

ANALYTISCHE CHEMIE I

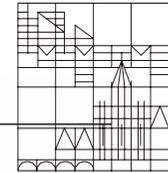
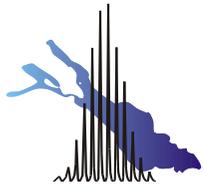
Trennmethoden

1. Grundlagen Chromatographie

WS 2004/2005

Michael Przybylski

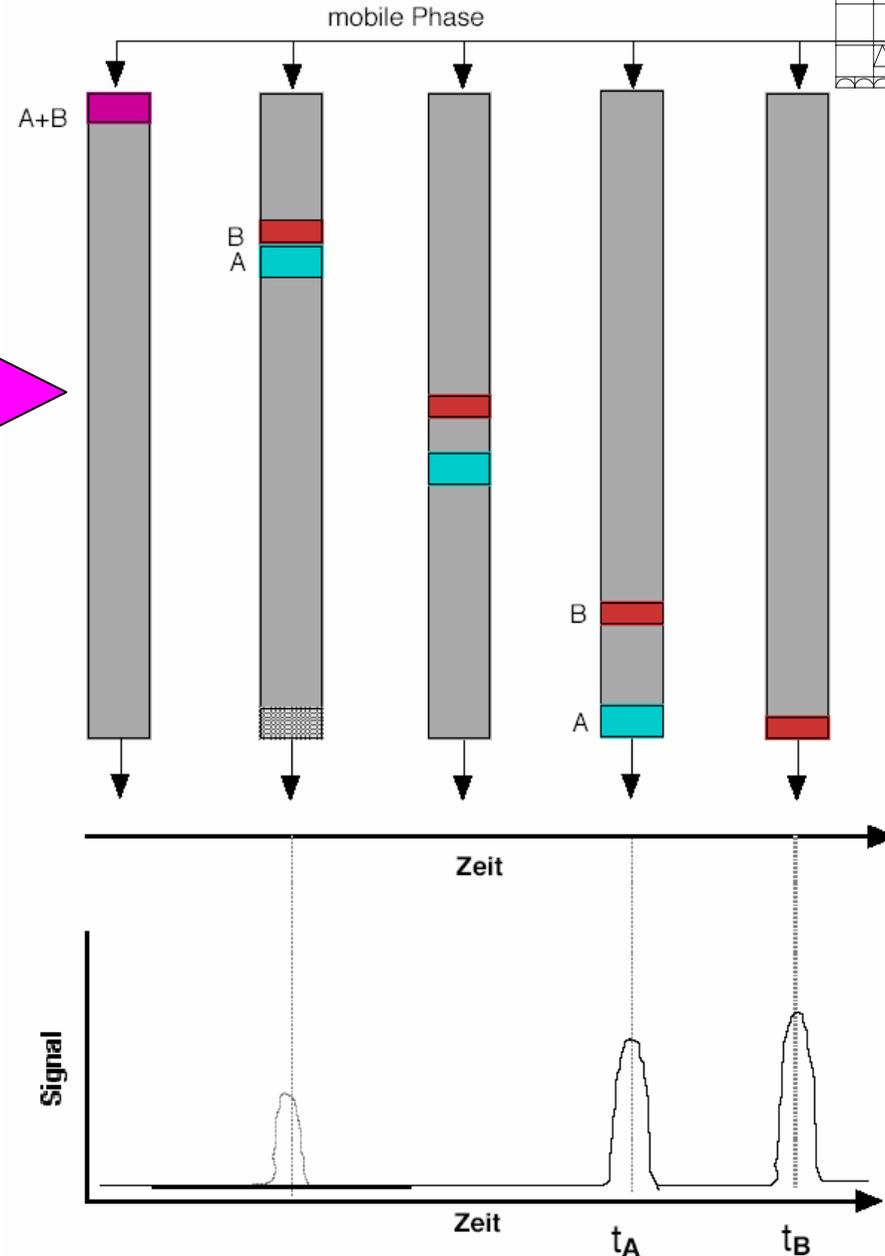
Chromatographie

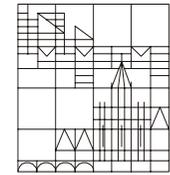
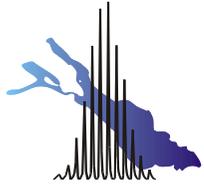


Stoffgemisch

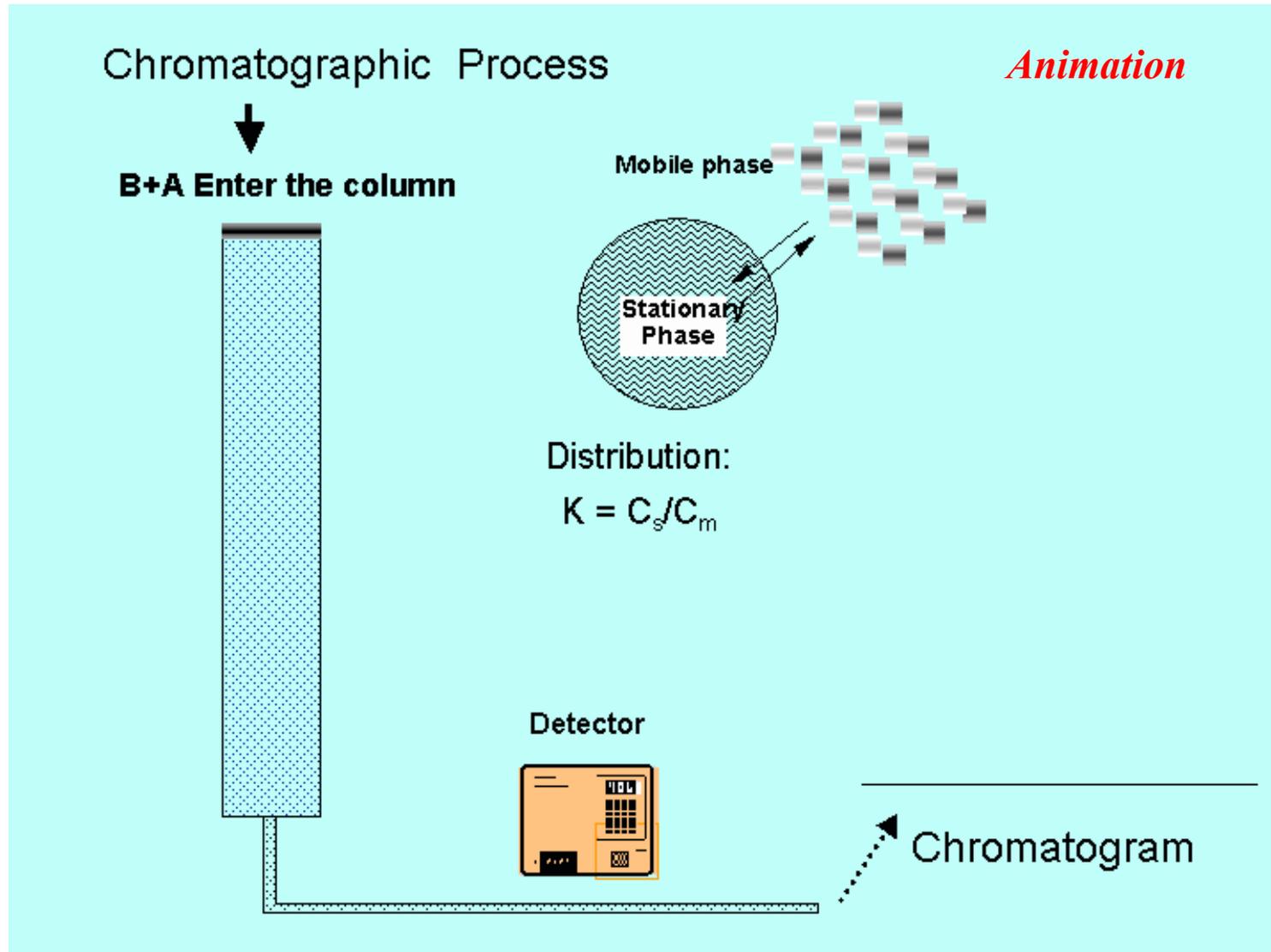


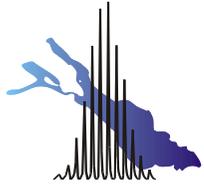
- **Unterschiedliche Adsorption**
- **Unterschiedliche Teilchengröße**
- **Unterschiedliche Löslichkeit**



