

Grundlagen der Gaschromatographie (GC)

Abschlußarbeit der Physikalaborentenausbildung im
Institut für Spektrochemie und
angewandte Spektroskopie (ISAS) Dortmund

Tobias Brinkert

eMail: <t.brinkert@semibyte.de>

Homepage: <www.semibyte.de>

27.05.2005

Version 1.3

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 Grundlagen der Gaschromatographie (GC) | 4 |
| 2 Grundlagen chromatographischer Trennverfahren | 4 |
| 3 Probenaufgabesysteme | 7 |
| 3.1 Heiße Probenaufgabe | 8 |
| 3.1.1 Split-Injektion | 9 |
| 3.1.2 Totalaufgabe (splitlose Injektion) | 10 |
| 3.2 Kaltaufgabesysteme | 11 |
| 3.2.1 Das PTV-Kaltaufgabesystem (PTV = programmed temperature vaporizer) | 11 |
| 3.3 Injektionsvolumina | 12 |
| 4 Kapillar-Trennsäulen | 13 |
| 4.1 Probenkapazität | 14 |
| 4.2 Innendurchmesser | 14 |
| 4.3 Filmdicke | 15 |
| 4.4 Säulenlänge | 16 |
| 4.5 Einstellung des Trägergas-Flusses | 17 |
| 5 Kenngrößen der Chromatographie | 17 |
| 5.1 Das Chromatogramm und seine Aussage | 17 |
| 5.2 Kapazitätsfaktor k' | 19 |
| 5.3 Die chromatographische Auflösung | 19 |
| 5.4 Beeinflussung der Auflösung | 20 |
| 5.5 Belastbarkeit | 21 |
| 5.6 Peaksymmetrie | 21 |
| 5.7 Strömungsoptimierung | 22 |
| 5.8 Wirkungsgrad und Analysenzeit | 22 |
| 5.9 Zusammenstellung der chromatographischen Kenngrößen | 23 |
| 6 Klassische Detektoren | 25 |
| 6.1 FID | 25 |
| 6.2 Detektorübersicht | 25 |
| 6.2.1 Flammenionisationsdetektor [FID] | 25 |
| 6.2.2 Stickstoff/ Phosphor-Detektor [NPD] | 26 |
| 6.2.3 Elektroneneinfangdetektor [ECD] | 26 |
| 6.2.4 Photoionisationsdetektor [PID] | 26 |
| 6.2.5 Elektrolytischer Leitfähigkeitsdetektor [ELD] | 26 |
| 6.2.6 Flammenphotometrischer Detektor [FPD] | 27 |
| 7 Gaschromatographieprobleme | 27 |
| 7.1 Vorschläge für eine effektive Störungssuche | 27 |

| | | |
|-----|---|-----------|
| 7.2 | Isolierung der Fehlerquelle | 28 |
| 7.3 | Untersuchung des Trägergassystems | 28 |
| 7.4 | Leckuntersuchungen | 28 |
| 7.5 | Probeninjektion | 29 |
| | Tabellenverzeichnis | 29 |
| | Abbildungsverzeichnis | 29 |

1 Grundlagen der Gaschromatographie (GC)

Gaschromatographie ist die Bezeichnung für eine Chromatographie zur Trennung von Stoffgemischen, die gasförmig vorliegen oder sich unzerlegt verdampfen lassen, wobei als mobile Phase ein Gas dient. Man unterscheidet dabei die Gas-Flüssigkeits-Verteilungschromatographie (GLC, von engl.: *Gas Liquid Chromatography*) von der Adsorptions-Gaschromatographie (GSC, von engl.: *Gas Solid Chromatography*). Im ersten Fall benutzt man wenig flüchtige Flüssigkeiten (Trennflüssigkeiten) wie Paraffine, Siliconöle, Apiezonfett, Wachse, polymere Ester und Ether u. a., die auf ein indifferentes Trägermaterial aus Kieselgur, Tonerde, Celite, Schamottmehl, Glas, PTFE-Pulver etc., aufgebracht sind. Dieses benetzte Trägermaterial wird in Rohre von einigen Millimetern Durchmesser und einigen Metern Länge gefüllt. Bei der ausschließlich für analytische Zwecke eingesetzten Kapillar-Gaschromatographie (manchmal auch HR-GC, von engl.: *High Resolution-GC*) unterscheidet man zwei Arten von Kapillarsäulen (auch Golay-Säulen nach ihrem Erfinder): die Dünnschichtkapillarsäule (*wall coated open tubular columns*, WCOT-columns) und die Dünnschichtkapillarsäulen (*support coated open tubular columns*, SCOT-columns). Im ersten Fall befindet sich die Trennflüssigkeit als Film von 0,1 – 3 µm auf der Innenwand einer Kapillaren von 0,1 – 0,5 mm Innendurchmesser. Die zweite Sorte enthält eine dünne Schicht imprägnierten Trägermaterials. Besteht die Schicht aus Adsorptionsmaterial wie Aluminiumoxid, Molekularsieb oder Kieselgel, spricht man auch von *porous layer open tubular columns* (PLOT-columns). In beiden Fällen haben die Kapillaren im Gegensatz zu gepackten Säulen einen offenen Längskanal, wodurch Säulenlängen von über 200 m möglich werden. Als Säulenmaterial wird für die Prozeß-Gaschromatographie Edelstahl eingesetzt. Die Glaskapillaren werden weitgehend durch *Fused Silica* Säulen ersetzt. Bei *Fused Silica* handelt es sich um amorph geschmolzenes SiO₂, woraus sich sehr dünnwandige flexible Kapillaren von großer Inertheit herstellen lassen. Zum Schutze vor chemischen und mechanischen Einflüssen erhalten diese Kapillaren einen temperaturfesten Polyimid-Außenlack. Der Trennfilm wird durch Molmassenerhöhung und chemischer Bindung an der Innenwand nachträglich immobilisiert, wodurch Säulenbluten vermindert wird. Derartige Säulen vertragen größere Probenvolumina und können zum Entfernen von Kontaminationen mit Lösungsmitteln gespült werden.

Eine schematische Abbildung eines Gaschromatographen ist in Abbildung 1 wiedergegeben.

2 Grundlagen chromatographischer Trennverfahren

Chromatographische Trennungen erfolgen in einer Trennstrecke, die eine stationäre Phase enthält und von einer mobilen Phase durchströmt wird. Der Begriff Phase bezeichnet einen stofflichen Aggregatzustand und eine »chromatographische« Phase kann daher ein Feststoff, eine Flüssigkeit oder ein Gas sein. Chromatographische Trennsysteme ergeben sich durch eine sinnvolle Kombination solcher Phasen.

Ursache der chromatographischen Trennung ist die Retention. Die Stoffmoleküle werden von und mit der Geschwindigkeit der mobilen Phase durch die Trennstrecke transportiert. Zeitweise werden sie aber auch von der stationären Phase festgehalten und sind dadurch dem

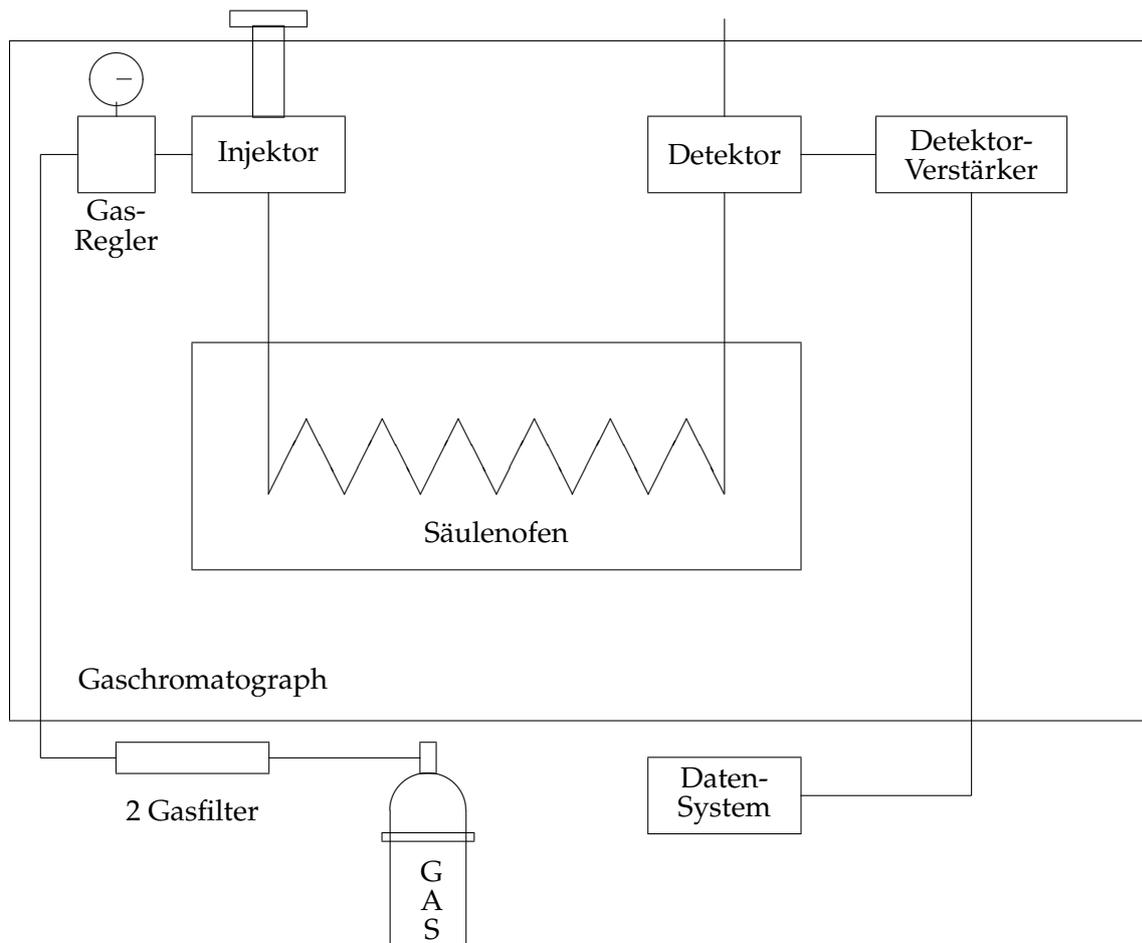


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Gaschromatographen

Transport entzogen. Infolgedessen wird die Trennstrecke langsamer zurückgelegt als von der mobilen Phase. Diese Verzögerung wird als chromatographische Retention bezeichnet.

