

Grundlagen der
Dünnschicht- und
Säulenchromatographie

Susanne Brauer und Sandra König

Gliederung

1. Motivation
2. Geschichte der Chromatographie
3. Funktionsprinzipien
4. Dünnschichtchromatographie
5. Säulenchromatographie
6. Automatisierung

Warum überhaupt mit Chromatographie beschäftigen?

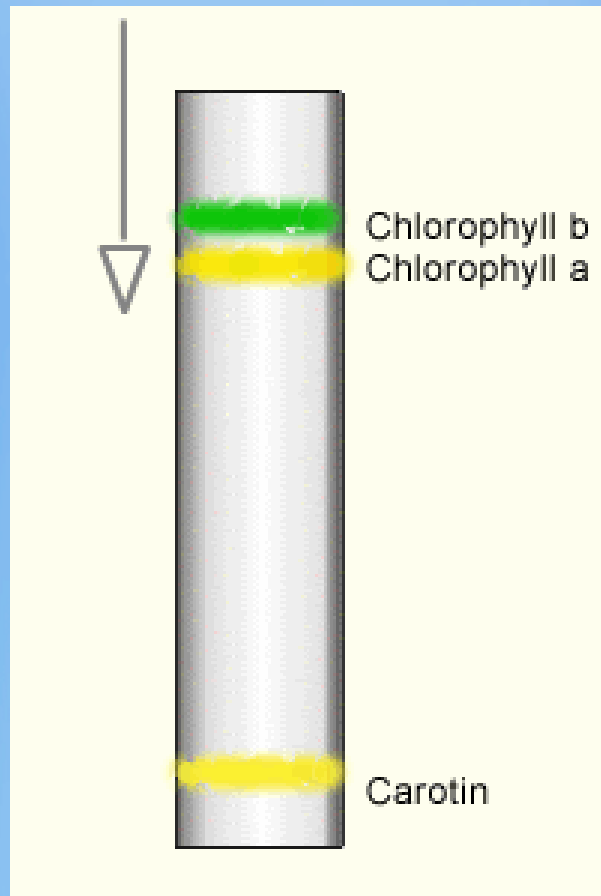
- Reaktionskontrolle
- Reinheitskontrolle
- Auftrennung/Reinigung eines Produktgemisches

Gliederung

1. Motivation
2. Geschichte der Chromatographie
3. Funktionsprinzipien
4. Dünnschichtchromatographie
5. Säulenchromatographie
6. Automatisierung

Geschichte der Chromatographie

- Chromatographie (griech.) \approx „Farbschreiben“



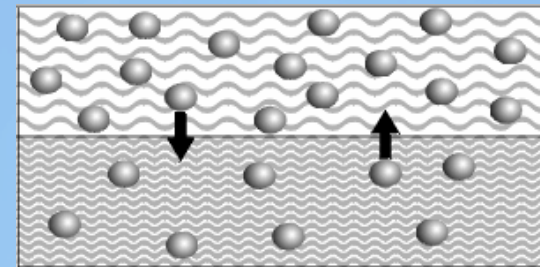
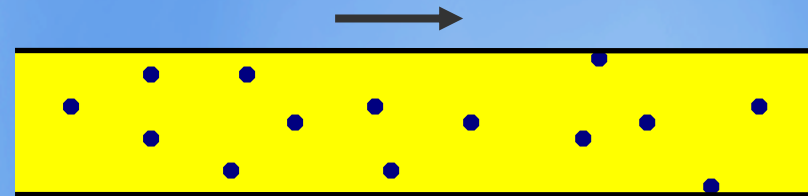
- 1903 erstmalige Veröffentlichung durch Tswett: Trennung von Pflanzenfarbstoff
- 1938 Kuhn: Nobelpreis
„Für seine Arbeiten über die Carotinoide, das Vitamin A und das Vitamin B2“
- 1940 Martin und Synge:
„Für ihre Arbeiten zur Verteilungschromatographie“

Gliederung

1. Motivation
2. Geschichte der Chromatographie
3. Funktionsprinzipien
4. Dünnschichtchromatographie
5. Säulenchromatographie
6. Automatisierung

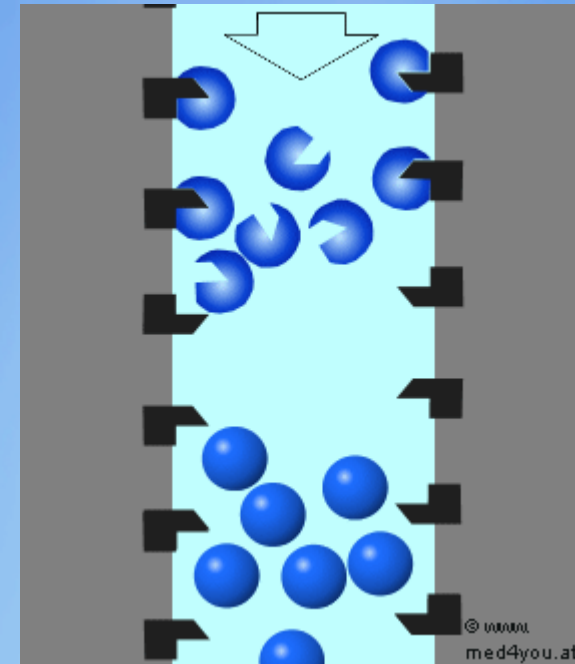
Allgemeines Prinzip der Chromatographie

- Trennstrecke
- stationäre Phase
- Durchströmung von mobiler Phase, die Stoffmoleküle transportiert
- Gleichgewicht der Substanzmoleküle zwischen der mobilen Phase und der stationären Phase
 - legen die Trennstrecke langsamer zurück als die mobile Phase: Retention



