

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 Detektoren
- 08. 01. 2008 Massenspektrometrische Detektoren
- 15. 01. 2008 Ionenchromatographie
- 22. 01. 2008 Gelpermeationschromatographie
- 29. 01. 2008 Trenntechniken für die Probenvorbereitung
- 05. 02. 2008 Beispiele aus Akademie und Praxis

High Performance Liquid Chromatography

Literatur

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

G. E. Eppert
Flüssigchromatographie
vieweg, Braunschweig (1997).

L. R. Snyder, J. W. Dolan
High-Performance Gradient Elution
Wiley, Hoboken (2007).

Allgemeines

HPLC ist besonders geeignet für:

- Nicht oder kaum verdampfbare Substanzen

Allgemeines

HPLC ist besonders geeignet für:

- Nicht oder kaum verdampfbare Substanzen
- Polare Substanzen

Allgemeines

HPLC ist besonders geeignet für:

- Nicht oder kaum verdampfbare Substanzen
- Polare Substanzen

Voraussetzungen: Löslichkeit, Detektierbarkeit

Allgemeines

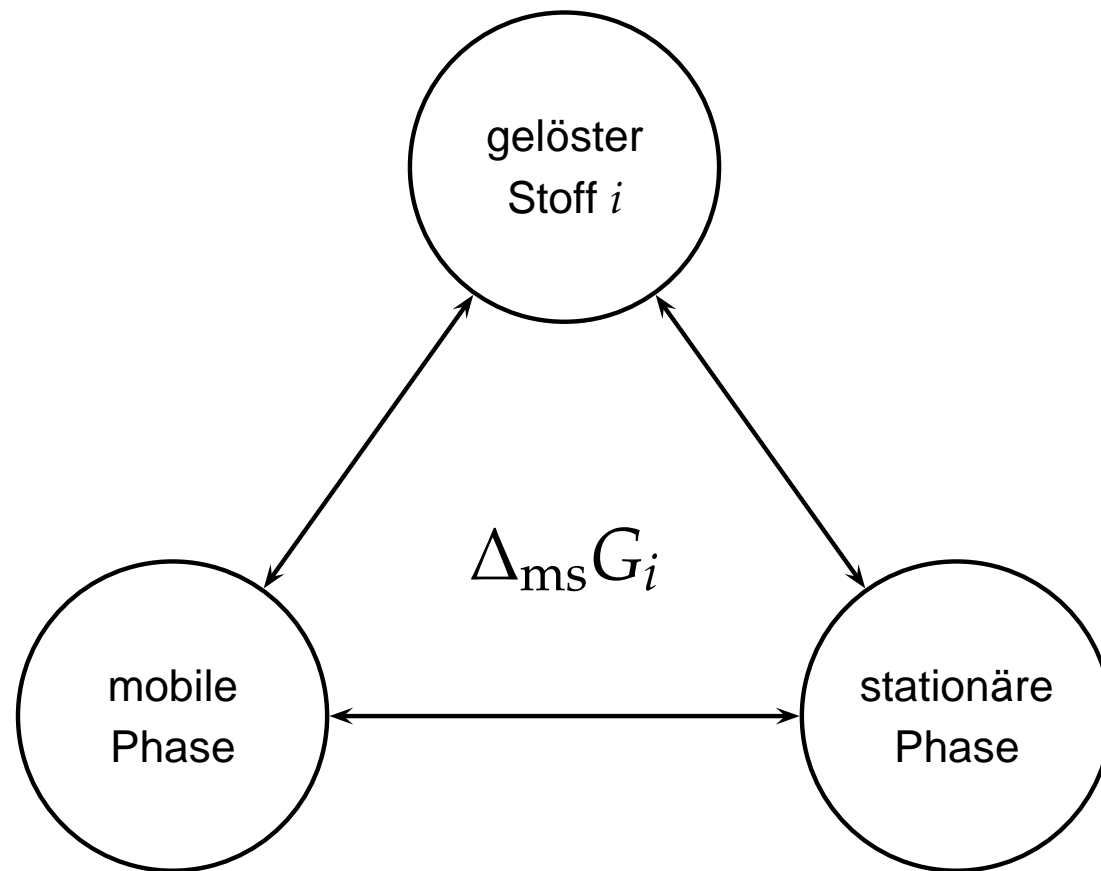
HPLC ist besonders geeignet für:

