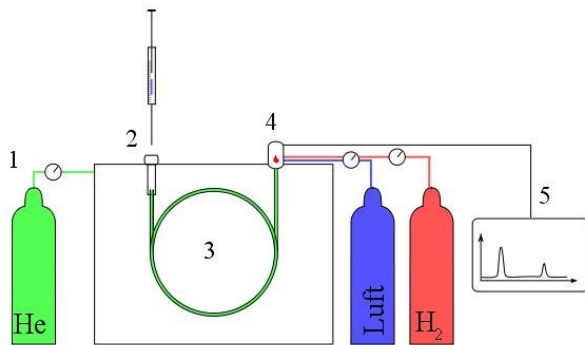


1. Einführung und Trennprinzip

1.1. Erläutern Sie den Bau eines Gaschromatographen mit Hilfe der Abb. 1.1.



1. 2.

3. 4.

5.

Abb. 1.1: Schema eines Gaschromatographen
 (Quelle: wikipedia.de Autor: Talos)

► Trennprinzipien, Auswahl der richtigen Säule und Elutionsreihenfolge

Wie bei allen anderen Chromatographieverfahren gibt es auch bei der GC die Trennprinzipien der **Verteilungschromatographie** und der **Adsorptionschromatographie**.

1.2 Worin unterscheiden sich beide Trennprinzipien?

.....

.....

.....

Bei den meisten GC-Verfahren überwiegt das Trennprinzip der Verteilungschromatographie stark. Die Gasadsorptionschromatographie (**GSC – gas solid chromatography**) wurde nahezu vollständig durch die auf flüssigen stationären Phasen beruhende **gas liquid chromatography (GLC)** ersetzt.

Die Auftrennung des Stoffgemisches erfolgt in erster Linie aufgrund der unterschiedlichen Siedepunkte der Einzelsubstanzen in dem Gemisch, in Form einer zehntausendfachen wiederholten Anlagerung und Abgabe an der stationären Phase. Ein Stoff wird nur weiter transportiert, wenn er sich in der mobilen Phase bzw. dem Trägergas befindet. Solange er an der stationären

Phase gebunden ist, findet kein Weitertransport statt (**Stop-and-go-Modell**). Je höher der Dampfdruck, desto länger die Zeitdauer, in der sich die Substanz in der Gasphase befindet und desto kürzer wird folglich die Retentionszeit.

Eine Besonderheit der Gaschromatographie: Die mobile Phase, also das Gas, beeinflusst zwar auch hier die Retentionszeiten und die Trennleistung, allerdings **nicht** die Retentionsreihenfolge der einzelnen Analyte. Bei den anderen chromatographischen Verfahren, wird sie von der Zusammensetzung der mobilen Phase wesentlich mit bestimmt.

In der Praxis haben sich folgende Faustregeln bewährt: Trennt man mit unpolaren stationären Phasen, so richtet sich die Elutionsreihenfolge meist nach der Flüchtigkeit und damit nach den Siedepunkten der Probekomponenten. Bei homologen Verbindungen oder solchen mit gleichem C-Grundgerüst gilt die Regel strenger, als bei Verbindungen die sich sehr stark im Aufbau unterscheiden. Je kleiner also der Siedepunkt (d.h. je flüchtiger die Substanz), desto schneller eluiert sie. Ausnahmen bestätigen, dass es sich lediglich um eine Faustregel handelt! Bei polaren stationären Phasen hängt die Elutionsreihenfolge **zusätzlich** von den Wechselwirkungen zwischen dem Analyten und der stationären Phase ab (z.B. Wasserstoffbrückenbindungen). Insgesamt ist hier die Elutionsreihenfolge also komplizierter.

Erinnern Sie sich noch an die Rektifikationskolonnen der Destillation? Damals haben Sie den Begriff des „**Bodens**“ kennen gelernt. Es hat sich um den Abschnitt einer Rektifikationskolonne gehandelt, der einem Destillationsgleichgewicht entspricht. Je mehr Böden eine Kolonne hatte, desto leistungsfähiger war sie, d.h. desto mehr Komponenten konnte sie voneinander trennen. In der Chromatographie kann man analog dazu auch einen **theoretischen Boden (= Trennstufe)** definieren. Ein theoretischer Boden

(Trennstufe) ist ein gedachter Abschnitt auf der stationären Phase, der einem Anlagerung-Abgabe-Gleichgewichtssystem (chromatographisches Gleichgewicht) entspricht. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von **Trennstufenhöhe (=HETP, height equivalent to one theoretical plate**, in deutsch: **Höhenäquivalent eines theoretischen Bodens**). Je mehr solche GG-Einstellungen auf der Säule Platz haben, umso geringer die Trennstufenhöhe und umso höher die Trennleistung der Säule!

1.3. Schreiben Sie einen kurzen erklärenden Text zu folgender Abbildung und beschriften Sie diese.

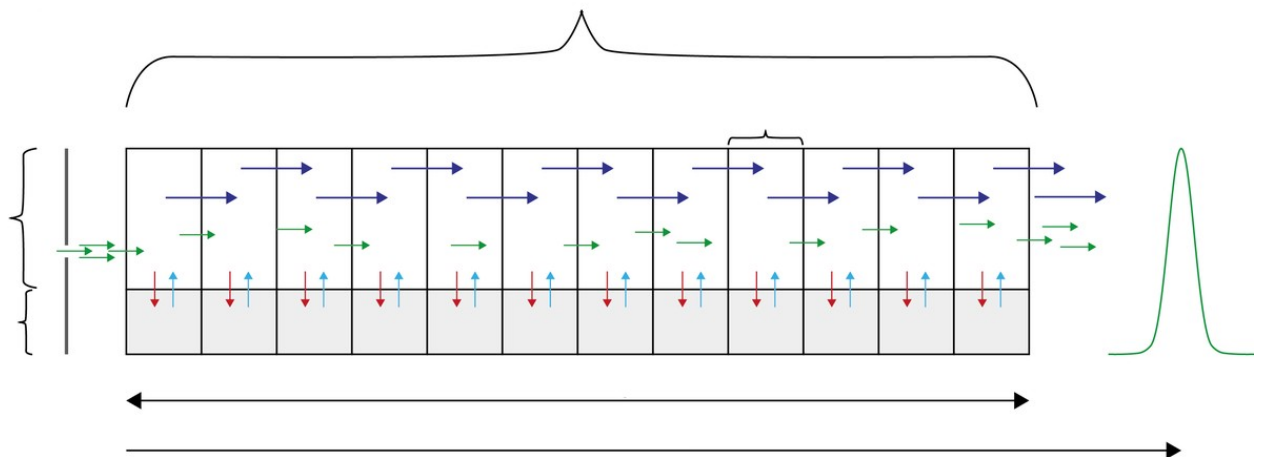


Abb. 1.2 Trennprinzip der GC (Quelle: wikipedia.de Autor: Ichwarnur)

2. Probe aufarbeiten und einbringen

Die Gaschromatographie setzt Analyte voraus, die bei den Trenntemperaturen (50-300°C) entweder gasförmig vorliegen oder dort unzersetzt verdampfbar sind, weil sie eine ausreichende Flüchtigkeit besitzen.