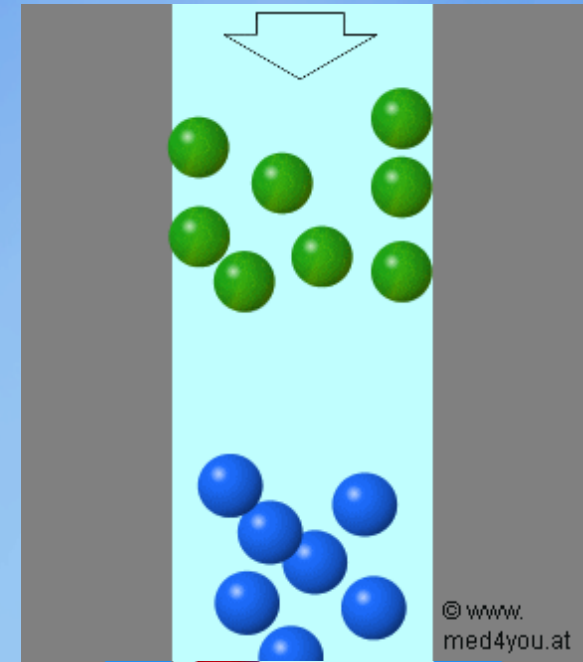
Einteilung der Prinzipien

- Affinitätschromatographie
 - Trennung nach Wechselwirkung (Schlüssel-Schloss-Prinzip)
- Ausschlusschromatographie
 - Trennung nach Größe
- Ionenchromatographie
 - Trennung nach Ionenladungen

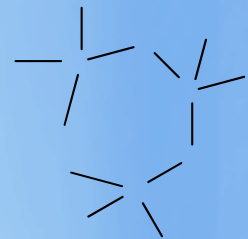
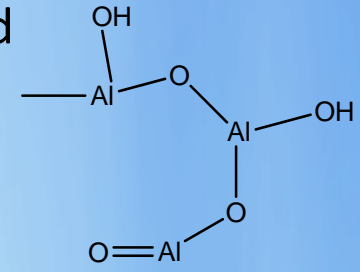
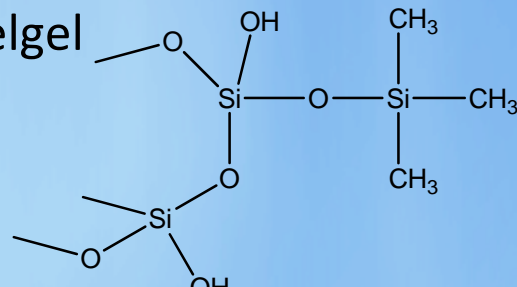


Einteilung der Prinzipien

- Verteilungschromatographie
 - Trennung durch Verteilung zwischen zwei nicht-mischbaren Phasen
- Adsorptionschromatographie
 - Trennung aufgrund Adsorption an einer Feststoffoberfläche

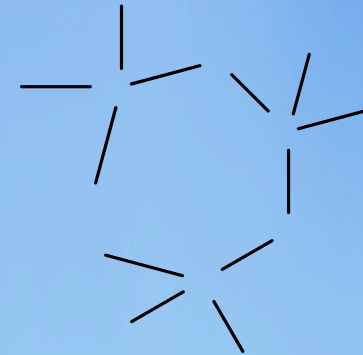


Stationäre Phasen

Sorbens		typische Anwendungen
Kieselgel		Alkohole, Kohlenwasserstoffe, Aminosäuren, Lipide, Steroide, Aflatoxine, Vitamine, Alkaloide
Aluminiumoxid		Amine, Alkohole, Steroide, Lipide, Aflatoxine, Vitamine, Alkaloide
RP-Kieselgel		Fettsäuren, Vitamine, Steroide, Hormone, Carotinoide

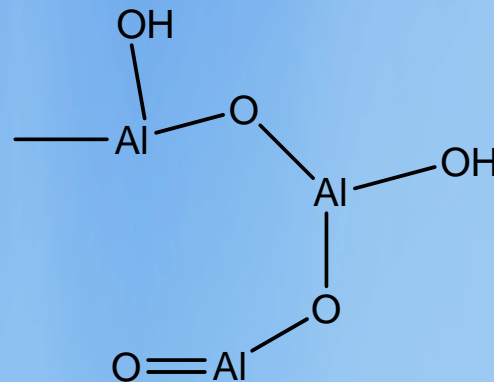
Kieselgel

- für 90 % aller DC-Trennungen verwendet
- poröses, amorphes Siliziumdioxid
- große innere Oberfläche
- bindet mäßig polare und ungesättigte Substanzen
- bildet bevorzugt H-Brücken
- Wasser kann zur Deaktivierung der Oberflächenstruktur führen



