

## Analytische scheidingsmethoden : het spoor naar Eindhoven

**Citation for published version (APA):**

Cramers, C. A. M. G. (2000). *Analytische scheidingsmethoden : het spoor naar Eindhoven*. Technische Universiteit Eindhoven.

**Document status and date:**

Gepubliceerd: 01/01/2000

**Document Version:**

Uitgevers PDF, ook bekend als Version of Record

**Please check the document version of this publication:**

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

**General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.tue.nl/taverne](http://www.tue.nl/taverne)

**Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[openaccess@tue.nl](mailto:openaccess@tue.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# Analytische Scheidingsmethoden

Het spoor naar Eindhoven

Afscheidscollege

prof.dr.ir. C.A.M.G. Cramers

---

## **Afscheidscollege**

Uitgesproken op 15 december 2000  
aan de Technische Universiteit Eindhoven

prof.dr.ir. C.A.M.G. Cramers

---

## **Mijnheer de Rector Magnificus, Dames en Heren,**

Als een hoogleraar die met emeritaat gaat, in een opwelling heeft besloten een afscheidscollege te geven, volgt spoedig daarna onverbiddeijk de vraag waarover het moet gaan.

Kijkend naar afscheidscolleges van collega's zie ik diverse mogelijkheden:

Ik kan proberen in brede lijnen de stand van zaken in mijn vakgebied Analytische Scheidingsmethoden te schilderen en toekomstmogelijkheden aan te geven. Dit lijkt mij meer een onderwerp voor een intreedrede. Geachte toehoorders, ik denk ook niet dat U daarvoor gekomen bent.

Voor insiders is overigens vanmiddag vorafgaand aan dit afscheidscollege een minisymposium met een dergelijk programma georganiseerd.

Een tweede optie is een systematisch overzicht te geven van het werk van de meer dan zestig gepromoveerden in de Instrumentele Analyse. Ook daarvoor heb ik niet gekozen.

Soms denkt de orator zijn oordeel te moeten geven over ontwikkelingen in het

wetenschappelijk onderwijs en onderzoek. Hij put dan uit zijn ervaring om diegenen, die nog moeten werken, wijze raad te geven, hoe het in de toekomst moet. Er zijn mij geen gevallen bekend, waarbij deze raadgevingen werden opgevolgd.

Ik heb gekozen voor de benadering om U, geachte toehoorders, een indruk te geven van hetgeen waar ik me de laatste 42 jaar mee bezig heb gehouden: in hoofdzaak het analytisch chemische deelgebied: Chromatografie, een lid van de familie van Analytische Scheidingsmethoden.

Met mijn emeritaat kwam er tevens een einde aan de 42-jarige capaciteitsgroep Instrumentele Analyse. Daarom wil ik in deze afscheidsrede allereerst de in mijn herinnering belangrijkste invloeden van de Eindhovense groep in het vakgebied Analytische Scheidingsmethoden, het hoofdonderwerp binnen ons laboratorium, aangeven. Wat Analytische Scheidingsmethoden, zoals Chromatografie en Electroforese inhouden, zal U in de loop van dit betoog hopelijk duidelijk worden.

Tijdens mijn opleiding tot scheikundig ingenieur, als werkstudent bij de sectie

Instrumentele Analyse, had ik het voorrecht in contact te staan met vier vooraanstaande onderzoekers, die voor kortere of langere tijd aan ons laboratorium waren verbonden. Zij hadden een enorme invloed op mijn loopbaan en de reputatie van onze groep.

## Het netwerk van het begin

In het kort zal ik deze markante wetenschappers en hun belang voor de scheidingsmethoden en onze groep belichten. Ik zal daarbij hun belangrijkste bijdragen aan ons vakgebied aangeven.

**A.J.P. Martin**, Nobelprijswinnaar 1952.  
Leerstoel der Analogieën, Eindhovens Hogeschoolfonds, 1964 - 1974.

Archer J.P. Martin is verantwoordelijk voor de invoering van de verdelingschromatografie in 1941, een zeer belangrijke uitbreiding van de mogelijkheden van de adsorptie-kolom-chromatografie, uitgevonden en naam gegeven door de Russische botanicus Tswett in 1903.

Martin, een biochemicus, had na zijn afstuderen in Cambridge als opdracht de studie

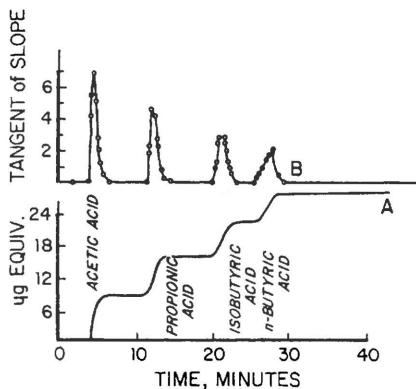
van het toen nauwelijks bekende vitamine E. Hij probeerde het vitamine E-preparaat van verontreinigingen te zuiveren met behulp van tegenstroomextractie. Tezamen met zijn collega Synge construeerde hij talloze automatisch werkende apparaten en slaagde erin zuiver vitamine E te isoleren. Een scheiding duurde gemiddeld een week en het laboratorium was vergeven van chloformdamp, de extractievloeistof die in tegenstroom met water gebruikt werd, met alle gevolgen van dien. Vele prototypen werden vervolgens nog geconstrueerd, maar geen enkele was erg succesvol.

In 1941 had Martin een geniale ingeving, hij realiseerde zich dat hij twee vloeistoffen tegelijk in tegengestelde richting trachtte te bewegen. De evenwichtsinstelling tussen de twee vloeistoffen moest snel verlopen, anders duurden de experimenten veel te lang. Daarom was het noodzakelijk de vloeistoffen in de vorm van kleine druppeltjes te brengen, met als gevolg dat nu weer de fasescheiding veel te lang duurde en het tegenstroomtransport niet naar behoren werkte.

Hij bedacht dat het niet nodig was beide vloeistoffen te verplaatsen, maar slechts één, terwijl de andere vloeistof zowel

dispers als onbeweegbaar was gemaakt. Martin en Synge vulden een kolom met silicagel, waarvan de poriën verzadigd waren met water, brachten acetylaminozuren aan op de top van de kolom en percoleerden met chloroform. Zij slaagden erin leucine en alanine van elkaar te scheiden. De verdelingschromatografie was geboren. Later werd aangetoond dat in plaats van silicagel bevochtigd filterpapier gebruikt kon worden. Dit betekende de introductie van de papierchromatografie. In 1952 kregen Martin en Synge de Nobelprijs voor hun uitvinding van de verdelingschromatografie.

In 1941 suggereerden Martin en Synge, dat de verdelingschromatografie niet beperkt hoefde te blijven tot twee onmengbare



Figuur 1

vloeistoffen, maar dat de percolerende (mobiele) fase ook een gas zou kunnen zijn. Dit was de voorspelling van de gaschromatografie. Pas in 1951 heeft Martin, nu met zijn medewerker James, gaschromatografie voor het eerst uitgevoerd. Het allereerste gaschromatogram is weergegeven in figuur 1.