Trennstrecke in der Gaschromatographie ist immer eine »Säule«. Eine gepackte Säule besteht aus einem Rohr, das mit dem porösen Säulenmaterial dicht gestopft ist. Im Fall der Adsorptions-Gaschromatographie ist es das Adsorptionsmittel selbst, im Fall der Gas-Flüssig-Chromatographie ist jedes poröse Korn eines inerten Trägermaterials mit einem dünnen Film der stationären Phase imprägniert.

Bei Kapillarsäulen haftet die stationäre Phase als dünner Film an der Wand der Kapillare. Kapillarsäulen weisen im Gegensatz zu gepackten Säulen daher einen offenen Längskanal auf.

Im Fall der Gas-Flüssig-Chromatographie verteilt sich ein Stoff zwischen der flüssigen stationären Phase und der mobilen Gasphase. Dieser Vorgang wird durch einen Verteilungskoeffizienten beschrieben; dieser gibt an, um wieviel größer die Konzentration eines Stoffes in der Lösung der stationären Phase ist, als in der Gasphase.

Der Verteilungsvorgang kommt dadurch zustande, daß die Molekeln ständig zwischen den beiden Phasen hin und her pendeln. Unterschiedliche Verteilungskoeffizienten beruhen auf unterschiedlichen Verweilzeiten in den beiden Phasen. Ist das Mengenverhältnis eines Stoffes z. B. gleich 3, d. h. ist die Menge dieses Stoffes in der stationären Phase dreimal so groß wie in der Gasphase, dann ist auch die Verweilzeit in der stationären Phase dreimal so lang.

Die gesamte Verweilzeit eines Stoffes in der Säule wird als Bruttoretentionszeit bezeichnet. Das ist die Zeit vom Moment der Dosierung bis zum Peakmaximum. Als Peak wird das Konzentrationsprofil eines Stoffes bezeichnet, wie es beim Verlassen der Säule registriert wird. Infolge verschiedener Diffusionsvorgänge zeigt ein Peak die Form einer Gauß-Kurve.

Die Bruttoretentionszeit setzt sich zusammen aus der Verweilzeit in der stationären Phase und in der Gasphase. Letztere läßt sich mit einem Stoff bestimmen, der von der stationären Phase nicht zurückgehalten wird, z. B. Luft. So ein Stoff wandert mit der Geschwindigkeit der mobilen Phase durch die Säule. Die Verweilzeit dieses Stoffes in der Gasphase wird daher als Durchbruchzeit des Luftpeaks bezeichnet. Die Verweilzeit in der Gasphase ist für alle Stoffe gleich.

Die Verweilzeit eines Stoffes in der flüssigen stationären Phase kann nicht unmittelbar bestimmt werden. Sie errechnet sich als Differenz zwischen der Bruttoretentionszeit und der Durchbruchzeit des Luftpeaks und wird als Nettoretentionszeit oder auch als reduzierte Retentionszeit bezeichnet.

Zwei Stoffe sind trennbar, wenn sie sich unterschiedlich lange in der stationären Phase aufhalten. Dadurch resultieren unterschiedlich lange Retentionszeiten und ihre Trennbarkeit läßt sich durch das Verhältnis der Nettoretentionszeiten beschreiben. Dieses Verhältnis wird als relative Retention bzw. als Trennfaktor bezeichnet und gibt gleichzeitig die Verhältnisse aller davon abgeleiteten Größen wieder, wie z. B. der Mengenverhältnisse oder Verteilungskoeffizienten. Der Trennfaktor unterscheidet sich von der relativen Retention nur dadurch, daß grundsätzlich der erste Peak als Bezugspeak verwendet wird und daher nur Zahlenwerte >1 auftreten, während die relative Retention sowohl kleiner als auch größer als 1 sein kann.

Die Konzentration eines Stoffes in der Gasphase (Molenbruch x^G) läßt sich durch den Partialdruck p' als Anteil am Gesamtdruck P wie folgt ausdrücken:

$$p' = x^G P \quad (2.1)$$

Nach dem Raoult'schen Gesetz ist der Partialdruck eines Stoffes über seiner Lösung bestimmt durch seine Konzentration in der Lösung (Molenbruch x^L) und dem Dampfdruck (p^0) des reinen Stoffes bei gegebener Temperatur T .

$$p' = x^L \cdot p^0 \quad (2.2)$$

Diese Beziehung gilt nur für »ideale Lösungen«, d. h. wenn der gelöste Stoff dem Lösungsmittel chemisch so ähnlich ist, daß keine zusätzlichen zwischenmolekularen Wechselwirkungskräfte (Van der Waal'sche Kräfte) auftreten.

Bestehen aber solche zusätzlichen zwischenmolekulare Wechselwirkungskräfte, kann ein Molekül des gelösten beim Verdampfen entweder von den umgebenden Lösungsmittelmolekülen angezogen oder abgestoßen werden, und dementsprechend wird der Partialdruck

erniedrigt oder erhöht. Diese Abweichungen vom »idealen« Verhalten werden durch den Aktivitätskoeffizienten g erfaßt.

Eine erweiterte Fassung des Raoult'schen Gesetzes ist die Gleichung

$$p' = x^L \gamma p^0 \quad (T = \text{konst}) \quad (2.3)$$

mit dem Partialdruck des gelösten Stoffes über der Lösung p' , dem Molenbruch des gelösten Stoffes in der Lösung x^L , dem Aktivitätskoeffizient g und dem Dampfdruck p^0 des reinen Stoffes bei der Temperatur T ist – sie berücksichtigt als Folge des Henry'schen Gesetzes den Einfluß des Aktivitätskoeffizienten. Bei der GC ist die Konzentration eines Stoffes in der flüssigen stationären Phase immer so klein, daß man stets im Bereich von sogenannten »ideal verdünnten« Lösungen mit einem konstanten Aktivitätskoeffizienten bleibt. Erst bei konzentrierteren Lösungen wird der Aktivitätskoeffizient selbst konzentrationsabhängig.

3 Probenaufgabesysteme

Zu Zeiten der gepackten Säulen wäre diesem Thema erheblich weniger Aufmerksamkeit zugekommen. Die On-Column-Aufgabe war Stand der Technik und auf keinen Fall ein limitierender Faktor für die Qualität der chromatographischen Trennung. Mit der Einführung der Kapillartechnik in Form von Glaskapillaren oder Fused-Silica-Kapillaren hat die High Resolution-Gaschromatographie (HR-GC) Einzug in die Laboratorien gehalten und die GC und GC/MS technologisch einen großen Schritt voran gebracht. Die Ausnutzung der hohen Trennleistung von Kapillarsäulen verlangt heute die perfekte Beherrschung einer problemorientierten Probeaufgabe-Technik.

Nach *Matter* und *Schomburg* sind an die Probeaufgabe folgende Forderungen zu stellen:

- ▶ Erreichung der optimalen Effizienz der Trennsäule.
- ▶ Erreichung eines hohen Signal/Rausch-Verhältnisses durch möglichst steile Peakprofile für den sicheren Nachweis und die quantitative Bestimmung von Spurenkomponenten bei ausreichender Auflösung (keine Bandenverbreiterung).
- ▶ Vermeidung jeglicher Veränderung der quantitativen Zusammensetzung der Originalprobe (systematische Fehler, Richtigkeit).
- ▶ Vermeidung zu großer statistischer Fehler für die absoluten und relativen Peakflächen (Präzision).
- ▶ Vermeidung thermischer und / oder katalytischer Zersetzung bzw. Umwandlung von Probenkomponenten.
- ▶ Unverdampfbare Probenkomponenten dürfen nicht in die Säule gelangen oder müssen leicht wieder entfernbar sein (Vorsäule). Schwerflüchtige Probenbestandteile führen in der Trennsäule zu Trennleistungsverlusten durch Peakverbreiterung und verkürzen die Lebensdauer der Kapillarsäule.

-
- ▶ Im Bereich der Spurenanalytik ist es notwendig, die zu analysierenden Substanzen möglichst verlustfrei in das Trennsystem zu überführen. Wünschenswert ist hier die Applikation größerer Probenvolumina (bis über 100 μL).
 - ▶ Eine bedeutende Rolle für die Routineanwendung spielen die einfache Handhabung, Bedienung und Wartung eines Probenaufgabesystems.
 - ▶ Die Möglichkeit zur Automation der Injektion spielt nicht nur bei hohem Probenaufkommen eine Rolle, auch zur Erzielung geringer Standardabweichungen ist die automatische Injektion der manuellen überlegen.

Der sorglose Umgang bei der Dosierung des Probenextraktes geht häufig an den hervorragenden Möglichkeiten der Kapillartechnik vorbei. Bei allen modernen GC und GC/MS-Systemen ist deshalb die Probenaufgabe von elementarer Bedeutung für die Qualität der chromatographischen Analytik. Eine mangelhafte Dosierung kann selbst durch die Wahl besten Säulenmaterials nicht kompensiert werden, was ebenso für die Wahl der Detektoren gilt.

Ausgangspunkt für die Diskussion von Probenaufgabe-Systemen ist das Ziel, zu Beginn der Chromatographie am Kopf der Kapillar-Trennsäule eine möglichst enge Probenzone zu schaffen. Dieses schmale Probenband bestimmt prinzipiell die Qualität der Chromatographie, da die Peakform am Ende der Trennung nicht besser (schmäler, symmetrischer, etc.) sein kann als die Probenaufgabe bei der Dosierung der Probe. Die Trennstufenzahl (Bodenzahl) einer Säule wird von vielen Säulenherstellern gern als Maß für das Trennvermögen einer chromatographischen Säule benutzt. Die Probenaufgabe bedeutet in diesem Sinne die Aufgabe des Probenextraktes auf den ersten Boden der Trennsäule. In der Kapillar-GC liegt das Volumen eines solchen Bodens bei unter 0,01 μL . Die in der Spurenanalytik eingesetzten Probenextrakte liegen aber meist in sehr großer Verdünnung vor, was die Handhabung entsprechend großer Lösungsmittelmengen ($> 1 \mu\text{L}$) erforderlich macht.

Die Einordnung der Probenaufgabe-System kann entsprechend ihrer Funktion zunächst in die beiden Gruppen der »heißen« und der »kalten« Probenaufgabe-Techniken erfolgen.

3.1 Heiße Probenaufgabe

Bei den klassischen Aufgabetechniken wird die Dosierung der Probelösung in konstant beheizte Injektoren vorgenommen. Sowohl das Lösemittel als auch die darin gelöste Probe verdampfen in einem eigens dafür vorgesehenen Verdampferrohr (Insert) und mischen sich mit dem eingespeisten Trägergas. Zur Verdampfung werden Temperaturen von ca. 200 °C bis über 300 °C eingesetzt. Abhängig von teilweisen oder vollständigen Transfer der Lösemittel- und Probenanteile in das Trennsystem werden die Betriebsweisen Split-Injektion und Totalaufgabe (splitlos) unterschieden. Das Problem der Diskriminierung bei der Injektion in heiße Injektoren stellt sich bereits bei der Frage nach der besten Injektionstechnik.