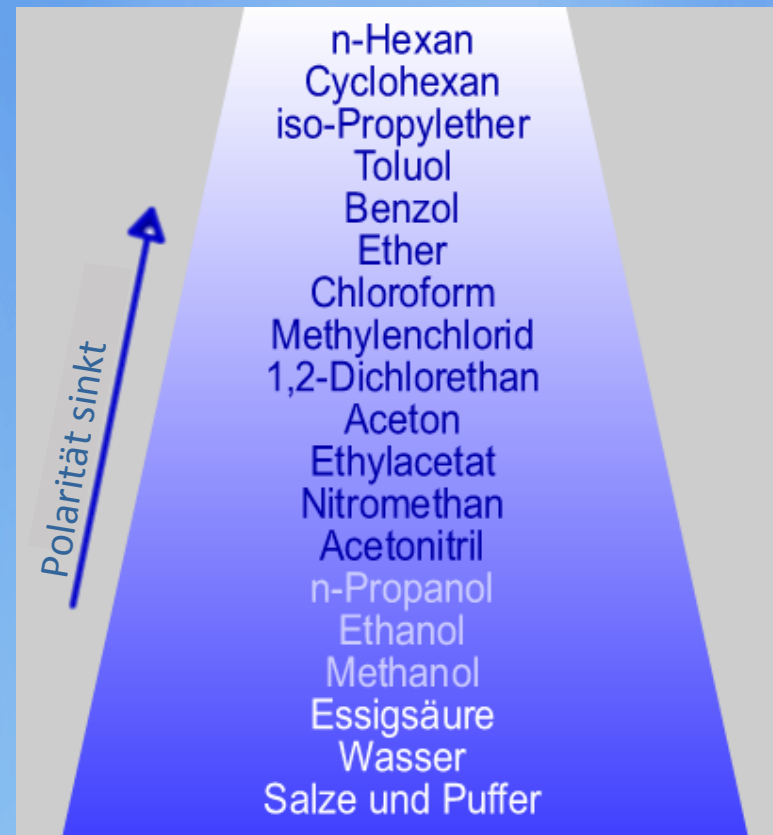
Aluminiumoxid (ALOX)

- kann sauer, basisch oder neutral vorliegen (abhängig vom Wassergehalt)
- zuweilen problematisch, da katalytisch aktiv (z.B. Ethanol)

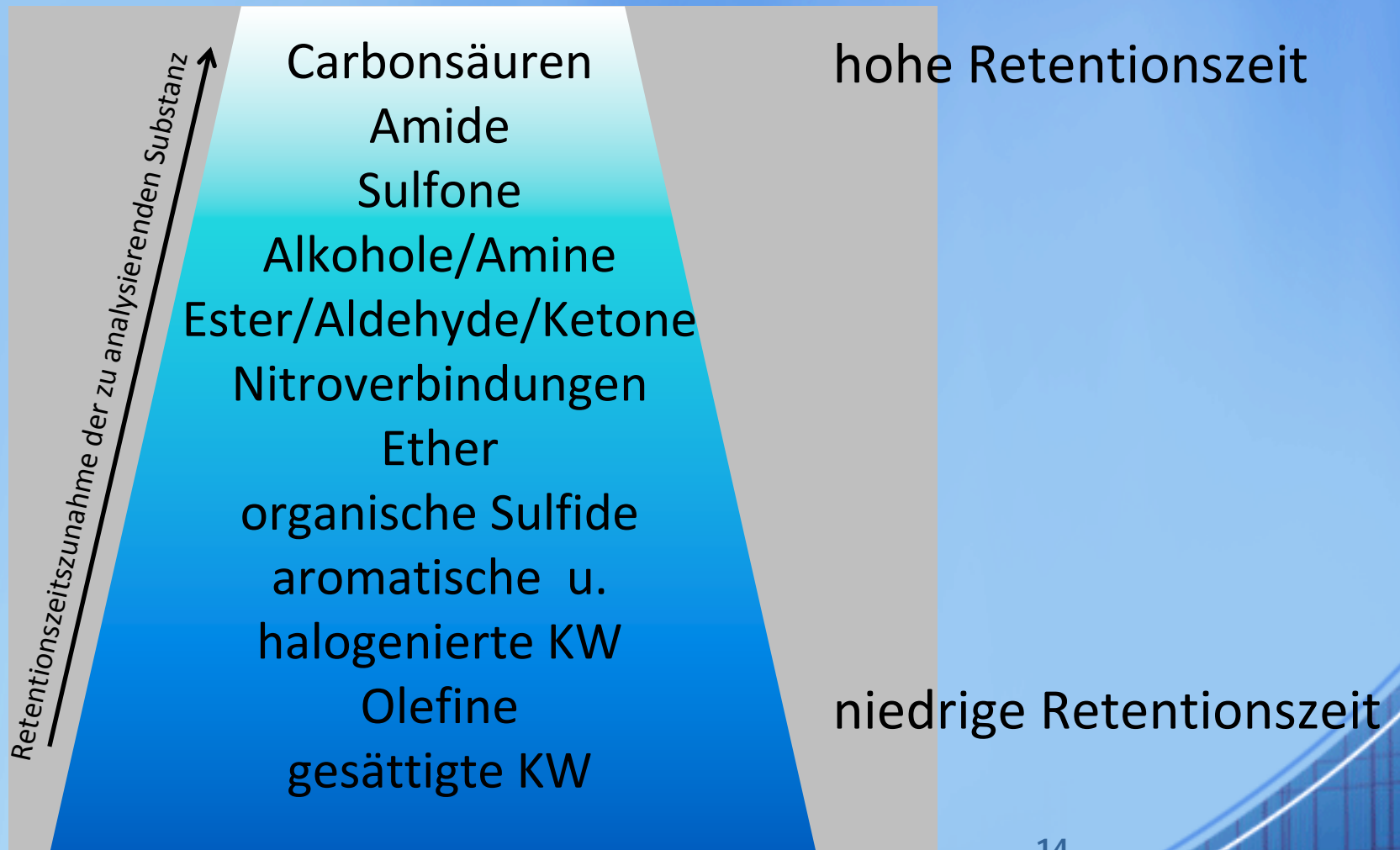


Mobile Phasen

- Elutrope Reihe: Fähigkeit, einen absorbierten Stoff wieder von stationärer Phase zu lösen
- üblich: n-Hexan/Essigester bzw. Petrolether/Essigester → über Verhältnis wird die Polarität angepasst



Retentionszeitsabhängigkeit von der Substanzklasse



Gliederung

1. Motivation
2. Geschichte der Chromatographie
3. Funktionsprinzipien
4. **Dünnschichtchromatographie**
5. Säulenchromatographie
6. Automatisierung