Grob gesagt, lassen sich nur Analyte mit geringer Molmasse ($M < 1000 \text{ g/mol}$) trennen. Makromoleküle scheiden als Analyte aus - ein große Einschränkung der Methode! **Die Trenntemperatur muss aber nicht über der Siedetemperatur der Verbindung liegen.** Um bei den typisch hohen Trenntemperaturen eine Oxidation der Verbindungen zu verhindern, ist das Einspritzen von Luftbläschen zu vermeiden. Weiterhin

kann der Sauerstoffanteil die stationäre Phase beschädigen.

Schwerflüchtige Verbindungen oder solche die sich bei der Trenntemperatur zersetzen würden, werden erst durch eine chemische **Derivatisierung** in stabile, verdampfbare Substanzen überführt.

Beispiel für eine Derivatisierung

Fette sind bekanntlich Dreifachester des Glycerins mit drei Fettsäuren (*Strukturformel siehe Abb. 2.1*). Fette und die anhängenden Fettsäuren können nicht direkt mittels GC untersucht werden, denn beim Versuch Fette durch Erhitzen in die Gasphase zu bringen, zersetzen sie sich: Um Sie für die GC-Analytik

zugänglich zu machen, werden sie mit speziellen Reagenzien **umgeestert**. Dabei entstehen mithilfe geeigneter Reagenzien schon bei Raumtemperatur oder leichtem Erhitzen **Fettsäuremethylester**. Diese sind flüchtiger als Fette und können durch Erhitzen in die Gasphase gebracht werden. Zur Umesterung von Fetten ist Methanol (HO-CH_3) nicht geeignet, weil die Reaktionsgeschwindigkeit und die Gleichgewichtslage zu ungünstig sind.

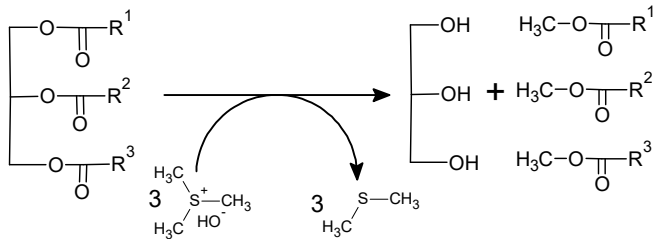


Abb. 2.1: Umesterung mit TMSH

Split/Splitlos-Injektor (split/splitless-injektor)

Eine flüssige Probe wird häufig mit Hilfe eines Mikroliterspritze über ein Septum in den metallenen Einspritzblock injiziert. Dieser ist beheizt und umschließt ein Glasrohr (*glas liner*), das manchmal mit Glasperlen / Glaswolle etc. befüllt ist (*siehe Abbildung 2.2*).

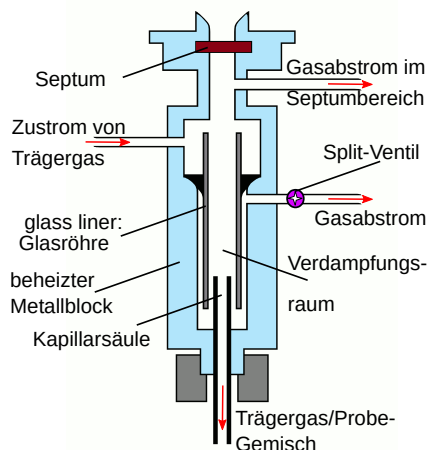


Abb. 2.2 Schema eines Split-Injektors (Quelle: e. W)

Im Glasrohr kommt zur Verdampfung des Lösungsmittel und der Probebestandteile, die daraufhin durch das Trägergas zum Anfang der Trennsäule getragen werden. Ein Vorteil bei dieser als **Verdampfungs-injektion** bezeichneten Methode ist, dass schwer bzw. nicht verdampfbare Bestandteile im Verdampferrohr verbleiben und nicht die Trennsäule beschädigen.

Die **Splitaufgabe** ist besonders bei Kapillarsäulen (*siehe unten*) wichtig, da hier nur eine geringe Probenportion aufgetragen werden darf. Bei *gepackten Säulen* ist sie hingegen unüblich. Da die geringen Probenportionen, wie sie bei Kapillarsäulen benötigt werden,

Je nach Aggregatzustand erfolgt die Probenaufnahme unterschiedlich. Flüssige oder gasförmigen Proben werden meist mit einer Mikroliterspritze durch ein Septum hindurch injiziert. Feste Proben müssen vor der Aufgabe entweder gelöst oder in die Gasphase gebracht werden. Das Einspritzen bzw. Auftragen der Probe führt nach einiger Zeit häufig zu einer als Miniaturpeak registrierten Druckschwankung am Detektor. Es handelt sich wie auch bei anderen Chromatographen um die **Totzeit**, also um die Zeit, die gar nicht retardierte Stoffe vom Einspritzzeitpunkt bis zum Detektor benötigen.

selbst mit einer Mikroliterspritze nicht verlässlich und reproduzierbar zu dosieren sind, wird deshalb insgesamt mehr Probe injiziert, aber der Gasstrom anschließend geteilt. Nur ein kleiner Teil des probehaltigen Gasstroms wird zur Trennsäule geleitet, der andere Teil aus dem System heraus getrieben. Typische Aufteilungsverhältnisse liegen bei neueren Geräten bei 1:200 bis 1:400. Das Aufteilungsverhältnis wird durch die Stellung des Split-Ventils (*siehe Abb. 2.2*) festgelegt.

Durch Schließen des Split-Ventils kann mit dem selben Probeauftragungssystem eine **Splitlos-Injektion (splitless injection)** vorgenommen werden. Sie werden durchgeführt, wenn der Analyt nur in Spuren in der Probe enthalten ist. Da bei der splitlosen Injektion, die gesamte Probe auf die Trennsäule gelangt, ergeben sich leicht "überfahrene" Peaks. Man erkennt sie an ihrer Asymmetrie, dem **Fronting**.

Durch die Wahl eines großen Splitverhältnisses kann die auf die Säule gelangende Probenmenge stark verringert werden, so dass die Symmetrie der Peaks optimiert wird. Ein ähnlicher Effekt wird durch Verdünnen der Probe erzielt. Der Peak des Analyten verbessert sich durch die geringe Konzentration dann ebenfalls hinsichtlich seiner Symmetrie. Die Säule ist aber weiterhin durch das Lösungsmittel stark überladen, was im Chromatogramm bei nahe am Lösungsmittelpeak liegenden Verbindungen zu Trennproblemen führen kann.

