

Universität Regensburg
LS für Organische Chemie
Prof. B. König

Abteilung
Instrumentelle Analytik
CH 22.1.41



Einführendes Praktikum in die GC

Skript WS 2009/10

Dr. R. Vasold

Inhalt

I Theoretischer Teil

I.1	Einleitung.....	4
I.2	Zielsetzung	4
I.3	Die stationäre Phase.....	5
I.3.1	Gepackte Säulen.....	5
I.3.2	Kapillarsäulen.....	5
I.3.2.1	Temperaturbeständigkeit von Kapillarsäulen	7
I.4	Die mobile Phase (Trägergas).....	8
I.4.1	Bestandteile und Vorbereitung von mobilen Phasen	7
I.5	Methoden der GC	8
I.5.1	Die isotherme GC.....	8
I.5.2	Die temperaturprogrammierte GC.....	9
I.6	Pneumatik und Säulenofen	9
I.7	Die Injektionseinheit	10
I.7.1	Der automatische Probengeber (Autosampler).....	10
I.7.1.1	Split/Splitless-Injektor	10
I.7.1.2	On Column-Injektor	11
I.8	Der GC-Detektor	11
I.8.1	Der Flammenionisationsdetektor (FID)	12
I.8.2	Der Massenselektive Detektor (MSD).....	12
I.9	Probenvorbereitung (Derivatisierung)	14
I.10	Die Steuerungs- und Auswerte-Software	16
I.11	Die Methode des Internen Standards (ISTD) ..	16
I.11.1	Wahl eines geeigneten Tracers.....	16
I.12	Aufgaben zum Theoretischen Teil.....	18

II	Experimenteller Teil	
II.1	Einleitung	20
II.2	Durchführung.....	21
II.2.1	Vorbereitung der benötigten Lösungen	21
II.2.1.1	Vorbereitung der Stammlösungen	21
II.2.1.2	Vorbereitung der Eich-(Kalibrier)lösung	22
II.2.1.3	Vorbereitung der Probenlösungen.....	22
II.2.2	Durchführung der GC/MS-Analysen	23
II.2.2.1	Die Injektor-Programmierung	24
II.2.2.2	Der Injektionsmodus.....	23
II.2.2.3	Programmierung des Säulenflusses	25
II.2.2.4	Programmierung des Säulenofens.....	25
II.2.2.5	Einstellung der Transferline-Temperatur.....	26
II.2.2.6	Programmierung des Autosamplers.....	25
II.2.2.7	Das Starten der Proben-Sequence	27
II.2.3	Die quantitative Auswertung.....	27
II.2.3.1	Der Menüpunkt: Data Analysis.....	27
II.2.3.2	Das Erstellen der Kalibriertabelle	28
II.2.3.3	Das Erstellen des quantitativen Reportes	30
II.3	Aufgaben zum Experimentellen Teil.....	31
III	Auswertung Theoretischer Teil.....	32
IV	Auswertung Experimenteller Teil.....	33
	Abgabe-Bogen	35

Einführendes Praktikum in die GC

I Theoretischer Teil

I.1 Einleitung

Die Gaschromatographie (**GC**) ist, wie die **HPLC** (**H**igh **P**erformance/**P**ressure **L**iquid **C**hromatography), eine leistungsfähige Methode zur meist analytischen (in Spezialfällen aber auch präparativen) chromatographischen Trennung und quantitativen Bestimmung von organischen und anorganischen Verbindungen fast aller Klassen.

Gaschromatographisch können solche Stoffe getrennt werden, die unzersetzt in den Gaszustand überführt oder unter Zersetzung reproduzierbar verdampft werden können.

Unter dem Begriff der Gaschromatographie (**GC**) werden physikalisch-chemische Trennmethoden zusammengefasst, bei denen eine Stoffmenge durch Verteilung zwischen einer ruhenden („stationären“) und einer sich bewegenden („mobilen“) Phase erfolgt. Ein gaschromatographisches System besteht also wiederum aus zwei nicht miteinander mischbaren Phasen, von denen die eine sich an der anderen vorbeibewegt. Die Gaschromatographie umfasst dabei alle chromatographischen Methoden, bei denen die mobile Phase ein Gas ist.

I.2 Zielsetzung

Das Ziel dieses Teils des Praktikums ist es, dem Studierenden eine Einführung in die Technik der Gaschromatographie zu geben.

In diesem Praktikum sollen u.a.

- die einzelnen Bestandteile und Komponenten eines GC-Trennsystems kennen gelernt werden, wie
 - die stationäre Phase (in diesem Fall eine HP-5MS Phase mit 5% Diphenylpolysiloxan).
 - die mobile Phase (Trägergas ist in diesem Fall Helium),
 - Pneumatik, Säulenofen und Injektionseinheit (Autosampler),
 - der Detektor
 - die Steuerungs- und Auswertesoftware;
- die Trennleistung eines Systems an einem einfachen Beispiel beurteilt werden;

- wichtige chromatographische Kenngrößen, wie Retentionszeit, Durchbruchzeit, Retentionsvolumen, Durchbruchvolumen, Wanderungsgeschwindigkeit der mobilen Phase, Kapazitätsfaktor etc. bestimmt werden.
- die quantitative Bestimmung einer chemischer Substanzen in verschiedenen Realproben mit der Methode des Internen Standards durchgeführt werden.

Im Folgenden werden die Bestandteile und Komponenten eines GC-Systems näher beschrieben:

I.3. Die stationäre Phase

Trennsäulen für die GC lassen sich prinzipiell in gepackte Säulen und in Kapillarsäulen einteilen (siehe Skriptum Analytische Chemie II):

1.3.1 Gepackte Säulen:

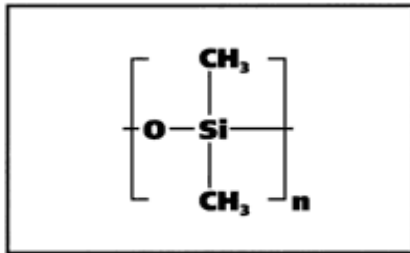
Gepackte Säulen bestehen aus einem Glas- oder Metallrohr (2 - 4 mm Innendurchmesser, Länge: 0.5 – 4 m), das mit einem Säulenmaterial gefüllt ist. Als stationäre Phasen werden hierbei entweder feste Adsorbentien oder Trennflüssigkeiten, die auf einem Träger (z.B. Kieselgur) aufgebracht sind, verwendet.

Feste Adsorbentien werden häufig bei Bestimmung von Gasen oder kleinen organischen Molekülen verwendet. Als Adsorbentien dienen hierbei u.a. z.B. Kieselgel, Al_2O_3 oder Aktivkohle.

1.3.2 Kapillarsäulen:

Bei den Kapillarsäulen werden als stationäre Phasen sehr häufig Silikonöle und Polyethylenglykole eingesetzt. Bei den Silikonölen (Polysiloxanen) hängt die Polarität von der Zusammensetzung ab:

Die Kapillarenwand ist in der Regel aus synthetischem Quarz (engl. „fused silica“) hergestellt und auf der Innenseite mit der Trennflüssigkeit beschichtet. Es werden in der Regel Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0.2 – 0.75 mm verwendet. Bei Kapillaren mit 0.2 mm Innendurchmesser liegen die Schichtdicken der Trennflüssigkeit (Film) bei 0.1 – 0.8 μm . Bei Kapillaren mit größerem Innendurchmesser beträgt die Schichtdicke bis zu 5 μm . Je größer die Schichtdicke der Trennflüssigkeit ist, desto größer ist zwar die Beladbarkeit (Kapazität) der Säule, je geringer ist aber auch ihre Trennleistung



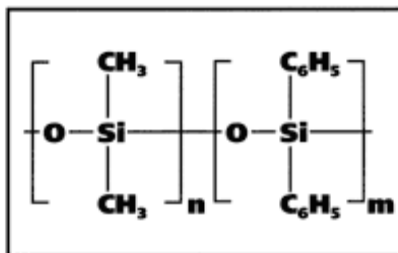
Structure of Dimethylpolysiloxane

Abb 1.3.2.a:

Bei $n = 100\%$ besteht die Trennflüssigkeit aus reinem Polydimethylsiloxan.

Folge: Sehr unpolare stationäre Phase

Reine Polydimethylsiloxane (abb 1.3.2.a) besitzen relativ unpolare Eigenschaften. Die Polarität der Polydimethylsiloxane steigt aber durch Erhöhung des Anteils an z.B. Diphenyl-, Cyanopropylphenyl- oder Dicyanopropylsiloxanen.



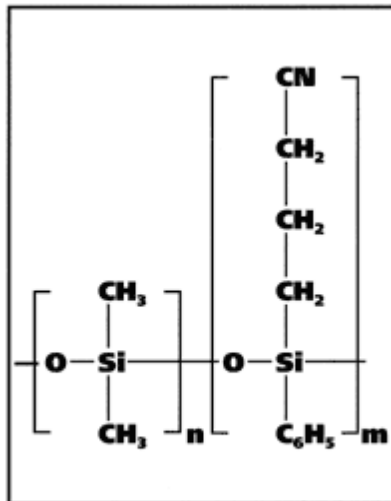
Structure of Diphenyldimethylpolysiloxane

Abb 1.3.2.b:

Die Trennflüssigkeit besteht neben n Anteilen an Polydimethylsiloxan auch aus unterschiedlichen Anteilen an Diphenylpolysiloxan m mit $(n=100\%-m)$.

