

Analytische Chemie Ib

270108 VO 1 Stunde; 1,5 ECTS-Punkte

Wolfgang Lindner, [Michael Lämmerhofer](#)

Einführung in die Chromatographie und Gas-Chromatographie (GC)

Sommersemester

http://www.univie.ac.at/rg_lindner/teaching.html

Bücher

- Analytische Chemie:
 - M. Otto, Wiley-VCH
 - R. Kellner et al., Wiley-VCH
- Chromatographie:
 - Bruno Kolb, Gaschromatographie in Bildern, Wiley-VCH
 - Veronika Meyer, Praxis der Hochleistungsflüssigchromatographie
 - Snyder, Kirkland, Dolan: Introduction to modern liquid chromatography (Engl.), Wiley

Einführung in die Chromatographie

1.) Was ist Chromatographie?

1.1. Historisch:

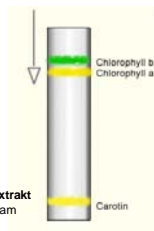
“χρῶμα”=Farbe “graphia”= Schreiben

zu deutsch: *Farbenschreiben*

Erfinder: 1901, russ. Botaniker [Michail S. Tswett](#)

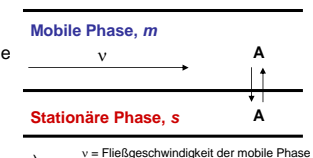
1906 benutzte er erstmals den Begriff „Chromatografie“
Er untersuchte gefärbte pflanzliche Extrakte, zum Beispiel aus Blattmaterial, und konnte daraus durch Chromatografie verschiedene Farbstoffe isolieren.

Tswett hatte ein **Glasrohr mit Inulin** (ein Polysaccharid) gefüllt und ein **Chlorophyll-Extrakt in Ligroin** (ein Leichtbenzin) darauf gegeben. Er goss weiter **Ligroin** darüber. Zuerst kam eine farblose Flüssigkeit, dann wurde ein **gelber Ring** (Carotin) vor einem **grünen Ring** am oberen Ende der Säule sichtbar, der sich während des Laufes in einen **grünen und einen gelben** teilte. grün: Chlorophyll a; gelb: Chlorophyll b



1.2. Grundprinzip:

Die Chromatographie ist ein physikalisch-chemisches **Trennverfahren**, bei dem sich die zu trennenden Substanzen zwischen zwei miteinander nicht mischbaren Phasen verteilen, von denen eine stationär ist (**stationäre Phase**), während die andere sich in eine bestimmte Richtung bewegt (**mobile Phase**)



Stationäre Phase: - feste Phase (Adsorptionsmittel, Adsorbens)
- flüssige Phase (Trennflüssigkeit; insbes. in GC):

fl. Phase auf einen Festkörper oder an Kapillarwand (als Film) aufgezogen oder chemisch gebunden

Andere Bezeichnungen f. st. Ph. (oft synonym verwendet): - Packung der Säule (Säulenpackung)
- Sorbens
- chromatographisches Bett

Mobile Phase: durchströmt das Bett der stationären Phase in einer definierten Richtung mit der Fließgeschwindigkeit v

- flüssig (Flüssigchromatographie, LC)
- gasförmig (Gaschromatographie, GC)
- überkritisches Fluid (Supercritical fluid chromatography, SFC)

Andere Bezeichnungen f. m. Ph. (oft synonym verwendet):
- Trägergas (GC)
- Eluent (LC)

Probe: besteht aus einem Gemisch einer Anzahl von Analyten (Komponenten), die durch Chromatographie getrennt (chromatographiert) werden sollen.

Säule: Die stationäre Phase befindet sich in einem Behältnis, zumeist ein Stahlrohr (LC) oder eine Fused-Silica Kapillare (GC), welche als Säule bezeichnet wird.

Chromatographischer Prozess: Die Probe wird an einem Ende der Säule (Säulenkopf) aufgebracht und die Komponenten mit der mobile Phase als Zonen eluiert.

Zone: Abschnitt im chromatographischen Bett, in dem sich eine oder mehrere Substanzen befinden.

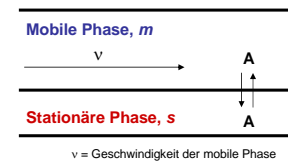
Chromatographisches System: Spezifische Kombination von stationärer und mobiler Phase.

1.3. Trennprinzip:

Die **Analyte** (hier nur Komponente A) werden im chromatographischen System **zwischen mobiler und stationärer Phase verteilt**.

Zum Zeitpunkt, wenn sich die **Analyte in der stationären Phase aufhalten**, werden Sie retardiert und **sind stationär**, d.h. sie bewegen sich nicht mit der mobilen Phase.

Wenn sich die **Analyte in der mobilen Phase aufhalten**, **bewegen sie sich mit der Geschwindigkeit der mobilen Phase**.



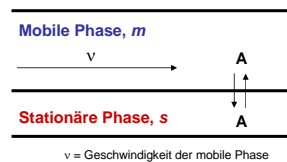
1.3. Trennprinzip:

Die **Analyte** (hier nur Komponente A) werden im chromatographischen System **zwischen mobiler und stationärer Phase verteilt**.

Zum Zeitpunkt, wenn sich die **Analyte in der stationären Phase aufhalten**, werden Sie retardiert und **sind stationär**, d.h. sie bewegen sich nicht mit der mobilen Phase.

Wenn sich die **Analyte in der mobilen Phase aufhalten**, **bewegen sie sich mit der Geschwindigkeit der mobilen Phase**.

Aufgrund **unterschiedlicher Verteilung** verschiedener Analyte in der stationären und mobilen Phase resultiert eine **unterschiedliche mittlere Verweilzeit** in der stat. Phase, woraus sich eine **unterschiedliche Netto-Migrationsgeschwindigkeit** ergibt.

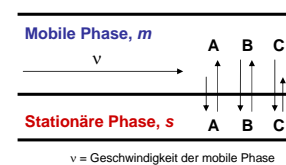


Prinzip der chromatographischen Trennung:

Die unterschiedliche Verteilung der Analyten zwischen mobiler und stationärer Phase ergibt unterschiedliche Migrationsgeschwindigkeiten

Die Lage des Verteilungsgleichgewichts bestimmt die Migrationsgeschwindigkeit.

Es reflektiert die intermolekularen Wechselwirkungen des Analyten mit der stationären und mobilen Phase.



Wenn nur dieser Prozess betrachtet wird, würde eine Trennung der Analyte A,B,C mit unterschiedlichem Verteilungsgleichgewicht wie in der nebenstehenden Abb. erhalten werden.

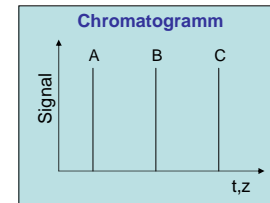


Abb.: Trennung der Analyte A,B,C in der Zeitdomäne t bzw. der Raumdomäne z. Annahme: Die Analyte werden als schmale Zone am Säulenkopf aufgebracht und während des chromatographischen Prozesses findet keine Zonenverbreiterung findet.

Real: Während der Migration der Analyte durch die Trennsäule bzw. das chromatographische Bett findet **Zonenverbreiterung (Dispersion)** statt.

Diese Zonenverbreiterung ist stärker ausgeprägt, je länger die Verweilzeit in der Trennsäule d.h. je größer die Migrationszeit ist.

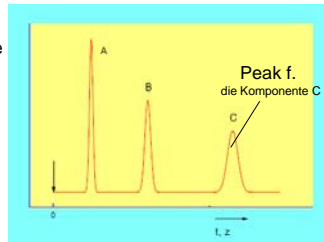


Abb.: Chromatogramm der Trennung der Analyte A,B,C in der Zeitdomäne t bzw. der Raumdomeäne z.

Zwei Effekte mit gegenteiliger Wirkung sind also vorhanden:

- **unterschiedliche Migration** bildet die Basis für die Auftrennung
- **Zonenverbreiterung** (Peakverbreiterung) führt zu Überlappung der Zonen (Peaks) (sofern nicht die Migrationsunterschiede groß genug sind)

Verteilung der Analyte zw. mobiler und stationärer Phase ist ein **stochastischer (zufallsgesteuerter) Prozeß**. Dispersion erfolgt rund um einen Mittelwert. Dispersion ist stärker ausgeprägt, je mehr Verteilungsschritte erfolgen, daher: mit zunehmender Migrationsstrecke steigt die Dispersion. Als Resultat ergibt sich ein verbreiteter Analyt-Peak, was zu einem Chromatogramm führt wie in der Abb. dargestellt.

Die Theorie der Chromatographie muss daher zwei entgegenwirkende Phänomene beschreiben können:

1. **Spezifische Migrationsgeschwindigkeit** eines Analyten bzw. von verschiedenen Analyten
2. **Peak-Dispersion**

In der Praxis ist das **Ausmass der Substanz-Trennung** (Zonen-Separation) bzw. **Peak-Auflösung** von Relevanz und diese ergibt sich aus diesen beiden Beiträgen

