Entwicklung stationärer Phasen für die Ionenchromatographie zur Trennung von Kohlenhydraten

Dissertation

zur
Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem
Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Dipl.-Chem. Andreas Grimm

geboren am 12. Dezember 1975 in Kassel

Marburg/Lahn 2006

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am 24.04.2006 angenommen.

Erstgutachter und Betreuer	:	Prof. Dr. Andreas Seubert
Zweitgutachter	:	Prof. Dr. Wolfgang Ensinger
Tag der mündlichen Prüfung	:	28.04.2006

Philipps-Universität Marburg
Fachbereich Chemie

D-35039 Marburg

One Ring to rule them all...

J.R.R. Tolkien, The Lord of the Rings

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2002 bis April 2006 am Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Philipps-Universität Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Andreas Seubert angefertigt.

Herrn Prof. Dr. Andreas Seubert möchte ich für die Überlassung des Themas und die interessanten Diskussionen beim Zustandekommen dieser Arbeit danken.

Für die freundliche Übernahme des Korreferates danke ich Herrn Prof. Dr. Wolfgang Ensinger.

Mein Dank gilt der Firma Metrohm AG, Herisau, Schweiz für die finanzielle und materielle Unterstützung sowie dem projektorientierten Gedankenaustausch an mehreren gemeinsamen Treffen, insbesondere Helwig Schäfer, Dirk Schmitz und Andrea Wille.

Herr Dr. Andreas Schaper und Michael Hellwig, aber insbesondere Herr Wolfgang Hornfeck und Rüdiger Penzel erstellten die Aufnahmen am Rasterelektronenmikroskop. Herr Dr. Josef Knecht und die Mitarbeiter der Routineanalytik haben die Elementaranalysen durchgeführt. Die NMR-Untersuchungen wurden mit Hilfe der Mitarbeiter der NMR-Abteilung aufgenommen. Ihnen allen sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Dank aussprechen möchte ich allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Seubert, ohne die viele Ideen nicht zustande gekommen wären. Den ehemaligen Mitgliedern Nicole Schmidt, Sandra Schütze, Sven Holland und Thomas Eickhorst für die gute Aufnahme in die Arbeitsgruppe. Den Herrn Michael Raskop und Oliver Happel für die jahrelange gute Laborzusammenarbeit und vielen Stunden Diskussion. Und nicht zuletzt den neuen Mitgliedern Anne Rieß, Andreas Modrzyk und Jürgen Knöll. Beigetragen zur Arbeit haben zudem die Laboranten und Auszubildenden Rüdiger Penzel, Hendrik Roy und Natalia Fritzler sowie meine Vertiefungsstudenten Matthias Girod, Till Gründling, Behnoosh Yazdani, Umme Habiba Hossain und Nils Junker.

Den Herrn Michael Raskop und Wolfgang Hornfeck möchte ich nochmals ausdrücklich für die fleißige Korrekturarbeit danken.

Das Textlayout wurde mit Hilfe des Textsatzsystems TEX und dessen Weiterentwicklung LATEX erstellt, für dessen Erfindung ich Prof. Donald E. Knuth sehr dankbar bin.

Diese Arbeit ist meinen Eltern für ihre jahrelange Hilfe und Unterstützung gewidmet.

Kurzzusammenfassung

Andreas Grimm

Entwicklung stationärer Phasen für die Ionenchromatographie zur Trennung von Kohlenhydraten

Stichworte: Stationäre Phasen, Chloromethylierung, Latex, Ionene, Ionenchromatographie, Kohlenhydrate

Diese Arbeit umfasst die Herstellung und Charakterisierung von neuen stationären Phasen zur Trennung von Kohlenhydraten mittels Anionenchromatographie und elektrochemischer Detektion. Auf hochquervernetzten PS-DVB-Harzen konnten durch Chloromethylierung, Beschichtung und Pfropfpolymerisation unterschiedliche Typen von Oberflächenmodifizierungen durchgeführt werden, die zu präfunktionalisierten Trägermaterialien führten. Die anschließende Funktionalisierung mit verschiedenen Aminen und Diaminen führte zu stabilen Anionenaustauschern hoher Kapazität und Trennleistung und konnten erfolgreich zur Trennung von Kohlenhydraten eingesetzt werden. Auf dem Gebiet der agglomerierten Ionenaustauscher wurde das bewährte Konzept der Latexaustauscher weiterentwickelt und durch die Immobilisierung von polykationischen Ketten in Form von Ionenen erweitert. Die Struktur der Ionene ist durch eine Vielzahl an verfügbaren Monomeren sehr variabel und die erhaltenen Ionenaustauscher zur Trennung von Kohlenhydraten geeignet. Trends und Trenneigenschaften aller hergestellten Phasen wurden untersucht und unter dem Aspekt der Eignung zur Trennung von Kohlenhydraten untereinander verglichen.

Abstract

Andreas Grimm

Development of stationary phases for the separation of carbohydrates with ion chromatography

Keywords: stationary phases, chloromethylation, latex, ionenes, ion chromatography, carbohydrates

This thesis comprises the development and characterisation of new stationary phases for the separation of carbohydrates with ion chromatography and electrochemical detection. The support particles were highly crosslinked PS-DVB-resins. Chloromethylation, coating and grafting techniques were used to introduce functional groups to the surface of the support particles. These lead to stable anion exchanger materials with high capacity for the separation of carbohydrates after functionalisation with different amines and diamines. The well known concept of agglomerated ion exchangers was advanced and enhanced by the immobilisation of polycationic chains of so called ionenes. The high availability of monomers applicable for ionene synthesis enables easy access to a wide variety of structures. The produced ion exchangers were suitable for the separation of carbohydrates. The chromatographic results of all resins were deliberated on aspects of applicability for the separation of carbohydrates.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Aufgabenstellung 15

2 Grundlagen der Ionenchromatographie 19
2.1 Allgemeines zur Chromatographie . . . 19
2.1.1 Einteilungen der Chromatographie . . . 19
2.1.2 Chromatographische Grundgrößen . . . 21
2.1.3 Chromatographische Effizienz . . . 24
2.2 Ionenchromatographie . . . 26
2.2.1 Einteilungen der Ionenchromatographie . . . 27
2.2.2 Apparativer Aufbau der Ionenchromatographie . . . 30
2.2.3 Detektionsarten in der Ionenchromatographie . . . 31
2.2.4 Suppressortechniken . . . 33
2.3 Retentionsmodell der Ionenaustauschchromatographie . . . 35

3 Analyse von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie 39
3.1 Eigenschaften von Kohlenhydraten . . . 39
3.1.1 Auswahl und Struktur der verwendeten Kohlenhydrate . . . 39
3.1.2 Physikalische und chemische Eigenschaften . . . 42
3.2 Alternative Methoden zur Bestimmung von Kohlenhydraten . . . 43
3.2.1 Bestimmung ohne Trennung der Analyten . . . 43
3.2.2 Bestimmung mit Trennung der Analyten . . . 44
3.3 Kohlenhydrate als Analyten in der Anionenchromatographie . . . 45
3.4 Apparativer Aufbau eines Systems zur Trennung von Kohlenhydraten mittels Anionenaustausch 46
3.5 Bestimmung von Kohlenhydraten mittels amperometrischer Detektion . . . 47
3.5.1 Funktionsweise eines amperometrischen Detektors . . . 47
3.5.2 Elektrochemische Vorgänge bei der Detektion von Zuckern an den Elektroden . . . 47
3.5.3 Pulssequenzen . . . 48

4 Stationäre Phasen in der Ionenchromatographie 51
4.1 Prinzipieller Aufbau von stationären Phasen . . . 51
4.1.1 Oberflächenmodifizierte Trägerpartikel . . . 53
4.1.2 Chloromethylierung . . . 53
4.1.3 Sulfonierungen . . . 55
4.1.4 Nitrierungen . . . 56
4.1.5 Beschichtete Phasen . . . 56
4.1.6 Pellikulare Phasen . . . 57
4.1.7 Weitere Oberflächenmodifizierungsreaktionen . . . 58
4.2 Funktionelle Gruppen in der Anionenchromatographie . . . 59
4.2.1 Monokationische Austauschergruppen . . . 60
4.2.2 Multikationische Austauschergruppen . . . 63
4.3 Polykationische Ketten — Ionene . . . 64
4.3.1 Synthese von Ionenen . . . 65

4.3.2 Mögliche Monomere und Nomenklatur von Ionenen . . . 66
4.3.3 Nebenreaktionen . . . 67
4.3.4 Eigenschaften . . . 69
4.3.5 Größe und Größenverteilung von Ionenen . . . 69
4.3.6 Einsatzgebiete . . . 71
4.3.7 Einsatz von Ionenen in der Ionenchromatographie . . . 72
4.4 Anforderungen an die stationäre Phase zur Trennung von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie . . . 73
4.4.1 Chemische Robustheit gegenüber Hydroxideluenten . . . 73
4.4.2 Ionenaustauschkapazität Q . . . 73
4.5 Kommerzielle Materialien zur Trennung von Kohlenhydraten — Stand der Technik . . . 75
4.5.1 Kommerzielle Latexaustauscher auf Polymerbasis . . . 75
4.5.2 Kommerzielle hochkapazitive Austauscher auf Polymerbasis . . . 76

5 Mobile Phasen in der Ionenchromatographie 79
5.1 Eluenten zur Trennung von Kohlenhydraten . . . 79
5.1.1 Konzentration der Hydroxideluenten . . . 79
5.1.2 Isokratische Trennungen . . . 81
5.1.3 Trennung durch Gradientenelution . . . 81
5.2 Untersuchungen bei niedrigen Eluentkonzentrationen . . . 82
5.2.1 Nachsäulenadditionsmodul . . . 82
5.2.2 Messungen bei sehr niedrigen Eluentkonzentrationen . . . 83
5.3 Neue Lösungsstrategien zur Unterdrückung von Carbonat in Hydroxideluenten . . . 90
5.3.1 Eluent Generator™ . . . 91
5.3.2 Eluentzusätze . . . 92
5.3.3 Vorsäule als Anionenfänger . . . 94

6 Untersuchungen an oberflächenfunktionalisierten Materialien 99
6.1 Eingesetzte Grundmaterialien . . . 99
6.2 Oberflächenmodifizierung mittels Chloromethylierung . . . 100
6.2.1 Aufbau der Syntheseapparatur . . . 102
6.2.2 Optimierung der Syntheseparameter . . . 105
6.2.3 Aufarbeitung von chloromethylierten Materialien . . . 106
6.2.4 Chromatographische Eigenschaften . . . 110
6.2.5 Vergleich unterschiedlicher Austauschergruppen . . . 114
6.3 Oberflächenmodifizierung durch Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid . . . 121
6.3.1 Einfluss der Monomermenge . . . 123
6.3.2 Chromatographische Eigenschaften . . . 128
6.3.3 Vergleich unterschiedlicher Austauschergruppen . . . 131
6.4 Oberflächenbeschichtung durch Pfropfpolymerisation von Ionomeren . . . 138
6.4.1 Synthese der Materialien . . . 139
6.4.2 Chromatographische Eigenschaften . . . 142
6.5 Vergleich der oberflächenmodifizierten Anionenaustauscher . . . 150

7 Untersuchungen an agglomerierten Materialien 155
7.1 Immobilisierung von Latexpartikeln auf sulfonierten Trägermaterialien . . . 155
7.1.1 Eingesetzte Materialien . . . 156
7.1.2 Einfluss des Quervernetzungsgrades . . . 157
7.1.3 Chromatographische Eigenschaften . . . 158
7.1.4 Aufbau von mono- und dikationischen Austauschergruppen . . . 160
7.2 Immobilisierung von polykationischen Ketten auf beschichteten Trägermaterialien . . . 165
7.2.1 Herstellung der Trägermaterialien . . . 167

7.2.2 Herstellung der Ionene . . . 169
7.2.3 Belegung des Trägermaterials mit Ionene . . . 171
7.2.4 Einfluss der Kapazität des Trägermaterials . . . 173
7.2.5 Einfluss der Ionene-Konzentration . . . 180
7.2.6 Chromatographische Eigenschaften . . . 181
7.2.7 Einfluss der Spacerabstände von Ionenen auf die Trennung von Kohlenhydraten . . . 185
7.2.8 Einfluss von aromatischen und polaren funktionellen Gruppen im Spacer auf die Trennung von Kohlenhydraten . . . 189
7.3 Vergleich der agglomerierten Anionenaustauscher . . . 191

8 Experimenteller Teil 197
8.1 Oberflächenmodifizierungen auf PS-DVB-Materialien . . . 197
8.1.1 Chloromethylierungen . . . 197
8.1.2 Beschichtung von PS-DVB-Trägermaterial mit Vinylbenzylchlorid . . . 200
8.1.3 Beschichtung von PS-DVB-Trägermaterial dem Ionomer VBCEDMA . . . 200
8.2 Herstellung und Immobilisierung von Ionenen . . . 201
8.2.1 Synthese von Ionenen . . . 201
8.2.2 Beschichtung von PS-DVB-Trägermaterial mit 4-Vinylbenzolsulfonsäure Natriumsalz 204
8.2.3 Sulfomethylierung . . . 204
8.2.4 Belegung der Trägermaterialien mit Ionene . . . 204
8.3 Aminierungsvorschriften . . . 205
8.3.1 Aminierung von oberflächenfunktionalisierten Materialien . . . 205
8.3.2 Aminierungen von Latex-Partikeln . . . 205
8.3.3 Quarternisierung von tertiären Aminen . . . 206
8.4 Aufarbeitung von Polymermaterialien . . . 206
8.4.1 Sedimentation . . . 206
8.4.2 Sieben von Polymerproben . . . 207
8.5 Fertigung von Säulen . . . 207
8.5.1 Kapazitätsbestimmung . . . 208
8.6 Verwendetes Chromatographieequipment und Herstellung von Lösungen . . . 209
8.6.1 Herstellung der verwendeten Lösungen . . . 209

9 Zusammenfassung und Ausblick 211

Abkürzungsverzeichnis 217

Literaturverzeichnis 219

1 Einleitung und Aufgabenstellung

Kohlenhydrate bilden einen großen Anteil der organischen Verbindungen in der belebten Natur. Ihr Vorkommen umfasst die gesamte Biosphäre und sie sind einer der wichtigsten Inhaltsstoffe von Lebensmitteln. Wichtige technische Bereiche, wie die Textilindustrie, die Papierindustrie oder die pharmazeutische Biotechnologie, werden von Kohlenhydraten geprägt. Weltweit gilt Saccharose als die am meisten in höchster Reinheit hergestellte chemische Substanz [1].