Solvent Flush / Hot Needle: Dies ist das Injektionsverfahren »der Wahl« bei heißen Injektoren und liefert, was den Einspritzvorgang betrifft, das günstigste Diskriminierungsverhalten. In die Spritze werden zunächst ca. 0,5 – 1 μL Löse- oder Derivatisierungsmittel (»Schieber«) aufgezogen, danach ca. 0,5 – 1 μL Luft und zum Schluß der Probenextrakt

(Sandwich-Technik). Vor der Injektion werden die Flüssigkeitspfropfen in den Spritzenkörper hochgezogen. Dadurch können auch die Volumina an der Skala besser abgelesen werden. Bei der Injektion wird zunächst die Nadel in den Injektor eingestochen, das Erwärmen der Nadel abgewartet (ca. 2 s) und die Probe anschließend sehr schnell injiziert.

Hot Needle: Diese Technik ist sicher die am häufigsten eingesetzte Variante: Lediglich der Probenextrakt wird in die Spritze aufgezogen, der Pfropfen wird dabei in den Spritzenkörper hochgezogen, so daß das Volumen an der Skala ablesbar ist. Zur Injektion wird nach dem Nadeleinstich wiederum kurz die Erwärmung abgewartet, dann schnell injiziert.

Solvent Flush / Cold Needle: Hier wird wie oben beschrieben die »Sandwich-Technik« zum Befüllen der Spritze angewandt. Die Injektion wird jedoch sehr rasch ausgeführt, ohne das Erwärmen der Injektionsnadel zuzulassen.

Cold Needle: Lediglich der Probenextrakt wird in die Spritze aufgezogen, der Pfropfen wird dabei so in den Spritzenkörper hochgezogen, daß das Volumen an der Skala ablesbar ist. Die Injektion wird jedoch sehr rasch ausgeführt, ohne das Erwärmen der Injektionsnadel zuzulassen.

3.1.1 Split-Injektion

Nach dem Verdampfen im Insert wird bei der Split-Technik der Proben-/Trärgas-Strom aufgeteilt. Der größere, variable Teil verläßt den Injektor durch den Splitausgang und der kleinere Teil gelangt in die Trennsäule. Typische Splitverhältnisse liegen meist im Bereich von 1 : 10 bis 1 : 100 oder darüber. Die Startwerte für ein Temperaturprogramm des GC-Ofens sind bei dieser Vorgehensweise vom Injektionsverfahren unabhängig (siehe Tabelle 1 und Abbildung 2).

Für konzentrierte Proben stellt die Variation des Splitverhältnisses und des Dosiervolumens die einfachste Möglichkeit dar, die Substanzmenge der Säulenkapazität (*column load*) und dem Arbeitsbereich des Detektors (*linearity*) anzupassen. Durch den höheren Splitstrom erhöht sich die Trärgas-Geschwindigkeit im Injektor und ermöglicht den stark beschleunigten Transport der Probenwolke am Säulenanfang vorbei. Hierdurch wird die Aufgabe einer sehr schmalen Probezone auf die Trennsäule ermöglicht.

Tabelle 1: Splitverhältnisse und Säuleninnendurchmesser

| Durchmesser | 150 μm | 250 μm | 320 μm | 530 μm |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Mindestverhältnis | 1:80 | 1:40 | 1:10 | 1:5 |
| Maximalverhältnis | 1:1000 | 1:200 | 1:100 | 1:30 |

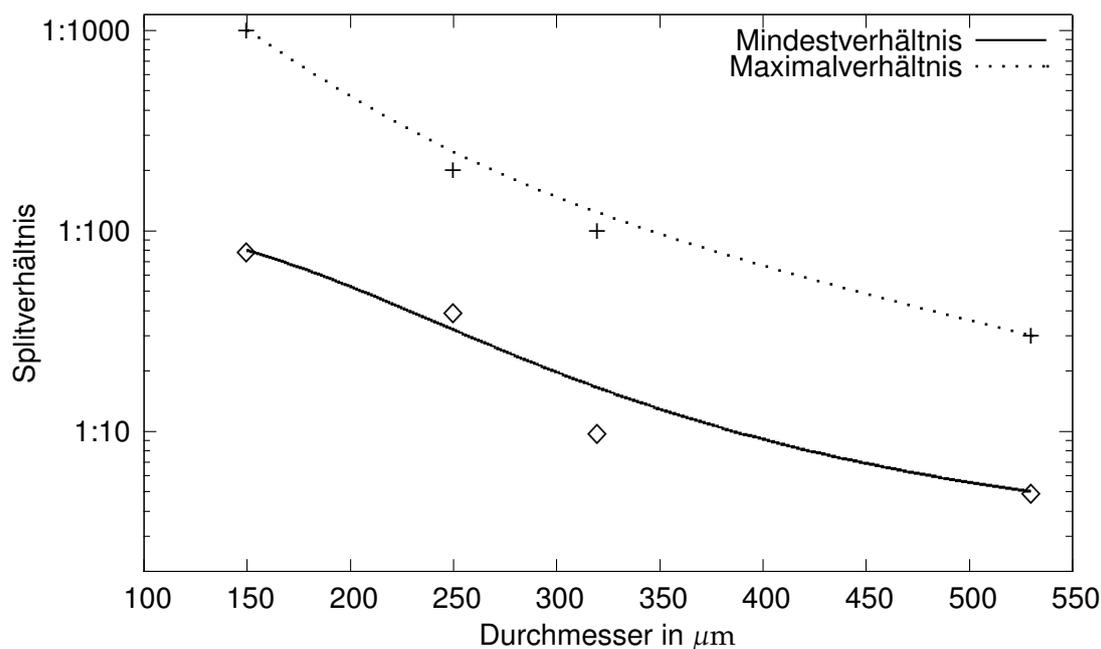


Abbildung 2: Splitverhältnisse und Säulinnendurchmesser

3.1.2 Totalaufgabe (splitlose Injektion)

Bei der Totalaufgabe-Technik erfolgt die Dosierung in den heißen Injektor bei geschlossenem Split-Ventil. Das Volumen des Injektor-Inserts muß die Lösemittel-/Proben-Dampf Wolke zunächst vollständig aufnehmen können, weshalb spezielle Insert-Liner (Verdampferrohre) für den Splitlos-Betrieb empfohlen werden. Zu kleine Inserts führen bei der explosionsartigen Verdampfung des Lösemittels zu einer Expansion des Probendampfes über das Insert hinaus in kältere Regionen des Injektors wie dem Septumbereich oder der Splitleitung und verursachen heftige Kontaminationsprobleme. Zu weite Insert führen zu einer starken Verdünnung der Probenwolke und damit zu verlängerten Transferzeiten und Verlusten durch Diffusion. Ein gängiger Kompromiß vieler Hersteller sind Insert-Volumina von 1 mL für Injektionsvolumina von ca. 1 – 2 μL . Die Septum-Spülung sollte auch bei der splitlosen Injektion nicht vollständig geschlossen sein. Bei korrekter Wahl des Inserts erreicht die Probenwolke das Septum nicht, weshalb der geringe Purge-Fluß ohne Einfluß auf die Injektion selbst bleibt.

Durch das Trägergas wird die Probenwolke aus dem Injektor stetig in die Trennsäule gespült. Dieser Vorgang benötigt in der Regel bis zum vollständigen Transfer ca. 30 – 90 Sekunden. Längere Transferzeiten sind meist nicht ratsam, da die Probenbande auf der Trennsäule verbreitert wird. Ideale Transferzeiten ermöglichen den drei- bis fünfmaligen Transfer des Insertvolumens auf die Trennsäule. Hohe Trägergas-Geschwindigkeiten begünstigen diesen Vorgang, weshalb Wasserstoff auch bezüglich der Probenaufgabe Helium als Trägergas vorzuziehen ist. Aus dem gleichen Grund ist bei der Splitlos-Technik ein Säulendurchmesser von 0,32 mm engeren Typen vorzuziehen, um die optimalen Strömungsgeschwindigkeiten im Injektor nutzen zu können.

Da die Transferzeiten gegenüber der Split-Injektion groß sind und zu einer erheblichen Verteilung der Probenwolke in die Trennsäule hinein führen, muß der resultierenden Bandenverbreiterung durch geeignete Temperaturwahl des Säulenofens entgegengewirkt werden. Nur bei Starttemperaturen unterhalb des Siedepunktes des eingesetzten Lösemittels wird durch den »solvent effect« eine ausreichende Refokussierung der Probe erreicht. Als Faustregel gilt, daß bei einer Ofentemperatur von 10 – 15 °C unterhalb des Siedepunktes des eingesetzten Lösemittels der »solvent effect« wirksam wird. Das an den Säulenwänden kondensierende Lösemittel wirkt dabei temporär als Hilfsphase, beschleunigt den Transfer der Probenwolke in die Säule, hält die Komponenten der Probe fest und fokussiert mit zunehmender Abdampfung von Lösemittel in den Trägergas-Strom (Lösemittel-Peak) die Probenkomponenten am Säulenanfang. Erst nach abgeschlossenem Probentransfer wird das Split-Ventil bis zum Ende der Analyse geöffnet, um den weiteren Eintrag von (Stör-)Komponenten in die Säule zu unterbinden. Die Splitlos-Technik setzt deshalb das Arbeiten mit Temperaturprogrammen voraus.

3.2 Kaltaufgabesysteme

Bei den kalten Probeaufgabe-Techniken wird die Probe »kalt« direkt in die Trennsäule (on-column) oder in einen speziell konstruierten Verdampfer injiziert. Der Probenextrakt wird bei Temperaturen, die deutlich unterhalb der Siedepunkte der Lösemittel liegen, flüssig aus der Spritzenadel in das Insert ausgestoßen. Das Aufheizen setzt erst ein, nachdem die Spritzenadel aus der Injektorzone wieder herausgezogen ist.

Durch die kalte Injektion einer flüssigen Probe wird bei allen Systemen die selektive Verdampfung aus der Spritzenadel vermindert, die bei den heißen Injektionsverfahren zur Diskriminierung von hochsiedenden Komponenten führt.