1.4. Systematik der Chromatographie

1.4.1. Klassifizierung nach Phasenzuständen

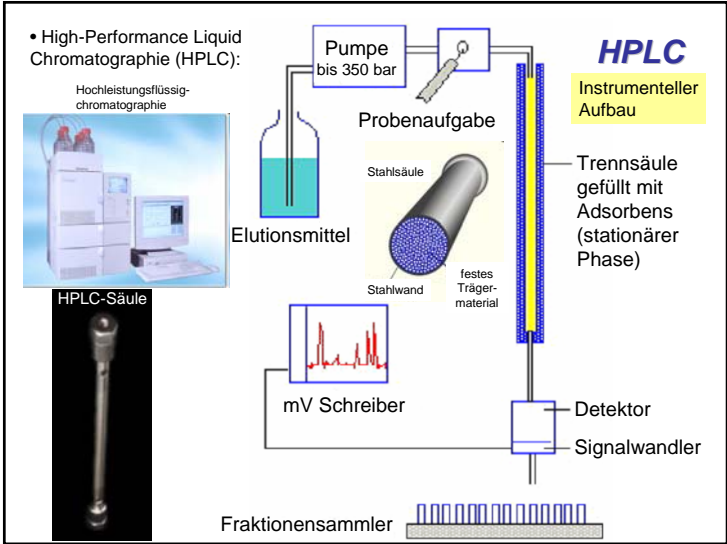
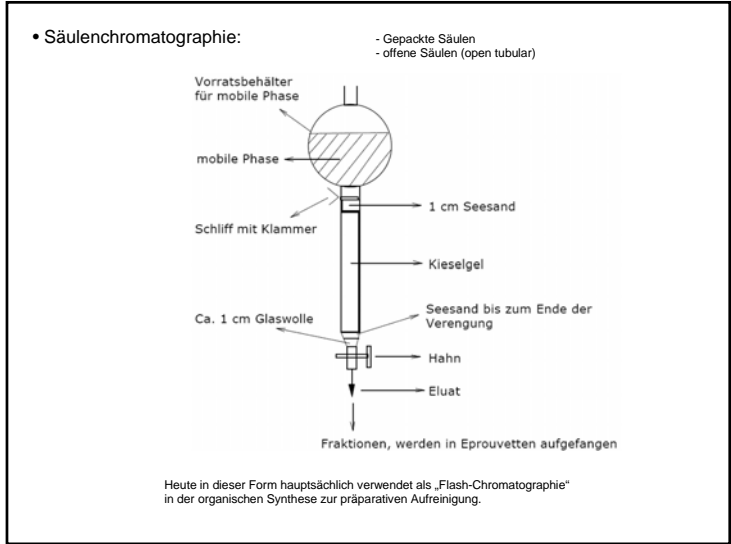
Mobile Phase	Stationäre Phase	
	fest	flüssig
flüssig	Flüssig-fest LSC	Flüssig-flüssig LLC
gasförmig	gasförmig-fest GSC	gasförmig-flüssig GLC

Abk.: L, liquid = flüssig; G, gaseous = gasförmig; S, solid = fest;
C, chromatography = Chromatographie

1.4.2. Unterscheidung nach Ausführungstechnik

- Dünnschichtchromatographie:
TLC, thin-layer chromatography





1.4.3. Unterscheidung nach Maßstab

Nach der zu trennenden Substanzmenge bzw. nach dem Zweck

- Analytisch: Zweck: Informationsgewinn
 - „Säulen“:
 - Stahlsäulen (150 x 4 mm Innendurchmesser, ID)
 - Narrow bore Säulen (0,5 - 2 mm ID)
 - Kapillarformat (20 - 500 µm ID)
 - µ-Chip Format (~ 20 µm ID)

- Präparativ: Zweck: Reinprodukt-Gewinnung (Stoffisolierung)
 - Säulen:
 - „semipräparativer“ Maßstab (250 x 1 cm Innendurchmesser, ID)
 - präparative Säulen (> 2.5 mm ID)
 - Produktionsmaßstab
 - kontinuierliche Chromatographie-Verfahren (z.B. SMB, „simulated-moving bed“ Technologie)

2,2 bis 60 cm ID

1.4.4. Unterscheidung nach Elutionsmodus

- **Zonenelutionschromatographie:** Die stationäre Phase befindet sich im Gleichgewicht mit der mobilen Phase, die kontinuierlich durch das chromatographische Bett strömt. Die Probe wird als definierte Zone am Säulenanfang (Säulenkopf) aufgebracht und mit der mobilen Phase eluiert. Im Idealfall sind die Analyten durch Zonen reiner Phasen voneinander getrennt.
 - isokratisch: mobile Phasenzusammensetzung konstant, ändert sich während des chromatographischen Laufes nicht
 - Gradientenelution: mobile Phasenzusammensetzung ändert sich mit der Zeit (während des chromatographischen Laufes), Elutionskraft der mobilen Phase wird kontinuierlich erhöht, damit auch stark retardierte Verbindungen eluiert und detektiert werden können
- **Verdrängungschromatographie (Displacement Chromatography):** Bei dieser Technik wird der mobilen Phase nach der Probenauftragung kontinuierlich eine Komponente zugesetzt, die wesentlich stärker als alle Komponenten des Analysengemisches adsorbiert wird, diese von der stationären Phase verdrängt und vor sich herschiebt. Die Komponenten des Gemisches folgen unmittelbar aufeinander, nicht durch Lösungsmittel getrennt.
- **Frontalanalyse (frontal analysis chromatography):** Bei dieser Technik wird die Probe kontinuierlich in das chromatographische Bett aufgegeben. Die festgehaltenen Komponenten werden in der stationären Phase angereichert bis die Kapazität der stationären Phase nicht mehr ausreicht, dann erfolgt der Durchbruch.

1.4.5. Unterscheidung nach Mechanismus

- **Adsorption** 1 voluminöse Phase (mobile Phase); 1 Oberfläche (Adsorbens)

Anhaftung des Analyten an der Oberfläche

- **Verteilung** 2 voluminöse Phasen (mobile u. stationäre Phase)

Verteilung zwischen Phasen; Adsorption des Analyten von der mobilen in die stat. Phase

-
- Ionenaustausch
 - Größenausschluß
 - Bioaffinität
 - u.a.

Adsorptionschromatographie

Adsorption

Bindung bzw. Anreicherung eines Stoffes an der Oberfläche eines anderen Stoffes.
Gegenteil: Desorption

Ursache für Adsorption:

Meist spezifische nicht-kovalente Wechselwirkung zwischen (polarer) Oberfläche des adsorbierenden Stoffes (**Sorbens**) und (polaren Gruppen) des adsorbierten Stoffes (**Adsorbat**) (Physisorption)

Aktivität:

Eigenschaft des Sorbens. Ist ein Maß für die Stärke, mit der ein Sorbens einen Stoff bindet.

Kapazität des Sorbens:

Die Menge an Adsorbat, die von einem Gramm Sorbens aufgenommen werden kann, steigt mit der Größe der Oberfläche des Sorbens und sinkt mit Erhöhung der Temperatur.

Substanzzonen: Gauss-förmiges Konzentrationsprofil

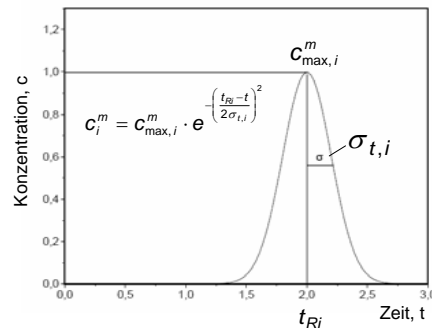
Die Beschreibung der **Konzentrationsverteilung in einer chromatographischen Zone** (Peakform) kann in erster Näherung durch eine **Gaußfunktion** erfolgen

Konzentration in der eluierten Zone als Funktion der Zeit beschrieben

Glockenförmige Kurve

Charakt. Kenngrößen:

- Position des Konzentrationsmax., entspr. Retentionszeit t_{Ri}
- Die Höhe im Maximum $C_{max,i}$
- Die höchste Konz. des Analyten in der eluierten Zone.
- Die Breite der Funktion, beschrieben d. die Standardabweichung σ



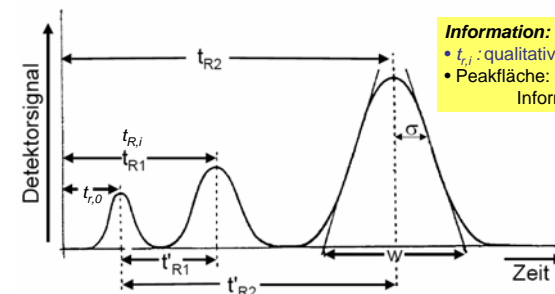
Standardabweichung der Verteilung $\sigma_{t,i}$ (Maß f. die Peakbreite) kann verwendet werden, um die Peak Dispersion zu beschreiben

Peakbreite = 2σ bei 60.7% der Peakhöhe

2. Migration

2.1. Kenngrößen für die Migration

Chromatogramm: Darstellung in – Ortsdomäne (insbes. TLC)
- Zeitdomäne (Säulenchromatographie)



$t_{R,i}$: Migrationszeit, Retentionszeit

$t_{R,0}$: Durchflusszeit der Trennsäule, Totzeit (Durchflusszeit einer nicht-retardierten Verbindung)

2.2. Retentionsfaktor und Migrationsgeschwindigkeit

Retentionsfaktor (Kapazitätsfaktor):

Stoffmengen-Verteilungskoeffizient (des Analyt zw. stationärer und mobiler Phase)

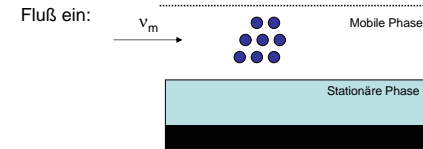
$$k = \frac{n_i^s}{n_i^m} = \frac{c_i^s}{c_i^m} \cdot \frac{V_i^s}{V_i^m} = K_i \cdot \phi$$

- k , Retentionsfaktor
 n_i^s , mol Analyt i in der stat. Phase
 n_i^m , mol Analyt i in der mobilen Phase
 c , jeweilige Konzentrationen in stat. bzw. mob. Phase
 V , korrespondierende Volumina von stat. bzw. mob. Phase

k abhängig von:

- Phasenverhältnis ϕ : Säulen-spezifisch, f. alle Analyte gleich groß
- Gleichgewichtskonstante K_i : Analyt-spezifisch, widerspiegelt die Gesamtheit der Interaktionen des Analyten mit der stat. Phase; auch abh. von st.Phase und mobiler Phase

Mobile Phasen Geschwindigkeit v_m

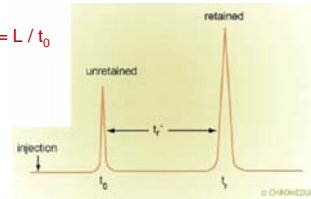


- Analyt nicht retardiert, Verteilungsgleichgewicht völlig auf Seite der mobilen Phase
- Migration mit mobiler Phase, Analyt migriert mit gleicher Geschwindigkeit wie die mobile Phase
- Migrationsgeschwindigkeit ergibt sich aus der mobilen Phasen Geschwindigkeit

Mobile Phasen Geschwindigkeit v_m

$$v_m = \text{Trennstrecke pro Zeiteinheit} = L / t_0$$

L , Säulenlänge
 t_0 , Totzeit (Durchflußzeit)



In LC:

- Mobile Phase im Wesentlichen nicht komprimierbar (d.h. Kompressibilität ist vernachlässigbar; weniger als 1% pro 100 bar Druckabfall)
- Die lineare Fließgeschwindigkeit in der Säule ist konstant

In GC:

- Mobile Phase ist kompressibel.
- Die lineare Fließgeschwindigkeit ändert sich in der Säule (kleiner am Säulenanfang, höher am Säulenauslass)

Lineare Migrationsgeschwindigkeit u_i

Ergibt sich aus dem zeitlichen Mittel, in dem der Analyt sich in der mobilen Phase (und der stationären Phase) aufhält.