Folge: Zunehmend höhere Polarität der stationäre Phase

Zu den polaren stationären Phasen zählen Polysiloxane mit einem hohen Anteil an Cyanopropyl- oder Phenylsiloxan und die Polyethylenglykolphasen.

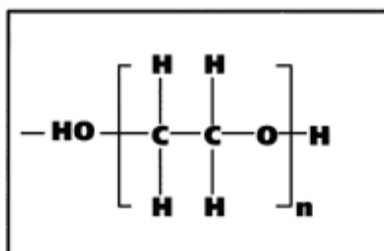


Structure of Cyanopropylphenylmethylpolysiloxane

Abb 1.3.2.c:

Die Trennflüssigkeit besteht neben n Anteilen an Polydimethylsiloxan auch aus unterschiedlichen Anteilen an Cyanopropylphenylpolysiloxan m mit $(n=100\%-m)$.

Folge: Zunehmend höhere Polarität der stationären Phase



Structure of Polyethylene Glycol

Abb 1.3.2.d:

$(n=100\%)$ Die Trennflüssigkeit besteht aus 100% Polyethylenglykol.

Folge: Sehr hohe Polarität der stationären Phase. Achtung !! Empfindlich gegenüber Sauerstoff und hohen Trenntemperaturen.

Diese sehr polaren stationären Phasen („Trennflüssigkeiten“) werden durch Sauerstoff oxidiert und zersetzt. Dieser Effekt tritt insbesondere bei hohen Trenntemperaturen auf. Daher ist darauf zu achten, dass die verwendeten Trägergase möglichst sauerstofffrei sind und die Säule bis zum Abkühlen kontinuierlich mit Trägergas gespült wird.

Damit eine Substanz als „Trennflüssigkeit“ überhaupt geeignet ist, muss sie bestimmte Eigenschaften besitzen:

- Thermische Beständigkeit
- geringer Dampfdruck bei der verwendeten Trenntemperatur
- geringe Viskosität bei der verwendeten Trenntemperatur
- chemisch inert
- hohe Selektivität für das entsprechende Trennproblem

Die Trennleistung einer GC-Säule ist generell umso höher, je länger die Säule ist. Bei gepackten Säulen sind der Säulenlänge aufgrund des hohen Widerstandes, der dem Trägergas durch die Säulenfüllung entgegengebracht wird, enge Grenzen gesetzt.

Kapillarsäulen hingegen besitzen, im Gegensatz zu den gepackten Säulen, aber keine „Säulenfüllung“ im herkömmlichen Sinn. Durch den Hohlraum in der Mitte der Kapillare ist der Säulenwiderstand geringer als bei einer gepackten Säule. Dies erlaubt die Verwendung von sehr langen Säulen (15 - 150 Meter).

Im Versuch wird eine (5%-Phenyl)-methylpolysiloxanphase vom Typ HP-5ms[®] der Firma Agilent Technologies verwendet (also eine Phase mit einem 5%-igen Diphenylpolysiloxan-Anteil). Max. Temp. 325° - 350°C.

I.3.2.1 Temperaturbeständigkeit von Kapillarsäulen

Eine wichtige Angabe bei Kapillarsäulen ist der zulässige Temperaturbereich in dem eine Säule verwendet werden darf. Ist die gewählte Trenntemperatur für eine bestimmte Trennflüssigkeit („stationäre Phase“) zu niedrig, so kann dies zu einer schlechten Trennleistung führen, ist die Temperatur hingegen zu hoch, so kommt es zum Zersetzen der Trennflüssigkeit (zum sog. „Ausbluten“ der Säule) durch den erhöhten Dampfdruck der stationären Phase. Dies macht sich in einer oft drastisch steigenden Grundliniendrift bemerkbar.

Um das „Ausbluten“ einer Säule zu vermindern wird von vielen Herstellern die Trennflüssigkeit chemisch an der Kapillarwand fixiert. Man unterscheidet daher immobilisierte/chemisch gebundene Phasen (bonded phases) von sog. ungebundenen (nonbonded phases), bei denen die Trennflüssigkeit lediglich auf die Kapillarwand aufgetragen jedoch nicht weiter in der Kapillare fixiert ist.

I.4 Die mobile Phase (Trägergas)

I.4.1 Bestandteile und Vorbereitung von mobilen Phasen

Als Trägergas wird in den meisten Fällen - so auch bei diesem Versuch - Helium, seltener hingegen Wasserstoff (Explosionsgefahr !), verwendet. Die Trägergase müssen von besonderer Reinheit sein. Von der mobilen Phase wird außerdem gefordert, dass sie weder mit den zu trennenden Substanzen, noch mit dem Trägermaterial d.h. mit dem stationären Flüssigkeitsfilm bei hohen Temperaturen reagiert. Da das Trägergas direkt aus einer Entnahmestation über einen Druckminderer (4 bar) in den Gaschromatographen eingespeist wird, ist eine weiterführende Aufbereitung der mobilen Phase nicht notwendig.

I.5 Methoden der GC

Die Verweildauer von Substanzen in der stationären Phase nimmt generell mit steigender Temperatur ab. Die Retentionszeit einer Substanz ist daher stark temperaturabhängig und verkürzt sich mit steigender Trenntemperatur.

I.5.1 Die isotherme-GC

D.h. die Temperatur im Säulenofen wird während der Trennung nicht geändert.

- **Vorteil:** nach der Messung muss die Säule nicht wieder auf Anfangsbedingungen abgekühlt werden.
- **Nachteil:** mangelnde Flexibilität bei der Untersuchung von Gemischen mit Verbindungen von stark unterschiedliche Polarität oder stark unterschiedlichen Siedepunkten. Im isothermen Modus werden bei Trennproblemen oder in der Erprobungsphase ei-

ner neuen Trennmethode oft viele Messungen nötig, um ein geeignetes isothermes System zu finden (zeitaufwendig!!).

I.5.2 Die temperaturprogrammierte GC

Bei der temperaturprogrammierten GC werden die Temperatur des Säulenofens und damit die Säulentemperatur linear mit der Zeit verändert.

- **Vorteil:** hohe Flexibilität; Bewältigung von schwierigen Trennproblemen, die isotherm (s.o.) nicht zu lösen sind; Verkürzung von Analysenzeiten bei komplexen Probengemischen mit stark unterschiedlich retardierenden Substanzen.
- **Nachteil:** Um reproduzierbare Messergebnisse zu erhalten ist eine exakt arbeitende Temperatursteuerung notwendig (in modernen GC-Systemen sehr gut realisiert).

Bei Verwendung eines Temperaturprogramms wird eine Anfangstemperatur empfohlen, die etwa 10°C unter der Siedetemperatur des verwendeten Lösungsmittels liegt. Die Endtemperatur richtet sich nach der zu analysierenden Komponente. Sie sollte jedoch über dem Siedepunkt der jeweiligen Substanz liegen, um ein Verschleppen der Probe auf der Säule zu verhindern.

I.6 Pneumatik und Säulenofen

Die Trägergaszufuhr (He oder H₂ selten N₂), sowie die Versorgung der verschiedenen Detektoren mit Brenngasen (z.B. H₂ und synthetische Luft für FID) erfolgt über eine Regeleinheit, welche für einen konstanten Druck vor der Säule und für konstante Strömungsgeschwindigkeiten während der Messung sorgt. Wegen der starken Temperaturabhängigkeit der Retentionszeiten in der GC muss, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, die Säulentemperatur im Säulenofen der GC-Anlage exakt regel- und kontrollierbar sein. Säulenöfen werden meist mit einem Temperaturprogramm zwischen 30 und 350°C betrieben.

I.7 Die Injektionseinheit (GC-Einlass-System)

1.7.1 Der automatische Probengeber (Autosampler)

Der Autosampler dient zur Einbringung der Probe in den GC-Injektor und somit in das Trennsystem. Wichtig dabei ist, dass beim Einspritzvorgang eine möglichst schmale Startbande produziert wird, d.h. dass die Probe auf möglichst kleinem Raum an den Säuleneingang gebracht wird. Dies geschieht bei modernen GC-Systemen fast ausschließlich mit Hilfe eines automatischen Probengebers. Das Probengemisch wird dabei meist in einem relativ flüchtigen Lösungsmittel (z.B. CHCl_3 , CH_2Cl_2 , Hexan) gelöst und mit Hilfe einer Spritze automatisch injiziert. Prinzipiell kann die Injektion auch manuell per Injektionsspritze erfolgen. Dies ist allerdings wegen der genannten Nachteile (Reproduzierbarkeit, Genauigkeit etc.) heute kaum noch gebräuchlich. Prinzipiell unterscheidet man zwei Arten von GC-Injektorsystemen:

I.7.1.1 Split/Splitless – Injektor

Beim „**Split/Splitless - Injektor**“ (Abb 1.7.1.1) wird die Probenlösung über ein Septum (Membran aus Kunststoff oder Gummi) in den Verdampfungsraum injiziert. Durch die dort herrschende Temperatur (meist 200 - 300°C) verdampft die Probe und es entsteht eine Dampfwolke, welche mit Hilfe des Trägergases in die Säule transportiert wird. Die Probenaufgabe auf die Säule kann hierbei entweder komplett (splitless-mode), oder durch Variation der Spalteinstellung nur teilweise (split-mode) erfolgen. Der split-mode kommt vor allem bei sehr konzentrierten Probenlösungen zum Einsatz. Splitlos wird oft in der Spurenanalytik gemessen.