On-Column-Injektor

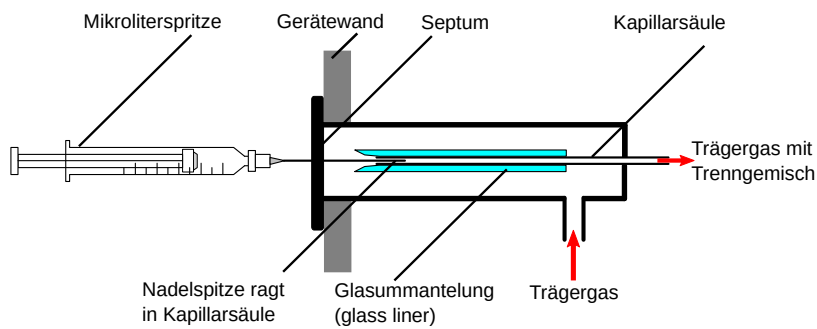


Abb. 2.3: On-Column-Injektor (Quelle: eigenes Werk)

Bei einem On-Column-Injektor wird die Probe mit einer Mikroliterspritze im flüssigem Zustand direkt auf die Säule gespritzt (siehe Abb. 2.3). Bei der Anwendung muss also die Kanüle der Injektionspritze in die Säule hineinragen, daher können Kapillarsäulen mit sehr kleinen Innendurchmessern nicht verwendet werden. Das Lösungsmittel muss bei der Auftragung auf die Säule schnell verdampfen. Entsprechend werden nur niedrig siedende Lösungsmittel benutzt, und der

Injektionsbereich ggf. beheizt. Meist liegt die Temperatur des Injektors und der Trennsäule allerdings unter der Siedetemperatur des Lösungsmittels. Bei der langsamen Injektion verdampft durch den hohen Dampfdruck und dem vorbeiströmenden Trärgas das Lösungsmittel vollständig und nur noch die Analyten bleiben am Säulenanfang zurück. Die on-column-Injektion wird bei thermisch relativ leicht zersetzbaren Proben und der Spurenanalytik eingesetzt.

Headspace-Technik

Für die direkte Einbringung der Proben in den Gaschromatographen müssen hohe Flüchtigkeit und Unzersetzbarkeit der Probenbestandteile vorausgesetzt werden. Enthält eine Probe feste Bestandteile, Salze oder nichtflüchtige Anteile, wird das chromatographische System stark verschmutzt und die nachfolgenden Trennungen verfälscht. Um flüchtige Bestandteile von der nicht oder schwer flüchtigen Matrix abzutrennen, kann die so genannte **Dampfraumtechnik (Headspace-Technik)** eingesetzt werden. Dazu wird nur der Dampfraum über einer Probe analysiert, nicht aber die Probe im Ganzen eingebracht. Sie befindet sich in einem ca. 15 mL großen Headspace-Gläschen, gasdicht verschlossen. In dem Dampfraum über der Probe stellt sich bei meist erhöhten Temperaturen ein Gleichgewicht der flüchtigen Bestandteile zwischen Gasraum und Probe ein, das von der Art und Konzentration der Analyten abhängt.

Erst nach Gleichgewichtseinstellung wird mit einer Nadel der Deckel des Headspace-Gläschens durchstoßen und ein bestimmtes Volumen aus dem Gasraum auf die Kapillare geleitet. Es wird also nicht die Probe selbst, sondern nur ein bestimmtes Volumen des Gasraums überhalb der Probe injiziert.

Diese vollständige Trennung der gaschromatographisch erfassbaren Analyten von ihrer Matrix ist besonders bei schwieriger Matrix angebracht. Voraussetzung ist, dass die Analyte flüchtig sind und aus der Matrix leicht in die darüber stehende Gasphase übergehen können. Die Methode ist sehr weit bei pharmazeutischen, medizinischen, Umwelt- und Lebensmittelproben verbreitet. So kann z.B. der **Blutalkoholgehalt** mit der Headspace-GC bestimmt werden. Als Probe wird nicht das Blut (sehr komplexe Matrix mit vielen Stoffen, deren Zersetzungsprodukte die Säule verunreinigen würden) injiziert, sondern nur ein Gasgemisch aus dem Gasraum über dem erwärmten Blut, das den flüchtigen Analyten Ethanol enthält. Zur Vermeidung von systematischen Fehlern muss auch die Kalibrierung unter den gleichen Bedingungen, d.h. möglichst mit derselben Matrix, durchgeführt werden, wie die Probe. Nicht nur bei flüssigen, sondern auch bei festen Proben kann die Headspace-Technik angewendet werden. Typisches Beispiel: Gaschromatographische Analyse der Ausdünstungen (z.B. giftiges Formaldehyd!) von Teppichproben.

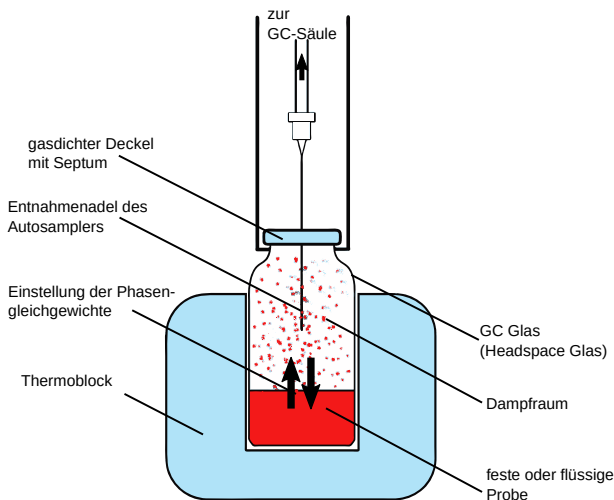


Abb. 2.4.: Headspace-Technik (Quelle: eigenes Werk)

3. Trägergas

Das Trägergas ist zum Weitertransport der Analyte zuständig, nimmt allerdings keinen Einfluss auf die Retentionsreihenfolge. Es wird deshalb auch nicht mit komplizierten und evtl. veränderlichen Gemischen/Zusammensetzungen gearbeitet, wie bei anderen chromatographischen Verfahren (Stichwort: Gradientenelution), sondern mit Reinstoff-Gasen. Außer Wasserstoff werden ansonsten nur inerte Gase eingesetzt.

3.1. Erklären Sie kurz diesen Begriff.

.....

Üblich sind in absteigender Wichtigkeit: **Helium**, **Wasserstoff**, seltener **Stickstoff** und noch seltener **Argon**. Wasserstoff hat dabei die beste Trennleistung, aber es verlangt wegen der Explosionsgefahr hohe Sicherheitsmaßnahmen, um ein Austreten im Labor oder im Ofenraum zu verhindern. Häufig wird daher Helium verwendet oder als kostengünstigere Alternative Stickstoff (mit Abstrichen in der Trennleistung). Das im Vergleich zu Helium weitaus günstigere Edelgas Argon hat den Nachteil, dass es für den Wärmeleitfähigkeitsdetektor (*siehe unten*) nicht geeignet ist.

Es muss in jedem Fall auf *absolute Sauerstoff-Freiheit* des Trägergases geachtet werden, weil dieses Gas die meisten stationären Phasen angreift. Auch *Spuren von Wasser* sind im Trägergas zu vermeiden, da dieses viele stationäre Phasen bei längerer Einwirkung hydrolytisch zersetzt. Um alle diese Spuren aus dem Gas zu entfernen, lässt man häufig das Gas der Gasflasche in einer **Vorsäule** durch **Molekularsieb** strömen, das Fremdstoffe wie H_2O , O_2 , C_xH_y etc. adsorbiert.