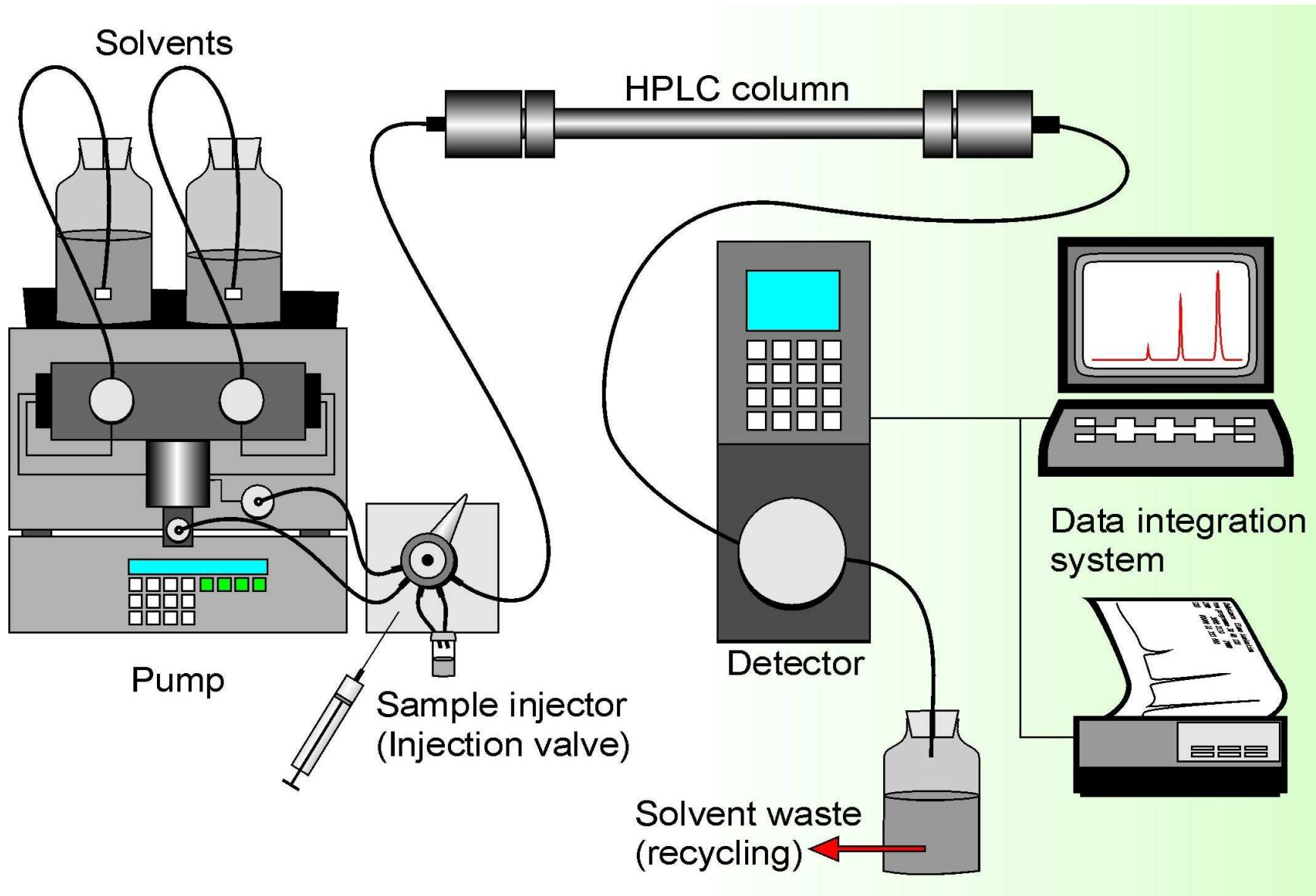
- Nicht oder kaum verdampfbare Substanzen
- Polare Substanzen

Voraussetzungen: Löslichkeit, Detektierbarkeit

Vergleich zur GC: Es sind mehr Wechselwirkungs-partner zu beachten!

Wechselwirkungs-dreieck der HPLC





Vorlesung Prof. Jastorff

Warum Gradientenelution?