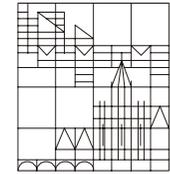


Chromatographie

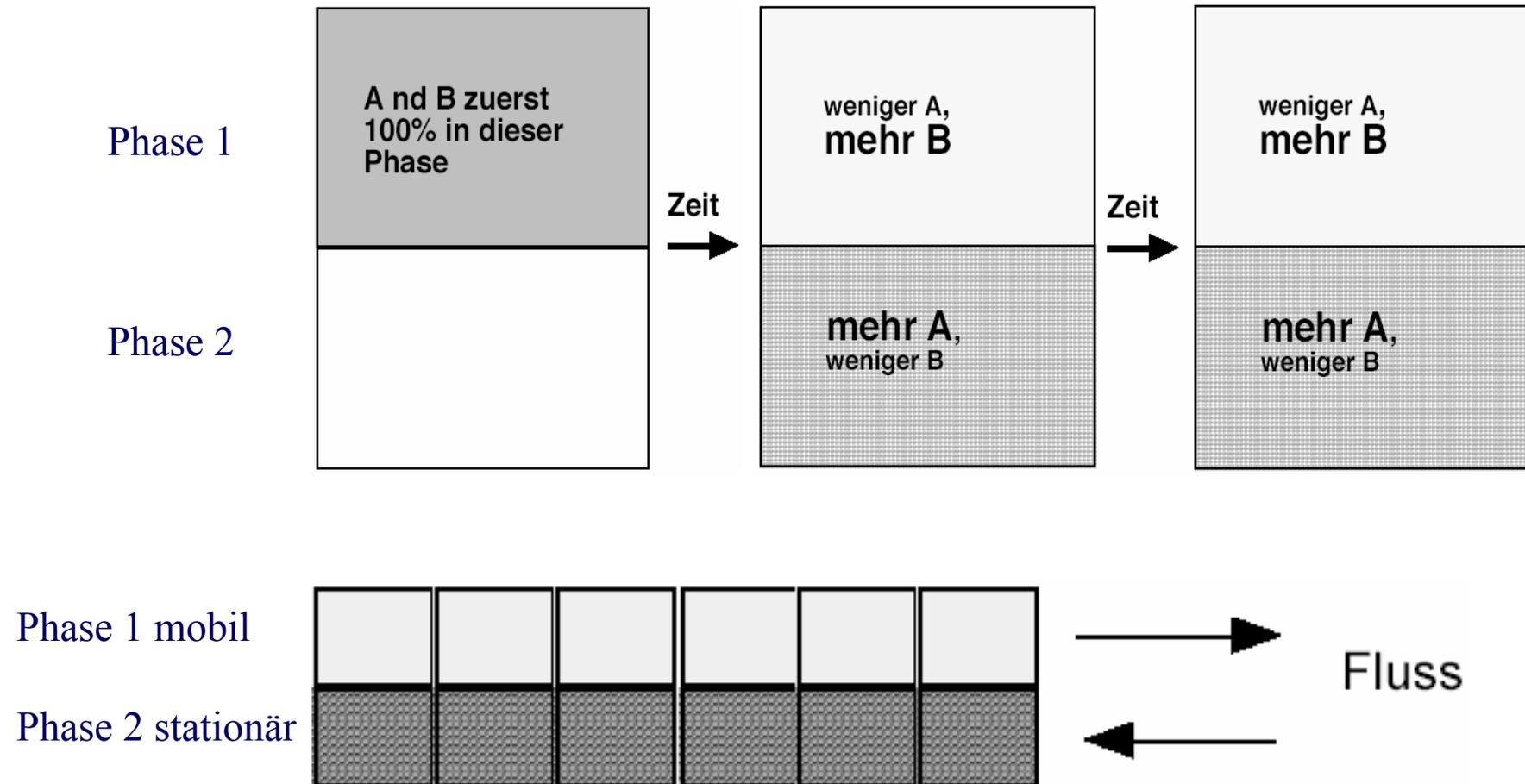


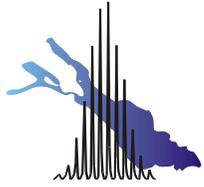


Funktionsprinzip der Chromatographie

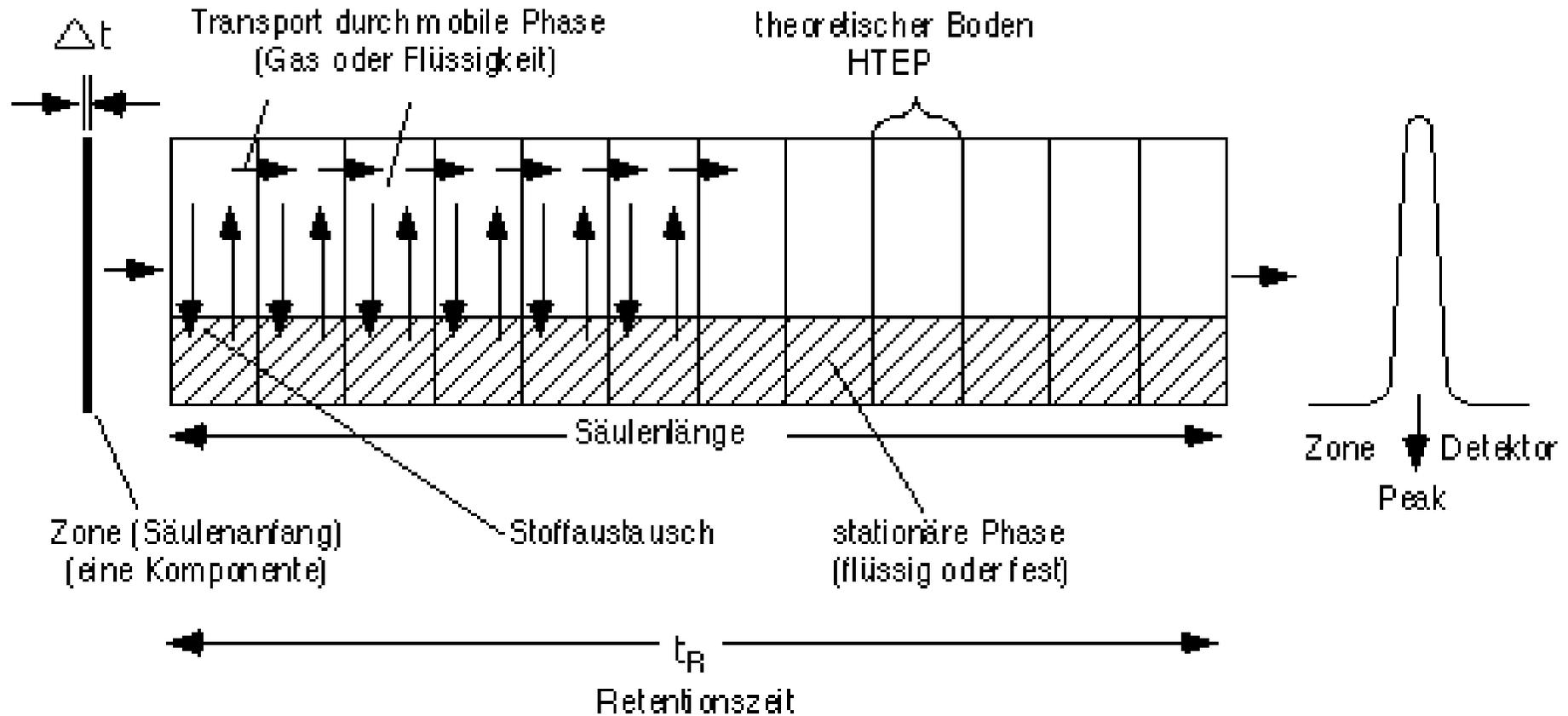
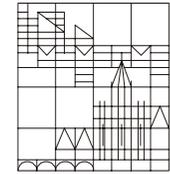


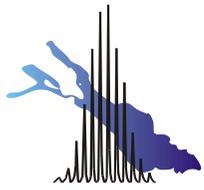
Physikalische Trennmethode, bei der die zu trennenden Komponenten zwischen einer feststehenden (stationären) und einer beweglichen (mobilen) Phase verteilt werden.