Zu jeder Gleichgewichtseinstellung hält sich je nach Gleichgewichtskonstante ein Teil (Molanteil f) der Analyte in der mobilen (f_m) und stationären Phasen (f_s)

Migrationsgeschwindigkeit ergibt sich aus der Summe der linearen Geschwindigkeiten in den beiden Phasen gewichtet um den jeweiligen Molanteil in den beiden Phasen

$$u_i = f_m \cdot v_m + f_s \cdot v_s$$

$$f = n_i / \sum n_i$$

Lineare Migrationsgeschwindigkeit u_i :

$$u_i = \frac{n_i^m}{n_i^s + n_i^m} \cdot v_m + \frac{n_i^s}{n_i^s + n_i^m} \cdot v_s$$

Molanteil in mob. Phase Molanteil in stat. Phase

$$u_i = \frac{\frac{n_i^m}{n_i^s + n_i^m}}{\left(\frac{n_i^s}{n_i^m} + \frac{n_i^m}{n_i^m}\right)} \cdot v_m + \frac{\frac{n_i^s}{n_i^m}}{\left(\frac{n_i^s}{n_i^m} + \frac{n_i^m}{n_i^m}\right)} \cdot v_s$$

v_m , lineare Fließgeschw. der m.Ph.
 v_s , lineare Fließgeschw. der stat.Ph.

$$u_i = \frac{1}{k+1} \cdot v_m + \frac{k}{k+1} \cdot 0$$

$$u_i = \frac{v_m}{k+1}$$

u_i abh. v.:

- linearer Fließgeschw. d. mob. Phase
- indirekt proportional v. k

2.3. Retentionszeit, t_{Ri}

Retentionszeit t_{Ri} , Elutionszeit am Maximum des Gauss-Peaks

$$t_{Ri} = \frac{L}{u_i} = \frac{L(1+k)}{v_m}$$

L , Säulenlänge

$$\frac{L}{v_m} = t_{R0}$$

t_{R0} : Durchflusszeit der Trennsäule, Totzeit (Durchflusszeit einer nicht-retardierten Verbindung)

$$t_{Ri} = t_{R0} \cdot (1+k)$$

$$t_{Ri} = t_{R0} + t_{R0} \cdot k$$

$$t_{Ri} = t_m + t_s$$

$$k = \frac{t_{Ri} - t_{R0}}{t_{R0}}$$

k kann aus der Retentionszeit eines Analyten und der Verweilzeit einer nicht-retardierten Verbindung (Totzeit-Marker) berechnet werden d.h. aus dem Chromatogramm eruiert werden !

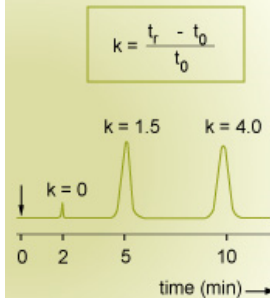
k wird zur Charakterisierung des Retentionsverhaltens verwendet

- unabh. von Säulenlänge
- unabh. von der linearen Fließgeschwindigkeit

Der Retentionsfaktor ist auch ein Parameter, der symbolisiert, wie lange sich ein Analyt im zeitlichen Mittel in der stationären Phase ($t_R - t_0$) und der mobilen Phase (t_0) aufhält.

Retentionsfaktor k :

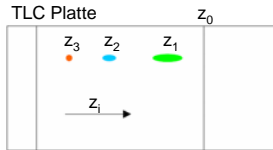
- Verhältnis der Verweilzeiten in den beiden Phasen
- dimensionslos
- abhängig von:
 - Wechselwirkung des Analyten mit der stationären und mobilen Phase (Kompetition)
 - Mobile Phasen Zusammensetzung
 - (Aktivität der) stationären Phase
 - Temperatur



© CHROMEDIA



2.4. Retentionsfaktor (RF-Wert) in der Dünnschichtchromatographie



- Kapillarkräfte bewirken einen Fluss der mobile Phase
- Mobile Phasengeschw. v_m ist nicht konstant, sondern ändert sich mit der Zeit
- Migrationszeit t für alle Komponenten gleich
- Migrationsstrecke z_i unterschiedlich
- Migrationsstrecke für nicht-retardierte Substanz z_0

$$R_{Fi} \equiv \frac{z_i}{z_0}$$

Wobei: $z_i = u_i \cdot t$ und $z_0 = v_m \cdot t$ $u_i = \frac{v_m}{k_i + 1}$

$$R_{Fi} = \frac{u_i}{v_m} = \frac{1}{k_i + 1}$$

$k_3 > k_2 > k_1$ daher: $R_{F,1} > R_{F,2} > R_{F,3}$

3. Dispersion

3.1. Verteilung der Verweilzeiten bzw. Gaußform der Konzentrationsprofile

Bei der Wanderung der Analyte durch die Trennsäule wird die anfänglich injizierte Probezone (z.B. durch Diffusionsvorgänge) dispergiert (verbreitert).

Die injizierte Probezone ist unendlich schmal d.h. vernachlässigbar breit relativ zur Migrationsdistanz in der Säule.

Die Dispersion nimmt mit zunehmender Migrationsdistanz zu.

Die Beschreibung der Konzentrationsverteilung in einer chromatographischen Zone (Peakform) kann in erster Näherung durch eine Gaußfunktion erfolgen

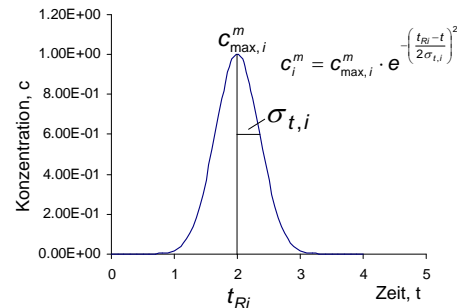
Gauß-förmiges Konzentrationsprofil

Die Beschreibung der **Konzentrationsverteilung in einer chromatographischen Zone** (Peakform) kann in erster Näherung durch eine **Gaußfunktion** erfolgen

Konzentration in der eluierten Zone als Funktion der Zeit beschreiben

Glockenförmige Kurve

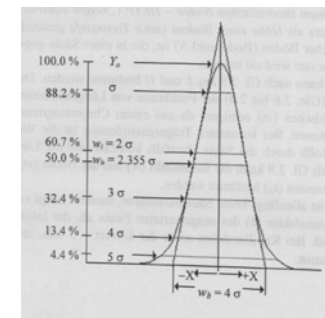
Charakt. Kenngrößen:
 - Position des Konzentrationsmax., entspr. Retentionszeit t_{Ri}
 - Die Höhe im Maximum $C_{max,i}$
 Die höchste Konz. des Analyten in der eluierten Zone.
 - Die Breite der Funktion, beschrieben d. die Standardabweichung σ



Standardabweichung der Verteilung $\sigma_{t,i}$ (Maß f. die Peakbreite) kann verwendet werden, um die Peak Dispersion zu beschreiben

Peakbreite = 2σ bei 60.7% der Peakhöhe (Wendepunkt)

Form eines idealisierten Peaks



Gaussfunktion

Peaks werden als Dreiecke behandelt, die durch die Wendetangenten gebildet werden

w_i Peakbreite an Wendepunkt
 w_h Peakbreite in halber Höhe
 w_b Peakbreite an der Basis

Peakbreite an Basis (w_b) = 4σ ;
 am Wendepunkt (w_i) = 2σ ; an
 Halbwertsbreite (w_h) = 2.355σ

Aus: Bruno Kolb, Gaschromatographie in Bildern; Wiley-VCH

3.2. Parameter zur Beschreibung der Dispersion Theoretische Trennstufenhöhe H

unter isothermalen Bedingungen (konstante Temperatur):

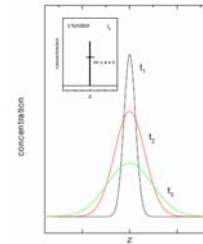
$$\sigma_z^2 = 2 \cdot D \cdot t \quad \text{Einstein'sche Diffusionsgleichung}$$

Peakverbreiterung abhängig von Zeit t (Retentionszeit t_R)
 D Diffusionskoeffizient ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)
 σ_z^2 Längenvarianz der Zone (direkt proportionaler Zusammenhang
 zw. Varianz - nicht der Standardabweichung - und Zeit)

$$t_R = \frac{z}{u_i} \quad \text{Retentionszeit (Zeit, die für Diffusionsprozesse zur Verfügung steht, ergibt sich aus der Trennstrecke z und der linearen Migrationsgeschwindigkeit der Substanz)}$$

$$\frac{\sigma_z^2}{z} = \frac{2 \cdot D}{u_i} = H \quad \text{D und } u_i \text{ konstant, daher:}$$

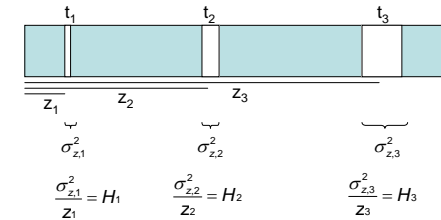
Längenvarianz pro Trennstrecke auch konstant
 Proportionalitätskonstante H = theoretische Trennstufenhöhe



$$\sigma_z^2 = 2 \cdot D \cdot t \quad \text{Einstein'sche Diffusionsgleichung}$$

$$t_R = \frac{z}{u_i}$$

$$\frac{\sigma_z^2}{z} = \frac{2 \cdot D}{u_i} = H$$



Die Standardabweichung σ steigt mit zunehmender Migrationsstrecke. Es gibt einen direkt proportionalen Zusammenhang zwischen dem Quadrat der Standardabweichung, der Varianz σ^2 , und der Migrationsstrecke z.

$$\sigma_z^2 = H \cdot z \quad \text{H, theoretische Trennstufenhöhe}$$

(= Proportionalitätsfaktor mit der Einheit einer Länge)

Die Zone wird nach Verlassen der Säule detektiert, daher gilt

$$\sigma_z^2 = H \cdot L \quad \text{L, Säulenlänge} \quad \frac{\sigma_z^2}{L} = H$$

Definitionsgemäß ist die Bodenhöhe der Quotient aus der Längenvarianz σ^2 des Peaks (Verbreiterung der Substanzzone) und der Länge der Trennsäule.