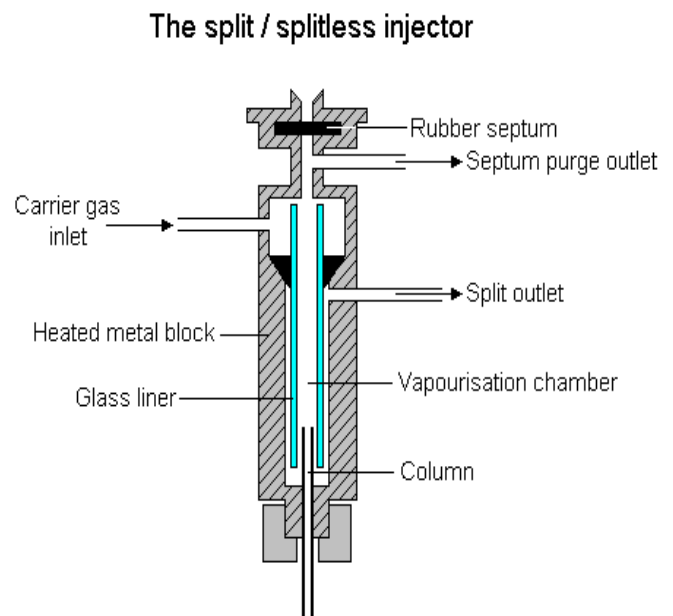


Abb 1.7.1.1. Schematische Darstellung eines split/splitless Injektors

I.7.1.2 On - Column - Injektor

Beim sog. „On-Column-Injektor“ wird dagegen die Spritzenkanüle (sehr dünne Nadel erforderlich) direkt in die Trennsäule eingeführt und somit die Probenlösung in flüssiger Form direkt in den Kapillarsäuleneingang injiziert. Dieses Verfahren der Injektion wird auch kaltes Injektionsverfahren genannt, da die Probe nicht sofort, sondern erst beim Hochheizen des Ofens verdampft wird. Es eignet sich besonders für die Analyse thermisch labiler Substanzen.

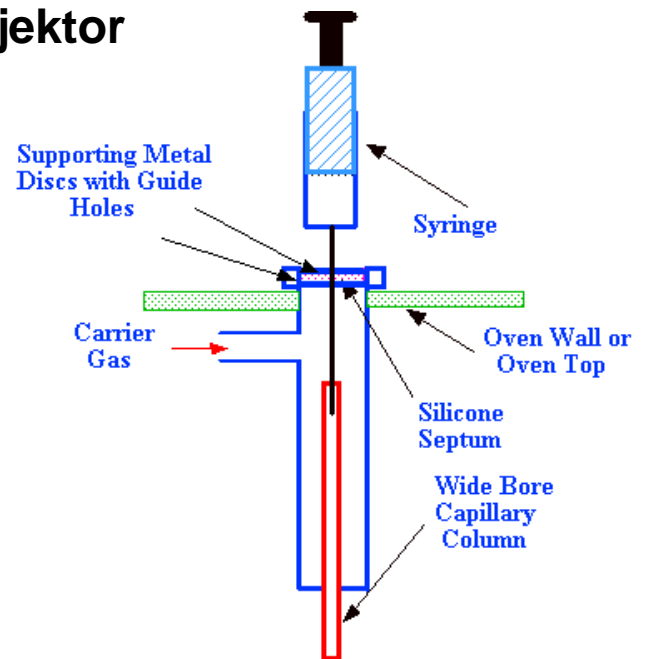


Abb 1.7.1.2 Schematische Darstellung eines On-Column-Injektors

I.8 Der GC-Detektor

Wie bei der HPLC, werden bei der Gaschromatographie Detektoren eingesetzt, um die Substanzen nach der Trennung nachweisen zu können. Die Wahl des Detektors hängt hierbei im Wesentlichen von den Eigenschaften der nachzuweisenden Substanz ab. Häufig eingesetzte Detektoren sind:

Detektor	Anwendung	Nachweisgrenze	Linearität
FID (flame ionization detector)	selektiv nur ionisierbare Komponenten in H ₂ /Luft-Flamme	ca. 5,0 pg C/sec	10 ⁷
TCD (WLD) (thermal conductivity detector =Wärmeleitfähigkeitsdetektor)	universell für Komponenten mit unterschiedlicher therm. Leitfähigkeit zum Trägergas	400 pg/ml carrier	10 ⁶
ECD (electron capture detector =Elektroneneinfangdetektor)	selektiv z.B. Moleküle mit Heteroatomen	z.B. 0,1 pg Cl /sec	10 ⁴
NPD (Stickstoff-Phosphor Detektor)	selektiv für stickstoff und – phosphorhaltige organische Komponenten	0,1 – 0,40 pg	10 ⁴
MSD (mass selective detector)	universell kaum Einschränkungen	10 pg – 10 ng	10 ⁵

Tab. 1.8 Übersicht über häufig eingesetzte GC-Detektoren:

I.8.1 Der Flammenionisationsdetektor (FID)

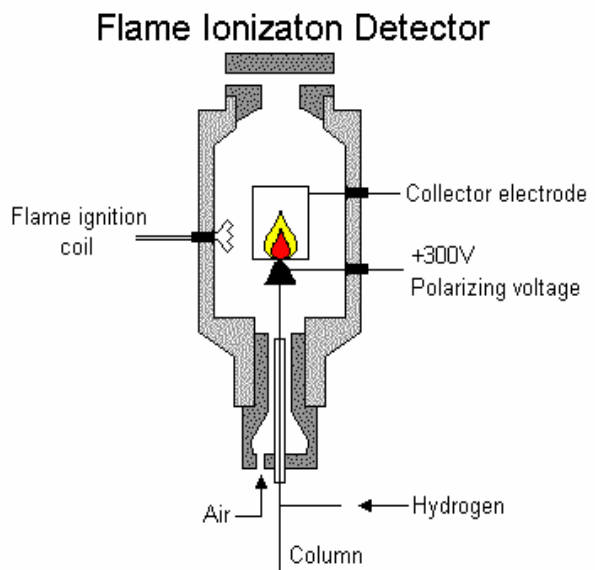
Einer der meist verwendete Detektoren in der GC ist der **Flammenionisationsdetektor** (flame ionization detector, **FID**, siehe Abb 1.14). Gegenüber anderen Detektoren weist er den Vorteil großer Empfindlichkeit bei einem sehr breiten Anwendungsbereich auf. Der FID ist praktisch auf sämtliche kohlenstoffhaltige Verbindungen empfindlich und kaum auf bestimmte Substanzklassen beschränkt. In der Wasserstoffflamme („Knallgasreaktion“) finden Radikalreaktionen statt. Gelangt ein organisches Molekül in die Flamme, wird es zu entsprechenden Radikalen pyrolysiert, die

durch angeregte Sauerstoffatome und OH-Radikale oxidiert und ionisiert werden. Die so erzeugten Ionen werden von der Collector-Electrode angezogen, wodurch ein Strom fließt, welcher zur Probenmenge proportional ist.

Da die Detektion auf der Verbrennung der Probe beruht, spricht der FID nur auf „brennbare“ Substanzen an. Verbindungen wie H_2O , N_2 oder CO_2 werden daher nicht erfasst. Stark halogenierte Verbindungen geben meist ein nur schwaches Signal (hier wäre die bessere Wahl ein ECD Detektor).

I.8.2 Der Massenselektive Detektor (MSD)

Bei diesem Verfahren (GC/MS-Kopplung) wird ein Gaschromatograph (GC) mit einem Massenspektrometer (MS) gekoppelt. Diese Methode verbindet die Vorteile einer chromatographischen Trennmethode mit dem selektiven und empfindlichen Nachweis von Substanzen durch die Massenspektrometrie. Durch dieses Verfahren kann zusätzlich zur Retentionszeit einer Verbindung, auch ihr jeweiliges Massenspektrum zur Identifikation herangezogen werden (vgl. UV Spektrum beim DAD in der HPLC). Die am weitesten verbreiteten massenspektrometrischen Detektoren in der GC sind der Quadrupol- und der Ion-Trap-Detektor. Im vorliegenden Versuch wird ein Quadrupoldetektor mit **EI**-Ionisationstechnik (Elektronenstoßionisation = Electron Impact) verwendet. Im Gegensatz zur sog. „weichen“ **CI**-Ionisationstechnik (chemische Ionisation mittels Reagenzträ-

**Abb 1.8.1 Schematische Darstellung eines FID- Detektors**

gergasen z.B. NH_3 oder CH_4) werden bei der Elektronenstoßionisation die

von der Säule eluierenden Probenkomponenten durch Elektronen mit einer Energie von **70eV** ionisiert. Dabei entstehen sowohl Radikationen M^+ mit ungepaartem Elektron, als auch verbindungsspezifische Fragmente. Diese Fragmentierungsmuster können zur Identifizierung und Charakterisierung der Komponenten herangezogen werden (Spektraldatenbanken!).