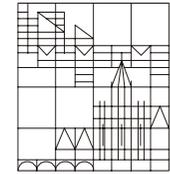


Chromatographie Grundlagen





Einflussfaktoren der Wandergeschwindigkeit einer Verbindung in einem Chromatographischen System

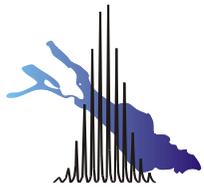


Verteilungskoeffizient K beschreibt das Verhältnis der Konzentrationen der Substanz A in der mobilen und der stationären Phase im thermodynamischen Gleichgewicht.

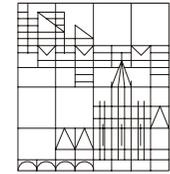


$$K = \frac{[A]_{\text{stationär}}}{[A]_{\text{mobil}}}$$

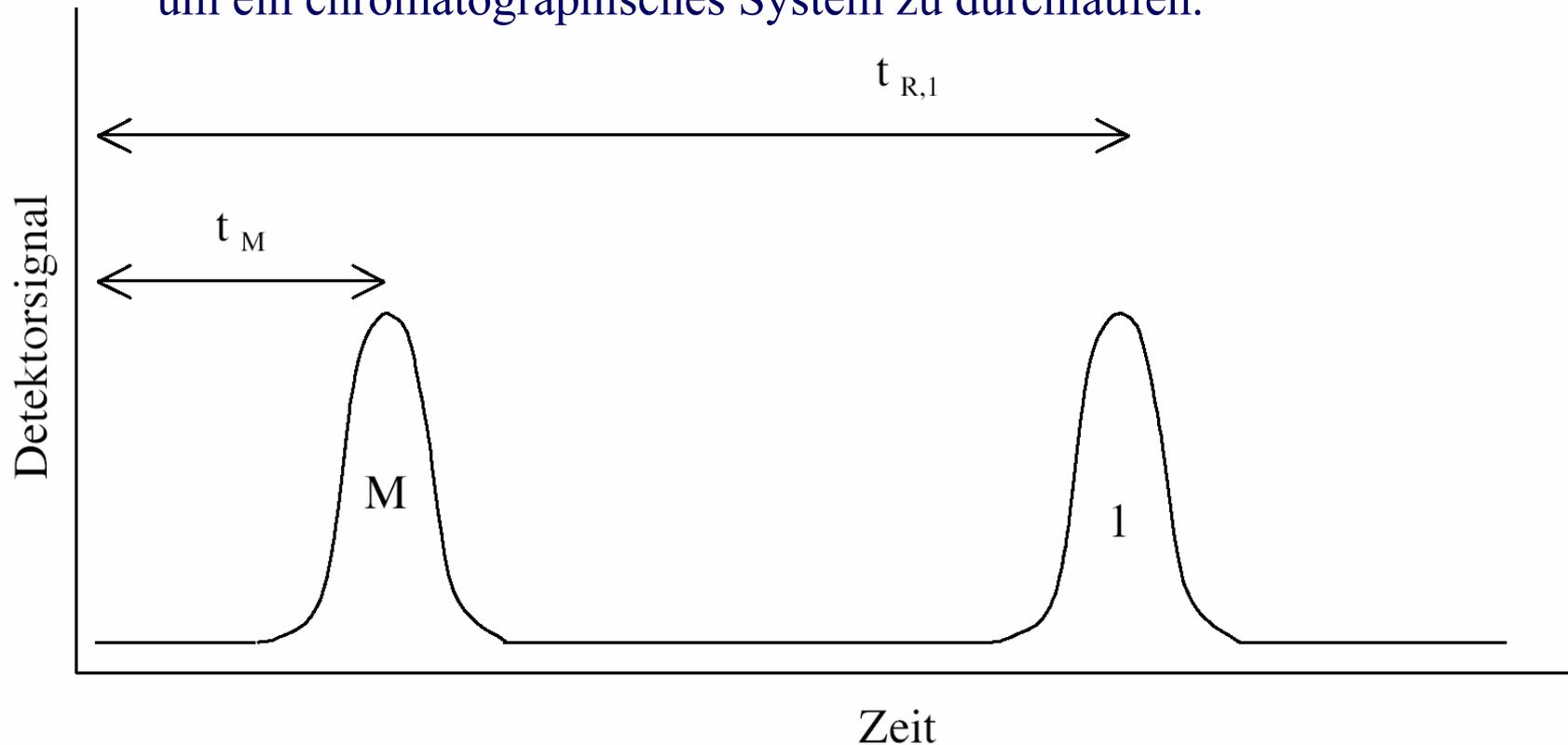
Falls verschiedene Substanzen in einem gegebenen chromatographischen System verschiedene K 's aufweisen, wird eine Trennung erreicht.



Einflussfaktoren der Wandergeschwindigkeit einer Verbindung in einem Chromatographischen System

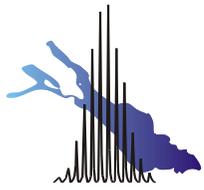


Retentionszeit t_R beschreibt die Zeit die eine Substanz braucht um ein chromatographisches System zu durchlaufen.

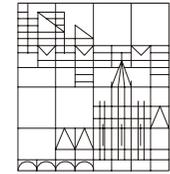


Der erste Peak mit der Retentionszeit t_M stellt eine Substanz dar, die von der stationären Phase nicht zurückgehalten wird.

t_M wird häufig als *dead time* oder *sovent delay* bezeichnet.



Einflussfaktoren der Wandergeschwindigkeit einer Verbindung in einem Chromatographischen System



Kapazitätsfaktor k' (auch Retentionsfaktor) beschreibt die Wanderungsgeschwindigkeit von einer Substanz in einer Säule.

$$k'_A = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

$$k'_A = K_A \frac{V_S}{V_M}$$

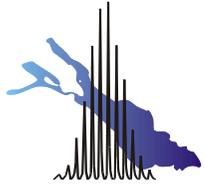
K_A – der Verteilungskoeffizient von A ;
 V_S – das Volumen der stationären Phase;
 V_M – das Volumen der mobilen Phase

Selektivitätsfaktor α beschreibt die Wanderungsgeschwindigkeit zweier Substanzen A und B relativ zueinander.