Die qualitative und quantitative Bestimmung von Kohlenhydraten ist eine wichtige Aufgabe der Analytik. In den letzten Jahrzehnten wurden große Fortschritte in der Entwicklung neuer Methoden zur Bestimmung von Zuckern gemacht. Die klassischen, nasschemischen Methoden werden zunehmends durch chromatographische Trennmethoden ersetzt. Neben dem Einsatz der Dünnschichtchromatographie und der Gaschromatographie nimmt heute vor allem die Hochleistungschromatographie (HPLC) einen großen Stellenwert in der Bestimmung der Kohlenhydrate ein. Die Vorteile der flüssigen chromatographischen Systeme liegen in der schnellen Analysenzeit, einer hohen Trennleistung und einer geringen Probenvorbereitung [2].

Neben der Trennung der Zucker durch “Reversed-Phase“-Chromatographie oder an metallbeladenen Kationenaustauschern nimmt die Trennung durch Anionenaustauschchromatographie immer weiter an Bedeutung zu [3]. In der “Reversed-Phase“-Chromatographie und der Kationenaustauschchromatographie bereiten die photometrische Detektion oder die Bestimmung über den Brechungsindex Probleme, da diese Detektionsmethoden auch auf in der Matrix vorhandene Substanzen und den Eluenten ansprechen. Durch die Überführung der meist neutralen Kohlenhydrate bei hohem pH-Wert in ihre entsprechenden Anionen wird diese Analytgruppe für die Ionenchromatographie zugänglich. Für die Bestimmung von ionischen Verbindungen stellt die Ionenchromatographie die wichtigste Analysenmethode in wässrigen Systemen dar. In der Anionenaustauschchromatographie bei hohem pH-Wert entsteht durch eine einfache Kopplung mit der amperometrischen Detektion ein System, welches die direkte Bestimmung von Kohlenhydraten im Picomol-Bereich und ohne Derivatisierung in einer komplexen Matrix ermöglicht [4].

Die Entwicklung neuer Materialien für die Anionenaustauschchromatographie zur Trennung und Bestimmung von Zuckern ist von großer Bedeutung. Die Selektivität und Leistungsfähigkeit der Ionenchromatographie kann durch das Grundmaterial und die aufgebrachten funktionellen Gruppen verändert werden. Durch gezielte Veränderungen des strukturellen Aufbaus der Komponenten können spezielle Analysenprobleme gelöst werden. Es werden hohe Anforderungen an die Materialien gestellt, da die Trennung der Zucker mittels Anionenchromatographie Eluenten mit hohen pH-Werten voraussetzt. Die bisherigen Materialien genügen nicht den Anforderungen an die Trennleistung bei speziellen Problemstellungen, wie sie zum Beispiel in der Biochemie vorkommen. Daher sind sowohl neue Entwicklungen zur Erhöhung der chromatographischen Effizienz aber auch Entwicklungen im Bereich der Selektivität interessant, um Probleme bei der Trennung von Zuckern zu beseitigen.

Die als stationäre Phasen verwendeten Trägermaterialien bestehen in der Anionenchromatographie entweder aus porösen Silikagelen oder organischen Polymerharzen. Diese sphärischen Teilchen besitzen für eine effiziente Trennung einen Partikeldurchmesser zwischen 3 und 20 μm. Die Silika-Gele scheiden aufgrund ihrer geringen pH-Stabilität im alkalischen Medium als Trägermaterialien für die Bestimmung von Kohlenhydraten mittels Anionenchromatographie und amperometrischer Detektion aus. Organische Polymerharze können aus einer weiten Palette an Monomeren hergestellt werden und sind unter Anwendungsbedingungen chemisch stabil. Sehr weit verbreitet sind Trägermaterialien auf der Basis von Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymeren. Diese stellten den Ausgangspunkt dieser Arbeit dar.

Um vom Trägermaterial zum fertigen Anionenaustauscher zu gelangen, muss das Trägermaterial funktionelle Gruppen für den Anionenaustausch zur Verfügung stellen. Diese basieren in der Anionenchromatographie vorwiegend auf Stickstoff in Form von Ammoniumionen. Für die Fixierung der Austauschergruppen haben sich zwei Konzepte bewährt. Zum einen kann die Oberfläche des Trägermaterials direkt funktionalisiert werden. Im Falle dieser oberflächenfunktionalisierten Materialien werden hohe Anionenaustauschkapazitäten erreicht. Zum anderen können kleine funktionalisierte Partikel auf dem Trägermaterial elektrostatisch immobilisiert werden. Diese agglomerierten Ionenaustauscher zeichnen sich durch eine hohe Trennleistung aus.

Ziel dieser Arbeit ist es, bestehende Konzepte der Funktionalisierung von Trägermaterialien zu verbessern und neue Wege zu leistungsstarken Trennsäulen für die Bestimmung von Kohlenhydraten zu erarbeiten. Als Referenz dient ein kommerziell erhältliches System der Firma Metrohm mit der Trennsäule MetroSep Carb 1, welche für die Trennung von Kohlenhydraten entwickelt wurde. Als Ausgangspunkt der Untersuchungen dient ein definiertes Trägermaterial und dieses durchläuft den gesamten Weg von der Funktionalisierung bis zur Fertigung der Trennsäule und deren chromatographischer Charakterisierung. Im Bereich der Funktionalisierung sind sowohl oberflächenfunktionalisierte als auch agglomerierte Materialien Gegenstand dieser Arbeit.

Das Einführen einer funktionellen Gruppe auf Basis von Ammoniumionen ist durch eine direkte Reaktion mit dem Trägermaterial nicht möglich. Auf oberflächenfunktionalisierten Ionenaustauschern wird daher zunächst eine präfunktionelle Gruppe auf dem Trägermaterial eingeführt. In der Praxis hat sich dazu die Chloromethylierung bewährt. Diese führt eine Chlorgruppe in das Polymernetzwerk auf der Oberfläche ein, welche in einem weiteren Schritt mit einem tertiären Amin zur funktionellen Gruppe umgewandelt werden kann. Sowohl die Syntheseparameter der Chloromethylierung, als auch der Einfluss von unterschiedlichen funktionellen Gruppen auf die Trennleistung der erhaltenen Austauschermaterialien soll untersucht werden.

Neben der Chloromethylierung als Oberflächenmodifizierungsreaktion sollen in dieser Arbeit auch Beschichtungsreaktionen zum Einführen von präfunktionellen Gruppen auf dem Trägermaterial und ihr Einfluss auf die Trennung von Kohlenhydraten untersucht werden. Ein Vergleich der erhaltenen Materialien mit chloromethylierten Materialien soll zeigen, ob diese über eine ausreichende chemische Stabilität verfügen und sich ebenfalls zur Trennung von Kohlenhydraten einsetzen lassen. Auch hier bieten sich Untersuchungen zum Trennverhalten von Kohlenhydraten bei unterschiedlichem Aufbau der im Anschluss eingeführten Austauscherfunktionen an.

Auf dem Gebiet der agglomerierten Austauscher haben sich sogenannte Latexaustauscher bewährt. Aus dem Trägermaterial wird durch Sulfonierung ein hochkapazitiver, chemisch stabiler Kationenaustauscher hergestellt. Auf diesem werden durch elektrostatische Wechselwirkung kleine, aminierte Latexpartikel agglomeriert. Diese Latexpartikel werden zuvor durch Emulsionspolymerisation aus Polystyrol und Vinylbenzylchlorid, einem präfunktionellen Monomer, hergestellt und mit einem tertiären Amin funktionalisiert. Diese Materialien zeichnen sich aufgrund der kurzen Diffusionswege zwischen stationärer und mobiler Phase durch eine hohe

Trennleistung aus, besitzen allerdings deutlich weniger Anionenaustauschkapazität als oberflächenfunktionalisierte Materialien.

In dieser Arbeit sollen neben den bewährten Latexaustauschern eine neue Art von agglomerierten Austauschern auf die Eignung zur Trennung von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie untersucht werden. Neben sphärischen Latexpartikeln können auf Trägermaterialien mit negativ geladenen Gruppen auch andere kationische Strukturen immobilisiert werden. Die Herstellung von polykationischen Ketten mit quartären Ammoniumionen im Rückgrat der Kette ist sehr einfach gegenüber der Latexsynthese. Diese Ionene genannten Polyelektrolyten können in ihren Eigenschaften durch eine große Auswahl an Monomeren einfach in ihren Eigenschaften modifiziert werden. Es ist zu prüfen, welche Eigenschaften die Ionene aufweisen müssen, um für eine Trennung von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie geeignet zu sein. Im besonderen sollen durch Variation der Abstände zwischen den quartären Ammoniumionen die Polarität der Ionene beeinflusst werden. Auch die chemische Stabilität der herzustellenden agglomerierten Phasen gegenüber den stark alkalischen Eluenten ist zu untersuchen.

Alle hergestellten Ionenaustauscher sollen chromatographisch charakterisiert werden, um einen Einfluss der unterschiedlichen Phasen auf die Trenneigenschaften von Kohlenhydraten zu untersuchen. Interessant ist in diesem Zusammenhang, ob sich durch den Einsatz unterschiedlich modifizierter Ionenaustauscher ein Einfluss auf die Selektivität der Trennung von Kohlenhydraten erreichen lässt. Solche Selektivitätsänderungen sind bisher nur durch die Wahl des Eluenten erreicht worden, nicht durch Modifikation der stationären Phase.

2 Grundlagen der Ionenchromatographie

2.1 Allgemeines zur Chromatographie

Die Chromatographie erlaubt die Trennung von Stoffen, die sich in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften nur wenig unterscheiden. Diese Stoffgemische können sich in einer komplexen Matrix befinden [5] [6]. Die Trennung solcher Stoffgemische ist durch einen durchgeführten Trennschritt meist nicht zu erreichen. Bei der Chromatographie erfolgt die Trennung durch wiederholtes Verteilen zwischen zwei nicht mischbaren Phasen, wobei je nach Analyt diese Verteilung unterschiedlich ist. Die eine Phase ist mobil, die andere Phase ist stationär. Es werden wiederholte Trennschritte durchgeführt. In jedem Trennschritt werden die sich auf der stationären Phase befindlichen Komponenten je nach Stärke der Wechselwirkungen kürzer oder länger zurückgehalten.

Die Entdeckung der Chromatographie wird auf Tswett zurückgeführt, welchem 1903 als erstem die Trennung von Blattpigmenten auf einer festen polaren stationären Phase gelang [7] [8]. Zunehmende Bedeutung und eine Ausweitung auf andere Gebiete der Analytischen Chemie erlebte die Chromatographie mit ersten Arbeiten von Martin und James auf dem Gebiet der Gaschromatographie1952 [9] und der Weiterentwicklung der Dünnschichtchromatographie 1958 durch Stahl [10].

2.1.1 Einteilungen der Chromatographie

Über die Einteilung der Chromatographie in säulenchromatographische und planarchromatographische Verfahren wird auch die Art des erhaltenen Chromatogramms bestimmt. Von inneren Chromatogrammen spricht man bei den planarchromatographischen Techniken. Dort befinden sich die zu untersuchenden Komponenten zur gleichen Zeit auf unterschiedlichen Bereichen der stationären Phase und werden auf dieser direkt detektiert. Ein Beispiel ist die Dünnschichtchromatographie. Im Falle der säulenchromatographischen Technik, welche heute die dominierende Arbeitsweise ist, spricht man von äußeren Chromatogrammen. Hier legen alle Komponenten den gleichen Weg durch die stationäre Phase zurück und werden innerhalb eines Bereiches, meist am Ende der stationären Phase, aber zu unterschiedlichen Zeiten detektiert. Diese Zeiten und die Signalintensitäten ermöglichen eine qualitative und quantitative Bestimmung durch Vergleich mit einer Reinsubstanz in verschiedenen Konzentrationen. Dieses Vorgehen nennt man Elutionschromatographie. Zusätzlich sind auch andere Arbeitsweisen wie Frontal- und Verdrängungschromatographie bekannt [6].

Eine weitere Einteilung der Chromatographie erfolgt über die Art der mobilen Phase. Diese können Flüssigkeiten (LC – engl. *Liquid Chromatography*), Gase (GC – engl. *Gas Chromatography*) oder auch superkritische Phasen (SFC – engl. *Supercritical Fluid Chromatography*) sein. Flüssige mobile Phasen werden auch Eluent genannt. Aus den Kombinationsmöglichkeiten mit der stationären Phase können diese weiter unterteilt werden:

- SFC – engl. *Supercritical-Fluid-Chromatography*
- GLC – engl. *Gas-Liquid-Chromatography*
- GSC – engl. *Gas-Solid-Chromatography*
- LSC – engl. *Liquid-Solid-Chromatography*
- LLC – engl. *Liquid-Liquid-Chromatography*

Diese können nach physikalischen Vorgängen oder Ausführungsformen in weitere Arten der Chromatographie eingeteilt werden [5]. Für die analytischen Verfahren der LC wird meist der Begriff der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC, engl. *High Performance Liquid Chromatographie*) verwendet. Diese stellt eine der wichtigsten Methoden der analytischen Chemie dar und wurde erst mit der Verwendung kleiner Partikel (3–10 µm) möglich. Ihre Vorteile gegenüber der klassischen, in der präparativen Chemie häufig verwendeten, Flüssigchromatographie liegen in der hohen Effizienz, der hohen Empfindlichkeit der genutzten Detektionssysteme, der guten Reproduzierbarkeit und den kurzen Analysenzeiten. Meist ist die HPLC vollständig automatisiert, von der Probenaufgabe bis zur Auswertung des Ergebnisses. Die HPLC kann anhand der zu Grunde liegenden Trennprinzipien weiter eingeteilt werden. Es wird im folgenden nur kurz auf die Anwendungsgebiete und verwendeten Phasen eingegangen.

