

# Einführung in die Chromatographie

Vorlesung WS 2007/2008

VAK 02-03-5-AnC2-1

Johannes Ranke

# Programm

- 23. 10. 2007 Trennmethoden im Überblick und Geschichte der Chromatographie
- 30. 10. 2007 Thermodynamik der Stofftrennung
- 06. 11. 2007 Stofftransport und intermolekulare Wechselwirkungen
- 13. 11. 2007 Präparative Chromatographie und Dünnschichtchromatographie
- 20. 11. 2007 Kenngrößen für die Säulenchromatographie
- 27. 11. 2007 Gaschromatographie: Probenaufgabe und Trennsäulen
- 04. 12. 2007 Gaschromatographie: Detektoren und Quantifizierung
- 11. 12. 2007 Flüssigkeits-Chromatographie: Trennsäulen und Laufmittel
- 18. 12. 2007 Flüssigkeits-Chromatographie: Gradienten und Detektion
- 08. 01. 2008 Charakterisierung von Analyten in der Chromatographie**
- 15. 01. 2008 Ionenchromatographie
- 22. 01. 2008 Gelpermeationschromatographie
- 29. 01. 2008 Trenntechniken für die Probenvorbereitung
- 05. 02. 2008 Beispiele aus Akademie und Praxis

# Überblick

- Kopplungstechniken

# Überblick

- Kopplungstechniken
- HPLC-UV/DAD

# Überblick

- Kopplungstechniken
- HPLC-UV/DAD
- GC-IR

# Überblick

- Kopplungstechniken
- HPLC-UV/DAD
- GC-IR
- Typen von Massenspektrometern

# Überblick

- Kopplungstechniken
- HPLC-UV/DAD
- GC-IR
- Typen von Massenspektrometern
- GC-MS

# Überblick

- Kopplungstechniken
- HPLC-UV/DAD
- GC-IR
- Typen von Massenspektrometern
- GC-MS
- HPLC-MS



# Literatur

R. Kellner, J.-M. Mermet, M. Otto und H. M. Widmer (Eds.)  
Analytical Chemistry  
Wiley-VCH, Weinheim (1998).

M. McMaster und C. McMaster  
GC/MS: A practical user's guide  
Wiley-VCH, New York (1998).

W. M. A. Niessen und J. van der Greef  
Liquid Chromatography – Mass Spectrometry  
Chromatography Series Volume 58, M. Dekker, New York (1992).

# Kopplungstechniken in der Chromatographie

# Kopplungstechniken

- Koppeln von Trennmethoden unterschiedlicher Selektivität

# Kopplungstechniken

- Koppeln von Trennmethoden unterschiedlicher Selektivität
  - zwei chromatographische Methoden (z.B. HPLC-GC)

# Kopplungstechniken

- Koppeln von Trennmethoden unterschiedlicher Selektivität
  - zwei chromatographische Methoden (z.B. HPLC-GC)
  - zwei spektroskopische Techniken (z.B. MS-MS)

# Kopplungstechniken

- Koppeln von Trennmethoden unterschiedlicher Selektivität
  - zwei chromatographische Methoden (z.B. HPLC-GC)
  - zwei spektroskopische Techniken (z.B. MS-MS)
  - chromatographische Trennung mit spektroskopischer Detektion (z.B. GC-MS)

# Kopplungstechniken

- Koppeln von Trennmethoden unterschiedlicher Selektivität
  - zwei chromatographische Methoden (z.B. HPLC-GC)
  - zwei spektroskopische Techniken (z.B. MS-MS)
  - chromatographische Trennung mit spektroskopischer Detektion (z.B. GC-MS)
- Schnittstelle

# Kopplungstechniken

- Koppeln von Trennmethoden unterschiedlicher Selektivität
  - zwei chromatographische Methoden (z.B. HPLC-GC)
  - zwei spektroskopische Techniken (z.B. MS-MS)
  - chromatographische Trennung mit spektroskopischer Detektion (z.B. GC-MS)
- Schnittstelle
- Computersystem



# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen

# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen
  - UV/VI

# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen
  - UV/VI
  - IR

# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen
  - UV/VI
  - IR
  - MS

# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen
  - UV/VI
  - IR
  - MS
  - NMR



Strukturinformation

# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen
    - UV/VI
    - IR
    - MS
    - NMR
  - Elementaranalyse
- ↓  
Strukturinformation

# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen
    - UV/VI
    - IR
    - MS
    - NMR
  - Elementaranalyse
    - AAS
- ↓ Strukturinformation

