

DIN 51425

DIN

ICS 75.160.20

**Prüfung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen und verwandten Stoffen –
Hochdruckflüssigchromatographische Analyse –
Allgemeine Arbeitsgrundlagen**

Testing of mineral oil hydrocarbons and similar materials –
Analysis by high pressure liquid chromatography –
General working principles

Essais des hydrocarbures d'huiles minérales et d'autres matériaux –
Analyse par chromatographie en phase liquides à haute pression –
Bases générales de travail

Gesamtumfang 17 Seiten

Normenausschuss Materialprüfung (NMP) im DIN
Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des NMP

Vorwort

Die vorliegende Norm wurde vom Arbeitsausschuss NMP 642 „Prüfung von flüssigen Kraftstoffen und Heizölen“ im Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des Normenausschusses Materialprüfung (NMP) ausgearbeitet.

Anhang A ist normativ.

1 Anwendungsbereich

Das Verfahren nach dieser Norm gilt für Mineralöl-Kohlenwasserstoffe und verwandte organische Stoffe. Es eignet sich zur Untersuchung der im Eluenten löslichen Anteile einer Probe.

Die hochdruckflüssigchromatographische Analyse kann Angaben über die Art und den Gehalt der in der untersuchten Probe enthaltenen Komponenten liefern und eignet sich zur Abtrennung von Substanzgruppen für weitere analytische Untersuchungen. Die Ergebnisse der hochdruckflüssigchromatographischen Analyse dienen zur Bestimmung der Zusammensetzung der untersuchten Probe.

Diese Norm legt Begriffe und Erklärungen fest, die insbesondere im Zusammenhang mit der Auswertung benötigt werden.

Spezielle Formen der Hochdruckflüssigchromatographie, wie Ionenchromatographie und SFC (Supercritical Fluid Chromatography), sind nicht Gegenstand dieser Norm.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

DIN 1310, *Zusammensetzung von Mischphasen (Gasgemische, Lösungen, Mischkristalle) — Begriffe, Formelzeichen.*

DIN 32645, *Chemische Analytik — Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze — Ermittlung unter Wiederholbedingungen; Begriffe, Verfahren, Auswertung.*

DIN EN ISO 4259, *Mineralölerzeugnisse — Bestimmung und Anwendung der Werte für die Präzision von Prüfverfahren (ISO 4259:1992 + Cor 1:1993); Deutsche Fassung EN ISO 4259:1995.*

ASTM E 355-96, *Standard Practice for Gas Chromatography — Terms and Relationships (Gaschromatographie — Begriffe, Kenngrößen, Symbole, Einheiten).*¹⁾

*Unfallverhütungsvorschriften der Berufsgenossenschaft der Chemischen Industrie.*¹⁾

1) Zu beziehen durch: Beuth Verlag GmbH, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

- [1] Rohrschneider, L.: *Grundlagen chromatographischer Trennverfahren*, Ullmann Bd. 5, S. 105, Verlag Chemie 1980.
- [2] Deutsche chromatographische Grundbegriffe zur IUPAC-Nomenklatur, *Herausgegeben vom Arbeitskreis Chromatographie der Fachgruppe Analytische Chemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker. Bearbeitet von H. Engelhardt (Univ. Saarbrücken) und L. Rohrschneider (Münster).*

3 Grundlagen

3.1 Hochdruckflüssigchromatographie

3.1.1 Allgemeines

Der Begriff Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC, High Pressure Liquid Chromatography) umfasst chromatographische Verfahren, bei denen die mobile Phase (Eluent) flüssig ist. Die stationäre Phase befindet sich in einer Trennsäule (siehe 3.1.3).

ANMERKUNG Bei der heutigen Hochdruckflüssigchromatographie werden sehr kleine Teilchen und ein relativ hoher Eingangsdruck verwendet. Wegen der erreichbaren hohen Trennleistungen wird das Akronym „HPLC“ auch als „High Performance Liquid Chromatography“ bezeichnet.

Bei der stationären Phase kann es sich um eine feste Phase oder um ein Gel handeln. Die feste Phase besteht aus einem vorwiegend sphärischen Material definierter Körnung von üblicherweise 3 µm bis 10 µm Durchmesser. Es wird hierbei zwischen modifizierten und nicht modifizierten Trennphasen unterschieden. Die nicht modifizierten Trennphasen bestehen üblicherweise aus Kieselgel- oder Aluminiumoxidmaterial (Sorbens). Bei der modifizierten Phase ist die trennwirksame Schicht chemisch an ein Trägermaterial gebunden, wie z. B. ein mit Alkylgruppen modifiziertes Kieselgel.

Die mobile Phase durchströmt das Bett der stationären Phase in einer definierten Richtung. Die zu analysierende Probe muss vollständig im Eluenten löslich sein. Eine optimale Elutionswirkung und gute Selektivitätseigenschaften stellen die wichtigsten Auswahlkriterien für den Eluenten dar.