3.2.1 Das PTV-Kaltaufgabesystem (PTV = programmed temperature vaporizer)

Die temperaturprogrammierte Verdampfung mit Split- oder splitloser Arbeitsweise basiert bei den heute verfügbaren Injektoren auf den systematischen Arbeiten von *Poy* (1981) und *Schomburg* (1981). Besonders in den Anfängen der Erprobung wurde die Diskriminierungsfreiheit für Substanzen bis über C₆₀ hinaus dokumentiert und ihre gute Eignung besonders für schwerflüchtige Substanzen wie z. B. polykondensierte Aromaten betont.

Die Vorteile der kalten Split- und splitlosen Probenaufgabe sind vielfältig:

- ▶ Diskriminierung durch Destillationseffekte aus der Spritzenadel treten nicht auf.
- ▶ Ein definiertes Flüssigkeitsvolumen kann reproduzierbar dosiert werden.
- ▶ Die Probenbestandteile verdampfen durch das kontrollierte Aufheizen des Injektionsbereiches in der Reihenfolge ihrer Siedepunkte. Zunächst verdampft das Lösemittel und läßt die Probenkomponenten an der Injektionsstelle zurück, ohne durch eine explosionsartige Verdampfung zu einer Verteilung der Analyten im Injektor zu führen.

- ▶ Durch die fraktionierte Verdampfung wird eine Aerosol- oder Tröpfchenbildung gut vermieden.
- ▶ Da der Verdampfer nicht das komplette Expansionsvolumen der eingespritzten Probelösung aufnehmen muß, können kleinere Inserts mit verringerte Innenvolumen eingesetzt werden. Der dadurch schnellere Transfer auf die Trennsäule verringert die Bandenverbreiterung der Peaks und wirkt sich damit günstig auf das Signal/Rausch-Verhältnis aus.
- ▶ Differieren die Siedepunkte von Probenkomponenten und Lösungsmittel um mehr als 100 °C, können größere Probepolumina (bis über 100 µL) injiziert werden (solvent split).
- ▶ Unverdampfbare Rückstände und Verunreinigungen gelangen nicht in die Trennsäule.
- ▶ Bei konzentrierteren Proben besteht die Möglichkeit, die Dosierung durch Wahl des Split-Verhältnisses der Kapazität der Säule anzupassen.

3.3 Injektionsvolumina

Zur Diskussion der optimalen Injektionsvolumina bei heißen und kalten Injektionssystemen wird die Benutzung einer 25 m langen Kapillarsäule mit einem Innendurchmesser von 0,32 mm angenommen, die mit einer linearen Trägergas-Geschwindigkeit von 30 cm s⁻¹ betrieben wird. Bei diesen Bedingungen ist ein Trägergas-Fluß von ca. 2 mL min⁻¹ durch die Säule zu erwarten. Für den Modus der Totalaufgabe kann hieraus unter Berücksichtigung der jeweiligen Insert-Volumina die Trägergas-Geschwindigkeit für die beiden Injektortypen ermittelt werden. Zur berücksichtigen ist ferner das Expansionsvolumen verschiedener in der GC eingesetzter Lösemittel (siehe Tabelle 2 und Abbildung 3¹).

¹ Die hier angegebenen Expansionsvolumina beziehen sich auf eine Injektor-Temperatur von 250 °C und einem Vordruck von 0,7 bar (10 psi). Die Werte können für abweichende Temperaturen und Vordrücke entsprechend umgerechnet werden. Die Berechnung erfolgt nach $V_{exp.} = p^{-1} n R T$

| Injektionsvolumen in µL | H ₂ O in µL | CS ₂ in µL | CH ₂ Cl ₂ in µL | Hexan in µL | iso-Oktan in µL |
|----------------------------|---------------------------|--------------------------|--|----------------|--------------------|
| 0,1 | 142 | 42 | 40 | 20 | 16 |
| 0,5 | 710 | 212 | 200 | 98 | 78 |
| 1,0 | 1420 | 423 | 401 | 195 | 155 |
| 2,0 | 2840 | 846 | 802 | 390 | 310 |
| 3,0 | 4260 | 1270 | 1200 | 585 | 465 |
| 4,0 | 5680 | 1690 | 1600 | 780 | 620 |
| 5,0 | 7100 | 2120 | 2000 | 975 | 775 |

Tabelle 2: Typische Lösemittel-Expansionsvolumina

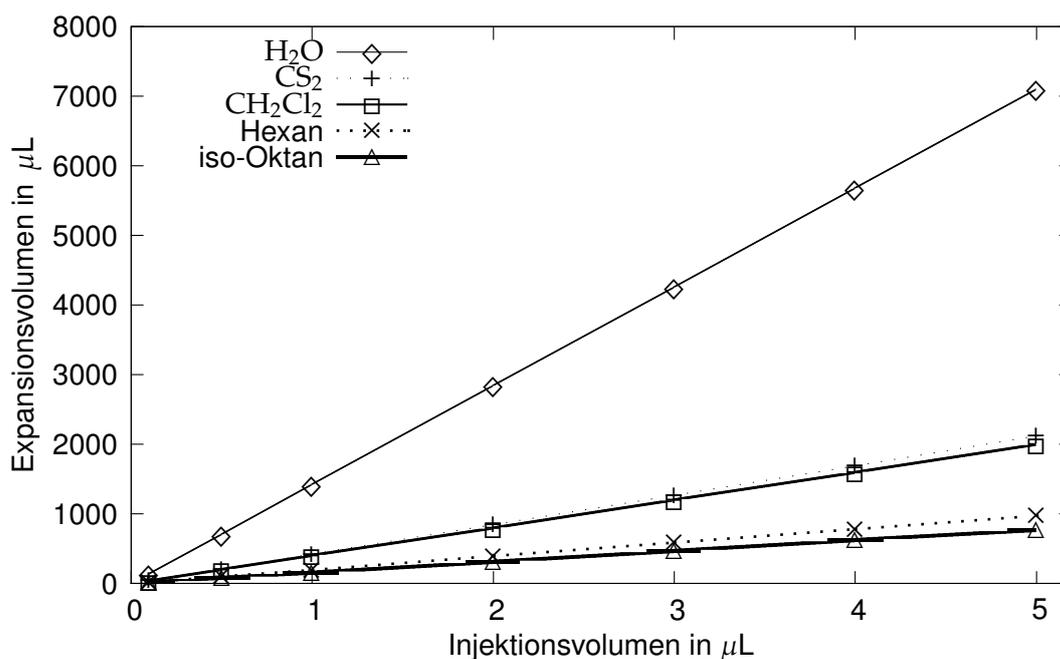


Abbildung 3: Typische Lösemittel-Expansionsvolumina

Die Wahl der Kapillar-Trennsäule sowie angepaßter Injektionsparameter und -volumina machen erst die Ausnutzung der maximalen Leistung sowohl von heißen als auch der kalten Aufgabesystem möglich. Bei heißen Injektoren sind Kapillarsäulen mit einem Innendurchmesser von 0,32 mm besser geeignet, da hier der Transfer der Probe vom Injektor zur Säule ohne Diffusion abläuft und eine schnelle Aufgabe ermöglicht. Die alternativ einsetzbaren Säulen mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm sollten in heißen Injektoren mit einem engen 2,0 mm ID Insert und einem Injektionsvolumen von 0,5 μL benutzt werden, um entsprechend optimale Resultate zu erzielen (siehe Tabelle 3).

4 Kapillar-Trennsäulen

Bei der Auswahl der Trennsäulen gibt es keine verbindlichen Regeln. Die Auswahl der »richtigen« Trennphase erfolgt nach dem Kriterium: »Gleiches löst sich in Gleichem«. Die Polarität der Trennphase sollte der Polarität der zu trennenden Stoffe entsprechen. Für den Einsatz in der Rückstandsanalytik haben sich besonders Trennphasen für Hochtemperatur-Anwendungen bewährt. Neben der Phase selbst spielt in diesem Zusammenhang auch die Filmdicke eine wichtige Rolle. Dünnere Filme und kürzere Säulen liefern einen geringeren Beitrag zum Säulenbluten.

| Charakteristik der Probe | (1) heiß split | (2) heiß splitlos | (3) PTV split | (4) PTV splitlos | (5) PTV solv. split | (6) On Column |
|-----------------------------|----------------|-------------------|---------------|------------------|---------------------|---------------|
| konzentrierte Proben | + | - | + | - | - | - |
| Spurenanalyse | - | + | - | + | + | + |
| extreme Verdünnung | - | - | - | - | + | + |
| geringer Siedebereich | + | + | + | + | + | + |
| großer Siedebereich | - | ≈ | + | + | - | + |
| leichtflüchtige Substanzen | + | + | + | + | - | - |
| schwerflüchtige Substanzen | - | ≈ | + | + | + | + |
| mit nichtflüchtiger Matrix | + | + | + | + | + | - |
| thermisch labile Substanzen | ≈ | - | ≈ | ≈ | ≈ | + |
| automatisierbar | + | + | + | + | + | + |

(+) = einsetzbar; (-) = nicht einsetzbar; (≈) = bedingt einsetzbar

Tabelle 3: Wahl des geeigneten Injektorsystems

4.1 Probenkapazität

Als Probenkapazität wird die maximale Menge einer Analysesubstanz bezeichnet, mit der eine Phase beladen werden kann. Eine überladene Säule zeigt ein Peakfronting, d. h. einen langsam ansteigenden und steil abfallenden unsymmetrischen Peak. Der Überladungseffekt ist ebenfalls schnell erreicht, wenn eine Säule falscher Polarität gewählt wurde. Die Kapazität einer Säule ist proportional zum Innendurchmesser, der Filmdicke und der Löslichkeit eines Stoffes in der Phase (siehe Tabelle 4).