Verteilungschromatographie

In der Verteilungschromatographie werden meist nicht ionische bis polare Verbindungen getrennt. Als stationäre Phasen finden entweder mit einer Flüssigkeit überzogene Trägerpartikel oder chemisch an den Trägerpartikel gebundene Materialien Anwendung. Im ersten Falle wird die Flüssigkeit durch Adsorption auf dem Trägermaterial festgehalten, was den Nachteil des ständigen Verlustes durch Elution durch den flüssigen Eluenten und die damit verbundenen Regeneration der stationären Phase notwendig macht. Im Falle der chemisch gebundenen Phasen wird die stationäre Phase chemisch auf dem Trägermaterial immobilisiert. Als Trägermaterialien werden Kieselgele oder Kieselgelabkömmlinge verwendet. Als Beschichtung kommen Wasser oder Triethylenglycol zum Einsatz. Diese Art der Chromatographie aus hochpolaren stationären Phasen wird aus historischen Gründen Normalphasenchromatographie genannt. Als mobile Phasen kommen unpolare Lösungsmittel wie Hexan oder Isopropylether zum Einsatz. Die Umkehrphasenchromatographie (oder auch RP-Chromatographie, engl. *Reversed Phase Chromatography*) hat dagegen eine unpolare Beschichtung, meist in Form von langkettigen Kohlenwasserstoffen und es werden polare mobile Phasen wie Wasser, Methanol oder Acetonitril verwendet. Sie ermöglicht auch die Trennung von unpolaren Analyten, welche in den polaren mobilen Phasen noch löslich sind.

Adsorptionschromatographie

Die Adsorptionschromatographie ist eine klassische Form der HPLC. Als Analyten sind unpolare organische Substanzen am besten geeignet, welche sich nicht mehr in den polaren mobilen Phasen der Umkehrphasenchromatographie lösen. Die verwendeten stationären Phasen basieren auf Kieselgel oder Aluminiumoxid. Als mobile Phasen werden unpolare Lösungsmittel verwendet. Ein starker Vorteil der Adsorptionschromatographie gegenüber der Verteilungschromatographie ist die Fähigkeit, zwischen Isomerengemischen besser trennen zu können, wobei die Trennung von Homologen eher eine Stärke der Verteilungschromatographie ist [5].

Größenausschlusschromatographie

Die Größenausschlusschromatograhie (SEC, engl. *Size Exclusion Chromatography*) kann mit hoher Leistungsfähigkeit hochmolekulare Verbindungen nach ihrer Größe trennen, womit sie sich vor allem zur Analytik von großen Biomolekülen und Polymeren eignet. Sie wird auch je nach Polarität der Analyten als Gelpermeationschromatographie (unpolar) oder Gelfiltrationschromatographie (polar, ionisch) bezeichnet. Als stationäre Phasen finden in der SEC Kieselgel- oder Polymerteilchen, die mit einem Netzwerk aus gleichmäßigen Poren durchzogen sind, Anwendung. Die Analytmoleküle sollten im Idealfall keine Wechselwirkungen mit der stationären Phase eingehen, damit die Trennung nur auf der unterschiedlichen Verweilzeit in der stationären Phase, aufgrund der unterschiedlichen Porengrößen resultiert. Große Analytmoleküle werden demnach durch den Ausschluss aus den meisten Poren schnell eluiert, während kleine Analytmoleküle größere Bereiche des Porenlabyrinths durchdringen können und damit später eluieren.

Affinitätschromatographie

Die Affinitätschromatographie trennt die Analyten aufgrund von selektiven oder spezifischen Wechselwirkungen zwischen funktionellen Gruppen der stationären Phase und den Analytmolekülen. Die Affinitätschromatographie wird z.B. zur Trennung von Proteinen aufgrund spezifischer Bindungseigenschaften eingesetzt. An die stationäre Phase ist eine funktionelle Gruppe gebunden, die eine hohe Affinität zu einem bestimmten Protein besitzt. Dieses bindet an den Liganden, während andere Proteine aus der Säule herausgewaschen werden. Anschließend wird das spezifisch gebundene Protein mit einer Lösung eluiert, die den freien Liganden enthält.

Ionenchromatographie

Auf die Ionenchromatographie wird im speziellen in Kapitel 2.2 auf Seite 26 eingegangen.

2.1.2 Chromatographische Grundgrößen

Eine zeitliche Aufzeichnung des Detektorsignals bei einem chromatographischen Prozess nennt man Chromatogramm. Diesem chromatographischen Prozess liegen einige wichtige Größen zu Grunde, die im folgenden kurz erläutert werden sollen. Hierbei wird nur auf die in der Säulenchromatographie wichtigen Größen Bezug genommen.

Verteilungskoeffizient

Bringt man einen Analyten in einen chromatographischen Prozess ein, so stellt sich nach kurzer Zeit ein Verteilungsgleichgewicht des Analyten A zwischen der stationären und der mobilen Phase ein.

$$A_{mob.Phase} \rightleftharpoons A_{stat.Phase} \tag{2.1}$$

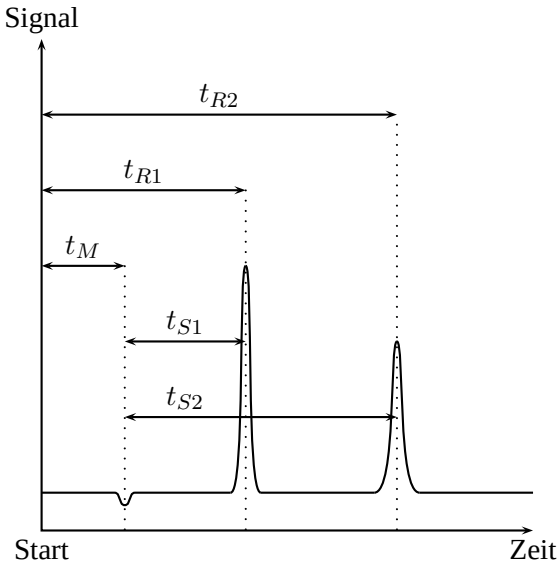


Abbildung 2.1: Chromatogramm einer Trennung von zwei Stoffen.

Ist das Verteilungsgleichgewicht zwischen verschiedenen Analyten hinreichend unterschiedlich, so kann eine Trennung der Stoffe erfolgen. Das Verhältnis der Konzentrationen des Analyten auf der stationären Phase c_S und in der mobilen Phase c_M ist als Verteilungskoeffizient K definiert.

$$K_A = \frac{c_S}{c_M} \tag{2.2}$$

Stoffe mit einem hohen Verteilungskoeffizienten halten sich demnach länger auf der stationären Phase als in der mobilen Phase auf und werden stärker zurückgehalten. Der Verteilungskoeffizient kann nicht direkt aus dem Chromatogramm ermittelt werden.

Nettoretentionszeit, Bruttoretentionszeit, Totzeit

Die Zeit, die ein Stoff infolge von Wechselwirkungen mit der stationären Phase benötigt, um von der Säule zu eluieren nennt man Retentionszeit. Genauer betrachtet wird die Gesamtzeit, welche von der Probenaufgabe bis zur Detektion vergeht, Bruttoretentionszeit t_R benannt. Diese setzt sich aus der Nettoretentionszeit t_S und der Totzeit t_M zusammen.

$$t_R = t_S + t_M \tag{2.3}$$

Die Nettoretentionszeit ist die Zeit, in welcher ein Stoff auf der stationären Phase retardiert (zurückgehalten) wird. Die Durchflusszeit der mobilen Phase beschreibt die Totzeit. Anhand der Bruttoretentionszeit t_R kann die mittlere Wanderungsgeschwindigkeit $\bar{v}$ und mit Hilfe der Totzeit t_M die durchschnittliche Geschwindigkeit der mobilen Phase u bestimmt werden, wenn die Länge der Säulenpackung L bekannt ist.

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad ; \quad u = \frac{L}{t_M} \tag{2.4}$$

Diese Zusammenhänge sind in Abbildung 2.1 nochmals verdeutlicht.

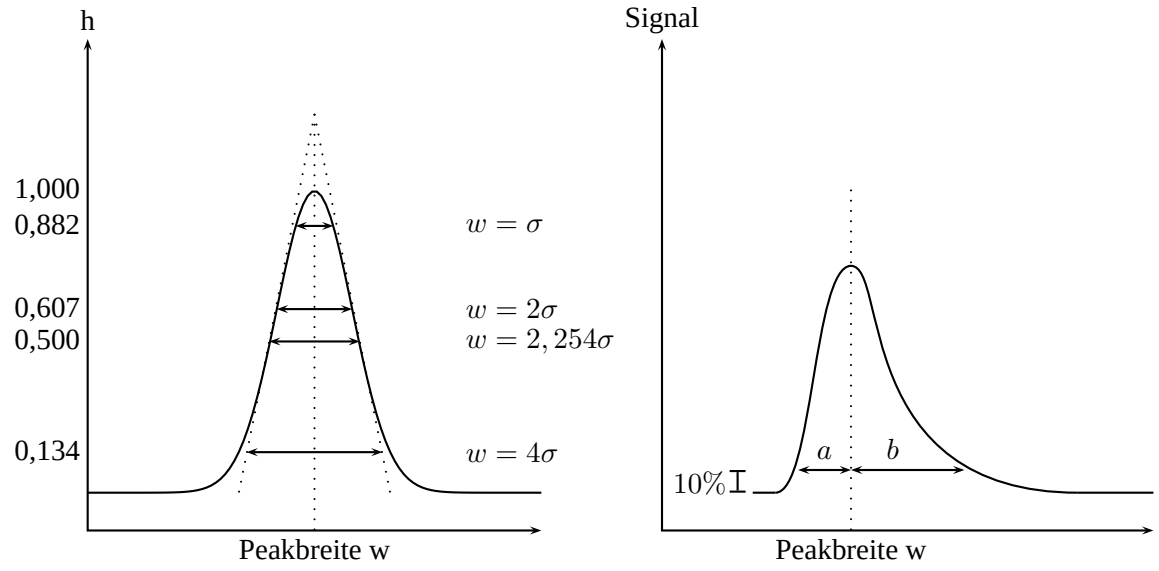


Abbildung 2.2: Gaussverteilung mit charakteristischen Kenngrößen und Definition des Asymmetriefaktors.

Asymmetriefaktor

Die Form eines chromatographischen Signals ist in erster Näherung durch eine Gauss-Kurve zu beschreiben. Durch Unregelmäßigkeiten in der Wechselwirkung mit der stationären Phase, Diffusionsprozessen und Kanalbildung verbreitern sich die Signale bei zunehmender Retentionszeit. Daher werden in der Praxis keine scharfen Signale, sondern im Idealfall gaussförmige Signale für die Analyten erhalten. Für nicht ideales Verhalten beschreibt der Asymmetriefaktor A_s die Abweichung eines chromatographischen Signals von der Gausskurve.

$$A_s = \frac{b}{a} \tag{2.5}$$

Dabei sind a und b die Strecken, die auf 10 % höhe der Signale von einem durch das Signalmaximum gefällten Lotes zu den Signalflanken nach links und rechts reichen. Diese Zusammenhänge sind in Abbildung 2.2 nochmals veranschaulicht. Ist die Asymmetrie $A_s > 1$, so spricht man von einem Tailing, ist die Asymmetrie $A_s < 1$, so spricht man von einem Fronting. Der Tailingeffekt lässt sich meist auf Adsorptionseffekte zurückführen. Ein Fronting kann durch eine zu geringe Kapazität der Säule entstehen, wenn ein Teil der Analyten keine Wechselwirkungen mit der stationären Phase eingehen kann, da alle Plätze zur Wechselwirkung belegt sind. In der Praxis werden Asymmetrien von 0,9 bis 1,2 als gut bezeichnet.

Retentionsfaktor

Der Retentionsfaktor k' ermöglicht es gegenüber der Bruttoretentionszeit eine Aussage über die Retention einer Substanz bei unterschiedlichen chromatographischen Systemen zu geben. Der Retentionsfaktor selbst ist eine dimensionslose Größe, der die Verweildauer des Analyten auf der stationären Phase in Bezug zur Verweildauer in der mobilen Phase beschreibt. Man kann den Retentionsfaktor somit aus dem Verhältnis aus Nettoretentionszeit t_S und Totzeit t_M erhalten. Ebenso kann der Retentionsfaktor aus einem Produkt aus dem Verteilungskoeffizienten K und dem Volumenverhältnis ϕ aus stationärer Phase V_S und mobiler Phase V_M

erhalten werden. Die Beziehung zwischen der Länge der Trennstrecke L, der Geschwindigkeit der mobilen Phase u und der Bruttoretentionszeit t_R führt ebenfalls zum Retentionsfaktor.

$$k' = K \cdot \frac{V_S}{V_M} = K \cdot \frac{m_S}{V_M} = \frac{t_S}{t_M} = \frac{u \cdot t_R}{L} - 1 \tag{2.6}$$

Erhält man kleine Werte für k', so eluieren die Substanzen nahe am Totvolumen, werden also kaum retardiert. Werden die Retentionsfaktoren dagegen groß, so steigen die Analysenzeiten stark an, aber die Trennung wird besser.

Selektivitätsfaktor

Der Selektivitätsfaktor α ist ein Maß für die relative Trennung zweier Stoffe zueinander. Die Selektivität wird hauptsächlich von der stationären Phase beeinflusst. In der Flüssigkeitschromatographie kann auch die Zusammensetzung des Eluenten einen Einfluss auf die Selektivität haben. Er ist definiert als das Verhältnis der Retentionsfaktoren zueinander.

$$\alpha = \frac{t_{S_2}}{t_{S_1}} = \frac{k'_2}{k'_1} \qquad \text{mit} \qquad k'_2 > k'_1 \tag{2.7}$$

Ist der Selektivitätsfaktor $\alpha = 1$, so sind zwei Substanzen nicht voneinander trennbar, da keine thermodynamischen Unterschiede zwischen den Substanzen bestehen. Ein Selektivitätsfaktor von $\alpha \approx 1,5$ ist in der Praxis ausreichend. Ist der Selektivitätsfaktor größer, so steigt der Zeitaufwand der Trennung ohne weitere Trennung der Signale zu erreichen.

Auflösung

Da der Selektivitätsfaktor nur die relative Lage der Peaks zueinander berücksichtigt, nicht aber ihre Breite ist die Auflösung R der Peaks entscheidend für die Güte des Trennvorgangs.

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{\frac{w_1 - w_2}{2}} = \frac{2 \cdot \Delta t_R}{w_1 - w_2} = 1,198 \cdot \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{b_{(0,5)_1} - b_{(0,5)_2}} \tag{2.8}$$

Wenn die Differenz in den Retentionszeiten der beiden Peaks größer ist als die Halbwertsbreiten $b_{(0,5)}$ der Banden, so ist die Trennung gut. Beträgt $R = 0,5$, so sind in einem Signal gerade noch zwei Komponenten zu erkennen. Für eine qualitative Trennung sollte die Auflösung $R = 1$ betragen (4σ-Trennung). Für quantitative Trennungen sollte die Auflösung $R > 1,2$ betragen [5], besser noch $R = 2,0$ (8σ-Trennung) [11].

