

# 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 und Stofftransport
- 06. 11. 2007 Molekulare Grundlagen von Gleichgewichtsverteilungen
- 13. 11. 2007 Präparative Säulenchromatographie und Dünnschichtchromatographie
- 20. 11. 2007 Kenngrößen für die Säulenchromatographie
- 27. 11. 2007 Gaschromatographie: Probenaufgabe und Trennsäulen
- 04. 12. 2007 Gaschromatographie: Detektoren
- 11. 12. 2007 Flüssigkeits-Chromatographie: Trennsäulen und Laufmittel
- 18. 12. 2007 Flüssigkeits-Chromatographie: Detektoren
- 08. 01. 2008 Ionenchromatographie
- 15. 01. 2008 Gelpermeationschromatographie
- 22. 01. 2008 Elektrophoretische Trennmethoden
- 29. 01. 2008 Trenntechniken für die Probenvorbereitung
- 05. 02. 2008 Beispiele aus Akademie und Praxis

# Trennmethoden im Überblick

# Literatur

B. L. Karger, L. R. Snyder and C. Horvath  
An Introduction to Separation Science  
J. Wiley & Sons, New York (1975).

C. F. Poole  
The Essence of Chromatography  
Elsevier, Amsterdam (2003).

C. Giddings  
Unified Separation Science  
J. Wiley & Sons, New York (1991).

Analytische Chemie III  
Einführung in die Grundlagen der chromatographischen und  
elektrophoretischen Trennverfahren  
Vorlesungsskript ETH Zürich (1995).

# Definition einer Trennung

- Wir starten mit einer Mischung (Probe)

# Definition einer Trennung

- Wir starten mit einer Mischung (Probe)
- Es werden mindestens zwei Fraktionen mit unterschiedlicher Zusammensetzung erzeugt

# Definition einer Trennung

- Wir starten mit einer Mischung (Probe)
- Es werden mindestens zwei Fraktionen mit unterschiedlicher Zusammensetzung erzeugt
- Der relative Anteil einer oder mehrerer Komponenten soll im Vergleich zum Anteil der anderen Komponenten in einer der Fraktionen erhöht werden

# Grundlagen der Stofftrennung

- **Verteilung zwischen zwei Phasen**



# Grundlagen der Stofftrennung

- **Verteilung zwischen zwei Phasen**
- **Beweglichkeit**

# Grundlagen der Stofftrennung

- **Verteilung zwischen zwei Phasen**
- **Beweglichkeit**
- **Masse im Gravitationsfeld**

# Grundlagen der Stofftrennung

- **Verteilung zwischen zwei Phasen**
- **Beweglichkeit**
- **Masse im Gravitationsfeld**
- **Ladung im elektrischen Feld**

# Grundlagen der Stofftrennung

- **Verteilung zwischen zwei Phasen**
- **Beweglichkeit**
- **Masse im Gravitationsfeld**
- **Ladung im elektrischen Feld**
- **Magnetische Eigenschaften**

# Grundlagen der Stofftrennung

- **Verteilung zwischen zwei Phasen**
- **Beweglichkeit**
- **Masse im Gravitationsfeld**
- **Ladung im elektrischen Feld**
- **Magnetische Eigenschaften**
- **Reaktivität**

# Grundlagen der Stofftrennung

- **Verteilung zwischen zwei Phasen**
- Beweglichkeit
- Masse im Gravitationsfeld
- Ladung im elektrischen Feld
- Magnetische Eigenschaften
- Reaktivität

Kombinationen der Trennprinzipien

# Historisch wichtige Beispiele

- Metallurgie

# Historisch wichtige Beispiele

- Metallurgie
- Extraktion von Naturstoffen



# Historisch wichtige Beispiele

- Metallurgie
- Extraktion von Naturstoffen
- Fraktionierte Destillation von Erdöl

# Historisch wichtige Beispiele

- Metallurgie
- Extraktion von Naturstoffen
- Fraktionierte Destillation von Erdöl
- Trennung von  $^{235}\text{U}$  und  $^{238}\text{U}$