4.2 Innendurchmesser

Die Innendurchmesser der Trennsäulen reichen in der Kapillar-Gaschromatographie von 0,1 mm (Mikrobore-Kapillaren) über 0,18 mm und 0,25 mm (Narrowbore-Kapillaren) und die Standardsäulen mit 0,32 mm bis hin zu 0,53 mm (Megabore-Kapillaren, Half-mill's). Der Säulendurchmesser beeinflusst das Auflösungsvermögen und die Analysenzeit. Grundsätzlich sind geringere Innendurchmesser bei gleichbleibender Filmdicke weiteren Säulen vorzuziehen,

Tabelle 4: Probenkapazität für gebräuchliche Säulendurchmesser

| | | | | |
|------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Innendurchmesser | 0,18 mm | 0,25 mm | 0,32 mm | 0,53 mm |
| Filmdicke | 0,20 μm | 0,25 μm | 0,25 μm | 1,00 μm |
| ⇒ Probenkapazität | < 50 ng | 50 ng – 100 ng | 400 ng – 500 ng | 1.000 ng – 2.000 ng |
| theoretische Böden pro Meter Säule | 5.300 | 3.300 | 3.700 | 1.600 |
| optimale Flußrate bei | | | | |
| 20 cm/s Helium | 0,3 mL/min | 0,7 mL/min | 1,2 mL/min | 2,6 mL/min |
| 40 cm/s Wasserstoff | 0,6 mL/min | 1,4 mL/min | 2,4 mL/min | 5,2 mL/min |

Tabelle 5: Einfluß von Säulendurchmesser und linearer Trägergas-Geschwindigkeit auf die Durchfluß-Rate

| Innendurchmesser in mm | lineare Trägergas- geschwindigkeit in cm/s | | Durchfluß-Rate in mL/min | |
|---------------------------|---|----------------|--------------------------|----------------|
| | He | H ₂ | He | H ₂ |
| 0,18 | 30 - 45 | 45 - 60 | 0,5 - 0,7 | 0,7 - 0,9 |
| 0,25 | 30 - 45 | 45 - 60 | 0,9 - 1,3 | 1,3 - 1,8 |
| 0,32 | 30 - 45 | 45 - 60 | 1,4 - 2,2 | 2,2 - 2,8 |
| 0,54 | 30 - 45 | 45 - 60 | 4,0 - 6,0 | 6,0 - 7,9 |

um eine höhere chromatographische Auflösung zu erzielen. Da bei gleichbleibender Trägergas-Geschwindigkeit der Fluß pro Zeiteinheit abnimmt, steigt aber die Analysenzeit an (siehe Tabelle 5). Im Falle komplexer Gemische kann so durch Wechsel auf eine Säule geringeren Innendurchmessers eine bessere Auftrennung kritischer Paare erfolgen.

4.3 Filmdicke

Die Variation der Filmdicke gibt dem Anwender bei gegebenem Innendurchmesser und Länge der Säule eine gute Möglichkeit, sich auf spezielle Trennaufgaben einzustellen. Als Faustregel gilt: für leichtflüchtige Verbindungen dicke Filme, für Hochsieder möglichst geringe Filmstärken auswählen. Dickfilm-Säulen mit mehr als 1,0 μm Belegung können extreme Niedersieder gut auftrennen, z. B. die leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffe (LHKW's). Dickfilm-Säulen zeigen bei erhöhter Temperatur jedoch ein stärkeres Bluten. Für die Rückstandsanalyse aller übrigen Substanzen haben sich Dünnsfilm-Säulen mit Belegungsstärken von ca. 0,1 μm sehr gut bewährt. Dünnsfilm-Säulen liefern schmale schnelle Peaks und können ohne wesentliches Bluten bis in den oberen Temperaturbereich gefahren werden. Die Analysendauer für eine gegebene Verbindung wird kürzer, jedoch nimmt die Beladbarkeit (Kapazität) der Säule ab.

Das Phasenverhältnis einer Kapillarsäule wird durch das Verhältnis aus dem Volumen der

Tabelle 6: Einfluß von Säulendurchmesser und Filmdicke auf das Phasenverhältnis

| Innendurchmesser in mm | Filmdicke in μm | | | | | | | |
|---------------------------|----------------------------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0,10 | 0,25 | 0,50 | 1,0 | 1,5 | 2,0 | 3,0 | 5,0 |
| 0,18 | 450 | 180 | 90 | 45 | 30 | 23 | 15 | 9 |
| 0,25 | 625 | 250 | 125 | 63 | 42 | 31 | 21 | 13 |
| 0,32 | 800 | 320 | 160 | 80 | 53 | 40 | 27 | 16 |
| 0,53 | 1325 | 530 | 265 | 128 | 88 | 66 | 43 | 27 |

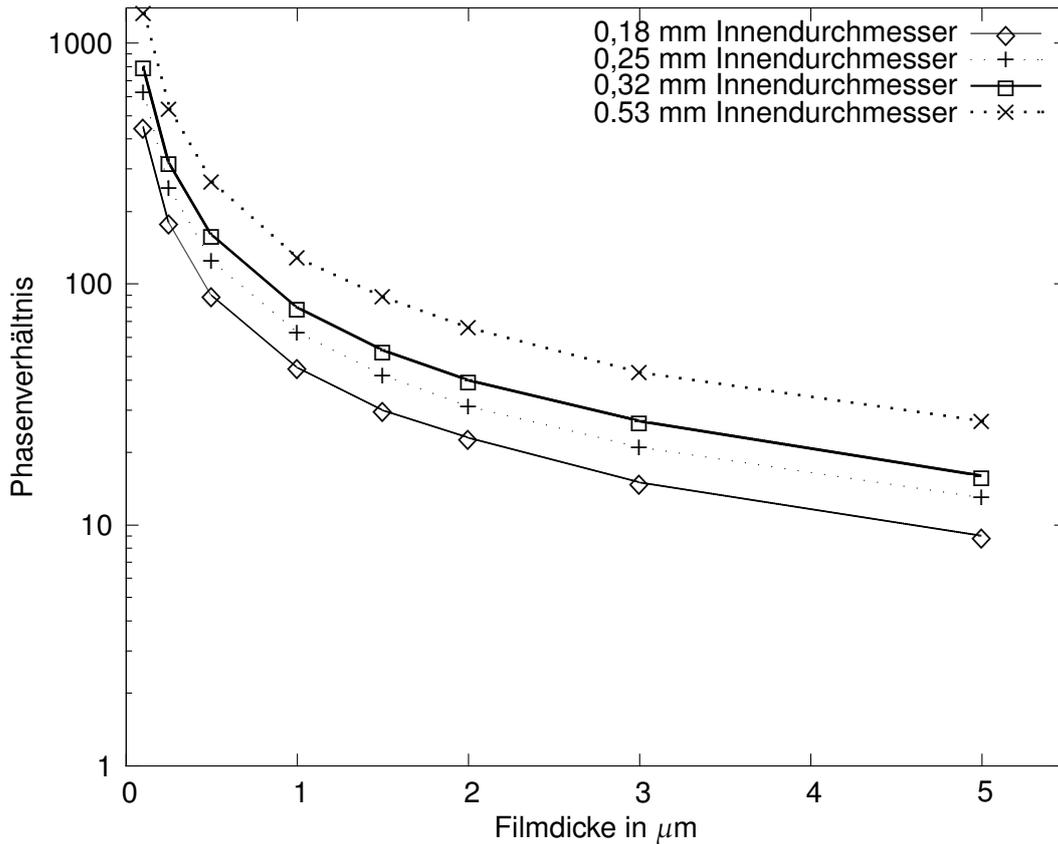


Abbildung 4: Einfluß von Säulendurchmesser und Filmdicke auf das Phasenverhältnis

gasförmigen mobilen Phase (Innenvolumen) zu dem Volumen der stationären Phase (Belegung) bestimmt. Hohe Werte gehen mit hoher Leistungsfähigkeit der Trennung einher, gleich große Werte zeigen Kombinationen gleicher Trennleistung an (siehe Tabelle 6 und Abbildung 4).

4.4 Säulenlänge

Die Säulenlänge sollte möglichst kurz gewählt werden. Die gebräuchlichsten Längen für Standardsäulen liegen bei 30 m oder 60 m. Eine Verdoppelung der Säulenlänge bringt (le-

diglich) eine Verbesserung der Trennung um den Faktor 1,4, die Analysenzeit wird dagegen doppelt so lang (und die Kosten der Säule verdoppeln sich ebenfalls!). Bei der isothermen Chromatographie ist die Retentionszeit direkt proportional zur Säulenlänge, während bei der programmierten Arbeitsweise die Retentionszeit im wesentlichen von der Elutionstemperatur einer Verbindung bestimmt wird. Beim Übergang auf eine längere Säule sollte deshalb auf jeden Fall eine neue Optimierung des Temperaturprogrammes unter dem Gesichtspunkt optimaler Retentionszeiten erfolgen.

4.5 Einstellung des Trägergas-Flusses

Nur durch einen optimal eingestellten Trägergas-Fluß kann die maximale Trennleistung einer Kapillarsäule ausgenutzt werden. Die Trenneffizienz einer Kapillarsäule wird bei den chromatographischen Kenngrößen (s. u.) in »theoretischen Böden« angegeben. Eine hohe analytische Trennleistung geht einher mit hoher Bodenzahl (Trennstufenzahl), die Höhe der theoretischen Böden nimmt also ab. In den Van Deemter-Kurven ist die Abhängigkeit der Höhe der theoretischen Böden (HETP, *height equivalent to a theoretical plate*) in Abhängigkeit von der Trägergas-Geschwindigkeit dargestellt. Das Minimum einer solchen Kurve zeigt die optimale Einstellung für das jeweilige Trägergas für die isotherme Betriebsweise an (siehe Abbildung 5).

5 Kenngrößen der Chromatographie

Alle chromatographischen Verfahren beruhen auf einer mehrfachen Wiederholung eines Trennprozesses wie z. B. der Verteilung der zu trennenden Komponenten zwischen zwei Phasen in kontinuierlicher, dynamischer Arbeitsweise. In einem Modell kann die Chromatographie als eine stetige Wiederholung von Verteilungsschritten angesehen werden.

5.1 Das Chromatogramm und seine Aussage

Die eluierten Substanzen werden von der mobilen Phase in den Detektor transportiert und als Gaußkurven (Peaks) registriert. Die Peaks liefern qualitative und quantitative Informationen über die untersuchte Mischung:

Qualitativ: Die Retentionszeit ist die Zeit, die vom Einspritzen der Probe bis zum Erscheinen des Signalmaximums verstreicht. Die Retentionszeit einer Komponente ist bei gleichen chromatographischen Bedingungen stets konstant. Die Identifikation eines Peaks kann deshalb durch Vergleich der Retentionszeiten mit einem Standard (Reinsubstanz) erfolgen.

Quantitativ: Die Höhe und Fläche des Peaks ist der eingespritzten Stoffmenge proportional. Unbekannte Substanzmengen können durch Vergleich der Peakflächen (-höhen) mit bekannten Konzentrationen bestimmt werden.