2.1.3 Chromatographische Effizienz

Betrachtet man die Wanderung einer Substanz durch eine Säule, so beobachtet man eine Bandenverbreiterung. Dies erfolgt durch Diffusionsprozesse und Strömungsvorgänge, wie schon in Kapitel 2.1.2 auf der vorherigen Seite erwähnt. Die besten Trennungen lassen sich erreichen, wenn die Bandenverbreiterung ein Minimum erreicht. Das Modell der theoretischen Trennböden stellt eine Beziehung zwischen der Bandenverbreiterung und der Analytenbewegung her. Dieses Modell hat seinen Ursprung in der Beschreibung von Destillationsprozessen und wurde als erstes von Martin und Synge verwendet [12]. Ein theoretischer Boden entspricht dabei genau einer reversiblen und unendlich schnellen Gleichgewichtseinstellung zwischen mobiler und stationärer Phase.

Modell der theoretischen Trennstufen

Die Anzahl an theoretischen Trennstufen N kann mit Hilfe der Halbwertsbreiten und der Bruttoretentionszeit bestimmt werden.

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w}\right)^2 = 8 \cdot \ln(2) \cdot \left(\frac{t_R}{b_{0,5}}\right)^2 = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2 \tag{2.9}$$

Bezieht man die theoretischen Trennböden auf die Strecke der Trennung, so lassen sich leicht vergleichbare Werte in Form von Trennböden pro Meter (engl. *Theoretical Plates per Meter*, TP m^{-1}) angeben. Sie lassen sich zur Beschreibung der chromatographischen Effizienz stationärer Phasen heranziehen. Die Effizienz einer Trennung steigt mit der Anzahl der Trennstufen und der Abnahme der Trennbodenhöhe. Typische Trennbodenzahlen für die Flüssigkeitschromatographie können von wenigen hundert bis mehreren zehntausend liegen.

Eine Korrektur nicht gaussförmiger Signale, welche in der Praxis meist vorliegen, kann mit Hilfe des Asymmetriefaktors erfolgen.

$$N = 41,7 \cdot \frac{\left(\frac{t_R}{b_{0,5}}\right)^2}{A_s + 1,25} \tag{2.10}$$

Trennstufenhöhe (HETP)

Ein weiteres Maß für die chromatographische Effizienz ist die Trennstufenhöhe, HETP (engl. *Height Equivalent to a Theoretical Plate*).

$$\text{HETP} = \frac{\sigma^2}{L} = \frac{L}{8 \cdot \ln(2)} \cdot \left(\frac{b_{0,5}}{t_R}\right)^2 = \frac{L}{16} \cdot \left(\frac{t_R}{w}\right)^2 \tag{2.11}$$

Hiermit kann eine Beziehung zu der gaussähnlichen Form eines chromatographischen Signals hergestellt werden, da die Breite einer Gausskurve in direkter Beziehung zur Varianz σ^2 steht. Dies resultiert vor allem aus den endlichen Geschwindigkeiten, mit welchem die Massentransfervorgänge zwischen der mobilen und stationären Phase stattfinden. In Bezug auf die Länge der Trennstrecke erhalten wir somit ein Maß für die Effizienz der Trennsäule. Die relative Trennleistung, die durch die effektive Trennstufenzahl n beschrieben wird, ist um den Retentionsfaktor k' korrigiert.

$$n = N \cdot \left(\frac{k'}{k' + 1}\right)^2 \tag{2.12}$$

Die Trennstufenhöhe ist mit den theoretischen Trennböden über die Länge der Trennstrecke verknüpft.

$$\text{HETP} = \frac{L}{N} \tag{2.13}$$

Van-Deemter-Gleichung (Dynamische Theorie)

In dem theoretischen Modell zu den Trennstufen werden kaum Aussagen über die Art und Qualität der stationären oder mobilen Phase gemacht. Daraufhin stellte Van-Deemter seine nach ihm benannte Van-Deemter-Gleichung auf, um die Einflüsse der Flussrate der mobilen Phase und der stationären Phase zu zeigen.

$$\text{HETP} = A + \frac{B}{u} + C \cdot u \tag{2.14}$$

Dabei berücksichtigt der Term A die Streudiffusion (Eddy-Diffusion). Diese entsteht aufgrund der unterschiedlich langen Wegstrecken durch die stationäre Phase. Diese Wegstrecken sind im wesentlichen von der Packungsgüte der stationären Phase und weniger von der linearen Geschwindigkeit der mobilen Phase u abhängig. Die Packungsgüte wird durch den mittleren Teilchendurchmesser d_p und der statistischen Unregelmäßigkeit der Packung λ definiert.

$$A = 2 \cdot \lambda \cdot d_p \tag{2.15}$$

Der Term B berücksichtigt die Longitudinaldiffusion in oder entgegen der Strömungsrichtung. Er ist im wesentlichen vom Diffusionkoeffizenten D_M und dem Obstruktionsfaktor k_D der stationären Phase abhängig. Der Obstruktionsfaktor beschreibt die gehinderte Diffusion durch die Säulenpackung und liegt bei gepackten Säulen um 0,6, bei ungepackten Säulen bei 1,0. Dieser Term spielt vor allem bei Systemen mit großen Diffusionskoeffizienten eine Rolle, wie zum Beispiel in der Kapillar-Gaschromatographie.

$$B = 2 \cdot k_D \cdot D_M \tag{2.16}$$

Betrachtet man die Diffusion im Vergleich zur Strömungsgeschwindigkeit u der mobilen Phasen, so nimmt die Bedeutung der Diffusion bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten ab, da die Verweilzeit in der Trennsäule kürzer wird und weniger Zeit zur Diffusion besteht.

Der Term C wird als Massentransferterm bezeichnet. Dieser trägt am stärksten zur Bandenverbreiterung bei. Betrachtet man die Geschwindigkeit der mobilen Phase, so sind die Diffusionskoeffizienten in der stationären Phase D_S eher klein. Daher tritt eine Verzögerung in der Gleichgewichtseinstellung ein, was zu einer Bandenverbreiterung führt. Die langsam in der stationären Phase diffundierenden Teilchen bewegen sich den in der mobilen Phase befindlichen Teilchen hinterher. Wird der Austauschvorgang in der stationären Phase durch kurze Diffusionswege beschleunigt, so steigt auch die chromatographische Effizienz. Daraus ergibt sich der Massentransferterm C.

$$C = \frac{16 \cdot k'}{\pi \cdot (1 + k')} \cdot \frac{dp^2}{D_S} \tag{2.17}$$

Für die Van-Deemter-Gleichung ergibt sich dann das in Abbildung 2.3 auf der nächsten Seite gezeigte Profil. Das dort gezeigte Minimum der Van-Deemter-Kurve gibt die Flussrate wieder, bei der die Trennstufenhöhe minimal ist, und damit die Trennleistung maximal.

2.2 Ionenchromatographie

Da sich die vorliegende Arbeit hauptsächlich mit Methoden der Ionenchromatographie (IC) beschäftigt, wird im speziellen auf die Ausführungsformen und Techniken der Ionenchromatographie eingegangen. Die Ionenchromatographie ist eine Ausführungsform der HPLC. Die moderne Ionenchromatographie beruht auf der Trennung von Analyten aufgrund unterschiedlicher Ionenaustauschaffinitäten. Sie ist aus der klassischen Säulenchromatographie hervorgegangen, bei der große mesoporöse Ionenaustauscher mit zum Teil sehr großen Funktionalisierungsgraden bis zu 5 mmol g^{-1} eingesetzt wurden [11]. Diese brauchten jedoch stark konzentrierte Eluenten und die Trennungen dauerten lange. Wegen der geringen chromatographischen Effizienz waren die Trennungen schlecht. Erst das Einführen neuer stationärer Phasen von Small et al. [13], deren chromatographische Effizienz durch eine Verringerung des Teilchendurchmessers und damit kürzeren Diffusionswegen deutlich gestiegen ist,

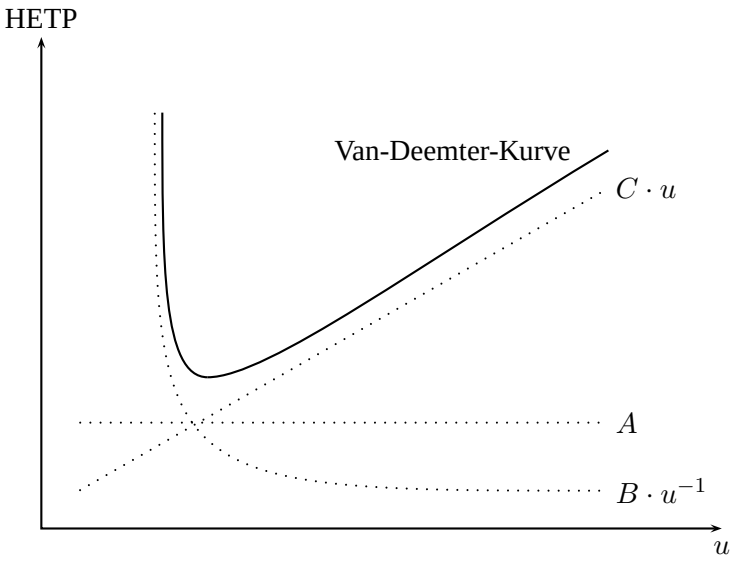


Abbildung 2.3: Graphische Darstellung der Van-Deemter-Geleichung.

sowie die Einführung kontinuierlich arbeitender Detektorsysteme führte zur heute bekannten modernen Ionenchromatographie.

2.2.1 Einteilungen der Ionenchromatographie

In der Ionenchromatographie unterscheidet man zwischen drei Trennmechanismen:

- Ionenaustausch
- Ionenpaarbildung
- Ionenausschluss

Diese Trennmechanismen sind als Grenzfälle zu betrachten und in der Realität liegen häufig mehrere Mechanismen nebeneinander vor. Wenn ein Trennmechanismus dominiert, dann wird die Methode nach diesem Mechanismus benannt. Neben den aufgezählten Trennmechanismen können auch Adsorptionseffekte oder Größenausschlusseffekte auftreten.

Ionenaustauschchromatographie

In der Ionenaustauschchromatographie (IEC, engl. *Ion Exchange Chromatographie*) werden die Analytionen durch reversible Austauschprozesse an der stationären Phase getrennt. In der Ionenaustauschchromatographie werden Trägermaterialien verwendet, auf deren Oberflächen meist Ammoniumbasen (Anionenchromatographie) oder Carboxylgruppen (Kationenchromatographie) fixiert sind. In der Nähe zu diesen Gruppen befinden sich die entsprechenden Gegenionen, welche entweder aus dem Eluenten stammen, oder Analyten sind. Dieser Austauschprozess ist in Abbildung 2.4 auf der nächsten Seite dargestellt.

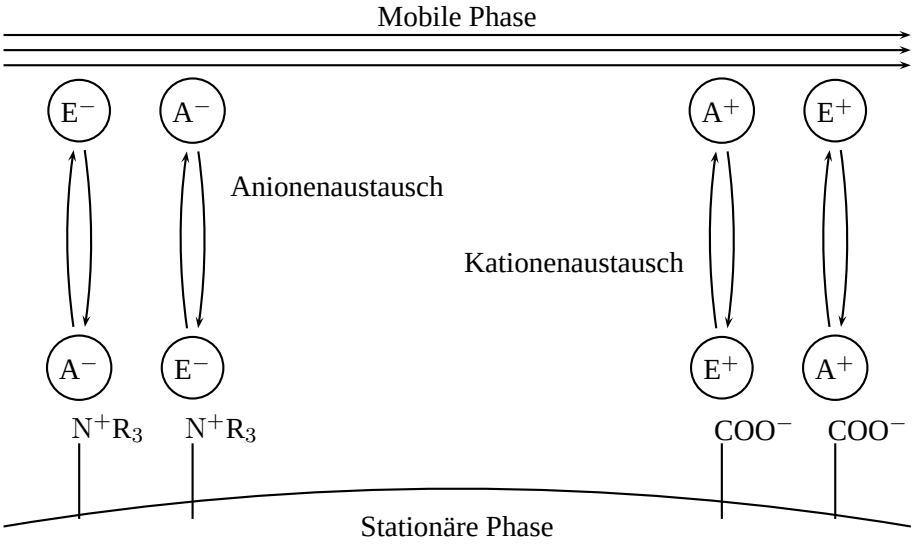


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung des Ionenaustauschprozesses.

Die Trennung der Analytionen erfolgt durch die unterschiedlich hohen Affinitäten der Ionen zu der stationären Phase. Im Falle von Anionen als Analyten A^- verweilen diese je nach Affinität länger oder kürzer an der stationären Phase, bis sie von einem Konkurrenzion E^- aus dem Eluenten wieder verdrängt werden.

$$\text{Harz-N}^+\text{R}_3\text{E}^- + \text{A}^- \rightleftharpoons \text{Harz-N}^+\text{R}_3\text{A}^- + \text{E}^- \tag{2.18}$$

Die für dieses Gleichgewicht charakteristische Konstante wird als Selektivitätskoeffizient K bezeichnet.

$$K = \frac{c(\text{Harz-N}^+\text{R}_3\text{A}^-) \cdot c(\text{E}^-)}{c(\text{Harz-N}^+\text{R}_3\text{E}^-) \cdot c(\text{A}^-)} = \frac{c(\text{A}^-)_s \cdot c(\text{E}^-)_m}{c(\text{E}^-)_s \cdot c(\text{A}^-)_m} \tag{2.19}$$

Unterscheiden sich nun die Analytionen genügend in ihrer Affinität zur stationären Phase, so findet eine Trennung der Ionen statt. Da die Konzentration der Eluentionen um ein vielfaches höher liegt, als die der Analytionen, kann diese als konstant angesehen werden und damit wird die Berechnung des Verteilungskoeffizienten K_A in Gleichung 2.2 auf Seite 22 möglich. Der Selektivitätskoeffizient kann experimentell ermittelt werden. Zu einer definierten Menge an stationärer Phase werden Lösungen bekannter Konzentrationen an Eluentionen E^- und Analytionen A^- gegeben. Anschließend wird die Konzentration der Ionen nach der Gleichgewichtseinstellung bestimmt. Dabei ist zu beachten, das eigentlich nicht die Konzentrationen verwendet werden dürfen, sondern die Aktivitäten der Lösungen.

$$a_i = f_i \cdot c_i \tag{2.20}$$

Die Berechnung dieser Aktivitäten in der Umgebung eines Ionenaustauschers ist jedoch kaum möglich. In den meisten Problemstellungen ist die Konzentration der Ionen allerdings so gering, das näherungsweise die Konzentrationen verwendet werden können. Bei der Bestimmung von Kohlenhydraten werden allerdings recht häufig stark konzentrierte Eluenten verwendet, bei denen dieser Unterschied nicht mehr vernachlässigbar ist.