De gaschromatografie ontwikkelde zich hierna buitengewoon snel met name door de industriële belangstelling. Hier begint de link van Martin met de latere T.H. Eindhoven via dr.ir. A.I.M. Keulemans.

#### Prof.dr.ir. A.I.M. Keulemans

Professor Instrumentele Analysemethoden, 1958-1976.

Lou Keulemans, wetenschapper op het Koninklijk Shell Laboratorium in Amsterdam doorzag onmiddellijk het potentieel van de nieuwe analysemethode voor de petroleumindustrie. In 1952 bezocht hij Martin in Londen en binnen enkele weken draaide in Amsterdam de eerste gaschromatograaf. De bijdragen van hem en zijn collega's van het Shell Laboratorium zijn zeer groot geweest, zowel experimenteel als in de theoretische beschrijving van de

thermodynamische en kinetische processen.

In 1957 verscheen van zijn hand het boek "Gas Chromatography". Dit boek was vele jaren de bijbel voor iedereen die met gaschromatografie werkte. Het boek werd in veel talen vertaald, o.a. in het Russisch en het Japans.

Prof. W. van Loon, de eerste voorzitter van de toenmalige Afdeling der Scheikundige Technologie, stelde in 1957 de instelling van een leerstoel Instrumentele Analyse voor, waarschijnlijk de eerste in Europa. Dr.ir. Keulemans werd gevraagd inhoud te geven aan deze leeropdracht. Hij accepteerde zijn koninklijke benoeming tot professor in November 1958. De schrijver van deze oratie was zijn eerste (technisch) medewerker c.q. werkstudent en begon zijn functie bij de toenmalige THE een maand eerder op 1 oktober 1958.

Oorspronkelijk werden in het Laboratorium voor Instrumentele Analyse vier research onderwerpen gekozen:

- Gaschromatografie - Dr. J.F.K. Huber
- Molecuulspectrometrie - Dr. F. Rummens
- Elektrochemische Analyse - Dr. M. van Swaaij
- Massaspectrometrie - Dr. H. Land

In de jaren zeventig werd het onderzoek in de massaspectrometrie meer en meer geïntegreerd met de scheidingsmethoden en werd het onderzoek aan de Elektrochemische Analyse gestopt. Op het gebied van de molecuulspectrometrie, m.n. de kernspinresonantie heeft ons laboratorium belangrijke bijdragen aan de wetenschap geleverd. Deze groep stond lange tijd onder leiding van dr.ir. Jan de Haan.

Een belangrijk initiatief van Keulemans was de oprichting van het "Scientific Exchange Agreement (SEA)", een stichting die de uitwisseling tussen wetenschappers uit het toenmalige Oost Europa en de Westerse wereld regelde. Alleen al in ons laboratorium hebben een veertigtal jonge Oost-Europese wetenschappers gewerkt.

In het midden van de zeventiger jaren begon Keulemans' gezondheid te verminderen, dit leidde tot zijn vervroegd emeritaat in 1976. Hij vestigde zich in Praag, waar hij op 10 februari 1977 overleed.

**Prof.dr. M.J.E. Golay**

Leerstoel der Analogieën, Eindhovens Hogeschoolfonds, 1961-1962.

In 1958 was Keulemans betrokken bij de organisatie van het tweede internationale gaschromatografie congres in het Tropenmuseum in Amsterdam. Ongetwijfeld de top-bijdrage op dit zeer geslaagde symposium was de presentatie van de capillaire kolom door Dr. Marcel Golay, senior scientist bij Perkin Elmer, Norwalk, USA. Na in East Lansing in 1957 een eerste aankondiging van dit kolomtype te hebben gegeven, presenteerde hij in Amsterdam nu tevens de complete theoretische beschrijving van de capillaire gaschromatografie.

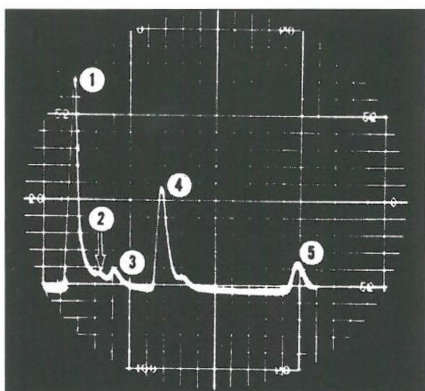
Prof. Golay, geboren in Neuchatel, studeerde elektrotechniek in Zürich en promoveerde in Chicago op een atoom fysisch onderwerp. Golay kwam tot zijn theorie door de kolom te zien als een netwerk van weer-

standen en condensatoren, gebaseerd op de "telegraphers equation". Later afgeleide theorieën gebaseerd op fysisch technologische principes kwamen tot precies dezelfde uitkomst. Over analogieën gesproken. In figuur 2 een chromatogram uit zijn Amsterdamse lezing.

Tot 1957 werden alle kolom-chromatografische scheidingen uitgevoerd in buizen gevuld met pakkingsmateriaal, zoals diatomeeënaarde geïmpregneerd met vloeistoffen. In de gaschromatografie wordt de capillaire kolom, waar de vloeistof als een dunne film op de wand is aangebracht, sindsdien veruit het meest gebruikt. Sinds 1958 was de capillaire gaschromatografie een van de hoofd-researchonderwerpen van onze groep in Eindhoven.

Marcel Golay was een wetenschapper, die belangrijke bijdragen leverde aan alle gebieden waar hij mee in aanraking kwam: elektrotechniek, natuurkunde, wiskunde, informatica en chemie.

Bekend zijn de Golay infrarood detector, door hem oorspronkelijk ontwikkeld als de voorloper van radarsystemen; de Golay spoelen voor de kernspin resonantie spectroscopie en de Golay code. Dit laatste



Figuur 2



onderwerp kwam uitgebreid aan de orde als achtste wereldwonder in het afscheidscollege van Prof. van Lint, hier in deze zaal op 3 september 1999. Golay's enorme breedte blijkt uit de toekenning van een prijs door de American Society of Naval Engineers voor zijn publicatie "Underwater Arctic Oil Transport".

Voor mij is de uitvinding van de capillaire kolom in de gaschromatografie het belangrijkste, het vormt de basis voor de grote familie van capillaire scheidingstechnieken die nu bestaan en die binnen de analytische scheidingmethoden overheersen.

Golay was slechts twee jaar verbonden aan onze universiteit, maar de contacten bleven levendig. Tot kort voor zijn overlijden in 1989 hadden wij intensief contact, wat onder andere leidde tot een gezamenlijke publicatie over "turbulent gas chromatography", waarover later meer in deze afscheidsrede.

**Dr. J.F.K. Huber,**  
wetenschappelijk hoofdmedewerker,  
1960-1965.

De vierde grote wetenschapper uit onze beginjaren kwam uit Oostenrijk. Josef

Huber was in 1960 gepromoveerd bij Prof. Erica Cremer in Innsbruck op een gaschromatografisch onderwerp. Op uitnodiging van Keulemans kreeg hij onmiddellijk hierna de leiding van de afdeling gaschromatografie van ons laboratorium. In 1963 startte hij zijn onderzoek in de vloeistofchromatografie met een pakking van zeer kleine deeltjesdiameter. Ook hierop zal ik later in mijn rede terugkomen.