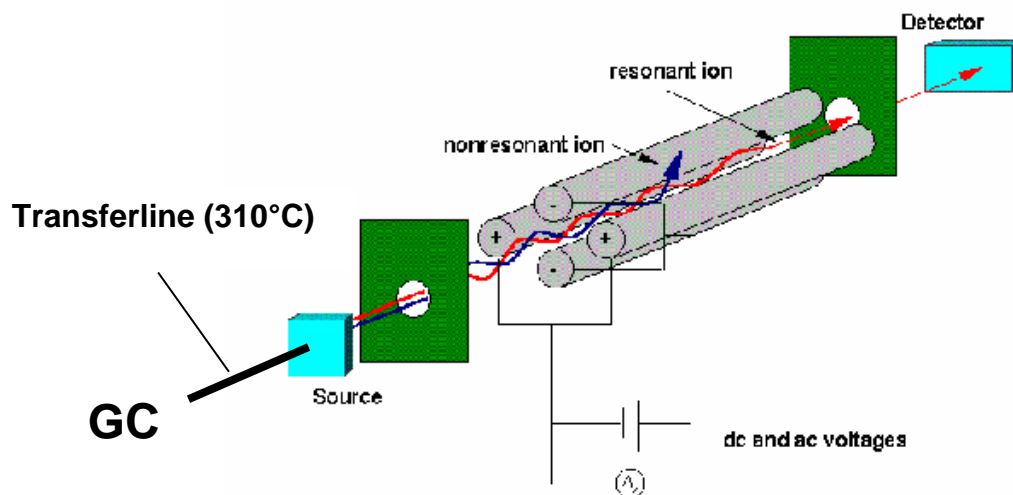


Abb 1.8.2 Schematischer Aufbau eines Quadrupol MSD

Die zu analysierende Komponente wird dabei nach dem Verlassen der GC-Säule über die sog. Transferline (310°C) in den Massendetektor geleitet. Das Massenspektrometer steht unter Vakuum (8.2×10^{-6} Torr). Wichtig ist hierbei, dass die Temperatur der Transferline etwa 10°C höher liegt, als die Endstufentemperatur des gewählten Ofenprogramms, da sonst Substanzen in die Transferline verschleppt werden könnten. Die Transferline-Temperatur darf jedoch den für die jeweilige Säule maximal zulässigen Höchstwert (hier 325°C) nicht überschreiten, da sonst Säulenmaterial in den Massenanalysator austritt und diesen verunreinigt. Unmittelbar nach dem Start eines Laufes bleibt der MS Detektor meist noch für eine Zeit von 2 - 5 min ausgeschaltet (**sog. solvent delay**), um das Massenspektrometer nicht durch das meist sehr früh eluierende Solvens der Probe zu verunreinigen. Aus diesem Grund sollte die Durchbruchzeit t_m für das verwendete chromatographische System bereits vorher ermittelt worden sein.

1.9 Probenvorbereitung in der GC (Derivatisierung)

Viele schwerflüchtige Substanzen lassen sich erst nach Derivatisierung zu leichterflüchtigen Verbindungen gaschromatographisch bestimmen. Der hohe Siedepunkt mancher Verbindungen ist oft auf polare funktionelle Gruppen (COOH-, OH,- oder NH₂-Gruppen) zurückzuführen. Die Derivatisierung dieser Funktionen zu relativ unpolaren Strukturelementen (z.B. Ester, Amide) senkt die Siedetemperatur. Weitere Gründe für eine Derivatisierung können sein:

- Verbesserung der Trennung der entsprechenden Komponenten.
- Verbesserung der Nachweisgrenze.
- Verbesserung der thermischen Stabilität

Eine wichtige Rolle spielt hierbei vor allem die Umsetzung von Verbindungen zu Trimethylsilyl-Derivaten. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Silylierungsmittel hängt dabei stark vom gewählten Reagenz, von der funktionellen Gruppe sowie vom Lösungsmittel ab.

Reaktion	Reagenz	Substanzklasse
Acylierung	Trifluoressigsäureanhydrid N-Methyl-bis-trifluoracetamid Pentafluorpropionsäureanhydrid Essigsäureanhydrid	Amine, Alkohole
Alkylierung	Diazomethan	Carbonsäuren, Phenole, Enole
	Dimethylformamiddimethylacetal	Carbonsäuren, Amine, Alkohole
Silylierung	Trimethylchlorsilan (TMS) N-Methyltrimethylsilyltrifluoracetamid (MSTFA) N,O-bis-(Trimethylsilyl)-trifluoracetamid (BSA) bis-(Trimethylsilyl)-trifluoracetamid (BSTFA)	Alkohole, Amine, Carbonsäuren

Tab 1.9 Häufig verwendete Derivatisierungsreagenzien in der GC

I.10 Die Steuerungs- und Auswerte-Software

Bei modernen GC-Anlagen werden alle zugehörigen Einzelgeräte (Probenaufgabe, Pneumatik, Ofentemperatur, Ventile, Detektoren) von einem Rechner aus gesteuert. Die dafür nötige Software übernimmt auch die Darstellung, Speicherung und Verwaltung der Chromatographie-Daten. Nach Aufnahme des Chromatogramms muss die Software natürlich auch die Bearbeitung und Auswertung des Chromatogramms übernehmen und einen passenden Ausdruck der Ergebnisse liefern. Bei älteren GC-Anlagen, bei denen die Steuerung der Geräte nicht zentral von einem PC aus erfolgt, übernimmt ein separater Integrator die Aufzeichnung und Auswertung der Chromatogramme (heute nicht mehr gebräuchlich).

Bei quantitativen Analysen ist die Ermittlung der Peakflächen (Integration) wohl die wichtigste Aufgabe der Auswerte-Software. Die beste Voraussetzung zur exakten Ermittlung der Peakflächen liegt vor, wenn die einzelnen Peaks völlig getrennt sind (Grundlinientrennung), und wenn die Grundlinie konstant verläuft. Zwar kann eine gute Integrationssoftware auch überlappende oder aufsitzende Peaks integrieren und auch eine eventuelle Drift der Grundlinie berücksichtigen, jedoch ist es immer angebracht, zunächst die Trennung zu optimieren oder die Probenvorbereitung zu verbessern um Störpeaks zu beseitigen.

Für die Integration der einzelnen Peaks benötigt die Software die sog. Peakverarbeitungsparameter, die entweder vom Anwender gesetzt, oder aus den Chromatographie-Rohdaten automatisch ermittelt werden. Die beiden wichtigsten Peakverarbeitungsparameter sind:

- Peak-Width: legt die minimale Breite (in Sekunden) eines Peaks fest, der ausgewertet werden soll. Optimaler Wert: Halbwertsbreite des schmalsten interessierenden Peaks.
- Slope-Sensitivity: legt Beginn und Ende eines Peaks fest (Peakerkennungsempfindlichkeit). Wenn die ermittelte positive (Peakbeginn) bzw. negative Steigung (Peakende) einen vorgegebenen, aus den Schwankungen der Grundlinie ermittelten Wert erreicht kommt es zur Peakerkennung durch die Software.

I.11 Die Methode des Internen Standards (ISTD)

In der GC/HPLC ist es von größter Wichtigkeit, dass die vom Detektor erhaltenen Daten quantitativ ausgewertet werden können und somit unter geeigneten Bedingungen eine quantitative Bestimmung der untersuchten Komponenten erlauben. Als Messgröße dient in der Regel die Fläche unter einem Peak. Bei exakt symmetrischen (Gauß-) Peaks kann auch die Peakhöhe als Maß herangezogen werden. Peakfläche bzw. Peakhöhe sind dann proportional zur Menge der zu analysierenden Substanz. Das Detektorsignal ist jedoch außer von der Konzentration des Analyten auch stark von dessen Extinktionskoeffizienten abhängig. So können zwei Substanzen in einer Lösung durchaus die gleiche Konzentration besitzen, aber in der Messung eine gänzlich andere Fläche (oder Peakhöhe) ergeben. Aus diesem Grund sollte bei quantitativen Analysen vorzugsweise mit einem Internen Standard gearbeitet werden oder ein vergleichbarer Korrekturfaktor verwendet werden.

I.11.1 Wahl eines geeigneten Tracers

Beim Verfahren des **Internen Standards** gibt man sowohl der zu untersuchenden Probenlösung, als auch jeder Stammlösung eine weitere Komponente, den sog. **Internen Standard (Tracer)** zu. Eine Substanz, die als interner Standard eingesetzt werden soll, muß aber unbedingt einige wichtige Bedingungen erfüllen:

- sie darf nicht von vorneherein in der zu untersuchenden Realprobe vorkommen.
- sie muß chemisch stabil bzw. inert sein gegenüber den restlichen Komponenten in der Probe, sowie gegenüber dem Packungsmaterial der Säule und der verwendeten mobilen Phase.
- sie sollte in möglichst hoher Reinheit vorliegen.
- sie sollte über möglichst ähnliche physikalisch-chemische Eigenschaften (Retentionszeit, Detektorverhalten, Löslichkeit, etc.) wie die zu bestimmende Substanz verfügen.
- sie sollte von allen in der Realprobe enthaltenen Substanzen unter den chromatographischen Bedingungen gut getrennt werden und in vergleichbarer Konzentration zugesetzt werden.

