

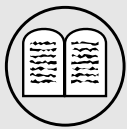
Chromatographie für alle



In diesem Kapitel

- ▶ Was versteht man unter Chromatographie?
- ▶ In welche Gebiete teilt sich die Chromatographie auf?
- ▶ Was sind mobile und stationäre Phasen?

Ein modernes Analyselabor kann heute nicht mehr ohne chromatographische Analysetechniken auskommen. Sowohl in der Selektivität als auch in der Nachweisempfindlichkeit ist die Chromatographie unschlagbar. In diesem Kapitel möchte ich Ihnen einfach (nicht vereinfacht) zeigen, wie chromatographische Analysen funktionieren. Wie teilt sich das große Gebiet der Chromatographie auf? Auf jeden Fall sollten Sie Ihren Freunden und Verwandten endlich erklären können, dass Chromatographie nichts mit den verchromten Stoßstangen am Auto zu tun hat...



Aller Anfang ist schwer

»Zuerst fließt farblose Flüssigkeit aus der Röhre, dann gelbgefärbte, während sich ein leuchtend grüner Ring in den oberen Teilen der Inulin-Säule bildet, der nach kurzer Zeit an seinem unteren Ende einen gelben Rand bekommt.

Nach weiterem Durchfluss von reinem Ligroin durch die Säule werden beide Ringe, der grüne und der gelbe, beträchtlich verbreitert und bis zu einem gewissen Grad nach unten mitgenommen. Wie farbige Strahlen aus dem Sonnenspektrum wurden aus der Pigmentmischung die verschiedenen Bestandteile gelöst und konnten qualitativ und quantitativ bestimmt werden.«

Dies schrieb der russische Botaniker Michail Semonowitsch Tswett 1903 in sein Experimentierbuch, nannte die Methode zur Auftrennung von Chlorophyll-Farbstoffen Chromatographie (= Farbschreibung) und legte damit den Grundstein für den Siegeszug der chromatographischen Analysetechniken.

Chromatographie, einfach genial

Bei einem chromatographischen Analyseverfahren werden Stoffgemische durch eine unterschiedliche Verteilung in zwei miteinander nicht mischbaren Phasen aufgetrennt und anschließend mit Detektoren ausgemessen. Ein kleines Experiment zeigt Ihnen, wie das funktioniert. Die Farben eines wasserlöslichen Farbstifts werden dabei auf einem Filterpapierstreifen aufgezeichnet. Der Filterstreifen wird anschließend mit dem unteren Ende in Wasser eingetaucht, das durch die Kapillarkwirkung im Filterpapier langsam nach oben zieht. Dabei werden die Farbpunkte mehr oder weniger mitgezogen und in ihre Farbbestandteile auf-

getrennt. Und schon können Sie auch Kindern zeigen, wie einfach Chromatographie funktioniert. So einfach... geht's aber nicht weiter!

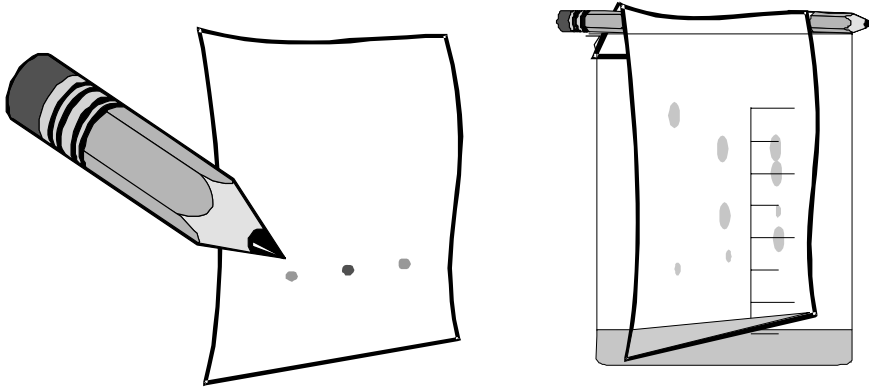


Abb. 1.1: Farbstifte im Vergleich.

Die moderne Chromatographie ist allerdings komplexer. Sie haben es dabei mit zwei Phasen zu tun, mit einer mobilen Phase, die sich bewegt – ein Gas oder eine Flüssigkeit – und einer stationären Phase, die sich nicht bewegt – eine Flüssigkeit oder ein Feststoff.

Je nach der Art der mobilen oder stationären Phase unterscheidet man die Chromatographie nach folgenden Gebieten:

- ✓ Papier- oder Dünnschichtchromatographie DC (TC, TLC)
- ✓ Gaschromatographie GC
- ✓ Säulenchromatographie LC
- ✓ Hochdruckflüssigkeitschromatographie HPLC

Die gesamte Einteilung der Chromatographie möchte ich Ihnen in Abbildung 1.2 aufzeigen. Die Kurzbezeichnungen werden im Anhang aufgelistet.

