



Chromatographie IV
WS 2022/23 R. Vasold

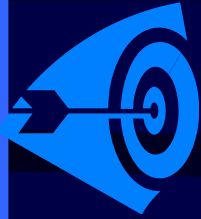
Chromatographie IV

GC Seminar

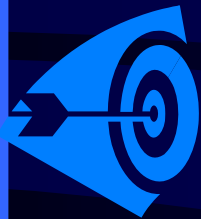
- I.1 **Einleitung** *(siehe Skript Praktikum)*
- I.2 **Ziele des Praktikums**
- I.3 **Die stationäre Phase**
- I.4 **Die mobile Phase**
- I.5 **Der Säulenofen**
- I.6 **Die Injektionseinheit**
- I.7 **Die Detektoreinheit**
- I.8 **Die Software**
- I.9 **Die Methode des ISTD** *(siehe Skript Praktikum)*
- I.10 **Aufgaben zum theoretischen Teil**

I.2 Ziele des Praktikums

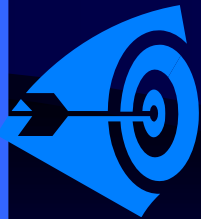
Nach diesem **Praktikum** soll man u.a.:



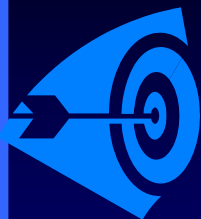
Ziel 1 Über den Aufbau einer **GC-Anlage**, sowie über **stationäre** und **mobile Phase** Bescheid wissen.



Ziel 2 Über die **Einzelbestandteile** (z.B. **Säulenofen**, **Injektoreinheit** und **Detektoren** Bescheid wissen.



Ziel 3 Wichtige **chromatographische Kenngrößen** (z.B. t_m , $t_R(X)$, V_m , $V_R(X)$, u_m , $u(X)$, k etc.) bestimmen können.



Ziel 4 Eine **quantitative Bestimmung** mit der Methode des **Internen Standards** durchführen können.



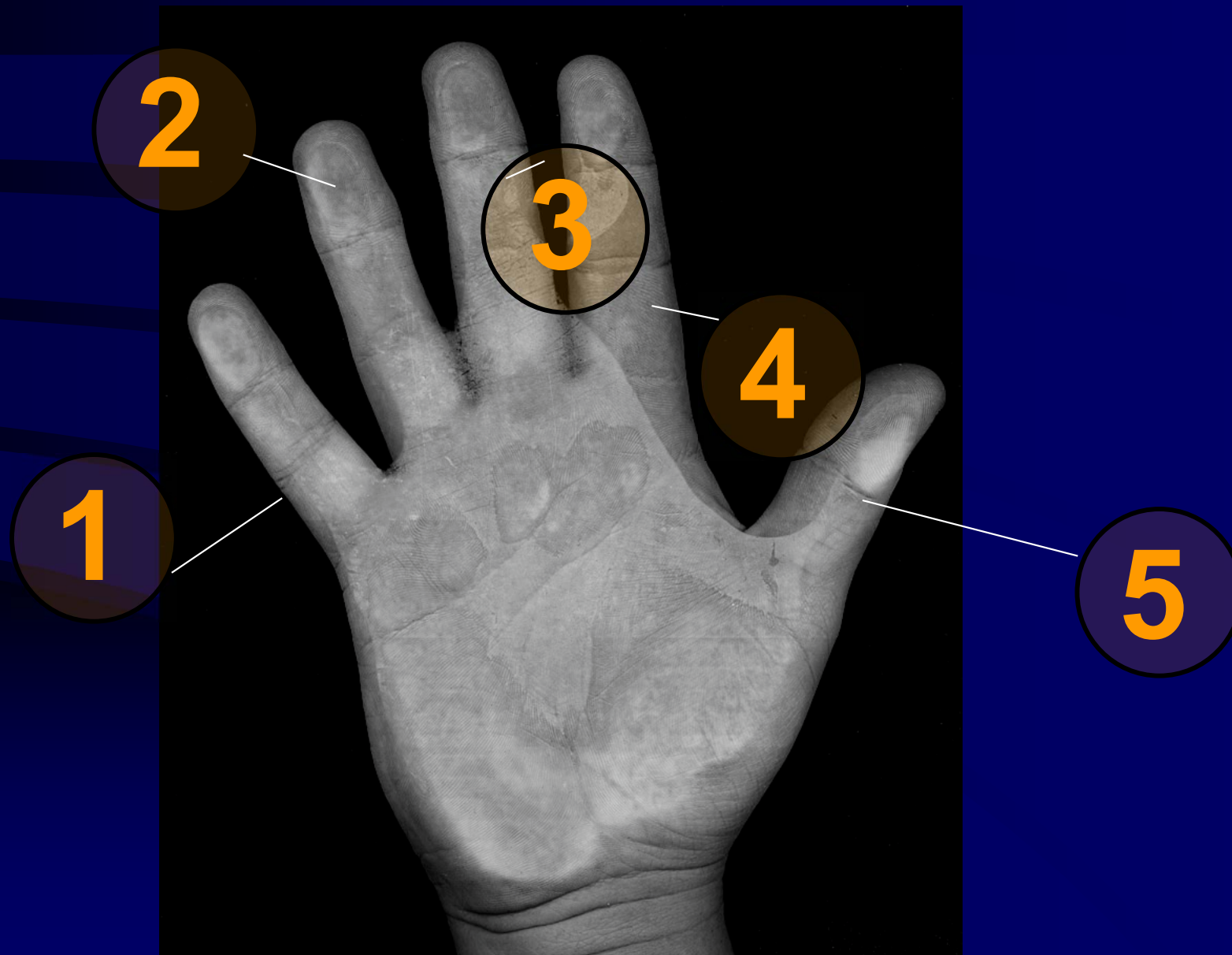
Chromatographie IV
WS 2022/23 R. Vasold



Kapitel I Theoretischer Teil

I.2.1 Komponenten der GC Anlage

Chromatographie IV
WS 2022/23 R. Vasold



I Theoretischer Teil

I.2.1 Komponenten der GC Anlage

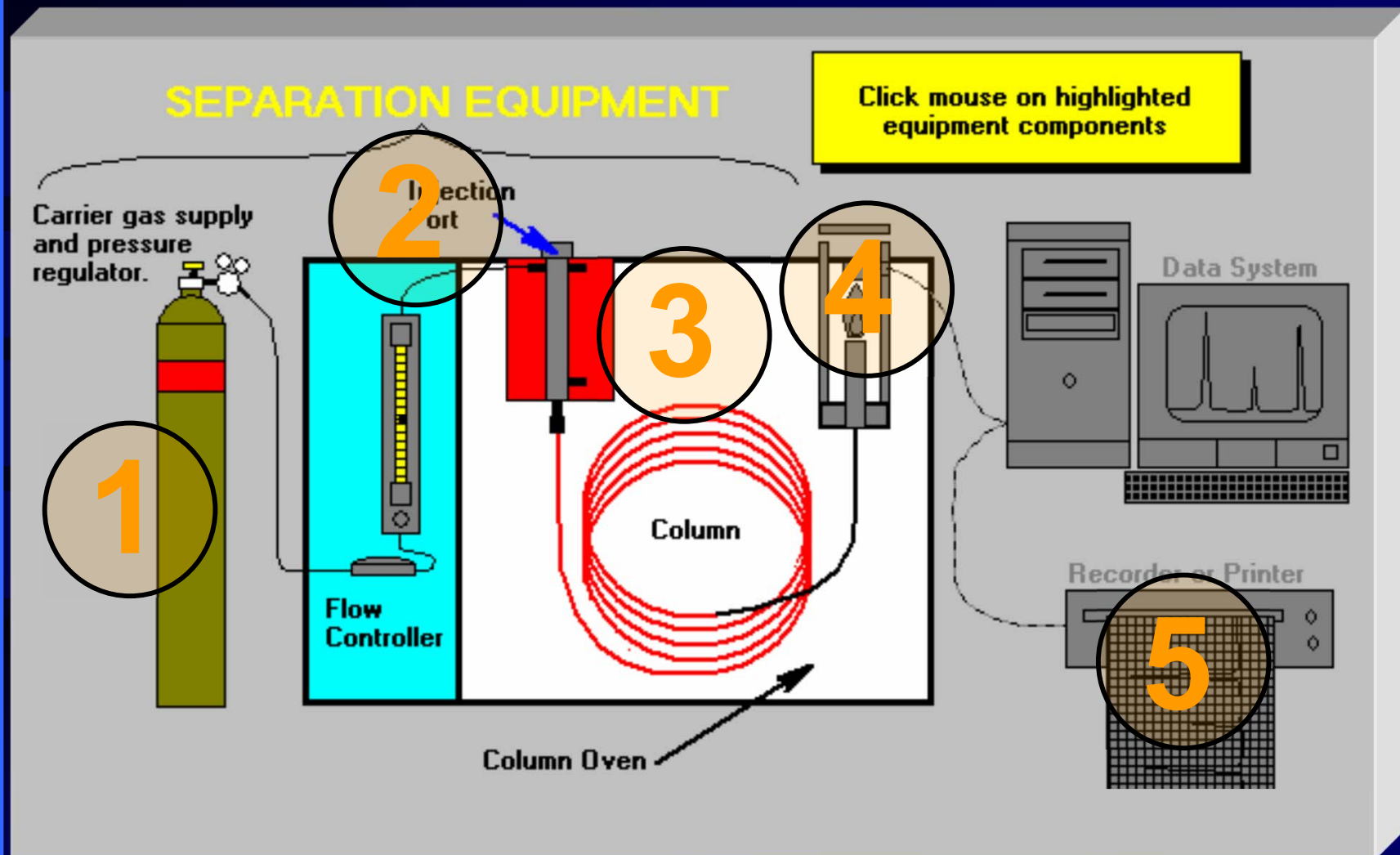
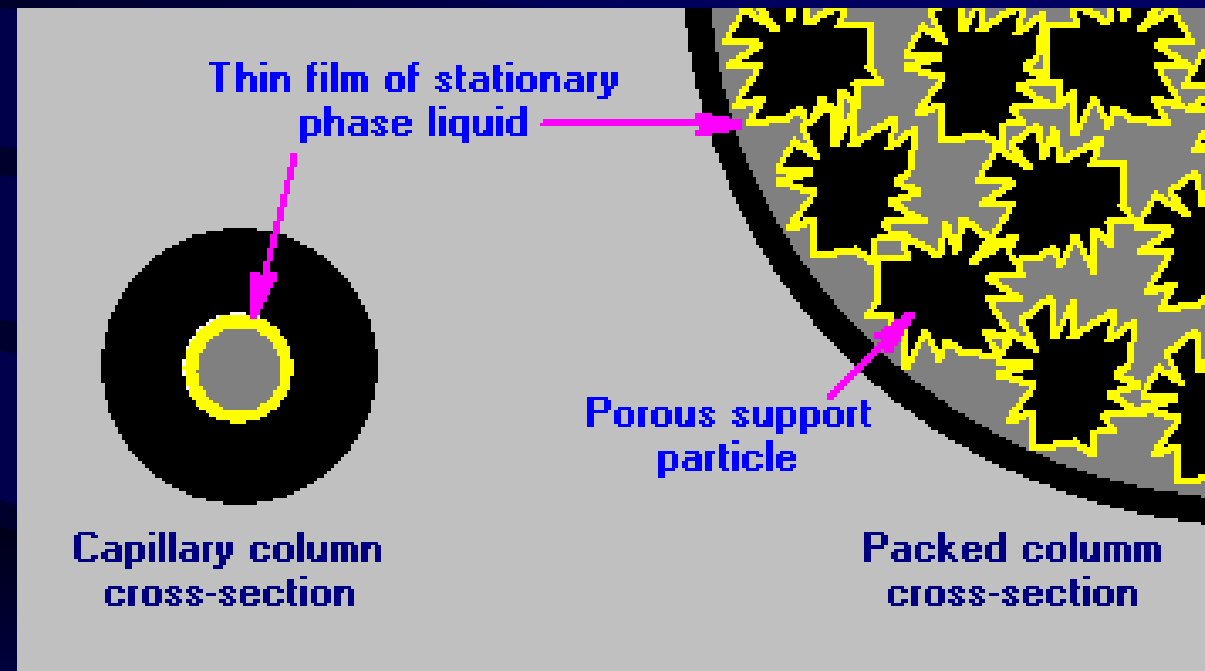


Abb. 1.2.1. Komponenten eines GC-Systems

I.3 Die Stationäre Phase

GC Säulen lassen sich einteilen in:

Gepackte Säulen (Länge 4-5 Meter)



Kapillar-Säulen (Länge 30-60 Meter)

I.3 Die Stationäre Phase

Kapillar-Säulen lassen sich einteilen in:

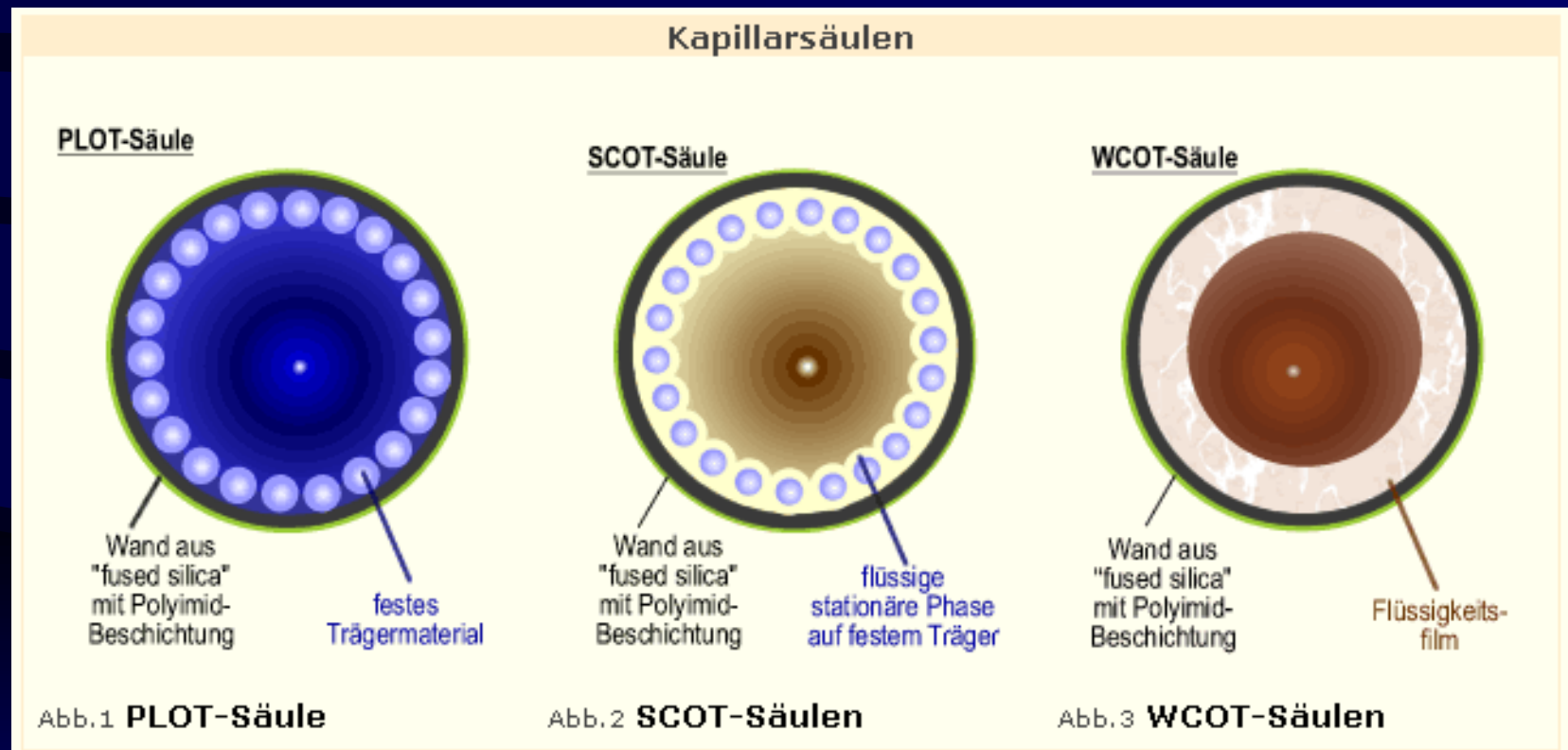
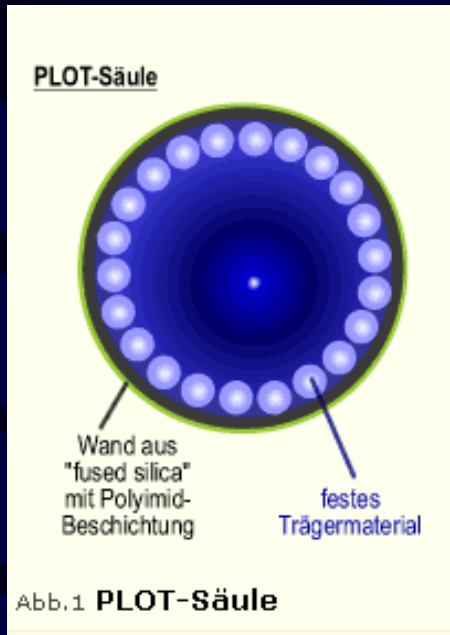


Abb. 1.3. Verschiedene Arten von Kapillarsäulen



Die **PLOT**-Säulen

(engl. porous-layer-open-tubular-column)

Feste stationäre Phase befindet sich innen an der **Kapillarwand**

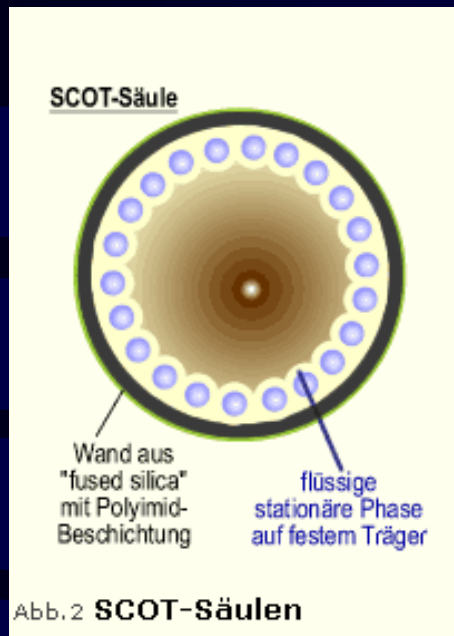
Die Menge an stationärer Phase ist **sehr groß** (relativ gesehen)

Für Analyten, die nicht an einer flüssigen stationären Phase getrennt werden können (z.B. Permanentgase, kurzkettige Kohlenwasserstoffe)

Gas-fest-Adsorptions-Chromatographie

I Theoretischer Teil

I.3 Die Stationäre Phase



Die SCOT-Säulen

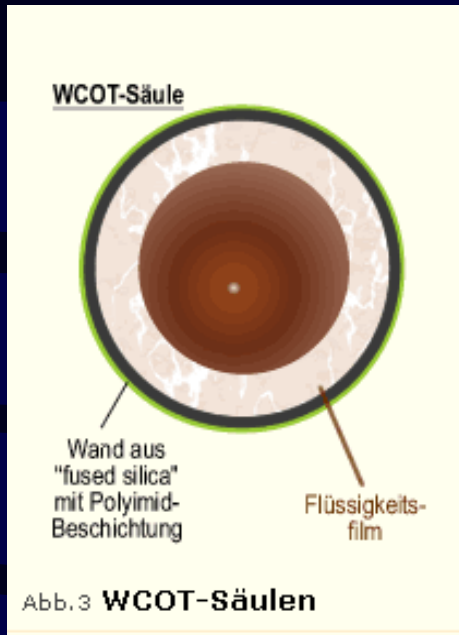
(engl. support-coated-open-tubular-column)

stationäre Phase ist ein Flüssigkeitsfilm, der auf einen festen Träger an der Kapillarwand aufgebracht ist.

Die Menge an stationärer Phase ist größer als bei wandbeschichteten Kapillaren (z.B. WCOT)

Trennung von leichtflüchtigen Verbindungen, die zu stark auf PLOT-Säulen retardiert (zurückgehalten) werden. Schlechtere Trennleistung als bei WCOT-Säulen

Gas-flüssig-Verteilungs-Chromatographie



Die **WCOT**-Säulen

(engl. wall-coated-open-tubular-column)

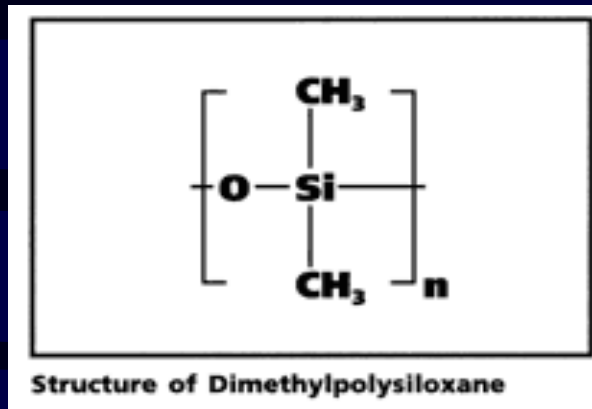
stationäre Phase befindet sich als **dünnere Flüssigkeitsfilm**, **direkt** an der Innenseite der **Kapillarwand**.

Diese Säulen besitzen die **höchste Trennleistung**

Einsatz der WCOT-Säulen vor allem in der Spurenanalytik
(nur geringe Probenmengen auftragbar)

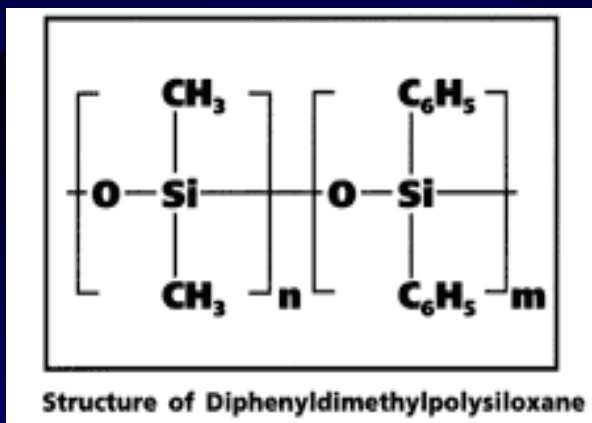
Gas-flüssig-Verteilungs-Chromatographie

I.3.1 Beispiele **stationärer Phasen**



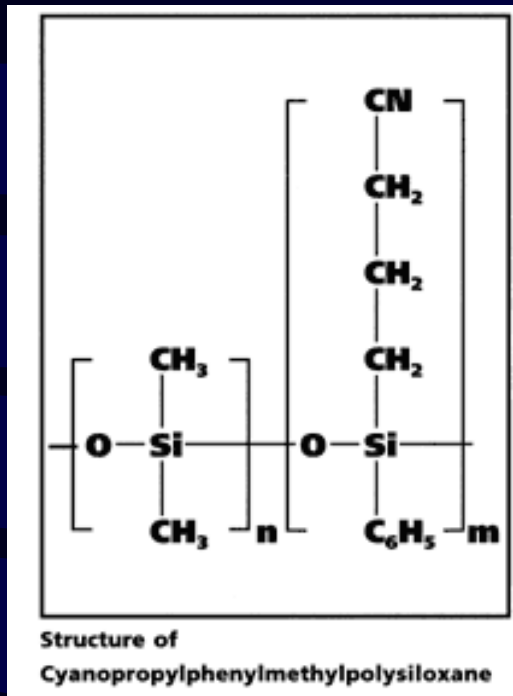
Bei $n = 100\%$ besteht die Trennflüssigkeit aus reinem **Polydimethylsiloxan**.

Folge: Sehr unpolare stationäre Phase



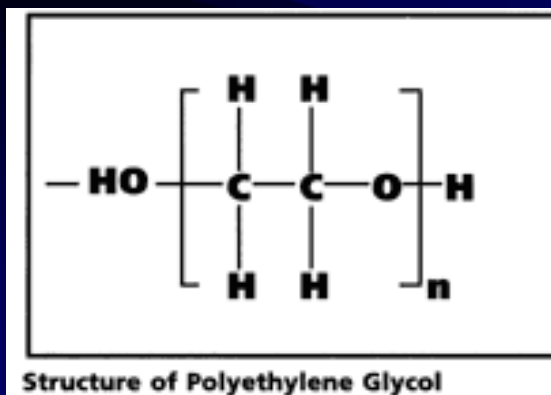
Die Trennflüssigkeit besteht neben n Anteilen an **Polydimethylsiloxan** auch aus unterschiedlichen Anteilen an **Diphenylpolysiloxan** m mit ($n=100\%-m$).

Folge: Zunehmend höhere Polarität der stationäre Phase

I.3.1 Beispiele **stationärer Phasen**

Die Trennflüssigkeit besteht neben n Anteilen an **Polydimethylsiloxan** auch aus unterschiedlichen Anteilen an **Cyanopropylphenylpolysiloxan** m mit $(n=100\%-m)$.

Folge: Zunehmend höhere Polarität der stationären Phase



$(n=100\%)$ Die Trennflüssigkeit besteht aus **100% Polyethylenglykol**.

Folge: Sehr hohe Polarität der stationären Phase.

Achtung !! Empfindlich gegenüber Sauerstoff und hohen Trenntemperaturen.