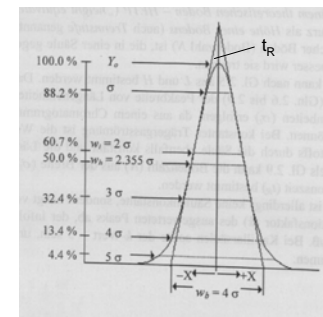
Die Längenvarianz ist das Quadrat der Längenstandardabweichung, wobei zur Beschreibung des Peaks eine Gaußverteilung der Konzentration in der Zone angenommen wird. H ist ein Maß für die Dispersion.

Als Trennstufe oder theoretische Bodenhöhe H bezeichnet man die Strecke eines chromatographischen Systems, innerhalb derer sich das Gleichgewicht einmal einstellt

Theoretische Trennstufenzahl N

$$N = \frac{L}{H}$$

N ist ein Maß für die Anzahl der theoretischen Trennstufen H in einer Säule mit der Länge L



$$\sigma_z = \sigma \cdot \frac{L}{t_R} \quad \frac{\sigma_z^2}{L} = H = \left(\frac{\sigma_z}{t_R} \right)^2$$

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma_z} \right)^2$$

$$N = 5,545 \cdot \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2$$

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2$$

Zusammenhang zwischen Varianz der Zone in Zeit- und Ortsdomäne ist gegeben über lineare Migrationsgeschwindigkeit u_i ($u_i = L/t_R$)

Aus: Bruno Kolb, Gaschromatographie in Bildern; Wiley-VCH

3.3. Einzelne Beiträge zur Dispersion

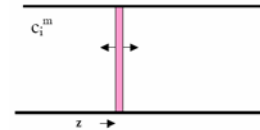
- Longitudinal Diffusion H_{diff} :
- Konvektive Durchmischung H_{conv} :
- Eddy- oder Streudiffusion H_{Eddy} :
- Massen-Transfer Resistenz (Verzögerung des Massentransport) in der mobilen Phase $H_{Kin,m}$:
- Massen-Transfer Resistenz (Verzögerung des Massentransport) in der stationären Phase $H_{Kin,s}$:

Additivität der Dispersionsbeiträge:

$$H = H_{diff} + H_{Eddy} + H_{conv} + H_{Kin,m} + H_{Kin,s}$$

➤ Longitudinal Diffusion H_{diff} :

Probenszone bildet einen Konzentrationsgradient in z Richtung, was die Ursache für Massentransport aufgrund von Diffusionsprozessen in longitudinale Richtung entsprechend dem 1. Fick'schen Gesetz darstellt.

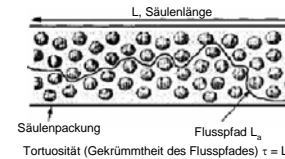


$$\frac{dc}{dt} = -D \cdot \frac{dc}{dz}$$

abh. v.:

- Diffusionskoeffizient
- Temperatur
- Medium
- verfügbare Zeit f. Diffusion

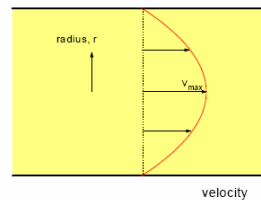
➤ Eddy- oder Streudiffusion H_{Eddy} :



- in einem gepackten Bett haben die Flusskanäle zw. den Partikeln unterschiedliche Dimensionen und Richtungen
- mobile Phase Strom wird an den Partikeln gesplittet
- Größe und Richtung der lokalen Flussvektoren ist inhomogen
- führt dazu, dass Moleküle mit unterschiedlichem Weg zu unterschiedlicher Zeit am Säulenende ankommen

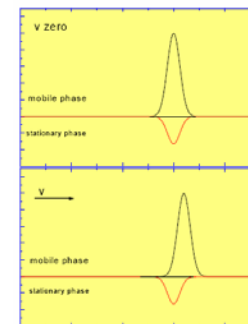
➤ Konvektive Durchmischung H_{conv} :

- Radiales Geschwindigkeitsprofil der mobilen Phase bringt zusätzliche Peakverbreiterung aufgrund konvektiver Durchmischung.
- In einem offenen Rohr (wie in der Kapillar-GC) kann das Flussprofil (im Gegensatz zu einem gepackten Bett) durch ein parabolisches Profil beschrieben werden. Die Geschwindigkeitsvektoren nehmen vom Zentrum des Rohrs zum Rand (Kapillarwand) hin ab.
- Für eine nicht-retardierte Komponente kann der Beitrag zur Trennstufenhöhe durch die sogenannte Taylor-Dispersion beschrieben werden.



➤ Massen-Transfer Resistenz (Verzögerung des Massentransports):

Peakverbreiterung entsteht in diesem fließenden System auch, weil Zeit für den Transport des Analyten von der mobilen Phase in die stationäre Phase und umgekehrt bzw. von der mobilen und stationären Phase zum Interface, wo der Stoffaustausch (Gleichgewichtseinstellung) stattfindet, benötigt wird.



- Für den (unrealistischen) Fall, dass sich die mobile Phase nicht bewegt ($v=0$) steht genügend Zeit für den Massentransport zur Verfügung.

- Für den Fall, dass die mobile Phase mit Geschwindigkeit v fließt, kommt es zu einem verzögerten Transport der Substanzzone in der stationären Phase.

Additivität der Varianzen

$$\sigma_{tot}^2 = \sum \sigma_i^2 \quad \text{bzw.} \quad H_{tot} = \sum H_i$$

$$\sigma_{tot}^2 = \sigma_{col}^2 + \sigma_{extra-col}^2$$

1.) Dispersionsbeiträge in der Säule:

$$\sigma_{col}^2 = \sigma_{diff}^2 + \sigma_{Eddy}^2 + \sigma_{conv}^2 + \sigma_{Kin,m}^2 + \sigma_{Kin,s}^2$$

2.) „Extracolumn“ Effekte:

- Injektionszone:
- Detektorzellvolumen:
- Totvolumina (Kapillarverbindungen, schlechte Verbindungen):

Faustregel: kleiner 10% des Peakvolumen

Peakdispersionsbeiträge und Additivität

	Dispersionsbeiträge					Abhängigkeit von der Fließgeschw.
	H_{diff}	H_{conv}	H_{Eddy}	$H_{kin,m}$	$H_{kin,s}$	
Gepackte Säulen (LC)	√	-	√	√	√	Van Deemter Gl.
Offene Säulen (GC)	√	√	-	√	√	Golay Gl.

H_{diff} : Longitudinale Diffusion

H_{conv} : konvektive Durchmischung

H_{Eddy} : Streudiffusion

$H_{kin,m}$ und $H_{kin,s}$: verzögerte Massenübertragung in der mobilen und stationären Phase

Kein gepacktes Bett, keine Streudiffusion

Prüfungstermine Lindner/Lämmerhofer

ANALYTISCHE CHEMIE I - Bakk. (jetzt Ib)
(VO Nr. 270054)

ANALYTISCHE CHEMIE II
(VO Nr. 270108 - Dipl. Studium + VO Nr. 270108 - Bakk.)

3.Termin: Donnerstag, 19.Mai 2011, 14.00 - 16.00 Uhr

4.Termin: Montag, 04.Juli 2011 14:00 - 16:00 Uhr

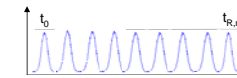
Ort: Karl Auer v.Welsbach-Saal (ehem. Hörsaal I)

Anmeldeschluß: jeweils einen Tag davor, 11.30 Uhr

4. Peakkapazität

Eindimensionales Chromatographieverfahren:

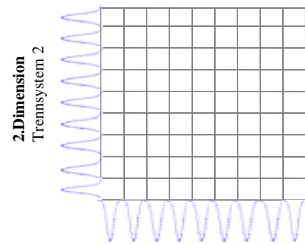
n : Peakkapazität; Gibt an, wie viele Peaks innerhalb eines Intervalls zwischen t_0 und $t_{R,max}$ (bzw. dem k -Wert eines bestimmten Peaks) theoretisch mit einer Auflösung von $R=1$ voneinander getrennt werden können.



$$n = 1 + \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \ln \left(\frac{t_{R,max}}{t_0} \right)$$

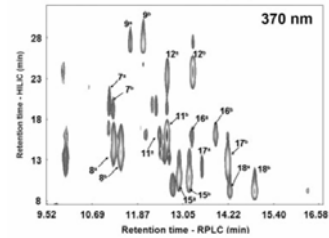
$t_{R,max}$: Retentionszeit des zuletzt eluierten Peaks

Peakkapazität 2D-Chromatographie



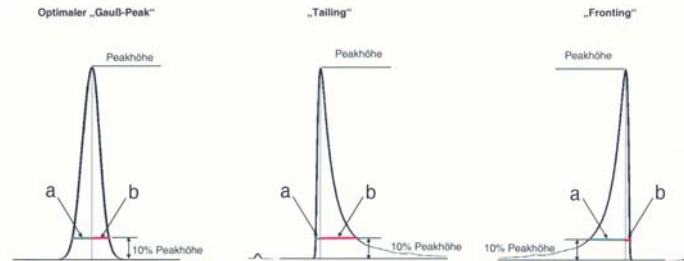
1. Dimension
Trennsystem 1

$$n_{2D} = n_1 \times n_2$$



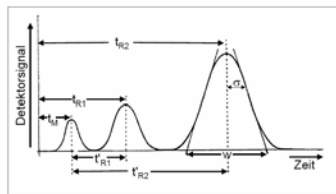
Extrakt von grünem Tee

5. Peaksymmetrie



Tailingfaktor nach IUPAC (bei 10% Peakhöhe): $T = \frac{b}{a}$

6. Parameter zur Beschreibung der Trennung 6.1. Trennfaktor α



$$t_M = t_{R,0}$$

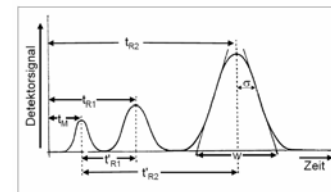
• Maß für unterschiedliches Retentionsverhalten zweier Komponenten i und j

• Synonyme: Selektivität, Selektivitätskoeffizient

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{(t_{R,2} - t_{R,0})}{(t_{R,1} - t_{R,0})}$$

6.2. Auflösung R_S (Resolution)

Die Auflösung ist ein **Maß für die Qualität bzw. Güte der Trennung**. Sie ist letztlich die relevante Größe für die Trennung.