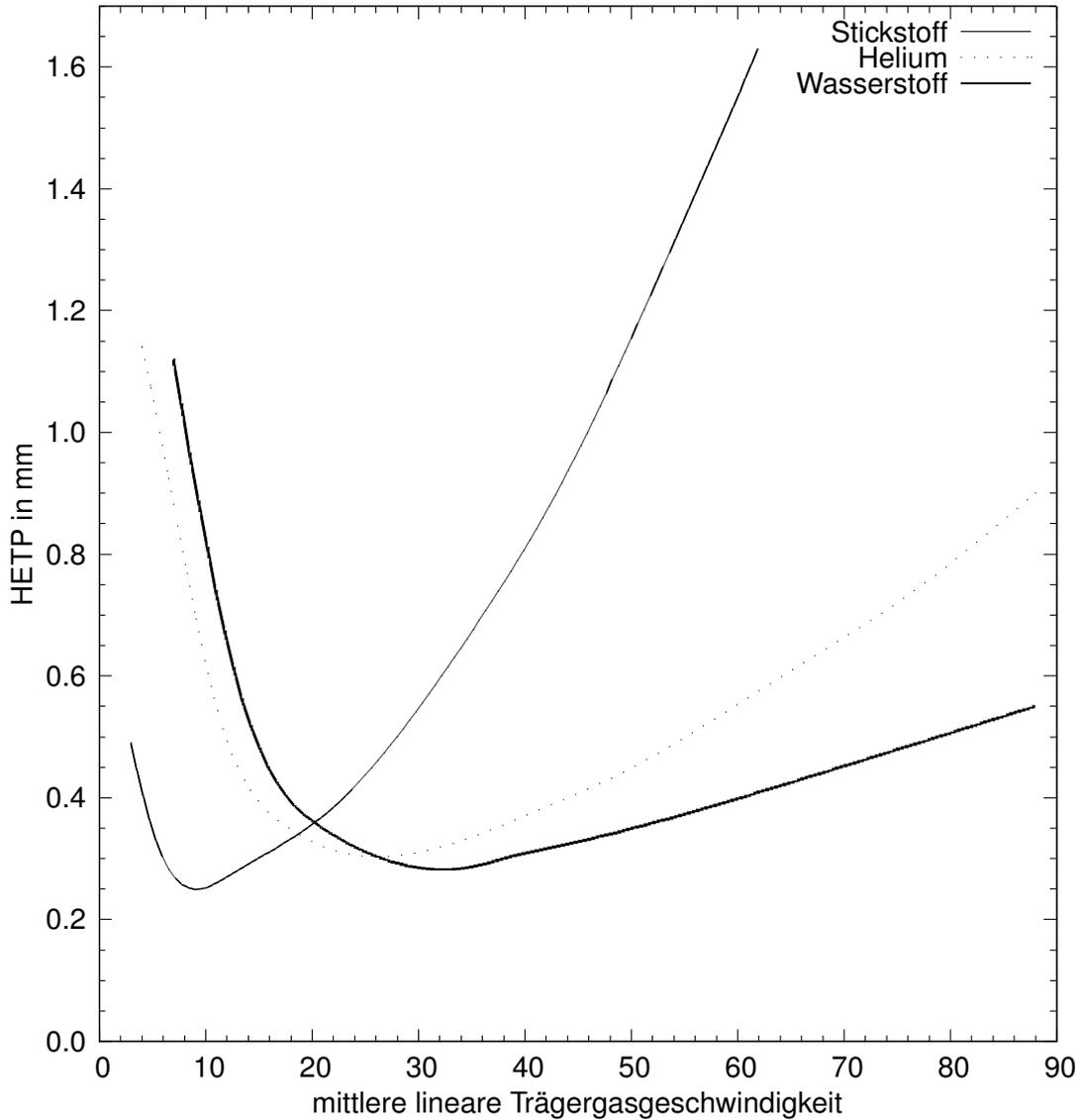


Abbildung 5: Van Deemter-Diagramm für drei Trägergase
 (Bedingungen: 30 m Fused-Silica-Kapillarsäule; 0,32 mm Innendurchmesser; belegt mit 0,25 μm Methylsilikon bei 120 °C)

Die eluierenden Peaks haben im Idealfall die Form einer Gauß-Verteilung (Glockenkurve). Eine sehr simple Erklärung für diese Form ist die unterschiedliche Wegstrecke der Moleküle durch das Trennsystem (multipath effect), die durch Diffusionsvorgänge (Eddy-Diffusion) verursacht wird. Bei festgelegten Rahmenbedingungen ist die Zeit bis zum Eluieren der Substanz A oder B am Ende des Trennsystems, die Retentionszeit t_R , charakteristisch für die Substanz. Sie wird zwischen Probenaufgabe (Start) und Peakmaximum gemessen.

Bei konstanter Durchflußgeschwindigkeit ist t_R dem Retentionsvolumen V_R direkt proportional.

$$V_R = t_r F \quad \text{mit } F = \text{Fluß in mL/min} \quad (5.1)$$

Das Retentionsvolumen gibt an, wieviel mobile Phase durch das Trennsystem geflossen ist, bis die Hälfte der Substanz eluierte (Peakmaximum).

5.2 Kapazitätsfaktor k'

Die Retentionszeit t_R ist von der Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase und der Länge der Trennsäule abhängig. Damit ist t_R für die vergleichende Charakterisierung einer Substanz z. B. zwischen verschiedenen Labors nicht gut geeignet.

Günstiger dagegen ist der Kapazitätsfaktor, auch k' -Wert genannt, der die Netto-Retentionszeit t'_R auf die Totzeit bezieht:

$$k' = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{t_R}{t_0} - 1 \quad (5.2)$$

Damit ist der k' -Wert unabhängig von der Säulenlänge und der Strömungsgeschwindigkeit der mobilen Phase und stellt das Molverhältnis einer Komponente in stationärer und mobiler Phase dar. Große k' -Werte bedeuten lange Analysenzeiten.

Der k' -Wert ist mit dem Verteilungskoeffizienten K wie folgt verknüpft:

$$k' = K \frac{V_1}{V_g} \quad (5.3)$$

mit V_1 = Volumen der stationären Phase und V_g = Volumen der mobilen Phase.

Der Kapazitätsfaktor α ist damit dem Volumen der stationären Phase (bzw. bei Adsorbentien, deren spezifischer Oberfläche, in m^2g^{-1} angegeben) direkt proportional.

Als Maß für die relative Retention α dient damit:

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{K_2}{K_1} \quad [k'_2 > k'_1] \quad (5.4)$$

Im Falle von $\alpha = 1$ werden die beiden Komponenten 1 und 2 nicht getrennt, da beide gleiche k' -Werte haben.

5.3 Die chromatographische Auflösung

Ein zweites Modell, »die Theorie der Böden«, wurde von MARTIN und SYNGE 1941 entwickelt. Mit Hilfe der Theorie der Böden kann man aus dem Chromatogramm mathematische Beziehungen ableiten, die ein praktisches Maß für die Trennschärfe und das Auflösungsvermögen sind.

Die chromatographische Säule wird in theoretische Böden aufgeteilt. Hierunter wird ein Säulenstück in Strömungsrichtung verstanden, dessen Trennleistung der eines Bodens entspricht. Die Länge dieses Säulenabschnitts wird HETP (*height equivalent to a theoretical plate*) genannt.

Der HETP-Wert berechnet sich aus Länge der Säule L geteilt durch die Anzahl der vorhandenen (theoretischen) Trennstufen N :

$$HETP = \frac{L}{N} \quad [\text{in mm}] \quad (5.5)$$

Die Anzahl der Trennstufen errechnet sich aus der Form der eluierten Peaks. Ein Trennsystem hoher Trennschärfe konzentriert die Substanzbande auf wenige »Böden«. Je mehr Böden ein Trennsystem aufweist, desto schärfer eluieren die Peaks.

Die Trennstufenzahl (Bodenzahl) N wird aus dem Peakprofil bestimmt über

$$N = 16 \left[\frac{t_R}{W} \right]^2 \quad (5.6)$$

mit der Retentionszeit t_R und der Peak-Basisbreite W . Die Retentionszeit t_R am Peakmaximum und die Basisbreite des Peaks als Abstand der Schnittpunkte der Wendetangenten mit der Basislinie werden aus dem Chromatogramm ermittelt.

Bei asymmetrischen Peaks wird statt der Basisbreite mit der Halbwertsbreite (Peakbreite in halber Höhe) gearbeitet:

$$N = 8 \ln 2 \left[\frac{t_R}{W_h} \right]^2 \quad (5.7)$$

mit t_R = Retentionszeit und W_h = Halbwertsbreite.

Folgerung: Eine Trennsäule ist um so effektiver, je mehr theoretische Böden sie enthält.

Die Breite eines Peaks im Chromatogramm bestimmt die »Auflösung« zweier Komponenten bei gegebenem Abstand der Peakmaxima. Für die Beurteilung der Güte der Trennung ist die Auflösung R (resolution) der geeignete Parameter:

$$R \approx \frac{\text{Retentionsdifferenz}}{\text{Peakbreite}} \quad (5.8)$$

Die Auflösung R zweier benachbarter Peaks ist durch den Quotienten aus dem Abstand der beiden Peakmaxima voneinander definiert, also der Differenz der beiden Retentionszeiten t_R , und dem arithmetischen Mittel aus den beiden Basisbreiten W :

$$R = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_1 + W_2} = 1,198 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{h1} + W_{h2}} \quad (5.9)$$

mit W_h = Peakbreite auf halber Höhe des Peaks.

5.4 Beeinflussung der Auflösung

Das Umformen der Auflösungsgleichung nach dem Einsetzen des Kapazitätsfaktors $k' = (t_R - t_0)t_0^{-1}$, des Selektivitätsfaktors $\alpha = k'_2 k'_1^{-1}$ sowie der Trennstufenzahl N ergibt eine wichtige Grundgleichung für alle chromatographischen Elutionsverfahren.

Die Auflösung R wird mit der Selektivität α (relative Retention), der Trennstufenzahl N und dem Kapazitätsfaktor k' in Beziehung gebracht:

$$R = \frac{1}{4} [\alpha - 1] \frac{k'}{1 + k'} \sqrt{N} \quad (5.10)$$

-
1. *Der Selektivitätstherm:* R ist direkt proportional zu $(\alpha - 1)$. Jede Vergrößerung des Verhältnisses der Verteilungskoeffizienten führt zu einer starken Verbesserung der Auflösung, was z. B. durch Änderung der Polarität der stationären Phase für unterschiedlich polare zu trennende Substanzen erreicht wird.

Da die Selektivität in der Regel mit steigender Temperatur abnimmt, müssen schwierige Trennungen bei möglichst niedriger Temperatur ausgeführt werden.