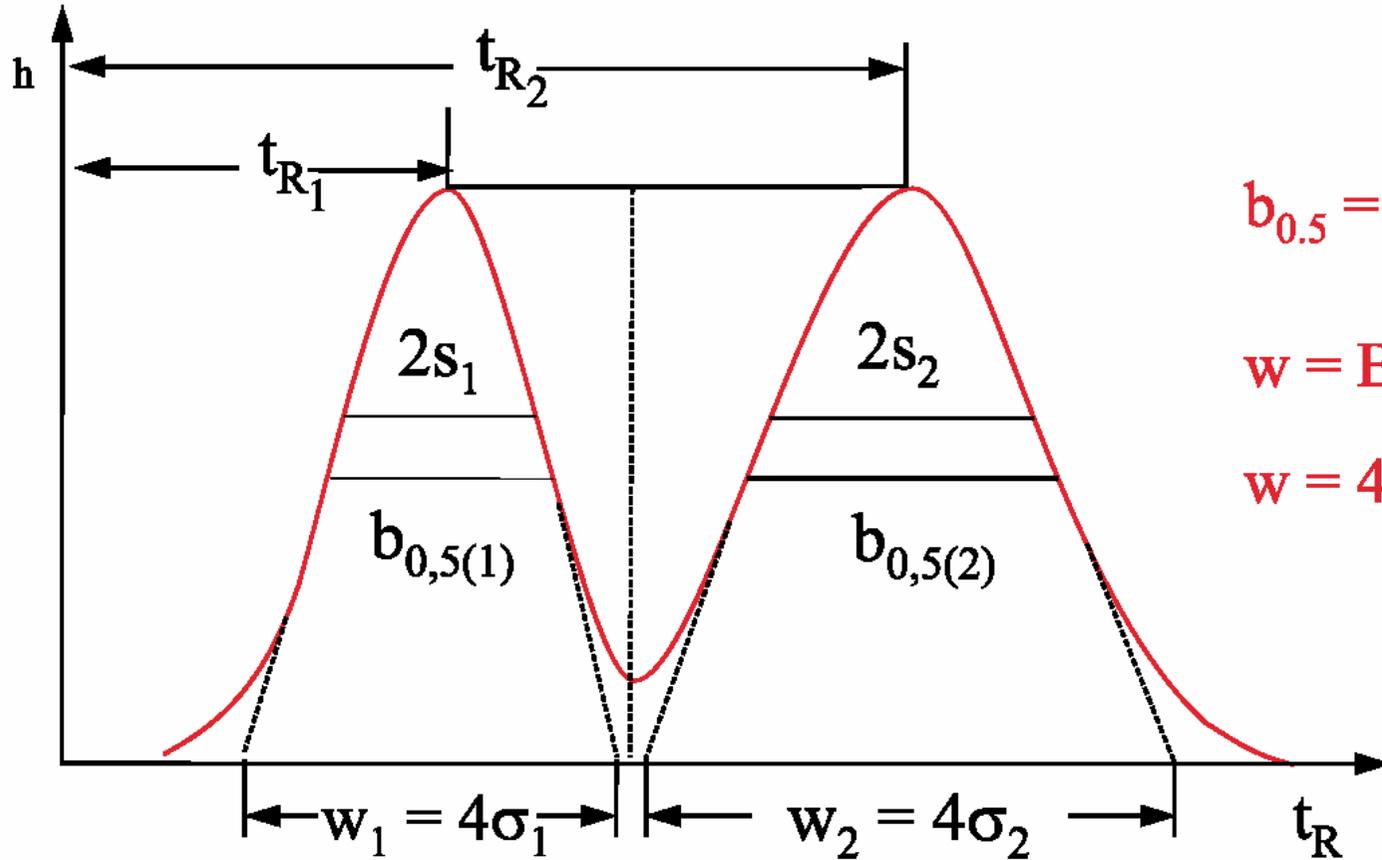
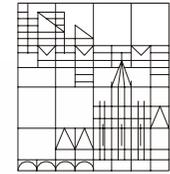
$$\alpha = \frac{K_B}{K_A}$$

$$\alpha = \frac{t_{R,B} - t_M}{t_{R,A} - t_M}$$

$t_{R,B}$ – die Retentionszeit der Substanz B ;
 $t_{R,A}$ – die Retentionszeit der Substanz A .



Auflösung



$$b_{0.5} = 2.354\sigma$$

$w = \text{Basisbreite}$

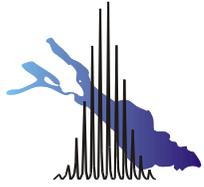
$$w = 4\sigma$$

Die relative Position beider Peaks wird durch die relative Retention r definiert

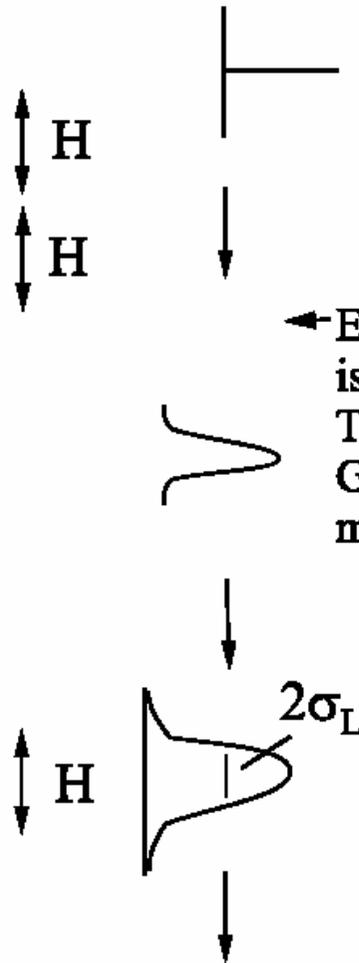
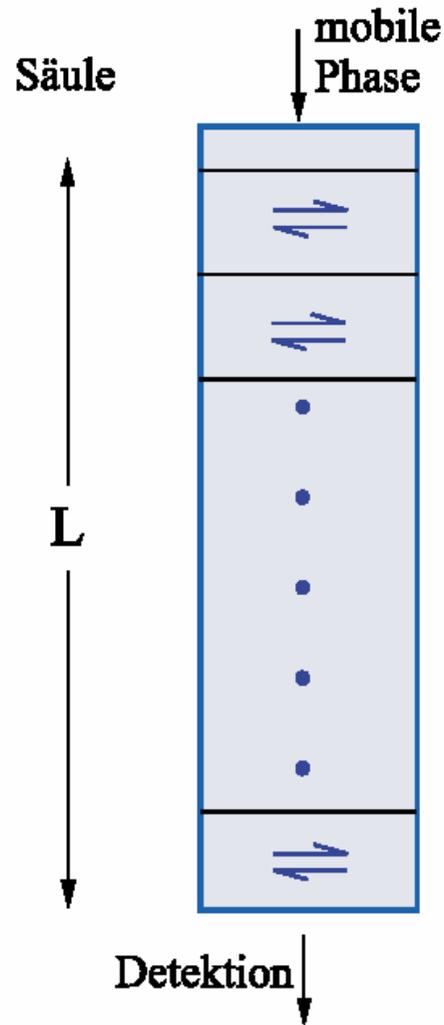
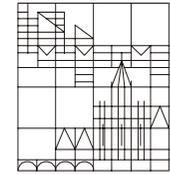
$$k' = \frac{t_s}{t_m}$$

$$r = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{t_{s2}}{t_{s1}}$$

$$t_R = t_m + t_s$$



Theorie der Böden



theoretische
Trennstufenhöhe H

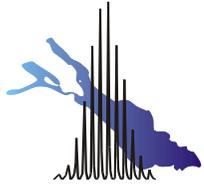
$$H = \frac{\sigma_L^2}{L}$$

← Eine Trennstufe ("theoretischer Boden")
ist ein Teilstück der chromatographischen
Trennstrecke, in dem gerade mal eine
Gleichgewichtseinstellung zwischen
mobiler und stationärer Phase stattfindet