Die Fließgeschwindigkeit des Trägergases bestimmt die Geschwindigkeit des Stofftransportes durch die Trennsäule. Dabei sind zwei Effekte gegenläufig, so dass man einen Kompromiss wählen muss:

- Bei niedriger Fließgeschwindigkeit ist die Effizienz des Stoffaustausches zwischen mobiler und stationärer Phase hoch. Dadurch kommen die unterschiedlichen Lagen der Verteilungsgleichgewichte der Analyten gut zur Wirkung und man erhält gute Trennungen.
- Bei niedrigen Fließgeschwindigkeiten spielen Diffusionseffekte (durch das Bestreben zum Ausgleich von Konzentrationsunterschieden) eine größere Rolle, weil die Analyte mehr Zeit für Diffusionsbewegungen haben. Dadurch entstehen breite Peaks im Chromatogramm.

Der Kompromiss liegt üblicherweise bei Geschwindigkeiten von 0,1 – 2 mL/min bei Kapillarsäulen und 25 – 30 mL/min bei gepackten Säulen. Ein konstanter und reproduzierbarer Gasfluss ist Grundlage der Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit von Retentionszeiten.

3.2 Weshalb darf die Strömungsgeschwindigkeit... a) nicht zu niedrig ...b) nicht zu hoch gewählt werden?

.....

.....

.....

.....

.....

4. Verschiedene Trennsäulen-Typen

Es sind zwei prinzipiell unterschiedliche Typen von gaschromatographischen Trennsäulen im Einsatz:

► a) Kapillartrennsäulen

Kapillartrennsäulen haben typischerweise Längen von ca. 10 bis 60 Meter. Ihr Innendurchmesser liegt in der Regel zwischen 0,1 mm und 0,6 mm. Die Kapillaren werden im Allgemeinen aus „synthetischem Quarz“ (engl.: fused silica) hergestellt. Die sehr dünnwandigen Kapillaren sind zur Stabilitätsverbesserung außen mit einem Spezialkunststoff (Polyimid-Film) überzogen, dadurch werden die Kapillaren sehr flexibel, was einen großen Vorteil in der Handhabung bedeutet.

Es lassen sich drei Fälle unterscheiden:

- I. **wandbeschichtete Kapillarsäulen** (WCOT-Säulen, *wall-coated open tubular column*) oder **Dünnschichtkapillare**: Die Säule ist ein dünner Flüssigkeitsfilm ausgekleidet. Besitzen die größte Trennleistung und werden u.a. in der Spurenanalytik eingesetzt. Es können nur geringe Probenmenge aufgetragen werden.
- II. **trägerbeschichtete Kapillarsäulen** (SCOT-Säulen, *support-coated open tubular column*): Hier ist der Flüssigkeitsfilm auf einer festen, aber fein zerteilten Trägersubstanz

III.

aufgetragen. Die nutzbare Probenmenge ist größer als bei der Dünnschichtkapillare. Dieser Säulentyp wird bei der Trennung von leichtflüchtigen Verbindungen, die zu stark auf PLOT-Säulen retardiert werden, genutzt.

Schichtkapillaren (PLOT-Säulen, *porous layer open tubular column*): Die Menge der stationären Phase die für die Analyten zur Auftrennung zur Verfügung steht ist relativ groß. Sie wird besonders für Analyten benutzt, die nicht an einer flüssigen stationären Phase getrennt werden können.

4.1 Ordnen Sie den Säulentypen in folgender Abbildung (Abb. 4.1) die Abkürzungen WCOT, SCOT und PLOT zu.

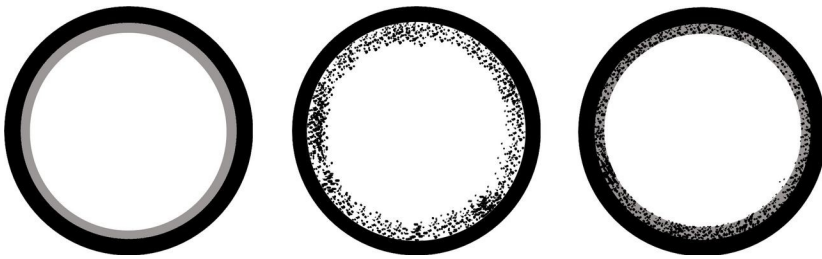


Abb. 4.1: Säulentypen (Quelle: eigenes Werk)

Maße der Kapillartrennsäulen

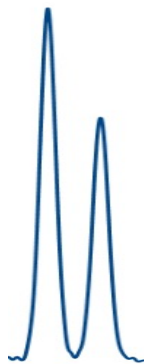
Länge: Am häufigsten werden 30-Meter-Kapillartrennsäulen benutzt. Man versucht die für die Trennung möglichst die kürzeste noch geeignete Trennsäulen zu nehmen, weil eine Erhöhung der Säulenlänge bzw. der Trennbödenzahl eine dazu proportionale Erhöhung der Kosten und der Trennzeit bedeuten, die **chromatographische Auflösung (R)** allerdings nicht in gleichem Maß wächst.

4.2a) Schlagen Sie im Tabellenbuch die Formel zur Berechnung der chromatographischen Auflösung (R) nach. Berechnen Sie die R und ergänzen Sie die Werte in der Abb. 4.4!



$l = 15 \text{ m}$
 $t_{R1} = 1,81 \text{ min}$
 $t_{R2} = 1,90 \text{ min}$
 mittl. Peakbreite: $b = 0,12$

$R = \dots\dots\dots$



$l = 30 \text{ m}$
 $t_{R1} = 3,60 \text{ min}$
 $t_{R2} = 3,82 \text{ min}$
 mittl. Peakbreite: $b = 0,15$

$R = \dots\dots\dots$



$l = 45 \text{ m}$
 $t_{R1} = 5,49 \text{ min}$
 $t_{R2} = 5,75 \text{ min}$
 mittl. Peakbreite: $b = 0,17$

$R = \dots\dots\dots$

Abb. 4.2: Trenngrößen zweier Analyte in Abhängigkeit der Säulenlänge (Quelle: eigenes Werk)

4.2 b) Zwei Peaks (Annahme: Dreiecksform) sind gerade basisliniengetreunt. Welcher der drei Werte für die Auflösung ist hierfür am plausibelsten? Begründen Sie! $R = 0,00$ $R = 1,00$ $R = 1,2$ $R = 10,00$

.....

4.2 c) Wie verändert sich die Auflösung, wenn die Peaks bei gleich bleibender Retentionszeit schmaler werden? Begründen Sie mathematisch anhand der Formel aus dem Tabellenbuch!

Innendurchmesser: Es sind nur bestimmte, standardisierte Werte für die Innendurchmesser üblich, damit eine Kompatibilität mit anderen Bauteilen (z.B. Verbindungsstücken) gegeben ist.