Nach der Analyse einer Eichlösung, welche die Stammlösung mit den genauen Einwaagen der zu bestimmenden Probenkomponenten, die als reine Referenzsubstanzen verfügbar sein müssen, und den internen Standard in ähnlichen Konzentrationsverhältnissen wie in der Realprobe enthält, läßt sich für jede Substanz i

ein sog. Kalibrierfaktor KF_i aus den Response-Faktoren f_{Tr} und f_i nach folgenden Zusammenhängen ermitteln:

$$(1) \quad f_i = \frac{a_i}{m_i}$$

f_i = Response-Faktor der Komponente i

a_i = Fläche der Substanz i

m_i = Masse der Komponente i

$$(2) \quad KF_i = \frac{f_{Tr}}{f_i} = \frac{m_i^K \cdot a_{Tr}^K}{m_{Tr}^K \cdot a_i^K}$$

KF_i = Kalibrierfaktor der Komponente i

f_{Tr} = Response-Faktor des Tracers

m_i^K = Masse der Komponente i in der Kalibrierlösung (K)

m_{Tr}^K = Masse des Tracers in der Kalibrierlösung (K)

a_{Tr}^K = Fläche des Tracers in der Kalibrierlösung (K)

a_i^K = Fläche der Komponente i in der Kalibrierlösung (K)

$$(3) \quad m_i^x = KF_i \cdot \frac{a_i^x}{a_{Tr}^x} \cdot m_{Tr}$$

m_i^x = Masse der Komponente i in der Probenlösung (X)

m_{Tr}^x = Masse des Tracers in der Probenlösung (X)

a_i^x = Fläche der Komponente i

a_{Tr}^x = Fläche des Tracers

Da jeder Probenlösung der interne Standard in exakt gleicher Menge und gleicher Konzentration (Masse m_{Tr}) zugesetzt wird, lassen sich mit Hilfe der aus der Eichung ermittelten KF-Werte die Massen der gesuchten Komponenten nach Formel (3) ermitteln.

I.12 Aufgaben zum Theoretischen Teil

- 1.) Welche beiden unterschiedlichen Chromatographiearten werden in der GC hauptsächlich eingesetzt?
- 2.) In der Gaschromatographie unterscheidet man im Wesentlichen zwischen zwei unterschiedlichen Kategorien von Trennsäulen. Wie heißen sie und worin unterscheiden sie sich?
- 3.) Nennen sie einen wesentlichen Vorteil, bei der Verwendung von Kapillarsäulen.
- 4.) Welcher Zusammenhang besteht zwischen der Schichtdicke (Film) der Trennflüssigkeit in Kapillarsäulen und der Kapazität der Trennsäule bzw. der Trennleistung der Kapillarsäule.
- 5.) Nennen sie drei Beispiele fester Adsorbentien die bei gepackten Säulen zum Einsatz kommen und für welche Substanzen sie verwendet werden.
- 6.) Aus welchem Material ist in der Regel die Kapillarwand einer Kapillarsäule hergestellt. Wie heißt der entsprechende Fachausdruck?
- 7.) Was versteht man unter Säulenbluten, wie kommt es zustande und wie macht es sich bemerkbar?
- 8.) Wie kann eine Säule hinsichtlich des aufgetragenen stationären Trägermaterials modifiziert werden, um Säulenbluten zu verhindern und wie nennt man eine so veränderte Phase?
- 9.) Welche notwendigen Voraussetzungen muss die in einer Kapillarsäule aufgetragene Trennflüssigkeit u.a. aufweisen (5 Beispiele)?
- 10.) Wann wird in der GC mit Split-Injektion und wann im Splitless-Mode gearbeitet (je 1 Beispiel)?
- 11.) Nennen sie einen wesentlichen Unterschied zwischen dem Bauprinzip eines Split-Splitlos Injektors und eines On-Column-Injektors. Wie nennt man das Injektionsverfahren bei der On-Column-Injektion?

- 12.) Nennen sie ein Beispiel für ein sog. kaltes Injektionsverfahren und bei welchen Substanzen wird es überwiegend angewendet?
- 13.) Zwischen welchen beiden grundlegenden Arbeitsweisen wird bei der Wahl des Ofen-Temperaturprogramms während einer chromatographischen GC-Trennung unterschieden und wie nennt man diese?
- 14.) Wie ist der Kalibrierfaktor KF_i einer Komponente i definiert?
- 15.) Nennen sie mindestens vier Eigenschaften, die ein geeigneter Tracer aufweisen muss.
- 16.) Nennen sie neben dem FID Detektor vier weitere Arten von GC-Detektoren.
- 17.) Erläutern Sie einen wesentlichen Unterschied zwischen der EI- und der CI-Ionisationstechnik in einem massenselektiven Detektor.
- 18.) Warum sollte die Temperatur der Transferline stets 10°C höher liegen als die jeweils gewählte Endtemperatur des Ofenprogramms und welche Einschränkung gilt hierbei?
- 19.) Nennen Sie drei Gründe für eine Probenderivatisierung in der GC.
- 20.) Nennen Sie drei Derivatisierungsreagentien und die Substanzklasse für die sie jeweils Anwendung finden.

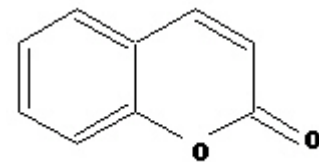
II Experimenteller Teil

GC/MS-Bestimmung von Cumarin in den Parfums Chanel-N° 5[©], Joop[©] und Pure[©] (Jil Sander) mit der Methode des Internen Standards

II.1 Einleitung

Cumarin ist ein natürlich vorkommender sekundärer Pflanzenstoff, der in vielen Gräsern (beispielsweise *Anthoxanthum odoratum*), Schmetterlingsblütlern (beispielsweise *Melilotus officinalis*), im Waldmeister, in Datteln sowie in der Tonkabohne (*Dipteryx odorata*) enthalten ist. Der Name leitet sich von span. *cumarú* = Tonkabohnenbaum ab. Cumarin (und verwandte Stoffe) sind für den typischen Heugeruch beim Trocknen von Gras verantwortlich, da Cumarin in der Pflanze teilweise glykosidisch gebunden ist und erst bei Verletzung beziehungsweise beim Welken der Pflanzen durch Abspaltung des Zuckers frei wird.

Chemisch gesehen ist Cumarin 1,2-Benzopyron.
Weitere Namen sind:
1-Benzopyran-2-on, o-Cumarsäurelacton, Tonkabohnencampher, Chromen-2-on oder α -Benzopyron.



Cumarin

Einige mit Cumarin verwandte Verbindungen wurden früher als Geruchs- und Geschmackstoffe in Nahrungsmitteln verwendet. Cumarin ist wohl nur in größeren Mengen und über längere Zeiträume aufgenommen gesundheitsschädlich. Hohe Dosen können zu Leberschäden, Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwindel und Benommenheit führen, sehr hohe Dosen führen zu Bewusstlosigkeit und Atemlähmung. Auch können Leber und Nieren geschädigt werden. Aus diesen Gründen darf Cumarin in Deutschland nicht mehr als Aromastoff in Lebensmitteln verwendet werden. Für die bekannte Maibowle aus Waldmeister sollen höchstens 3 g Kraut je Liter Bowle verwendet werden. In dieser geringen Menge ist das enthaltene Cumarin nicht gesundheitsschädlich.

In der Medizin werden Hydroxycumarine oder synthetische Cumarin-Derivate als gerinnungshemmende Medikamente eingesetzt. Sie wirken, indem sie die Synthese der in der Leber gebildeten Blutgerinnungsfaktoren (II, VII, IX, X) inhibieren und sind Antagonisten des Vitamins K. Außerdem werden sie als Rodentizide vor allem zur Bekämpfung von Ratten eingesetzt, die, wenn sie hohe Dosen an Cumarin aufgenommen haben, nach einiger Zeit innerlich verbluten.

II.2 Durchführung

II.2.1 Vorbereitung der benötigten Lösungen

II.2.1.1 Vorbereitung der Stammlösungen

Cumarin-Stammlösung (Lösung A):

25 mg Cumarin (Fluka 28150: 1-Benzopyran-2-on \geq 99% HPLC) werden in ein Zinnwägeschiffchen (Typ Z 276 Tin Boats, 4x4x11 mm, Art Nr, 22137418, Fa. Elementar Analysensysteme GmbH, D-63452 Hanau, Germany), genau eingewogen. Anschließend wird das Wägeschiffchen vorsichtig mit einer Pinzette in einen 25 ml Meßkolben überführt und mit CHCl_3 (GC-Qualität) bis zur Eichmarke aufgefüllt. Der Messkolben wird verschlossen und 30 s gut geschüttelt. Der Meßkolben wird beschriftet (Lösung A Cumarin / Konzentration [1,00 mg/ml] !).

Tracer-Stammlösung (Lösung B):

25 mg Acetanilid (Fluka 00401: N-Phenylacetamid \geq 99.5% CHN) werden in ein Zinnwägeschiffchen (Typ Z 276 Tin Boats, 4x4x11 mm, Art Nr, 22137418, Fa. Elementar Analysensysteme GmbH, D-63452 Hanau, Germany) genau eingewogen. Anschließend wird das Wägeschiffchen vorsichtig mit einer Pinzette in einen 25 ml Meßkolben überführt und mit CHCl_3 (GC-Qualität) bis zur Eichmarke aufgefüllt. Der Messkolben wird verschlossen und 30 s gut geschüttelt. Der Meßkolben wird beschriftet (Lösung B / Konzentration-Acetanilid [1,00 mg/ml] !).

II.2.1.2 Vorbereitung der Eich-(Kalibrier)lösung

Herstellung der Eichlösung (Lösung C):

Mit einer Pipette (Transferpipette, Fa. Brandt, D-97861 Wertheim, Germany) werden je **700µl Lösung A** und **700µl Lösung B** in einem Präparategläschen zusammenpipettiert (Vorsicht! dabei unbedingt Luftblasen in der Pipettenspitze vermeiden!). Das Präparategläschen wird mit einem Schnappdeckel verschlossen und 10 s ultrabeschallt (Durchmischung) und beschriftet.