Figure 1.1 aus

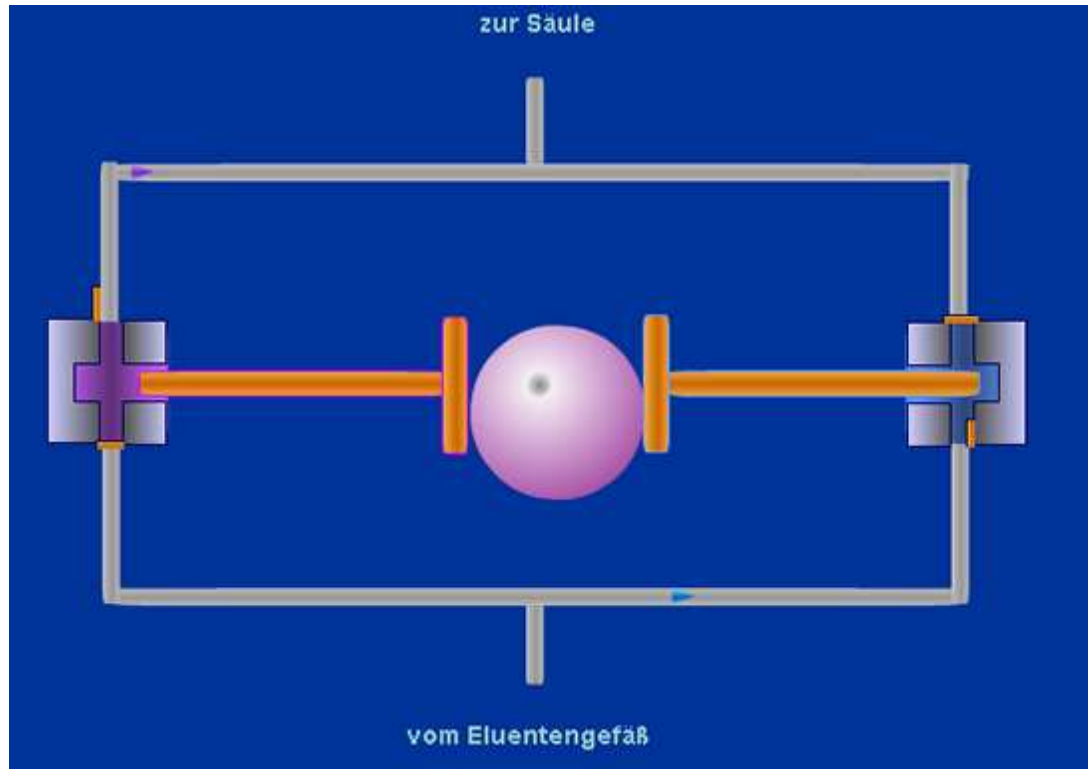
Snyder and Dolan (2007), p. 2

Warum Gradientenelution?