# Historisch wichtige Beispiele

- Metallurgie
- Extraktion von Naturstoffen
- Fraktionierte Destillation von Erdöl
- Trennung von  $^{235}\text{U}$  und  $^{238}\text{U}$
- Ultrazentrifugation, Chromatographie und Elektrophorese in der Biochemie

# Historisch wichtige Beispiele

- Metallurgie
- Extraktion von Naturstoffen
- Fraktionierte Destillation von Erdöl
- Trennung von  $^{235}\text{U}$  und  $^{238}\text{U}$
- Ultrazentrifugation, Chromatographie und Elektrophorese in der Biochemie
- Spurenanalytik für chlorierte Pestizide

# Historisch wichtige Beispiele

- Metallurgie
- Extraktion von Naturstoffen
- Fraktionierte Destillation von Erdöl
- Trennung von  $^{235}\text{U}$  und  $^{238}\text{U}$
- Ultrazentrifugation, Chromatographie und Elektrophorese in der Biochemie
- Spurenanalytik für chlorierte Pestizide
- Emissionsminderung durch "End-of-Pipe" Technologien

# Gleichgewichtsverteilungen

gas-flüssig	gas-fest	flüssig-flüssig	flüssig-fest
Destillation <sup>a</sup>	Sublimation <sup>a</sup>	Extraktion	Kristallisation <sup>a</sup>
Gas-flüssig Chromatographie	Adsorption	Flüssig-flüssig Chromatographie	Adsorption
	Molekularsieb	Größenausschluss- Chromatographie	Molekularsieb
			Ionenaustausch Klathratbildung Zonenschmelzen <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Phasen gebildet durch zu trennende Komponenten

# Trennung mit Barrieren

- Filtration (Mikro-, Ultra-, Nanofiltration)

# Trennung mit Barrieren

- Filtration (Mikro-, Ultra-, Nanofiltration)
- Dialyse



# Trennung mit Barrieren

- Filtration (Mikro-, Ultra-, Nanofiltration)
- Dialyse
- Elektrodialyse

# Trennung mit Barrieren

- Filtration (Mikro-, Ultra-, Nanofiltration)
- Dialyse
- Elektrodialyse
- Umkehrosmose