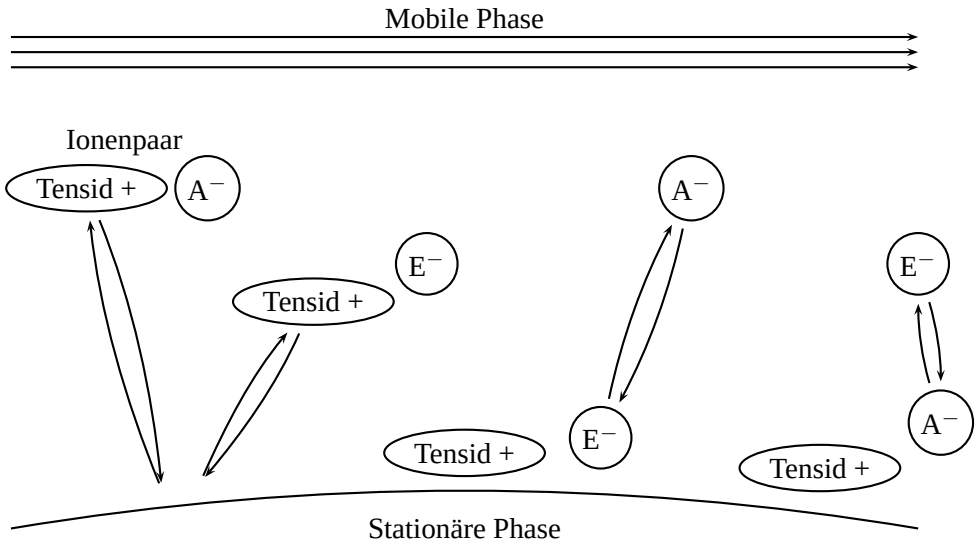


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung der Ionenpaarchromatographie.

Ionenpaarchromatographie

In der Ionenpaarchromatographie (RPIPC, engl. *Reversed Phase Ion Pair Chromatography*) wird dem Eluenten ein Ionenpaarreagenz zugesetzt. Das sind im allgemeinen anionische oder kationische Tenside. Diese bilden mit den Analytionen ein Ionenpaar, welches nach außen neutral erscheint. Durch den großen hydrophoben Rest des Ionenpaarreagenzes lassen sich nun die Analyten an einer aus der HPLC bekannten unpolaren Reversed-Phase trennen. Zudem belegt das Tensid die Oberfläche der stationären Phase und der polare Teil dient formal als Ionenaustauscher.

Der Retentionsmechanismus ist bis heute noch nicht aufgeklärt [11]. In zwei diskutierten Modellen wird entweder der Trennung der neutralen Ionenpaarmoleküle an der unpolaren stationären Phase oder der Belegung der stationären Phase mit dem Tensid und anschließendem Ionenaustausch ein größerer Stellenwert eingeräumt. Die Stofftrennung erfolgt dann aufgrund der unterschiedlichen Ionenpaarbildungskonstanten und der unterschiedlichen Affinität der Ionenpaare zur stationären Phase. In Abbildung 2.5 sind diese Zusammenhänge verdeutlicht.

Ionenausschlusschromatographie

Das Prinzip der Ionenausschlusschromatographie (ICE, engl. *Ion Chromatography Exclusion*) ermöglicht vorwiegend die Trennung von Säuren oder Basen geringer Stärke. Diese sind meist organischer Natur, worunter unter anderem Carbonsäuren, Phenole aber auch Kohlenhydrate fallen. Bei der Trennung schwacher Säuren wird als Material ein vollständig sulfonierter Kationenaustauscher verwendet, als Eluent eine starke Mineralsäure wie Salzsäure. Der Kationenaustauscher bildet unter diesen Bedingungen eine neutrale Oberfläche aus negativen Sulfonsäureanionen und Protonen als Gegenionen. Die negativ geladenen Sulfonsäureanionen bilden auf der Oberfläche eine negativ geladene Membran (Donnan-Membran), welche für Anionen nicht permeabel ist (siehe Abbildung 2.6 auf der nächsten Seite). Schwache Säuren liegen unter diesen stark sauren Bedingungen nahezu vollständig protoniert und damit ungeladen vor. Diese Moleküle können die Membran überwinden

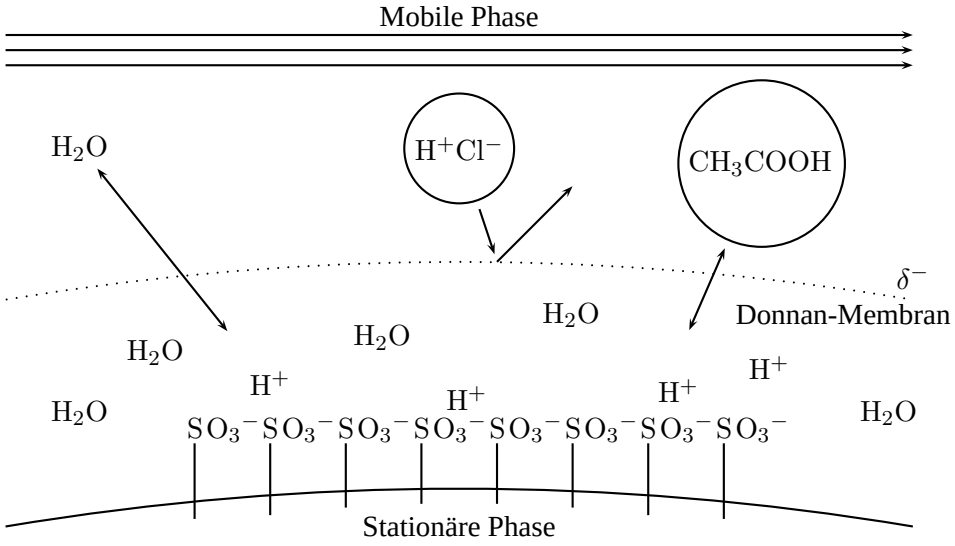


Abbildung 2.6: Schematische Darstellung der Ionenausschlusschromatographie.

und in die stationäre Phase diffundieren und adsorbieren. Total dissoziierte Säuren können aufgrund ihrer Ladung nicht zur stationären Phase vordringen und eluieren im Ausschlussvolumen V_e. Dem entgegen steht die Retentionszeit des Wassers, welches ungeladen in alle Poren der stationären Phase eindringen kann. Diese Retentionszeit wird als total permeiertes Volumen V_p bezeichnet. Größere Retentionszeiten als V_p können durch Adsorptionserscheinungen an der stationären Phase auftreten. Die Trennung der Analyten erfolgt durch die unterschiedlichen pK_s-Werte. Für die nicht so häufig verwendete Trennung von Basen verwendet man dementsprechend Anionenaustauscher und stark basische Eluenten.

2.2.2 Apparativer Aufbau der Ionenchromatographie

Die Geräte der modernen Flüssigkeitschromatographie müssen wegen der zunehmenden Miniaturisierung der Säulendimensionen wie auch des Säulenmaterials immer höheren Anforderungen gerecht werden. Dies gilt vor allem für die vier wichtigsten Komponenten einer HPLC.

Pumpe: Eine Hochleistungspumpe sollte pulsationsfrei bis zu Drücken von 40 MPa bei Fließgeschwindigkeiten von 0,1 bis 10 mL min^{-1} und einer Reproduzierbarkeit von 0,5 % oder besser arbeiten können. Ebenso sollte sie aus korrosionsbeständigen Bauteilen bestehen (rostfreier Stahl, Teflon). Verwendung finden meist elektromotor gesteuerte Hubkolbenpumpen mit Kugelventilen, welche sich durch ein geringes Innenvolumen und hohe Ausgangsdrücke auszeichnen. Damit sind sie besser als Verdrängungspumpen oder pneumatische Pumpen für die häufig angewendete Gradientenelution geeignet.

Säule: Effiziente Packungsmaterialien erfordern kleine Teilchendurchmesser von 3 bis 10 μm, die auch bei unterschiedlichsten Lösungsmitteln oder pH-Werten stabil sind. Auf einige weitere Eigenschaften von Packungsmaterialien, speziell auch zur Trennung von Kohlenhydraten, wird ausführlich in Kapitel 4.1 auf Seite 51 eingegangen.

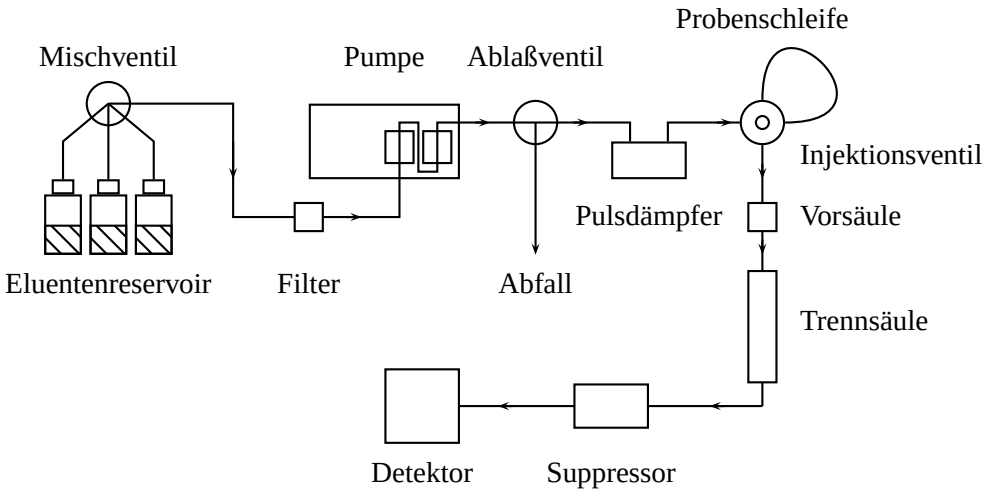


Abbildung 2.7: Schematischer Aufbau eines Ionenchromatographen.

Injektor: Das Probeneinlaßsystem muss reproduzierbar die Probenmengen von wenigen μL bis mehreren mL zugeben können. Dazu werden heute Probenschleifeninjektoren verwendet, welche die Probe in den unter Druck stehenden Eluentenstrom injizieren.

Detektor: Immer kleiner werdende Nachweisgrenzen und komplexe analytische Problemstellungen erzwingen effiziente Detektorsysteme. Diese müssen eine für die Fragestellung ausreichende Empfindlichkeit, eine gute Stabilität und Reproduzierbarkeit aufweisen, einen linearen dynamischen Bereich über mehrere Größenordnungen besitzen, kurze Ansprechzeiten und Messvolumina haben, und möglichst zerstörungsfrei und selektiv einzelne Analytgruppen detektieren können. Detektionssysteme für die Ionenchromatographie werden in Kapitel 2.2.3 aufgeführt.

Je nach Ausführungsform werden zum Betrieb noch weitere wichtige Bauteile, wie Eluentreservoire, Mischventile für Gradientenbetrieb, Pulsdämpfer, Filter oder Suppressoren benötigt, wie für die Anionenaustauschchromatographie beispielhaft in Abbildung 2.7 ersichtlich ist.

2.2.3 Detektionsarten in der Ionenchromatographie

In der Ionenchromatographie können eine ganze Reihe von Detektionsarten eingesetzt werden, da die ionische Form der Analyten eine breite Palette an Detektionsmethoden zulässt. Die jeweilige Detektionsart muss an die analytische Fragestellung angepasst sein, um ein Optimum aus hoher Messempfindlichkeit, großem linearen Bereich, geringem Drift und einer geringen Anfälligkeit für Störsignale und Untergrund zu bieten. Bei einigen Fragestellungen kann auch die Selektivität des Detektors eine Rolle spielen. Ein selektiver Detektor spricht dabei nur auf Eigenschaften des Analyten an und nicht auf eine Gesamteigenschaft des Systems aus Analyten und Eluenten. Grundsätzlich kann man zwischen elektrochemischen und spektroskopischen Verfahren unterscheiden. Zudem werden Kopplungstechniken mit eigenständigen Analysemethoden immer wichtiger.

Elektrochemische Verfahren

Die Leitfähigkeitsdetektion stellt im Bereich der Ionenanalytik eines der wichtigsten Detektionssysteme dar [11]. Der Leitfähigkeitsdetektor ist ein nicht selektiver Detektor, der sich durch einen einfachen Aufbau und eine hohe Lebensdauer auszeichnet. Das Messprinzip beruht auf einer Messung der Leitfähigkeit des Eluentenstroms zwischen zwei Platinelektroden, an denen eine Wechselspannung angelegt wird. Der zwischen den Elektroden fließende Strom wird dabei von einem Amperemeter registriert. Nach dem Ohmschen Gesetz

$$R = \frac{U}{I} \tag{2.21}$$

kann nun der Widerstand R berechnet werden. Die Leitfähigkeit G ist definiert als Kehrwert des elektrischen Widerstandes.

$$G = \frac{1}{R} \tag{2.22}$$

Da die in der Ionenanalytik verwendeten Eluenten meist schon eine hohe Eigenleitfähigkeit besitzen, muss zur Erfassung der im Vergleich dazu viel kleineren Beträge der Analytionenleitfähigkeit eine geeignete Suppression des Eluenten stattfinden (siehe auch Kapitel 2.2.4 auf der nächsten Seite). Die Alternative ist die Verwendung von Eluenten mit geringer Eigenleitfähigkeit.

Weitere elektrochemische Detektionsarten wie die Amperometrie, Voltammetrie und Coulometrie lassen sich vor allem auf leicht oxidier- oder reduzierbare Analyten anwenden, welche hierfür geeignete funktionelle Gruppen aufweisen. Sie haben meist den Nachteil, nicht zerstörungsfrei zu arbeiten. Die amperometrische Detektion wird für die Analyse von Kohlenhydraten mit pK-Werten größer sieben verwendet. Da diese Detektionsmethode für die Zuckerbestimmung in dieser Arbeit verwendet wird, erfolgt eine ausführliche Beschreibung in Kapitel 3.5 auf Seite 47.

Photometrische Detektion

Die in der HPLC weit verbreitete photometrische Detektion mittels UV-Absorption scheitert in der Ionenchromatographie durch die geringe Anzahl Anionen, die sich durch direkte Detektion nachweisen lassen [14]. Darunter fallen unter den Standardanionen die Analyten Nitrat, Bromid oder Iodid. Wichtige anionische Analyten wie Fluorid, Sulfat oder Phosphat können allerdings nur durch indirekte Detektion bestimmt werden, indem die Absorption des Eluentsystems verfolgt wird.

