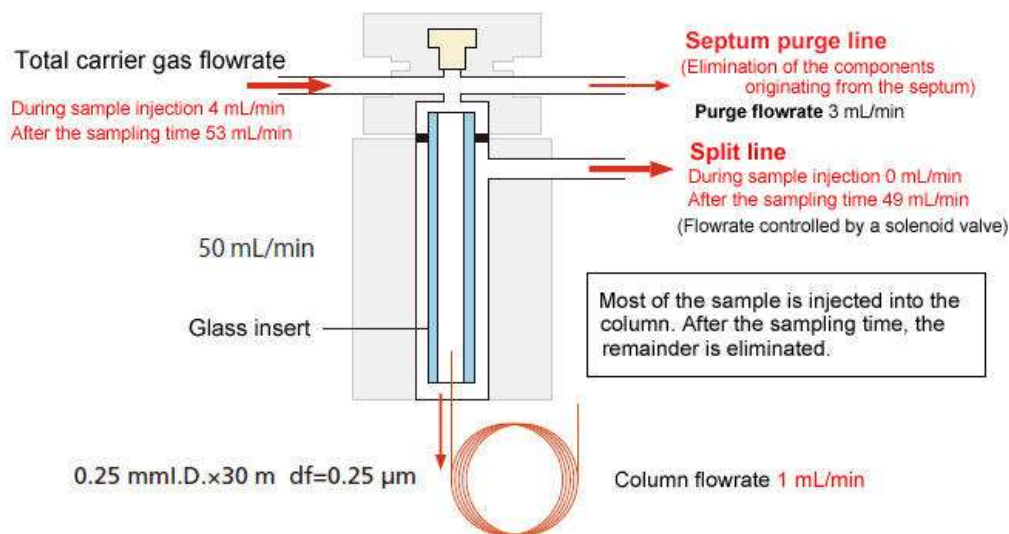


### 2.1.2. Metoda nepodijeljenog (engl. *splitless*) ubrizgavanja

U metodi bez dijeljenja, razdvojni odvod zatvara se i ostavlja zatvorenim prije i za vrijeme injektiranja. Kako ne postoji podijeljeni protok, ukupni protok se postavlja na dramatično smanjenu brzinu protoka. (npr. 4 mL/min = 3 mL/min je prošlo kroz pročišćavanje septuma, dok je preostalih 1 mL/min ušlo u kolonu.) Tijekom ubrizgavanja, uzorak ostaje duže unutar *liner*-a prije ulaska u kolonu zbog manje brzine protoka. Kad protekne dovoljno vremena

nakon ubrizgavanja, otvori se razdvojni otvor kako bi se pročistio ulaz. To trajanje poznato kao vrijeme nepodijeljenoga zadržavanja (engl. *splitless hold time*) računa se da je dovoljno dugo da omogući maksimalno isparavanje i prijenos analita u koloni.<sup>(9)</sup> Vrijeme od ubrizgavanja uzorka do otvaranja razdvojenoga odvoda naziva se vremenom uzorkovanja (engl. *splitless time*). Uzorci koji se ne ubrizgaju u to vrijeme uklanjaju se.<sup>(8)</sup>

Slika 6. Jedinica za ubrzgavanje uzorka nepodijeljenom (*split*) metodom omjera podjele (*split ratio*) 49:1<sup>(8)</sup>



Ova metoda koristi se za uzorke niske koncentracije kojima je potrebna veća osjetljivost od one koju pruža metoda cijepanja. U kontekstu kapilarne analize, ovo je relativno ograničena metoda analize s obzirom na primjenjive komponente, pa se uglavnom koristi za analizu tragova (nekoliko desetaka ppm ili manje).<sup>(8)</sup> Budući da je sav tok usmjeren na stupac, možete prenijeti većinu uzorka. Međutim, sporiji protok u koloni može rezultirati razgradnjom aktivnih analita kroz adsorpciju i razgradnju. To također dovodi do povećane difuzije, uzrokujući širenje opsega. To je posebno primjetno kod hlapljivijih analita, što rezultira širim vrhovima.<sup>(9)</sup> Vršno širenje može se izbjeći držanjem temperature stupca nižom od točke vrelišta uzorka tijekom vremena uzorkovanja.<sup>(8)</sup>