Bezeichnung (kann nach Hersteller leicht variieren)	Innendurchmesser	Bsp. für Effizienz: Trennböden pro Meter	typische Kapazität pro Analyt
mega bore	0,53 mm	1300	1500 ng
wide bore	0,32 mm, (0,25 mm)	2500	450 ng
narrow bore	0,25 mm, 0,20 mm	3000	30 – 100 ng
mini bore	0,18 mm	4000	10 – 30 ng
micro bore	0,10 mm	7300	5 ng

Zusammenfassung:

► b) gepackte Trennsäulen

Bei gepackten Säulen befindet sich im Inneren eines dünnen (typischerweise 2-4 mm Innendurchmesser) Metall- oder Glasrohres von 0,5 bis 4 Metern Länge das Füllmaterial. Hier muss zwischen der **Adsorptionschromatographie** an einer festen stationären Phase und der **Verteilungschromatographie** an einer flüssigen stationären Phase unterschieden werden (siehe folgender Abschnitt).

Die Trennleistung solcher gepackten Säulen ist 100 – 1000 mal kleiner als die von Kapillartrennsäulen, so dass sie in der Analytik nicht mehr oft benutzt werden.

Da man wegen der großen Masse stationärer Phase jedoch auch größere Mengen auftrennen kann, werden sie zur präparativen Trennung genutzt.

Im Fall der Verteilungschromatographie verwendet man bei gepackten Säulen ein festes, inertes **Trägermaterial**, häufig Kieselgur (spezielle Form von SiO_2), Teflon, Glaskügelchen oder organische Polymere auf denen die flüssige stationäre Phase als Film aufgetragen ist. Im Gegensatz zu Kapillarsäulen, füllt hier das Trägermaterial (incl. stationärer Phase) den gesamten Innenraum der Säule aus.

4.3 Ergänzen Sie rechts neben Abb. 4.1 eine Zeichnung mit dem Querschnitt durch eine gepackte Säule.

5. Verschiedene stationäre Phasen

In den meisten Fällen werden flüssige stationäre Phasen benutzt. Sie kleiden die Kapillare dabei nur als dünner zähflüssiger Film aus. Die verwendeten Stoffe müssen thermisch ausreichend stabil und chemisch inert sein.

Bei den unpolaren stationären Phasen handelt es sich häufig um **Silicon(öl)e**, d.h. **Polyorganosiloxane** oder dreidimensionale **Siliconharze**. Auch **Squalan** ist weit verbreitet.

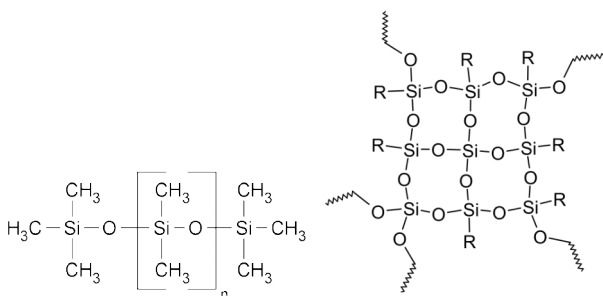


Abb. 5.1: Polydimethylsiloxan, Siliconharz (R: org. Rest)

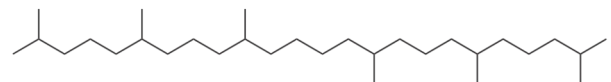


Abb. 5.2.: Struktur von Squalan

Als flüssige, mittel-polare stationäre Phase wird vorwiegend **Polyethylenglycol (PEG)** genutzt.

5.2 Polyethylenglykol ist das Polykondensat von Glykol (1,2-Ethandiol). Geben Sie einen Strukturformelausschnitt an:

Sowohl bei gepackten Trennsäulen als auch bei Kapillarsäulen (*PLOT, siehe oben!*) können statt flüssigen stationären Phasen auch feste Adsorbentien genutzt werden. Als feste stationäre Phasen finden dann **Molekularsiebe, Aluminiumoxid, Aktivkohle** oder organische Polymere wie Polystyrole in Form von Partikeln verwendet.

Es bleibt also festzuhalten, dass es bei der Gaschromatographie eine größere Zahl verschiedenartiger stationärer Phasen gibt als bei anderen chromatographischen Verfahren, jedoch eine Armut an möglichen mobilen Phasen (nur – 4 Gasqualitäten).

6. Ofen und Säulentemperatur

Die Trennsäule befindet sich aufgewickelt im **GC-Ofen**, einem Umluftofen der durch die Luftverwirbelungen erreicht, dass an jeder Stelle der stationären Phase exakt die gleiche Temperatur ($\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$) herrscht.

6.1. Zwei Stoffe wurden in drei Chromatographieläufen bei verschiedener Säulentemperatur getrennt: 40 °C, 60 °C und 80 °C. Stellt man das Ergebnis in einem einzigen Diagramm dar, so resultiert Abb. 6.1. Ordnen Sie den Doppelpeaks die Temperaturen zu und begründen Sie, welchen Einfluss die Temperatur auf die GC-Trennung hat.

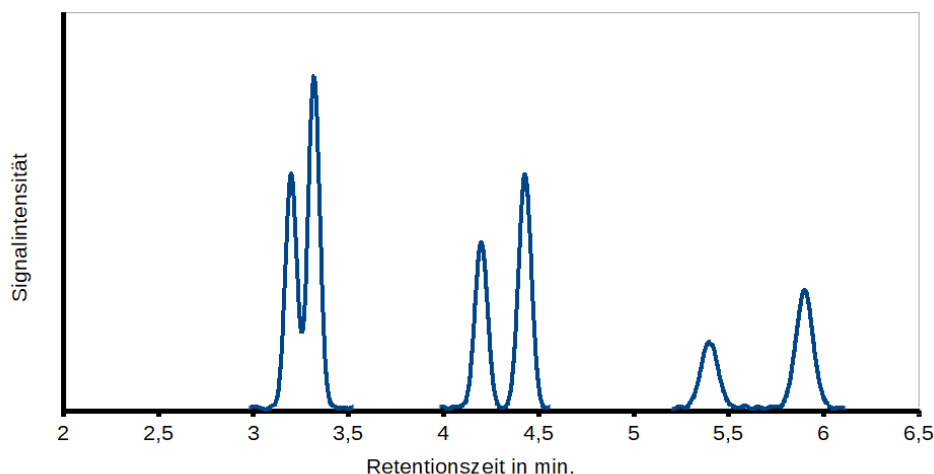


Abb. 6.1: Einfluss der Temperatur auf die Trennung von 2 Substanzen.

Die Temperatur muss nicht über der Siedetemperatur der Analyten liegen, da der Dampfdruck auch unterhalb der Siedetemperatur stark mit der Temperatur ansteigt. Zusätzlich führt die Bewegung der mobilen Phase zu einer ständigen Störung des Verdampfungsgleichgewichtes. Die gewählte Säulentemperatur hängt unter anderem von den Dampfdrücken der Bestandteile, der maximal zur Verfügung stehenden Chromatographiedauer und der Säulenlänge ab. In einem Probengemisch gilt die Faustregel, dass für viele Trennungen die Säulentemperatur ca. 50 °C unter dem Hauptsiedeintervall liegen sollte.