Auch die meisten Kationen lassen sich nicht durch direkte Absorption bestimmen, sondern müssen durch Nachsäulenderivatisierung mit einem Komplexbildner für die Detektion zugänglich gemacht werden. Die empfindliche Fluoreszenzdetektion beschränkt sich auf nur wenige Analyten und kommt daher nur in Spezialfällen zur Anwendung.

Brechungsindexdetektor

Eine weites Spektrum an Analyten können durch photometrische Detektoren erfasst werden, welche nicht auf die Analyten, sondern auf die Eluenteneigenschaften sensitiv reagieren. Hierbei ist eine universell anwendbare Möglichkeit durch die Verfolgung des Brechungsindexes gegeben. Der Detektor ist dabei als Durchflußdifferentialrefraktometer aufgebaut. Er misst kontinuierlich die Abweichung Δn der Brechzahl des Eluats von der des reinen Eluenten.

Kopplungstechniken

Verbindet man die chromatographische Trennung mit einer eigenständigen Analysenmethode, so spricht man von der Kopplung zweier Techniken. In der Gaschromatographie wird schon länger die Massenspektrometrie als Detektor verwendet (GC-MS). In der jüngeren Vergangenheit wird auch die Kopplung flüssigkeitschromatographischer Methoden mit der Massenspektrometrie (LC-MS) durch Überwinden von technischen Problemen am Interface zwischen chromatographischen und massenspektrokometrischen Teil möglich [5].

Auch ein Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometer mit schneller Detektionsrate kann als Detektor mit dem chromatographischen System gekoppelt werden (LC-FTIR). Auch Kopplung mit einem Kernresonanzspektrometer ist technisch möglich (LC-NMR). Jedoch ist die Detektionsmethode nicht schnell genug, um in Echtzeit bei genügend großer Empfindlichkeit messen zu können. Außerdem ist diese Art der Kopplung extrem teuer und daher nur für spezielle Fragestellungen mit hohen Anforderungen an die Strukturaufklärung der Analyten sinnvoll [15].

Weiterhin sind Kopplungen mit atomspektrometrischen Methoden möglich. Darunter fallen vor allem Kopplungen mit dem induktiv-gekoppelten Plasma (IC-ICP-AES und IC-ICP-MS), welche sich durch hohe Elementspezifität und Nachweisempfindlichkeit auszeichnen und auch in der Ultraspurenanalytik Einzug gefunden haben [16] [17] [18].

2.2.4 Suppressortechniken

In der Anionenaustauschchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion muss zur empfindlichen Detektion der Ionen gegenüber dem Eluenten ein sogenanntes Suppressorsystem für eine niedrige Grundleitfähigkeit des Eluenten sorgen. Dazu müssen die Ionen des meist auf Carbonat/Hydrogencarbonat oder Natriumhydroxid basierenden wässrigen Eluenten entfernt werden, damit deren Eigenleitfähigkeit nicht die der Analyten überlagert. Dazu wird eine einfache chemische Neutralisiationsreaktion der basischen Eluenten bei gleichzeitiger Entfernung der Kationen, meist Natriumionen, genutzt. Im Falle von Carbonat/Hydrogencarbonateluenten entsteht dabei neutrales Kohlendioxid und Wasser, im Falle von Hydroxideluenten nur Wasser.

$$\mathrm{Na_2CO_3 + 2H^+ \longrightarrow 2Na^+ + H_2O + CO_2} \tag{2.23}$$

$$\mathrm{NaHCO_3 + H^+ \longrightarrow Na^+ + H_2O + CO_2} \tag{2.24}$$

$$\mathrm{NaOH + H^+ \longrightarrow Na^+ + H_2O} \tag{2.25}$$

Ebenso werden auch die Analyten, welche meist in Form ihres Salzes vorliegen, wie z.B. Kochsalz, in die Säureform überführt, was aufgrund der höheren Äquivalenzleitfähigkeit des Wasserstoffions ebenfalls zu einer Steigerung der Empfindlichkeit im Detektor beiträgt.

$$\mathrm{NaCl + H^+ \longrightarrow Na^+ + HCl} \tag{2.26}$$

Zur instrumentellen Umsetzung dieser Neutralisationsreaktion mit Entfernung der Kationen haben sich unterschiedliche Systeme entwickelt, welche im folgenden kurz erläutert werden sollen.

Säulensuppressoren

Eine einfache Suppression kann durch Einbau eines Kationenaustauschers in den Eluentenstrom erfolgen. Dieses stark saure, hochkapazitive Kationenaustauschermaterial wird zuvor mit Säure in die Wasserstoffform überführt. Läuft der Eluent durch die Suppressorsäule, so werden wie in Abbildung 2.4 auf Seite 28 unter Kationenaustausch gezeigt, die Kationen des Eluenten gegen Wasserstoffionen ausgetauscht, was zur Neutralisation der Base und damit zur Erniedrigung der Leitfähigkeit führt. Die Nachteile dieser Technik liegen vor allem in der periodisch notwendigen Regeneration des Kationenaustauschers in die Wasserstoffform.

Eine für die Automation besonders einfache Lösung dieses Problems liegt in der Verwendung mehrerer Suppressorsäulen, die mit Hilfe eines revolverartigen Systems gewechselt werden können [19]. Während der Verwendung einer Suppressorsäule wird eine weitere Suppressorsäule mit Säure in die Wasserstoffform überführt und eine dritte, bereits regenerierte, mit Reinstwasser wieder für den Einsatz vorbereitet. Dennoch ist auch damit die maximale Laufzeit eines Chromatogramms durch die Menge an Wasserstoffionen auf den Suppressorsäulen begrenzt. Weitere Nachteile liegen im zusätzlichen Totvolumen, der Unverträglichkeit mit der Gradientenelution und Adsorptionseffekten auf dem Kationenaustauschermaterial. Da dieser Kationenaustauscher wie in Abbildung 2.6 auf Seite 30 gezeigt eine Donnan-Membran aufbaut, können schwache Säuren wie Salpetrige Säure oder Essigsäure in das Material eindringen, während starke Säuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure an der Donnanschicht ausgeschlossen werden. Dies führt zu einer Retentionszeitzunahme für schwache Säuren.

Membransuppressoren

Um eine der schwächen der Säulensuppressoren zu umgehen, wurden schon früh kontinuierlich arbeitende Suppressoren entwickelt. Die Membransuppressoren basieren auf einer halbdurchlässigen Membran, welche für Kationen durchlässig ist. Der Eluent fließt auf einer Seite der Membran durch den Suppressor, während auf der anderen Seite der Membran in entgegengesetzter Richtung eine verdünnte Säurelösung fließt. Durch die Membran werden die Kationen des Eluenten gegen die Wasserstoffionen der Säurelösung ausgetauscht, was zur Neutralisation des Eluenten führt. Nachteile in der Suppressionsleistung wurden durch Verbesserungen im Strömungsprofil und der Entwicklung von Mikromembransuppressoren gelöst [11]. Vorteile dieser Methode gegenüber Säulensuppressoren sind das kleinere Totvolumen der Membransuppressoren und die damit geringere Rückvermischung zuvor getrennter Analyten, sowie die Möglichkeit der Gradientenelution.

Elektrochemische Suppressoren

Durch Verwendung einer elektrochemischen Suppression kann auf die Herstellung von Regenerationslösungen verzichtet werden. Die zur Neutralisation benötigten Ionen werden im Suppressor durch eine elektrochemische Reaktion direkt an den Elektroden aus dem Eluenten generiert. An der Anode wird Wasser zu Wasserstoffionen und Sauerstoff, an der Kathode wird Wasser in Hydroxid und Wasserstoff gespalten.

$$2\mathrm{H_2O} \rightleftharpoons 4\mathrm{H^+} + \mathrm{O_2} + 4e^- \tag{2.27}$$

$$2\mathrm{H_2O} + 2e^- \rightleftharpoons 2\mathrm{OH^-} + \mathrm{H_2} \tag{2.28}$$

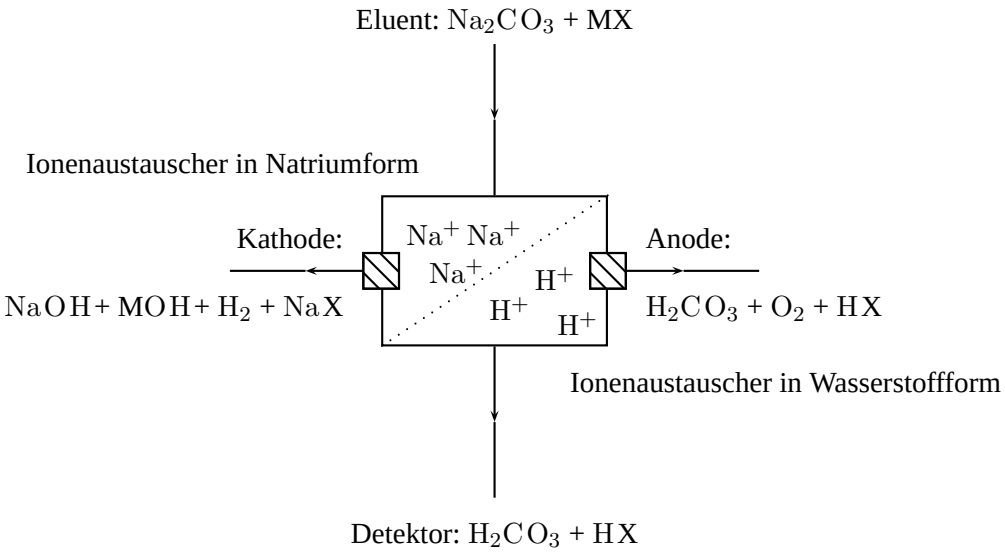


Abbildung 2.8: Aufbau eines elektrochemischen Suppressors.

Die an der Anode generierten Wasserstoffionen regenerieren das Ionenaustauschermaterial im Suppressor kontinuierlich. Durch die angelegte Gleichspannung werden die Kationen des Eluenten durch das erzeugte elektrische Feld über die Kathode abgeführt. Somit ist neben den Membransuppressoren auch mit dem elektrochemischen Suppressor eine kontinuierliche Suppression möglich. Die entstehenden Gase werden aufgrund der Flussverhältnisse im Suppressor ebenfalls über die Elektroden abgeführt. Sauerstoff entweicht über die Anode, Wasserstoff über die Kathode. In Abbildung 2.8 sind die Flusswege aller beteiligten Ionen und Gase nochmals schematisch dargestellt.

Ein Nachteil des Verfahrens ist ein Verlust an Analyt über die Anode. Damit sinkt die Signalhöhe bei der anschließenden Leitfähigkeitsmessung. Dieser Nachteil wird durch die enorme Suppressionskraft der Ionenaustauscherzelle ausgeglichen. Es gelangt nur das neutrale Kohlendioxid und die in die Säureform überführten Analyten durch den Auslass zum Detektor. Das Kohlendioxid wird anschließend durch eine Entgasungseinheit entfernt. Ein weiterer Nachteil aller elektrochemisch basierten Supressortypen ist die Reaktionsmöglichkeit mit elektrochemisch aktiven Analyten oder Matrixbestandteilen in der Probe.

2.3 Retentionsmodell der Ionenaustauschchromatographie

Da in der vorliegenden Arbeit der Anionenaustauschchromatographie eine zentrale Stellung zukommt, ist es notwendig, sich über die ablaufenden molekularen Prozesse Gedanken zu machen. Die Ergebnisse des Trennprozesses werden aus einigen Grundgrößen des Chromatogramms wie der Retentionszeit oder der Auflösung erhalten. Aber die Prozesse, die zu diesem Verhalten führen und die chromatographischen Bedingungen durch welche sie geändert werden können, beschreiben diese Parameter nicht.

Im folgenden wird das Retentionsmodell für die Anionenchromatographie mit einem Eluention entwickelt. Die in Gleichung 2.18 auf Seite 28 gezeigte Gleichgewichtseinstellung kann durch Erweitern um die Ladung der Teilchen in folgende Form überführt werden:

$$\begin{aligned} y \cdot \text{Harz-N}^+\text{R}_3\text{E}^{y-} + x \cdot \text{A}^{x-} &\rightleftharpoons y \cdot \text{Harz-N}^+\text{R}_3\text{A}^{x-} + x \cdot \text{E}^{y-} \\ y \cdot \text{E}_s^{y-} + x \cdot \text{A}_m^{x-} &\rightleftharpoons y \cdot \text{A}_s^{x-} + x \cdot \text{E}_m^{y-} \end{aligned} \tag{2.29}$$

Damit ergibt sich für die thermodynamische Gleichgewichtskonstante $K_{A,E}$ folgender Ausdruck, bei der streng genommen besser die Aktivitäten anstatt der Konzentrationen verwendet werden müssten:

$$K_{A,E} = \frac{c(\text{A}^{x-})_S^y + c(\text{E}^{y-})_M^x}{c(\text{E}^{y-})_S^y + c(\text{A}^{x-})_M^x} \tag{2.30}$$

Durch Kombination des Verteilungskoeffizienten $K_A = \frac{c(A)_S}{c(A)_M}$ aus Gleichung 2.2 auf Seite 22 und des Retentionsfaktors $k'_A = K_A \cdot \frac{m_S}{V_M}$ aus Gleichung 2.6 auf Seite 24 für den Analyten A^{x-} erhält man folgenden Ausdruck:

$$\frac{c(A^{x-})_S}{c(A^{x-})_M} = k'_A \cdot \frac{m_S}{V_M} \tag{2.31}$$

Für die thermodynamische Gleichgewichtskonstante $K_{A,E}$ erhält man durch Einsetzen:

$$K_{A,E} = \left(k'_A \cdot \frac{V_M}{m_S}\right)^y \cdot \left(\frac{c(\text{E}^{y-})_M}{c(\text{E}^{y-})_S}\right)^x \tag{2.32}$$

Die Konzentration der Eluentionen E^{y-} ist im Vergleich zu den Analytionen A^{x-} deutlich größer, daher sind wahrscheinlich alle Austauschplätze in erster Näherung durch die Eluentionen besetzt. Dann ergibt sich mit Hilfe der Austauschkapazität Q

$$c(\text{E}^{y-})_S = \frac{Q}{y} \tag{2.33}$$

die thermodynamische Gleichgewichtskonstante $K_{A,E}$ zu:

$$K_{A,E} = \left(k'_A \cdot \frac{V_M}{m_S}\right)^y \cdot \left(\frac{Q}{y}\right)^x c(\text{E}^{y-})_M \tag{2.34}$$

Durch Auflösen nach k'_A, einer aus einem Chromatogramm leicht erhältlichen Größe ergibt sich:

$$k'_A = \frac{m_S}{V_M} \cdot (K_{A,E})^{\frac{1}{y}} \cdot \left(\frac{Q}{y}\right)^{\frac{x}{y}} \cdot c(\text{E}^{y-})_M^{-\frac{x}{y}} \tag{2.35}$$

Die Gleichung 2.35 stellt einen Zusammenhang zwischen dem Retentionsfaktor k' und einigen experimentell zugänglichen Parametern, wie der Austauschkapazität Q und der Eluentkonzentration $c(\text{E}^{y-})_M$, her. Durch Logarithmieren erhält man eine für die Praxis besser geeignete Form.

$$\log k'_A = \underbrace{\frac{1}{y} \log K_{A,E}}_{A} + \underbrace{\frac{x}{y} \log \frac{Q}{y}}_{B} + \underbrace{\log \frac{m_S}{V_M}}_{C} - \underbrace{\frac{x}{y} \log c(\text{E}^{y-})_M}_{D} \tag{2.36}$$

Betrachtet man nun die einzelne Terme, so wirken sich die Summanden folgendermaßen auf die Retention von Analytmolekülen aus:

- A - große Gleichgewichtskonstanten $K_{A,E}$ erhöhen k'_A
- B - große Kapazitäten Q erhöhen k'_A
- C - ein grosses Verhältnis von stationärer und mobiler Phase erhöht k'_A
- D - große Eluentkonzentration $c(\mathrm{E}^{y-})_M$ erniedrigt k'_A

Daraus kann geschlossen werden, dass multivalente Analytionen $c(\mathrm{A}^{x-})$ mit $x > 1$ stärker retardiert werden als monovalente.