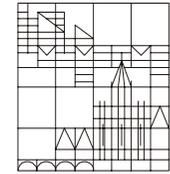
Bodenzahl N

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

Es folgt, daß
$$N = \frac{\sigma_L^2}{H^2} = \frac{L^2}{\sigma_L^2}$$



Effizienz einer chromatographischen Säule



Anzahl der theoretischen Böden

Bodenhöhe H

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma^2}$$

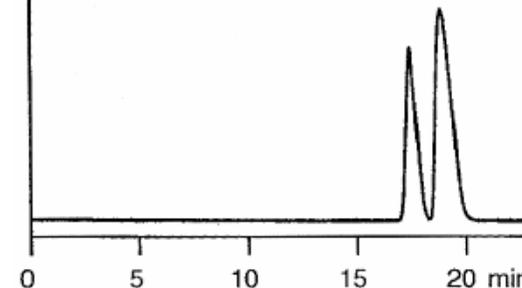
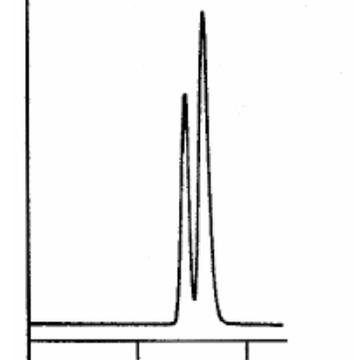
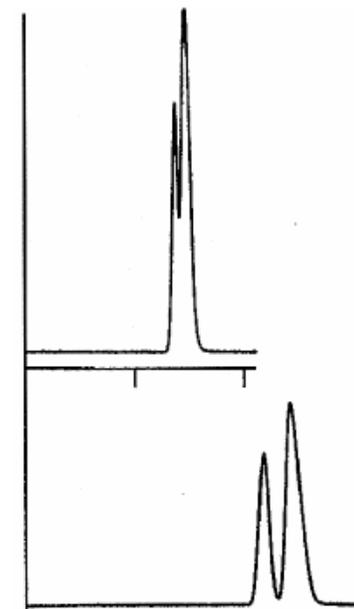
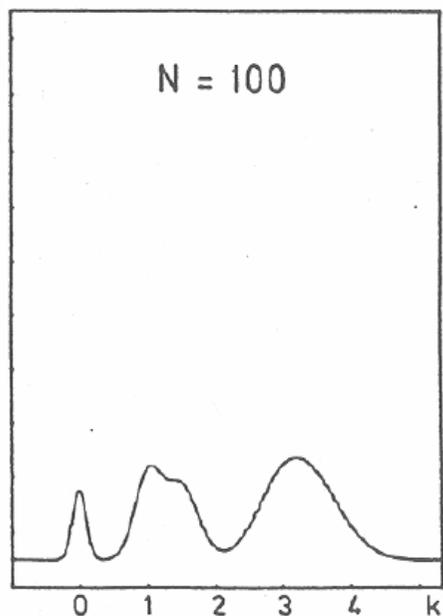
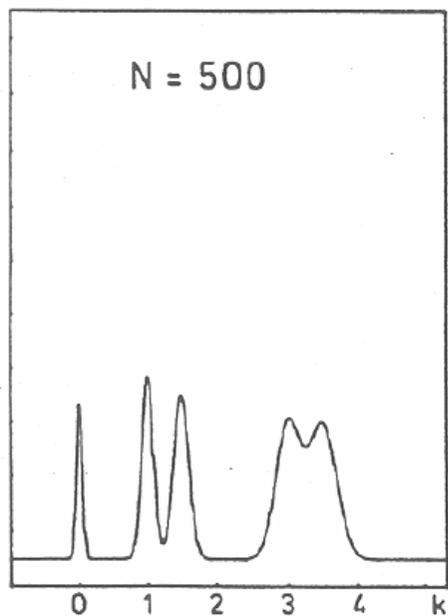
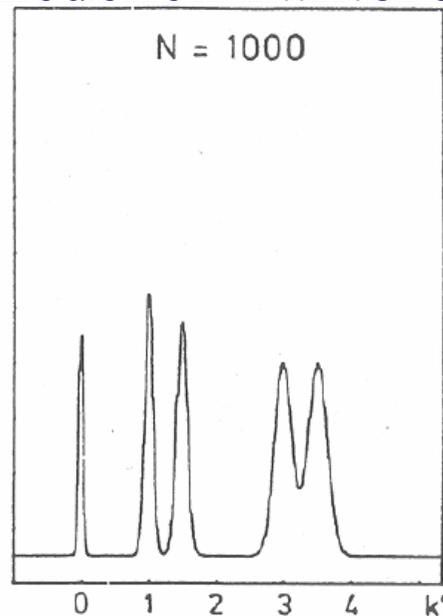
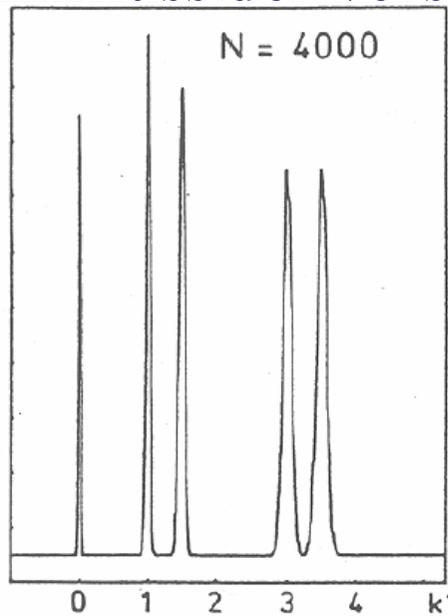
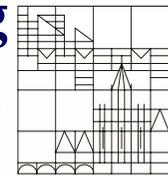
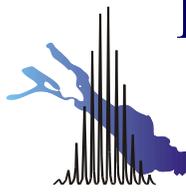
$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2$$

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

Bodenzahl und Bodenhöhe für typische Gaschromatographie (GC)- und Hochdruck-Flüssigchromatographie (HPLC)-Säulen

Säulentyp	N (pro Säule)	H (mm)
GC, Kapillarsäulen, 25m		
0,5 mm Innendurchmesser	20'000 – 50'000	0,5 – 1,3
0,1mm Innendurchmesser	30'000 - 100'000	0,2 – 0,6
HPLC, 25cm		
10mm Partikel	2'500 – 5'000	0,05 – 0,1
3mm Partikel	8'000 – 18'000	0,02 – 0,05

Einfluss der verschiedenen Faktoren auf die Auflösung

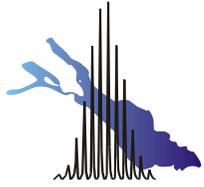


unvollständige
Auflösung

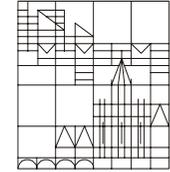
k erhöhen

α erhöhen

N erhöhen



Dynamische Theorie

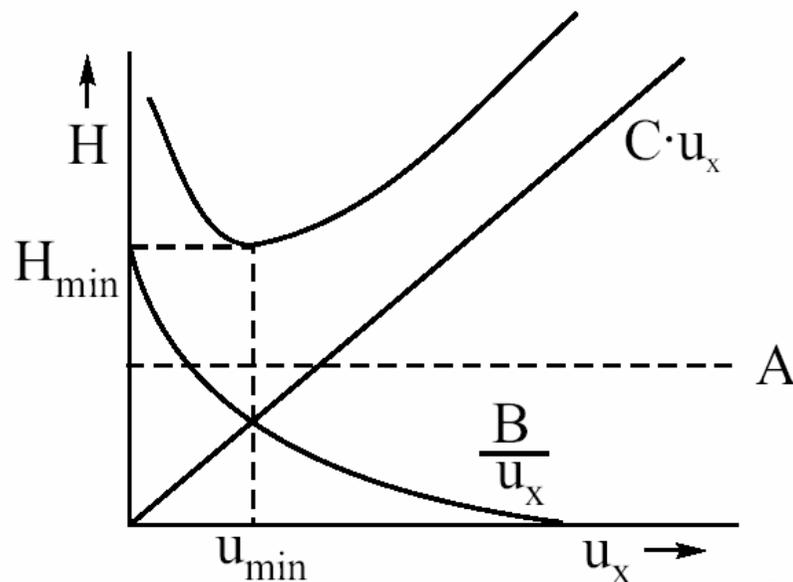


▪ Die dynamische Theorie beschreibt den chromatographischen Trennprozess in der Säule als dynamischen Prozess und betrachtet Massentransfer- und Diffusionsvorgänge.