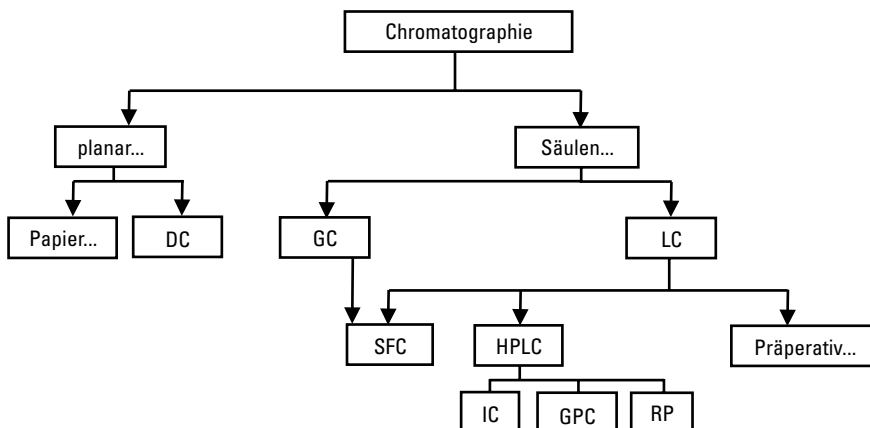


Abb. 1.2: Einteilung der Chromatographie

Papierchromatographie und Dünnschichtchromatographie

Die ursprünglichste, aber auch billigste Art, Chromatographie zu betreiben, ist die Dünnschichtchromatographie (DC, engl. TC von *thin layer chromatography*). Die stationäre Phase besteht dabei aus Zellulose für die Papierchromatographie oder einer mit Kieselgel beschichteten Glasplatte oder Folie für die DC. Die mobile Phase aus Wasser und organischen Lösungsmitteln wird durch die Kapillarwirkung an den punktförmig aufgetragenen Substanzen vorbeigezogen und es erfolgt eine Auftrennung. Die Auswertung erfolgt visuell oder durch Geräte wie das Densitometer.

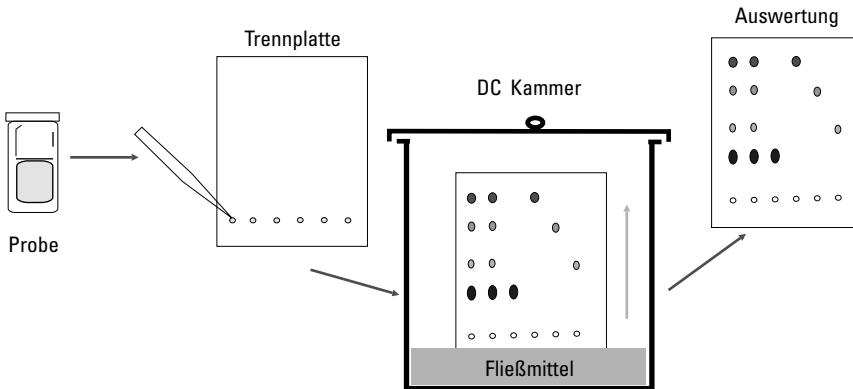


Abb. 1.3: Dünnschichtchromatographie

Gaschromatographie

Die stationäre Phase bei einer Gaschromatographie-(GC)-Analyse bestand früher aus einer Glassäule, die mit einem Adsorbens gefüllt war (z. B. Aktivkohle). Heute bestehen GC-Säulen aus einer bis zu 100 m langen dünnen Kapillare, die einen Flüssigkeitsfilm (z. B. Silikonöle) trägt. Als mobile Phase wird ein Gas (Wasserstoff, Stickstoff) durchgeleitet. Die Probe, ein Gas,

