

Übungsaufgaben zu chromatographischen Verfahren

Diese Aufgaben hier, sollen den im Unterricht vermittelten Stoff vertiefen. Viele der Aufgaben wurden in Klassenarbeiten gesteckt. Neben den Aufgaben auf diesem Blatt hier, gibt es noch ein Übungsblatt in Anlehnung an Aufgaben vergangener Abschlussprüfungen!

1. Chromatographie allgemein und Dünnschichtchromatographie

2. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

2.1 Eine Lösung enthält Ethylbenzen und Propylbenzen als Analyten und Isopropanol als Lösungsmittel. Sie wird auf einer C₁₈-Säule mit einem Eluentengemisch aus 80 Volumenprozent Methanol und 20 Volumenprozent Wasser getrennt.

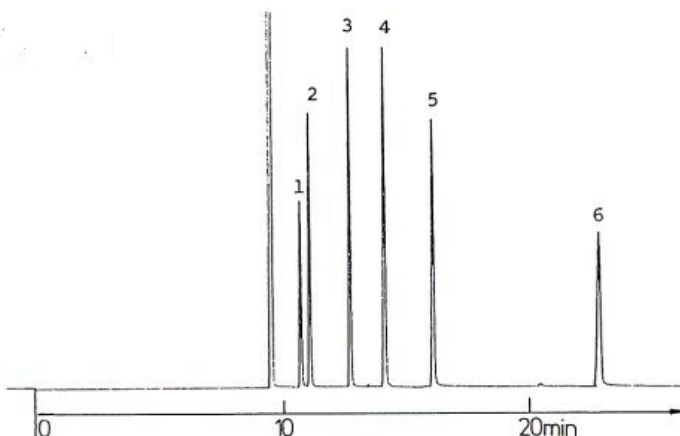
- Begründen Sie, ob es sich bei diesem Verfahren um eine Normalphasen- oder eine Umkehrphasenchromatographie handelt, und geben Sie die Retentionsreihenfolge an.
- Es hat sich gezeigt, dass die Peaks erst nach ungünstig langer Zeit erscheinen. Welcher Nachteil (außer Zeitverlust und Mehrverbrauch an Eluent) geht damit einher?
- Schlagen Sie ein Volumenverhältnis H₂O/Methanol vor, bei dem die Peaks eine kleinere Retentionszeit besitzen.
- Zur quantitativen Bestimmung der Analyten wurde neben der Probe auch eine Kalibrierlösung chromatografisch aufgetrennt. Dazu wurden 0,4515 g Ethylbenzen und 0,4846 g Propylbenzen eingewogen und auf 20 mL mit Isopropanol gelöst. Die Lösung wurde anschließend wiederum ein 1:5 mit Isopropanol verdünnt. Mit einer 5µL-Probeschleife ergaben sich folgende Flächen:

	Probelösung	Kalibrierlösung
Ethylbenzen	948425 Flächeneinheiten (AU)	894841 AU
Propylbenzen	1018489 AU	990057 AU

Berechnen Sie die Massenkonzentration beider Analyten in der Probelösung!

3. Gaschromatographie

3.1 Ein Alkohol-Gemisch wurde mit der Headspace-Technik auf einer GC-Säule mit unpolarer stationärer Phase aufgetrennt. Es wurde folgendes Chromatogramm erhalten:



- Ordnen Sie den Peaks 1-6 den unverzweigten Alkoholen C₁- bis C₅-Alkohol (*n*-Alkohole) und 2-Butanol zu begründen Sie Ihre Zuordnung.

- b) Erklären Sie kurz das Prinzip und die Vorteile der Headspace-Technik.

3.2 Mittels einer Gaschromatographie wurde der Benzen-Gehalt einer Abwasserprobe bestimmt. Zuerst wurde eine Referenzlösung bekannter Benzen- und n-Hexan-Konzentration hergestellt: Zu 10 mL Benzenlösung mit $\beta(\text{Benzen}) = 350 \mu\text{g/L}$ wurden 5 μL einer n-Hexan-Lösung mit $\beta(\text{Hexan}) = 50 \text{ mg/L}$ zugesetzt. Diese Lösung wurde dann chromatographisch analysiert.