In 1965 aanvaardde Josef Huber een positie aan de Universiteit van Amsterdam. Daar werd onder zijn leiding het onderzoek in deze moderne vorm van de vloeistofchromatografie voortgezet. Dit vormde de basis voor wat nu de meest gebruikte analytische techniek is: de High Performance Liquid Chromatography (HPLC). In 1969 werd Huber professor aan de Universiteit van Amsterdam. In 1974 keerde hij terug naar Oostenrijk, waar hij professor in de Analytische Chemie werd aan de Universiteit van Wenen. Helaas is hij augustus jongstleden overleden.

## Het spoor naar Eindhoven

Analytische scheidingsmethoden in al de uitvoeringsvormen, zoals gaschromatografie, vloeistofchromatografie, isotachoforese, zone electroforese, micellaire elektrokinetische chromatografie, electrochromatografie, enz. vormen tezamen de meest gebruikte analytische technieken. De toepassingen hiervan vindt U in de biochemie, medische wetenschappen, farmacie, milieuwetenschappen en vele andere gebieden. Per jaar worden er wereldwijd ongeveer 2000 wetenschappelijke publicaties over dit onderwerp geschreven. Het Eindhovens aandeel is schattenderwijs slechts 1,5%; onze rol is dus maar beperkt. De geweldige vooruitgang in de laatste veertig jaar is uiteraard mede gebaseerd op ontwikkelingen in andere vakgebieden, zoals de elektronica en in het bijzonder de computerwetenschappen. In een aantal gevallen echter zijn nieuwe ontwikkelingen gestart in Eindhoven of hebben wij in een bepaald onderwerp een grote rol vervuld.

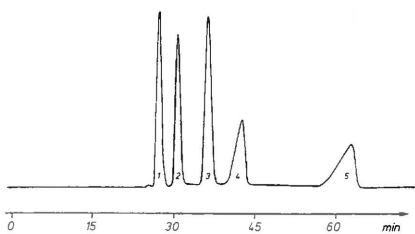
Hieronder volgen enkele voorbeelden wat betreft de ontwikkeling van de technieken.

## Methodeontwikkeling

*De moderne vloeistofchromatografie (HPLC), het gebruik van kleine deeltjesdiameters*

In 1963 startte Huber samen met een afstudeerder, Johan Quaadgras, een systematisch onderzoek naar de invloed van de deeltjesdiameter in de vloeistofchromatografie. Aan de basis van zijn idee lag de schotelhoogtevergelijking voor gepakte gaschromatografie kolommen, beschreven door de Shell Amsterdam technologen Van Deemter, Zuiderweg en Klinkenberg. Deze vergelijking suggereerde het grote voordeel van pakkingsmaterialen met zeer kleine diameter. Om metingen met kleine deeltjesdiameters te kunnen uitvoeren moesten hogedruk pompen, speciale injectiesystemen en een micro-UV absorbtie detector ontwikkeld worden. Het chromatogram in figuur 3 uit het afstudeerverslag van Quaadgras, is naar alle waarschijnlijkheid het eerste HPLC-chromatogram ooit geproduceerd.

Het onderzoek werd voortgezet in Amsterdam en samen met promovendus Jacques Hulsman (ook een THE afstudeerder) werd in 1967 een nieuwe schotelhoogtever-



Figuur 3

gelijking gepresenteerd en geverifieerd. Pas in 1972 publiceerden andere laboratoria dan de Universiteit van Amsterdam over dit nieuwe type kolommen. Inmiddels bedraagt de deeltjesdiameter routinematig 5-10  $\mu\text{m}$ . Per jaar worden ongeveer 400.000 HPLC kolommen verkocht. Vloeistofchromatografie krijgt vanaf de begin jaren zeventig ook grote aandacht binnen ons laboratorium. Van de zes nog lopende promotieonderzoeken zijn er drie op het gebied van de HPLC. Dit deel van ons onderzoek wordt begeleid door Dr. Henk Claessens.

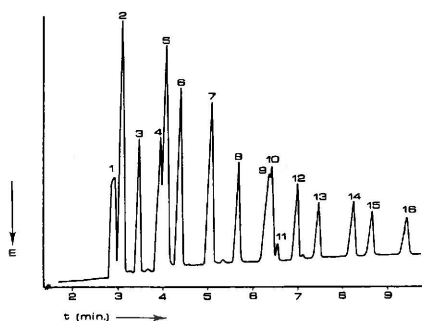
### *Capillaire electroforese*

De term electroforese dekt een groot aantal scheidingstechnieken, gebaseerd op het electroforetisch principe, waarbij geladen deeltjes bewegen onder invloed van een

elektrisch veld. Al in 1897 beschreef Kohlrausch een theorie, waarmee alle electroforetische methoden kunnen worden beschreven.

In 1964 startte Martin samen met zijn afstudeerder Frans Everaerts de capillaire uitvoeringsvorm van electroforese. In de jaren die volgden vervolmaakte Everaerts met zijn promovendi een bepaalde tak van deze scheidingstechniek: de capillaire isotachoforese (ITP). De instrumentatie werd gebouwd in Eindhoven door Theo Verheggen. In de loop der jaren is de methode ingeburgerd en onderwerp van een tweejaarlijks internationaal congres. Diverse instrumentfirma's hebben ITP instrumenten op de markt gebracht.

In 1979 publiceerde Frans Mikkers, een promovendus van Everaerts, een capillair electroforetisch experiment in de uitvoeringsvorm: vrije zone electroforese. Hij maakte gebruik van een in Eindhoven gebouwd isotachoforese instrument. De scheiding vond plaats in een teflon buis met 0,2 mm inwendige diameter. Hieronder ziet U dit historische electroferogram. Mikkers toonde aan dat de scheidingen de theoretische voorspellingen van o.a. Giddings benaderden.



Figuur 4

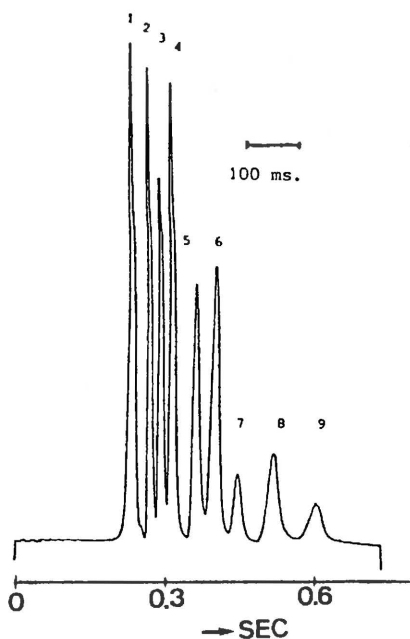
In 1981 publiceerden de Amerikanen Jorgenson en Lukacs vergelijkbare experimenten met glazen kolommen met een inwendige diameter van slechts 75  $\mu\text{m}$ . Hun publicaties en het feit dat er toen uitstekende commerciële instrumenten voor capillaire elektroforese beschikbaar waren, plaveiden de weg voor de enorme aandacht die er nu bestaat voor de capillaire zone elektroforese.