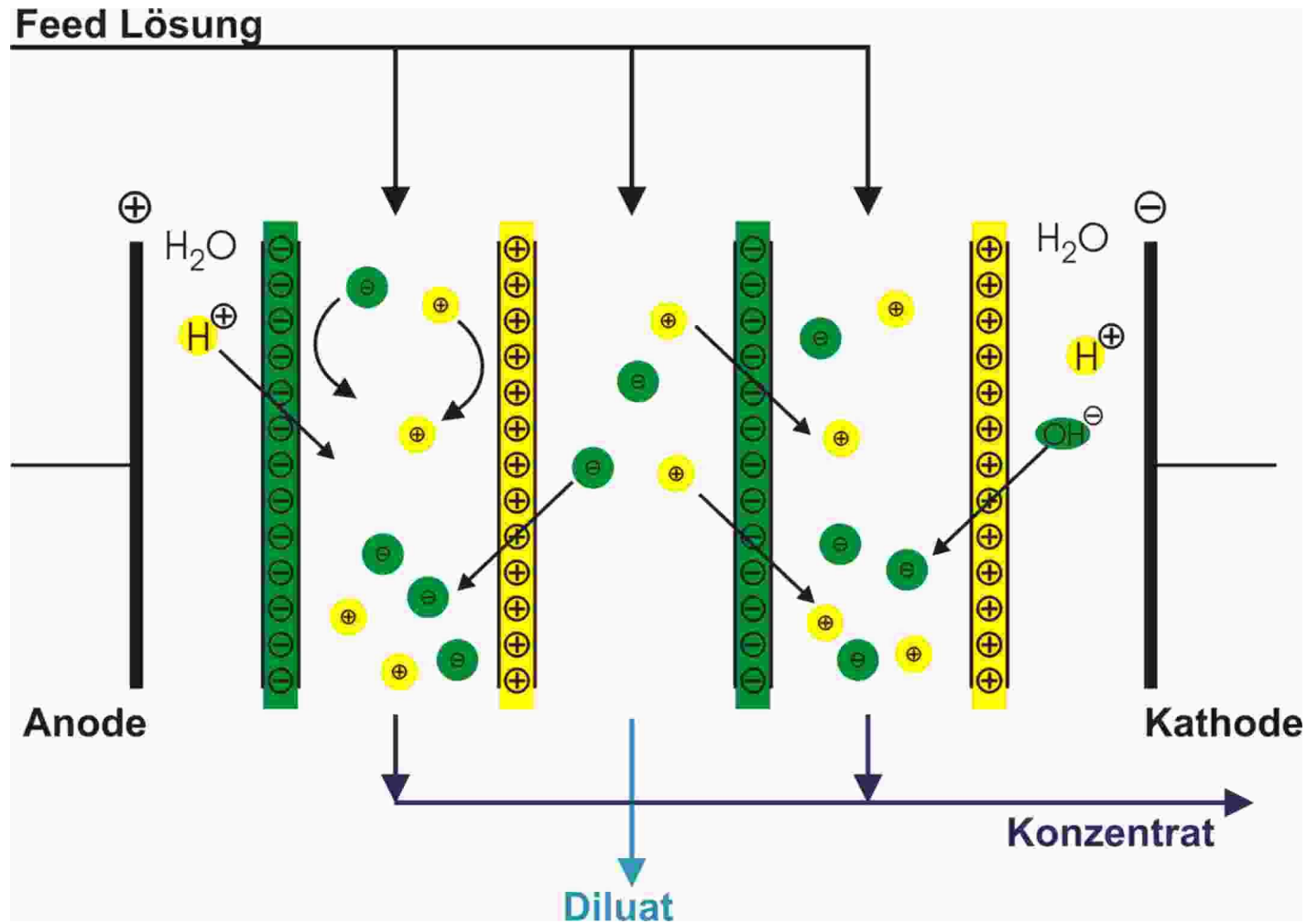
# Trennung mit Barrieren

- Filtration (Mikro-, Ultra-, Nanofiltration)
- Dialyse
- Elektrodialyse
- Umkehrosmose
- Pervaporation

# Trennung mit Barrieren

- Filtration (Mikro-, Ultra-, Nanofiltration)
- Dialyse
- Elektrodialyse
- Umkehrosmose
- Pervaporation
- Reaktive Barrieren

# Elektrodialyse



Wikipedia:Dialyse (Chemie)

# Trennungen in Feldern

- Elektrophorese

# Trennungen in Feldern

- Elektrophorese
- Sedimentation, (Ultra-)Zentrifugation

# Trennungen in Feldern

- Elektrophorese
- Sedimentation, (Ultra-)Zentrifugation
- Thermische Diffusion



# Trennungen in Feldern

- Elektrophorese
- Sedimentation, (Ultra-)Zentrifugation
- Thermische Diffusion
- Elektrische Abscheidung

# Trennungen in Feldern

- Elektrophorese
- Sedimentation, (Ultra-)Zentrifugation
- Thermische Diffusion
- Elektrische Abscheidung
- Massenspektrometrie