### 3. Razdvajanje uzorka

GC kolone predstavljaju stacionarnu fazu i alat za razdvajanje analize plinske kromatografije. Stacionarna faza osigurava da se različiti spojevi odgovarajuće odvoje i eluiraju iz kolone u različito vrijeme. Mogu se koristiti različite vrste kolona s različitim

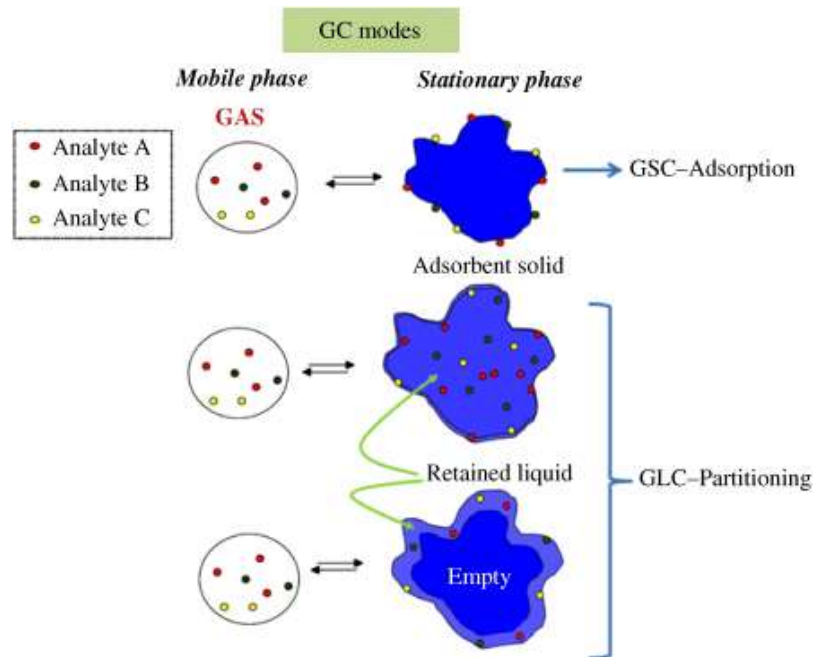


stacionarnim fazama za različite primjene. Mogu biti dizajnirani za odvajanje polarnih ili nepolarnih spojeva ili obradu uzoraka različitim brzinama. Važno je da kolone ne oslobađaju spojeve stacionarne faze, pružajući na taj način minimalni pozadinski signal u rezultirajućem kromatogramu, koji se ponekad naziva i "niskim odzračivanjem" (engl. „*low bleed*”).<sup>(10)</sup>

GC je jedini oblik kromatografije koji ne koristi mobilnu fazu za interakciju s analitom. U GC sustavu uzorak se ispari i ubrizga u glavu kolone za odvajanje, pakiranu fino podijeljenom krutinom ili presvučenom filmom tekućine.<sup>(11)</sup>

Kada je stacionarna faza čvrsti adsorbent, postupak se naziva plinsko-čvrsta kromatografija (GSC), a kada je tekućina na inertnom nosaču, proces se naziva plinsko-tekuća kromatografija (GLC). Shematski dijagram koji objašnjava svaki način rada GC prikazan je na slici 7.

Slika 7. GC načini koji pokazuju interakciju između mobilne faze i stacionarne faze<sup>(12)</sup>