Figure 1.1 aus

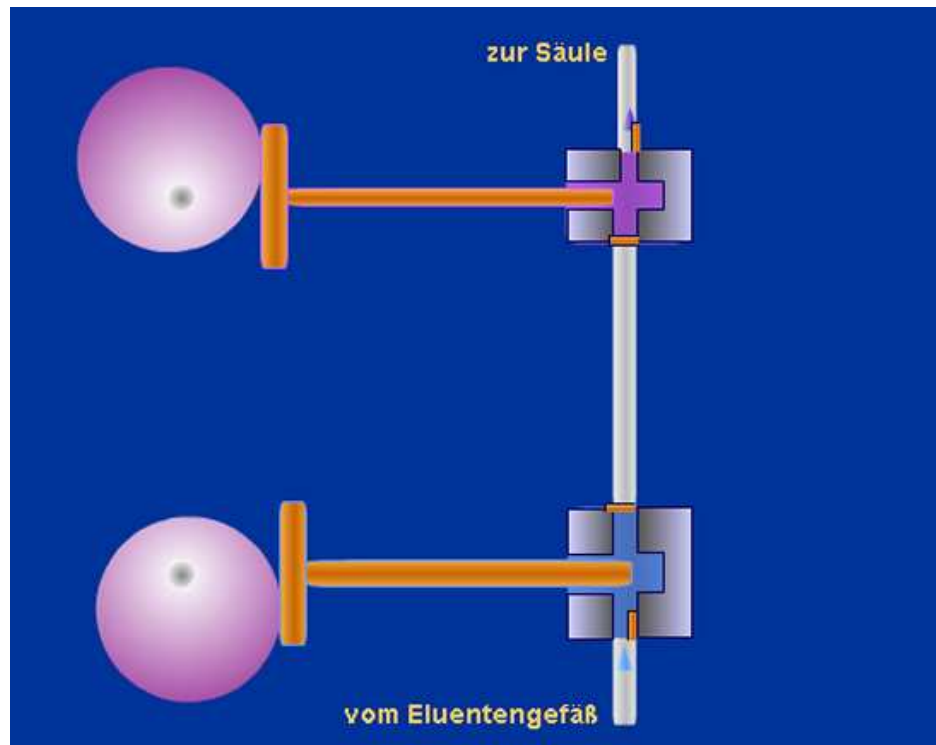
Snyder and Dolan (2007), p. 2

Kurzhub-Doppelkolbenpumpe



Chemgapedia

Eineinhalbkopfpumpe



Chemgapedia

Pumpenkopf

Bild 7.1 aus

- 1: Ventileinsätze
- 2: Kolben
- 3: Dichtungen
- 4: Pumpenkammergehäuse
- 5: Kolbenhinterspülung

Eppert (1997) p. 128

Hoch- und Niederdruckmischung

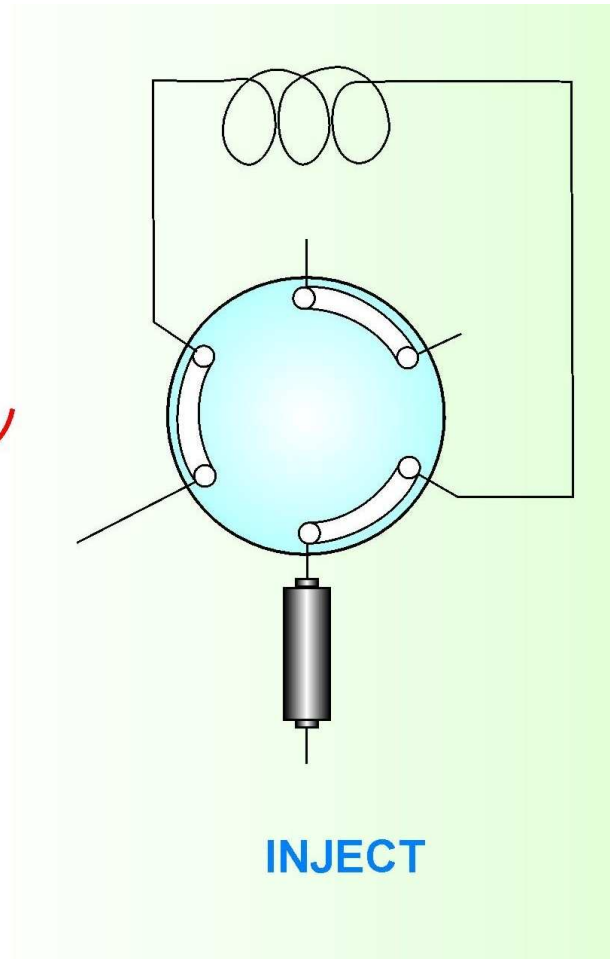
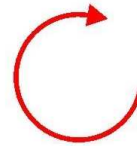
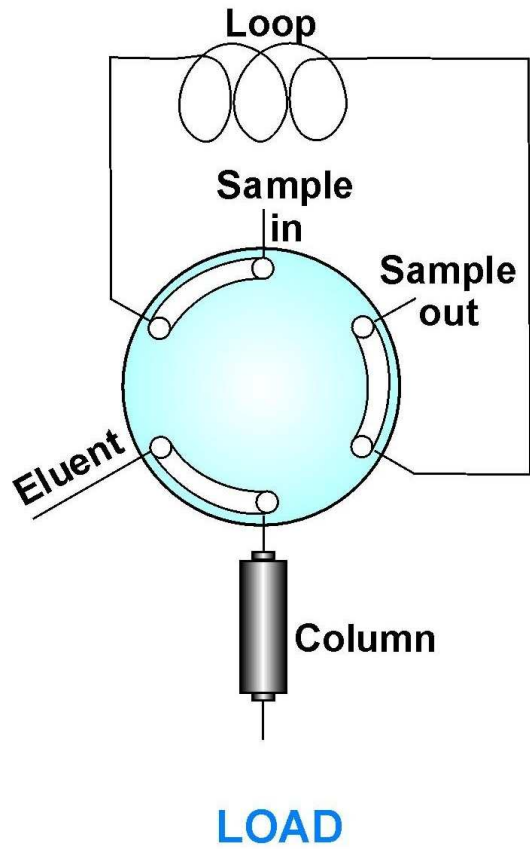
Figures 4.1 und 4.2 aus