Durchführung einer Dünnschichtchromatographie

- Kammer mit geeignetem Laufmittel (etwa fünf Millimeter hoch) befüllen
- Kammer eventuell mit Filterpapier auskleiden, Deckel schließen, damit sich Atmosphäre bildet



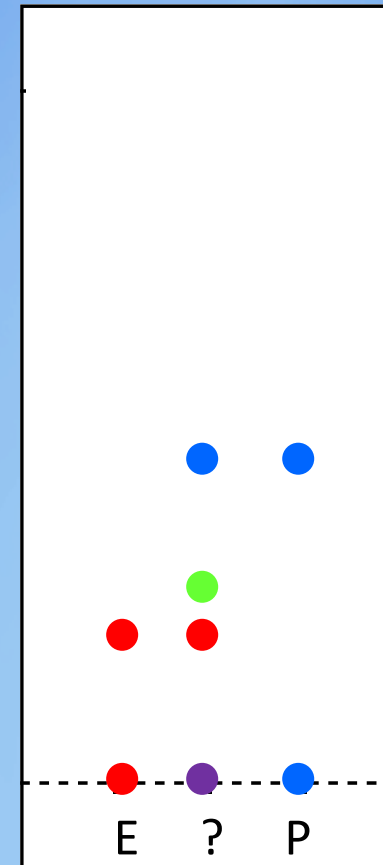
Durchführung einer DC

- Lösung der zu analysierenden Substanz herstellen
- Probe ● mittels einer Kapillare auf DC-Platte aufbringen
 - etwa fünf mal tüpfeln
 - zwischendurch immer trocknen lassen
 - möglichst kleine Punkte
- Vergleichsproben aufbringen
[● Edukt ● Produkt]

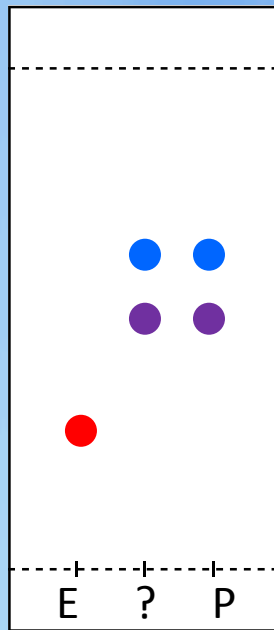
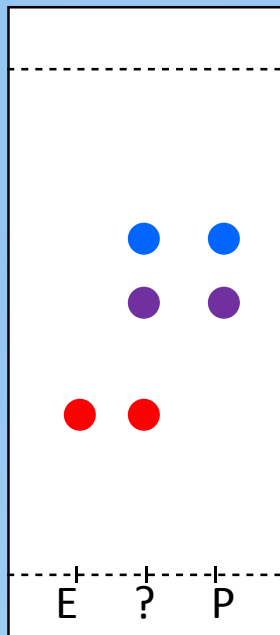
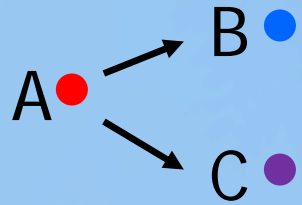


Durchführung einer DC

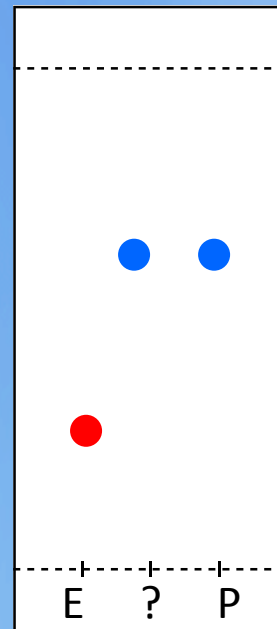
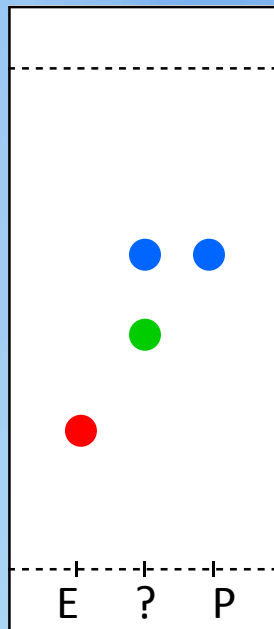
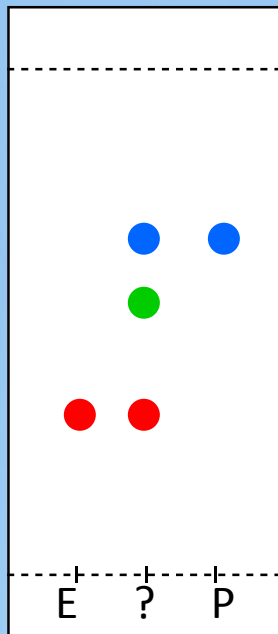
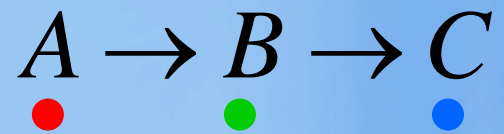
- DC-Platte möglichst senkrecht in die Kammer stellen
- Deckel schließen und warten
- DC beenden bevor die Laufmittelfront ganz oben ist
→ Platte entnehmen, Laufmittelfront sofort kennzeichnen
- trocknen lassen