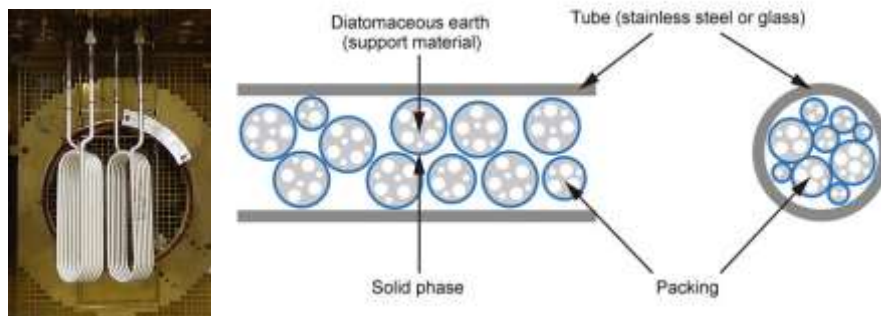
U GLC, tekuća stacionarna faza adsorbira se na čvrstu inertnu ambalažu ili se imobilizira na stijenkama kapilarnih cijevi, GSC ima ograničenu primjenu u laboratoriju i rijetko se koristi zbog ozbiljnoga zadržavanja vrha i polutrajnoga zadržavanja polarnih spojeva unutar kolone. Stoga se izraz "plinsko-tekućinska kromatografija" jednostavno skraćuje u "plinska kromatografija" GC.<sup>(11)</sup>

U plinskoj kromatografiji koriste se dvije vrste stupaca: udružene kolone i kapilarne kolone.

### 3.1. Udružene kolone

Udružene kolone su kratki, debeli stupovi izrađeni od staklenih cijevi ili cijevi od nehrđajućeg čelika i imaju vanjski promjer 0,64 ili 0,32 cm i duljinu 0,61–3,05 m ispunjene materijalom za pakiranje čestica (adsorpcijski materijal ili potporni materijal obložen ili impregniran čvrstom fazom) koji su se koristili od ranih faza plinske kromatografije. Također su korišteni alternativni inertni materijali, uključujući staklo, nikal, fluorokarbonski polimer (teflon) i čelik prekriven staklom ili teflonom. Dijatomejska zemlja, sastavljena od vodenoga silicijevoga dioksida s nečistoćama, korištena je kao čvrsta podloga pod zaštitnim imenom Chromosorb®<sup>(11)</sup>

Slika 9. Udružene kolone GC-a<sup>(8)</sup>



Udružene kolone proizvode široke vršne oblike i imaju niske performanse odvajanja, ali također mogu podnijeti velike količine uzoraka i nisu osjetljivi na onečišćenje. Površine nosača dijatomejske zemlje imaju mnoštvo aktivnih mjesta generiranih iz slobodnih hidroksilnih skupina koje tvore nepoželjne vodikove veze s polarnim molekulama otopljene tvari i uzrokuju smanjenje i široke pikove. Danas se koriste u službenim analitičkim metodama i za analizu plinova.<sup>(12)</sup>

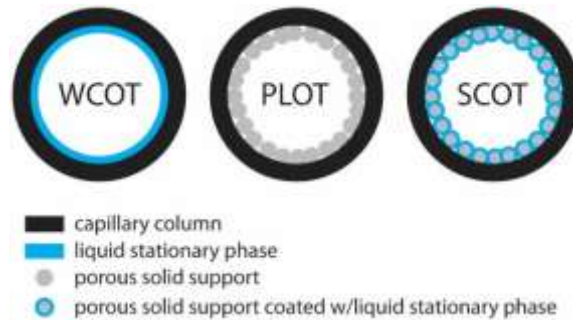
### 3.2. Kapilarne kolone

Trenutačno se procjenjuje da se više od 80 % svih aplikacija izvodi na kapilarnim kolonama zbog brzoga i učinkovitoga odvajanja.

Kapilarna kolona je tanka, stopljena silikatna staklena cijev, obložena tankim filmom tekuće faze ili adsorbentom ili ima kemijski vezni sloj a prekriva unutarnju stijenku kolone. Budući da je cijev otvorena, njezin otpor protoku je vrlo nizak i stoga se naziva otvorenom cjevastom kolonom.

Otvorene cjevaste kolone mogu se podijeliti u tri skupine i opisane su na slici 10.