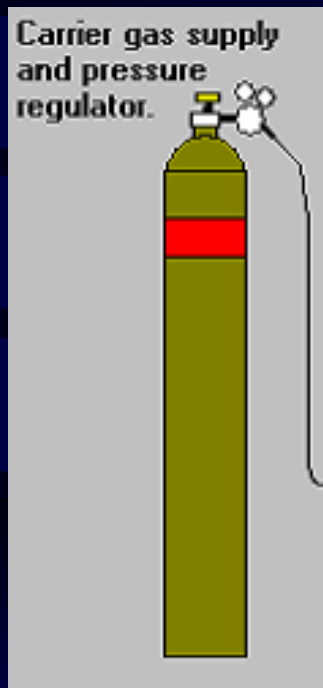
I.3.1 Beispiele **stationärer Phasen**

Im Praktikumsversuch wird folgende Säule eingesetzt:

Hersteller:	J+W Scientific
Typ:	HP-5MS[©]
Länge:	30 Meter
I.D.	0.25 mm
Film	0.25 μm
Material:	Polydimethylsiloxan (mit 5% Diphenyl-Anteil)
Temp. Limit:	-60°C – 325°C (350°C)

I.4 Die mobile Phase

Anforderungen an die mobile Phase (Trägergas):



Besondere Reinheit (mind. 5.0 Qualität)

= 99,9990 % Reinheit

Besser noch (6.0 Qualität)

= 99,99990 % Reinheit

**Keine Reaktion bei hohen Temp.
mit Säulenmaterial und Trennkomponente
gebräuchlich sind He, H₂, (N₂)**

**Versorgung aus Gasbomben
mit Druckminderer (4 bar)**

I.4 Die mobile Phase Phase

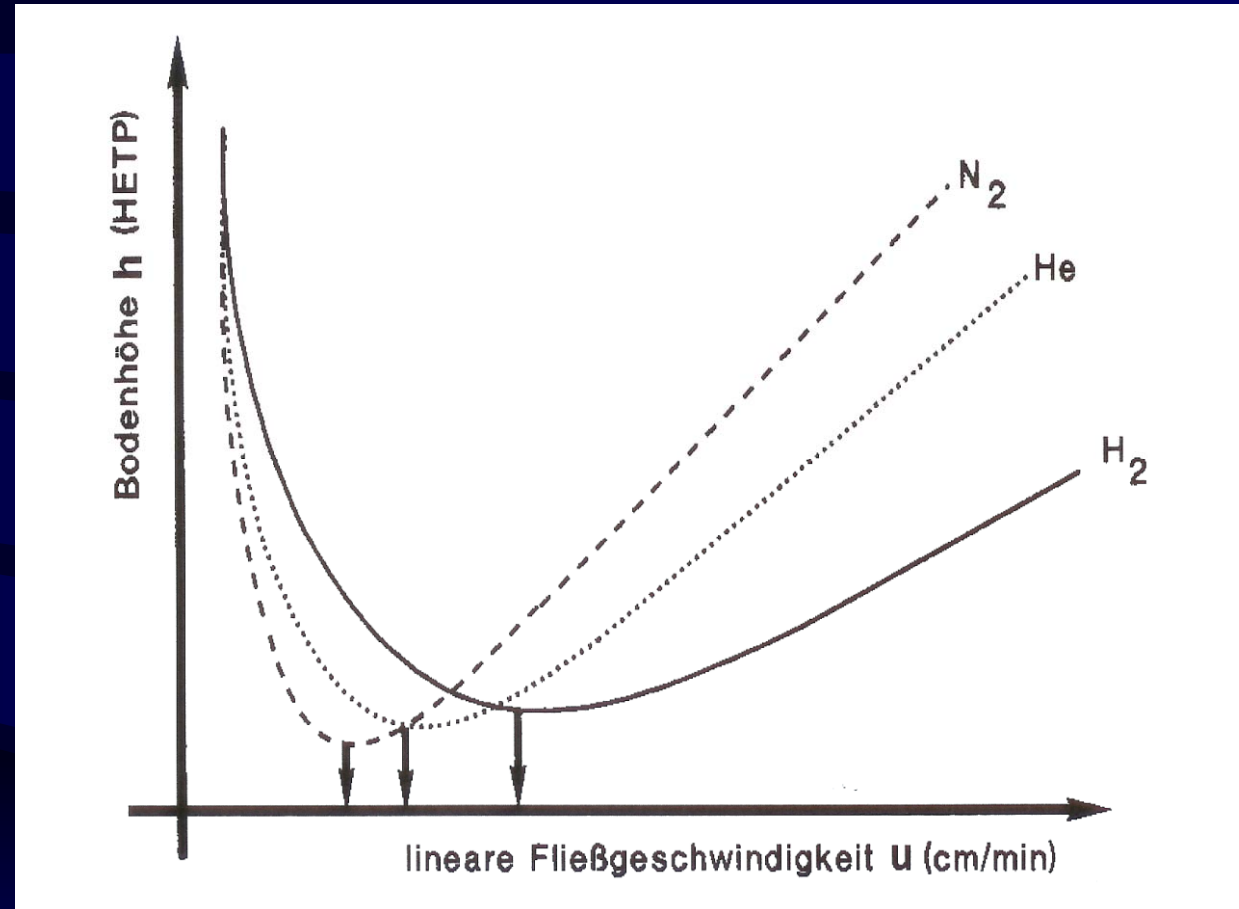


Abb. I.4: Van-Deemter-Kurven für N_2 , He, H_2

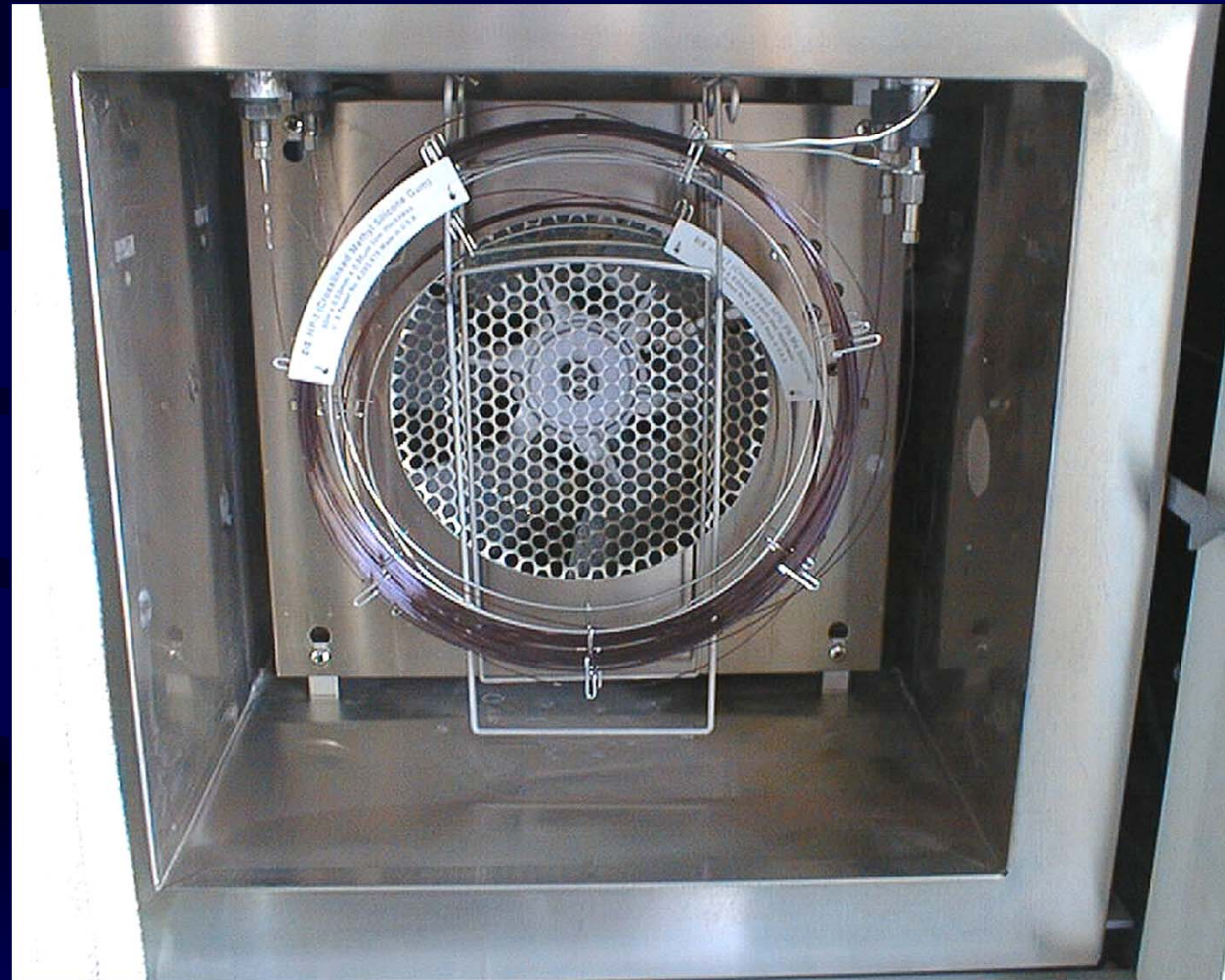


Abb. I.5.0: GC-Säulenofen

I.5. Der Säulenofen

I.5.1 Die **isotherme GC**

Die **Temperatur** im **Säulenofen** ändert sich während der chromatographischen Trennung nicht:

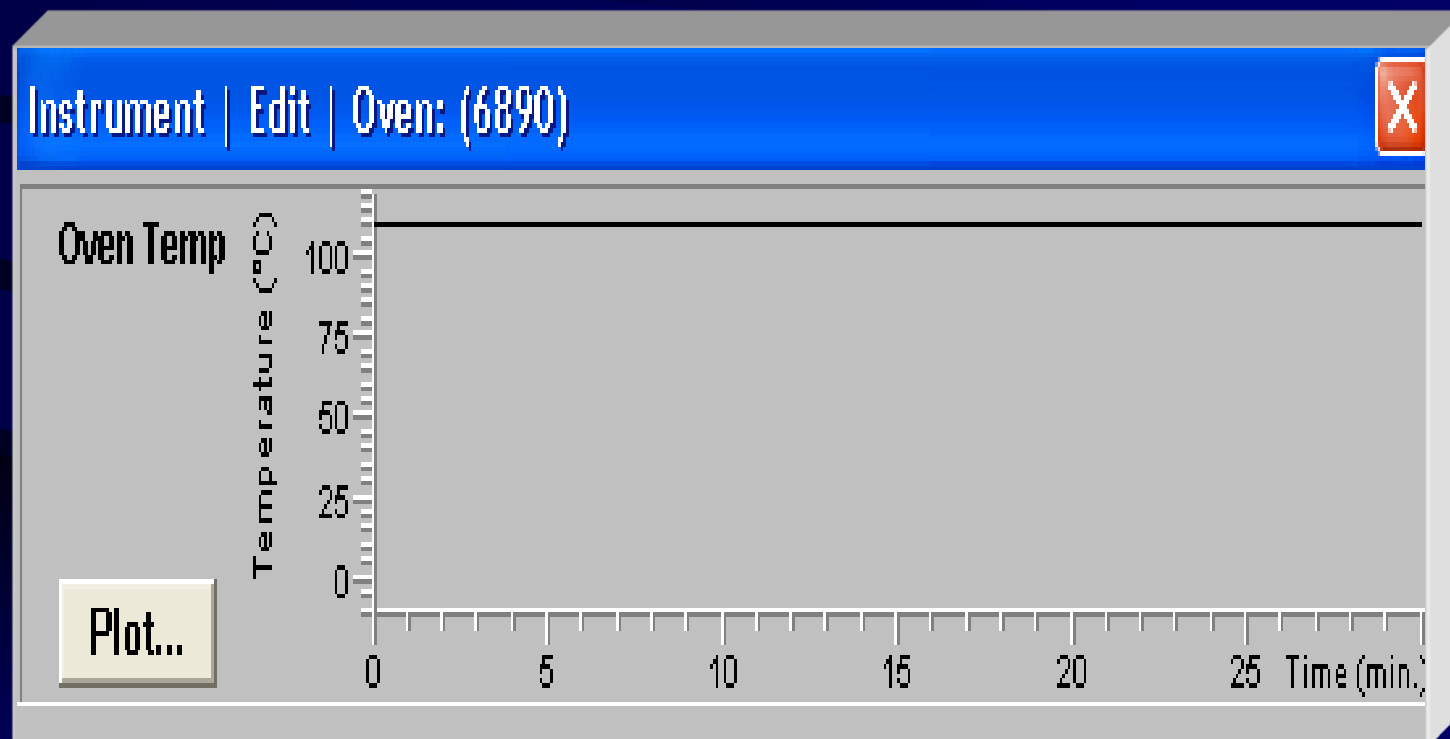


Abb. I.5.1: Temperaturverlauf bei isothermer GC

I.5.2 Die **temperaturprogrammierte GC**

Die **Temperatur** im **Säulenofen** ändert sich während der chromatographischen Trennung:

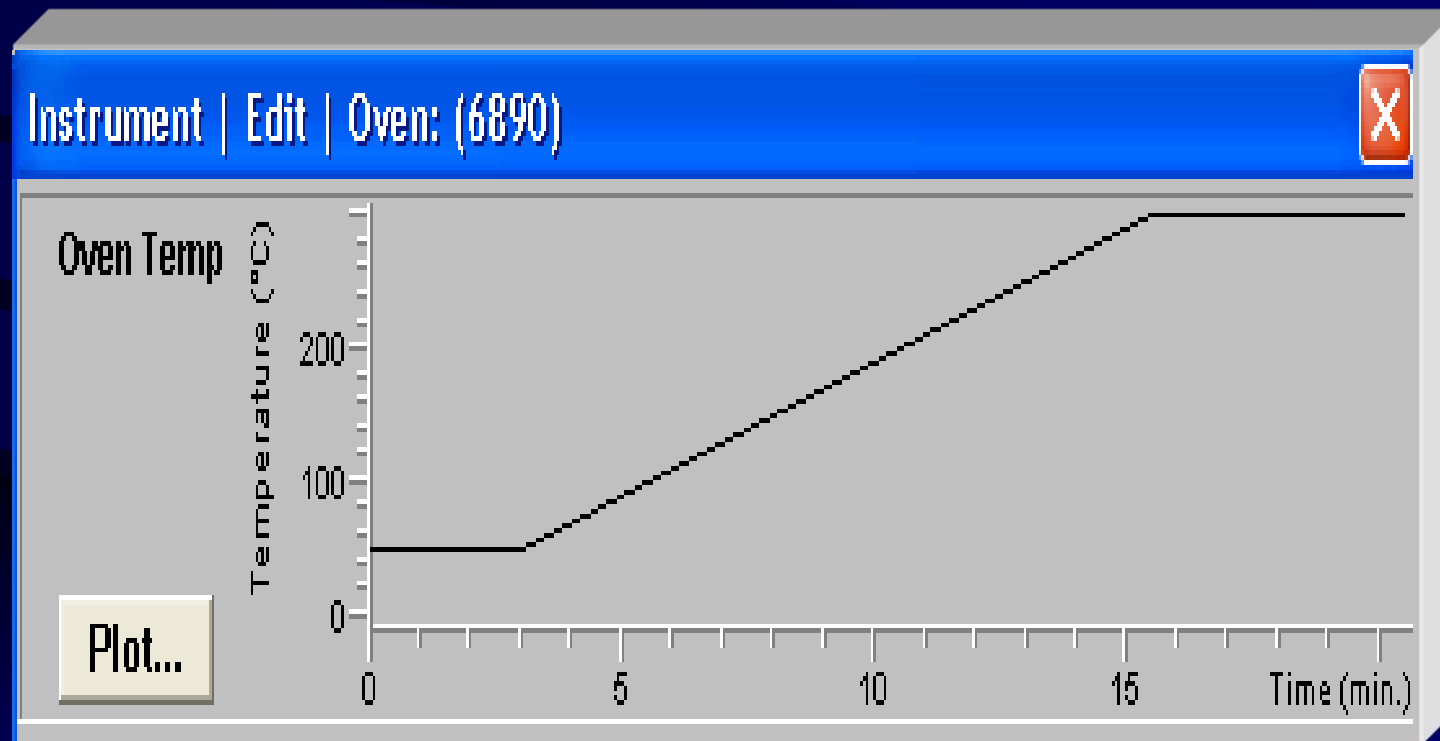


Abb. I.5.2: Temperaturverlauf bei temperaturprogrammierter GC

I.6. Die **Injektionseinheit**

I.6.1 Der **Split/Splitless Injektor**

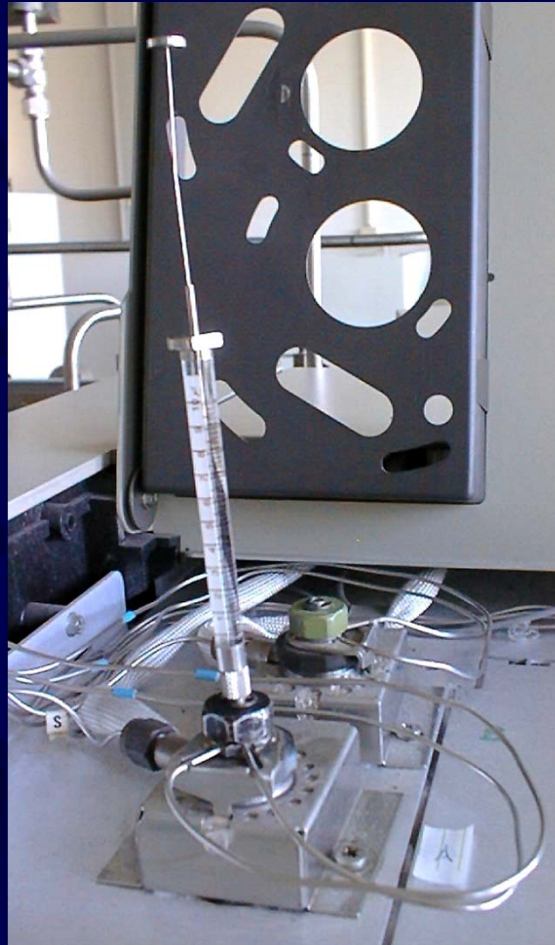


Abb. I.6.0: Split/Splitless -Injektor

I.6. Die Injektionseinheit

I.6.1 Der Split/Splitless Injektor

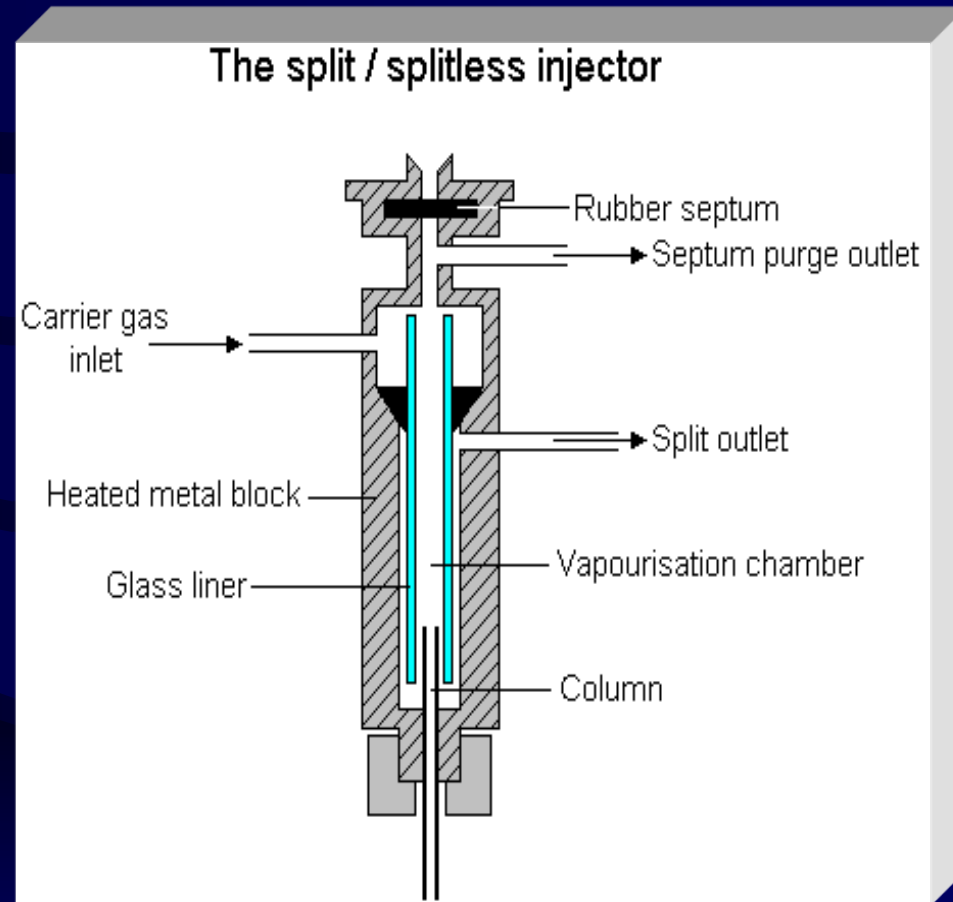


Abb. I.6.1: Split/Splitless –Injektor (schematisch)

I Theoretischer Teil

I.6. Die Injektionseinheit

I.6.2 Der On-Column-Injektor

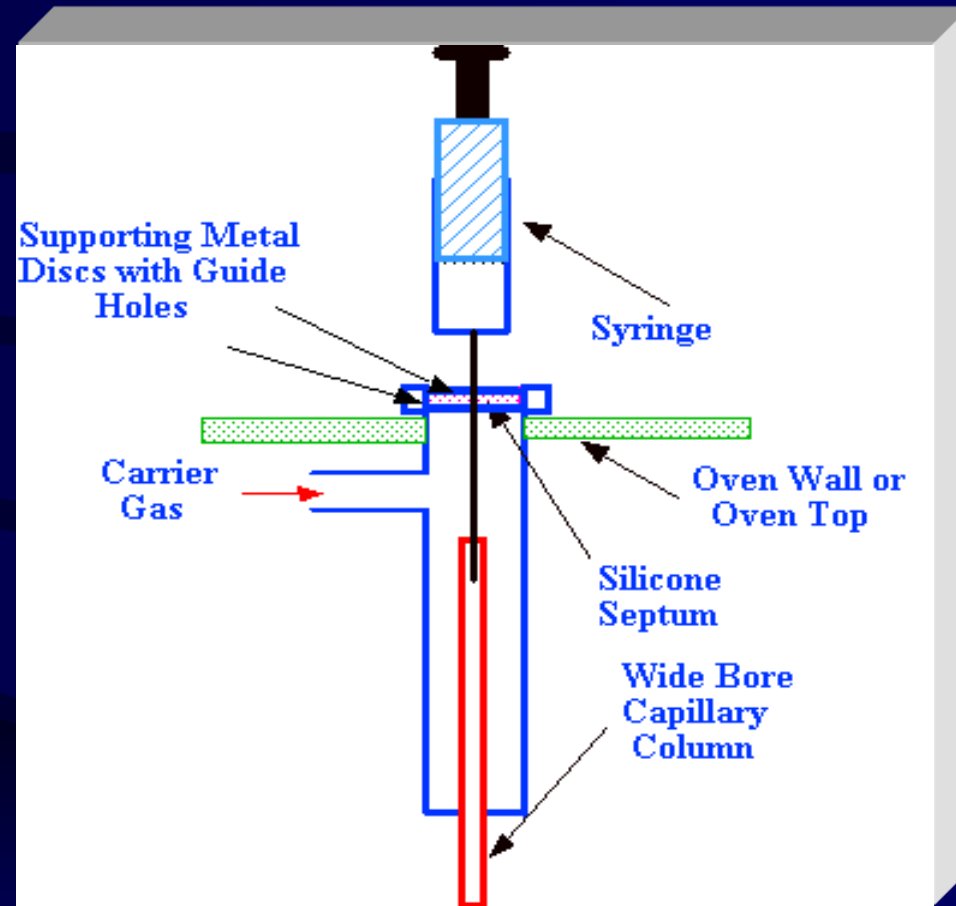


Abb. I.6.2: On-Column-Injektor

I.7. Der Detektor

I.7.1 Der Flammenionisationsdetektor (FID)

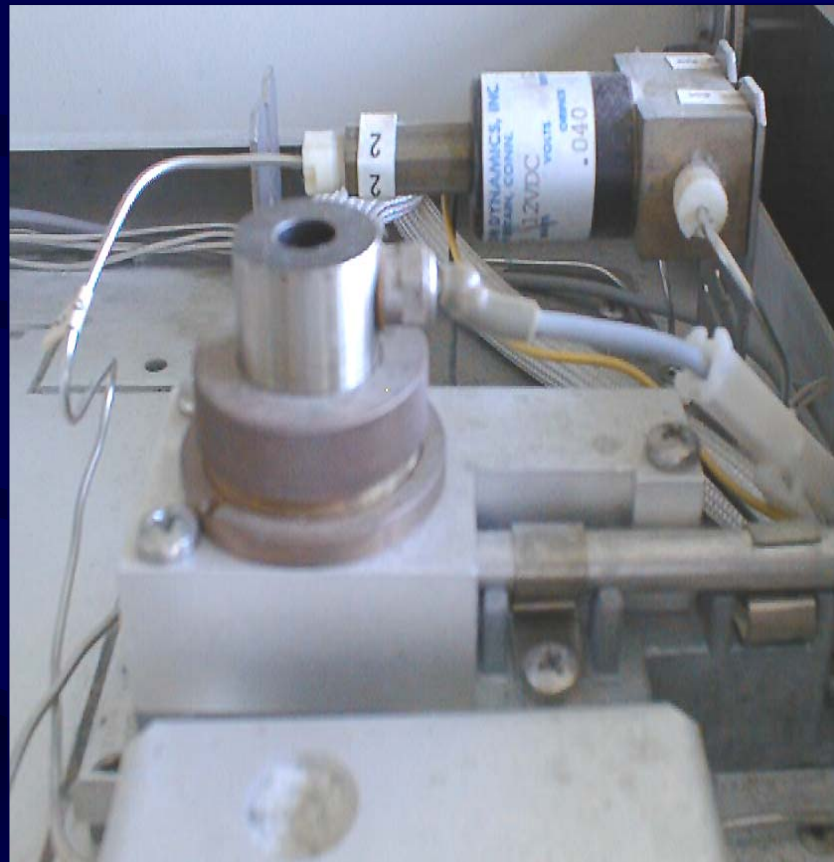


Abb. I.7.0: Flammenionisationsdetektor (FID)