Filtration: Die so hergestellte **Eichlösung C** wird in eine 2ml Einweg-Spritze (NormJect, Luer, Fa. Henke Sass Wolf, D-78532 Tuttlingen, Germany) mittels einer aufgesteckten Einmalkanüle (Typ Erosa, Pravaz, 0.90 x 40mm 20G x 11/2, Fa. Rose GmbH, D-5500 Trier, Germany) aufgezogen. Danach wird die Kanüle von der Spritze wieder entfernt (Achtung! Spritze dabei senkrecht nach oben halten, damit die aufgezogene Lösung nicht ausläuft!) und ein Chromafil Einmalfilter (PTFE Typ O-20/15, organisch, Porendurchm. 0.2µm, Fa. Macherey-Nagel, D-52313 Düren, Germany) aufgesetzt. Die Lösung wird vorsichtig! durch den aufgesetzten Filter in ein Autosampler-Injektionsgläschen gepresst. Das Gläschen wird mit einer Anbördelkappe fest verschlossen und beschriftet (Lösung C / Konzentrationen in [mg/ml]!). Achtung: Jeweils Vialkonzentrationen angeben!

II.2.1.3 Vorbereitung der Probenlösungen

Herstellung der Parfum-Probenlösungen:

Wenige Sprühstöße des jeweiligen Parfums werden in je ein Präparategläschen gegeben. Daraus werden **jeweils 100ul** (Micromanpipette) entnommen und in einem weiteren Präparategläschen mit vorgelegten **900ul CHCl₃** (Transferpipette) um den **Faktor 10** verdünnt. Aus der verdünnten Lösungen werden mit der Transferpipette (neue Pipettenspitze verwenden) **700µl** entnommen und in ein weiteres Präparategläschen überführt zu dem je **700µl Lösung B (Tracer-Stammlösung)** zupipettiert werden. Es wird mit einem Schnappdeckel verschlossen und 10 s geschüttelt. Die Filtration der Lösungen erfolgt analog **Lösung C**.

Nach Abschluss der Probenvorbereitung stehen somit folgende Lösungen für die Messungen mittels GC/MS zur Verfügung:

- Lösung A:** Cumarin [1.00 mg/ml in CHCl_3]
Lösung B: Acetanilid (Tracer) [1.00 mg/ml in CHCl_3]
Lösung C: Eichlösung [0.50 mg/ml Acetanilid + 0.50 mg/ml Cumarin]
Lösung Joop: [+ 0.50 mg/ml Acetanilid]
Lösung Chanel: [+ 0.50 mg/ml Acetanilid]
Lösung Pure: [+ 0.50 mg/ml Acetanilid]

II.2.2 Durchführung der GC/MS-Analysen

Säule:

HP-5MS[®] Capillary Column / Fa. J+W Scientific / Länge: 30 m / I.D. 0.25 mm / Film 0.25 μm . Temperaturlimit: -60°C - 325°C (350°C). Part 19091S-433

Vorbereitung:

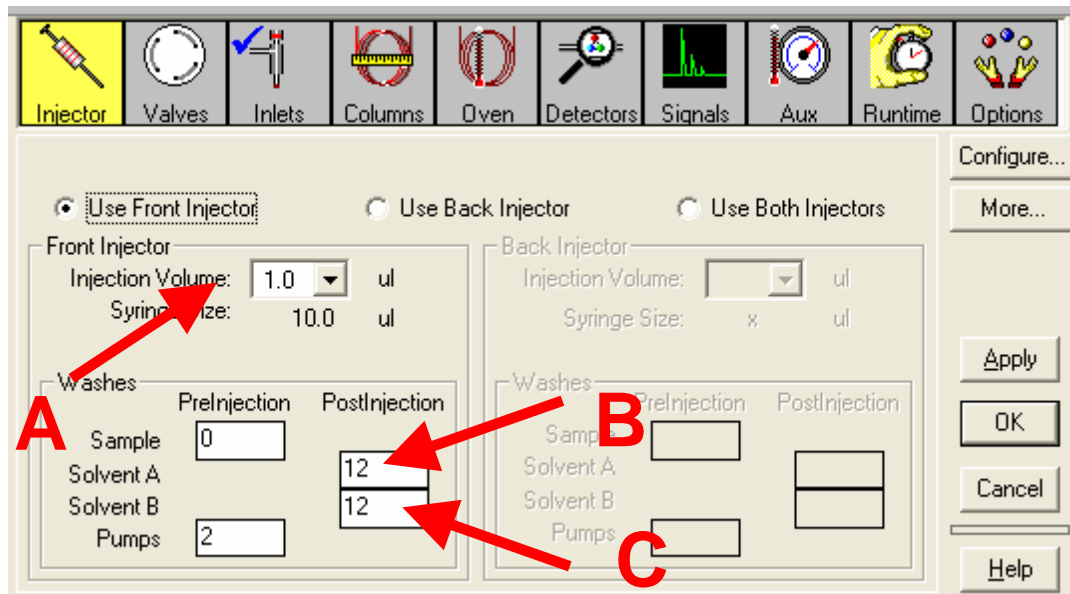
Nachdem die Säule im Gaschromatographen bei einer Temperatur von **310 °C** für 20 min ausgeheizt wurde, wird sie auf die Anfangstemperatur der jeweiligen Messmethode (hier **50 °C**) für 10 Minuten konditioniert. Danach wird die Software (siehe unten) programmiert. Bevor die Sequence mit der **Eichlösung (C)** und den einzelnen **Probenlösungen** vermessen werden, wird ein Einzelchromatogramm der **Tracer-Lösung (B)** aufgenommen, um beurteilen zu können, ob Acetanilid als Interner Standard überhaupt verwendet werden kann.

Vor der ersten Injektion sind die **CHCl_3 -Spüllösungen** für die Injektionsspritze des Autosamplers bereitzustellen.

Temperaturprogramm für Ofen:

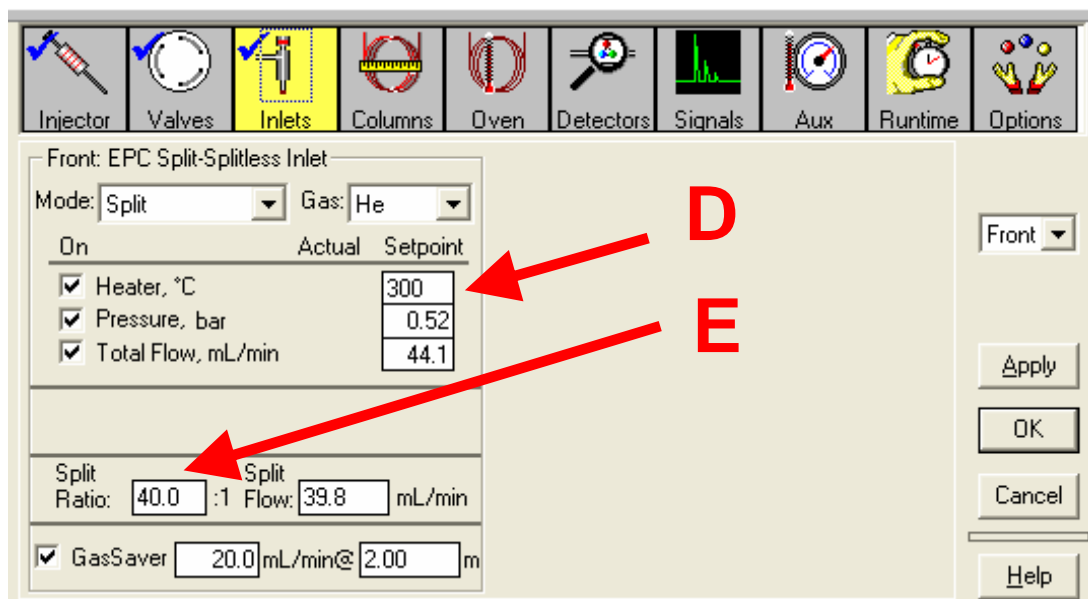
Heizrate	Temperatur	Dauer
initial	50 °C	3 min
20 °C/min	300 °C	5 min

II.2.2.1 Die Injektor-Programmierung



- A** : Geben Sie ein Injektionsvolumen von 1.00 ul ein.
- B** : Stellen Sie Solvent A auf 12 (= Anzahl der Spritzenspülungen mit CHCl_3 vor Injektion aus Flaschen A).
- C** : Stellen Sie Solvent B auf 12 (= Anzahl der Spritzenspülungen mit CHCl_3 nach Injektion aus Flaschen B).

II.2.2.2 Der Injektionsmodus



- D** : Geben Sie als Injektortemperatur 300°C ein.
- E** : Wählen Sie ein Splitverhältnis von 40:1

II.2.2.3 Programmierung des Säulenflusses

Column Mode: Const Flow
 Inlet: Front
 Detector: MSD
 Outlet bar: Vacuum

Manufacturer's Specifications
 Model No: J+W 19091S-433 325°C Max
 HP-5MS
 Capillary 30.0 m × 250 µm × 0.25 µm nominal

Flow	ml/min ²	ml/min	Hold	Runtime
Initial		1.0	0.00	20.50
Ramp 1	0.00	0.0	0.00	0.00
Ramp 2	0.00	0.0	0.00	0.00
Ramp 3	0.00	0.0	0.00	0.00
Post			0.00	20.50

He Flow
 Pressure: 0.523 bar
 Flow: 1.0 ml/min
 Average Velocity: 36 cm/sec

F : Geben Sie als Trägergasfluss (He) 1.0 ml/min ein.

II.2.2.4 Programmierung des Säulenofens

Oven Temp
 Temperature (°C)
 Time (min.)

Plot...