# Strukturaufklärung

Flüssigkeiten und Gase:

- (Kleine) organische Verbindungen
    - UV/VI
    - IR
    - MS
    - NMR
  - Elementaranalyse
    - AAS
    - AES
- ↓ Strukturinformation



# HPLC mit UV Diodenarray-Detektor

# UV/VIS Spektrographie

- Gaschromatographischer Fluss ist zu verdünnt

# UV/VIS Spektrographie

- Gaschromatographischer Fluss ist zu verdünnt
- Einfache Kopplung der HPLC mit dem DAD

# UV/VIS Spektrographie

- Gaschromatographischer Fluss ist zu verdünnt
- Einfache Kopplung der HPLC mit dem DAD
  - Weniger empfindlich als ein durchstimmbarerer UV/VIS Detektor (VWD)

# UV/VIS Spektrographie

- Gaschromatographischer Fluss ist zu verdünnt
- Einfache Kopplung der HPLC mit dem DAD
  - Weniger empfindlich als ein durchstimmbarerer UV/VIS Detektor (VWD)
  - Wenig Strukturinformation

# UV/VIS Spektrographie

- Gaschromatographischer Fluss ist zu verdünnt
- Einfache Kopplung der HPLC mit dem DAD
  - Weniger empfindlich als ein durchstimmbarerer UV/VIS Detektor (VWD)
  - Wenig Strukturinformation
  - Wenn Standards vorhanden sind, Bestimmung der Peak-Reinheit möglich