2. *Der Retardationsterm:* Die Auflösung ist hier direkt proportional zur Verweildauer einer Komponente in der stationären Phase bezogen auf die Gesamtretentionszeit.
3. *Der Dispersionsterm:* Die Bodenzahl N charakterisiert ganz wesentlich die Leistungsfähigkeit einer Trennsäule. Jedoch steigt die Auflösung R nur mit der Wurzel der Bodenzahl N an. Da wiederum die Bodenzahl direkt proportional der Säulenlänge L ist, kann die Leistungsfähigkeit nur mit der Wurzel aus der Säulenlänge erhöht werden.

5.5 Belastbarkeit

Aus der Bedingung der Auflösung ergibt sich auch die Belastbarkeit eines Trennsystems. Unter idealen Bedingung gilt:

$$\frac{f}{g} = 100\% \quad (5.11)$$

mit dem Tal der unter Verbindungslinie der Peakmaxima f und der Höhe der Verbindungslinie im Tal über der Basislinie g .

Die Belastbarkeit einer Säule ist erreicht, falls für ein kritisches Paar f/g auf unter 90 % absinkt.

5.6 Peaksymmetrie

Bei der exakten Quantifizierung (Integration der Peakflächen) darf eine maximale Asymmetrie nicht überschritten werden, da der Schnittpunkt des Peaks mit der Basislinie nur fehlerhaft zu bestimmen ist.

Die Peaksymmetrie T wird aus praktischen Gründen in einer Höhe von 10 % der gesamten Peakhöhe bestimmt:

$$T = \frac{b_{0,1}}{a_{0,1}} \quad (5.12)$$

mit $a_{0,1}$ als der Distanz von der Peakfront bis zum Maximum, gemessen bei $0,1h$ und $b_{0,1}$ als der Distanz vom Maximum bis zum Peakende, gemessen bei $0,1h$.

T sollte nicht größer als 2,5 sein. Überschreitet das Tailing einen Wert von 3, so wird die quantitative Flächemessung fehlerhaft, weil der Punkt, wo der Peak wieder die Grundlinie erreicht, kaum noch erkennbar ist.

5.7 Strömungsoptimierung

Ziel der Strömungsoptimierung ist es, bei gegebenen Säuleneigenschaften, bei der gewählten Temperatur und dem gewählten Trägergas diejenige Strömung zu finden, die entweder die *maximale Zahl an Trennstufen* oder aber *bei ausreichender Effizienz möglichst kurze Analysenzeiten* erlaubt.

Die Bodenhöhe (HETP) und auch die Trennstufenzahl N ist nach Van Deemter von der Strömung u der mobilen Phase abhängig. Die lineare Strömungsgeschwindigkeit u der mobilen Phase wird aus dem Chromatogramm berechnet:

$$u = \frac{L}{t_0} \quad (5.13)$$

mit L als der Länge der Trennsäule in cm und t_0 der Totzeit der Säule in s.

Einfluß auf die optimale Strömungsgeschwindigkeit haben:

1. Die *Eddy-Diffusion* auf die Peakverbreiterung. Dieser Einfluß ist strömungsunabhängig und naturgemäß nur bei gepackten Säulen von der Art des Kornes und der Packung abhängig. Bei offenen Kapillarsäulen (*open tubular columns*) ist die Eddy-Diffusion unwirksam.
2. Die *Axialdiffusion* ebenfalls auf die Peakverbreiterung. Diese Diffusion erfolgt in und gegen die Strömungsrichtung und wird mit steigender Strömung kleiner.
3. Eine *nicht vollständige Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes*. Der Massenübergang (Stoffaustausch) zwischen stationärer und mobiler Phase hat entsprechend den Diffusionsgeschwindigkeiten nur eine endliche Geschwindigkeit relativ zu derjenigen der mobilen Phase. Der Beitrag zur Peakverbreiterung wächst mit steigender Geschwindigkeit der mobilen Phase.

Für die *maximale Effizienz* der Trennung muß als Kompromiß dieser gegenläufigen Effekte eine Strömung u_{min} eingehalten werden. Die Lage des Minimums wird beeinflusst durch:

- ▶ die Menge der stationären Phase (z. B. Filmdicke)
- ▶ die Korngröße des Trägermaterials (bei gepackten Säulen)
- ▶ den Durchmesser der Säulen
- ▶ die Art der mobilen Phase (Diffusionskoeffizient, Viskosität)

5.8 Wirkungsgrad und Analysenzeit

Van Deemter entwickelte eine Gleichung für gepackte Säulen und Goley eine für Kapillarsäulen, die die Bodenhöhe H (gleichbedeutend mit HETP) als eine Funktion der mittleren linearen Gasgeschwindigkeit darstellen. Da der Diffusionskoeffizient D_M eine Funktion des verwendeten Trägergases ist, bedeutet dies, daß die Form der H-u-Kurve und damit der Wirkungsgrad vom Trägergas abhängen. Die Trennleistung des Systems ist besser, wenn der HETP-Wert niedriger ist.

Die Van Deemter-Gleichung:

$$H = A + \frac{B}{u} + C\bar{u} \quad (5.14)$$

und die Golay-Gleichung:

$$H = \frac{B}{u} + C\bar{u} \quad (5.15)$$

mit H = Bodenhöhe (totale), A = Eddy-Diffusion, B = Longitudinaldiffusion, C = Widerstand gegen den Massentransfer und u = Gasgeschwindigkeit.

Wie man an den beiden Gleichungen sieht, ist die Eddy-Diffusion nur für die gepackten Säulen relevant, bei Kappilarsäulen nimmt die Eddy-Diffusion den Wert 0 an.

5.9 Zusammenstellung der chromatographischen Kenngrößen

| | | |
|---------------------------------|---|---|
| Trägergas-Durchfluß | $\dot{V} = \frac{V}{t}$ | V = Durchfluß durch die Säule, t = Zeit; |
| Trägergasgeschwindigkeit | $v = \frac{L}{t_0}$ | die Trägergas-Geschwindigkeit hat für jede Säule einen optimalen Wert mit niedrigstmöglicher Trennstufenhöhe, v ist temperaturabhängig; L = Säulenlänge, t_0 = Totzeit der Säule; |
| Verteilungskoeffizient | $K = \frac{c_l}{c_g}$ | Konzentration der Substanz in stationärer Phase; (liquid) dividiert durch die Konzentration in mobiler Phase (gas). K ist für eine Substanz in einem gegebenen chromatographischen System eine Konstante; |
| | $K = k' \beta$ | K wird ebenfalls ausgedrückt durch das Produkt von Kapazitätsverhältnis (k' und Phasenverhältnis (β)) |
| Kapazitätsverhältnis | $k' = K \frac{V_l}{V_g}$ | Bestimmt die Retentionszeit einer Verbindung; V_l = Volumen der stationären Phase, V_g = Volumen der gasförmigen mobilen Phase; |
| | $k' = \frac{t'_R}{t_0} = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{t_R}{t_0} - 1$ | t_R = Retentionszeit der Substanz, t_0 = Totzeit der Säule; |
| Phasenverhältnis | | |

| | |
|---|--|
| $\beta = \frac{r}{2d_f}$ | $r = \text{Säulenradius, innen,}$ $d_f = \text{Filmdicke;}$ |
| <p>Retentionsvolumen</p> $V_R = t_R F$ | <p>Gibt das Trägergas-Volumen zur Elution einer bestimmten Komponente an; $F = \text{Trägergasfluß;}$</p> |
| <p>Anzahl theoretischer Böden</p> $N = 5,545 \left[\frac{t_R}{W_h} \right]^2$ | <p>Die Bodenzahl ist ein Maß für die Effizienz einer Säule; Der Wert ist substanzabhängig, gilt für isothermes Arbeiten; $N = \text{Bodenzahl;}$ $t_r = \text{Retentionszeit der Substanz,}$ $W_h = \text{Peakbreite in halber Höhe;}$</p> |
| <p>Höhe eines theoretischen Bodens</p> $\text{HETP} = \frac{L}{N} \text{ [in mm]}$ | <p>Ist das Maß der Effizienz einer Säule unabhängig von deren Länge (height equivalent to a theoretical plate, HETP); $L = \text{Länge der Säule,}$ $N = \text{Anzahl der theoretischen Böden;}$</p> |
| <p>Auflösung</p> $R = 2 \frac{t_j - t_i}{W_j + W_i}$ | <p>Gibt das Auflösungsvermögen einer Säule an, die Komponenten i und j aufzutrennen (isotherm); $t_i = \text{Retentionszeit der Substanz } i,$ $t_j = \text{Retentionszeit der Substanz } j,$ $W_h = \text{Peakbreite in halber Höhe der Substanzen } i, j;$</p> |
| <p>Trennfaktor</p> $\alpha = \frac{k'_j}{k'_i}$ | <p>Maß für die Trennung der Substanzen i und j;</p> |
| <p>Trennzahl</p> $TZ = \frac{t_{R(x+1)} - t_{R(x)}}{W_{h(x+1)} + W_{h(x)}} - 1$ | <p>Die Trennzahl ist wie die Auflösung ein Maß für die Beurteilung der Effizienz einer Säule, wird auch für temperaturprogrammiertes Arbeiten benutzt; TZ gibt an, wieviele Komponenten zwischen zwei homologen n-Alkanen aufgelöst werden können;</p> |
| <p>effektive Böden</p> $N_{eff.} = 5,54 \frac{t_{R(i)} - t_0}{W_{h(i)}}$ | <p>Die effektive Bodenzahl berücksichtigt das Totvolumen der Säule;</p> |
| <p>Kovats-Index</p> | |

| | |
|---|--|
| $KI = 100 \cdot \left[c + \frac{\log(t'_R)_x - \log(t'_R)_c}{\log(t'_R)_{c+1} - \log(t'_R)_c} \right]$ | Der Kovats-Index wird für isothermes Arbeiten eingesetzt; t'_R = korrigierte Retentionszeit für Standards und Substanz ($t'_R = t_R - t_0$) |
| Modifizierter Kovats-Index | |
| $RI = 100 \cdot \left[c + \frac{(t'_R)_x - (t'_R)_c}{(t'_R)_{c+1} - (t'_R)_c} \right]$ | Der modifizierte Kovats-Index nach von den Dool und Kratz wird bei der Temperatur-Programmierung eingesetzt; |

6 Klassische Detektoren

An dieser Stelle soll nur der Flammenionisationsdetektor FID näher beschrieben werden. Für weitere Beschreibungen zum FID und zu den anderen Detektoren wird auf die weiterführende Literatur verwiesen.

6.1 FID

Beim FID werden die nachzuweisenden Substanzen in einer Wasserstoffflamme verbrannt und dabei teilweise ionisiert. Da die Düse sich auf negativem Potential befindet, werden positive Ionen neutralisiert. Die korrespondierenden Elektronen werden an der ringförmigen Sammelelektrode zum Signalstrom eingefangen. Die Elektrode befindet sich auf einem mit ca. 200 V positiverem Potential gegenüber der Düse.