Auch zu der wässrigen Probelösung (10 mL) wurden 5 μL der n-Hexan-Lösung zupipettiert und anschließend unter denselben Bedingungen der Chromatographie unterzogen.

Es ergaben sich folgende Flächen (in willkürlichen Einheiten):

	Referenz	Probe
Benzen (Analyt)	715780	894387
n-Hexan (int. Standard)	295409	320511

- a) Wie wird eine solche Art der Quantifizierung genannt? Beschreiben Sie auch, welche Vorteile diese Methode bietet.
- b) Berechnen Sie die Benzenmasse in der Probelösung [in μg]
- c) Begründen Sie, welcher Detektor sich für die Quantifizierung der beiden Substanzen anbietet, wenn es sich beim Trägergas um Argon handelt.

3.3 Die quantitative Bestimmung eines Esters (Essigsäurebutylester) erfolgt gaschromatographisch über eine externe Standardisierung mithilfe des Kalibrierpunkts:

$$\beta_1(\text{Analyt}) = 25,8 \text{ mg/L} \quad A = 13004$$

- a) Zur Analyse wurden 584 mg der Probe auf 100 mL Gesamtvolumen gelöst. 5 mL der so entstandenen Lösung wurde auf 100 mL verdünnt. Die Messung mit dem Gaschromatograph ergab eine Fläche von 54148. Berechnen Sie den Massenanteil des Analyten in der Probe. Hinweis: Von den beiden Kalibrierläufen und der Probelösung wurde jeweils dasselbe Volumen injiziert.
- b) Injiziert man die Probe in der GC flüssig und erfolgt anschließend eine Verdampfung, so wird häufig eine interne Standardisierung bevorzugt. Nennen Sie die Vorteile dieser Kalibrierungsmethode und begründen Sie weshalb sie gerade bei der beschriebenen Art der Probeauftragung zum tragen kommen.
- c) Die Trennung erfolgt bei konstanter Temperatur, es stehen jedoch verschiedene Trenntemperaturen zur Auswahl. Wie wirkt sich eine höhere Trenntemperatur auf das Gaschromatogramm aus? Erklären Sie kurz die Hintergründe!
- d) Die Quantifizierung erfolgt mithilfe eines Flammenionisationsdetektors. Beschreiben Sie kurz die Funktionsweise.

3.4. GC von Carbonylverbindungen mittlerer Kettenlänge

Ein Gemisch von Ketonen und Aldehyden mit einer Kettenlänge von C_4 bis C_{10} wird über eine GC-Anlage aufgetrennt.

- a) Zur Auftragung wird die so genannte Headspace-Technik verwendet. Beschreiben Sie die Funktionsweise und geben einen wesentlichen Vorteil an-
- b) Zur Auftrennung wird eine Kapillarsäule mittlerer Polarität benutzt. Beschreiben Sie den Aufbau einer solchen Säule. Beschränken Sie sich dabei auf eine Möglichkeit.
- c) Erklären Sie die Funktionsweise eines Flammenionisationsdetektors.

Musterlösungen

Wenn Sie einen Fehler finden, bitte kontaktieren Sie mich auf der E-Mail-Adresse die unter „Kontakt“ auf der Webseite angegeben ist.

2.1

- a) Es handelt sich um eine unpolare stationäre und eine polare mobile Phase: => Umkehrphasenchromatographie
Propylbenzen kann etwas größere van-der-Waals-Wechselwirkungen zur stationären Phase ausbilden, als Ethylbenzen. Deshalb besitzt es eine etwas längere Retentionszeit als Ethylbenzen.
- b) Mit zunehmender Analysezeit werden die Peaks allgemein breiter und häufig unsymmetrischer, was die Genauigkeit der Quantifizierung verringert. Die Grenzen des Peaks lassen sich nicht mehr so exakt festlegen.
- c) Damit die Peaks früher erscheinen, muss die Polarität der mobilen Phase verringert werden. D.h. man erhöht den Methanolanteil und verringert den Wasseranteil. z.B. 90 Vol-% MeOH und 10 Vol-% H₂O.
- d) Berechnung der Massenkonzentrationen in den Kalibrierlösungen:

$$\beta(\text{EtB}) = \frac{m(\text{EtB})}{V(\text{Lsg})} = \frac{451,5\text{mg}}{20\text{mL}} = 22,575 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \quad ; \text{Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors 5: } \beta(\text{EtB}) = 4,515 \text{ mg/mL}$$

$$\beta(\text{PrB}) = \frac{m(\text{PrB})}{V(\text{Lsg})} = \frac{484,6\text{mg}}{20\text{mL}} = 24,23 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \quad ; \text{Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors 5: } \beta(\text{PrB}) = 4,846 \text{ mg/mL}$$

Berechnung der Gehalte in der Probelösung (mit Dreisatz)

Ethylbenzen

894841 AU ~ 4,515 mg/mL

948425 AU ~ x

Dreisatz x ≈ 4,785 mg/L Ethylbenzen

Propylbenzen

990057 AU ~ 4,515 mg/mL

1018489 AU ~ x

Dreisatz x ≈ 4,645 mg/L Ethylbenzen

3.1

a) Die Auftrennung auf unpolare Säulen erfolgt i.d.R. nach dem Kriterium der Flüchtigkeit, die ihrerseits mit dem Siedepunkt korreliert: Je niedriger der Siedepunkt desto höher die Flüchtigkeit und desto früher eluiert die Verbindung. Elutionsreihenfolge (Peaknummerierung): => 1. Methanol, 2. Ethanol, 3. 1-Propanol, 4. 2-Butanol, 5. 1-Butanol, 6. 1-Hexanol

Methanol hat den niedrigsten Siedepunkt, neben den H-Brücken der OH-Gruppen wirken hier nur geringe van-der-Waals-Kräfte zwischen den Molekülen. Je länger der unpolare Alkylrest, desto höher sind die zusätzlichen van-der-Waals-Kräfte, die zu den H-Brücken hinzu kommen. Weiterhin nimmt in dieser Richtung auch das Molekulgewicht zu, das ebenfalls zu einer Erniedrigung der Flüchtigkeit bzw. zu einer Erhöhung des Siedepunktes beiträgt. 2-Butanol hat einen niedrigeren Siedepunkt als 1-Butanol: Die Stärke der Van-der-Waals-Wechselwirkungen hängt auch von der Oberflächengröße ab: Stark verzweigte, eher kugelförmige Moleküle mit einer mittelständigen Hydroxygruppe weisen einen niedrigeren Siedepunkt als unverzweigte, lang gestreckte, primäre Alkohole auf.

b) Prinzip: Nachdem sich bei bestimmter Temperatur zwischen der festen oder flüssigen Probe selbst und dem darüber liegenden Gasraum im geschlossenen Gefäß ein Gleichgewicht eingestellt hat, wird das Septum mit einer Nadel durchstoßen und aus der Gasphase über der Probe ein kleiner Anteil zur Analyse entnommen.

Vorteile: Auch Proben die wegen ihrer mangelnden Temperaturbeständigkeit sich auf der GC-Säule zersetzen würden, und die Zersetzungsprodukte die Säule irreversibel verschmutzen könnten, lassen sich so analysieren. Beispiele: Blutanalysen, Analysen von Teppichböden (Gasen z.B. Formaldehyd aus).

3.2

a) Quantifizierung mithilfe eines internen Standards. Vorteile: Leichte Schwankungen in der Detektorempfindlichkeit wie sie von Lauf zu Lauf auftreten werden berücksichtigt, kleine Abweichungen des Einspritzvolumens und Substanzverluste während der Probenverarbeitung werden berücksichtigt.

b) Referenz: Vorhandenes Benzen: 3,5 µg (in den 10 mL mit 350 µg/L enthalten)
 Referenz + Probe: Hinzugegebenes n-Hexan: 0,25 µg (in den 5 µL enthalten)

Die Verdünnung durch Zusatz von 5 µL Lösung (also von 10,000 mL auf 10,005 mL) braucht nicht berücksichtigt werden, da sie sowohl die Referenz als auch die Probe betrifft.