Bestimmung:

$$R_{1,2} = \frac{(t_{R,2} - t_{R,1})}{(w_{b,1} + w_{b,2})/2} = 2 \frac{(t_{R,2} - t_{R,1})}{(w_{b,1} + w_{b,2})}$$

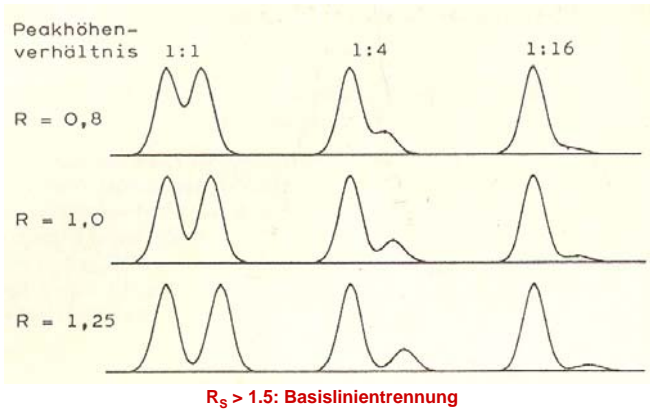
Quotient aus Migrationszeitdifferenz und arithmetischem Mittel der Peakbreiten

In Praxis meist:

w_b , Peakbreite an der Basis
 $w_{1/2}$, Peakbreite in halber Höhe
(FWHM, full width at half height)

$$R_{1,2} = 1.18 \frac{(t_{R,2} - t_{R,1})}{(w_{1/2,1} + w_{1/2,2})}$$

Auflösung in Abhängigkeit des Peakflächenverhältnisses

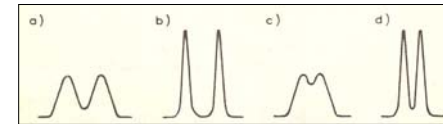


6.3. Auflösung und Abhängigkeit von Parametern

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{k_2}{k_2 + 1} \right)$$

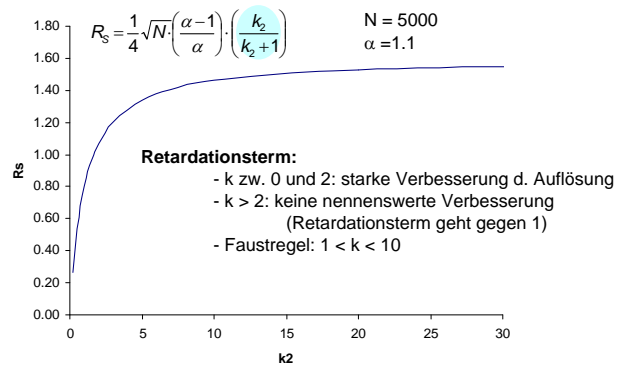
Auflösung Selektivitätsterm

Effizienzterm Retardierungsterm

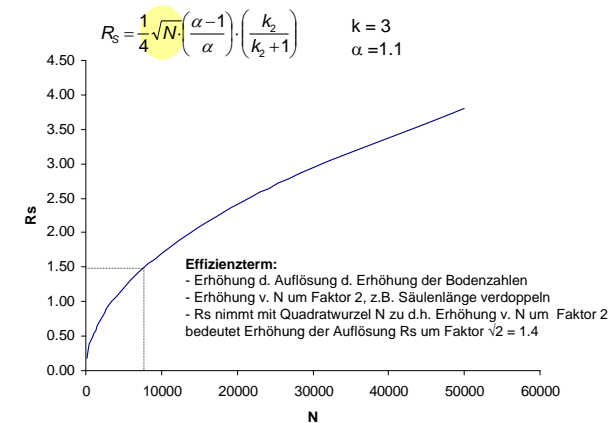


a) und b) haben gleiche Selektivität aber b) höhere Trennstufenzahl; c) und d) haben geringere Selektivität als a) und b); a) und c) sowie b) und d) haben gleiche Trennstufenzahl bei unterschiedlicher Selektivität

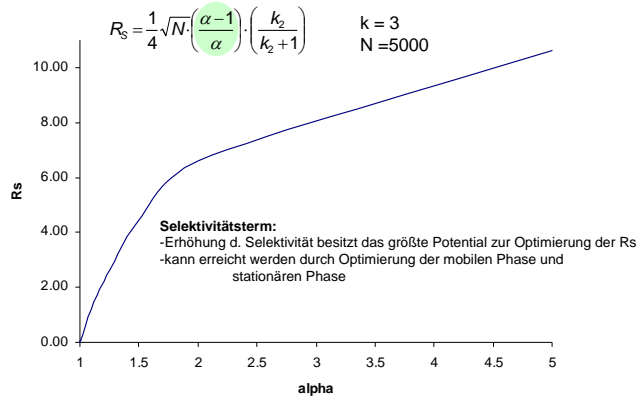
Auflösungsformel: Effekt der Parameter



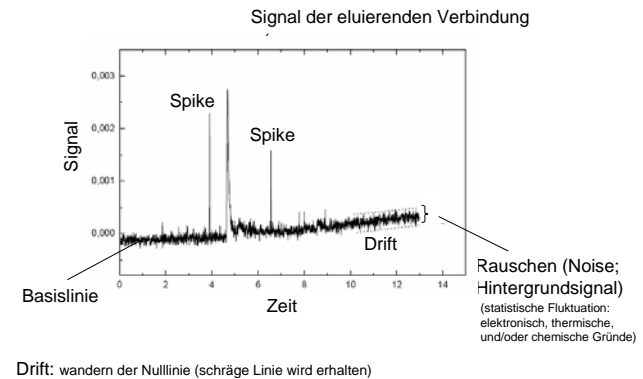
Auflösungsformel: Effekt der Parameter



Auflösungsformel: Effekt der Parameter



7. Detektoren: Allgemeine Aspekte



7. Detektoren: Allgemeine Aspekte

7.1. Typen:

• konzentrationsabhängige Detektoren

$$S_i^c = a_i^c \cdot \frac{dn_i}{dV} = a_i^c \cdot c_i$$

S_i Detektorsignal; a_i Proportionalitätsfaktor od. Konversionsfaktor (Detektorempfindlichkeit); c_i Konzentration

- Das Signal ist direkt proportional zur momentanen Konzentration im Det.vol.
- Peakflächen sind abh. von der Verdünnung mit mobiler Phase

• massenstromabhängige Detektoren

$$S_i^m = a_i^m \cdot \frac{dm_i}{dt} = a_i^m \cdot m_i'$$

S_i Detektorsignal; a_i Proportionalitätsfaktor oder Konversionsfaktor oder Responsefaktor (Detektorempfindlichkeit); m_i Masse; t Zeit, m_i' Massenstrom

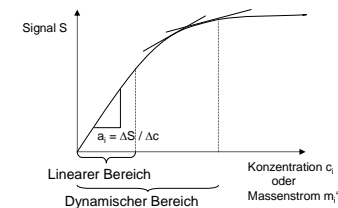
- Das Signal ist direkt proportional zum Massenstrom d.h. zur Änderung der Masse mit der Zeit
- Peakflächen sind unabhängig von der Verdünnung mit mobiler Phase (im Gegensatz zu konzentrationsabh. Det.)

7.2. Detektorempfindlichkeit

Charakterisiert durch den Proportionalitätsfaktor a_i

$$a_i^c = \frac{S_i^c}{c} \quad \text{bzw.} \quad a_i^m = \frac{S_i^m}{m}$$

- Def.: Signaländerung, die bei einer bestimmten Änderung der Konzentration bzw. des Massenstroms erhalten wird.
- Die Empfindlichkeit ist gleich der Steigung der Kalibrationskurve



- Linearer Bereich: Die Empfindlichkeit ist konstant.
- Ausserhalb des linearen Bereichs: Empfindlichkeit ist nicht konstant und ändert sich mit der unabh. Variable (Konzentration bzw. Massenstrom). Hier ist die Empfindlichkeit als Steigung der Tangente der Beziehung S versus c bzw. m' definiert.

Achtung: Nicht verwechseln mit der Fähigkeit geringe Konzentrationen nachzuweisen.

7.3. Linearer und dynamischer Bereich

Linearer Bereich (Linearität)

• Def.: Der Konzentrationsbereich, in dem die Empfindlichkeit konstant ist und unabhängig von der Konzentration ist. Bereich in dem das Signal linear mit der Konzentration bzw. dem Massenstrom steigt.

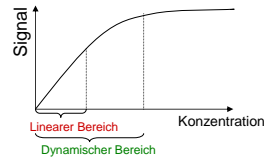
• Ein weiter linearer Bereich ist günstig.

• Es ist allerdings nicht ungewöhnlich, dass bei hohen Konzentrationen eine Abweichung von der Linearität gegeben ist.

• Abweichung von Linearität bedeutet nicht unbedingt, dass eine quantitative Analyse nicht mehr möglich ist.

Dynamischer Bereich

• Def.: Der Konzentrationsbereich, in dem eine Konzentrationsänderung auch eine Änderung in der Signalintensität bewirkt. Die Signaländerung kann direkt proportional mit der Konzentration bzw. dem Massenstrom erfolgen oder auch nicht.



7.4. Instrumentelle Detektionsgrenze (DG)

(nicht zu verwechseln mit Detektionsgrenze der analytischen Methode)

DG, auch als Nachweisgrenze bezeichnet

$$DG = \frac{b \cdot \sigma_0}{a_i}$$

Def.: Niedrigste Konzentration oder niedrigster Massenstrom, die bzw. der noch ein Signal gibt, das vom Rauschen σ_0 unterschieden werden kann.

- b, Vielfaches der Standardabweichung des Rauschens (stat. Faktor).
- Je größer b gewählt wird, umso größer ist die stat. Sicherheit, dass das Signal von der Probe stammt und es sich nicht um ein Rauschen handelt.
- $b = 3$: stat. Sicherheit ist 99.7% (in 1000 Fällen handelt es sich 997 mal um ein Signal der Probe)
- Praxis: Signal zu Rausch Verhältnis bestimmt die Fähigkeit eines Detektors kleine Mengen an Analyt zu detektieren.