Variiert man als einzige Größe die Eluentkonzentration und fasst alle anderen in der Konstante C_1 zusammen, so vereinfacht sich Gleichung 2.36 auf der vorherigen Seite zu:

$$\underbrace{\log k'_A}_{y} = C_1 - \frac{x}{y}\underbrace{\log c(\mathrm{E}^{y-})_M}_{x} \tag{2.37}$$

Trägt man y gegen x auf, so erhält man eine Gerade, deren Steigung $m = -\frac{x}{y}$ ist und deren Achsenschnittpunkt bei C_1 liegt.

Die bisherigen Überlegungen betrachten immer nur ein Analytion. Liegen jedoch zwei Analytionen $c(\mathrm{A}^{x-})$ und $C(\mathrm{B}^{z-})$ in Konkurrenz um die Austauschplätze vor, so ergibt sich für den Selektivitätsfaktor $\alpha_{A,B}$ unter Berücksichtigung von Gleichung 2.7 auf Seite 24:

$$\alpha_{A,B} = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{c(\mathrm{A}^{x-})_S + c(\mathrm{B}^{z-})_M}{c(\mathrm{A}^{x-})_M + c(\mathrm{B}^{z-})_S} \tag{2.38}$$

Durch weitere Substitutions- und Umformungsschritten erhält man folgende logarithmierte Gleichung für den Selektivitätsfaktor $\alpha_{A,B}$:

$$\log \alpha_{A,B} = \frac{1}{z} \cdot K_{A,B} + \frac{x-z}{z} \cdot \log \frac{k'_B \cdot V_M}{m_S} \tag{2.39}$$

Wenn die Analyten die gleiche Ladung tragen $(x = z)$, so vereinfacht sich Gleichung 2.39 zu:

$$\log \alpha_{A,B} = \frac{1}{z} \cdot K_{A,B} \tag{2.40}$$

Der Selektivitätsfaktor $\alpha_{A,B}$ hängt also für zwei Analytmolekülen gleicher Ladung nur vom Selektivitätskoeffizienten $K_{A,B}$ und der Ladung des Analytmoleküls ab. Er hängt speziell bei konstantem Selektivitätskoeffizienten nicht von der Eluentkonzentration $c(\mathrm{E}^{y-})$ oder anderen Eigenschaften des Eluenten ab. Allerdings können die Analyten trotz gleicher Ladung unterschiedliche chemische Eigenschaften haben, da sich bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen oder Eigenschaften die Polarisierbarkeit oder die Hydratation verändern.

Bei unterschiedlichen Ladungen der Analytmoleküle hängt der Selektivitätsfaktor von einem Retentionsfaktor ab, wobei die Retentionsfaktoren k'_A und k'_B nicht unabhängig voneinander sind.

3 Analyse von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie

3.1 Eigenschaften von Kohlenhydraten

Zucker oder Kohlenhydrate (engl. *Carbohydrates*) sind Polyhydroxyaldehyde. Hauptquellen für die im Alltag am meisten verbreitete Saccharose sind die Zuckerrübe und das Zuckerrohr. Die Kohlenhydrate stellen neben den Lipiden, Proteinen und Nucleinsäuren die vierte wichtige Gruppe lebensnotwendiger Verbindungen dar und machen den weitaus größten Anteil organischer Verbindungen auf der Erdoberfläche aus [1] [20]. Schätzungsweise werden alljährlich weltweit fast 200 Milliarden Tonnen durch Photosynthese hergestellt [21]. Zucker ist lebensnotwendig und wird im Gegensatz zu Stärke, welche erst im Körper durch Verdauung in Zucker umgewandelt wird, schnell von der Darmwand aufgenommen und an das Blut abgegeben.

Der Name “Hydrat des Kohlenstoffs“ [K. SCHMIDT, 1844] bezog sich ursprünglich nur auf Verbindungen des Typs $C_n(H_2O)_n$. Dies trifft jedoch heute auf viele Kohlenhydrate wie Desoxyzucker oder Aminozucker nicht mehr zu. Man unterscheidet Monosaccharide (griech. *saccharon* = Zucker, Einfachzucker), Disaccharide (Zweifachzucker) und Oligo- bzw. Polysaccharide (Mehrfachzucker). Disaccharide und Oligo- bzw. Polysaccharide bestehen aus verketteten Monosacchariden. Pflanzen können mittels Photosynthese Monosaccharide herstellen, was Tieren nicht möglich ist. Tiere können dagegen aus Monosacchariden höhere Zucker, wie z.B. Glykogen in der Leber, produzieren.

Die biologischen Funktionen komplexer Saccharide sind vielfältig. Ihre strukturelle Komplexität wird in der Natur zum Teil als Informationsspeicher genutzt [21]. Diese Informationen werden in Form von Komplexen zwischen Kohlenhydraten und Proteinrezeptoren verarbeitet.

3.1.1 Auswahl und Struktur der verwendeten Kohlenhydrate

Eine gute Übersicht über den systematischen Aufbau von Zuckern und ihrem Reaktionsverhalten kann in Lehrbüchern der organischen Chemie gefunden werden [22] [23]. Im Rahmen dieser Dissertation wurde aus der Vielzahl der möglichen Analyten eine kleine Auswahl getroffen. Es ist Ziel dieser Auswahl, ein möglichst breites Spektrum von Kohlenhydraten abzubilden. Diese lassen im folgenden in die Klassen der Monosaccharide, Disaccharide und Polysaccharide einteilen.

Monosaccharide

Es wird je nach Art der Carbonylfunktion zwischen Aldosen und Ketosen unterschieden. Je nach Anzahl der Kohlenstoffatome teilt man außerdem in Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen und Heptosen ein, wobei vor

allem Pentosen und Hexosen als biologisch relevant gelten. Zusammengezogen bezeichnet man die möglichen Kombinationen im Falle der Aldosen z.B. als Aldohexosen und im Falle der Ketosen z.B. Hexulosen. Die ersten Strukturaufklärungen gehen vor allem auf die Arbeiten des deutschen Chemikers Fischer zurück.

Ribose: Aldopentose — Die Ribose ist der Zuckerbestandteil der Ribonukleinsäure. Man findet Ribose in den Nukleotiden. Diese sind Bestandteile in der Nukleinsäure und im Verbund die kleinste Informationseinheit. In DNA und RNA ermöglichen sie eine Kodierung der genetischen Information. Der menschliche Körper kann Ribose aus anderen Monosacchariden selbst synthetisieren. Ribose dient zudem der Energieversorgung von Muskeln mit Adenosintriphosphat (ATP). ATP wird vom Muskel in Bewegungsphasen verbraucht und muss nach Verbrauch wieder vom Körper synthetisiert werden. Ribose hilft dabei, indem es durch die Muskelzellen resorbiert wird und bei der ATP-Bildung verbraucht wird.

Xylose: Aldopentose — Die Xylose bezeichnet man auch als Holzzucker (griech. *xylos* = Holz). Sie ist in Pflanzen die am meisten verbreitete Aldopentose. Meist ist sie ein Strukturelement in Glykosiden. Xylose kann man aus der Holzverzuckerung und aus Abfällen der Celluloseproduktion erhalten. Sie kann vom menschlichen Körper nicht verdaut werden und wird als Abführmittel eingesetzt. Sie besitzt etwa die Hälfte der Süßkraft von Saccharose.

Glucose: Aldohexose — Die Glucose ist einer der wichtigsten Kohlenhydrate und dient als Energielieferant von Organismen. Das menschliche Blut enthält etwa 0,1 % Glucose. Wegen des Vorkommens von Glucose in Weintrauben wird die Glucose auch als Traubenzucker bezeichnet. Glucose wird in großen Mengen durch Hydrolyse von Stärke gewonnen. Sie ist ebenso Bestandteil der Cellulose und stellt das häufigste organische Strukturelement auf unserem Planeten dar.

Galactose: Aldohexose — Die Galactose ist als Strukturelement in vielen Oligo- und Polysacchariden wie auch Glykosiden enthalten. Sie ist ein Bestandteil im Disaccharid Lactose wie auch im Trisaccharid Raffinose. Zudem findet man sie im Polysaccharid Agarose. In geringen Mengen kommt sie als Monosaccharid in Weinen vor.

Fructose: Hexulose — Die Fructose ist vor allem wegen ihrer hohen Süßkraft bekannt. Da sie in vielen süßen Früchten vorkommt, wird sie auch Fruchtzucker genannt. Sie ist ein Bestandteil des Disaccharids Saccharose. Fructose wird hauptsächlich aus Stärke gewonnen, welche enzymatisch in Glucosesirup umgewandelt wird.

Glucose und Galactose als auch Ribose und Xylose sind Epimere zueinander, das heißt, sie unterscheiden sich nur in der Stellung einer Hydroxyfunktion, wodurch sie ein ähnliches Trennverhalten aufweisen sollten. Diese Zucker zeichnen sich durch eine weite Verbreitung und technische Bedeutung aus und eignen sich gut als Testanalyten, um analytische Problemstellungen nachzustellen.

Disaccharide

Disaccharide sind prinzipiell Glykoside, in welchen die Alkoholkomponente ein zweiter Zucker darstellt. Die Verknüpfung kann entweder über glykosidische Hydroxyfunktionen oder zwischen einer glykosidischen und

einer alkoholischen Hydroxyfunktion stattfinden. Ist die glykosidische Verknüpfung über beide halbacetalischen Hydroxyfunktionen geschlossen, so ist der Disaccharid nicht reduzierend. Bleibt eine halbacetalische Hydroxyfunktion erhalten, so ist das Disaccharid reduzierend und zeigt Mutarotation.

Saccharose: Nicht reduzierend — Die Saccharose, auch Sukrose (engl. *Sucrose*) genannt, ist über die beiden anomeren Kohlenstoffatome von Glucose und Fructose verknüpft (β-D-Fructofuranosyl-α-D-glucopyranosid). Es ist der am häufigsten vorkommende Disaccharid und kann aus vielen Pflanzen und Früchten isoliert werden. Die höchsten Saccharosegehalte finden sich in Zuchtformen des Zuckerrohrs und der Zuckerrübe.

Lactose: Reduzierend — Die Lactose wird auch Milchzucker genannt und besteht aus einer Einheit Galactose und Glucose (4-(β-D-Galactopyranosyl)-D-glucopyranose). Sie kommt bis zu einem Gehalt von 4 % in Kuhmilch vor und wird vorwiegend aus Molke gewonnen. Sie findet häufig Verwendung als Süßungsmittel in Kindernahrung.

Maltose: Reduzierend — Die Maltose, oder Malzzucker, entsteht bei der Spaltung von Stärke und besteht aus zwei glykosidisch verbunden Glucoseeinheiten (4-(α-D-Glucopyranosyl)-α-D-glucopyranose). Sie tritt vor allem bei der Bierherstellung in Erscheinung. Gegenüber Haushaltszucker besitzt Maltose eine geringere Süßkraft. Sie hat einen karamellartigen Geschmack und wird vor allem als Zuckeraustauschstoff oder in zuckerreduzierten Produkten eingesetzt.

Für die Untersuchungen in dieser Dissertation sind vor allem Saccharose und Lactose als typische Stellvertreter von reduzierenden und nicht reduzierenden Zuckern gewählt werden. Maltose hat in der Anionenaustauschchromatographie meist eine sehr hohe Retentionszeit und ist daher nicht in allen Fällen berücksichtigt.

Oligo- und Polysaccharide

Oligo- und Polysaccharide können nur mittels Gradientenelution in vernünftigen Zeitrahmen analysiert werden. Da ein solches System nicht zur Verfügung stand, wurde auf die Untersuchungen solcher Verbindungen verzichtet.

Zuckeralkohole

Durch Reduktion der Carbonylgruppe in Monosacchariden erhält man Zuckeralkohole. Diese, auch Alditole genannte Verbindungen, besitzen ebenfalls einen süßen Geschmack und finden als Zuckerersatzstoffe Anwendung.

Sorbitol: Offenkettig — Bei Sorbitol handelt es sich um die reduzierte Form der Glucose. Sie kommt in den Früchten der Vogelbeere vor und wird technisch durch Reduktion von Glucose hergestellt. Der Hauptverwendungszweck ist der Einsatz als Zuckerersatzstoff bei Diabetesdiät. Zudem wird sie als Ausgangsverbindung der Vitamin C Synthese benötigt.

