

Instrumentalanalytisches Grundpraktikum

Versuch 1 - Gaschromatographie von Terpenen [1]

Autor: Florian KLUIBENSCHEDL

Bericht verfasst am: 6. Januar 2020

Versuchsdurchführung am: 07. Jänner 2020
Gruppe, Matrikelnummer: 6, 11805747
Lehrveranstaltung: Instrumentalanalytisches
Grundpraktikum
Institut: Analytische Chemie
Betreuer:

Zusammenfassung

Inhaltsverzeichnis

1 Ziel des Experiments	3
2 Theoretische Grundlagen	4
2.1 Aufbau eines Gas-Chromatographen und Ablauf einer Analyse	4
2.1.1 Injektionssystem	4
2.1.2 Mobile Phase - Trägergas	5
2.1.3 Stationäre Phase - Trennsäule	5
2.1.4 Säulenofen	5
2.1.5 Detektor	5
2.2 Chromatographische Parameter	6
2.3 Kalibrierung über einen internen Standard	7
3 Praktischer Teil	9
4 Ergebnisse und Auswertung	10
5 Fazit und Diskussion	11
Literaturverzeichnis	12
Reaktionsverzeichnis	12
Abbildungsverzeichnis	12
Tabellenverzeichnis	12

1 Ziel des Experiments

2 Theoretische Grundlagen

Die Gaschromatographie (GC) ist ein häufig verwendetes Trennverfahren. Im Gegensatz zur Flüssigkeitschromatographie wird als mobile Phase ein inertes Gas verwendet. Die mobile Phase durchströmt ein Rohr, das die stationäre Phase enthält. Aufgrund von unterschiedlich starken Wechselwirkungen der in der mobilen Phase *gelösten* Substanzen mit der stationären Phase kommt es zur Trennung. Die GC eignet sich besonders für leicht flüchtige Verbindungen. [2, S. 164, 165]

2.1 Aufbau eines Gas-Chromatographen und Ablauf einer Analyse

Ein Gaschromatograph besteht aus einer Trägergasversorgung inkl. Strömungsregler, einer Vorrichtung zur Probenaufgabe, einer Trennsäule, einem Säulenofen, einem Detektor und einem Auswertegerät. Um eine Probe zu analysieren, wird sie über das Injektionsventil in die Trennsäule injiziert. Das Trägergas agiert als mobile Phase und transportiert die Probe durch die Trennsäule, die die stationäre Phase enthält. Da die Stärke der Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase temperaturabhängig sind, regelt der Säulenofen die Temperatur gemäß einem festgelegten Temperaturprogramm. Am Ende der Säule passieren die Substanzen zu unterschiedlichen Zeiten einen Detektor. [2, S. 164, 165]

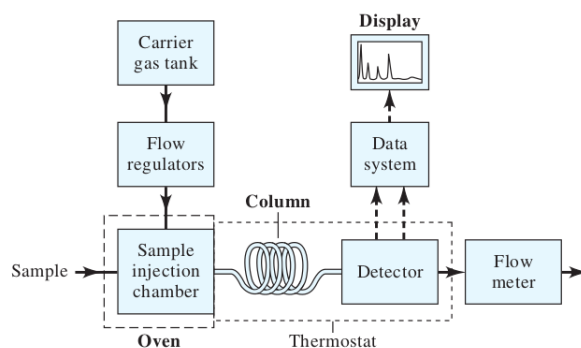


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Gas-Chromatographen.

2.1.1 Injektionssystem

Das Injektionssystem hat die Aufgabe, die in einem leicht flüchtigen Lösungsmittel gelöste Probe in die Trennsäule zu überführen. Man unterscheidet zwischen zwei Arten. Beim „on-column injector“ geht die Probe von der Injektionsspritze direkt in die Trennsäule/Kapillare über. Beim „split-injector“ erfolgt die Probenaufgabe mit einer Injektionsspritze durch ein Septum, das einen luftdichten Übergang von Spritze in das Verdampfungsrohr ermöglicht. Die dort verdampfte Probe wird mithilfe des eingespritzten Trägergases in die Säule transportiert. Der Verdampfungsraum wird unabhängig vom Säulenofen geheizt, um höhere Temperaturen und damit eine unverzügerte Überführung in die Gasphase zu ermöglichen. Die in die Trennsäule strömende Probenmenge kann mit einem Splitter reguliert werden, was vor allem bei Kapillarsäulen wichtig ist. [1]¹, [2, S. 164]

¹das ausgegebene Skript referenziert auf [3], [4] und [5] - im Folgenden wird aus Gründen der Einfachheit nur auf das Skript verwiesen