7.5. Spezifität (E)

$$E = \frac{a_i}{a_j}$$

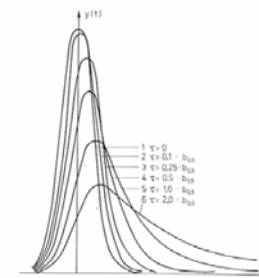
Def.: Fähigkeit des Detektors für unterschiedliche Substanzen einen unterschiedlichen Response zu erhalten d.h. für gleiche Konzentrationen bzw. Massenströme unterschiedlich starke Signale zu generieren.

$E = 1$, alle Verbindungen mit gleicher Sensitivität detektiert (**universeller Detektor**)

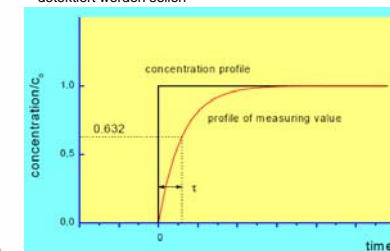
Extreme Werte ($E \gg 1$ oder $E \ll 1$): eine Verbindung **spezifisch** detektiert

7.6. Zeitkonstante τ (Response time)

Def.: Ein Maß dafür, wie rasch ein Detektor einen Peak registriert. (Maß für die Verzerrung des tatsächlichen Peaks)



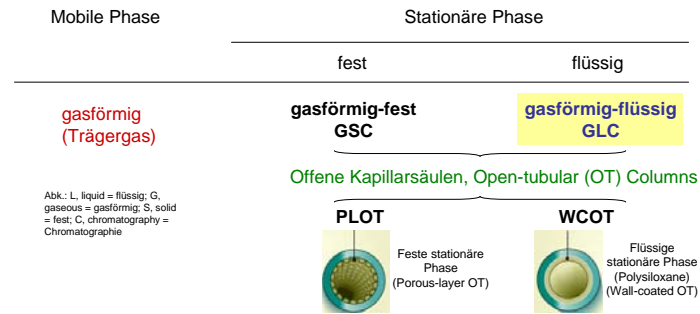
Von Bedeutung, wenn sehr schmale Peaks detektiert werden sollen



Die Zeitkonstante bestimmt die Peakform, aber nicht die Peakfläche.

8. Gas-Chromatographie (GC)

8.1. Allgemeines Prinzip der GC

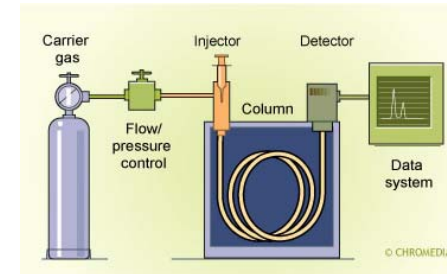


Abk.: L, liquid = flüssig; G, gaseous = gasförmig; S, solid = fest; C, chromatography = Chromatographie

Anwendbarkeit:

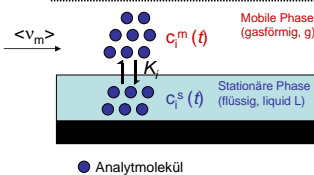
- Trennung von **flüchtigen, temperatur-beständigen** Verbindungen (50-300°C)
- bei **nicht-flüchtigen, polaren** Verbindungen: **Derivatisierung** notwendig, Generierung von flüchtigen, thermisch beständigen Derivaten (fluorierte Verbindungen, Ester, Silyl-Ether und Silyl-Ester)

8.2. Instrumentierung: Gas Chromatograph



- Gasversorgung (Trägergas)
- Fluss/Druck-Regler
- Injektionssystem
- Säule in beheizbarem Säulenofen (Thermostat)
- Detektor
- Datenerfassungssystem

8.3. Verteilungskoeffizient, Retentionsfaktoren (GLC)



Die Verteilung des Analyten i wird durch den Verteilungskoeffizienten K_i bestimmt:

$$K_i = \frac{c_i^s}{c_i^m}$$

Für den Retentionsfaktor gilt:

$$k = K_i \cdot \phi = \frac{n_i^L}{n_i^g}$$

Superscript L, liquid (flüssig)
Superscript g, gasförmig

Ausdruck für

- Molzahl von i in der flüssigen stationären Phase (n_i^L) und
- Molzahl von i in der Gasphase (n_i^g)

muss formuliert werden

ϕ , Phasenverhältnis (V_s/V_m bzw V_L/V_g)

GLC als Zweikomponentensystem:

Analyt i gelöst in stationärer Phase L (liquid)

$$X_i = \frac{n_i}{n_i + n_L}$$

x_i , Molbruch (Molanteil) von i im Zweikomponentensystem (in flüssiger st. Phase)

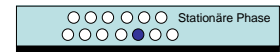
n_i , Mol von i
 n_L , Mol stationäre Phase Flüssigkeit (Molzahl der Trennphase)

Daher: $X_i = \frac{n_i}{n_L}$

$$n_i = X_i \cdot n_L$$

In stat. Phase: binäres Flüssigkeitsgemisch aus stat. Phase Flüssigkeit und Analyt

Mobile Phase (Gasphase)



○ Molekül des Lösungsmittels (stat. Phase)
● Analytmolekül

$$n_L = \frac{g^L}{M^L}$$

$$\rho = \frac{g^L}{V^L}$$

$$n_L = \frac{\rho \cdot V^L}{M^L}$$

ρ , Dichte der Trennphase (Flüssigkeit)
 V^L , Volumen der stat. Phase
 M^L , Molekulargewicht der Trennphase
 g^L , Masse der Trennphase

➤ Für die Molzahl von i in der idealen Gasphase (n_i^g) gilt das Dalton Gesetz:

$$n_i^g = \frac{p_i \cdot V^g}{RT}$$

p_i , Partialdruck von i in der Gasphase
 V^g , Volumen der Gas-Phase (d.h. mobilen Phase)
 R , allgemeine Gaskonstante
 T , abs. Temperatur (K)

➤ Der Partialdruck p_i eines flüchtigen Analyten über der Lösung in der Gasphase (st. Phase) wird durch das Raoult'sche Gesetz beschrieben:

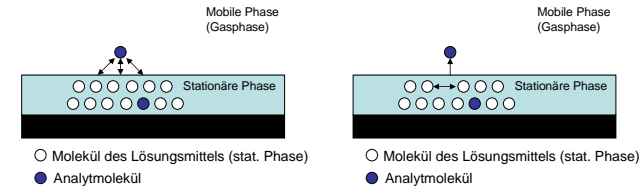
$$p_i = x_i \cdot p_i^0$$

p_i^0 , Dampfdruck des Analyten (in reiner Form) bei gegebener Temperatur
 x_i , Molanteil des Analyten i in der flüssigen Phase

Gilt nur für ideale Lösungen d.h. wenn der gelöste Stoff dem Lösemittel chemisch so ähnlich ist, dass keine zusätzlichen zwischenmolekularen Wechselwirkungskräfte auftreten

Realfall:

In stat. Phase: binäres Flüssigkeitsgemisch aus stat. Phase Flüssigkeit und Analyt



- **Anziehungskräfte** zw. Analyt und Lösungsmittelmolekülen der stat. Phase
- **Dampfdruckerniedrigung**
- **Aktivitätskoeffizient $\gamma < 1$**

- **Abstoßungskräfte:** Anziehungskräfte zw. Lösungsmittelmolekülen der stat. Phase größer d.h. der Analyt wird aus der st. Phase rausgedrängt
- **Dampfdruckerhöhung**
- **Aktivitätskoeffizient $\gamma > 1$**

Moleküle bei Verdampfen von Lösungsmittel d.h. stat. Phase angezogen: $\gamma < 1$
 Moleküle bei Verdampfen von Lösungsmittel d.h. stat. Phase abgestoßen: $\gamma > 1$

➤ Der Partialdruck p_i eines flüchtigen Analyten über der Lösung in der Gasphase (st. Phase) wird unter realen Bedingungen durch das Henry'sche Gesetz beschrieben:

$$p_i = \gamma_i^0 \cdot x_i \cdot p_i^0$$

p_i^0 , Dampfdruck des Analyten (in reiner Form) bei gegebener Temperatur
 x_i , Molanteil des Analyten i in der flüssigen Phase
 γ_i^0 , Aktivitätskoeffizient des Analyt i (in der stat. Phase bei unendlicher Verdünnung)

- Ideale Lösung (keine Beeinflussung beim Verdampfen)

$$\gamma_i = 1$$

- Realfall: Verdünnte Lösungen:

$$\gamma_i = \text{konstant}$$

- Realfall: Konzentrierte Lösungen:

$$\gamma_i = f(X_i)$$

➤ Durch Substitution ergibt sich:

$$k = \frac{x_i \cdot \rho \cdot RT \cdot V^L}{p_i \cdot M^L \cdot V^g}$$

$$p_i = \gamma_i^0 \cdot x_i \cdot p_i^0$$

$$k = \frac{1}{\gamma_i^0 \cdot p_i^0} \cdot \frac{\rho \cdot RT \cdot V^L}{M^L \cdot V^g}$$

K_f

➤ Parameter, die für Verteilungskoeffizienten entscheidend sind:

- Dampfdruck p_i^0 des Analyten als Reinsubstanz bei Temperatur T
- Der Aktivitätskoeffizient des Analyten γ_i^0 in der stationären Phase (Flüssigkeit; bei unendlicher Verdünnung)

8.4. Trennfaktor in der GC

➤ Trennfaktor (Selektivitätskoeffizient) α_{ji} zweier benachbart eluierender Verbindungen i und j:

$$\alpha_{ji} = \frac{k_j}{k_i} = \frac{K_j}{K_i} = \frac{p_i^0 \cdot \gamma_i^0}{p_j^0 \cdot \gamma_j^0} \quad k = \frac{1}{\gamma_i^0 \cdot p_i^0} \frac{\rho \cdot RT}{M^l} \frac{V^l}{V^g}$$

Selektivität in der GLC ist als von zwei Verhältnissen abhängig:

- Verhältnis der Dampfdrücke der beiden Analyte als Reinsubstanzen (bei gegebener Temperatur) (T als Variable)

- Verhältnis der Aktivitätskoeffizienten der beiden Analyten in der stationären Phase (bei unendlicher Verdünnung) (stationäre Phase als Variable)

$$\log \frac{K_i}{K_j} = \log \frac{V_j}{V_i} = \log \frac{p_i^0}{p_j^0} + \log \frac{\gamma_i^0}{\gamma_j^0} \quad \text{Herington-Trennformel}$$