► **Temperaturprogrammierte Chromatographie**

Bei den nur noch selten durchgeführten **isothermen Chromatographie** wird eine feste Temperatur über die gesamte Analysenzeit beibehalten. Es sind gute Trennungen möglich, aber es entstehen lange Retentionszeiten und starke Peakverbreiterung für Verbindungen höherer Dampfdrücke. Vorteilhaft ist das Entfallen von Wartezeit zur Abkühlung zwischen nachfolgenden Injektionen.

Rund 80 % aller gaschromatographischen Trennungen werden mit einem **Temperaturprogramm** betrieben. Es besitzt dieselbe Bedeutung, wie der Fließmittelgradient in der HPLC besitzt.

6.2. Das folgende Gaschromatogramm (Abb. 6.3) der *n*-Alkane wurde mit einem Temperaturprogramm aufgenommen: Von 40 °C auf 240 °C mit 5 °C pro Minute.

a) Ergänzen Sie mithilfe einer zweiten Y-Achse am rechten Rand den Temperaturverlauf.

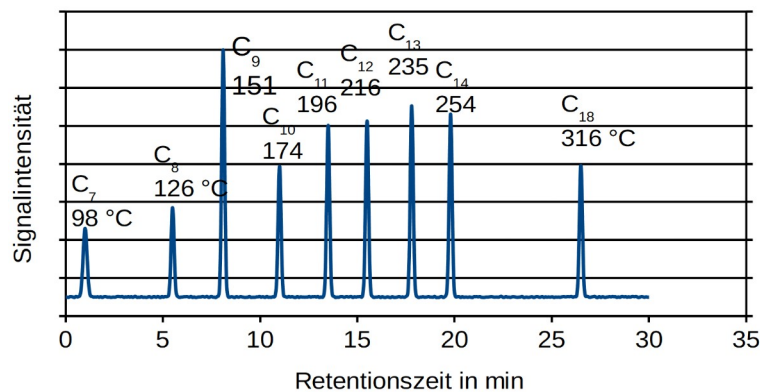
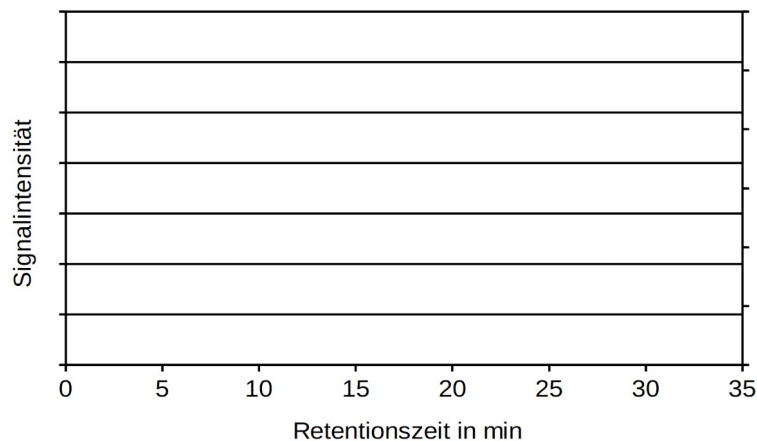


Abb .6.3: Gaschromatogramm mittlerer *n*-Alkane auf einer unpolaren Säule. Angegeben ist die Länge der C-Kette und der Sdp. in °C.

(Quelle: He, Ran et al. (2020): Separation performance of Capillary.... ;<https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00031>, CC-BY, leicht idealisiert und verändert)

b) Skizzieren Sie grob und schematisch ein hypothetisches Gaschromatogramm (Peaks als Dreiecke) der gleichen Trennung ohne Temperaturprogramm Die T. soll konstant bei ca. 160°C liegen. Begründen Sie den Verlauf.

Begründung:

[illegible]

Der Temperaturgradient ist an jedes analytische Problem anpassbar, muss aber - einmal gewählt - in allen Messungen desselben Problems denselben Temperaturverlauf aufweisen, damit die Retentionszeiten und Peakflächen auswertbar sind. Bei dieser Arbeitsweise müssen Wartezeiten für das Abkühlen des Säulenofens auf die Ausgangstemperatur einkalkuliert werden. Am Ende des Programms wird häufig eine hohe Temperatur von über 300 °C gewählt um eventuelle Ablagerungen auf der Säule zu verhindern.

7. Detektion

Die Detektion der aus der Säule austretenden Stoff erfolgt in der GC häufig über einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor oder einen Flammenionisationsdetektor.

► **Wärmeleitfähigkeitsdetektor**

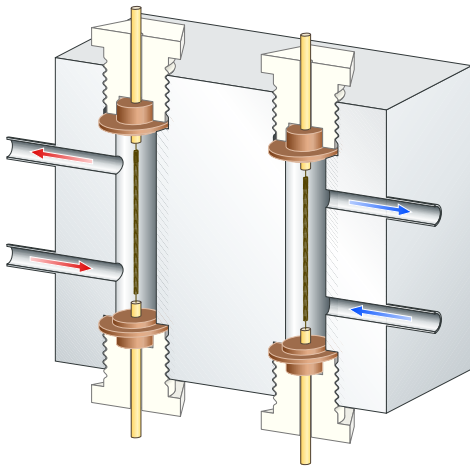


Abb. 7.1: Wärmeleitfähigkeitsdetektor.

(Quelle: wikipedia.de Auotr: Hk kng)

7.1. Hoppla! Da sind beim Kopieren und Einfügen (copy-and-paste) des Textes aus Wikipedia einige Worte verloren gegangen. Ergänzen Sie sinnvolle Wörter und nutzen Sie als Hilfestellung die Abbildung!

Ein Wärmeleitfähigkeitsdetektor besteht aus einem thermostatierten Metallblock mit zwei identisch aufgebauten Messzellen. Eine dieser Zellen wird von dem zu Probegas durchströmt, die andere Messzelle (hier Referenzzelle genannt) wird dauerhaft von..... durchströmt und dient zur Vergleichsmessung. In beiden Zellen befindet sich jeweils ein (auch Filament genannt) aus Platin, Wolfram oder deren Legierungen, der auf eine höhere Temperatur geheizt wird, als der ihn umgebende Detektorblock. Es findet daher ein kontinuierlicher Wärmestrom von den Heizdrähten durch die umhüllenden Gasströme zum Detektorblock statt, der von der und damit von der Zusammensetzung der Gase abhängig ist.

Änderungen in der Zusammensetzung verursachen daher Temperaturänderungen in der Messzelle und eine Änderung des..... in den Heizdrähten. Der Unterschied im zwischen den beiden Heizdrähten kann gemessen werden.