I.7. Der Detektor

I.7.1 Der Flammenionisationsdetektor (FID)

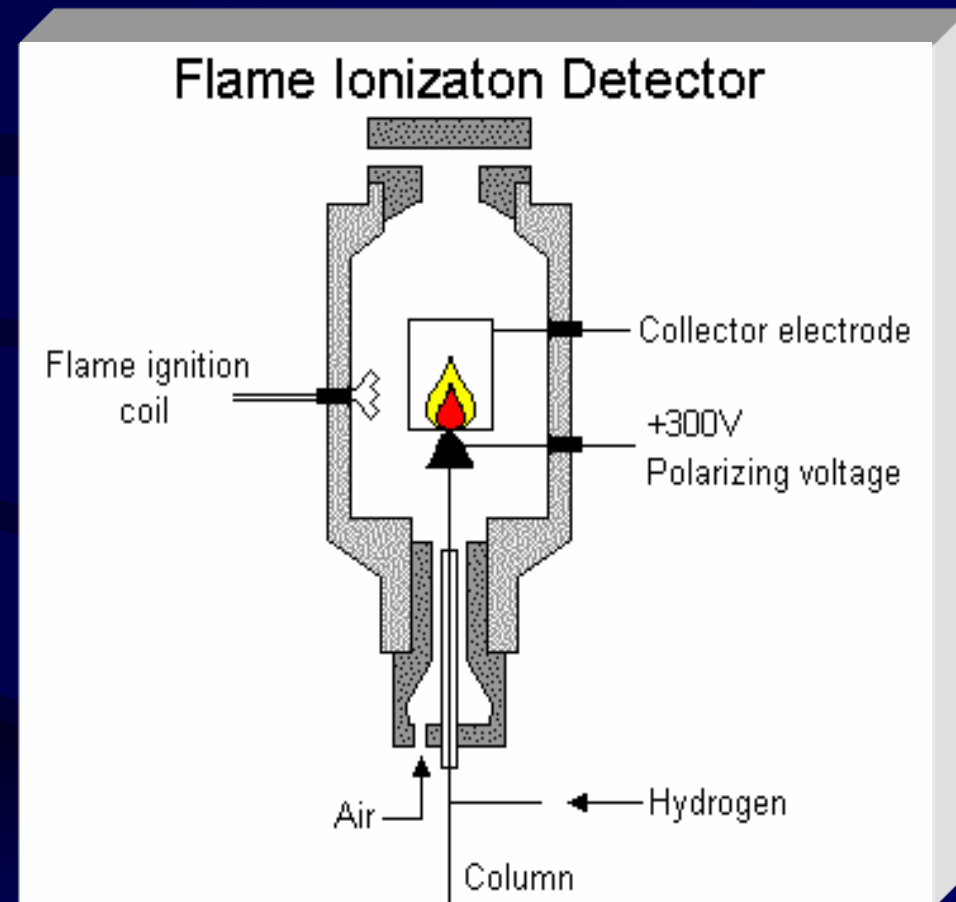


Abb. I.7.1: FID (schematisch)

I.7. Der Detektor

I.7.2 Der massenselektive Detektor (MSD)

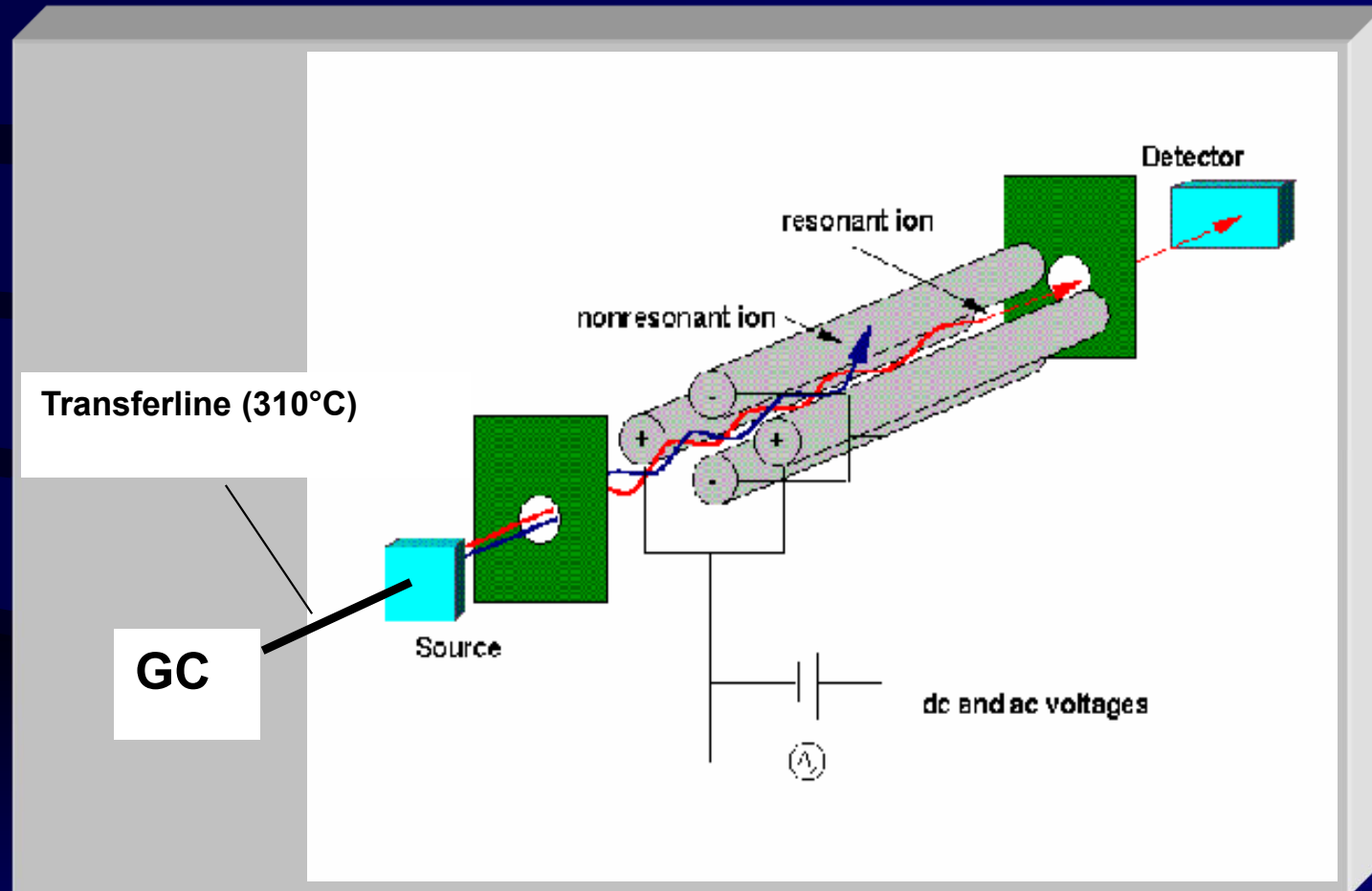


Abb. I.7.2: massenselektiver-Quadrupol-Detektor (MSD)-

I.7.3 GC-Detektoren (Auswahl)

<i>GC-Detektoren</i>	<i>Anwendung</i>	<i>Nachweisgrenze</i>	<i>Linearität</i>
FID (flame ionization detector)	selektiv nur ionisierbare Komponenten in H ₂ /Luft-Flamme	ca. 10 -100 pg* organic compd	1 x 10 ⁷
TCD (WLD) (thermal conductivity detector)	für alle Analyte mit unterschiedlicher thermischer Leitfähigkeit zum Trägergas	< 400 pg*	1 x 10 ⁶
ECD (electron capture detector)	selektiv; besonders für Analyte mit Heteroatomen	0,05 - 1 pg*	1 x 10 ⁴
NPD (nitrogen-phosphorus detector)	selektiv für Stickstoff und -phosphorhaltige organische Analyte	0,1 – 10 pg*	1 x 10 ⁴
MSD (mass selective det.)	für alle im MS ionisierbaren Analyte	10 pg – 10 ng*	1 x 10 ⁵

Quelle: Buffington R., Wilson M.K., „Detectors for Gas Chromatographie“ a practical primer, Hewlett Packard, 1987

Abb. I.7.3: häufig eingesetzte GC-Detektoren

I.8. Software

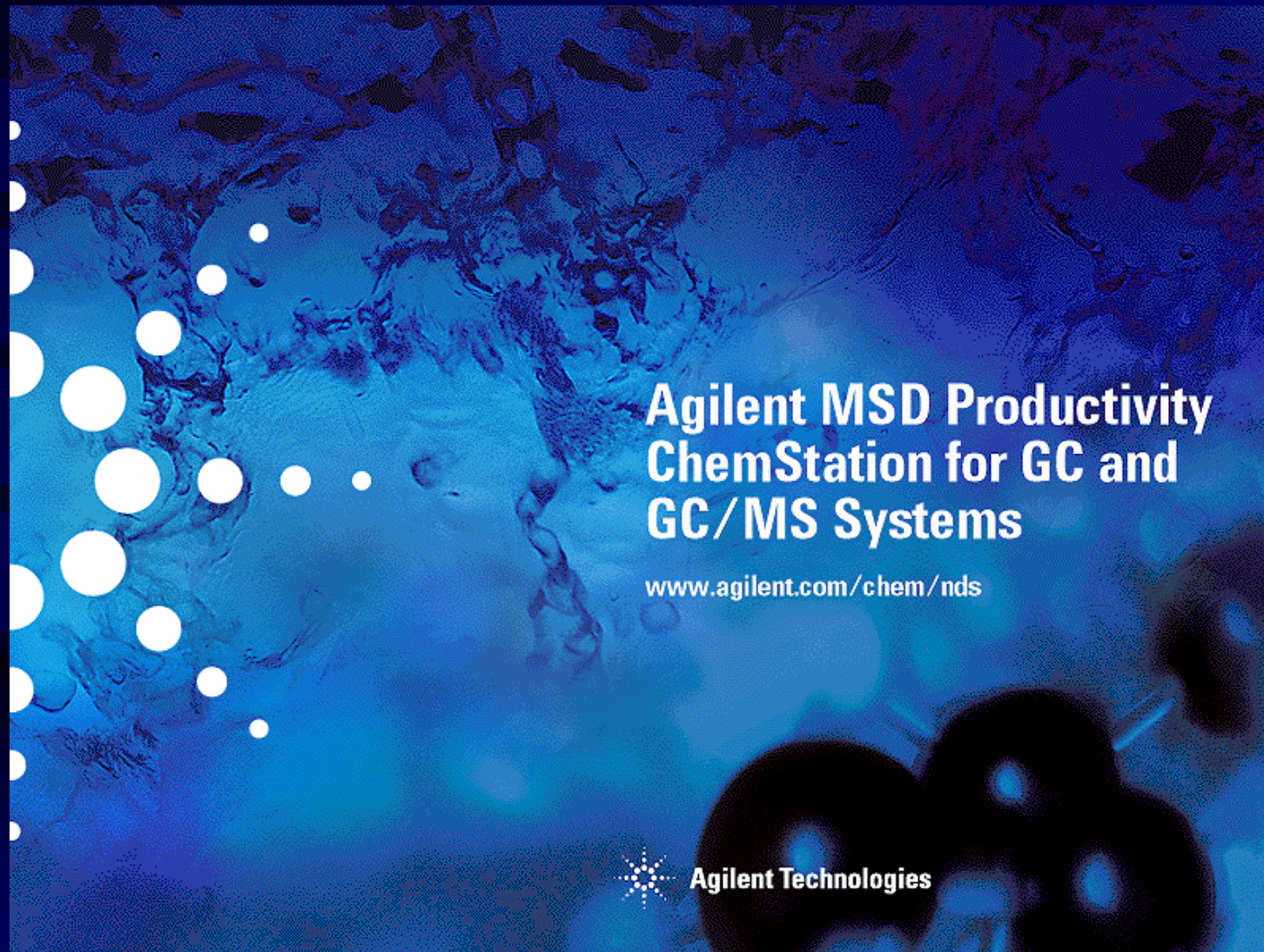


Abb. I.8: Software MSD-ChemStation D.01.02.16 (Jun 2004)

I Theoretischer Teil

I.10 Fragen zum Theoretischen Teil (Auszug)

- 1.) Nennen Sie neben der **Adsorptionschromatographie** eine weitere **Chromatographieart**, die in der **GC** hauptsächlich eingesetzt wird.
- 2.) In der Gaschromatographie unterscheidet man im Wesentlichen zwischen zwei unterschiedlichen **Kategorien von Trennsäulen**. Wie heißen sie und worin unterscheiden sie sich?
- 3.) Nennen sie drei Beispiele fester **Adsorbentien**, die bei **gepackten Säulen** als **stationäre Phase** zum Einsatz kommen und für welche Substanzen sie verwendet werden.
- 4.) Nennen sie einen wesentlichen Vorteil, bei der Verwendung von **Kapillarsäulen**.
- 5.) Welcher Zusammenhang besteht zwischen der **Schichtdicke (Film)** der Trennflüssigkeit in Kapillarsäulen und der **Kapazität** der Trennsäule bzw. der **Trennleistung** der Kapillarsäule.
- 6.) Aus welchem Material ist in der Regel die **Kapillarwand einer Kapillarsäule** hergestellt. Wie heißt der entsprechende Fachausdruck?
- 7.) Was versteht man unter **Säulenbluten**, wie kommt es zustande und wie macht es sich bemerkbar?
- 8.) Wie kann eine Säule hinsichtlich des aufgetragenen **stationären Trägermaterials** modifiziert werden, um Säulenbluten zu minimieren und wie nennt man eine so veränderte Phase?
- 9.) Wann wird in der GC eher mit **Split-Injektion** und wann im **Splitless-Mode** gearbeitet ?
- 10.) Nennen Sie ein Beispiel für ein sog. **kaltes Injektionsverfahren** und bei welchen Substanzen wird es überwiegend verwendet ?
- 11.)