Reaktionskontrolle

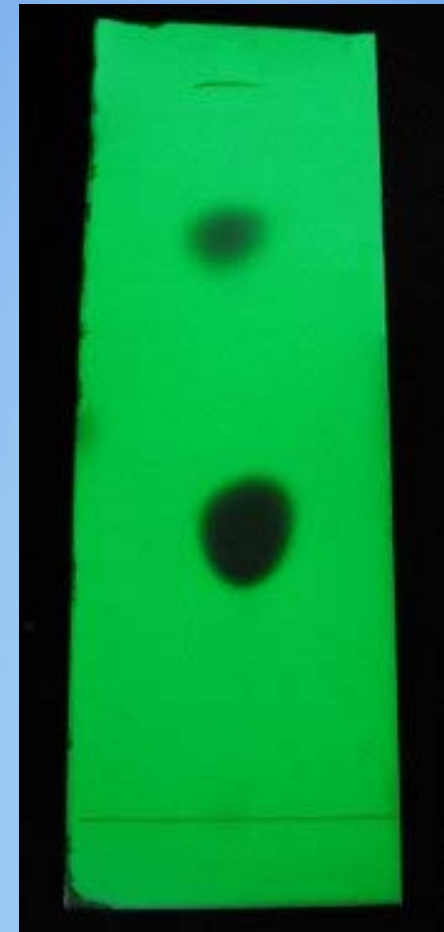


Reaktionskontrolle

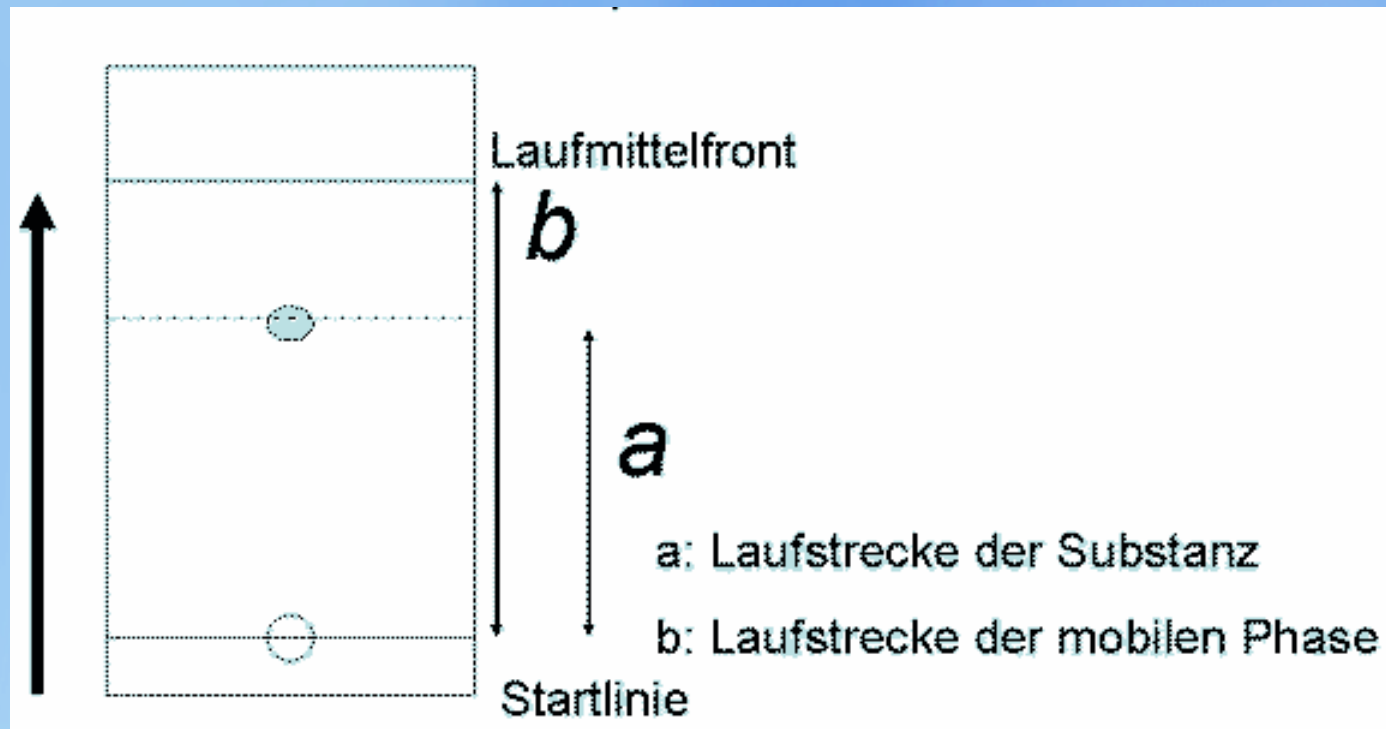


Auswertung der Dünnschichtchromatographie

- UV-Lampe
- anfärben
 - Kaliumpermanganat
(ungesättigte und reduzierende Verbindungen)
 - Molybdätosphorsäure
(ungesättigte und reduzierende Verbindungen)
 - Anisaldehyd/Schwefelsäure
(relativ unspezifisch)
 - Vanillin/Schwefelsäure
(Alkohole, Phenole, Steroide)



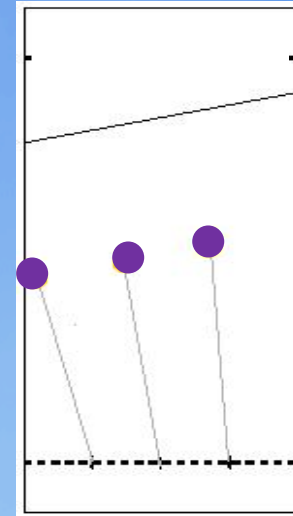
Bestimmung des R_f -Wertes



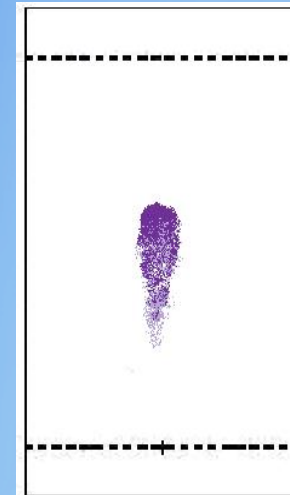
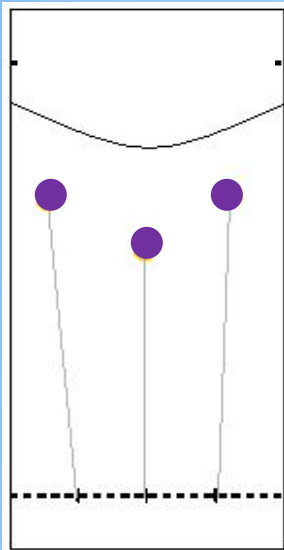
$$R_f = \frac{d(\text{Startpunkt} - \text{Fleckenmitte})}{d(\text{Startpunkt} - \text{Laufmittelfront})}$$