#### *Snelle capillaire gaschromatografie*

Sinds ongeveer 1980 is dit een onderwerp van onderzoek van een grote serie promovendi, te beginnen met Kees Schutjes (promotie 1983) tot en met Marieke van Deursen (verwachte promotie begin 2002). Een

grote inbreng in dit onderzoek hadden de universitair hoofddocenten dr.ir. Jacques Rijks en later dr.ir. Hans-Gerd Janssen. De snelheid van een gaschromatografische scheiding wordt bepaald door de snelheid van stofoverdracht tussen de bewegende gasfase (bijvoorbeeld Helium) en de geïmmobiliseerde vloeistoffilm op de binnenwand van het capillair. Die uitwisselingsnelheid kan sterk worden vergroot door verkleining van de diffusieafstanden, d.w.z. dunnere capillairen van bijv. 50  $\mu\text{m}$  en dunnere films, bijv. 0,1  $\mu\text{m}$ . U heeft hetzelfde effect gezien bij Martin: kleinere druppeltjes bij de tegenstroomextractie, en bij Huber: kleine deeltjes in de HPLC. Een voorbeeld van extreem snelle analyse is het chromatogram uit het proefschrift van Andrew van Es, waar een mengsel van koolwaterstoffen wordt gescheiden in minder dan 1 seconde (figuur 5). Om een dergelijke scheiding mogelijk te maken moet het monster in minder dan een honderdste van een seconde worden geïnjecteerd!

In de loop der jaren hebben wij uitgebreid gepubliceerd over de theorie en praktijk van de snelle capillaire gaschromatografie. Tussen 1985 en 1988 is vacuüm gaschroma-



Figuur 5

tografie beschreven als een andere mogelijkheid om de analysetijd te verkleinen, door vergroting van de diffusiecoëfficiënt bij sub-atmosferische drukken. Vorig jaar werden op de PittCon™ in New Orleans, een supersymposium voor analytisch chemici, speciale kolomsystemen gebaseerd op dit principe geïntroduceerd door Varian-Chrompack.

In de beginjaren moesten door gebrek aan geschikte commerciële instrumenten, eerst detectie- en injectiesystemen, kolommen,

e.d. ontwikkeld worden. De laatste paar jaar is die situatie veranderd en worden meer en meer instrumenten, geschikt voor zeer korte analysetijden, gelanceerd. Dat geldt met name voor uiterst snelle en gevoelige massaspectrometrische detectoren. Na een lange incubatietijd is snelle capillaire gaschromatografie nu een veelbesproken onderwerp op analytische congressen. Aan het eind van mijn lezing zal ik een aantal recente voorbeelden laten zien.

In het begin van de jaren tachtig kregen we opnieuw intensieve contacten met Marcel Golay, die inmiddels naar zijn geboorteland Zwitserland was teruggekeerd. Hij was zeer geïnteresseerd in de verdere ontwikkelingen van zijn geesteskind: de capillaire kolom. In 1985 hadden mijn medewerker Piet Leclercq en ik een discussie met Marcel Golay in Riva del Garda, bij gelegenheid van het zesde congres over capillaire scheidingsmethoden. Het onderwerp, voor U niet zo interessant, was: Bij welke retentiefactor  $k$  is de analysetijd minimaal?

Binnen een week ontvingen wij een brief met een theoretische afleiding, die voor ons nauwelijks te begrijpen viel. Als mathemaat had Golay de eigenschap om in zijn

afleidingen grote stappen te maken: "From simple reasoning follows: ....". Wij hadden de euvele moed zijn conclusie te betwijfelen en kwamen met een andere afleiding en uitkomst, die bovendien nog ondersteund werd door Prof. Georges Guiochon van de

École Polytechnique van Parijs. Binnen een week kwam het in figuur 6 afgedrukte, humoristische antwoord. Golay was op het moment van schrijven van deze brief 83 jaar oud.

MARCEL J E GOLAY  
CREUX DE CORBY 84  
1093 LA CONVERSION  
SWITZERLAND  
TEL. 021 / 39 30 38

September 12, 1985

Prof. Carl Cramers & Piet Leclercq  
Technische Hogeschool Eindhoven  
Den Dolech 2  
Postbus 513  
5600 MB Eindhoven  
Netherlands.

Dear Colleagues,

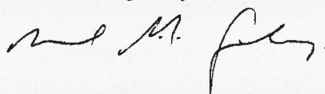
Having had the typescript of an elaboration of my letter to you already approved for publication by Prof. Lederer, it was in fear and trembling that I read your letter of Sept. 6 - for which I thank you very much - in which you pointed out a possible flaw in my argument.

I realize that it did look as though I was pulling a rabbit out of a hat, but after careful reading of your letter I believe that I was not.

Your argument is that I cannot optimize  $k$  while keeping  $t_g$  constant, but it is really the other way around:  $t_g$  is kept constant for it is one of the given experimental conditions, and it is  $t_c$  (and  $r$  and  $l$ ) which vary for various  $k$ 's, until the optimum  $k$  is found, after which the corresponding  $r$  and  $l$ , the essential column parameters with  $k$ , are determined as functions of  $p_i$ ,  $t_g$  and  $\mu$ .

I am enclosing a copy of my typescript. It is essentially an extension of my letter to you in which I take into consideration the slowness of diffusion in the fixed phase. It is also my apology for my "second error in gas chromatography". I very much hope it will stand up under your scrutiny.

Best regards,



Figuur 6

Achteraf bleek het verkleinen van de kolomdiameter de optimale weg naar snelle capillaire chromatografie. Een inherent nadeel is echter dat de monstercapaciteit hierdoor sterk afneemt. De kleinste diameter die we gebruikt hebben, was 10  $\mu\text{m}$ . De monstercapaciteit is dan in de orde van  $10^{-12}$  g, zodat zelfs de meest gevoelige detectoren nauwelijks meer iets waarnemen.

#### *Turbulente capillaire gaschromatografie*

Een alternatieve manier om snelle gaschromatografie te bedrijven is de scheiding uit te voeren onder turbulente condities. Dit kan met kolommen van grotere diameters bereikt worden en daardoor is er geen monstercapaciteitsproblematiek meer. Diverse laboratoria hebben turbulente gaschromatografische experimenten uitgevoerd, maar de resultaten en de theoretische omschrijving verschilden veel. Wij besloten onze "snelle" instrumentatie in te zetten voor een nieuwe serie experimenten. Bij gassnelheden van rond 50 km per uur kregen we inderdaad turbulentie en scheidingen binnen de seconde. Helaas werkt het alleen voor nauwelijks vertraagde componenten en is dus

in de praktijk niet bruikbaar.