2.1.2 Mobile Phase - Trägergas

Die mobile Phase ist ein chemisch inertes Gas. Zum Einsatz kommen in erster Linie Wasserstoff, Stickstoff und Helium. Weitere Anforderungen an das Trägergas sind hohe Reinheit und damit verbunden ein geringer Gehalt an Wasser und Sauerstoff, da diese die Trennsäule beschädigen könnten. [1], [2]

2.1.3 Stationäre Phase - Trennsäule

Als stationäre Phasen eignen sich adsorbierende Festkörper und absorbierende Flüssigkeiten auf einem inertem Trägermaterial. Sie befinden sich in Rohren aus Glas oder Quarz. Man unterscheidet zwischen gepackten Säulen und Kapillarsäulen. Bei der gepackten Säule befindet sich die stationäre Phase auf Trägerpartikeln, die die komplette Säule ausfüllen. Kapillarsäulen sind dünner, länger und nur am Rand mit dem Trägermaterial besetzt. Sie enthalten demnach einen offenen Längskanal. Im Experiment wird eine Kapillarsäule verwendet, weswegen diese im Folgenden näher beschrieben wird. Außerdem erzielen sie sehr hohe Auflösungen und werden deswegen häufig verwendet.

Bei den Kapillarsäulen unterscheidet man zwischen Dünnschichtkapillarsäulen (porous open tubular columns - PLOT), Träger-beschichteten Kapillaren (support coated open tubular columns - SCOT) und Dünnschichtkapillarsäulen (wall coated open tubular columns - WCOT). Dünnschichtkapillarsäulen enthalten eine dünne Schicht des Trägermaterials auf der inneren Seite der Trennsäule, wobei das Trägermaterial mit der flüssigen Phase belegt ist. Sie werden hauptsächlich bei Adsorptions-GC Trennungen verwendet. Bei Dünnschichtkapillarsäulen ist die stationäre Phase (dünner Flüssigkeitsfilm) direkt auf die (aufgeraute) Innenseite der Säule aufgetragen. [2, S. 164-166]

Die Qualität der Trennung hängt stark von den chemischen Eigenschaften der stationären Phase ab, da sie das Retentionsverhalten des Analyten bestimmen. Dabei ist ein wichtiger Faktor die Polarität. Un-/Polare stationäre Phasen wechselwirken mit un-/polaren Substanzen und halten diese somit länger zurück. Die Wahl der stationären Phase richtet sich somit an die Zusammensetzung der Probe und muss gegebenenfalls adaptiert werden. [1]

2.1.4 Säulenofen

Der Säulenofen hat die Aufgabe, die Temperatur während der Trennung zu regulieren. Dies ist notwendig, da der Dampfdruck und damit der Verteilungskoeffizient K mit der Temperatur zusammenhängt. Bei Temperaturerhöhung steigt der Dampfdruck logarithmisch an, während sich die Retentionszeit logarithmisch verkürzt. Grundsätzlich sind zwei Temperaturprogramme denkbar. Die isotherme Trennung eignet sich zum Beispiel für homologe Reihen von n -Alkanen. Bei der Gradientenmethode wird die Temperatur stufenweise erhöht, was bei Gemischen unterschiedlicher Polarität und Flüchtigkeit von Vorteil ist. [2, S. 168]

2.1.5 Detektor

Der Detektor befindet sich am Ende der Trennsäule und misst je nach Methode diverse physikalischen Eigenschaften der vorbeiströmenden Substanzen, um diese zu quantifizieren. Im Folgenden werden die wichtigsten Detektoren näher beschrieben. Auf den für phosphor- und stickstoffhaltige Verbindungen ausgelegten Thermionischen Detektor (TID), der eine abgewandelte Form des Flammenionisations-Detektor ist, wird nicht näher eingegangen.

- Wärmeleitfähigkeitsdetektor

Der Wärmeleitfähigkeitsdetektor besteht aus zwei Messzellen mit Heizdrähten aus Platin oder Wolfram. Eine Zelle wird von reinem Trägergas und die andere vom aus der Trennsäule kommenden Eluentenstrom durchflossen. Befindet sich ein Analyt im Trägergas, so verringert sich die Wärmeleitfähigkeit des Gasstroms und die Drähte heizen sich auf, was eine Erhöhung des Widerstandes und damit einen messbaren Spannungsabfall bewirkt. Der Detektor ist sehr universell einsetzbar und zerstört die Analyten nicht. [2, S. 170]