Hochdruckmischung

Niederdruckmischung

Snyder and Dolan (2007), p. 134

Injektionsventil



Vorlesung Prof. Jastorff

HPLC Trägermaterialien

- Feste Träger, optional chemisch modifiziert

HPLC Trägermaterialien

- Feste Träger, optional chemisch modifiziert
 - **Silikagel**

HPLC Trägermaterialien

- Feste Träger, optional chemisch modifiziert
 - **Silikagel**
 - Aluminiumoxid, Titandioxid, Zirkondioxid

HPLC Trägermaterialien

- Feste Träger, optional chemisch modifiziert
 - **Silikagel**
 - Aluminiumoxid, Titandioxid, Zirkondioxid
 - Poröser Kohlenstoff

HPLC Trägermaterialien

- Feste Träger, optional chemisch modifiziert
 - **Silikagel**
 - Aluminiumoxid, Titandioxid, Zirkondioxid
 - Poröser Kohlenstoff
- Halbfeste Träger

HPLC Trägermaterialien

- Feste Träger, optional chemisch modifiziert
 - **Silikagel**
 - Aluminiumoxid, Titandioxid, Zirkondioxid
 - Poröser Kohlenstoff
- Halbfeste Träger
 - Vernetzte Polystyrene

HPLC Trägermaterialien

- Feste Träger, optional chemisch modifiziert
 - **Silikagel**
 - Aluminiumoxid, Titandioxid, Zirkondioxid
 - Poröser Kohlenstoff
- Halbfeste Träger
 - Vernetzte Polystyrene
 - Polymethacrylate

Typische Trennsäulengeometrien

- Länge 10 bis 25 cm

Typische Trennsäulengeometrien

- Länge 10 bis 25 cm
- Durchmesser 2 bis 4.6 mm

Typische Trennsäulengeometrien

- Länge 10 bis 25 cm
- Durchmesser 2 bis 4.6 mm
- Partikelgrößen 3 bis 7 μm

Typische Trennsäulengeometrien

- Länge 10 bis 25 cm
- Durchmesser 2 bis 4.6 mm
- Partikelgrößen 3 bis 7 μm
- Durchfluss 0.2 mL/min bis 1.5 mL/min

Silikagel als Träger für die HPLC

- Hohe spezifische Oberfläche (200 - 500 m²/g)

Silikagel als Träger für die HPLC

- Hohe spezifische Oberfläche (200 - 500 m²/g)
- Partikelgröße (< 2 bis 10 μm) und -form variabel

Silikagel als Träger für die HPLC

- Hohe spezifische Oberfläche (200 - 500 m²/g)
- Partikelgröße (< 2 bis 10 μm) und -form variabel
- Innere Porengröße variabel (4 bis 400 nm, Standard 10 nm)

Silikagel als Träger für die HPLC

- Hohe spezifische Oberfläche (200 - 500 m²/g)
- Partikelgröße (< 2 bis 10 μm) und -form variabel
- Innere Porengröße variabel (4 bis 400 nm, Standard 10 nm)
- Gut chemisch modifizierbar

Silikagel als Träger für die HPLC

- Hohe spezifische Oberfläche (200 - 500 m²/g)
- Partikelgröße (< 2 bis 10 μm) und -form variabel
- Innere Porengröße variabel (4 bis 400 nm, Standard 10 nm)
- Gut chemisch modifizierbar
- pH-Bereich von 2.5 bis 8

Silikagel als Träger für die HPLC

- Hohe spezifische Oberfläche (200 - 500 m²/g)
- Partikelgröße (< 2 bis 10 μm) und -form variabel
- Innere Porengröße variabel (4 bis 400 nm, Standard 10 nm)
- Gut chemisch modifizierbar
- pH-Bereich von 2.5 bis 8
- Auch monolithisches Material