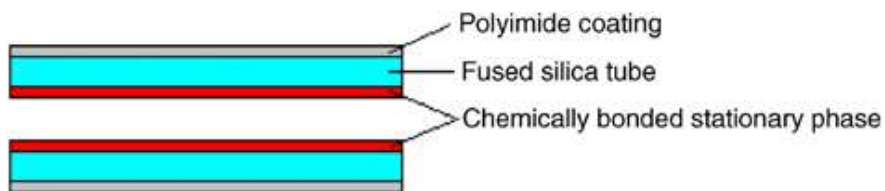
Slika 10. Vrste otvorenih cjevastih kolona



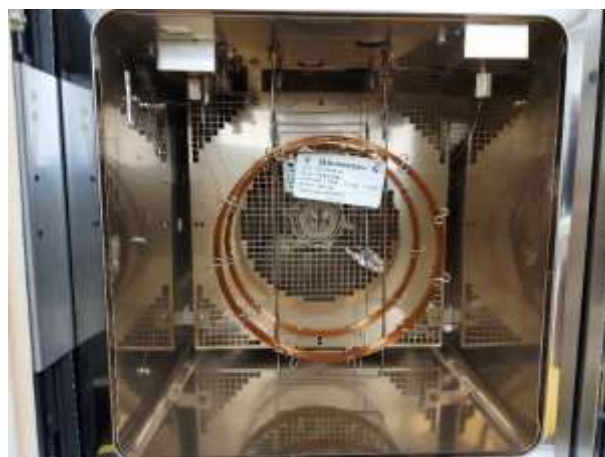
Izvor: <https://unese.campusquotient.org/gc-column-comparison-chart/>

Trenutačno prevladavajući tip kapilarnih kolona čine tanke, inertne cijevi s topljenim silicijevim dioksidom, presvučene tankom, jednoličnom tekućom fazom, a ojačane su poliamidnim premazom. Ti su stupovi fleksibilni i mogu se namotati u zavojnice. Unutarnjega su promjera 0,1-0,53mm i duljine 5-100m (najčešće 30m) što je moguće zbog malog pada tlaka u koloni. Udružene kolone čvrsto su ispunjene čvrstim nosačem i trpe zbog većih padova tlaka; stoga je nemoguće koristiti udružene stupove duže od 2 m. <sup>(13)</sup>

Slika 11. Poprečni presjek otvorenoga cjevastoga stupca s topljenim silicijevim dioksidom <sup>(8)</sup>



Slika 12. Kapilarna kolona (30m) u peći Shimadzu Nexis 2030



Oni nude prednosti fizičke snage, fleksibilnosti i niske reaktivnosti. Daju oštre i više pikove, što omogućuje otkrivanje nižih koncentracija (visoka osjetljivost detekcije), bolje razdvajanje, ali i kraća vremena analize. Postižu izvrsne performanse razdvajanja i pogodni su za analizu visoke osjetljivosti. <sup>(8)</sup>

Optimizacija GC razdvajanja zahtijeva fino podešavanje brojnih varijabli i njihovih interakcija. I fizičke (unutarnji promjer, duljina i stacionarna faza) i parametarske (temperatura i brzina protoka) varijable stupca utječu na proces odvajanja. Treba uzeti u obzir širok raspon kombinacija pri odabiru GC kapilarne kolone. Što je kolona dulja, više je teoretskih ploča i bolje odvajanje. Razlučivost je proporcionalna samo kvadratnom korijenu duljine stupca, odnosno ako se duljina stupca udvostruči, razlučivost se povećava samo za kvadratni korijen od dva ili 41 %. Kratke kolone od 10 m treba koristiti za brzu analizu jednostavnih uzoraka, s očekivano umjerenom razlučivosti. <sup>(13)</sup>

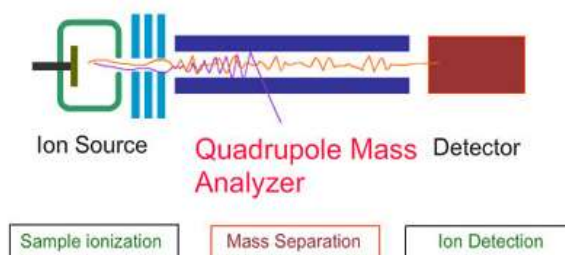
Kad uzorak pređe kolonu protokom inertnoga plina koji se koristi kao mobilna faza, njegovi se dijelovi razdvajaju zbog razlika u kemijskim svojstvima između različitih molekula u smjesi i njihov relativni afinitet prema stacionarnoj fazi. <sup>(12)</sup> Kolona zadržava molekule na temelju točke vrenja i polarosti i zatim ih u različito vrijeme eluira (otpušta) iz kolone (što se naziva vrijeme retencije- engl. *retention time*- RT). <sup>(14)</sup>