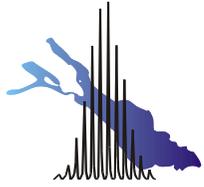
▪ In der dynamischen Theorie wird die Trennstufenhöhe mit der Strömungsgeschwindigkeit der mobilen Phase verknüpft.

van Deemter-Gleichung

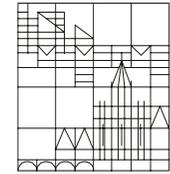
$$H = A + \frac{B}{u_x} + C \cdot u_x$$



H = Bodenhöhe
 u_x = lineare Fließgeschwindigkeit
 $u_{\min} = \sqrt{\frac{B}{C}}$
 $H_{\min} = A + 2 \cdot \sqrt{B C}$



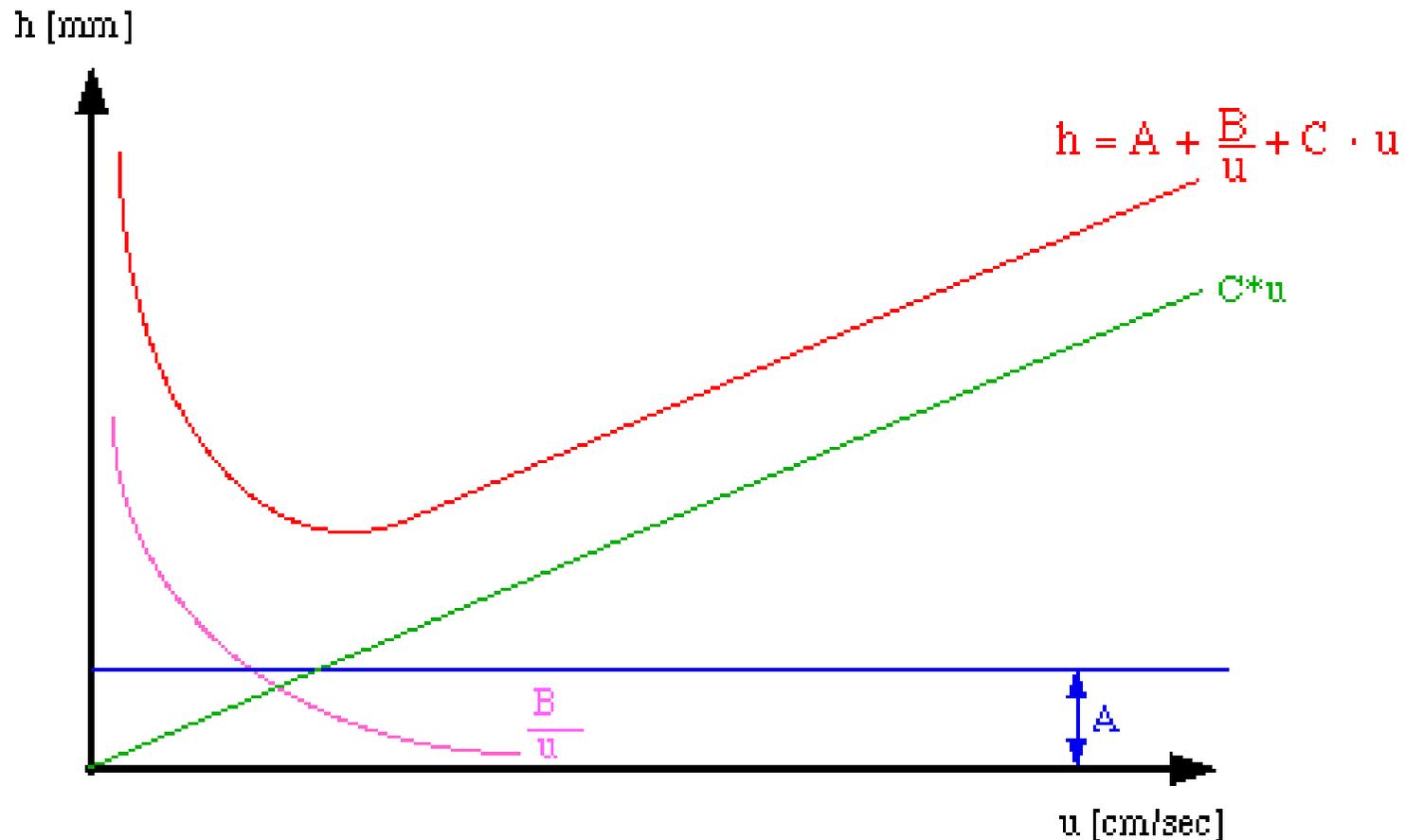
van Deemter-Gleichung

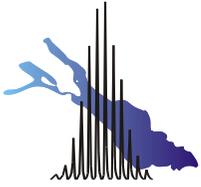


Der A - Term beschreibt die Streudiffusion ("Eddy-Diffusion") in einer gepackten Säule

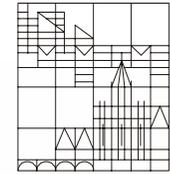
Der B - Term beschreibt den Einfluß der molekularen Diffusion entlang der Säulenachse (Axialdiffusion)

C - Term beschreibt, mit welcher Geschwindigkeit sich Probemoleküle zwischen der mobilen und stationären Phase verteilen

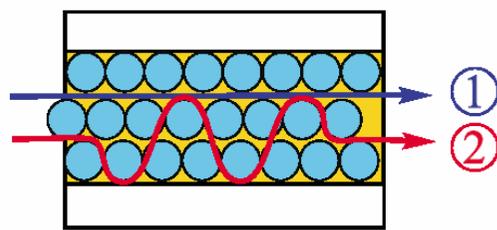




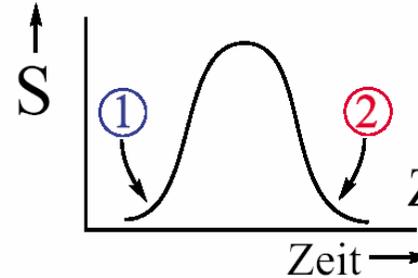
Termen der van Deemter-Gleichung



1. A-Term - Streudiffusion (Eddy-Diffusion)

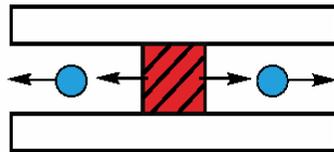


unterschiedliche Fließstrecken
 d_p = Teilchendurchmesser
 λ = Packungsfaktor



$$A = 2 \cdot \lambda \cdot d_p$$

2. B-Term - longitudinale Diffusion

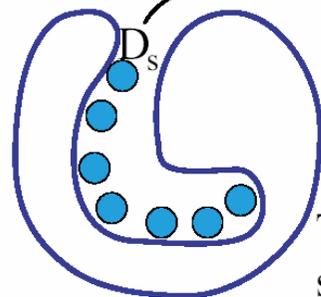


Diffusion der Analytenmoleküle
 D_m = Diffusionskonstante in der mobilen Phase

$$B = 2 \cdot D_m \cdot \gamma$$

γ = "Labyrinthfaktor"

3. C-Term - Massentransfer

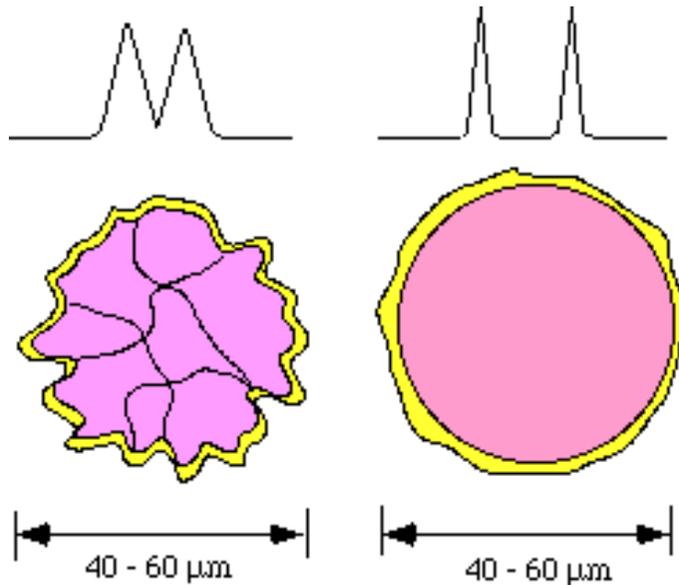
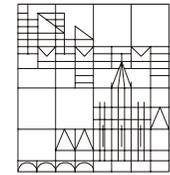
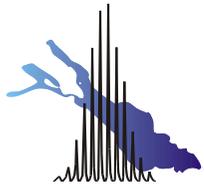