Gängige Laufmittel für die HPLC

- Normalphase
 - n-Heptan
 - Toluol
- Umkehrphase
 - **Wasser**
 - **Acetonitril**
 - **Methanol**
 - 2-Propanol
 - Tetrahydrofuran

Funktionelle Gruppen auf Silikagel

Abbildung 4.4 aus

Poole (2003), p. 176

- Silanolgruppenpaare haben erhöhte Lewis-Acidität
- Statistische Verteilung von Silanolgruppen mit verschiedenen Bindungseigenschaften

Chemische Oberflächenmodifizierung

- $\equiv Si-C$ Bindung

Chemische Oberflächenmodifizierung

- $\equiv Si-C$ Bindung
- $\equiv Si-O-Si-C$ Bindung (**Silikontyp**)

Chemische Oberflächenmodifizierung

- $\equiv Si-C$ Bindung
- $\equiv Si-O-Si-C$ Bindung (**Silikontyp**)
- $\equiv Si-O-C$ Bindung (Estertyp, kleiner pH-Bereich)

Chemische Oberflächenmodifizierung

- $\equiv Si-C$ Bindung
- $\equiv Si-O-Si-C$ Bindung (**Silikontyp**)
- $\equiv Si-O-C$ Bindung (Estertyp, kleiner pH-Bereich)
- Vernetzte Oberflächenschicht

Übliche Derivatisierungen

- n-Butyl, n-Octyl (RP 8), n-Octadecyl (RP 18), Perfluoralkyl

Übliche Derivatisierungen

- n-Butyl, n-Octyl (RP 8), n-Octadecyl (RP 18), Perfluoralkyl
- 3-Phenylpropyl, 3-Pentafluorphenylpropyl

Übliche Derivatisierungen

- n-Butyl, n-Octyl (RP 8), n-Octadecyl (RP 18), Perfluoralkyl
- 3-Phenylpropyl, 3-Pentafluorphenylpropyl
- 3-Cyanopropyl, 3-(1,2-Dihydroxypropoxy)propyl ("Diol"phase)

Übliche Derivatisierungen

- n-Butyl, n-Octyl (RP 8), n-Octadecyl (RP 18), Perfluoralkyl
- 3-Phenylpropyl, 3-Pentafluorphenylpropyl
- 3-Cyanopropyl, 3-(1,2-Dihydroxypropoxy)propyl ("Diol"phase)
- 3-Aminopropyl, 3-Dimethylaminopropyl

Übliche Derivatisierungen

- n-Butyl, n-Octyl (RP 8), n-Octadecyl (RP 18), Perfluoralkyl
- 3-Phenylpropyl, 3-Pentafluorphenylpropyl
- 3-Cyanopropyl, 3-(1,2-Dihydroxypropoxy)propyl ("Diol"phase)
- 3-Aminopropyl, 3-Dimethylaminopropyl
- Ionentauscher (Sulfonat- und Trimethylaminogruppen)

Übliche Derivatisierungen

- n-Butyl, n-Octyl (RP 8), n-Octadecyl (RP 18), Perfluoralkyl
- 3-Phenylpropyl, 3-Pentafluorphenylpropyl
- 3-Cyanopropyl, 3-(1,2-Dihydroxypropoxy)propyl ("Diol"phase)
- 3-Aminopropyl, 3-Dimethylaminopropyl
- Ionentauscher (Sulfonat- und Trimethylaminogruppen)
- Chirale Substituenten (3-Punkt-Theorie)

Optimierungsmöglichkeiten

- Partikelgeometrie

Optimierungsmöglichkeiten

- Partikelgeometrie
- Vermeidung von kationischen, Lewis-sauren Metallzentren (v.a. Eisen) durch hohe Reinheit des Kieselgels

Optimierungsmöglichkeiten

- Partikelgeometrie
- Vermeidung von kationischen, Lewis-sauren Metallzentren (v.a. Eisen) durch hohe Reinheit des Kieselgels
- Unpolare Quervernetzung der Substituenten