# Ziele von Stofftrennungen

- Isolierung

# Ziele von Stofftrennungen

- Isolierung
- Reinigung

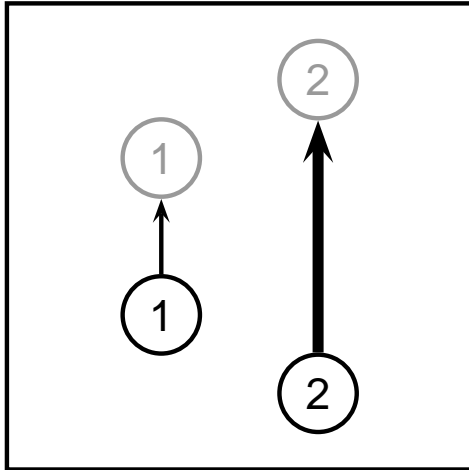
# Ziele von Stofftrennungen

- Isolierung
- Reinigung
- Identifikation

# Ziele von Stofftrennungen

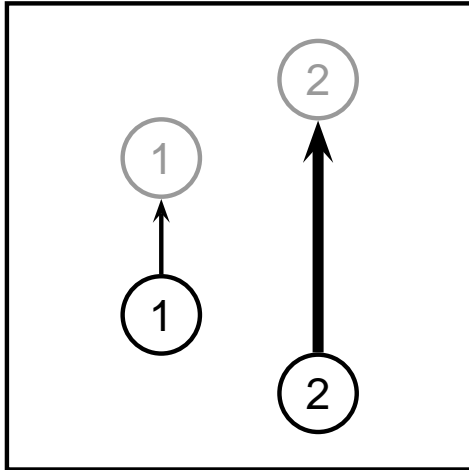
- Isolierung
- Reinigung
- Identifikation
- Quantitative Analyse

# Eindimensionale Trennmethode

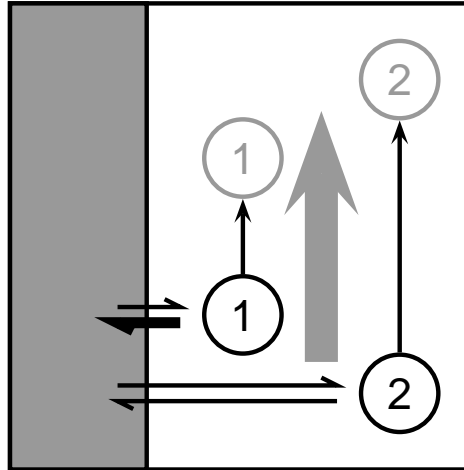


Elektrophorese

# Eindimensionale Trennmethode



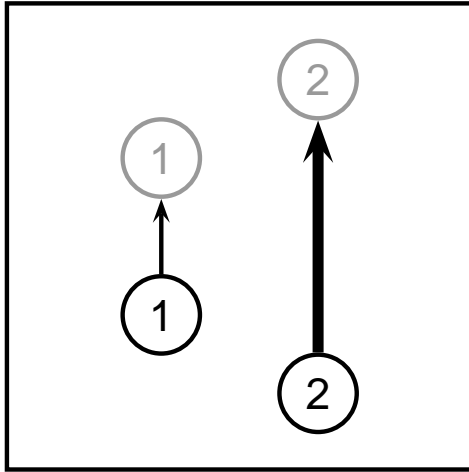
Elektrophorese



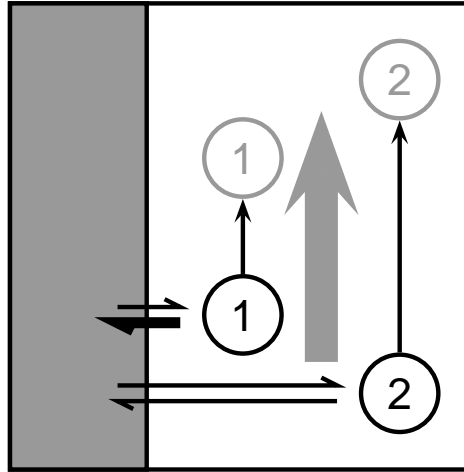
Chromatographie



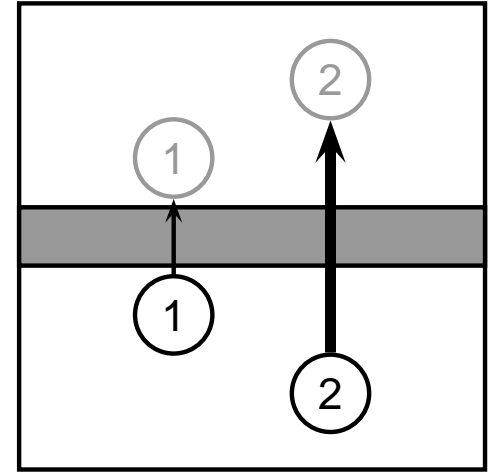
# Eindimensionale Trennmethoden



Elektrophorese



Chromatographie



Membrantechniken

# Geschichte der Chromatographie

# Literatur

C. F. Poole  
The Essence of Chromatography  
Elsevier, Amsterdam (2003).

P. Stepnoski, R. Störmann and B. Jastorff  
Introduction to Chromatography  
[www.uft.uni-bremen.de/chemie/Chromatography](http://www.uft.uni-bremen.de/chemie/Chromatography).