Fehlerquellen

- DC-Platte nicht gerade in die Kammer gestellt



- zu viel Substanz aufgetragen

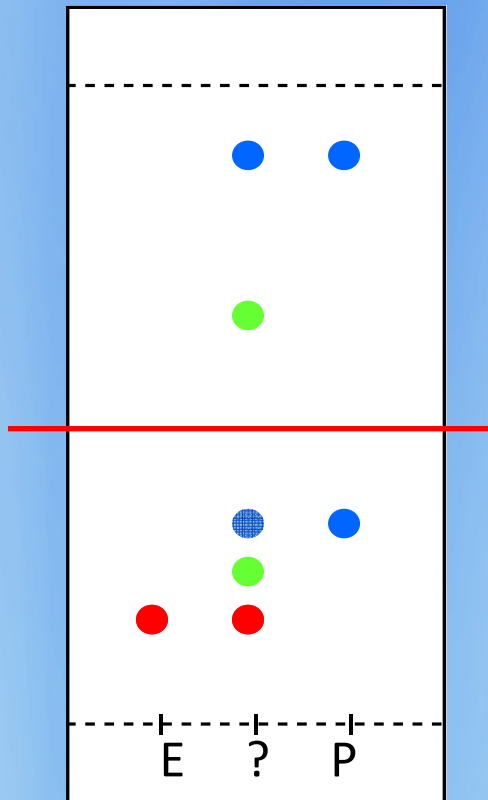


- Kammer nicht ausreichend mit dem Dampf der mobilen Phase ausgefüllt

Fehler bei der Laufmittelwahl



LM zu polar



gut

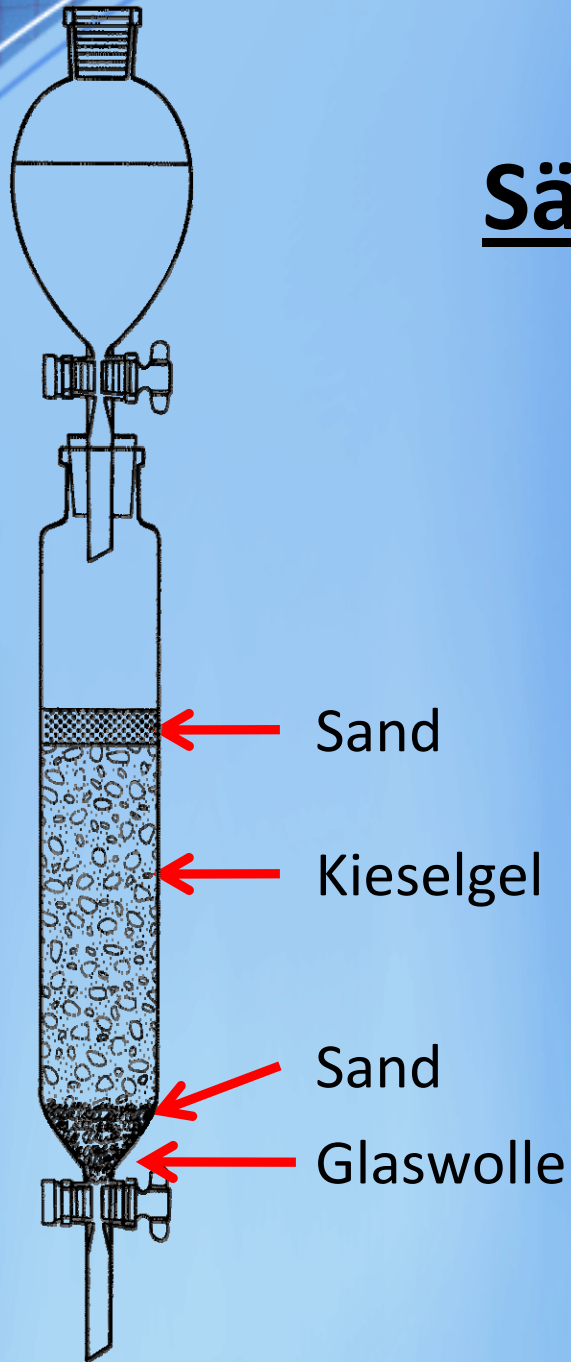


LM zu unpolar

Gliederung

1. Motivation
2. Geschichte der Chromatographie
3. Funktionsprinzipien
4. Dünnschichtchromatographie
5. Säulenchromatographie
6. Automatisierung