- Flammenionisations-Detektor (FID)

Der Eluentenstrom wird mit Wasserstoff und Luft gemischt und strömt in eine Brennerdüse, wo mit einer Zündspule gezündet wird. Bei der Verbrennung eines Analyten entstehen aus C-C und C-H Bindungen Ionen wie CHO^+ (Radikalmechanismus). Aufgrund der Ionen fließt bei angelegter Gleichspannung ein der Analytkonzentration proportionaler Strom zwischen Anode und Kathode, die um die Flamme angeordnet sind. Der FID spricht auf organische Verbindungen mit einer großen Anzahl an C-C und C-H Bindungen an. Verbindungen mit vielen Heteroatomen sowie anorganische Verbindungen lassen sich schlecht bis gar nicht nachweisen. Ein weiterer Nachteil ist, dass die Analytmoleküle zerstört werden.[1], [2, S. 172]

- Elektroneneinfang-Detektor (ECD)

Der β -Strahler ^{63}Ni emittiert energiereiche Elektronen, die das Trägergas (meist N_2 oder Ar mit 5 % CH_4) ionisieren. Die freigesetzten Primärelektronen werden durch die angelegte Spannung zwischen Anode und Kathode zur Anode beschleunigt und bewirken einen Nullstrom. Befindet sich ein Analyt mit hoher Elektronenaffinität im Trägergas, fängt er die Elektronen ein und verringert den Stromfluss. [1]

- Massenspektrometer

Im Massenspektrometer werden die Analyten ionisiert und die Masse durch Beobachtung ihres Verhaltens im elektrischen und magnetischen Feld bestimmt. Über das Fragmentationsmuster können Informationen über die Struktur gewonnen werden, was ein bedeutender Vorteil gegenüber den anderen Methoden ist. [1]

2.2 Chromatographische Parameter

Um den Trennvorgang sowie die Trennleistung einer Analyse bzw. einer Säule zu charakterisieren, hat sich eine Vielzahl an Kenngrößen und Parametern etabliert, die im Folgenden beschrieben werden.

Um die Position und das Aussehen eines Peaks zu beschreiben eignet sich die Totzeit t_0 (Zeit der Probe in der mobilen Phase), die Bruttoretentionszeit t_B (Zeit der Probe in mobiler und stationärer Phase), die Nettoretentionszeit t_R (Zeit der Probe in der stationären Phase - $t_R = t_B - t_0$), die Basispeakbreite w (Anlegen zweier Tangenten in 60 % Peakhöhe und Bestimmung des Abstandes der Schnittpunkte mit der Basislinie), die Halbwertspeakbreite $w_{1/2}$ (Peakbreite bei halber Höhe) und die Peaksymmetrie T ($T = B/A$ mit Abstand vom Peakanfang zum Peakmaximum A und Peakende zu Peakmaximum B). Ist T kleiner als 1, so spricht man von Fronting, ansonsten von Tailing. Im Idealfall liegt der Wert zwischen 0.8 und 1.2.

Wechselwirkungsvorgänge werden durch den Kapazitätsfaktor k (relative Verweildauer des Analyten in stationärer Phase - $k = t_R/t_0$), den Verteilungskoeffizient K ($K = c_S/c_M$ in Analogie zum

Massenwirkungsgesetz) und die lineare Strömungsgeschwindigkeit v ($v = L/t_R$ mit Säulenlänge L) beschrieben.

Die Effizienz einer Trennsäule wird durch die theoretische Trennstufenhöhe (Bodenhöhe) H und die Anzahl an theoretischen Böden (Trennstufenzahl) N charakterisiert ($L = NH$). Die Anzahl an theoretischen Böden ist ein Maß für die Anzahl an theoretischen Gleichgewichtseinstellungen des Analyten zwischen mobiler und stationärer Phase und kann mit

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2 \quad (1)$$

unabhängig von H und L berechnet werden. Die Bodenhöhe in Abhängigkeit von der linearen Strömungsgeschwindigkeit v wird durch die Van-Deemter Gleichung

$$H(v) = A + \frac{B}{v} + Cv \quad (2)$$

beschrieben (Beiträge der Eddy-Diffusion A , Longitudinaldiffusion B und des verzögerten Massentransfers C). Die Eddy Diffusion beschreibt die unterschiedlichen Wegmöglichkeiten des Analyten in der Säule und ist unabhängig von der Fließgeschwindigkeit. Die Longitudinaldiffusion erfolgt längs zur Säule und nimmt mit steigender v ab. Der verzögerte Massentransfer beschreibt die unvollständige und verzögerte Gleichgewichtseinstellung zwischen stationärer und mobiler Phase aufgrund der bewegten mobilen Phase. Er steigt mit zunehmender Fließgeschwindigkeit. Die maximale Trennleistung erfolgt am Minimum der Kurve - siehe Abb. 2.