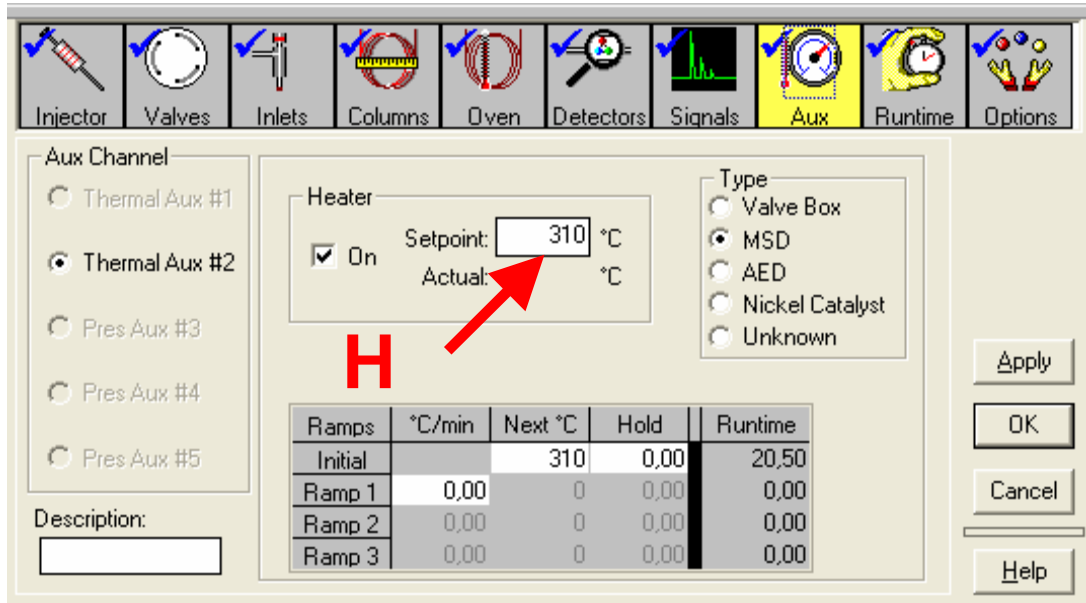
Oven Configuration
 Maximum °C: 325
 Equilibration min: 0.50

Oven Configuration
 Cryo On
 Quick Cooling On
 °C, Ambient
 Timeout Detection On
 min
 Fault Detection On

Ramp	°C/min	Next °C	Hold	Runtime
Initial		50	3.00	3.00
Ramp 1	20.00	300	5.00	20.50
Ramp 2	0.00	240	0.00	0.00
Ramp 3	0.00	270	0.00	0.00
Ramp 4	0.00	0	0.00	0.00
Ramp 5	0.00	0	0.00	0.00
Ramp 6	0.00	0	0.00	0.00
Post		0	0.00	20.50

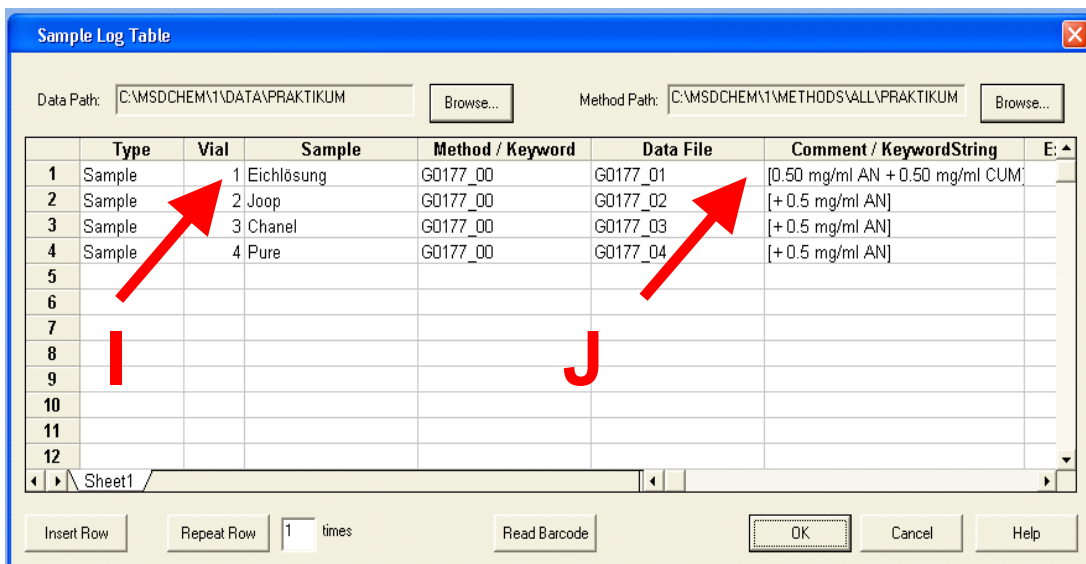
G : Geben sie das Temperaturprogramm für den Säulenofen ein.

II.2.2.5 Einstellung der Transferline-Temperatur



H : Geben Sie als Temperatur für die Transferline 310°C ein

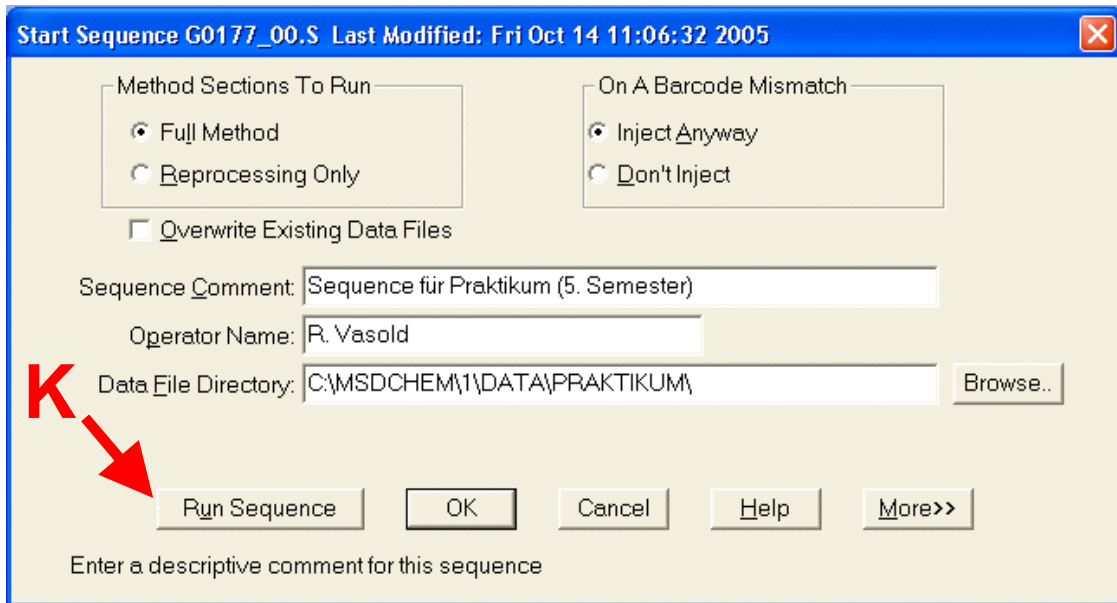
I.2.2.6 Programmierung des Autosamplers



I : Geben Sie in die Sequence-Log-Table die Bezeichnungen der Proben in der Reihenfolge ein, in der Sie abgearbeitet werden sollen (Eichlösung / Joop / Chanel / Pure).

J : In das Kommentarfeld werden zu jeder Probe die jeweils bekannten Vialkonzentrationen der Komponenten eingetragen.

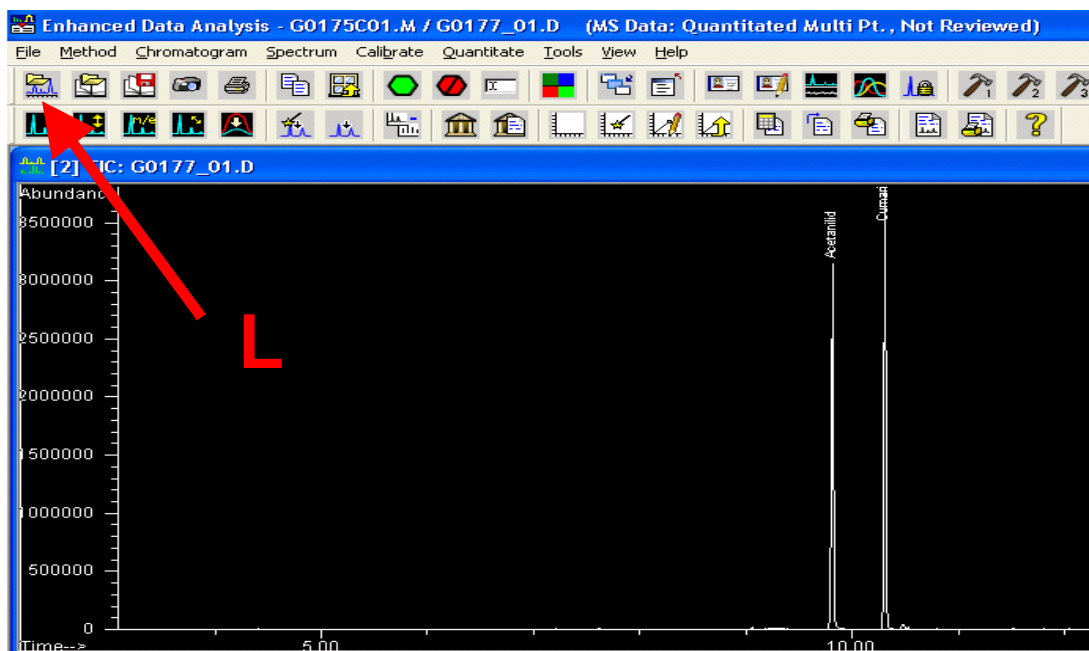
II.2.2.7 Das Starten der Proben-Sequence



K : Starten Sie mit dem Kommando „Run Sequence“ die Analysensequence, nachdem Sie die Proben in den Probensteller des Autosamplers gestellt haben.