$V_{i,p}$ Retentionsvolumen

8.5. Temperaturabhängigkeit des Verteilungskoeffizienten

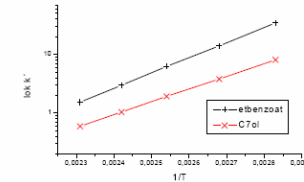
$$k = \frac{1}{\gamma_i^0 \cdot p_i^0} \frac{\rho \cdot RT}{M^l} \frac{V^l}{V^g} \quad \text{bzw.} \quad K_i = \frac{1}{\gamma_i^0 \cdot p_i^0} \frac{\rho \cdot RT}{M^l}$$

➤ falsche Conclusio: k bzw. K direkt proportional abh. v. T

➤ lineare Abhängigkeit wird d. exponentiellen Anstieg des Dampfdrucks p_i^0 mit der Temperatur mehr als überkompensiert, entsprechend der Clausius-Clapeyron Gleichung

➤ Temperaturabh.:

$$\log K_i \text{ bzw. } \log k_i \propto \frac{1}{T}$$

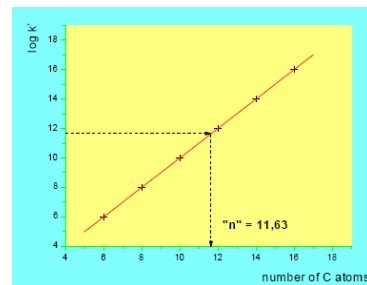


8.6. Retentionsindex I_R

Der Retentionsindex einer Probenkomponente ist eine Zahl, welche durch Interpolation einer Beziehung (gewöhnlich logarithmisch) zwischen dem *Retentionsvolumen* (bzw. der -zeit) oder dem Retentionsfaktor der Probenkomponente relativ zu dem Retentionsvolumen (-zeit) von zwei Standards, die vor und nach der Probenkomponente eluieren, erhalten werden kann.

Der Parameter basiert auf einer linearen Beziehung von $\log k$ Werten der Verbindungen einer homologen Reihe von organischen Verbindungen mit der Carbonzahl n im Molekül. Für eine homologe Serie an n-Alkanen gilt daher:

$$\log k_n = A + B \cdot n$$



Für jeden Analyten mit einem bestimmten Retentionsfaktor gibt es ein Paar an n-Alkanen zwischen denen der Analyt im Chromatogramm eluiert.

Der Analyt wird quasi als fiktives n-Alkan mit einer hypothetischen C-Zahl betrachtet z.B. 11.63 in der Abbildung. Diese Zahl multipliziert mit 100 (wie auch bei den jeweiligen Alkanstandards), ergibt den Retentionsindex. Im Beispiel hat der Analyt daher einen Retentionsindex von 1163. n-Alkane haben Retentionsindices mit vollen 100, n-Hexane z.B. 600, n-Undecan 1100, n-Eicosan 2000, etc.

verzweigte Alkane: Abweichung von geraden 100er Zahlen

I_R wird gewöhnlich nicht graphisch sondern rechnerisch ermittelt:

$$I_{Ri} = 100z \frac{\log k'_i - \log k'_n}{\log k'_{n+z} - \log k'_n} + 100n$$

Substitution der Retentionsfaktoren durch die NettoRetention

$$t_{Ri}^N = t_{Ri} - t_{R0}$$

Führt zu einer Formel, die die einfache Bestimmung von Retentionsindices ermöglichen:

$$I_{Ri} = 100z \frac{\log \frac{t_{Ri}^N}{t_{Rn}^N}}{\log \frac{t_{R(n+z)}^N}{t_{Rn}^N}} + 100n$$

Hier $(n+z)$ und n sind die Carbonzahlen der n -Alkane, die nach und vor dem Analyt eluieren.

Gewöhnlich aber nicht notwendigerweise ist $z = 1$.

Wenn aus ökonomischen Gründen die billigeren geradzahlig höheren n -Alkane verwendet werden (z.B. C26 und C28), ist $z = 2$.

➤ Vorteil von Retentionsindex-System (nach Kovats):

Unabhängigkeit von bestimmten oft variierenden experimentellen

Bedingungen, wie

- Fließgeschwindigkeit der mobilen Phasen
- Phasenverhältnis
- Länge der Säule

Abhängig von:

- **Art der stationären Phase**
- (Säulentemperatur)

Daher:

- Gut geeignet um das Retentionsverhalten einer Verbindung auf einer bestimmten stationären Phase zu charakterisieren.

➤ Retentionsindex einer unbekanntem Verbindung auf unterschiedlichen stationären Phasen ermöglicht Rückschlüsse auf die Polarität der Verbindung

1) Bestimmung von Retentionsindices auf 2 st. Phasen unterschiedlicher Polarität

Compound	I_R (OV1)	I_R (PEG)	$\Delta I_R = I_R^{polar} - I_R^{unpolar}$
n-octane	800	800	0
n-dibutylether	864	966	102
n-hexylacetate	963	1101	138
n-octanon-2	957	1295	338
n-octanol-1	1038	1545	507

OV1, Polydimethylsiloxan (apolar)

PEG, Polyethylenglykol (polar)

2) Je polarer die Verbindung, umso größer ist ΔI_R

8.7. Peak Dispersion in offenen Kapillarsäulen

➤ Zonenverbreiterung wird durch das Konzept der theoretischen Trennstufenhöhe H , beschrieben .

➤ 4 Prozesse tragen in offenen Kapillarsäulen zur gesamten Trennstufenhöhe bei:

⇒ H_{diff} beschreibt den Beitrag zur Longitudinal-Diffusion

⇒ H_{conv} den der konvektiven Durchmischung

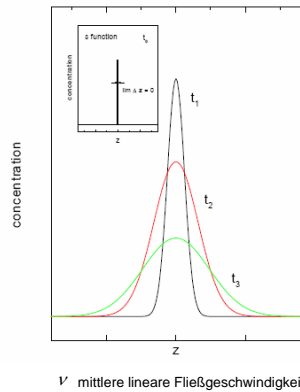
⇒ $H_{ex,m}$ den Beitrag der Massenaustausch-Kinetik zwischen mobiler Phase und dem Interface der stationären Phase

⇒ $H_{ex,s}$ die Massenaustausch-Kinetik von der stationären Phase zur mobilen Phase

➤ Additivität der individuellen Beiträge:

$$H = H_{diff} + H_{conv} + H_{ex,m} + H_{ex,s}$$

8.7.1. Longitudinal-Diffusion (axiale Diffusion)



Der Beitrag der Longitudinal-Diffusion, nämlich in und gegen die Richtung der Zonenmigration, wird verursacht vom Konzentrationsgradienten zwischen Probezone und umgebender mobiler Phase.

Entsprechend der Einstein Gleichung gilt für die Varianz (Längsvarianz) (σ_z^2) im Konzentrationsprofil der Zone

$$\sigma_z^2 = 2 \cdot D_{m,i} \cdot t$$

Der Proportionalitätsfaktor zwischen Längsvarianz σ_z^2 und Trennstrecke z ist die Trennstufenhöhe

$$\sigma_z^2 = H \cdot z \qquad \sigma_z^2 = H \cdot L$$

$$t = L/v \qquad \sigma_z^2 = \frac{2 \cdot D_{m,i} \cdot L}{v}$$

$$H_{diff} = \frac{2 \cdot D_{m,i}}{v}$$

- Axiale Diffusion H_{diff} ist umso größer je höher der Diffusionskoeffizient, $D_{m,i}$, des Analyten in der mobile Phase, und je länger die Zeit die zur Diffusion zur Verfügung steht.

- Aus diesem Grund steigt dieser Beitrag mit sinkender Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase. H_{diff} ist proportional zu $1/v$.

- Longitudinale Diffusion in der stationären Phase trägt nicht signifikant zur Peakverbreiterung bei, weil der Diffusionskoeffizient in der stationären Phase 5 bis 6 Größenordnungen kleiner ist als in der Gasphase.

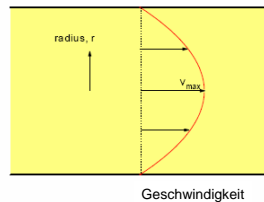
8.7.2. Konvektive Durchmischung

- Das radiale Geschwindigkeitsprofil der mobilen Phase, die durch die Trennsäule strömt, zieht einen weiteren Beitrag zur Zonenverbreiterung nach sich, die konvektive Durchmischung.

- In einem offenen Rohr (wie in einer Kapillarsäule in der GC) hat das Flußprofil eine parabolische Form mit geringerer Geschwindigkeit am Rand der Kapillare als im Zentrum der Kapillare mit Radius r_c , wo maximale Geschwindigkeit erreicht wird.

- Für eine nicht-retardierte Komponente wird dieser Beitrag zur Trennstufenhöhe von der sogenannten *Taylor-Dispersion* beschrieben.

$$H_{conv} = \frac{r_c^2}{24 \cdot D_{m,i}} v$$



8.7.3. Massenaustauschverzögerung

- Es erfolgt eine zeitliche Verzögerung der Moleküle beim Phasenwechsel infolge von Diffusionsvorgängen.

- Unterschiedlich lange Diffusionswege und entsprechend unterschiedlich lange Verweilzeiten in den beiden Phasen führen dazu, dass die einzelnen Moleküle zu unterschiedlichen Zeiten den Phasenwechsel vollziehen, wobei das Kollektiv sich insgesamt normal verteilt.