Teilchen der stationären Phase

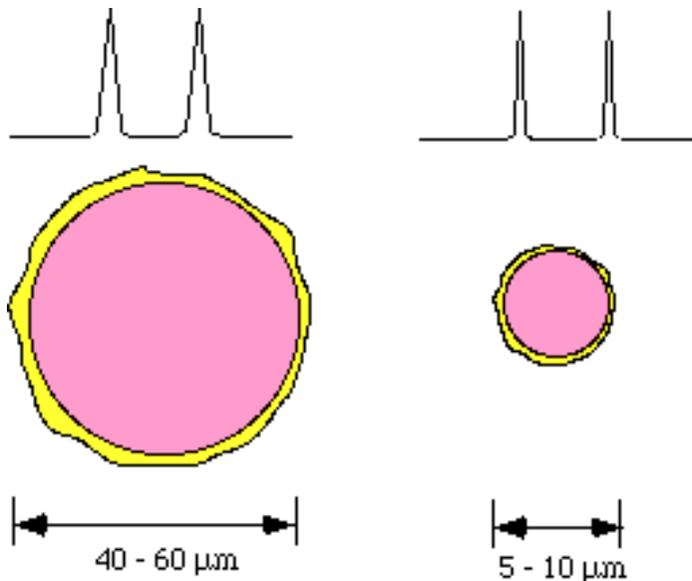
$$C \approx \frac{k'}{(1+k')^2} \cdot \frac{dp^2}{D_s}$$

D_s = Diffusionskonstante in der stationären Phase
 Gleichgewichtseinstellung zwischen der mobilen und stationären Phase

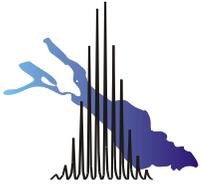
Der Einfluss der Korngröße und der Kornoberfläche



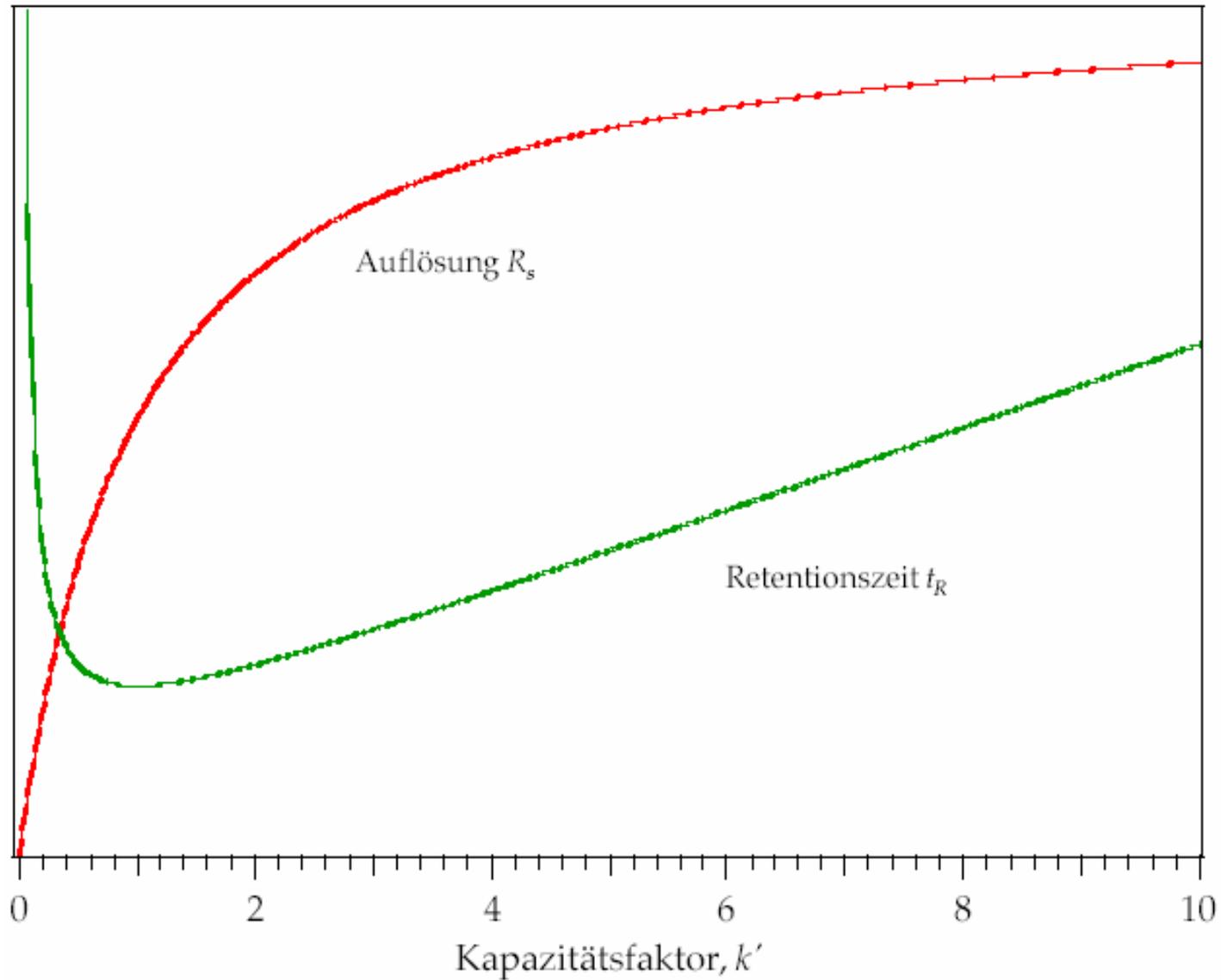
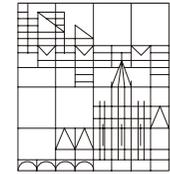
Bei gleicher Korngröße führt eine unregelmäßigere und porösere Kornoberfläche zu breiteren Peaks (schlechtere Auflösung)

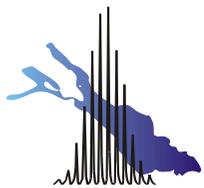


Bei kugelförmigem Packungsmaterial geringer Porosität erhält man bei kleinerer Korngröße eine schmalere Peaks

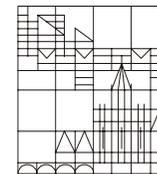


Optimieren einer chromatographischen Methode

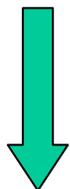




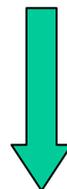
Detector Selectivity



SELECTIVITY

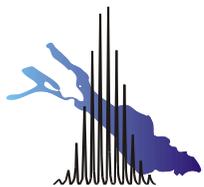


UNIVERSAL

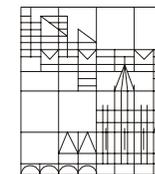


SPECIFIC

A **selective** detector allows one to see only components of interest despite of their co-elution with any others.