A. Braithwaite and F. J. Smith  
Chromatographic Methods (4th Edition)  
Chapman and Hall, London (1985).

# Geschichte der Chromatographie

- 1872      Geburt von Mikail Semenowitsch Tswett in Asti (Italien)  
Ausbildung in der Schweiz  
Studium von Chemie, Physik und Botanik an der  
Universität Genf
- 1896      Promotion in der Botanik: "Ein Beitrag zur Kenntnis über  
die Bewegung von Protoplasmamembranen und Chloro-  
plasten"
- 1897      Mitarbeiter im Biologischen Laboratorium im Botanischen  
Institut in St. Petersburg
- 1901      Diplomarbeit: "Eine physikalisch-chemisch Untersuchung  
der Chlorophyllkörner: Experimente und Analyse". Enthält  
eine rudimentäre Beschreibung der chromatographischen  
Methode

# Geschichte der Chromatographie

- 1902 Mitglied der Deutschen Botanischen Gesellschaft, publiziert viele seiner Arbeiten in den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft
- 1903 Vortrag auf einem Treffen der biologischen Sektion der Warschauer Gesellschaft der Naturwissenschaftler: "Über eine neue Kategorie von Adsorptionsphänomenen und ihre Anwendung auf die biologische Analyse"

# Geschichte der Chromatographie

- 1905 W. Ramsey publiziert die Trennung von Gasen über Aktivkohle
  - 1910 Doktorarbeit von Tswett auf Russisch an der Warschauer Universität. Einzige deutsche Übersetzung gerät an Richard Martin Willstätter. Die Methode gerät in Vergessenheit
  - 1926 Erste Nutzung von natürlichen Zeoliten als Ionenaustauscher
  - 1931 Kuhn, Winterstein und Lederer beschreiben die Trennung von Carotin und Zeaxanthin auf einer Säule aus Calciumcarbonat
- Beginn einer Renaissance der Chromatographie

# Geschichte der Chromatographie

- 1934 Standardisierung des Aluminiumoxids nach Brockmann
- 1935 Entdeckung synthetischer Harze als Ionenaustauschmaterialien
- 1938 Beschreibung einer Art Dünnschichtchromatographie durch Izmailov und Shraiber
- 1940 Diskussion theoretischer Aspekte wie Nichtlinearität der Verteilungsgleichgewichte durch Wilson

Figure 2 from

J. N. Wilson (1940) *J Am Chem Soc* **62** 1583

# Geschichte der Chromatographie

- 1940 A. J. P. Martin und R. L. M. Synge trennen Aminosäuren aus Wolle durch Gegenstromextraktion
- 1941 Übernahme des Begriffes der theoretischen Bodenhöhe in die Chromatographie durch Martin und Synge. Sie beschreiben die flüssig-flüssig Verteilungschromatographie und in der Theorie auch die Gas-Verteilungschromatographie
- 1944 Einführung der Papierchromatographie als einfache Version der Verteilungschromatographie



# Geschichte der Chromatographie

1945 Trennung von Aminosäuren über Polystyrolaustauscherharze

Entwicklung der Gelelektrophorese, später wichtig für die Analyse von Biopolymeren

1946 Erstes qualitativ und quantitative auswertbares Chromatogramm aus der Gas-Adsorptionschromatographie durch Prior, Universität Innsbruck, Arbeitskreis Erika Krämer

Trennung von  $\text{CO}_2$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_2=\text{CHCl}$  und  $\text{C}_2\text{H}_4$  mit Wasserstoff über Kieselgel und Wärmeleitfähigkeitsdetektor

# Geschichte der Chromatographie

- 1948 Nobelpreis für Arne Wilhelm Kaurin Tiselius "für seine Forschungen zur Elektrophorese und Adsorption in der Analytik, insbesondere für seine Entdeckungen über die komplexe Natur von Blutserum-Proteinen"
- 1949 Glueckauf beschreibt die theoretische Bodenhöhe (HETP) in Abhängigkeit von Partikelgröße und Diffusion
- 1952 Erste praktische Beschreibung der Gas-Flüssigkeits-Chromatographie durch James und Martin: Trennung der Carbonsäuren bis  $C_{12}$  bei Temperaturen von 100 bzw. 137 °C mit Stickstoff über getrocknetem, mit Silikonöl und Stearinsäure getränktem Kieselgur