- Unterscheidung zwischen einem Beitrag der aus Diffusionsvorgängen in der mobilen Phase resultiert und einem Beitrag in der stationären Phase.
- Beide Massenverzögerungsterme haben ihren Ursprung in der eingeschränkten Massenaustauschgeschwindigkeit vom inneren der mobilen oder stationären Phase zum Interface zwischen diesen beiden Phasen.

$$H_{ex,m} + H_{ex,s}$$

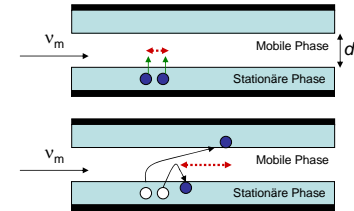
- Aufgrund dieser kinetischen Gründe kommt es zu Peak Dispersion, welche mit der Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase steigt.
- Der Beitrag in der mobilen Phase ist mit der radialen Fließgeschwindigkeitsverteilung gekoppelt. Der Beitrag durch verzögerten Massentransfer in der mobilen Phase wird daher mit dem aus dem Flußprofil kombiniert.

$$H_{ex,m+conv} = \frac{(1 + 6k_i + 11k_i^2)}{(1 + k_i)^2} \frac{r_c^2}{24 \cdot D_{m,i}} v$$

k_i , Retentionsfaktor des Analyten i
 r_c , Radius der Kapillare
 $D_{m,i}$, Diffusionskoeffizient in der mobilen Phase (Gas)

$H_{ex,m}$ Massenaustauschverzögerung in der mobilen Phase

- Dieser Term beschreibt die zeitliche Verzögerung der Moleküle beim Phasenwechsel durch Diffusionsvorgänge in der mobilen Phase



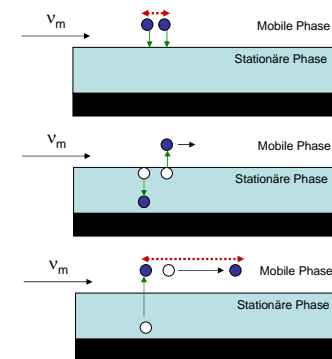
- Wenn 2 Moleküle gleichzeitig aus der stationären in die mobile Phase übertreten, besteht die Möglichkeit, dass ein Molekül nach kurzer Diffusion in der mobilen Phase wieder in die stationäre Phase zurückdiffundiert, während das andere Molekül vielleicht einen längeren Weg in der mobilen Phase zurücklegt und an der gegenüberliegenden Kapillarwand in die stationäre Phase eintritt.
- Würde keine mobile Phase fließen, würde diese Querdiffusion (laterale Diffusion) nicht zur Peakverbreiterung beitragen. Erst im fließenden Trägergas werden die beiden Moleküle verschieden weit weitertransportiert.
- Existieren lange Diffusionsstrecken (großer Kapillardurchmesser d_c) ist der Beitrag größer, ebenso bei hoher Trägergas-Fließgeschwindigkeit

Abhängig von:

- $D_{m,i}$
- r_c (d_c)
- k_i

$H_{ex,m}$ Massenaustauschverzögerung in der stationären Phase

- Dieser Term beschreibt die zeitliche Verzögerung der Moleküle beim Phasenwechsel durch Diffusionsvorgänge in der stationären Phase



Abhängig von:

- $D_{s,i}$
- d_f
- k_i

- Der Term für die verzögerte Massenübertragung in der stationären Phase lautet

$$H_{ex,s} = \frac{2}{3} \frac{k_i}{(1+k_i)^2} \frac{d_f^2}{D_{s,i}} v$$

k_i , Retentionsfaktor des Analyten i
 d_f , Filmdicke der stationären Phase
 $D_{s,i}$, Diffusionskoeffizient in der (flüssigen) stationären Phase

d_f , typisch < 1 μm

8.7.4. Golay Gleichung

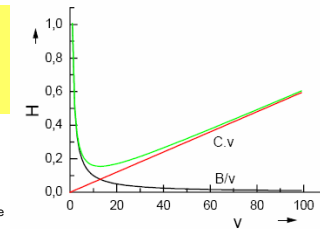
- Die Golay Gleichung beschreibt die theoretische Trennstufenhöhe H, die aus der Summe der individuellen Beiträge zur Peakverbreiterung resultiert, in Abhängigkeit von der linearen Fließgeschwindigkeit v der mobilen Phase:

$$H = \frac{2 \cdot D_{m,i}}{v} + \frac{(1+6k_i+11k_i^2)}{(1+k_i)^2} \frac{r_c^2}{24 \cdot D_{m,i}} v + \frac{2}{3} \frac{k_i}{(1+k_i)^2} \frac{d_f^2}{D_{s,i}} v$$

- Diese Gleichung kann vereinfacht werden zu:

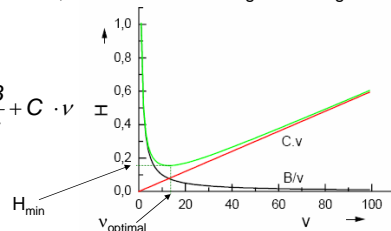
$$H = \frac{B}{v} + (C_m + C_s) \cdot v = \frac{B}{v} + C \cdot v$$

r_c , Radius der Kapillarsäule
 $D_{m,i}$, Diffusionskoeffizient in der mobilen Phase (gasf.)
 k_i , Retentionsfaktor des Analyten i
 d_f , Filmdicke der stationären Phase
 $D_{s,i}$, Diffusionskoeffizient in der (flüssigen) stationären Phase



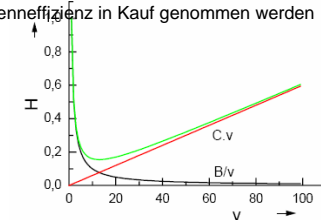
- Die Abbildung (grüne Kurve) illustriert die Abhängigkeit der Bodenhöhe von der mobilen Phasen Geschwindigkeit wie von der Golay Gleichung beschrieben.
- Sie resultiert von der **Aufsummierung** des hyperbolischen **B-Term** Beitrages (schwarze Kurve), der verkehrt proportional von der Fließgeschwindigkeit abhängt ($1/v$), mit dem **C-Term Beitrag** (rote Kurve), der linear mit v ansteigt.
- Es ist aus der Abb. ersichtlich, dass eine **Fließgeschwindigkeit (v_{optimal})** existiert, welche einen **Minimalwert für die theoretische Trennstufenhöhe (H_{min})** liefert. Bei dieser Fließgeschwindigkeit ist die Peakdispersion am geringsten. Wenn man eine möglichst kleine Dispersion benötigt um eine vollständige Auftrennung zu erzielen, sollte man diese Fließgeschwindigkeit wählen.

$$H = \frac{B}{v} + (C_m + C_s) \cdot v = \frac{B}{v} + C \cdot v$$



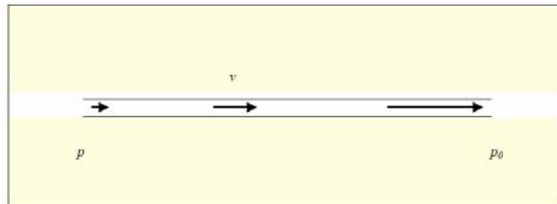
- **Links von H_{min}** steigt die Bodenhöhe stark an, was auf **Diffusionsprozesse** aufgrund langsamer Fließgeschwindigkeit und daher langen Analysenzeiten zurückzuführen ist. Nach Möglichkeit wird man derartige langsame Fließgeschwindigkeiten in der Praxis vermeiden.
- **Rechts von H_{min}** , im Gegensatz, steigt H mit steigender Fließgeschwindigkeit langsamer an und nähert sich bei hohen Fließgeschwindigkeiten asymptotisch dem **C-Term Beitrag (Verzögerung der Massenübertragung/Massentransfer-Resistenz)**. In diesem Bereich wird also der C-Term Beitrag dominierend für die gesamte Peakdispersion. Diese Fließgeschwindigkeit wird vor allem dann gewählt, wenn die Selektivität groß genug ist. Günstig ist, dass die Analysenzeiten relativ kurz sind aufgrund der hohen Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase, wobei jedoch ein Verlust an Trenneffizienz in Kauf genommen werden muss.

$$H = \frac{B}{v} + (C_m + C_s) \cdot v = \frac{B}{v} + C \cdot v$$



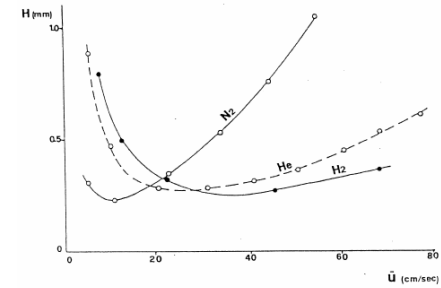
8.7.5. Gas als komprimierbares Medium

In GC wird eine mittlere lineare mob. Phasen Geschwindigkeit, $\langle v \rangle$ definiert, welche von der lokalen Geschwindigkeit v , abweicht. Diese Unterschiede in den lokalen Geschwindigkeiten entlang der Trennsäule haben ihren Ursprung in der Komprimierbarkeit (Kompressibilität) der gasförmigen mobilen Phase. Die spezifische Geschwindigkeit hängt vom Druckabfall entlang der Säule ab.



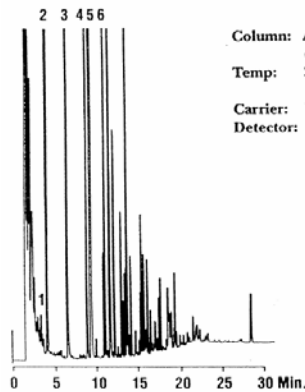
p Druck am Säulenkopf, p_0 Druck am Säulenende

8.7.7. Einfluss des Trägergases



Säule: 25 m x 0,25 mm ID x 0,25 μ m d_f für N_2 He H_2
 Stat. Phase: Polymethylsiloxan OV-1 \bar{u}_{opt} cm/s für N_2 12 He 21 H_2 38
 Temperatur: 175 °C
 Testsubstanz: n-C₇, ($k' = 5$)

9.1. Beispiel GC Separation

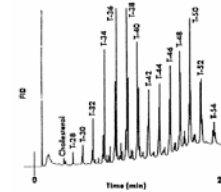


Column: AT-TCEP, 30m x 0.25mm x 0.4 μ m,
 (Part No. 14401)
 Temp: 32°C (5min hold) to 125°C
 (10min hold) at 5°C/min
 Carrier: Helium, 15.5mL/min
 Detector: FID at 200°C

1. Dodecane
2. Benzene
3. Toluene
4. Ethyl Benzene
5. p-xylene, m-xylene
6. o-xylene

TCEP: 1,2,3-tris(2-cyanoethoxy)propane
 FID: Flammenionisationsdetektor

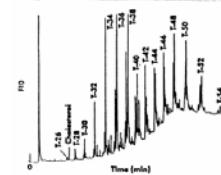
9.2. Beispiel GC Separation



stat. Phase
 Polysiloxan: 100 % Methyl
 T Summe der C-Atome in den Seitenketten

Butter-Triglyceride

Hochtemperatur-GC



50 % Phenyl

Säule: 25 m x 0,25 mm ID x 0,1 μ m d_f
 250 - 365 °C mit 5K / min
 Trägergas: 1 ml / min H_2
 Injektion: PTV-Injektor, 60 - 400 °C, 8 μ l, split 1 : 40
 Detektor: FID bei 420 °C

Effekt der
Filmdicke