Ik vroeg Golay om zijn mening te geven over de verschillende gepubliceerde theorieën en onze resultaten voor wat betreft de turbulente gaschromatografie. Hij raakte onmiddellijk zeer geïnteresseerd. Gebruik makend van onze experimentele gegevens ontwikkelde hij een concept theorie, zonder ook maar éénmaal de vergelijkingen te raadplegen die reeds gepubliceerd waren. In 1989 vervolmaakte hij de theorie; de bedoeling was dat hij deze zou presenteren op het tiende Capillaire Chromatografie Symposium in mei van dat jaar. Helaas overleed Marcel Golay onverwacht op 28 april 1989, vlak voor zijn 87e verjaardag. In figuur 7 ziet U de titel van het artikel met Golay's theorie, dat wij na zijn overlijden hebben laten uitkomen, gebruik makend van zijn aantekeningen.

Tot nu toe heb ik de ontwikkeling van analytische scheidingsmethoden beschreven. Het wordt tijd dat we een aantal van de vele toepassingen bezien, waaraan we gewerkt hebben in Eindhoven. Ik beperk mij tot de toepassingen van gaschromatografie, vaak gecombineerd met massaspectrometrie als identificatiemethode.

CHROMSYMPO. 1970

## **Turbulent flow in capillary gas chromatography — evaluation of a theoretical concept by Golay**

A. J. VAN ES, J. A. RIJKS and C. A. CRAMERS\*

*Eindhoven University of Technology, Laboratory of Instrumental Analysis, P.O. Box 513, 5600 MB Eindhoven (The Netherlands)*

with appendix by

M. J. E. GOLAY<sup>a</sup>

*Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT 06859 (U.S.A.)*

Figuur 7

### **Toepassingen**

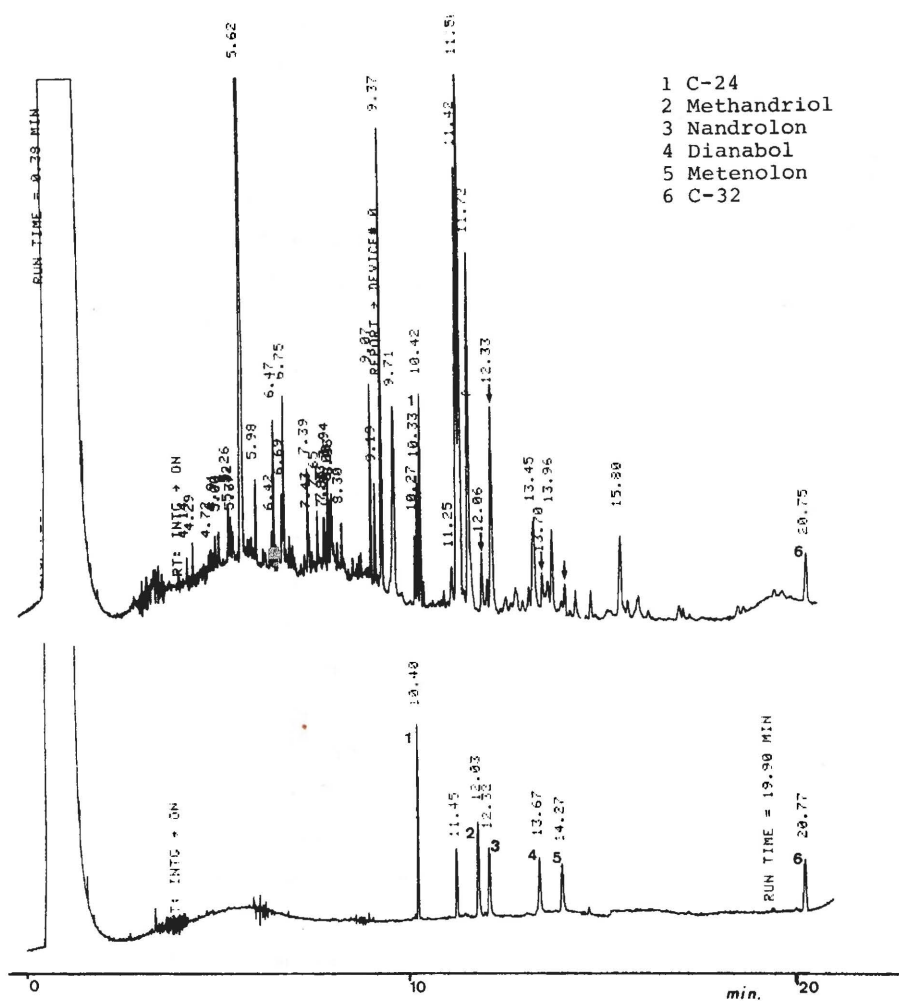
#### *Steroïden analyse*

Samen met academische en perifere ziekenhuizen hebben we o.a. gewerkt aan dialyseproblematiek, anesthesie en endocrinologie. Vier promovendi hebben zich vanaf 1964 intensief bezig gehouden met de analyse van steroïden, als middel om endocrinologische afwijkingen aan te tonen. Onze publicaties leidden in 1981 tot een uitnodiging van het Medisch Olym-

pisch Comité aan Jacques Rijks en mijzelf voor een vergadering in Moskou. De vergadering stond onder leiding van de Belgische Prins De Mérode; aan de ronde tafel zaten alle dopingexperts van de wereld.

Er was veel belangstelling voor onze capillaire methode voor de analyse van anabole steroïden, tot dan gebruikte vrijwel iedereen nog gepakte kolommen. Hierna kregen we een intensieve samenwerking met het Laboratorium voor Dopingcontrole in Moskou. In figuur 8 ziet U een voorbeeld van de analyse van anabole steroïden in urine.





Figuur 8

Anabole steroïden worden, getuige de Spelen in Sydney, nog steeds gebruikt als middel om de sportprestaties te verhogen.

*Sporenanalyse*

Ik begin met een citaat uit de in 1959 door de oprichter van de groep Lou Keulemans

uitgesproken intreerede "Het moderne analytisch onderzoek in de Scheikunde":

*....."De analyticus van vandaag drukt zijn resultaten niet alleen meer uit in procenten of promilles, het aantal problemen, waarbij de bepaling van miljoenste delen belangrijk geworden is, is groot en neemt nog regelmatig toe. De uitdrukking delen per miljoen (parts per million) of ppm heeft reeds burgerrecht verkregen. ..."*

Nu, ruim veertig jaar later, mag volgens Europese Unie-regels drinkwater niet meer dan 0,1 µg/l (0,1 part per billion) per component van pesticiden bevatten. Dat is een 10.000x lagere concentratie dan de ppm van hierboven. In deze 40 jaar zijn de analytische methoden zover ontwikkeld, dat deze zeer lage concentraties nu inderdaad te meten zijn.