Optimierungsmöglichkeiten

- Partikelgeometrie
- Vermeidung von kationischen, Lewis-sauren Metallzentren (v.a. Eisen) durch hohe Reinheit des Kieselgels
- Unpolare Quervernetzung der Substituenten
- Einführung von polaren Gruppen oder Etherbindungen mit dem Derivatisierungsreagenz

Optimierungsmöglichkeiten

- Partikelgeometrie
- Vermeidung von kationischen, Lewis-sauren Metallzentren (v.a. Eisen) durch hohe Reinheit des Kieselgels
- Unpolare Quervernetzung der Substituenten
- Einführung von polaren Gruppen oder Etherbindungen mit dem Derivatisierungsreagenz
- Nachsilanisierung (endcapping)

Linear Solvent Strength Model

Snyder-Soczewinski Gleichung:

$$\log k' = \log k'_{w} - S\phi$$

$\log k'_{w}$	Kapazitätsfaktor bei 100 % Wasser
S	Schwach substanzabhängige Konstante
ϕ	Anteil eines organischen Lösemittels in der mobilen Phase

Abhängigkeit $\log k'$ von ϕ

Figure 1.8 aus

Ähnliche Analyten

Unähnliche Analyten

Snyder and Dolan (2007), p. 14

Verteilung Flüssigkeit-Interphase

Energiebeiträge zur freien Transferenthalpie $\Delta_{ms}G_i$ sind durch die Differenzen der Systemkonstanten von mobiler und stationärer Phase gekennzeichnet:

- Lochbildung in der Flüssigkeit ("Cavity formation"):

Verteilung Flüssigkeit-Interphase

Energiebeiträge zur freien Transferenthalpie $\Delta_{ms}G_i$ sind durch die Differenzen der Systemkonstanten von mobiler und stationärer Phase gekennzeichnet:

- Lochbildung in der Flüssigkeit ("Cavity formation"):
 - Kohärenz der Flüssigkeit

Verteilung Flüssigkeit-Interphase

Energiebeiträge zur freien Transferenthalpie $\Delta_{ms}G_i$ sind durch die Differenzen der Systemkonstanten von mobiler und stationärer Phase gekennzeichnet:

- Lochbildung in der Flüssigkeit ("Cavity formation"):
 - Kohärenz der Flüssigkeit
 - Molekülgrösse des zu lösenden Stoffes i

Verteilung Flüssigkeit-Interphase

Energiebeiträge zur freien Transferenthalpie $\Delta_{ms}G_i$ sind durch die Differenzen der Systemkonstanten von mobiler und stationärer Phase gekennzeichnet:

- Lochbildung in der Flüssigkeit ("Cavity formation"):
 - Kohärenz der Flüssigkeit
 - Molekülgrösse des zu lösenden Stoffes i
- Zwischenmolekulare Wechselwirkungsenergien mit der Flüssigkeit

Verteilung Flüssigkeit-Interphase

Energiebeiträge zur freien Transferenthalpie $\Delta_{ms}G_i$ sind durch die Differenzen der Systemkonstanten von mobiler und stationärer Phase gekennzeichnet:

- Lochbildung in der Flüssigkeit ("Cavity formation"):
 - Kohärenz der Flüssigkeit
 - Molekülgrösse des zu lösenden Stoffes i
- Zwischenmolekulare Wechselwirkungsenergien mit der Flüssigkeit
- Eventuell Strukturierung der Solvatationshülle

Parametrisierung nach Abraham

Summe aus Wechselwirkungsbeiträgen

$$\Delta_{\text{ms}}G_i = vV + eE + sS + aA + bB + c$$

- vV Lochbildung und Dispersionskräfte
- eE Dispersionskräfte durch Polarisierbarkeit von i
- sS Dipolarität/Polarisierbarkeit von i
- aA H-Brücken mit i als H-Donor
- bB H-Brücken mit i als H-Akzeptor
- c Konstante aus der Regressionsrechnung

ϕ und die Systemkonstanten

Systemkonstanten (positive
begünstigen die stationäre Phase):

- m: Lochbildung und Dispersion (v)
- r: Polarisierbarkeit von i (e)
- s: Dipolarität/Polarisierbarkeit von i
- a: H-Brückenakzeptorfunktion
- b: H-Brückendonorfunktion
- c: Regressionskonstante

Abbildung 4.13 aus

Poole (2003), p. 309