Für den Anwendungsbereich ist nur das Elutionsverfahren von Bedeutung, bei dem die Probenkomponenten nach Aufbringen der Probe auf den Anfang der Säule mit der mobilen Phase durch das Trennsystem transportiert werden.

Die Erfassung der Probenkomponenten erfolgt nach Austritt aus der Trennsäule durch einen dort angeordneten Detektor.

3.1.2 Adsorptionschromatographie

Bei der Adsorptionschromatographie beruht die Trennung auf Unterschieden in der Verteilung der Analyten zwischen mobiler Phase und Sorbens.

3.1.3 Verteilungschromatographie

Bei der Verteilungschromatographie beruht die Trennung auf Unterschieden in den Löslichkeiten in der mobilen und stationären Phase (modifizierte Trennphase).

3.1.4 Ausschlusschromatographie

Die Ausschlusschromatographie (SEC, Size Exclusion Chromatography) verwendet als Trennmechanismus den teilweisen Ausschluss der Analyten vom Inneren des porösen Trägermaterials aufgrund von Unterschieden in Größe und/oder Form oder Ladung.

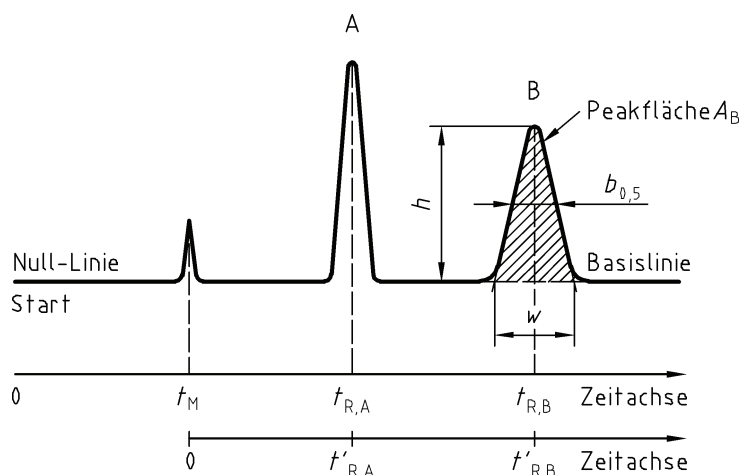
ANMERKUNG Als ältere Synonyme gelten Gelfiltration oder Gel Permeations Chromatographie (GPC) bei der Verwendung gequollener Gele.

3.1.5 Normalphasenchromatographie

Bei Normalphasenchromatographie (NPC) ist die stationäre Phase (z. B. Kieselgel oder Aluminiumoxid) polarer als der Eluent.

3.1.6 Umkehrphasenchromatographie

Bei der Umkehrphasenchromatographie (RPC, Reversed Phase Chromatography) ist dagegen die mobile Phase wesentlich polarer als die stationäre (z. B. mit Alkylgruppen modifiziertes Kieselgel).



Legende

A	Peakfläche
A_B	Peakfläche der Komponente B
$b_{0,5}$	Peakbreite in halber Höhe
h	Peakhöhe
t_M	Durchflusszeit
$t_{R,A}$	Retentionszeit der Komponente A
$t_{R,B}$	Retentionszeit der Komponente B
$t'_{R,A}$	um die Durchflusszeit reduzierte Retentionszeit der Komponente A
$t'_{R,B}$	um die Durchflusszeit reduzierte Retentionszeit der Komponente B
w	Peakweite

Bild 1 — Hochdruckflüssigchromatogramm

3.2 Hochdruckflüssigchromatogramm

3.2.1 Allgemeines

Ein Hochdruckflüssigchromatogramm ist die Aufzeichnung des Detektorsignals gegen die Zeit. Zur Kennzeichnung eines Hochdruckflüssigchromatogramms (siehe Bild 1) werden die in 3.2.2 bis 3.2.7 genannten Begriffe verwendet.

3.2.2 Null-Linie

Die Null-Linie ist die während des Strömens von reinem Eluent vom Schreiber bzw. Rechner registrierte Linie.

3.2.3 Basis-Linie

Die Basis-Linie ist die gedachte Linie unter einem Peak oder einer durch Überlagerung gebildeten Peakgruppe, die durch Verbindung des vorangehenden mit dem nachfolgenden Minimum des Kurvenzuges erhalten wird.

ANMERKUNG Die Basis-Linie ist im Allgemeinen als gerade Linie anzunehmen. Basis-Linie und Null-Linie müssen nicht zusammenfallen.

3.2.4 Peak

Der Peak ist der vom Schreiber oder Rechner aufgezeichnete Kurvenzug, der von der Basis-Linie abweicht, wenn eine Komponente mit dem Eluent den Detektor durchströmt.