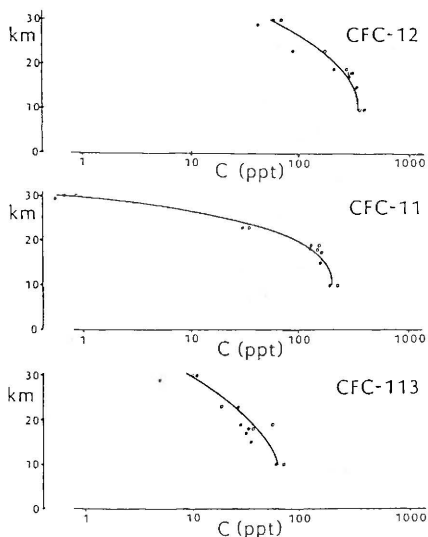
Hieronder volgt een voorbeeld van een meting van chloorfluorkoolwaterstoffen (CFK's) in stratosferische luchtmonsters, waarbij de concentratie detecteerbaarheid nogmaals 100 maal zo goed was: 1 deel op 1.000.000.000.000 (1 part per trillion, 1 ppt). Van chloorfluorkoolwaterstoffen wordt aangenomen, dat ze een rol spelen bij de vernietiging van stratosferisch ozon, het

befaaemde ozongat. Bronnen van CFK's waren o.a. drijfgassen uit spuitbussen en koelsystemen van ijs- en vrieskasten.

In 1987 werden UHD Jacques Rijks, promovendus Theo Noy en ik benaderd door het Max Planck Institut für Aeronomie in Lindau (D), vlak bij de toenmalige grens met Oost-Duitsland. Dit instituut had in 1982 op ingenieuze wijze monsters verzameld van stratosferische (dus zeer ijle) lucht tot op hoogtes van 30 km. Onder een grote ballon plaatsten zij 15 vacuüm gezogen stalen monstervaten met een inhoud van 300 ml. De monstercontainers waren geplaatst in een Dewar vat gevuld met vloeibaar Neon met een temperatuur (kookpunt) van ongeveer -250°C. De ballon wordt opgelaten tot een hoogte van ca. 35 km en begint daarna door het laten ontsnappen van helium aan een langzame afdaling. Op de gewenste hoogte, bijvoorbeeld 30 km, wordt radiografisch de inlaatkraan van een monstervat geopend; lucht wordt naar binnen gezogen en condenseert onmiddellijk op de koude wand van het vat. Hierdoor blijft het vacuüm constant en de hoeveelheid te bemonsteren lucht wordt volledig bepaald door de plaatselijke luchtdruk en de

openingstijd van de kraan. Het bemonsteren van 10 liter lucht gebaseerd op 1 atmosfeer kostte bij 35 km 20 minuten; op 15 km was nog maar een minuut nodig.

In onderstaande figuur ziet u de door ons aan deze monsters gemeten concentraties van drie chloorfluorkoolwaterstoffen als functie van de hoogte van bemonstering.



Figuur 9

Gelukkig las ik in oktober, dat onze Nederlandse Nobelprijswinnaar Crutzen verwachtte, dat binnen 40 jaar het ozongat verdwenen zal zijn. Dit tengevolge van het consequente uitvoeren van het verbod op CFK's.

## Voorbeelden uit 2000

Tot slot wil ik enkele voorbeelden aanhalen uit twee recente promotieonderwerpen op het gebied van sporenanalyse en snelle gaschromatografie.

### *De stir bar*

Steeds strenger wordende wetgeving wat betreft de toegelaten concentraties van toxische verbindingen in ons milieu: bodem, water en lucht en bijvoorbeeld onze voeding vereisen de ontwikkeling van steeds gevoeliger analytische technieken. Eerder in mijn rede vermeldde ik een volgens EU-normen maximaal toelaatbare concentratie in drinkwater van 0,1 µg/liter aan afzonderlijke pesticiden.

Aangezien directe injectie van milliliters water op een capillaire kolom onmogelijk is, moeten de pesticiden geconcentreerd worden in een veel kleiner volume, bijvoorbeeld door extractie.

Tijdens het recente promotieonderzoek van Erik Baltussen werd een aantal nieuwe monstervoorbewerkingstechnieken bestudeerd. Een ervan, de "Stir Bar" (= roerstaaf-

je) extractor bracht het summum aan eenvoud en doeltreffendheid. Het principe: een metalen staafje van 40 mm wordt bedekt met ca. 200 mg siliconenrubber. Deze roer-vlo wordt bijvoorbeeld in 250 ml te analyseren monster gebracht. Vervolgens wordt gedurende 60 minuten magnetisch geroerd. De te bepalen organische componenten uit het te analyseren monster verdelen zich volgens het chromatografisch principe over de waterfase en de rubberfase. Er treedt een enorme verrijking op, de organische componenten zullen zich voorname-lijk in de rubberfase concentreren. De roer-vlo wordt vervolgens verwarmd en organische componenten worden in de gasfase gebracht en vervolgens chromatografisch gescheiden. Hierna volgt identificatie met behulp van massaspectrometrie.

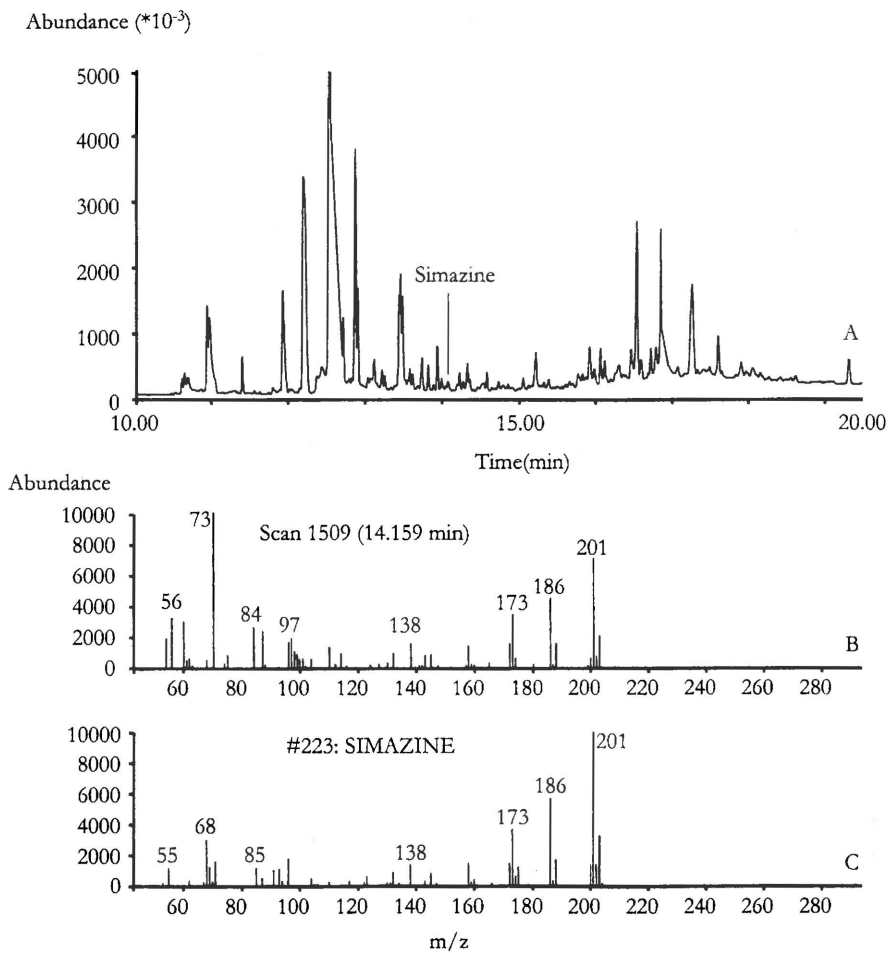
De stir bar methode is uitgebreid toegepast bij de analyse van water, wijn, bier, koffie, thee, vruchtensappen en zelfs yoghurt. Als voorbeeld de screening van sinasappelsap op de aanwezigheid van triazine herbiciden. Deze stoffen worden uitgebreid toegepast in de land- en tuinbouw. In drinkwater geldt ook voor herbiciden een maximaal toelaatbare hoeveelheid van 0,1 µg/liter per component.