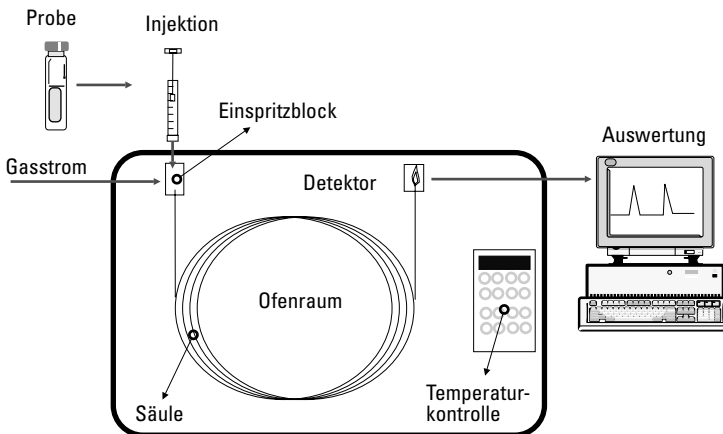


Abb. 1.4: Gaschromatographie

eine Flüssigkeit oder eine gelöste Festsubstanz, werden in einen Heizblock injiziert, verdampft und auf den Säulenanfang aufgebracht. Durch die Wechselwirkungen in der Säule und durch den ständigen Gasstrom erfolgt eine Auftrennung, die am Ende der Säule durch einen Detektor in elektronische Signale umgewandelt wird. Ein Temperaturprogramm unterstützt diese Auftrennung zusätzlich.

Säulenchromatographie

Bei der Säulenchromatographie (LC, engl. *liquid chromatography*) besteht die stationäre Phase aus einem porösen Material (z.B. Kieselgel), das in einem Lösungsmittel aufgeschlämmt und in eine Glas- oder Stahlsäule abgefüllt ist. Die Probe wird in konzentrierter Lösung am oberen Ende aufgetragen und mit einem Lösungsmittel als mobile Phase durch die Schwerkraft nach unten transportiert. Am unteren Ende der Säule können Sie die aufgetrennte Probe fraktioniert erwarten und weiterverwenden. Dieses Verfahren wird vor allem in der präparativen Chromatographie angewendet.

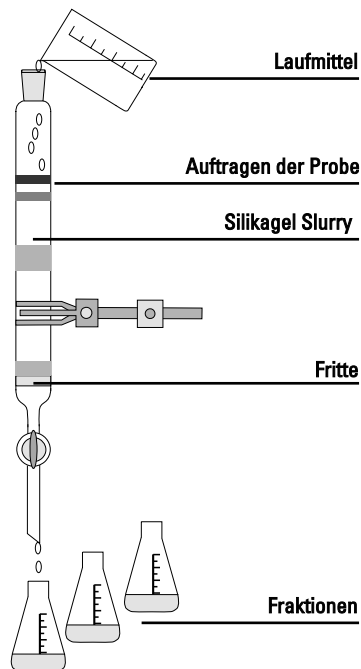


Abb. 1.5: Säulenchromatographie (LC)

Hochdruckflüssigchromatographie – HPLC

Da die Auftrennleistung durch kleinere Teilchen in der Säule größer wird, wurden die Teilchen der Säulenchromatographie zunehmend kleiner ($<10 \mu\text{m}$). Jetzt brauchen Sie allerdings einen höheren Druck, um die mobile Phase durch die Säule zu bewegen. Daraus entwickelten sich die modernen HPLC-Geräte. Die stationäre Phase befindet sich dabei in einer

Stahlsäule und die mobile Phase, das Laufmittel, wird durch Hochdruckpumpen mit bis zu 600 bar bewegt. Die Probe in gelöster oder flüssiger Form wird in Mikrolitermengen auf den Säulenanfang aufgetragen. Am Ende der Säule wird die aufgetrennte Probe durch einen Detektor in Kurven und Chromatogramme umgewandelt.

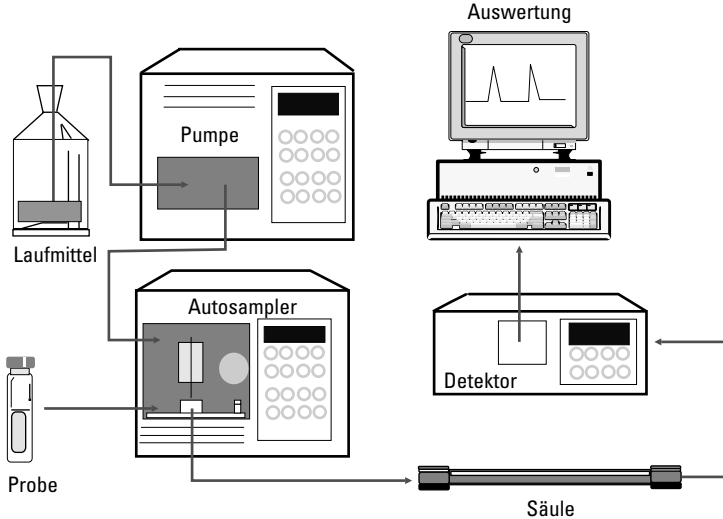


Abb 1.6: *High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)*



Chromatographie ist eine Analysetechnik, die durch die unterschiedliche Wechselwirkung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase funktioniert. DC, GC und HPLC sind fixe Bestandteile eines modernen Analyzelabors.