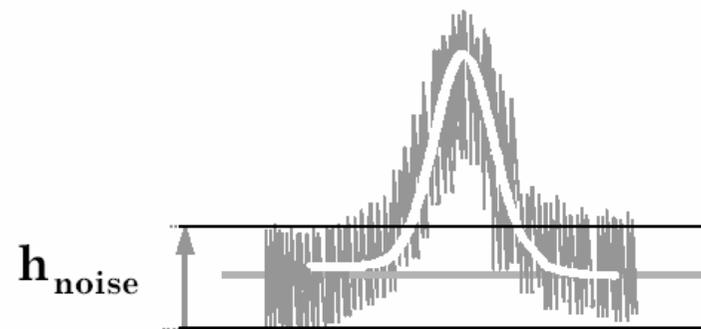
Detector Sensitivity



$$h_{\text{signal}} = 2 \times h_{\text{noise}}$$

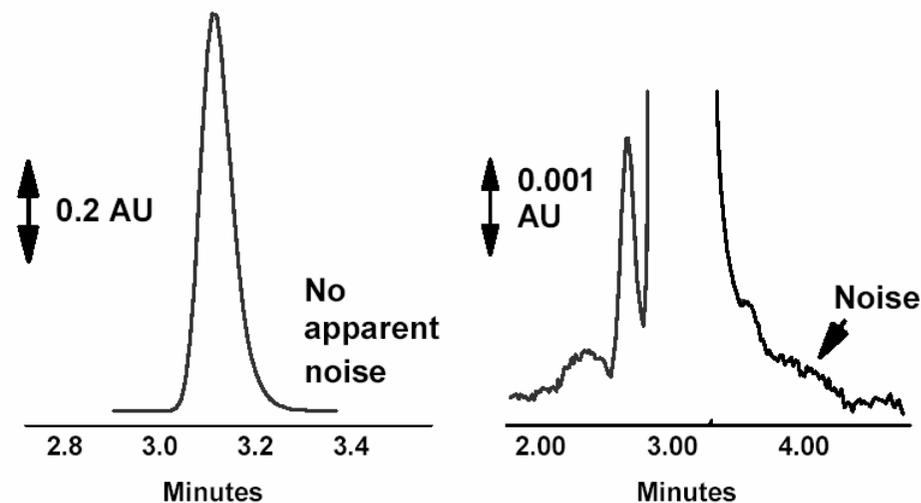
Limit of detection

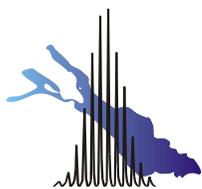
- Lowest concentration that can be detected
- Signal-to-noise ratio of 2:1 or 3:1



Limit of quantitation

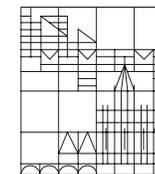
- Lowest concentration that can be determined with acceptable precision
- Signal-to-noise ratio of 10:1





Baseline Stability

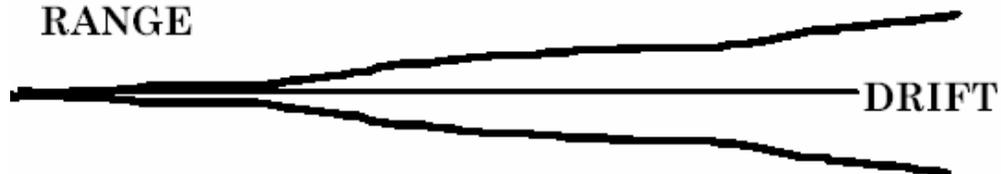
Noise and drift



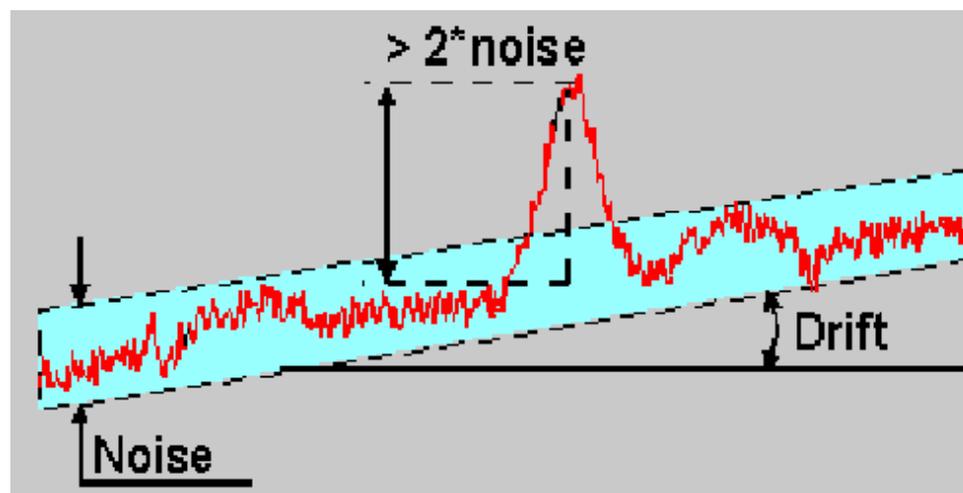
SHORT
RANGE

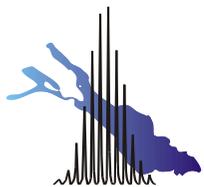


LONG
RANGE

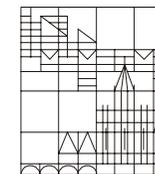


**Noise, drift, and
smallest detectable
peak.**

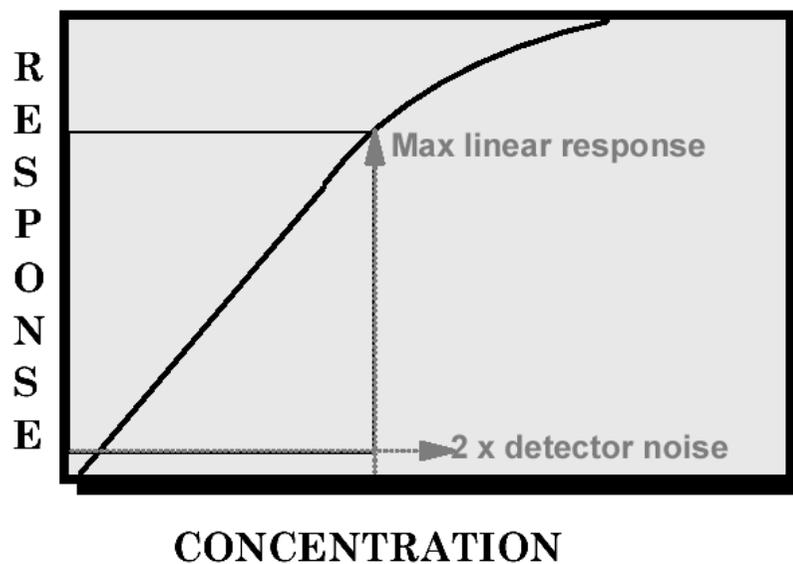




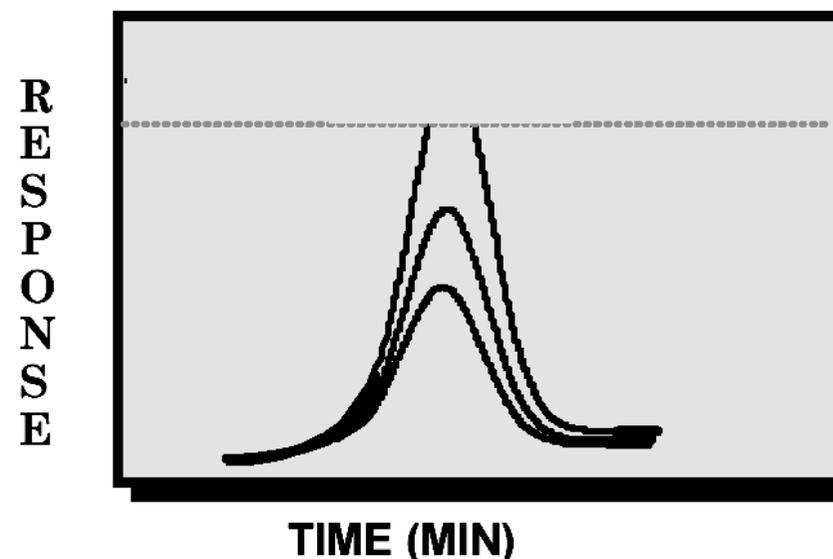
Linear dynamic Range



LINEAR RANGE



DYNAMIC RANGE



The linear dynamic range of a detector is the maximum linear response divided by the detector noise.