U ziet in het chromatogram (figuur 10) een kleine piek na ruim veertien minuten. Het experimentele massaspectrum van deze component is weergegeven in B. Computer-vergelijking met een bibliotheek van ongeveer 100.000 bekende spectra toont eenduidig aan dat de betreffende stof Simazine is, een lid van de familie van triazine herbi-ciden.

Gebruik makend van de stir bar methode kunnen routinematig concentraties van 0,1 µg/liter geanalyseerd worden. In een aantal gevallen kan in het ng/liter (parts per tril-lion) bereik gemeten worden. De stir bar methode is inmiddels gecommmercialiseerd en wordt als "Twister" op de markt gebracht.

#### *De koppeling van snelle gaschromatografie met massa spectrometrie*

De combinatie van een gaschromatografi-sche scheiding met massaspectrometrische detectie is onmisbaar bij het identificeren van organische verbindingen. Verschillende typen massaspectrometrische detectoren zijn geschikt voor het koppelen met gaschromatografische kolommen.



Figuur 10

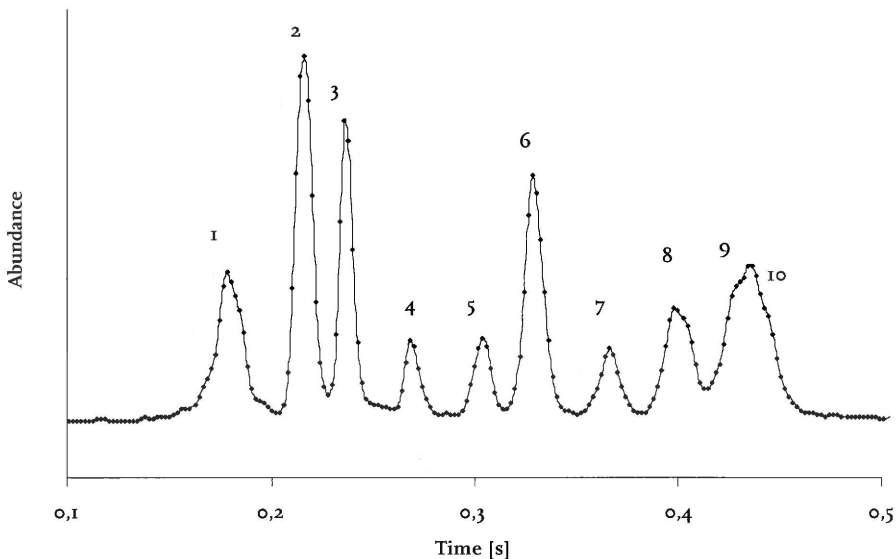
De systemen verschillen in de wijze waarop ze de fragment-ionen, gevormd uit de moleculen die uit de capillaire kolom stromen, scheiden naar hun massa.

Veel gebruikte typen zijn de quadropool en

de ion-trap, deze voldoen uitstekend voor een gemiddelde chromatografische analyse. Ze kunnen ongeveer 10-20 massaspectra per seconde leveren. Bij zeer snelle analyses zijn deze massascheiders echter niet

snel genoeg. De pieken die uit de kolom komen, hebben een breedte in de orde-grootte van 10 milliseconden. Sinds ruim een jaar hebben wij de beschikking gekregen over een massaspectrometer volgens het Time-of-Flight (vluchttijd) principe (TOF-MS). Deze massascheider kan 500 spectra per seconde opnemen. Een voorbeeld uit het promotieonderzoek van Marieke van Deursen ziet U in figuur 11. Door vergelijking van de verkregen spectra met spectrumbibliotheken kunnen de stoffen geïdentificeerd worden.

Alhoewel de componenten 9 en 10 niet volledig gescheiden zijn, kan de TOF-MS toch de identiteit van 9 en 10 vaststellen door het deconvolueren van de massaspectra. Een van de meest interessante toepassingen van de snelle gaschromatografie is de tweedimensionale (comprehensive) techniek. Een complex monster, bijv. dieselolie, wordt eerst gescheiden op een conventionele capillaire kolom. Dit levert routinematig een scheiding op, waarin een honderdtal pieken te herkennen zijn binnen een analysetijd van  $\approx 75$  minuten. Gezien de complexiteit van dieselolie zullen de meeste



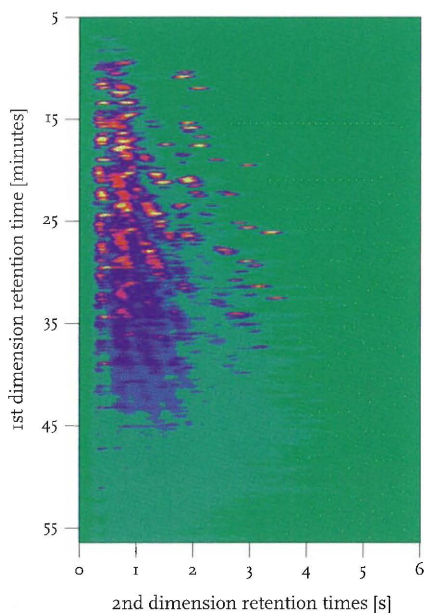
Figuur 11

van die pieken in werkelijkheid meerdere componenten bevatten.

Alle uitredende pieken van de eerste kolom worden geconcentreerd in zeer nauwe fracties, die vervolgens worden geïnjecteerd op een tweede korte en snelle kolom. Van iedere piek uit de eerste kolom worden ongeveer 5 fracties gemaakt, daarom moet de scheiding op de tweede kolom zeer snel zijn, in de praktijk bijvoorbeeld 7,5 seconden. De scheiding op de eerste, apolaire kolom is voornamelijk gebaseerd op het kookpunt van de stoffen, terwijl de scheiding op de tweede polaire kolom berust op polariteit of chemische structuur van de componenten. Het aantal scheidingen in de tweede dimensie bedraagt 580 van elk 7,5 seconden. Het aantal scans per seconde is ingesteld op 50, hetgeen uiteindelijk 210.000 massaspectra oplevert.