Svaka komponenta uzorka se različitom brzinom (afinitetom) vezuje za stacionarnu fazu pa će one koje stupaju u interakciju sa stacionarnom fazom izaći iz kolone zadnje (eluirat će se najbrže), i obrnuto. Osim vrste stacionarne faze, utjecaj na brzinu analize ima i temperatura pa će se povišenjem temperature one komponente koje imaju niže točke vrenja eluirati brže s kolone. <sup>(14)</sup>

#### 4. Detekcija

Jednom kada komponente napuste GC kolonu, putuju prema masenom spektrometru (MS) koji ih uhvati, ionizira i fragmentira pomoću elektronskih ili kemijskih izvora ionizacije. Ionizirane molekule i fragmenti se zatim ubrzavaju kroz analizator mase instrumenta, koji je često kvadropol ili ionska zamka, koji u osnovi pretvara ionizirani masni fragment u električni signal koji se zatim detektira. Ovdje se ioni razdvajaju na temelju njihovih različitih odnosa mase i naboja ( $m/z$ ). <sup>(10)</sup>

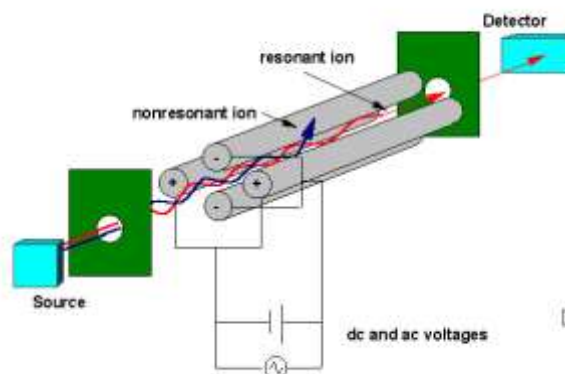
Slika 13. Shematski prikaz rada masenog spektrometra <sup>(15)</sup>



Maseni spektrometar sastoji se od izvora iona u kojem se formiraju ioni, analizatora i detektora. Daleko najčešći i možda standardni oblik ionizacije je ionizacija elektrona (engl. *EI-electron ionization*). Kvadrupol je jedan od najupotrebljivanih analizatora, a sastoji se od četiri dijagonalno povezane elektrode, pri čemu jedan par elektroda ima pozitivan, a drugi negativan polaritet. Elektrode su spojene s radiofrekventnim potencijalom izmjenične struje. Ioni formirani u izvoru iona se odvajaju u kvadrupolu prema njihovim omjerima mase i naboja ( $m/z$ ), te u ovisnosti o primijenjenoj struji i polju, samo ion određenoga omjera mase i naboja može zadržati stabilnu putanju i proći između elektroda bez da se neutralizira, te se snima na detektoru. Ostali ioni dotiču elektrode i postaju neutralne molekule. Promatranjem pozitivnoga para elektroda i uz pretpostavku da se u analizatoru nalaze kationi, u odsutnosti istosmjernoga potencijala ioni teže k sredini procjepa između elektroda za vrijeme pozitivne polovice izmjeničnoga ciklusa i k elektrodama za vrijeme negativnoga izmjeničnoga ciklusa. Ako za vrijeme negativnoga izmjeničnoga ciklusa ion udari u elektrodu, on se neutralizira (Slika 14). Kvadrupolni analizator je pogodan za upotrebu u kromatografiji zbog velike brzine snimanja.