II.2.3 Die quantitative Auswertung

II.2.3.1 Der Menüpunkt: Data Analysis

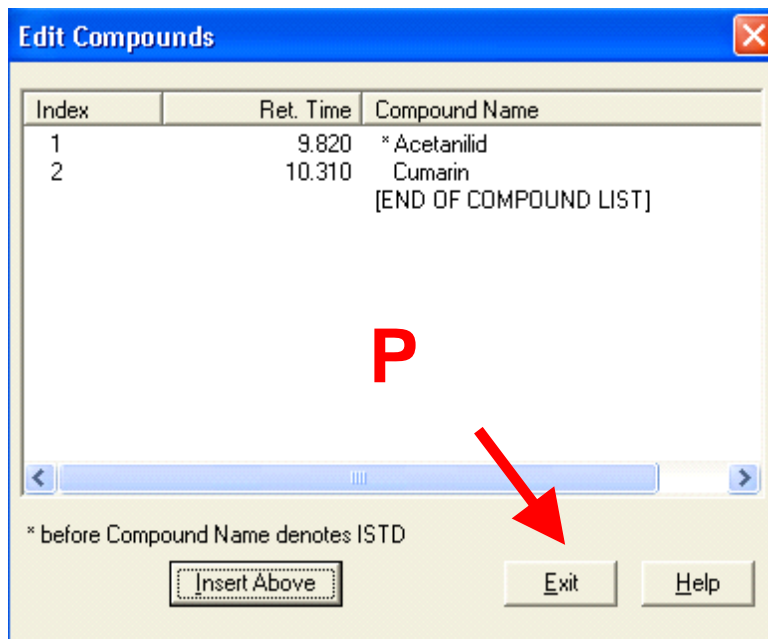


L : Öffnen Sie mit „Select Data File“ das Eichchromatogramm

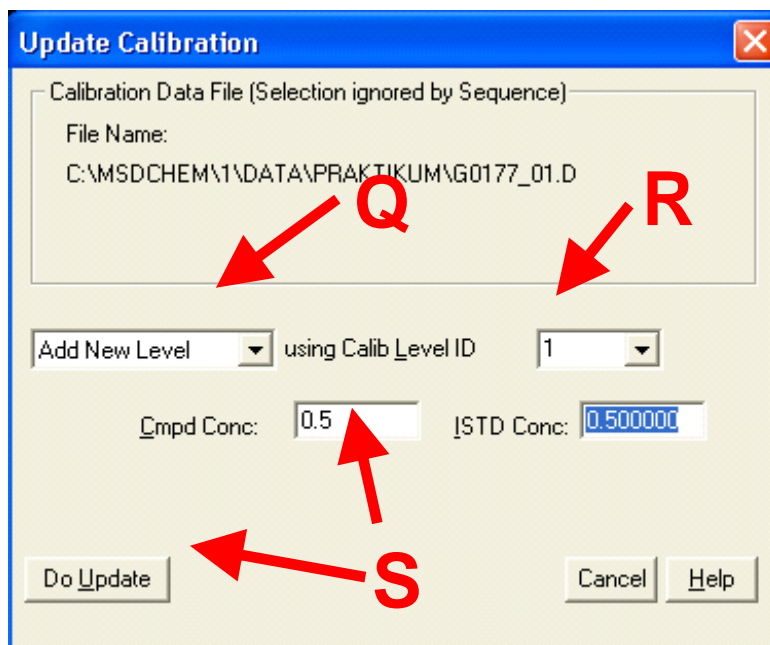
II.2.3.2 Das Erstellen der Kalibriertabelle

- M :** Wählen Sie über den Menüpunkt „Set Up Quantitation“ die „Quantitation Database Globals“ und geben Sie danach den Namen des gewünschten Integrationsfile ein.
- N :** Geben Sie nun die gewünschte Konzentrationseinheit (z.B. mg/ml) sowie die ISTD-Konzentration [0.50] ein und bestätigen Sie mit „OK“.

- O :** Anschließend werden den Peaks im Eichchromatogramm die Namen des Tracers und der Zielkomponente zugeordnet (Save, Exit)



P : Die Substanzen der Kalibriermessung erscheinen nun mit den zugehörigen Retentionszeiten im „Edit Compound Fenster“. Bestätigen Sie mit „Exit“.



Q : Wählen Sie mit „Add New Level“ einen neuen Kalibrierlevel aus.
R : Tragen Sie als Level ID „1“ ein.
S : Tragen Sie als Konzentrationswert für die Zielkomponente (Cumarin) in der Eichlösung den Wert 0.5 mg/ml ein und bestätigen Sie anschließend mit „Do Update“.

II.2.3.3 Das Erstellen des quantitativen Reports (ISTD-Report)

Quantitation Report (Not Reviewed)						
Data Path : C:\MSDCHEM\1\DATA\PRAKTIKUM\						
Data File : G0177_04.D						
Acq On : 14 Oct 2005 12:39						
Operator : R. Vasold						
Sample : Pure						
Misc : [+ 0.5 mg/ml AN]						
ALS Vial : 4 Sample Multiplier: 1						
Quant Time: Oct 20 10:47:45 2005						
Quant Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\ALL\PRAKTIKUM\G0175_01.M						
Quant Title :						
QLast Update : Thu Oct 20 10:47:01 2005						
Response via : Initial Calibration						
Internal Standards	R.T.	QIon	Response	Conc	Units	Dev(Min)
1) Acetanilid	9.81	TIC	42833309	___	mg/ml	0.00
Target Compounds						Qvalue
2) Cumarin	10.31	TIC	6853012	___	mg/ml	100

- T : Nachdem Sie die Kalibriertabelle erstellt und abgespeichert haben (Punkt II.2.3.2), können nun nacheinander die Chromatogramme der Lösungen Joop, Chanel und Pure geladen werden und für jedes Chromatogramm der quantitative Report erstellt werden. Dazu wählen Sie im „Data-Analysis“ Menü den Punkt „Quantitate -> Calculate“ aus. Daraufhin erscheint der ISTD Report (siehe oben). In der Spalte „Conc“ werden die Konzentration des Tracers sowie die ermittelte Konzentration der gesuchten Zielkomponente (Cumarin) angezeigt. Zusätzlich sind die Werte der Peakflächen (Response), die Retentionszeiten (RT) und die Namen der Substanzen aufgeführt. Die Reports werden für jede untersuchte Lösung ausgedruckt und die erhaltenen Ergebnisse mit den berechneten Ergebnissen verglichen.

II.3 Aufgaben zum Experimentellen Teil

- 1.) Was versteht man unter der Durchbruchzeit t_m eines chromatographischen Systems und warum ist diese mit der im Praktikumsversuch eingestellten Messmethode nicht zu bestimmen?
- 2.) Welche Einflüsse tragen in der GC zu einer deutlichen Beeinflussung der Durchbruchzeit bei (nennen sie 2 Beispiele)?
- 3.) Für das verwendete chromatographische System sei eine Durchbruchzeit von 2.5 min gegeben. Ermitteln Sie aus dem Eich-Chromatogramm die Retentionszeiten $t_R(X)$ von Acetanilid und Cumarin.
- 4.) Berechnen sie die lineare Wanderungsgeschwindigkeit der mobilen Phase u_m in [cm/s] (Länge der Säule 30 Meter).
- 5.) Wie würde sich die Trennleistung der Säule verändern, wenn Sie die lineare Wanderungsgeschwindigkeit u_m drastisch erhöhen oder drastisch reduzieren würden. Begründen Sie Ihre Aussage.
- 6.) Im Chromatogramm des Parfums Joop eluiert Cumarin bei einer Retentionszeit $t_R = 10.31$ min. Bei $t_R = 10.35$ min eluiert die Komponente Ethylvanillin. Berechnen Sie für beide Komponenten den jeweiligen Kapazitätsfaktor k und bestimmen Sie den Trennfaktor α zwischen Cumarin und Ethylvanillin. Bewerten Sie das erhaltene Ergebnis.
- 7.) Berechnen Sie ausgehend von den erhaltenen chromatographischen Ergebnissen der Kalibriermessung den KF-Wert für Cumarin.
- 8.) Berechnen Sie mit Hilfe des ermittelten KF-Wertes die Konzentration an Cumarin [mg/ml] in den Parfums Joop und Chanel No⁵.
- 9.) Identifizieren Sie mit Hilfe des MS-Spektrums die Komponente bei $t_R = 10.31$ min im Chromatogramm des Parfums Pure (Jil Sander). Welche Schlüsse ziehen Sie daraus?
- 10.) Untersuchen Sie anhand der erhaltenen EI-Massenspektren alle erhaltenen Chromatogramme der Parfumlösungen auf den möglichen Inhaltsstoff Moschusketon (MW 294).

III Auswertung Theoretischer Teil

IV Auswertung Experimenteller Teil

Abgabe-Bogen / Name _____

Gruppe

Name	Vorname

Bemerkungen:

Testat erteilt am
durch