Chromatographie IV
WS 2022/23 R. Vasold



Kapitel II Experimenteller Teil

Kapitel II: Experimenteller Teil

II.1 Einleitung (*siehe Skript Praktikum*)

II.2 Versuchsdurchführung

II.2.1 Vorbereitung der Lösungen (*siehe Skript*)

II.2.1.1 Vorbereitung der Stammlösungen
(*siehe Skript Praktikum*)

II.2.1.2 Vorbereitung der Eich-(Kalibrierlösung)
(*siehe Skript Praktikum*)

II.2.1.3 Vorbereitung der Probenlösungen
(*siehe Skript Praktikum*)

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

II.3 Aufgaben zum experimentellen Teil



II Experimenteller Teil

GC-Bestimmung von Cumarin in Parfums

Chromatographie IV
WS 2022/23 R. Vasold



CHANEL

II Experimenteller Teil

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

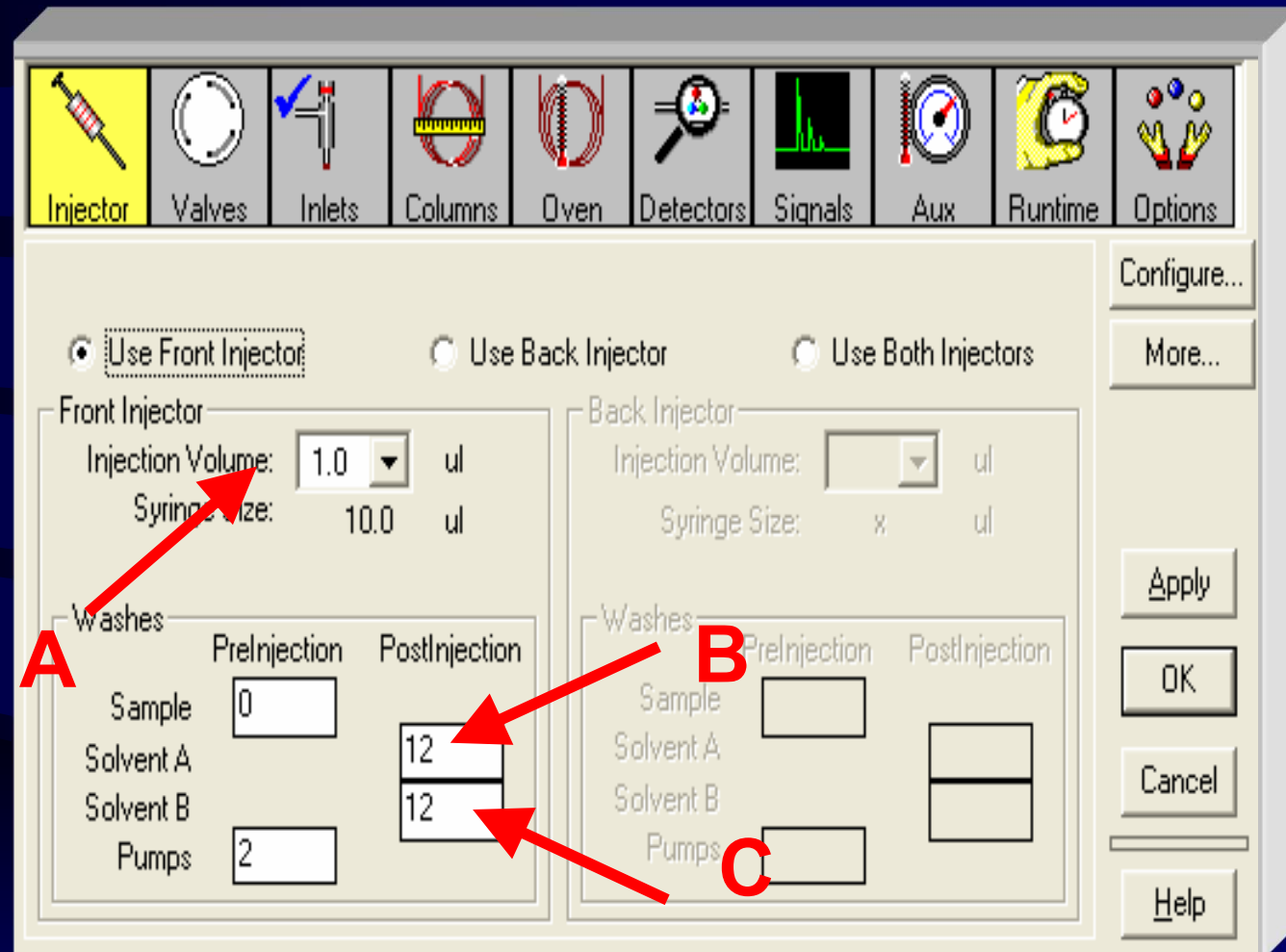


Abb. II.2.2.a: Die Injektor-Programmierung

II Experimenteller Teil

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

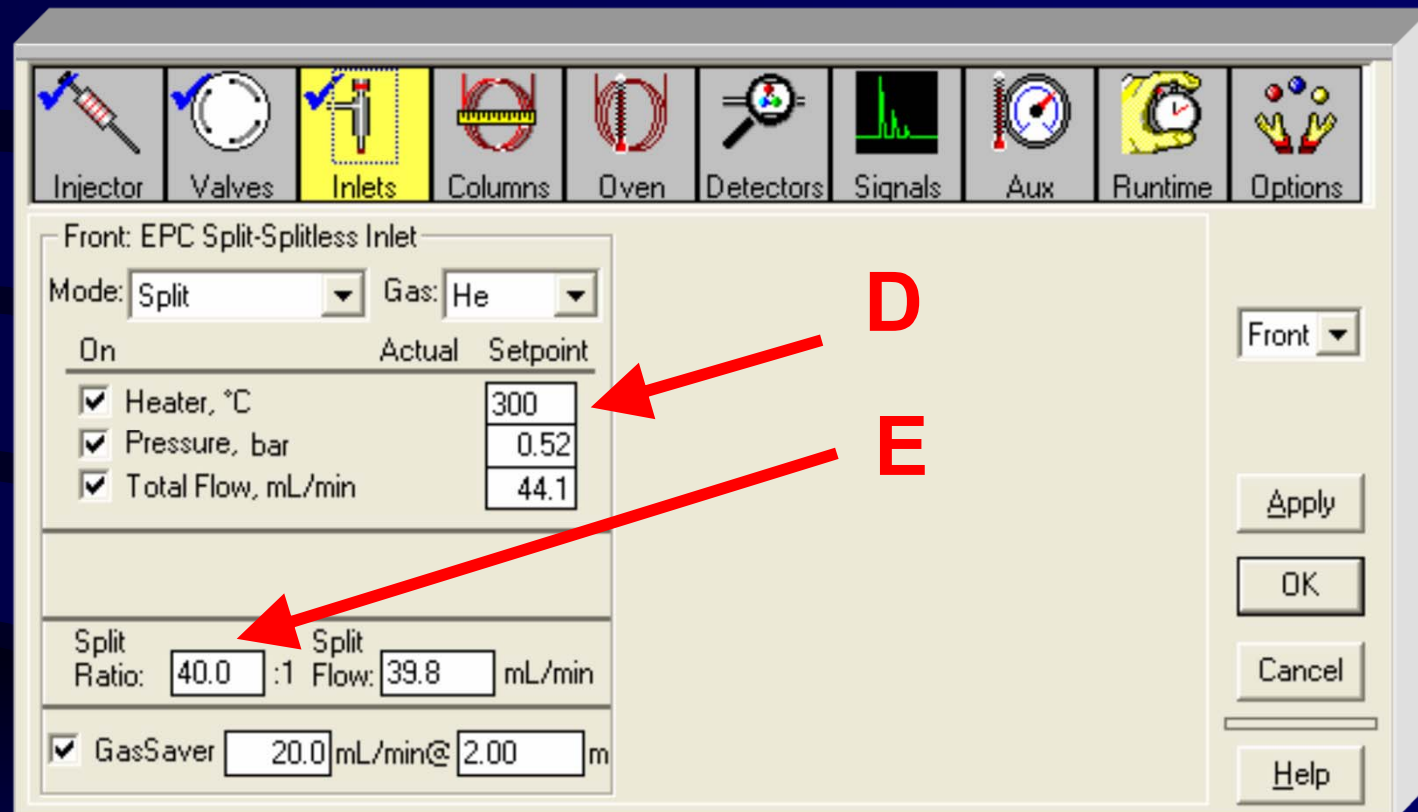


Abb. II.2.2.b: Der Injektionsmodus

II Experimenteller Teil

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

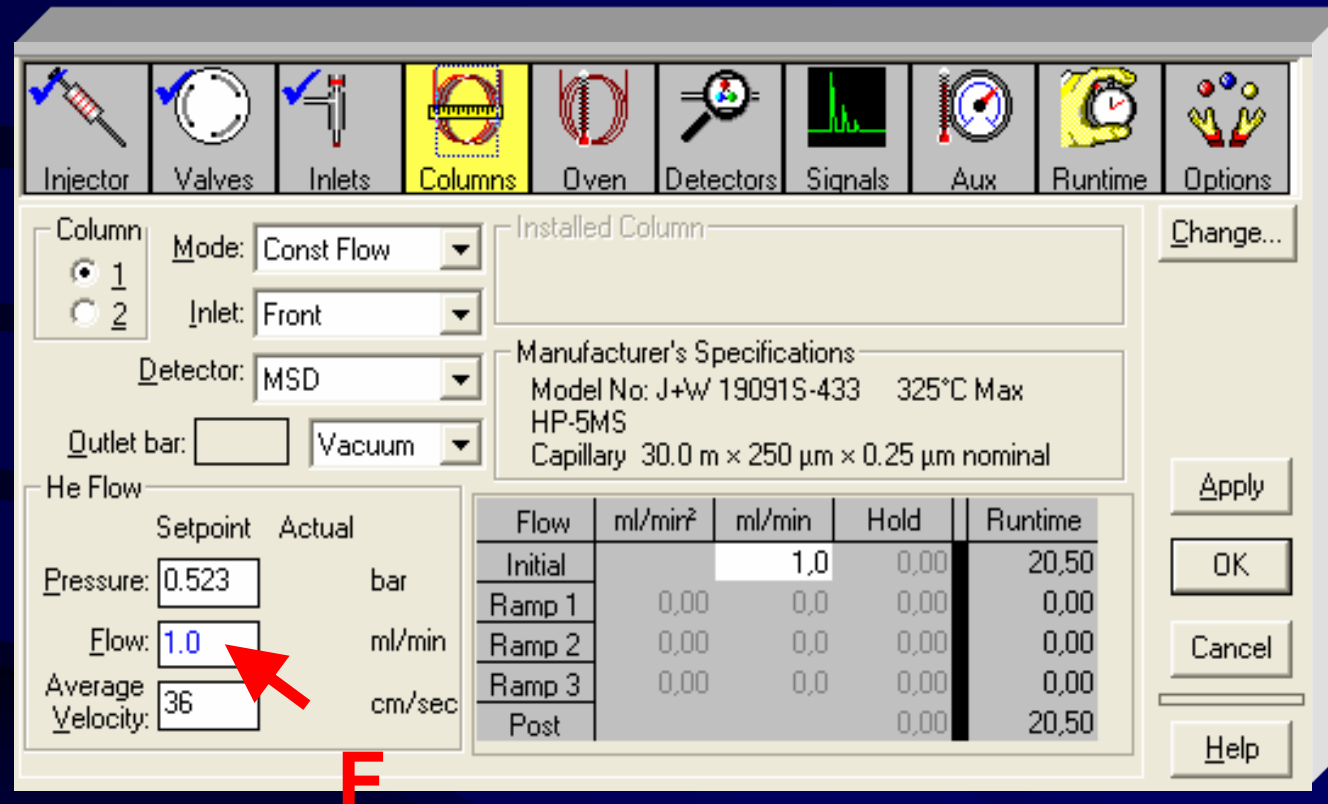
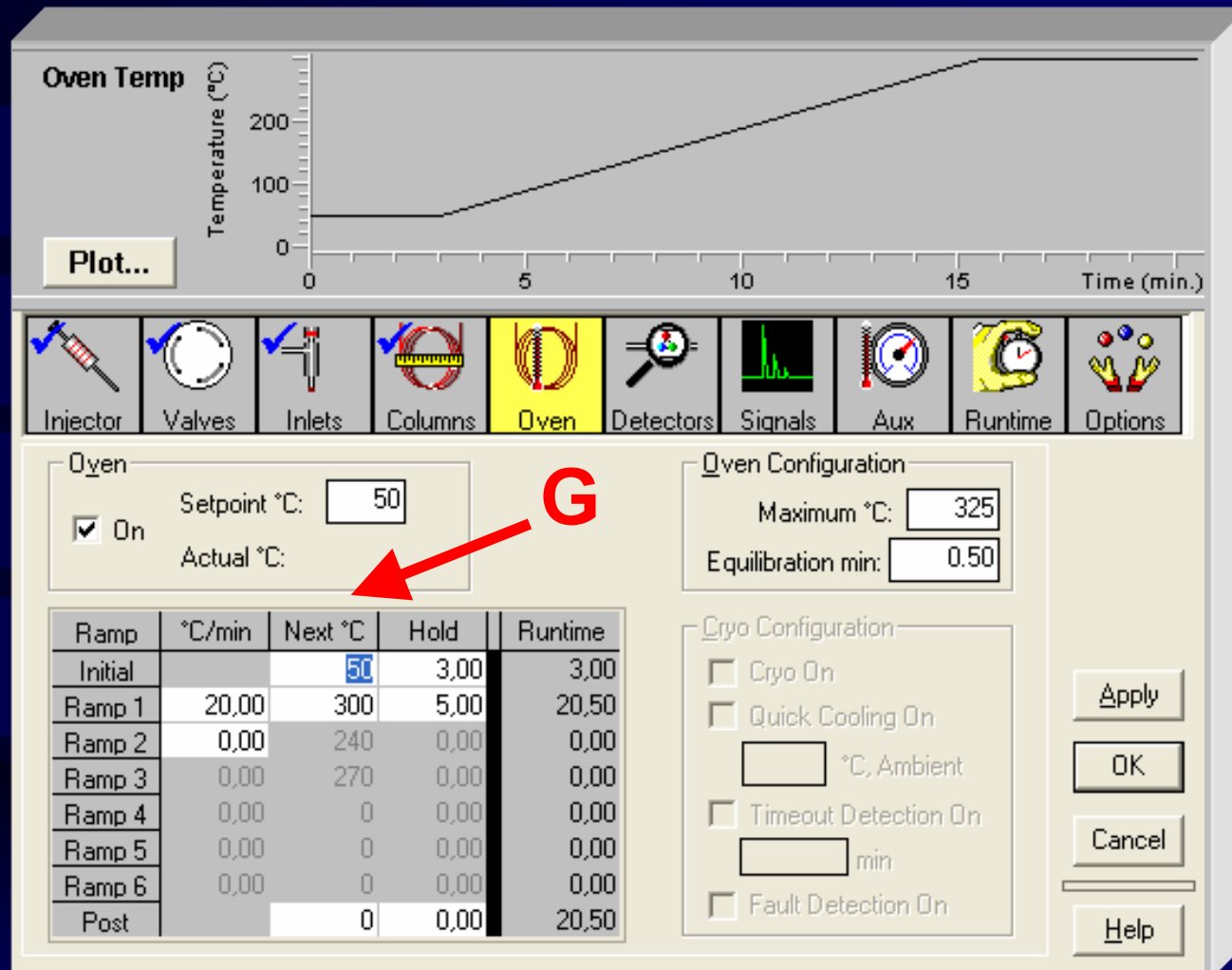


Abb. II.2.2.c: Die Programmierung des Säulenflusses

II Experimenteller Teil

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen



Oven Temp

Temperature (°C)

Time (min.)

Plot...

Injector Valves Inlets Columns **Oven** Detectors Signals Aux Runtime Options

Oven

On Setpoint °C: Actual °C:

Oven Configuration

Maximum °C: Equilibration min:

Ramp	°C/min	Next °C	Hold	Runtime
Initial		<input type="text" value="50"/>	3,00	3,00
Ramp 1	20,00	300	5,00	20,50
Ramp 2	0,00	240	0,00	0,00
Ramp 3	0,00	270	0,00	0,00
Ramp 4	0,00	0	0,00	0,00
Ramp 5	0,00	0	0,00	0,00
Ramp 6	0,00	0	0,00	0,00
Post		0	0,00	20,50