# UV/VIS Diodenarraydetektor

Abbildung aus

G: Brechungsgitter

PDA: Photodiodenarray

Lough/Wainer 1996, p. 121

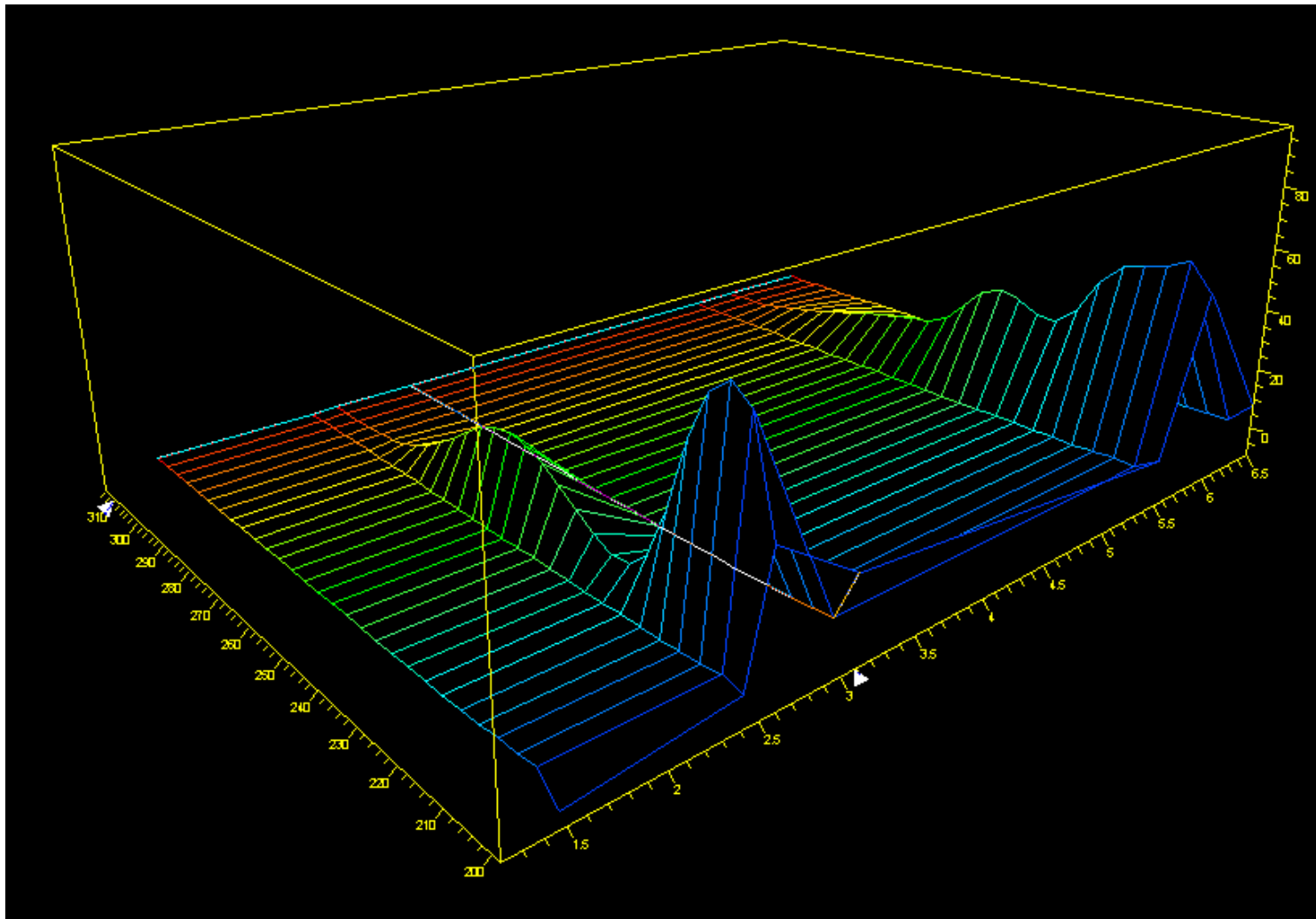
# Multiple Wellenlängen

Abbildung aus

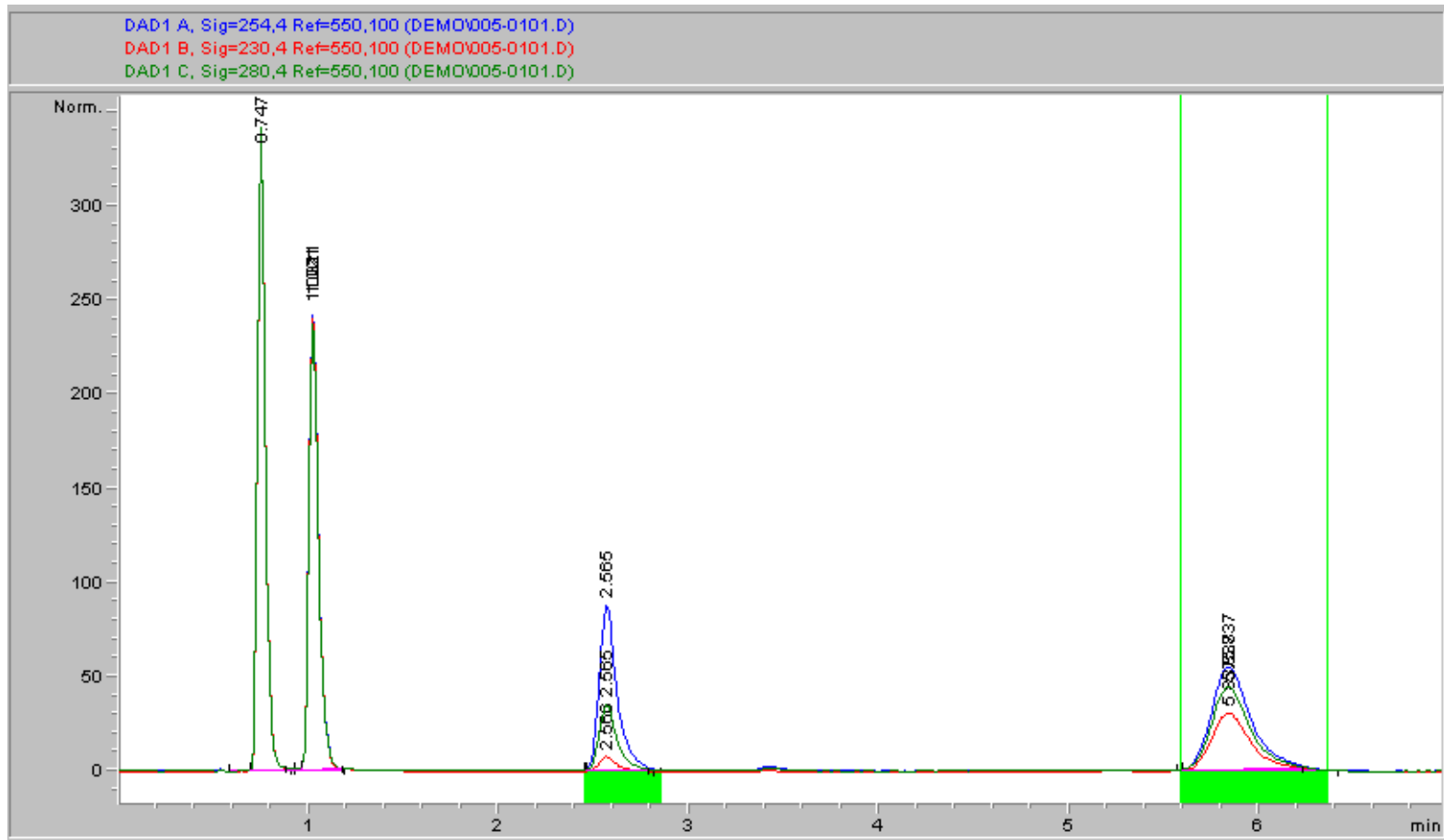
Lough/Wainer 1996, p. 121



# 3D Chromatogramme



# Peak-Reinheit



# GC mit IR-Detektion

# Infrarot

- Funktionelle Gruppen ( $1500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ )

# Infrarot

- Funktionelle Gruppen ( $1500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ )
- Bestimmte Moleküle (unter  $1500 \text{ cm}^{-1}$ )

# Infrarot

- Funktionelle Gruppen ( $1500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ )
- Bestimmte Moleküle (unter  $1500 \text{ cm}^{-1}$ )
- Zu viel IR-Absorption in der HPLC

# Infrarot

- Funktionelle Gruppen ( $1500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ )
- Bestimmte Moleküle (unter  $1500 \text{ cm}^{-1}$ )
- Zu viel IR-Absorption in der HPLC
- GC-FTIR schnelle und empfindliche Aufnahme von Spektren

# Infrarot

- Funktionelle Gruppen ( $1500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ )
- Bestimmte Moleküle (unter  $1500 \text{ cm}^{-1}$ )
- Zu viel IR-Absorption in der HPLC
- GC-FTIR schnelle und empfindliche Aufnahme von Spektren

## GC-IR Schnittstellen

- Light pipe
- Cold trap



# GC-FTIR lightpipe interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 836

# GC-FTIR cold trap interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 836

# GC-FTIR Chromatogramm

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 838

# Typen von Massenspektrometern

# Massenspektrometer

- Sektorfeld

# Massenspektrometer

- Sektorfeld
- Quadrupol