# GC-Trennung von Carbonsäuren 1952

Figure 7 from

James and Martin (1952) *Biochem J* **50** 679

# Geschichte der Chromatographie

1952 Nobelpreis für Martin und Synge für die Erfindung der Verteilungschromatographie

*It is very easy with the chromatographic apparatus to measure the free energy of solution of a given volatile substance in the stationary phase. I hope it will be possible to learn with its aid a great deal about the molecular forces involved in solution.*

1956 van Deemter und Mitarbeiter beschreiben die Trennleistung in Abhängigkeit der Fließgeschwindigkeit, Diffusionskoeffizienten und Partikelgröße (van Deemter-Kurven)

# Geschichte der Chromatographie

- 1957 Merck produziert aktives Kieselgel, standardisiert nach Spengler, für die Dünnschichtchromatographie  
Fixierung der stationären Phase mit einem Binder (Stärke) auf einer Glasplatte.  
Egon Stahl trennt Inhaltsstoffe pflanzlicher Drüsenhaare mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie
- 1958 Einführung der Größenausschlusschromatographie mit dextranbasierten Säulen mit definierter Porengröße durch Flodin und Porath
- 1963/64 Einführung der präparativen Dünnschichtchromatographie  
um J. C. Giddings führt die Feld-Fluss-Fraktionierung ein
- 1965
- 1966 Erste industriell hergestellte DC-Fertigplatten bei Merck

# Geschichte der Chromatographie

- 1967 Einführung der Affinitätschromatographie für die Isolierung biologischer Polymere
- 1969 Erste industrielle Herstellung von gebrochenen und anschließend gesiebten Packungsmaterialien (LiChrosorb: Merck, Darmstadt) für die Flüssigkeitschromatografie mit Korngrößen im 10  $\mu\text{m}$  Bereich
- 1970 Einführung der Kapillar-Isotachophorese durch Everaerts und Mitarbeiter
- 1972 Einführung der chemisch modifizierten stationären Phasen (Reversed Phase, z.B. RP 8, RP 18)  
Entwicklung sphärischer Kieselgele

# Geschichte der Chromatographie

- um 1975 Einführung der Ionenchromatographie durch Small und Mitarbeiter. Er entwickelte reproduzierbare Ionenaustauscherharze mit niedriger Kapazität, wodurch geringere Injektionsvolumina und damit auch eine bessere Auflösung möglich wurden
- 80er Jorgensen und Mitarbeiter entwickeln die Kapillaronenelektrophorese (CZE), die rasch an Popularität für die Trennung von Ionen und Biopolymeren gewinnt
- 1984 Einführung der mizellaren elektrokinetischen Chromatographie (MEKC) durch Terabe
- 1990 Kommerziell erhältliche chirale stationäre Phasen für die HPLC

# Weitere wichtige Entwicklungen

- Kapillar-Gaschromatographie (1970er Jahre)



# Weitere wichtige Entwicklungen

- Kapillar-Gaschromatographie (1970er Jahre)
- Diodenarray-Detektor für die HPLC

# Weitere wichtige Entwicklungen

- Kapillar-Gaschromatographie (1970er Jahre)
- Diodenarray-Detektor für die HPLC
- Kopplung der Massenspektrometrie an GC (1980er) und HPLC (1990er)

# Weitere wichtige Entwicklungen

- Kapillar-Gaschromatographie (1970er Jahre)
- Diodenarray-Detektor für die HPLC
- Kopplung der Massenspektrometrie an GC (1980er) und HPLC (1990er)
- Theorie der Gradientenelution in der HPLC

# Anwendung in der Analytik

GC:	ab 1950
DC:	ab 1960
LC:	ab 1970 (Hochauflösung)
GC-MS:	ca. ab 1980
SFC:	ab 1986
HPLC-MS:	ca. ab 1990