(16)

Slika 14. Shematski prikaz kvadrupola <sup>(15)</sup>



Izvor: <https://www.cif.iastate.edu/mass-spec/ms-tutorial>

Molekule ulaze u MS (izvor je kvadrupol ili stupica iona) gdje se bombardiraju slobodnim elektronima emitiranim iz niti. Elektroni bombardiraju molekule, zbog čega molekula fragmentira na karakterističan i ponovljiv način. Ova tehnika "tvrde ionizacije" rezultira stvaranjem više fragmenata s malim omjerom mase i naboja ( $m/z$ ) i malo, ako ih uopće ima, molekula koje se približavaju jedinici molekularne mase. Uzorak molekularne fragmentacije ovisi o energiji elektrona primijenjenoj na sustav, obično 70 eV (elektronvolti). Korištenje 70 eV olakšava usporedbu generiranih spektra s bibliotekarskim spektrima pomoću softvera proizvođača.<sup>(14)</sup>

Posljednji koraci postupka uključuju otkrivanje i analizu iona, s fragmentiranim ionima koji se pojavljuju kao funkcija njihovih omjera  $m/z$ . Maseni spektrometar u prisutnosti ubrzanih fragmentiranih iona stvara elektronski signal koji je veći, što je koncentracija komponente veća. Taj signal zatim se prikazuje u kompjuterskom programu i dobijemo kromatogram na kojem vidimo karakteristične pikove, koji predstavljaju signal koji se stvara kad se komponenta eluira s kolone i uđe u detektor.<sup>(17)</sup> Kada GC-MS odvoji složeni uzorak, on će proizvesti mnogo različitih „pikova“ u plinskom kromatogramu i svaki „pik“ generira jedinstveni spektar masa koji se koristi za identifikaciju spoja.<sup>(10)</sup> Na x-osi se nalazi retencijsko vrijeme, RT (vrijeme koje prođe od trenutka injektiranja uzorka do trenutka eluiranja, odnosno detekcije), a na y-osi je intenzitet signala koji je proporcionalan koncentraciji određene tvari.<sup>(17)</sup> Spektrometar masa prilikom svakoga skeniranja stvara grafički prikaz. X-os predstavlja omjer mase i naboja ( $m/z$ ) karakterističan za određenu kemijsku skupinu, a y-os prikazuje intenzitet signala za svaku od komponenata koja je detektirana tijekom analize. Dobiveni maseni spektar je za određenu kemijsku tvar svaki put jednak pa se može kazati da je maseni spektar poput „otiska prsta“ pojedine molekule koji služi za identifikaciju. Kompjutorski programi su obično povezani s bibliotekama spektara koje služe kako bi se spektar iz baze usporedio s analiziranim uzorkom te daje listu mogućih identifikacija sa statističkim postotkom vjerojatnosti.<sup>(18)</sup>

---

## 5. Primjena

### Kriminalna forenzika

Posebno je koristan jer uzorci često sadrže vrlo složene matrice i rezultati koji se koriste na sudu moraju biti vrlo precizni. Sve se više koristi za otkrivanje ilegalnih opojnih droga i na kraju može zamijeniti pse koji njuše drogu.<sup>(6)</sup> Jednostavnu i selektivnu GC-MS metodu za otkrivanje upotrebe marihuane nedavno je razvio Institut Robert Koch u Saveznoj Republici Njemačkoj. Uključuje identificiranje kiseloga metabolita tetrahidrokanabinola (THC) u

uzorcima urina. Također se često koristi u forenzičkoj toksikologiji za pronalaženje lijekova i / ili otrova u biološkim uzorcima osumnjičenih, žrtava ili umrlih. U probiranju lijekova, GC-MS metode često koriste ekstrakciju tekućina-tekućina kao dio pripreme uzorka, u kojem se ciljni spojevi ekstrahiraju iz krvne plazme. <sup>(19)</sup>

#### Analiza hrane i pića

Sastavni je dio osiguranja sigurnosti i autentičnosti hrane koju jedemo i pića koja pijemo. GC-MS opsežno se koristi za analizu ovih spojeva koji uključuju estere, masne kiseline, alkohole, aldehide, terpene itd. Također se koristi za otkrivanje i mjerenje onečišćenja od kvarenja koji mogu biti štetni i koji se često kontrolira. Od određivanja ostataka pesticida do karakterizacije sastojaka, GC-MS sustavi pružaju proizvođačima i regulatornim agencijama dragocjene informacije o sigurnosti naše opskrbe hranom.