Fließt durch die Messzelle reines Trägergas, sind die Wärmeleitfähigkeiten in Mess- und Referenzzelle und es wird kein Signal gemessen. Ist dem Trägergas im Analysengasstrom jedoch ein Analyt beige-mischt, so unterscheidet sich die, was als Signal aufgezeichnet wird. Das so gemessene Signal ist dabei der Probenkonzentration im Trägergas

Um verlässliche Konzentrationsangaben aus den Messwerten ableiten zu können, muss eine Kalibrierung für jede Substanz erfolgen, die bestimmt werden soll. In der Regel werden die Kalibrierpunkte durch eine Kalibriergerade angenähert. Dieser **lineare Bereich des Detektors** umfasst etwa 5 Konzentrations-Zehnerpotenzen.

- Der WLD ist nicht einsetzbar, wenn sich die Wärmeleitfähigkeiten von Trägergas und der Analyte kaum unterscheiden (wie z.B. bei Argon mit Propan, vgl. *folgende Tabelle!*).
- Zwar ist der WLD ein Universaldetektor, in der Praxis wird er aufgrund seiner geringen Empfindlichkeit heutzutage vor allem zur Analytik niedermolekularer Gase, beispielsweise Kohlenstoffoxiden, Schwefeloxiden und Edelgase eingesetzt. Er wird ausschließlich mit Wasserstoff oder Stickstoff als Trägergas betrieben. Die Wärmeleitfähigkeit von Stickstoff und Argon sind zu gering, vgl. *folgende Tabelle!*).

7.2 Einige Wärmeleitfähigkeiten von Gasen in $W \cdot m^{-1} \cdot K^{-1}$ bei ca. 25 °C: Diskutieren Sie die Zahlenwerte (z.B. Zusammenhänge mit molarer Masse, Eignung beim WLD etc.)

Bsp. für Analyte		Bsp. für Trägergase	
Methan	0,0341	Stickstoff	0,0260
Ethan	0,0212	Argon	0,0179
Propan	0,0180	Krypton	0,0095
n-Butan	0,0162	Helium	0,1567
Quelle: wikipedia.de, Wärmeleitfähigkeit		Wasserstoff	0,1860

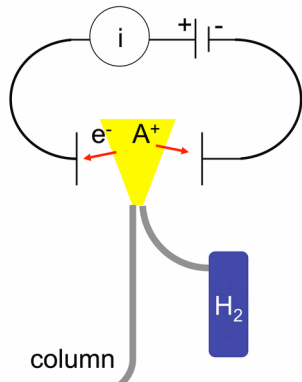


Abb. 7.2: Funktionsprinzip FID
(Quelle: wikicommons. Kkmurray)

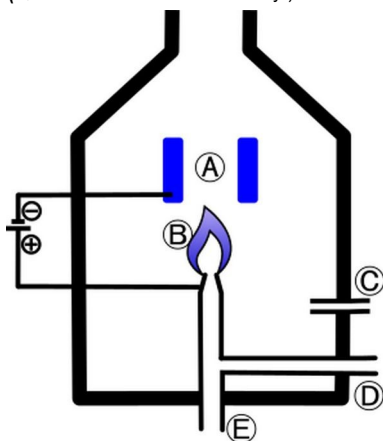


Abb. 7.3: Schematischer Bau eines FID (Quelle: e.W.)

► Flammenionisationsdetektor (FID)

7.1. Ergänzen Sie anhand Abbildung 7.3 die passenden Buchstaben.

Zwar können sich die FIDs stark in der Konstruktion unterscheiden, das Funktionsprinzip ist aber bei allen gleich: Dem von der Kapillarsäule (.....) kommenden Trägergas wird seitlich Wasserstoff (.....) zugeführt. Die anschließende Verbrennung in **synthetischer Luft** (damit frei von Verunreinigungen: 80% N_2 + 20% O_2), die der Verbrennungskammer zugeführt (.....) wird ist ein hochenergetischer Prozess und mit der Bildung von Kationen (vor allem $C_xH_yO_z^{a+}$), sowie freien Elektronen (e^-) verbunden (**Ionisierung**). Im Bereich der Knallgasflamme (.....) wird zwischen zwei Elektroden eine Gleichspannung im dreistelligen Volt-Bereich angelegt. Die beide Ladungsträger-Arten werden zu den jeweiligen Elektroden transportiert. Der Stromfluss zwischen beiden Elektroden liegt im Picoampere-Bereich. Er steigt wenn mit dem Trägergas brennbare Analyte ankommen.

Häufig ist eine Elektrode ist ringförmig über der Knallgasflamme angeordnet, man spricht dann von der **Ringelektrode** (.....). Dann ist die Platindüse (.....) selbst die Gegenelektrode. Ein anderes Konstruktionsprinzip arbeitet mit zwei Elektroden im Bereich der Knallgasflamme (ähnlich Abb. 7.2). Diese Elektroden werden dann Kollektorplatten genannt.

Faustregel und Fazit: Mit Hilfe des FIDs lassen sich alle brennbaren/oxidierbaren organischen Substanzen mit hoher Empfindlichkeit messen, so dass man in der Regel hier diese Detektionsmethode wählt. Der Response-Faktor ist weitgehend proportional zum CH_x -Anteil der Probe. Beispiel 1 picomol Ethan (C_2H_6) erzeugt in Summe eine doppelt so hohe Peakfläche wie 1 picomol Methan (C_1H_4).

Unter den Bedingungen nicht ionisierbar und deshalb auch nicht erfassbar sind Anorganika, insbesondere Edelgase, Stickstoff, Wasserstoff, CO_2 , Luft und H_2O . Schlechte Erfassbarkeit aufgrund nur geringer Ionisation gibt es für hoch halogenierte organische Verbindungen (z.B. Tetrachlormethan, dieses brennt auch nicht!). Ansonsten hat er eine sehr hohe Empfindlichkeit für die meisten Substanzen, die bis um den Faktor 1000 mal höher liegen kann als beim WLD! Er ist deshalb auch der am meisten benutzte GC-Detektor. Im Gegensatz zu WLD handelt es sich aber um einen **destruktiven Detektor**, d.h. die Analyte werden bei der Passage zerstört und stehen für weitere Analysevorgänge nicht mehr zur Verfügung.

7.3. Worin liegt der Vorteil, dass Stoffe wie N_2 , CO_2 , Edelgase und H_2 nicht erfasst werden?

.....

8. Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS)

Mit dem **Massenspektrometer (MS)** steht ein extrem leistungsfähiger Detektor zur Verfügung. Analog zum Diodenarray-Detektor in der HPLC, wird zu jedem Zeitpunkt ein Massenspektrum aufgenommen (vgl. Abb. 8.1). Damit ist neben der Quantifizierung auch eine Identifizierung möglich. Manchmal wird ein MS-Detektor auch hinter einen anderen *nicht-destruktiven* Detektor geschaltet (**Tandem-Detektion**).

Nach der Trennung auf der Säule müssen die Stoffe dem MS zugeführt werden. Die Kapillarsäulen mit ihrem geringem Trägergasfluss stören das erforderliche Vakuum im Massenspektrometer nicht. Die Geräte meist deshalb über eine beheizte „**Transfer-Line**“ direkt gekoppelt (vgl. Abb. 8.2).