Cryo Configuration

Cryo On

Quick Cooling On

°C, Ambient

Timeout Detection On

min

Fault Detection On

Apply OK Cancel Help

Abb. II.2.2.d: Die Programmierung des Säulenofens

II Experimenteller Teil

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

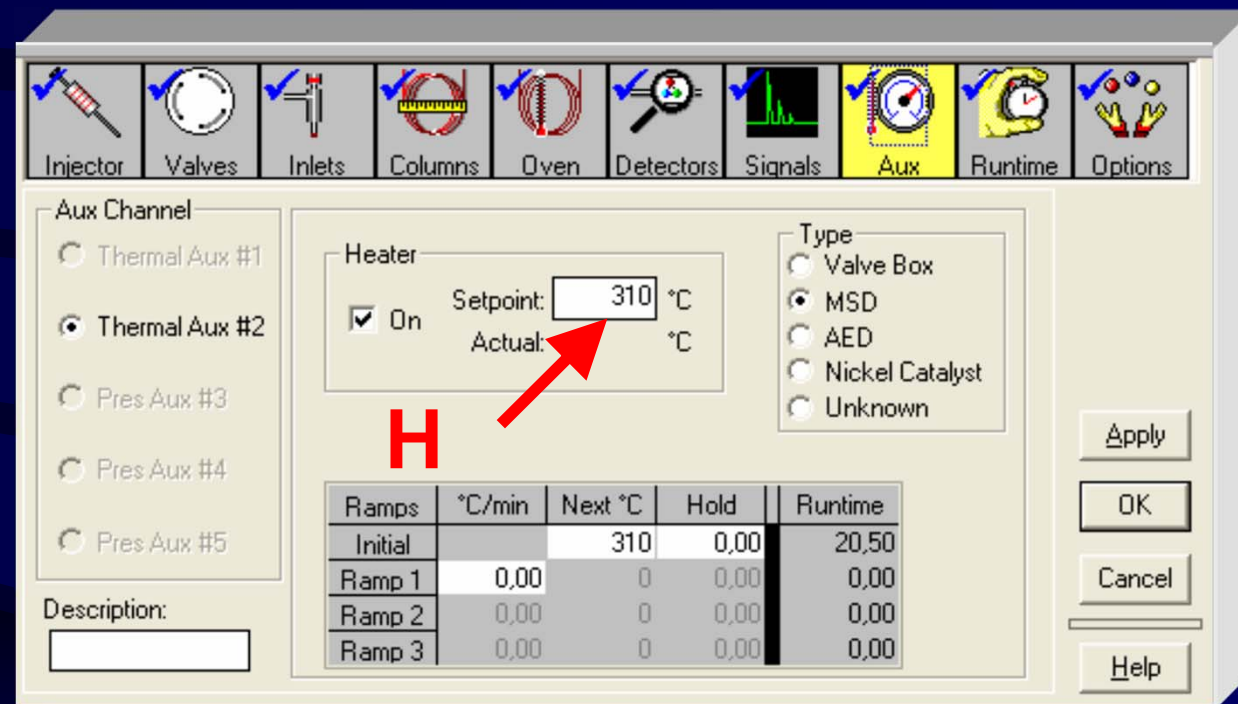


Abb. II.2.2.e: Die Einstellung der Transferline-Temperatur

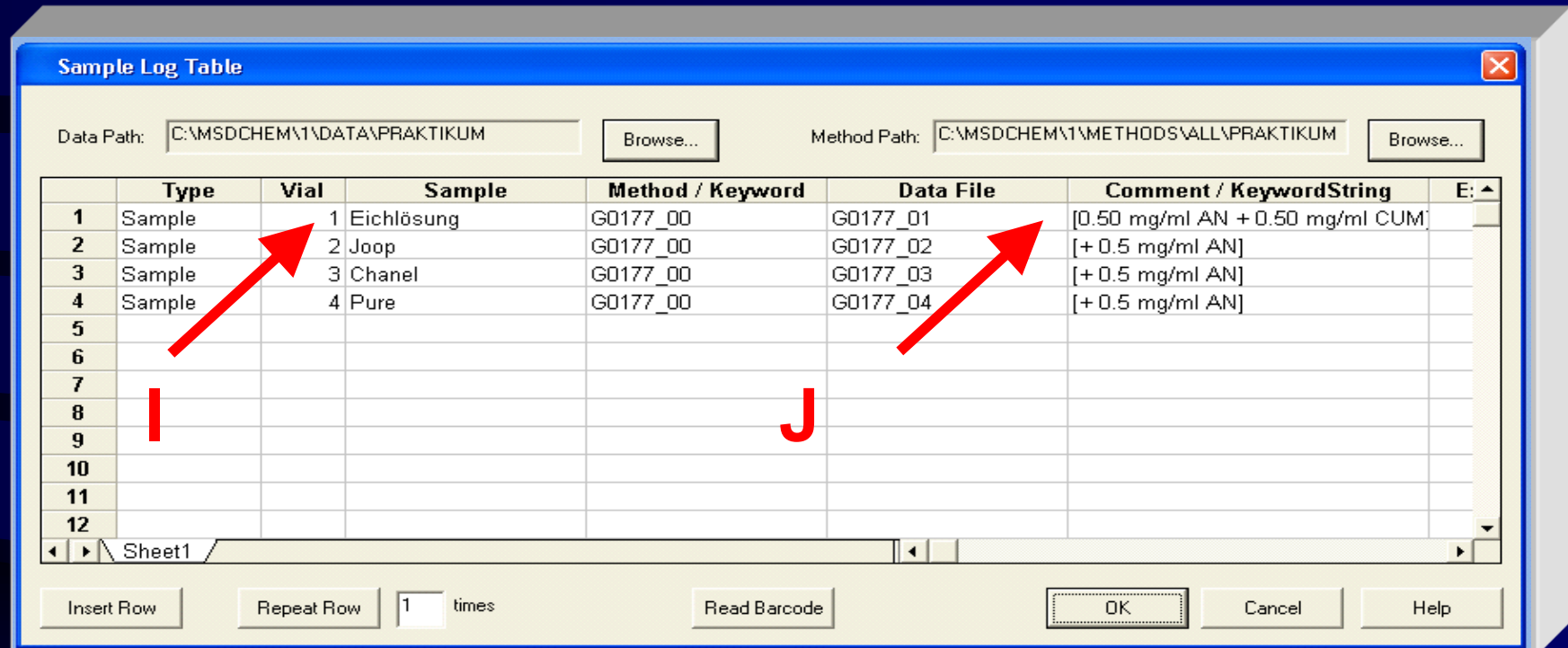


Abb. II.2.2.f: Die Programmierung des Autosamplers

II Experimenteller Teil

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

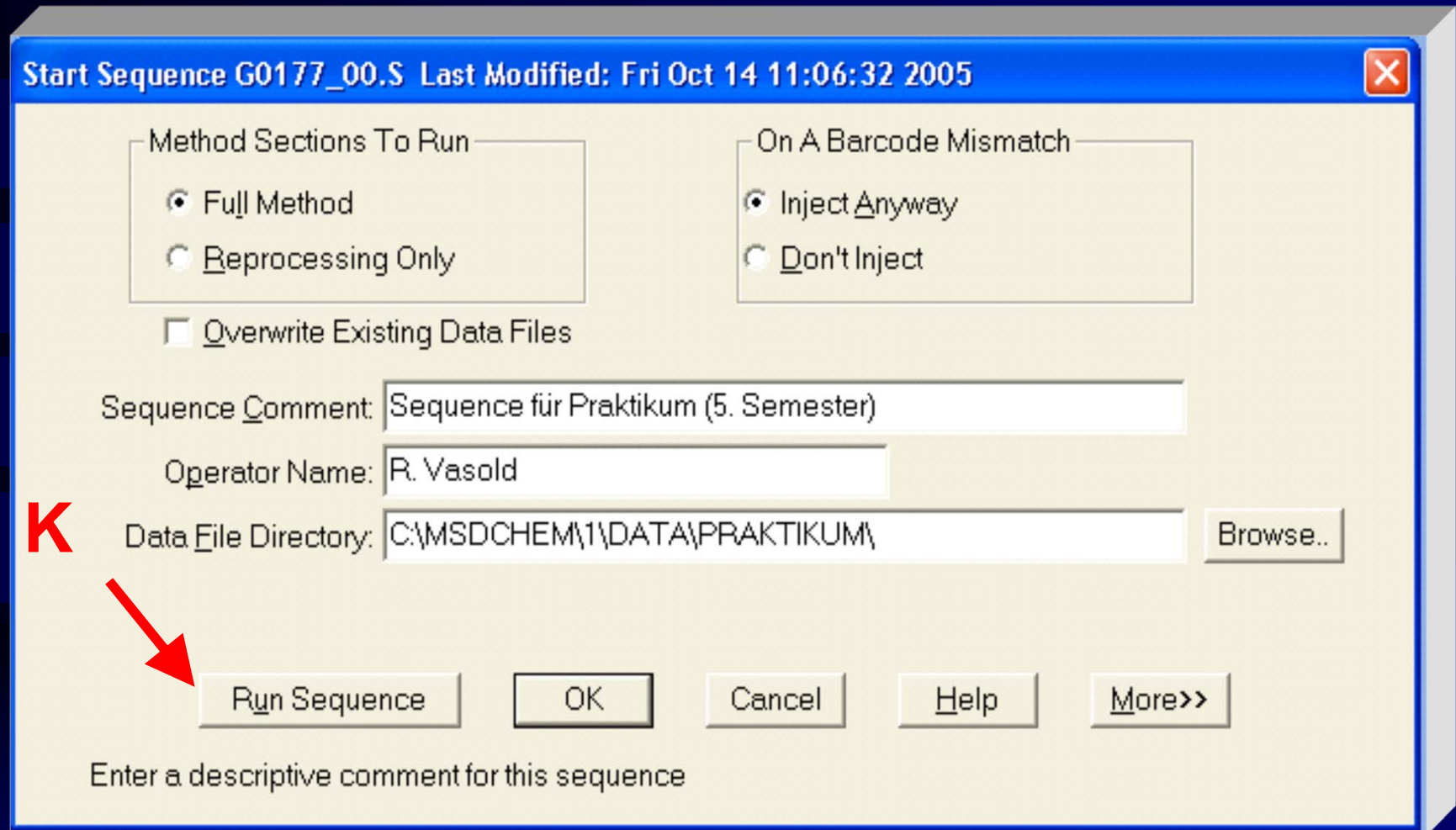


Abb. II.2.2.g: Das Starten der Probensequence

II Experimenteller Teil

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

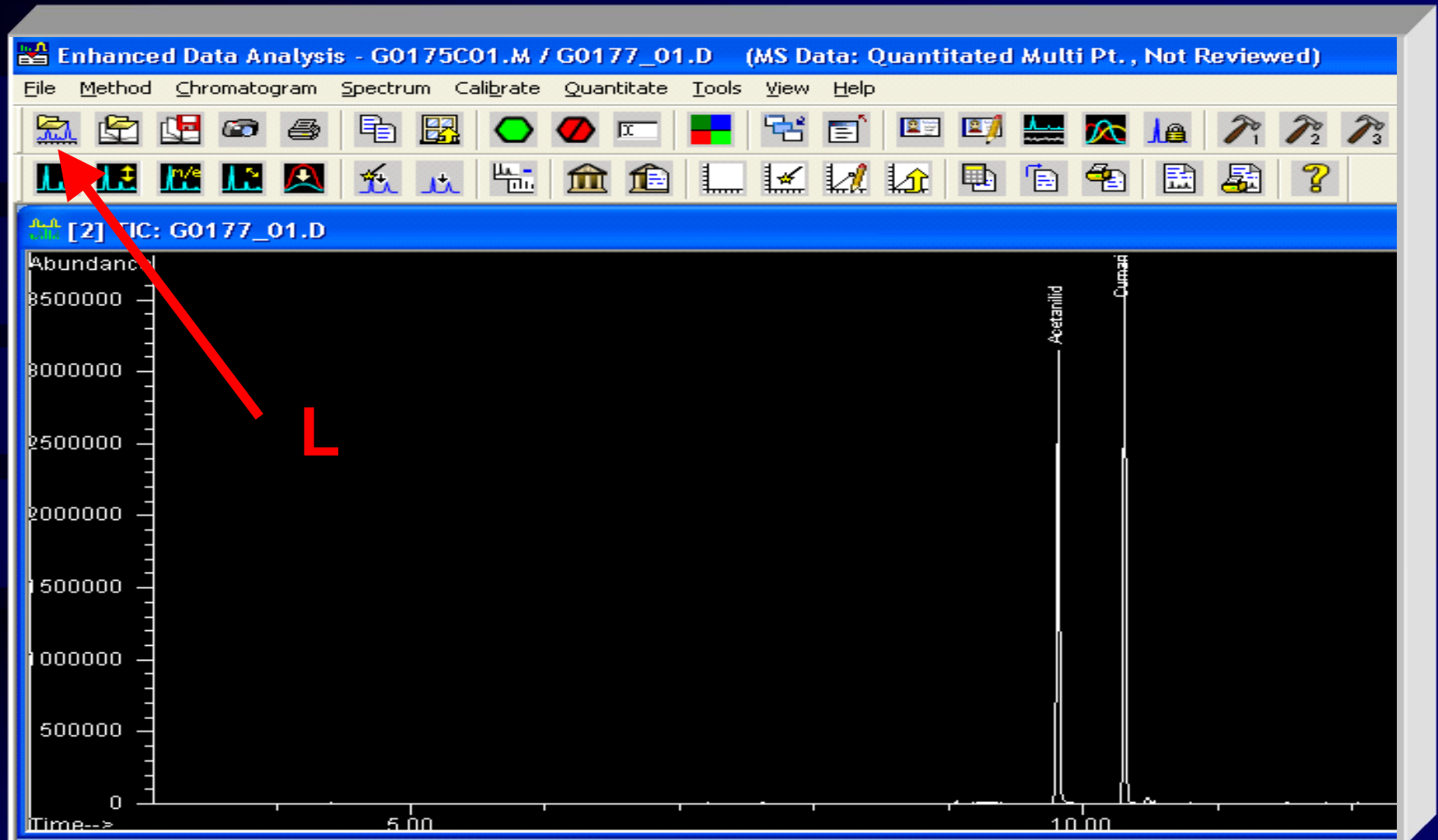


Abb. II.2.2.h: Der Menüpunkt: Data-Analysis

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

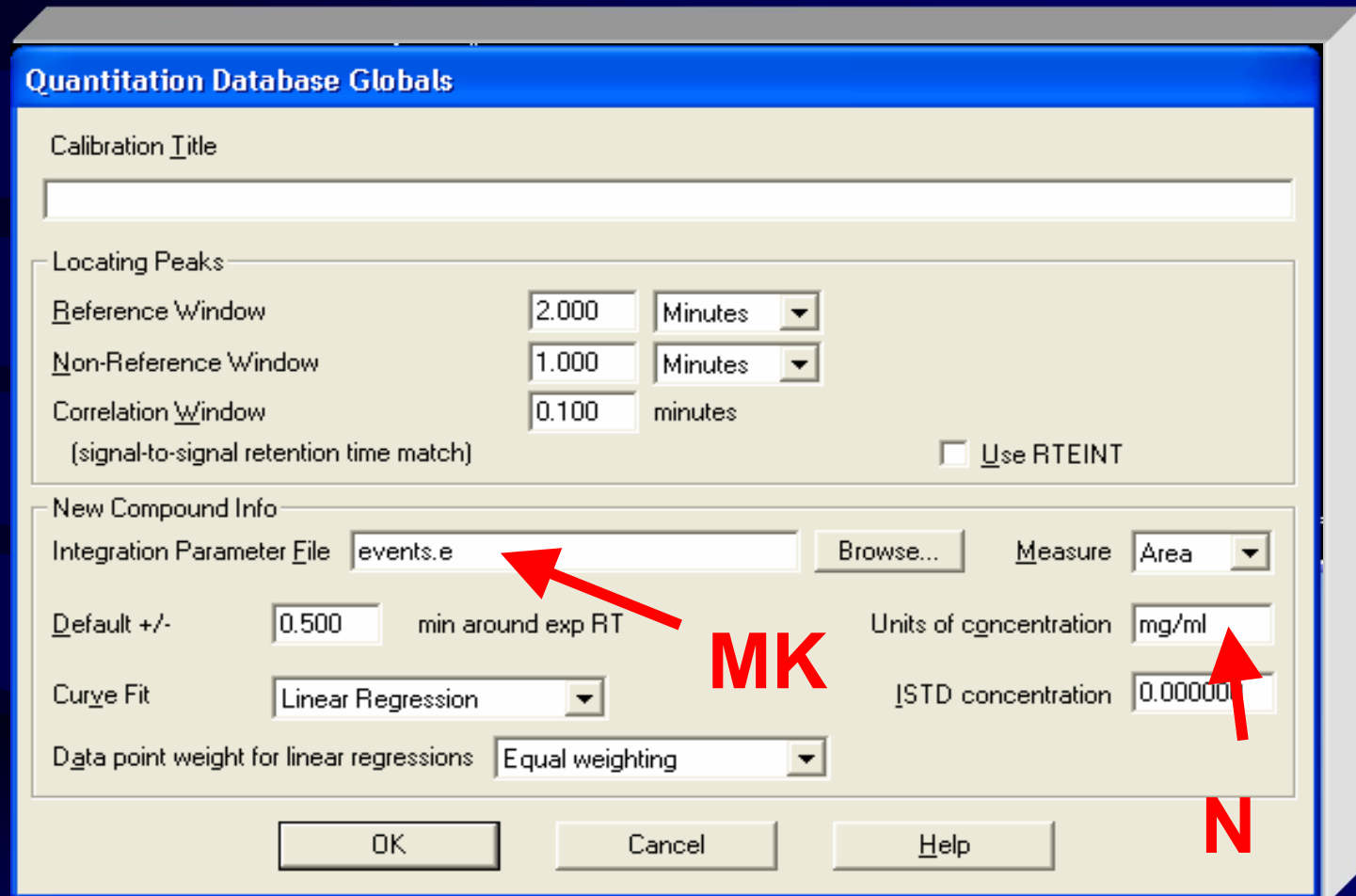


Abb. II.2.2.i: Das Erstellen der Kalibriertabelle

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analyse

Quantitation Report (Not Reviewed)

Data Path : C:\MSDCHEM\1\DATA\PRAKTIKUM\
Data File : G0177_04.D
Acq On : 14 Oct 2005 12:39
Operator : R. Vasold
Sample : Pure
Misc : [+ 0.5 mg/ml AN]
ALS Vial : 4 Sample Multiplier: 1

Quant Time: Oct 20 10:47:45 2005
Quant Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\ALL\PRAKTIKUM\G0175_01.M
Quant Title :
QLast Update : Thu Oct 20 10:47:01 2005
Response via : Initial Calibration

Internal Standards	R.T.	QIon	Response	Conc	Units	Dev(Min)
1) Acetanilid	9.81	TIC	42833309	___	mg/ml	0.00
Target Compounds						Qvalue
2) Cumarin	10.31	TIC	6853012	___	mg/ml	100