#### Analiza okoliša

GC-MS je moćan alat za praćenje onečišćenja u zraku, vodi i tlu. Posebno je koristan za određivanje hlapljivih organskih spojeva (VOC-engl. *volatile organic compounds*) i poluhlapivih organskih spojeva (SVOC- engl. *semi-volatile organic compounds*), polikloriranih bifenila (PCB), organokloriranih pesticida, bromiranih usporivača plamena i policikličkih aromatskih ugljikovodika (PAH- *polycyclic aromatic hydrocarbons*). Troškovi GC-MS opreme znatno su se smanjili, a istodobno se povećala pouzdanost, što je pridonijelo njezinom većem usvajanju u studijama zaštite okoliša. <sup>(10)</sup>

#### Analiza nafte i plina

GC-MS može se koristiti tijekom mnogih faza procesa ispitivanja nafte i prirodnoga plina za određivanje sadržaja energije, CHA, SIMDIS, sadržaja H<sub>2</sub>S / organskoga sumpora u prirodnom plinu i kondenzatima prirodnoga plina. Uz to može se koristiti u rafinerijskoj analizi plinova (RGA) i detaljnoj analizi ugljikovodika (DHA) za otkrivanje oksigenata, aromata, BTEX spojeva i PAH-ova u sirovoj nafti. Jedna od kritičnih primjena ove tehnologije je uporaba GC-MS za određivanje sastava bioulja prerađenih iz sirove biomase. <sup>(20)</sup>

#### Astrokemija

Nekoliko GC-MS napustilo je zemlju. Dvoje je na Mars donio program Viking. <sup>(21)</sup> Venera 11 i 12 i Pioneer Venera analizirali su atmosferu Venere. <sup>(22)</sup> Sonda Huygens spustila je jedan GC-MS na Saturnov mjesec Titan. <sup>(23)</sup> Materijal u kometi 67P / Churyumov – Gerasimenko analizirala je misija Rosetta. <sup>(24)</sup>

#### Medicina

Desetci kongenitalnih metaboličkih bolesti, također poznatih kao urođene pogreške metabolizma (IEM- *inborn errors of metabolism*), sada se mogu otkriti probirnim testovima za novorođenčad. GC-MS može odrediti spojeve u mokraći čak i u manjim koncentracijama. Ti spojevi obično nisu prisutni, ali se javljaju kod osoba koje pate od metaboličkih poremećaja. Ovo sve više postaje uobičajeni način dijagnoze IEM-a za raniju dijagnozu i uvođenje liječenja na kraju, što dovodi do boljšeg ishoda. Sada je moguće testirati novorođenčce na preko 100 genetskih metaboličkih poremećaja testom urina pri rođenju na temelju GC-MS. <sup>(25)</sup>

## 6. Zaključak

GC-MS može se koristiti za proučavanje tekućih, plinovitih ili čvrstih lako hlapivih ili poluhlapljivih uzoraka čija temperatura vrelišta ne prelazi 350 C. Dostupnost bogatih biblioteka spektara koje se stalno nadopunjuju i olakšavaju identifikaciju nepoznatoga analita jedna je od glavnih prednosti GC-MS-a. Osim toga, visoka osjetljivost, preciznost, pouzdanost, selektivnost i male količine uzoraka potrebnih za analizu čine ovu tehnikom jednom od najkorištenijih u analitičkim laboratorijima. Jedan od glavnih nedostataka ove metode je nešto složenija priprema samoga uzorka za analizu, za razliku od npr. tekućinske kromatografije s masenim spektrometrom (engl. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, LC-MS) i visoke temperature u instrumentu koje onemogućavaju analizu termički labilnih spojeva koji se raspadaju pri visokim temperaturama. Nemogućnost ispitivanja nehlapljivih spojeva također je jedan od nedostataka ove metode.