Im Massenspektrometer werden die Stoffe zuerst ionisiert. Hierbei existieren mehrere Techniken. Durch die Ionisierung werden die Moleküle entweder zu Fragmenten zertrümmert (hpts. bei der *Elektronenstoßionisation*-Technik) oder bleiben als Ganzes erhalten und lediglich protoniert (hpts. bei der Technik der *Chemischen Ionisation*). Auf jeden Fall treten die Stoffe positiv geladen aus der Ionisationskammer aus. Sie werden durch ein elektrisches Feld beschleunigt und zu einem Ionenstrahl gebündelt (vgl. Abb. 8.3).

In einem Magnetfeld werden die Ionen dann je nach Masse und Ladung unterschiedlich stark abgelenkt. Durch Änderung der Stärke des Magnetfelds können alle Ionen nacheinander auf die gleiche Kreisbahn gezwungen werden, so dass sie auf den Ionensammler des Detektors auftreffen (vgl. Abb. 8.3). Aus den Massenzahlen der ionisierte Produkte kann auf die Struktur- und Summenformel der Substanz geschlossen werden (vgl. Abb. 8.4 unten).

Häufig sind einige Puzzleteile für einen Analyt so charakteristisch, dass man auf eine vollständige Trennung in der Chromatographie verzichten kann. So kann die Säule beispielsweise nur grob in Fraktionen trennen. Die einzelnen Fraktionen treten dann in den MS ein, und die darin enthaltenen Analyte werden gemeinsam ionisiert und analysiert. Mit einem MS lassen sich also viele Stoffe *simultan* nachweisen/quantifizieren.

simplified mass spectrum of pentane - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$

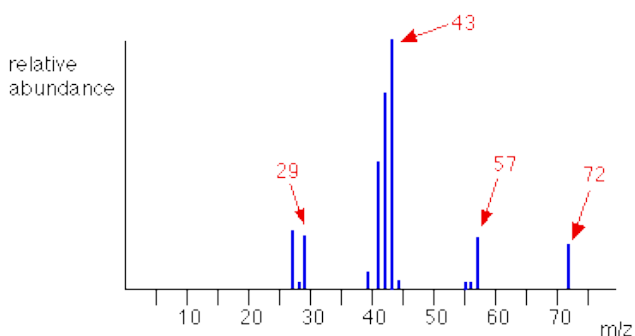


Abb. 8.4: siehe Beschreibung rechts. Erklären Sie die Masse (m/z) der markierten Peaks.

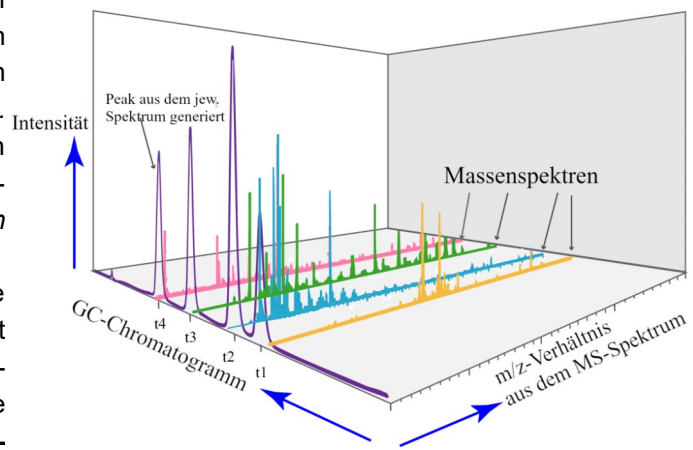


Abb. 8.1: GC-MS-Kopplung. Zu der Retentionszeit ist ein Spektrum darstellbar. (Quelle.: wiki-commons.; Autor: Daniel Norena-Caro, verändert)

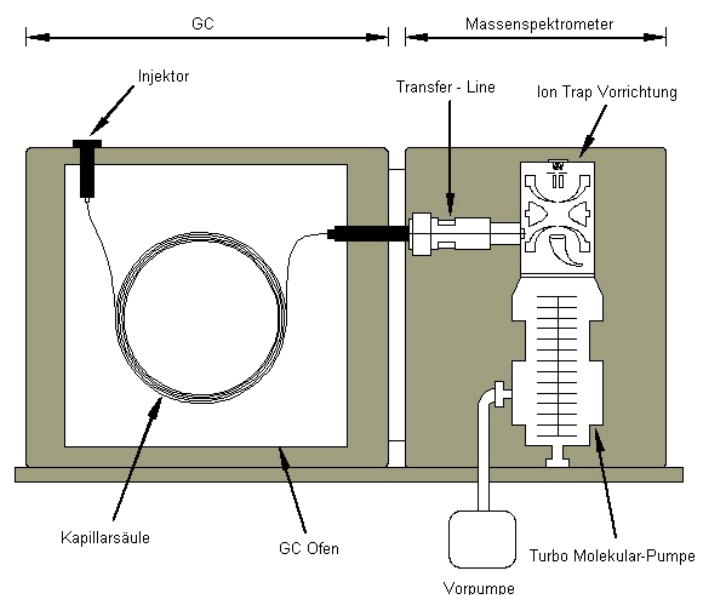


Abb. 8.2 Beispiel einer Kopplung mittels Transfer-Line (Quelle.: commons.wikimedia.org; Autor: Ludwig Gruber)

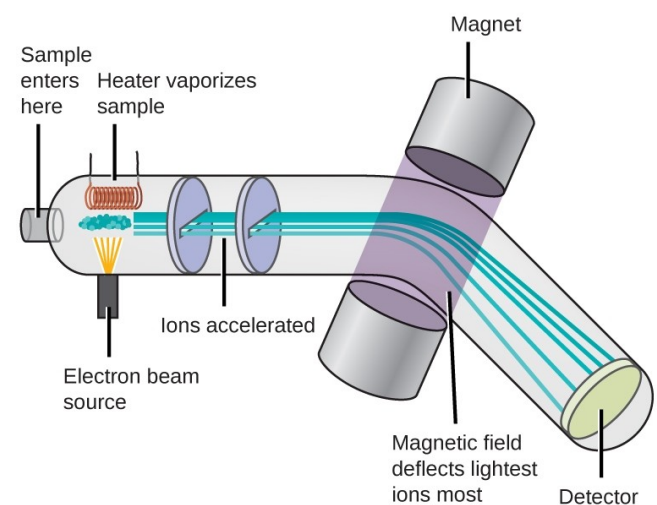


Abb. 8.3 Schema eines Massenspektrometers. Quelle: P. Flowers, K. Theopold et al.; www.openstax.org. CC 4.0 BY. Verändert.

Abb. 8.4: Leicht vereinfachtes Massenspektrum von Pentan. Die Molekülfragmente entsprechen Puzzleteilen des Gesamtmoleküls. Anhand deren Qualität und Quantität kann auf den Analyten geschlossen werden. (Quelle: chem.libretexts.org; CC; Autor: Kennepohl, D. et al.).