$$\frac{\text{Gehaltverhältnis}(X/S) \text{ in Probe}}{\text{Signalverhältnis}(X/S) \text{ in Probe}} = \frac{\text{Gehaltverhältnis}(X/S) \text{ in Referenz}}{\text{Signalverhältnis}(X/S) \text{ in Referenz}}$$

$$\frac{\frac{X}{0,25 \mu\text{g}}}{\frac{894387}{320511}} = \frac{\frac{3,5 \mu\text{g}}{0,25 \mu\text{g}}}{\frac{715780}{295409}} \Rightarrow X \approx 4,03 \mu\text{g}$$

In der Probe sind ca. 4,03 µg Benzen enthalten.

c) Sowohl n-Hexan als auch Benzen bilden als brennbare organische Verbindungen in der Flamme leicht Ionen, so das Flammenionisationsdetektor geeignet ist. Dieser ist auch empfindlicher als der Wärmeleitfähigkeitsdetektor, der seinerseits für Argon nicht geeignet ist.

3.3

a) Dreisatz:

65,6 mg/L ~ 82084

x ~ 54148 $\Rightarrow x \approx 43,274 \text{ mg/L}$

Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors

$\beta = 20 \cdot 43,274 \text{ mg/L} \approx 865,48 \text{ mg/L}$

D.h. in 100 mL Probelösung sind 86,548 mg. \Rightarrow
 Massenanteil $w = 86,548 \text{ mg} : 584 \text{ mg} \approx 0,148$ (14,8%)

c) höhere Trenntemperaturen führt dazu, dass die Analyte weniger an der stationären Phase binden. \Rightarrow
 Kürzere Retentionszeiten. Dadurch sinkt allerdings auch das Trennvermögen: Peaks können zusammenfallen.

b) Einige Parameter ändern sich in der Chromatographie von Lauf zu Lauf und wirken sich auch auf das Untersuchungsergebnis aus. Dazu gehören:

* Leichte Variationen effektives Probevolumen (z.B. Ungenauigkeiten bei der Probedosierung)

* Variationen in der Detektorempfindlichkeit

Alle diese unerwünschten Einflüsse werden durch die Benutzung eines innerer Standard kompensiert \Rightarrow Genauere Ergebnisse

Leichte Variationen im injizierten Flüssigkeitsvolumen führen durch die Probeverdampfung (Volumenvergrößerung) zu großen absoluten Fehlern. Durch die Verwendung eines internen Standards wird dies kompensiert.

3.4

a) [siehe auch Unterlagen]. Aus dem Gasraum über der festen (!) oder flüssigen Probe wird nach Gleichgewichtseinstellung der Dampfdrucke mit einer Injektionsnadel etwas Probegas entnommen und auf die Säule gebracht. Dadurch kann die Säule nicht festen oder zähflüssigen Verunreinigungen geschützt werden. Aufwändige Aufschlüsse und in-Lösung-bringen Fester Proben können vermieden werden. Beispiel: Analyse von Formaldehydausgasungen aus Teppichstücken.

b) [siehe auch Unterlagen]. Kapillarsäulen zeichnen sich im Gegensatz zu gepackten Säulen dadurch aus, dass sie nicht über die gesamte Querschnittsfläche gefüllt sind, sondern einen zentralen hohlen Kanal besitzen. Als Füllmaterial dienen feste Adsorbentien (z.B. Kieselgel, Aktivkohle, Aluminiumoxid), Flüssigkeiten (Squalan, Siliconöl, Polyether) oder ein feste Matrix (Kieselgel, Kieselgur, Teflon, Glaskügelchen) mit Flüssigkeitsfilm.

Als Mittelpolare Flüssigkeit kann z.B. Polyethylenglykol Verwendung finden (...-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-...), das zu den Polyethern gehört.

c) *[siehe auch Unterlagen]*. Bei der Ionisation entstehen neben den Ionen auch freie Elektronen, die auf eine Elektrode fließen. Je nach Anzahl der Auftreffenden Elektronen pro Zeiteinheit kommt es zur Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit. Brenngas zur Ionisation: Luft + Wasserstoff