## 7. Literatura

8. Cerjan-Stefanović, V. Drevenkar, B. Jurišić, M. Medić-Šarić, M. Petrović, N. Šegudović, V. Švob, S. Turina (1999): Kromatografsko nazivlje: IUPAC preporuke 1993. i 1998., HINUS i Sekcija za kromatografiju HDKI, Zagreb
9. Jones, M. (2019): *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, American Chemical Society
10. Miller, J. M. (2005): *Chromatography Concepts and Contrasts*, Sec. Ed., John Wiley and Sons, Inc.
11. Ettre L. S. (1993): *Pure & Appl. Chem.* 65, p. 819
12. Van Lieshout, H. P. M., Janssen, H.G., Cramers, C. A. (1995) : *Am. Lab.*, 27, p. 38
13. Sparkman, D.O., Penton Z., Kitson, F.G. (17 May 2011): *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*.Academic Press.ISBN 978-0-08-092015-3



14. Fang, M., Ivanisevic, J., Benton, H.P., Johnson, C.H., Patti, G.J., Hoang, L.T., et al. (November 2015): Thermal Degradation of Small Molecules: A Global Metabolomic Investigation. *Analytical Chemistry*. 87 (21): 10935–41
15. <https://www.ssi.shimadzu.com/products/gas-chromatography/fundamental-guide-to-gas-chromatography> (7.4.2021.)
16. <https://www.restek.com/en/video-library/split-vs-splitless-injection/> (3.4.2021.)
17. <https://www.thermofisher.com/hr/en/home/industrial/mass-spectrometry/mass-spectrometry-learning-center/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms-information.html> (3.4.2021.)
18. McNair, H.M., Miller, J.M. (1997) *Basic Gas Chromatography*, John Wiley & Sons, Inc. New York.
19. Ottenstein, D.M. (1973) The chromatographic support in gas chromatography. *J. Chromatogr. Sci.*, 11, 136– 144
20. O'Keeffe, M. (2000): *Residue Analysis in Food, Principles and Applications*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam
21. [https://en.wikipedia.org/wiki/Gas\\_chromatography%E2%80%93mass\\_spectrometry](https://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography%E2%80%93mass_spectrometry) (3.4.2021.)
22. <https://www.cif.iastate.edu/mass-spec/ms-tutorial/> (5.4.2021.)
23. M. Cindrić, A. Marković, A. Horvatić (2009): *Medicina*, 45, p. 218
24. <https://www.skz.de/en/research/technicalfacilities/pruefverfahren1/spektroskopie1/4870>. (5.4.2021.)
25. [https://cires1.colorado.edu/jimenez/CHEM-5181/Labs/Gas\\_Chromatography.pdf](https://cires1.colorado.edu/jimenez/CHEM-5181/Labs/Gas_Chromatography.pdf) (5.4.2021.)
26. Hübschmann, H.J. (2015/2018): *Handbook of GC-MS : Fundamentals and Applications* (3 ed.). John Wiley & Sons, Incorporated. p. 735. ISBN 9783527674336.
27. Tekin, K., Karagöz, S., Bektaş, S. (2014): A review of hydrothermal biomass processing, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 40: 673–687. doi:10.1016/j.rser.2014.07.216.
28. [https://web.archive.org/web/20060829035244/http://appel.nasa.gov/items/Viking\\_GCMS\\_case\\_07%2025%2006.pdf](https://web.archive.org/web/20060829035244/http://appel.nasa.gov/items/Viking_GCMS_case_07%2025%2006.pdf) (5.4.2021.)
29. Krasnopolsky, V.A., Parshev, V.A. (1981): Chemical composition of the atmosphere of Venus. *Nature*. 292 (5824):610-613. Bibcode:1981Natur.292..610K. doi:10.1038/292610a0. S2CID 4369293.

30. Niemann, H.B., Atreya, S.K., Bauer, S.J., Carignan, G.R., Demick, J.E., Frost, R.L., (2005):  
The abundances of constituents of Titan's atmosphere from the GCMS instrument on the  
Huygens probe [Nature](#). 438 (7069): 779–  
84. Bibcode:2005Natur.438..779N. doi:10.1038/nature04122. hdl:2027.42/62703. PMID 1  
6319830. S2CID 4344046.
31. Gösmann, F., Rosenbauer, H., Roll, R., Böhnhardt, H. (2005): COSAC onboard Rosetta: a  
bioastronomy experiment for the short-period comet 67P/Churyumov-  
Gerasimenko. *Astrobiology*: 622–  
31. Bibcode:2005AsBio...5..622G. doi:10.1089/ast.2005.5.622. PMID 16225435.
32. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25781538/> (5.4.2021.)