Säulenchromatographie



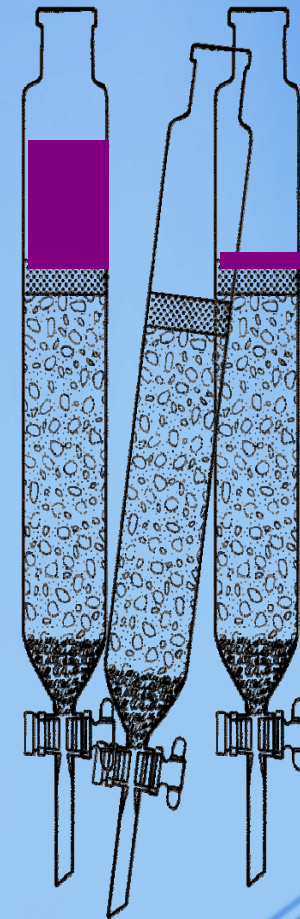
1. Glaswolle
2. Sand (ca. 1 cm)
3. Laufmittel hinzugeben
4. Kieselgel in Laufmittel aufschlämmen
5. mehrmals pumpen, Laufmittel ablaufen lassen bis kein Überstand mehr
6. Sand

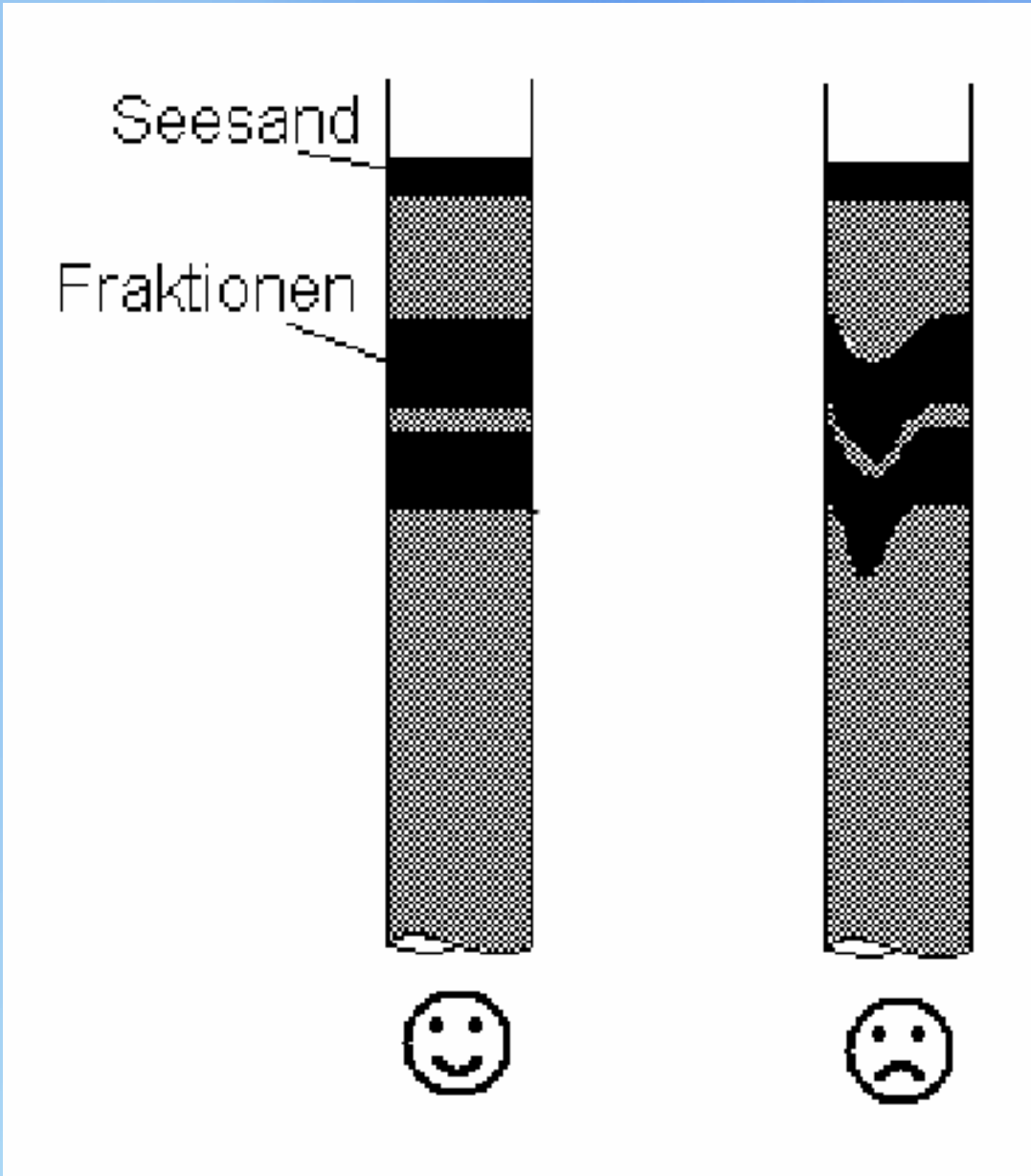
Durchführung

- Stoffgemisch vorsichtig auf die Säule geben, in den Sand pressen
- mit so wenig Lösungsmittel wie möglich nachspülen, in den Sand pressen
- Laufmittel auffüllen
→ das Säulen kann beginnen
- **Säule niemals trocken laufen lassen!**
- Fraktionen in geeigneten Gefäßen auffangen