Bei Anwesenheit mehrerer Komponenten in der Probe können Überlagerungen von Peaks auftreten.

3.2.5 Peakhöhe

Die Peakhöhe h ist das Lot vom Scheitelpunkt des Peaks (Peakmaximum) bis zur Basis-Linie.

3.2.6 Halbwertsbreite

Die Halbwertsbreite $b_{0,5}$ ist die in halber Peakhöhe gemessene Breite des Peaks.

3.2.7 Peakfläche

Die Peakfläche A , z. B. A_B in Bild 1, ist die von dem Kurvenzug des Peaks und der Basis-Linie eingeschlossene Fläche.

Bei Überlagerung einzelner Peaks müssen besondere Verfahren zur Ermittlung der Peakflächen in den einzelnen Prüfverfahren festgelegt werden. Ein häufig angewandtes Verfahren ist die Begrenzung der Peakflächen bei überlagernden Peaks durch Fällung der Minimum-Lote.

Die Einheit des Messwertes der Peakfläche ist entsprechend dem angewandten Detektor-Typ $A \cdot s$ (Ampere · Sekunde) oder $V \cdot s$ (Volt · Sekunde).

3.3 Retentionsangaben

3.3.1 Retentionszeiten

Die Retentionszeit t_R der zu bestimmenden Komponente ist die Zeitspanne vom Einbringen der Probe in den Hochdruckflüssigchromatographen bis zur Anzeige des Peakmaximums der Komponente. Die Retentionszeit t_R lässt sich aufteilen in

- die Durchflusszeit t_M (siehe 3.3.3), die zur Elution einer nicht retardierten Komponente, die mit der stationären Phase keine Wechselwirkung eingeht, notwendig ist, und
- die um die Durchflusszeit reduzierte Retentionszeit t'_R (siehe 3.3.2), die ein Maß für die Wechselwirkung der Probenkomponenten mit der stationären Phase ist.

3.3.2 Retentionsverhältnis

Das Retentionsverhältnis r_i ist unter isothermen und isokratischen Bedingungen für eine bestimmte stationäre Phase weitgehend unabhängig von apparativen Parametern und eignet sich damit zur Charakterisierung der Trenneigenschaften dieser Phase. r_i und I_i sind jeweils auf eine stationäre Phase, eine definierte Eluentzusammensetzung und eine bestimmte Temperatur bezogen.

Das Retentionsverhältnis r_i wird aus den reduzierten Retentionszeiten $t'_{R,i}$ der Substanz i und $t'_{R,St}$ des Standards St gebildet.

$$r_i = \frac{t'_{R,i}}{t'_{R,St}} \quad (1)$$

ANMERKUNG Der Standard sollte aus praktischen Gründen leicht erhältlich sein und in der Nähe der zu bestimmenden Substanz eluieren.

3.3.3 Retentionsvolumen

Das Volumen der mobilen Phase, das in der Zeitspanne t_R zwischen dem Einbringen der Probe und der Anzeige des Peakmaximums eluiert, wird das Retentionsvolumen V_R , das Volumen an der Durchflusszeit t_M als das Durchflussvolumen V_M bezeichnet oder benannt.

ANMERKUNG Das Durchflussvolumen V_M kann verwendet werden, um die Strömungsgeschwindigkeit des Eluenten in der Säule zu berechnen [2].

3.3.4 Lineargeschwindigkeit u

Die Lineargeschwindigkeit u des Eluents kann aus der Länge der Säule L und der Durchflusszeit t_M berechnet werden:

$$u = \frac{L}{t_M} \quad (2)$$

3.4 Auflösung

Die Auflösung R zweier benachbarter Peaks wird durch folgende Gleichung definiert:

$$R = 1,18 \cdot \frac{t_{R,B} - t_{R,A}}{(b_{0,5})_A + (b_{0,5})_B} \quad (3)$$

ANMERKUNG 1 In der oben genannten Gleichung wird R als das Verhältnis von Peakabstand $t_{R,B/A}$ zur mittleren Peakweite $(W_A + W_B)/2$ definiert. Für einen Peak mit Gauß-Verteilung gilt: $W=1,699 b_{0,5}$ [1].

ANMERKUNG 2 Die Auflösung R zweier benachbarter Peaks wird auch durch Länge und Innendurchmesser der Verbindungskapillaren hinter dem Injektor beeinflusst. Kurze Kapillaren mit geringem Innendurchmesser (z. B. 0,12 mm) werden empfohlen.

3.5 Bodenzahl

Bodenzahlen beschreiben das Trennvermögen der Trennsäule. Theoretische und effektive Bodenzahlen werden durch folgende Gleichungen definiert:

3.5.1 Theoretische Bodenzahl N

$$N = 5,545 \left(\frac{t_R}{b_{0,5}} \right)^2 \quad (4)$$