Solange ausschließlich Wasserstoff in der Flamme verbrennt, finden nur Radikalreaktionen statt. Es werden keine Ionen gebildet. Gelangen organische Stoffe mit C – H und C – C Bindungen in die Flamme, werden sie zunächst pyrolysiert. Die kohlenstoffhaltigen Radikale werden durch Sauerstoff und den in der Flamme entstehenden OH-Radikalen oxidiert. Die Anregungsenergie führt zu Ionisierung der Oxidationsprodukte. Angezeigt werden nur Stoffe mit mindestens einer C – H oder C – C Bindung, nicht aber permanente Gase, Tetrachlormethan oder Wasser.

6.2 Detektorübersicht

6.2.1 Flammenionisationsdetektor [FID]

- Art:** Universeller Detektor;
- Vorteile:** hohe Dynamik; hohe Empfindlichkeit; robust;
- Einsatz:** Kohlenwasserstoffe, z. B. Treibstoffe, Geruchskomponenten, BTX, PAK's etc.; wichtiger Allround-Detektor;
- Grenzen:** da universell, schlecht für Spurenanalytik in komplexer Matrix; geringe Response bei hochchlorierten / bromierten Substanzen;

6.2.2 Stickstoff / Phosphor-Detektor [NPD]

- Art:** Spezifischer Detektor;
- Vorteile:** hohe Selektivität und Empfindlichkeit; ideal für Spurenanalytik;
- Einsatz:** nur für N- und P-haltige Verbindungen; Pflanzenschutzmittel; Kampfgase, Sprengstoffe; Pharmaka;
- Grenzen:** zusätzlicher Detektor zu ECD oder MS; quantitative Messungen mit internem Standard empfohlen; teilweise zeitintensive Optimierung der Rb-Perle;

6.2.3 Elektroneneinfangdetektor [ECD]

- Art:** Spezifischer Detektor;
- Selektivität:** auf Cl, Br, Methoxy-, Nitro-Gruppen; Transparenz aller Kohlenwasserstoffe (=matrix); hohe Empfindlichkeit;
- Einsatz:** typischer Detektor für die Umweltanalytik; ideal zur Spurenanalytik; Pflanzenschutzmittel; PCB's, Dioxine; (LHKW's), Freone;
- Grenzen:** Substanzen mit geringen Halogengehalten haben nur geringen Response; niedrig chlorierte LHKW's besser mit FID oder MS nachweisen; eingeschränkte Dynamik; Mehrpunktkalibrierung erforderlich;

6.2.4 Photoionisationsdetektor [PID]

- Art:** Universeller und selektiver Detektor;
- Selektivität:** wählbare Selektivität; hohe Empfindlichkeit; keine Betriebsgase erforderlich; robust und wartungsfrei; ideal für mobile und Vor-Ort-Analytik;
- Einsatz:** Vor-Ort-Analytik auf LHKW's, BTEX, PAK's etc.;
- Grenzen:** nur für Substanzen mit niedrigem Ionisierungspotential (≤ 10 eV);

6.2.5 Elektrolytischer Leitfähigkeitsdetektor [ELD]

- Art:** Selektiver Detektor;
- Vorteile:** einsetzbar für die Kapillar-Chromatographie; wählbare Selektivitäten Haloogene, Amine, Stickstoff, Schwefel; hohe Empfindlichkeit bei hoher Selektivität; einfache Kalibrierung, da der Response direkt proportional zur Anzahl der Heteroatome im Analyten ist, z. B. Cl-Anteil im Molekül;
- Einsatz:** Umweltanalytik, z. B. LHKW's, PCB's; selektiver Nachweis von Aminen, z. B. Verpackungsmittel, Lebensmittel; Bestimmung schwefelhaltiger Komponenten;

Grenzen: die Empfindlichkeit im Halogenmodus erreicht knapp die des ECD;

6.2.6 Flammenphotometrischer Detektor [FPD]

Art: Selektiver Detektor;

Vorteile: im Phosphormodus vergleichbare Empfindlichkeit zum FID mit hoher Dynamik; im Schwefel Modus hohe Selektivität;

Einsatz: meist selektiv für Schwefel- und Phosphorverbindungen; Nachweis von Schwefelverbindungen in komplexer Matrix;

Grenzen: Einstellung der Brenngase wichtig für Reproduzierbarkeit und Selektivität; im Schwefelmodus Quenching-Effekt durch zu hohe Kohlenwasserstoff-Matrix möglich (Doppelflamme nötig); Empfindlichkeit im Schwefelmodus nicht immer ausreichend;

7 Gaschromatographieprobleme

7.1 Vorschläge für eine effektive Störungssuche

Bestimmte grundlegende Verfahren machen die Störungssuche schneller und einfacher. Am wichtigsten sind genaue Beachtung der Bedienungsanleitungen und ein gutes Datenaufzeichnungssystem (Temperatur, Durchflußraten, Papiergeschwindigkeit, Säulentyp, Typ und Menge der stationären Phase, Typ des Trägermaterials und Porengröße, etc.). Ebenfalls von vorrangiger Bedeutung ist ein Standard, der bekannte Konzentrationen von Bestandteilen der gegebenen Probe beinhaltet. Der Standard sollte keine überflüssigen, unbekanntenen Komponenten beinhalten. Viele Stunden können mit der Suche nach Fehlern in Instrumenten oder in der Säule verschwendet werden, auch wenn das Problem tatsächlich bei der Analyse der Probe liegt. Wenn das chromatographische System den Standard gut und wiederholbar trennt, liegt das auftretende Problem höchstwahrscheinlich bei der Probe.

Folgende Gegenstände sollten für die Störungssuche vorhanden sein:

- ▶ Handwerkszeug (Schraubenschlüssel, Zangen, Schraubendreher, etc.)
- ▶ Blasendurchflußmesser um die Gasdurchflüsse zu überprüfen
- ▶ Snoop oder andere Hilfsmittel, die ein Leck feststellen
- ▶ Ersatzseptas und Hochtemperaturseptas
- ▶ Lösungsmittel um Detektor, Injektor und Injektionsspritze zu reinigen
- ▶ Multimeter um Spannungen, Ströme, Widerstände und Temperaturen zu bestimmen

7.2 Isolierung der Fehlerquelle

Es gibt fünf Hauptfehlerquellen in der Gaschromatographie:

1. den Betreiber,
2. die Probe,
3. die Säule,
4. die Elektronik und
5. das Gasdurchflußsystem.

Zahlreiche Probleme können von jeweils einer dieser Quellen herrühren. Schritt für Schritt sind diese zu eliminieren um die tatsächliche Ursache des Fehlers zu isolieren.

7.3 Untersuchung des Trägergassystems

Das am häufigsten auftretende Problem innerhalb des Trägergassystem ist der unzureichende Trägergasstrom durch die Chromatographiesäule. Diese wird normalerweise verursacht durch:

- ▶ unzureichende Druckquelle,
- ▶ Lecks und / oder
- ▶ einen ungewöhnlichen Druckabfall

entlang einer der Komponenten des Systems. Den Trägergasdurchfluß durch die Säule kann am Detektorausgang mit Hilfe eines Blasendurchflußmeßgeräts und einer Stoppuhr gemessen werden.

7.4 Leckuntersuchungen

Die verbreitetste Methode für das Testen auf Lecks ist die Anwendung von Flüssigkeiten wie Snoop oder HT-Leckdetektoren und das darauffolgende Beobachten von Blasenauftritt. Sorgfalt muß bei der Verwendung dieser Flüssigkeiten geübt werden, da sie das Chromatographiesystem kontaminieren können und dadurch instabile Basislinien und fehlerhaft auftretende Phantom-Peaks in anschließenden Chromatogrammen verursachen. Werden Lecks entdeckt müssen diese behoben werden. Meist genügt das Anziehen undichter Verschraubungen.

7.5 Probeninjektion

Unsachgemäße Probeninjektion kann viele Probleme in der Gaschromatographie verursachen. Um sicherzustellen, daß die Injektion genau und reproduzierbar sind, werden folgende generelle Richtlinien und vorgehensweisen empfohlen:

- ▶ *Spritzengröße*: Immer eine Spritze verwenden, die groß genug ist, um das gewünschte Probenvolumen nicht die volle Aufnahmefähigkeit in Anspruch nehmen zu lassen und klein genug, so daß das Probenvolumen nicht weniger als ungefähr 10 % des Spritzenvolumens beträgt.
- ▶ *Injektionstechnik*: Die Probeninjektion sollte fließend und rasch mit schneller Entfernung der Spritze nach der Injektion geschehen, um eine Peak-Verbreiterung zu vermeiden.
- ▶ *Reproduzierbarkeit der Probengröße*: Viele Probleme in der Chromatographie resultieren aus Schwierigkeiten, die die Reproduzierbarkeit der Probengröße betreffen.

Tabellenverzeichnis

| | | | | | |
|---|---|----|---|---|----|
| 1 | Splitverhältnisse und Säuleninnendurchmesser | 9 | 5 | Einfluß von Säulendurchmesser und linearer Trägergas-Geschwindigkeit auf die Durchfluß-Rate | 15 |
| 2 | Typische Lösemittel-Expansionsvolumina | 12 | 6 | Einfluß von Säulendurchmesser und Filmdicke auf das Phasenverhältnis | 16 |
| 3 | Wahl des geeigneten Injektorsystems | 14 | | | |
| 4 | Probenkapazität für gebräuchliche Säulendurchmesser | 15 | | | |

Abbildungsverzeichnis

| | | | | | |
|---|---|----|---|--|----|
| 1 | Schematischer Aufbau eines Gaschromatographen | 5 | 4 | Einfluß von Säulendurchmesser und Filmdicke auf das Phasenverhältnis | 16 |
| 2 | Splitverhältnisse und Säuleninnendurchmesser | 10 | 5 | Van Deemter-Diagramm für drei Trägergase | 18 |
| 3 | Typische Lösemittel-Expansionsvolumina | 13 | | | |

Liste der Versionen

| Version | Datum | Bearbeiter | Bemerkung |
|---------|-------------|------------|---|
| 1.0 | August 1997 | Bri | Dokumenterstellung |
| 1.1 | 18.11.2004 | Bri | Neusatz in $\LaTeX 2_{\epsilon}$ |
| 1.2 | 01.12.2004 | Bri | Neusatz als PDF-Dokument |
| 1.3 | 27.05.2005 | Bri | Adressänderungen aufgrund Domainwechsel |