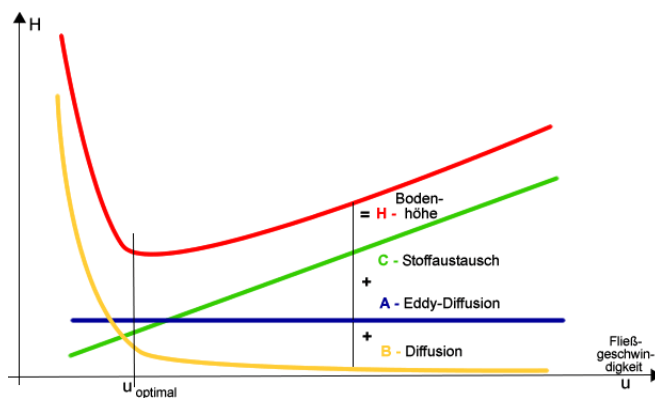


Abbildung 2: Van-Deemter Gleichung mit Illustration der einzelnen Parameter.

Die Trennleistung, also die Fähigkeit zwei benachbarte Peaks eindeutig aufzutrennen, wird durch die Auflösung $R = 2(t_{R2} - t_{R1}) / (w_2 + w_1)$ und die relative Retention bzw. Selektivität $\alpha = t_{R2}/t_{R1} = k_2/k_1$ charakterisiert. Desto größer R und α , desto besser ist die Trennung. [1]

2.3 Kalibrierung über einen internen Standard

Man benötigt einen Standard, der ähnliche physikalische und chemische Eigenschaften wie die Probe besitzt. Zur Kalibrierung werden mehrere Lösungen mit jeweils gleicher Standardkonzentration c_S , jedoch unterschiedlichen Probenkonzentrationen c_P hergestellt und die Signalhöhen von Standard

S_S und Probe S_P gemessen. In einem Diagramm wird auf der Ordinate die Signalhöhe und auf der Abszisse das Verhältnis von Proben- zu Standardkonzentration aufgetragen. Durch umstellen der Kalibriergeraden

$$\frac{S_P}{S_S} = b \frac{c_P}{c_S} + a \quad (3)$$

kann bei der tatsächlichen Messung die Probenkonzentration bei bekannter c_S berechnet werden (Fitparameter a und b). Der Response-Faktor wird durch

$$R_f = \frac{c_P}{c_S} / \frac{S_P}{S_S} \quad (4)$$

definiert. Die Methode des internen Standards ist sehr robust, da systematische Fehler meist sowohl Probe als auch Standard betreffen und damit das Signalverhältnis gleich bleibt. [6]

3 Praktischer Teil

4 Ergebnisse und Auswertung

Tabelle 1: Test

Geräte		Chemikalien
Waage	Spatel	$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$

5 Fazit und Diskussion

Literaturverzeichnis

- [1] Bonn Günther et al. *Arbeitsunterlagen Instrumentalanalytisches Grundpraktikum. Für Chemiker und Lehramtskandidaten*. Innsbruck, 2019 (siehe S. 1, 4–7).
- [2] Georg Schwedt. *Taschenatlas der Analytik*. 3. Aufl. Weinheim, 2007 (siehe S. 4–6).
- [3] Harris. *Lehrbuch der Quantitativen Analyse*. Springer, 2014 (siehe S. 4).
- [4] Douglas Skoog, James Holler und Stanley Crouch. *Principles of Instrumental Analysis*. 7. Aufl. Boston: Cengage Learning, 2016 (siehe S. 4).
- [5] Snyder, Kirkland und Dolan. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Wiley-VCH, 2010 (siehe S. 4).
- [6] Christian Huck. *Analytische Chemie III. Atomspektroskopie*. Innsbruck: Institut für Analytische Chemie und Radiochemie - Universität Innsbruck, 2019 (siehe S. 8).

Reaktionsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

- | | | |
|---|--|---|
| 1 | Schematischer Aufbau eines GC, Quelle: [4] | 4 |
| 2 | Van-Deemter Gleichung, Quelle: http://www.chemgapedia.de (Zugegriffen am 07.01.2020) | 7 |

Tabellenverzeichnis

- | | | |
|---|-------------------------|----|
| 1 | Quelle: Autor | 10 |
|---|-------------------------|----|