# Massenspektrometer

- Sektorfeld
- Quadrupol
- Ionenfalle

# Massenspektrometer

- Sektorfeld
- Quadrupol
- Ionenfalle
- Time of Flight (TOF)



# Massenspektrometer

- Sektorfeld
- Quadrupol
- Ionenfalle
- Time of Flight (TOF)
- Ion cyclotron resonance (ICR)

# Massenspektrometer

- Sektorfeld
- Quadrupol
- Ionenfalle
- Time of Flight (TOF)
- Ion cyclotron resonance (ICR)
- Kombinationen

# Quadrupol Massenspektrometer

Abbildung aus

Niessen/van der Greef 1992, p. 37

- Universell einsetzbarer Massenfilter

# Quadrupol Massenspektrometer

Abbildung aus

Niessen/van der Greef 1992, p. 37

- Universell einsetzbarer Massenfilter
- Häufige Anwendung in GC-MS und HPLC-MS

# Quadrupol Massenspektrometer

Abbildung aus

Niessen/van der Greef 1992, p. 37

- Universell einsetzbarer Massenfilter
- Häufige Anwendung in GC-MS und HPLC-MS
- MS-MS und MS<sup>3</sup> Anwendungen

# Ionenfallen-Massenspektrometer

Abbildung aus

Niessen/van der Greef 1992, p. 39

- "Scannen" von Massen durch Ringelektrode

# Ionenfallen-Massenspektrometer

Abbildung aus

Niessen/van der Greef 1992, p. 39

- "Scannen" von Massen durch Ringelektrode
- Dynamischer Bereich von ca.  $10^6$

# Ionenfallen-Massenspektrometer

Abbildung aus

Niessen/van der Greef 1992, p. 39

- "Scannen" von Massen durch Ringelektrode
- Dynamischer Bereich von ca.  $10^6$
- $MS^n$  Experimente



# Elektrodenkonfiguration

Figure 12.2 aus

McMaster (1998), p. 123

# Ionenfalle

- Ionen werden auf stabilen Trajektorien "gespeichert"

Figure 12.4 aus

McMaster (1998), p. 125

# Ionenfalle

Figure 12.4 aus

- Ionen werden auf stabilen Trajektorien "gespeichert"
- Sukzessive Destabilisierung zunehmender  $m/z$ -Werte