Fehlerquellen beim Packen der Säule

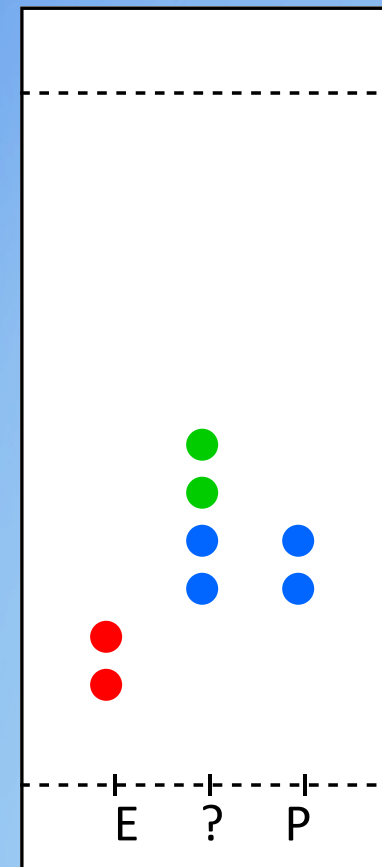
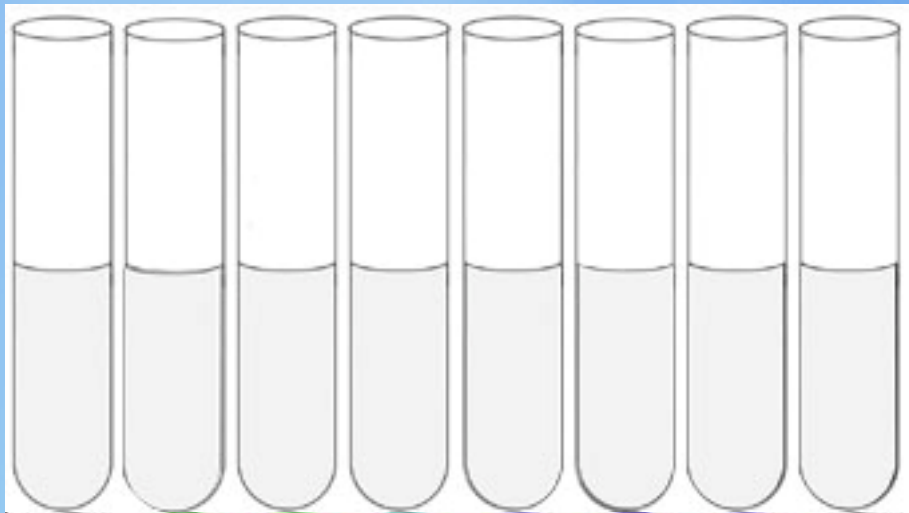
- Säule hängt schief
- Säulendurchmesser nicht auf Substanzmenge abgestimmt
- Säulenlänge nicht sinnvoll gewählt
- abschließende Flächen zwischen Sand und stationärer Phase nicht gerade
- Luftbläschen in der stationären Phase





Nach dem Säulen

- Identifikation der Fraktionen mittels DC

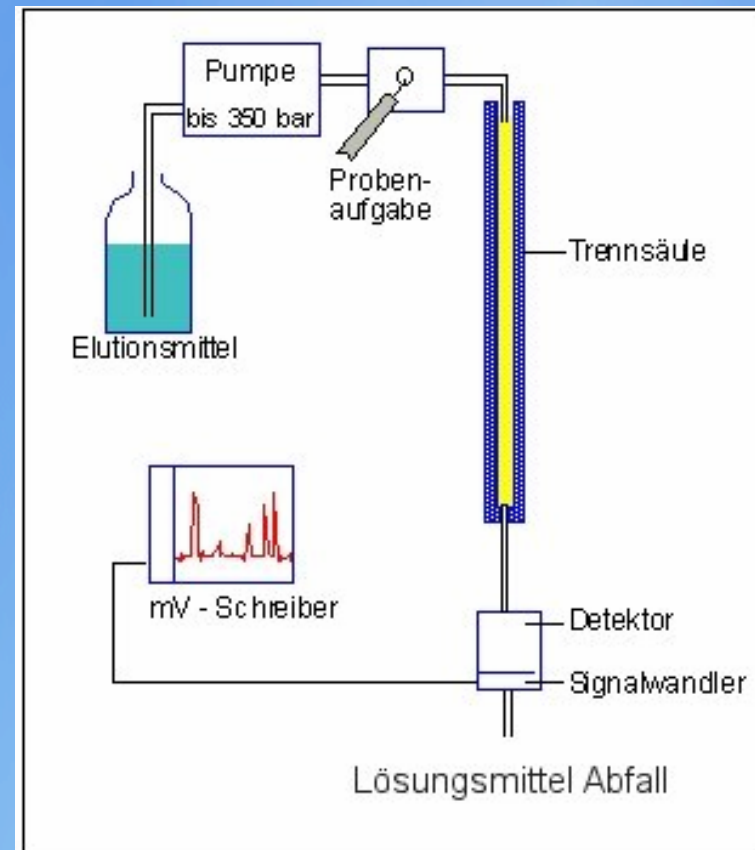


Gliederung

1. Motivation
2. Geschichte der Chromatographie
3. Funktionsprinzipien
4. Dünnschichtchromatographie
5. Säulenchromatographie
6. Automatisierung

HPLC: High Pressure Liquid Chromatography

- „automatisierte Säule“
- analytisch und präparativ anwendbar
- weitere Analyseverfahren können nachgeschaltet werden (UV/Vis)



ENDE

**Wir danken für eure
Aufmerksamkeit!**

Quellenangaben

- Georg Schwedt: Analytische Chemie, Wiley-VCH, 2. Auflage 2008
- Karl Cammann: Instrumentelle Analytische Chemie, Spektrum Verlag, 2. Auflage 2001
- Autorenkollektiv: Organikum, Wiley-VCH, 23. Auflage 2009
- Matthias Otto: Analytische Chemie, Wiley-VCH, 3. Auflage 2006
- Elke Hahn-Deinstrop: Dünnschichtchromatographie, Wiley-VCH, 1997
- http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma/chromatographie_grundlagen.vlu.html
- <http://userpage.chemie.fu-berlin.de/~tlehmann/gp/laborpraxis/index.html>
- <http://userpage.chemie.fu-berlin.de/~tlehmann/gp/versuche/saeule.pdf>
- http://www.ichemlab.at/info/ChemischeGrundlagen_Chromatographie.pdf
- <http://chromatographie.ntk-landau.de/Sitemap.htm>