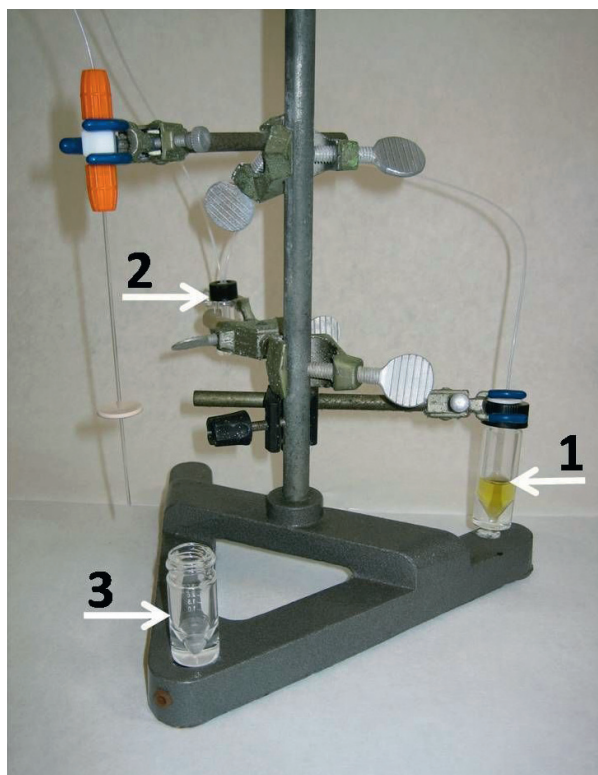


Gaskromatografi: Derivatisering med diazomethan

Af Jens Glastrup, Nationalmuseet, jens.glastrup@natmus.dk



Apparaturen til fremstilling af diazomethan. I vial nr. 3 tilsættes 1 mL af det solvent som diazomethan ønskes opsamlet i. I vial nr. 1 tilsættes 1 mL KOLD stamopløsning bestående af: 25 g Diazald, 25 mL MTBE og 25 mL diethylenglycolmonoethylether. Opløsningen fremstilles ved stuetemperatur og sættes i køleskab. Der vil være en smule udfældning, da den er koncentreret. Hertil sættes 1 mL af 10% KOH-opløsning i 1:1 methanol: H₂O. Næsten øjeblikkeligt dannes små bobler af diazomethan. Gassen tørres i vial nr. 2 (indkommende slange ned i bunden, udgående slange op i toppen), og i vial nr. 3 opsamles gassen ved, at et kapillarrør er stukket direkte ned i det ønskede solvent (MTBE). Septum på kapillarrøret er vigtigt for at formindske fordampningen. Hullerne i septa er boret ved at "hånd"-knække et kapillarrør og dreje det gennem silicone/teflon-membranen. Det giver – overraskende nok – pæne cirkulære huller som pakker pænt omkring både teflonslanger og kapillarrør.

Allerførst skal vi beklage at der har været nogle måneders stilstand. Det vil vi nu forsøge at råde bod på, og her i forårssæsonen vil vi gennemgå et par derivatiseringsreaktioner som kan gøre livet lidt lettere i laboratoriet.

Derivatiseringsreaktioner er tit nødvendige, før analyser kan køres i en gaskromatograf. Carboxylsyrer, hydroxy- og aminogrupper damptryk hæves væsentligt ved en derivatisering, og samtidig slipper man for hydrogenbindingerne, hvilket specielt tidligere var årsag til megen grim kromatografi.

Diazomethan

Det første reagens, jeg vil fortælle om, er diazomethan,

et på mange måder ubehageligt stof: Giftigt, kræftfremkaldende og eksplosivt, og derfor ofte fravalgt. Men det er også et reagens som i løbet af få sekunder derivatiserer carboxylsyrer kvantitativt til methylestre, ved stuetemperatur. Det er en gas, der koger ved -22°C og selvfølgelig altid skal håndteres i et stinkskaab. Skal det anvendes som en del af en autosampler-procedure, skal hele udstyret ventileres grundigt. Det er så reaktivt, at man ikke kan have det stående længere tid som stamopløsning, og det rette er derfor at have nem tilgang til reagentet i løbet af få minutter. Dette gøres i praksis ved at blande et par reagenser og efter 5 minutter har man en koncentreret opløsning stående.

Grunden til at diazomethan er så praktisk er dets selektivitet/reaktivitet samt selvfølgelig hurtigheden. Carboxylsyrer derivatiseres øjeblikkeligt, hydroxygrupper (bortset fra phenoler) og aminogrupper aldrig. Det derivatiserer selv sterisk hindrede carboxylsyrer, eksempelvis er abietinsyre, og afledte heraf, kendt for at være drilagtige. Da mange moderne GC-kolonner også er yderst tilgivende for et par hydroxygrupper kan man ofte lave pæn kromatografi bare ved en derivatisering af carboxylsyrerne

Metoden er vigtig

Jeg har gennem årene eksperimenteret en del med metoder. En af de praktiske ulemper ved fremstillingen er, at udgangsproduktet, Diazald fra Aldrich, ikke er særlig behageligt at arbejde med. Rengøringen skal derfor være så nem som mulig, så det er let at skille sig af med reaktionsblandingen. En mulighed er Aldrichs "Diazomethane generator", som jeg har anvendt i flere år. Imidlertid er der mulighed for forurening af den nyfremstillede diazomethan, og da rengøringen af apparatet heller ikke er helt ukompliceret, er jeg endt op med en løsning, hvor der anvendes 3 standard vials fra Wheaton, 1 stk. 1 mL og 2 stk. 3 mL's glas, forbundet med et sæt teflonslanger stukket ned gennem silicone-septummet i låget [1]. Med en stamopløsning i køleskabet og noget base til at starte reaktionen har jeg 1-2 mL koncentreret diazomethanopløsning i ether (eller hvad man nu foretrækker, jeg bruger som regel methyl-*t*-butylether, MTBE) i løbet af ca. 5 minutter. Fra denne opløsning kan man nu tilsætte 25-100 µL til de prøver, man ønsker derivatiseret, med spidsbundede vials rækker dette til 10-40 derivatiserede prøver. Reaktionen sker øjeblikkeligt og kan i øvrigt ses ved udvikling af små bobler af N₂.



Reference

1. Jens Glastrup, "Diazomethane preparation for gas chromatographic analysis", J. Chromatogr. A 827, 133 (1998)

KOLONNEN