Het scheidend vermogen van een orthogonaal twee-dimensionaal systeem wordt bepaald door het product van de piekcapaciteit van beide kolommen in 1e en 2e dimensie  $\approx 100 \times 10 = 1000$ . Dit alles met daarbovenop nog de mogelijkheid van deconvolutie door de TOF-MS levert een ongelooflijk machtig analysesysteem op voor complexe monsters.

Het comprehensieve chromatogram heeft twee tijdassen: retentietijd van de eerste versus de retentietijd op de tweede kolom. De gescheiden componenten worden in het twee-dimensionale vlak voorgesteld door vlekjes. Verbindingen met gelijksoortige chemische samenstelling zien we als banden in het vlak. Onderstaande figuur is een twee-dimensionale contourplot van een kerosinefractie. Dit werk is uitgevoerd in samenwerking met het Shell Research en Technologie Centrum in Amsterdam.



Figuur 12

## Tot slot

Na een tijdperk van 42 jaar is het mischien goed even stil te staan bij de output van het Laboratorium voor Instrumentele Analyse. Ik maak daarbij gebruik van de gegevens beschikbaar uit drie meetpunten: het emeritaat van Keulemans, ons 25-jarig bestaan en vandaag. In onderstaande tabel ziet U de cijfers.

	1976	1983	2000
Afstudeerders	139	184	321
Promovendi	20	25	60 (6)
Publicaties	195	415	1300

Daarnaast hebben wij 20 tweejarige onderzoekers afgeleverd en meer dan 2.000 cursisten uit de industrie bijgeschoold in een zevental, jaarlijks georganiseerde, nascholingscursussen.

## Dank

In mijn afscheidsrede heb ik een aantal malen de bijdragen vermeld van enkele collega's, medewerkers, promovendi en afstu-

deerders. De meeste zijn echter onvernoemd gebleven. Een van de redenen hiervoor is dat ik me wel erg beperkt heb tot mijn persoonlijke hobby: de gaschromatografie. Relevante bijdragen van ons laboratorium op het gebied van de vloeistofchromatografie, capillaire electroforese, kernspinresonantie en elektrochemie zijn door mij nauwelijks vermeld. Het moge duidelijk zijn dat het ondoenlijk is de 42-jarige geschiedenis van ons laboratorium in 45 minuten ook maar enigszins dekkend te behandelen. Ik wil hierbij mijn dank en waardering uitspreken aan allen met wie ik gedurende deze jaren aan de universiteit heb mogen samenwerken.

Een speciaal woord wil ik richten tot Denise Tjallema. Denise, jij was de laatste 16 jaren een onmisbare steun voor mij. Je inzet en loyaliteit ten opzichte van onze vakgroep en je invloed op de prettige sfeer verdienen vanaf deze plaats veel dank.

Tenslotte Mariette, jij hebt de hele periode, die ik weergegeven heb, van dichtbij meegemaakt. Dank voor je begrip, vaak heb ik je niet de aandacht kunnen geven die je verdiende. Ik kijk ernaar uit samen met jou mijn "onwennige" vrije tijd in te vullen.



## Dames en Heren,

Ik ben aan het slot van mijn afscheidsrede gekomen. Het Laboratorium voor Instrumentele Analyse houdt op als zelfstandige eenheid te bestaan. De faculteit heeft gekozen voor een concentratie op een beperkt aantal onderzoekgebieden. Analytische Chemie behoort niet meer tot de "core business".

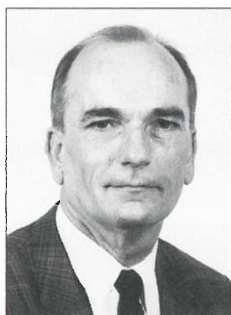
Op analytische congressen valt mij een sterk groeiende belangstelling op voor analytische methodeontwikkeling ten behoeve van o.a. farmacie, high throughput analyse, bio-technologie en de materiaalwetenschappen.

Ik betreur het einde van onze vakgroep, maar ben tegelijkertijd dankbaar dat wij met ons allen het voorrecht hebben gehad te mogen werken in een periode, die samenviel met de wereldwijde exponentiële groei van het onderzoek in de analytische scheidingsmethoden.

Organisaties veranderen zeer snel in deze tijd; dit kunnen we iedere dag lezen in de media. Het bevestigt de spreuk van een mij niet bekende auteur: *"Het enige constante in een mensenleven is de verandering"*.

Ik wens de Technische Universiteit Eindhoven veel succes in de toekomst.

Ik dank U voor uw aandacht.



Karel A.M.G. Cramers werd in September 1935 in Nieuw Ginneken, nu Breda, geboren. Na in 1953 aan het Bisschoppelijk College in Sittard het diploma HBS-B te hebben behaald, studeerde hij chemische techniek aan de MTS, nu Technische Hogeschool in Heerlen. Na vervulling van de militaire dienstplicht trad hij in 1958 als technisch ambtenaar in dienst van de Technische Hogeschool Eindhoven bij de sectie Instrumentele Analyse. Tegelijkertijd volgde hij de opleiding tot scheikundig ingenieur. In 1963 werd deze studie succesvol afgerond en werd hij wetenschappelijk medewerker. In 1967 promoveerde hij bij Prof.dr. A.I.M. Keulemans op een proefschrift met als titel: "*Some Problems Encountered in High Resolution Gas Chromatography*". Hierna volgde in 1968 een sabbatical leave bij de University of California in Los Angeles.

Bij Koninklijk Besluit nr. 21 van 11 oktober 1974 werd hij benoemd tot gewoon lector in de Instrumentele Analyse aan de T. H.

Eindhoven. Bij Koninklijk Besluit nr. 10 van 9 oktober 1978 volgde de benoeming tot gewoon hoogleraar. Sindsdien was hij voorzitter van de Vakgroep Instrumentele Analyse.

Zijn onderwijs- en onderzoekactiviteiten liggen op het gebied van de analytische scheidingsmethoden en de koppeling hiervan met massa spectrometrie. Belangrijke toepassingsgebieden waren de biomedische techniek, de industriële chemie en het milieu.

Hij ontving in totaal acht internationale wetenschappelijke onderscheidingen. Van 1979 tot 1993 was hij lid van het Comité on Chromatography van de International Union on Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

Prof. Cramers was voorzitter c.q. lid van verscheidene interne TUE-commissies en lid van het afdelingsbestuur der Scheikundige Technologie.

Hij was voorzitter van de Werkgroep Scheidingsmethoden en secretaris van de Sectie voor Analytische Chemie van de Koninklijke Nederlandse Chemische Vereniging (KNCV) en voorzitter van de SON werkgemeenschap Analytische Scheikunde.

Cramers is editor c.q. lid Editorial Board van drie wetenschappelijke tijdschriften.

Hij is lid van de permanente wetenschappelijke comités van vier, internationaal georganiseerde, symposiaseries op zijn vakgebied. Tevens was hij actief betrokken bij vele nascholingscursussen.