McMaster (1998), p. 125

# Ionenfalle

Figure 12.4 aus

McMaster (1998), p. 125

- Ionen werden auf stabilen Trajektorien "gespeichert"
- Sukzessive Destabilisierung zunehmender  $m/z$ -Werte
- Kollisionen mit Inertgas wie He induzieren Fragmentationen

# Ionisationstechniken

- Electron impact (EI)

# Ionisationstechniken

- Electron impact (EI)
- Chemical ionization (CI)

# Ionisationstechniken

- Electron impact (EI)
- Chemical ionization (CI)
- Ion evaporation (TSI, ESI)

# Ionisationstechniken

- Electron impact (EI)
- Chemical ionization (CI)
- Ion evaporation (TSI, ESI)
- Fast atom bombardment (FAB)



# Electron impact ionization (EI)

- Hochvakuum-Ionenquelle ( $10^{-3}$  Pa)  
⇒ v.a. für GC-MS

# Electron impact ionization (EI)

- Hochvakuum-Ionenquelle ( $10^{-3}$  Pa)  
⇒ v.a. für GC-MS
- Sehr gut reproduzierbare Spektren

# Electron impact ionization (EI)

- Hochvakuum-Ionenquelle ( $10^{-3}$  Pa)  
⇒ v.a. für GC-MS
- Sehr gut reproduzierbare Spektren
- Standardenergie 70 eV

# Electron impact ionization (EI)

- Hochvakuum-Ionenquelle ( $10^{-3}$  Pa)  
⇒ v.a. für GC-MS
- Sehr gut reproduzierbare Spektren
- Standardenergie 70 eV
- Fragmentierung der Analyten

# Chemische Ionisation (CI)

- Höhere Drücke (1 - 200 Pa)

# Chemische Ionisation (CI)

- Höhere Drücke (1 - 200 Pa)
- Methan, Isobutan, Ammoniak oder Wasser als Reaktionspartner

# Chemische Ionisation (CI)

- Höhere Drücke (1 - 200 Pa)
- Methan, Isobutan, Ammoniak oder Wasser als Reaktionspartner
- "Sanfte" Ionisierung  $\Rightarrow$  weniger Fragmentierung

# Chemische Ionisation (CI)

- Höhere Drücke (1 - 200 Pa)
- Methan, Isobutan, Ammoniak oder Wasser als Reaktionspartner
- "Sanfte" Ionisierung  $\Rightarrow$  weniger Fragmentierung
- Empfindlichkeit und Selektivität abhängig vom Reaktionsgas



# Chemische Ionisation (CI)

- Höhere Drücke (1 - 200 Pa)
- Methan, Isobutan, Ammoniak oder Wasser als Reaktionspartner
- "Sanfte" Ionisierung  $\Rightarrow$  weniger Fragmentierung
- Empfindlichkeit und Selektivität abhängig vom Reaktionsgas
- Atmospheric pressure chemical ionization (APCI) für die HPLC

# HPLC-MS

# HPLC-MS interfaces

- Thermospray

# HPLC-MS interfaces

- Thermospray
- Particle beam

# HPLC-MS interfaces

- Thermospray
- Particle beam
- Atmospheric pressure ionization

# HPLC-MS interfaces

- Thermospray
- Particle beam
- Atmospheric pressure ionization
  - Heated nebulizer (APCI)

# HPLC-MS interfaces

- Thermospray
- Particle beam
- Atmospheric pressure ionization
  - Heated nebulizer (APCI)
  - Electrospray (ESI)

# HPLC-MS interfaces

- Thermospray
- Particle beam
- Atmospheric pressure ionization
  - Heated nebulizer (APCI)
  - Electrospray (ESI)
  - Ion spray (ISP)



# Thermospray interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 845

# Particle beam interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 846

- Desolvatisierung des Aerosols

# Particle beam interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 846

- Desolvatisierung des Aerosols
- Ionisierung durch EI oder CI

# Particle beam interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 846

- Desolvatisierung des Aerosols
- Ionisierung durch EI oder CI
- Geringe, variable Empfindlichkeit

# APCI

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 847

- Corona Entladung

# APCI

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 847

- Corona Entladung
- Hohe Ionenausbeute

# APCI

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 847

- Corona Entladung
- Hohe Ionenausbeute
- Geringe Transfereffizienz

# Electrospray interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 848

- Stickstoff als Trockengas



# Electrospray interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 848

- Stickstoff als Trockengas

# Electrospray interface

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 848

- Stickstoff als Trockengas

# MS Anwendungen

Abbildung aus

Kellner et al. 1998, p. 848