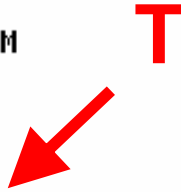


Abb. II.2.2.j: Das Erstellen des Quantitativen Reports

II.3. Aufgaben zum **experimentellen Teil** (Auswahl)

- 1.) Für das verwendete chromatographische System sei eine Durchbruchzeit von 2.5 min gegeben. Berechnen Sie die **lineare Wanderungsgeschwindigkeit** der mobilen Phase u_m in [cm/s] (Länge der Säule 30 Meter).
- 2.) Wie würde sich die Trennleistung der Säule verändern, wenn Sie die lineare Wanderungsgeschwindigkeit u_m **drastisch erhöhen** oder **drastisch reduzieren** würden. Begründen Sie Ihre Aussage mit der **Van-Deemter-Gleichung**.
- 3.) Ermitteln Sie aus dem Eich-Chromatogramm die Retentionszeiten t_R von **Acetanilid** und **Cumarin**. Berechnen Sie für beide Komponenten den jeweiligen Kapazitätsfaktor k und bestimmen Sie den Trennfaktor α zwischen Acetanilid und Cumarin.
- 4.) Berechnen Sie ausgehend von den erhaltenen chromatographischen Ergebnissen der Kalibriermessung den **KF-Wert** für Cumarin.
- 5.) Berechnen Sie mit Hilfe des ermittelten **KF-Wertes** die Konzentration an Cumarin [mg/ml] in den Parfums Joop und Chanel No5.
- 6.) Überprüfen Sie das Chromatogramm des **Parfums Pure (Jil Sander)** mit Hilfe der MS-Spektren auf den möglichen Inhaltsstoff Cumarin.
- 7.) Untersuchen Sie anhand der erhaltenen **EI-Massenspektren** das Chromatogramm des Parfums Chanel auf den möglichen Inhaltsstoff Moschusketon (MW 294).



Chromatographie IV
WS 2022/23 R. Vasold

INSTITUT FÜR
ANALYTISCHE CHEMIE, CHEMO- UND BIOSENSORIK

Praktikum der Analytischen Chemie II

Für Studierende der Chemie



Universität Regensburg