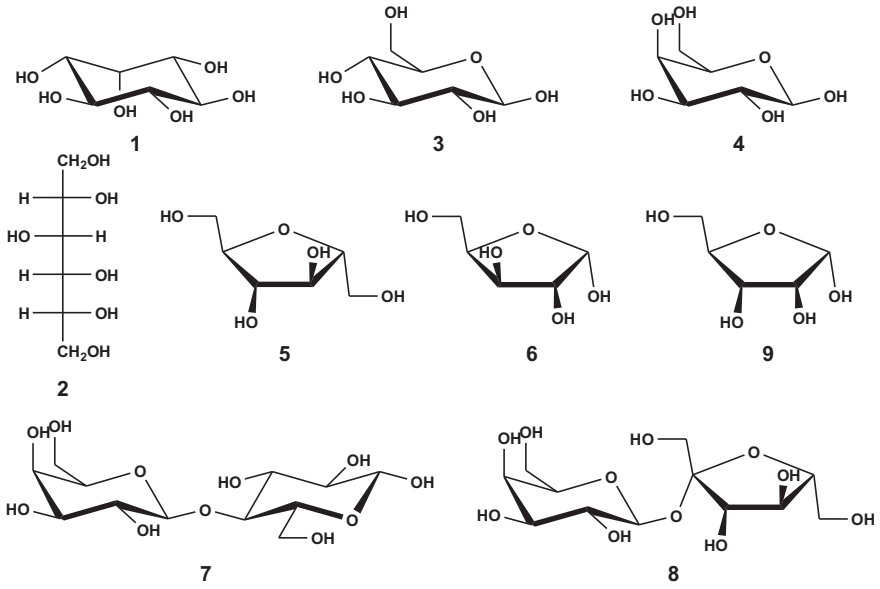


Abbildung 3.1: Strukturen der untersuchten Zucker. 1 - Inositol, 2 - Sorbitol, 3 - Glucose, 4 - Galactose, 5 - Xylose, 6 - Fructose, 7 - Lactose, 8 - Saccharose, 9 - Ribose.

myo-Inositol: Ringförmig — Myo-Inositol ist weit verbreitet in allen Lebewesen, meist als Ester der Phosphorsäure. Es ist beteiligt am Kationentransport durch die Zellmembran, an der Nervenstimulation und wirkt als Wachstumsfaktor für viele tierische Zellen.

Diese Zuckeralkohole sind zwei Vertreter für eine Vielzahl möglicher Reaktionsprodukte von Kohlenhydraten, welche unser Leben beeinflussen. Nicht weiter betrachtet werden Zuckersäuren, Aminozucker oder die große Zahl an biochemischen Zuckerverbindungen wie z.B. Glucoproteinen.

Strukturen

Die Strukturen der untersuchten Zucker und Zuckeralkohole, ausgenommen Maltose, sind in Abbildung 3.1 aufgeführt.

3.1.2 Physikalische und chemische Eigenschaften

Die große Anzahl an Hydroxyfunktionen machen die Zucker stark hydrophil und gut löslich in Wasser, aber auch in aprotisch polaren Lösungsmitteln wie Pyridin, Dimethylformamid (DMF), Dimethylsulfoxid oder Morpholin. Die Löslichkeit in Alkoholen ist beschränkt und in Kohlenwasserstoffen sind sie gar nicht löslich. Für die meisten Zucker gibt es zwei Schmelzpunkte, einer für den Zucker mit Kristallwasser und einer für die wasserfreie Form. Mit Ausnahme der einfachsten Ketose, dem Dihydroxyaceton, besitzen alle Zucker mehrere Chiralitätszentren und sind optisch aktiv.

Das chemische Verhalten der Zucker wird von den primären und sekundären Hydroxyfunktionen wie auch von der Aldehyd- beziehungsweise Ketogruppe bestimmt. Die Hydroxygruppen bieten die Möglichkeit der Esterbildung mit organischen oder anorganischen Säuren. Auch die Etherbildung ist unter stark alkalischen Bedingungen mit Alkylhalogeniden möglich. Die Aldehydgruppe kann oxidiert oder reduziert werden. Außerdem

können durch nukleophile Substitution mit Aminen und anderen Stickstoffverbindungen mit freiem Elektronenpaar Aminozucker, Hydrazone oder Oxime entstehen. In diesem Zusammenhang ist auch die Maillard-Reaktion zu nennen [23], bei der durch Reaktion mit Aminen, Aminosäuren oder Peptiden Produkte entstehen, die durch weitere Stoffwechselprozesse in Furane, Pyrrole oder Pyrazine überführt werden.

3.2 Alternative Methoden zur Bestimmung von Kohlenhydraten

Neben der Anionenaustauschchromatographie finden sich für die Bestimmung von Zuckergehalten oder Strukturen viele Möglichkeiten. Diese unterscheiden sich in Bestimmungen mit und ohne Trennung der Analyten.

3.2.1 Bestimmung ohne Trennung der Analyten

Die folgenden Methoden liefern vor allem Hinweise auf Strukturen und funktionelle Gruppen, sowie chemische Eigenschaften der untersuchten Kohlenhydrate. Einige der aufgeführten Methoden lassen sich zudem mit den folgenden Trennmethode kombinieren.

Nasschemisch: Es gibt eine breite Palette an Reagenzien, mit deren Hilfe man einzelne Zucker, alle Zucker oder Zucker einer bestimmten Gruppe mit gleichen Eigenschaften bestimmen kann. Reduzierende Zucker als Beispiel können durch die Fehlingsche Reaktion mit Kupfer(II)-Salzlösungen als eine der ältesten Methoden zur Zuckerbestimmung erfasst werden. Aber auch die Reaktion mit Hexacyanoferraten(III), die zu Hexacyanoferraten(II) reduziert werden, ist möglich. Mit Periodaten ist die Spaltung von C–C-Bindungen vicinaler Alkohole möglich. Dabei entsteht als Abbauprodukt bei Polyhydroxyverbindungen eine bestimmte Menge Ameisensäure, die gemessen werden kann oder man bestimmt den Verbrauch an Periodat. Ebenso gibt es spezifische Reaktionen für Pentosen, Hexosen, Amino- oder Desoxyzucker [1].

Enzymatisch: Es werden zuckerspezifische Enzyme verwendet, die wiederum nur bestimmte einzelne oder Gruppen von Zuckern erfassen. Für Glucose ist dies zum Beispiel die Reaktion mit D-Hexose-6-Phosphotransferase gefolgt von einer Reaktion mit Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase. Da die verwendeten Enzyme sehr teuer sein können, werden neben den enzymatischen Bestimmungen in wässrigen Lösungen auch Bestimmungen mit immobilisierten Enzymen durchgeführt. Diese werden vergleichbar mit ionenselektiven Elektroden auf einer Sensorelektrode fixiert und können wiederverwendet werden [1].

Kernresonanzspektroskopie: Durch Weiterentwicklungen im Bereich der Kernresonanzspektroskopie (NMR, engl. *Nuclear Magnetic Resonance*) sind NMR-Untersuchungen an isotopenmarkierten Proteinen möglich. Die Erhöhung der Empfindlichkeit und Auflösung ermöglicht nun auch die Bestimmung von Oligosacchariden. Durch die große strukturelle Ähnlichkeit der Zuckerfragmente liegen die meisten Protonensignale in einem kleinem Bereich des ^{1}H-Spektrums zusammen, das anomere Protonsignal ist jedoch tieffeldverschoben und kann für unterschiedliche NMR-Experimente als Startpunkt verwendet werden [24] [25].

Massenspektrometrie: Neben der Kernresonanzspektroskopie ermöglicht vor allem die Massenspektrometrie die Strukturaufklärung von komplexen Kohlenhydraten. Dabei hat sich besonders die Matrix-assisted laser desorption/ionization Mass Spectrometry (MALDI-MS) bewährt [26]. Auch andere Formen der

Massenspektrometrie mit anderen Ionisationsmethoden wie z.B. Electrospray ionization Mass Spectrometry (ESI-MS) [27], oder gekoppelt mit chromatographischen Trennverfahren wie die Gaschromatographie Massenspektrometrie (GC-MS), werden eingesetzt [28] [29].

Ultrazentrifugation: Mit Hilfe der analytischen Ultrazentrifugation ist es möglich, Informationen über Polysaccharide in Lösung zu erhalten. Die Bestimmung von Molekulargewicht, Interaktion und Konformation in Lösung sind mit dieser Methode möglich [30].

3.2.2 Bestimmung mit Trennung der Analyten

Durch Trennung der Kohlenhydrate lassen sich Gehalte aus Stoffgemischen erhalten. Ein Nachteil dieser Methoden liegt meist in der unzureichenden Auflösung der strukturell sehr ähnlichen Kohlenhydrate. Lassen sich wenige Monosaccharide noch gut von Disacchariden oder Oligosacchariden trennen, so ist eine Mischung aus vielen ähnlichen Monosacchariden mit diesen Methoden meist nicht bestimmbar. Abhilfe kann hier das Koppeln einer Trennmethode mit einem strukturauflösenden Detektor wie einem Massenspektrometer schaffen.

Dünnschichtchromatographie: Unter den chromatographischen Methoden sind zunächst die weit verbreiteten dünnschichtchromatographischen Bestimmungen zu nennen. Dabei besteht die Möglichkeit aus einer Vielzahl an unterschiedlichen stationären Phasen zu wählen: Silikabasis, Kieselgur, Aluminiumoxid, Cellulose, Cellulosederivate, Polyamide. Diese können dann durch Wahl eines geeigneten Laufmittels zur Lösung einer bestimmten Problemstellung kombiniert werden [1].

Flüssigchromatographie: Unter den säulenchromatographischen Methoden sind Bestimmungen an Kationenaustauschern weit verbreitet. Diese werden mit Kationen wie Protonen, Natriumionen, Calciumionen, Silberionen oder Bleiionen beladen. Diese Gegenionen des Packungsmaterials bilden mit den Zuckermolekülen schwache Komplexe von deren Stärke zu den unterschiedlichen Zuckermolekülen die Retention abhängt. Auch Materialien, die neutrale Amin-Funktionen an der Oberfläche tragen oder Reversed-Phase-Phasen werden eingesetzt. Bei diesen Methoden werden die Zucker als neutrale Analyten bestimmt und die Detektion kann zum Beispiel über den Brechungsindex erfolgen. Andere Detektionstechniken setzen meist eine Derivatisierung der Zucker voraus [31] [32].

Gaschromatographie: Für gaschromatographische Trennungsmethoden müssen die Kohlenhydrate zunächst in eine flüchtige Form überführt werden. Dazu eignen sich zum Beispiel O-Methylester, O-Trimethylsilylester, oder O-Acetylester [31] [32].

Kapillarelektrophorese: Die Kapillarelektrophorese besticht vor allem in ihrer Trennleistung. Die neutralen Kohlenhydrate werden, wie in der in Kapitel 3.3 auf der nächsten Seite beschriebenen Anionenchromatographie von Kohlenhydraten beschrieben, in stark alkalischem Medium deprotoniert, was die Migration zur Anode beschleunigt. Andere Methoden greifen auf Derivatisierungsreagenzien zurück [32].

Weitere Methoden: Weitere Methoden zur Bestimmung von Zuckern wären die Polarimetrie und die Polarographie [14] [11].

Tabelle 3.1: pK-Werte einzelner Kohlenhydrate.

Kohlenhydrat	$< pK_S$-Wert [Lit.] $>$		
Inositol	-		
Sorbitol	13,60 [34]		
Glucose	12,28 [34] [35]	12,29 [36] [37]	12,35 [38]
Galactose	12,30 [36] [37]	12,35 [35]	12,39 [34]
Xylose	12,14 [39]	12,15 [34] [36] [35]	12,29 [38]
Fructose	12,03 [34] [35]	12,06 [36]	
Lactose	11,98 [38] [40]	12,22 [36]	
Ribose	12,11 [38] [35]	12,22 [39]	
Saccharose	12,51 [38]	12,62 [40]	12,73 [36]

3.3 Kohlenhydrate als Analyten in der Anionenchromatographie

Die Trennung von sauren Zuckern wie Gluceronsäure und Glycopeptiden mittels Anionenchromatographie wird intensiv genutzt. Die Untersuchung von neutralen Zuckern dagegen scheiterte daran, dass deren Acidität zu gering ist, um ausreichend deprotoniert zu werden. Um eine genügend große Dissoziation zu erreichen, müssen stark alkalische Eluenten verwendet werden. Dies stellt hohe Anforderung an die Säulenmaterialien, da auf Silikabasis bestehende Säulen bei pH-Werten größer 8,5 extrem instabil werden und sich zersetzen. Die Einführung stationärer Phasen auf Polymerbasis, die in einem weiten pH-Bereich stabil sind, erlaubt die Verwendung stark alkalischer Eluenten. Diese stationäre Phasen werden in Kapitel 4.1 auf Seite 51 ausführlich besprochen.

Die in einem Zuckermolekül vorhandenen Hydroxyfunktionen sind unterschiedlich sauer. Dabei liegt die folgende Rangfolge vor, wobei die Nummer die Position der Hydroxyfunktion im Ring angibt [3] [33]:

$$1-\mathrm{OH} > 2-\mathrm{OH} \geq 6-\mathrm{OH} > 3-\mathrm{OH} > 4-\mathrm{OH}$$

Die Rangfolge kann experimentell bestimmt werden, indem die Hydroxylgruppen nacheinander einzeln O-methyliert werden, und die Retention dieser Zuckerderivate untersucht wird. Durch die Veretherung wird die Hydroxyfunktion geschützt und kann nicht mehr deprotoniert werden [31].

Ein Maß für die Acidität von Verbindungen ist der pK_S-Wert. Die pK-Werte der verwendeten Zucker sind soweit vorhanden in Tabelle 3.1 angegeben. Es sind in den wenigsten Fällen in den Quellen die Messbedingungen und die Art der Bestimmung angegeben. Die Zuckeralkohole stellen die schwächsten Säuren dar. Der Ringsauerstoff induziert eine hohe Acidität [3] [2] und dieser ist in den Zuckeralkoholen nicht vorhanden. Dies erklärt auch die höchste Acidität der 1-OH-Funktion in den Monosacchariden. Daher eluieren reduzierte Zucker früher als Saccharide. Bei Oligo- und Polysacchariden ist die Retentionszeit nicht direkt abhängig von den Aciditäten der Monosaccharide aus denen sie aufgebaut sind [1]. Die Möglichkeit der partiell gebildeten Anionen mit den funktionellen Gruppen der stationären Phase in Wechselwirkung zu treten, hat ebenso einen Einfluss wie die Gesamtgröße des Saccharids. Dabei ist die Konfiguration der glycosidischen Bindung von Bedeutung, da sie die Zugänglichkeit der leicht deprotonierbaren Hydroxylgruppen definiert. Im allgemeinen kann beobachtet werden, dass die Retention linear mit der Größe von Oligo- und Polysacchariden ansteigt [31].

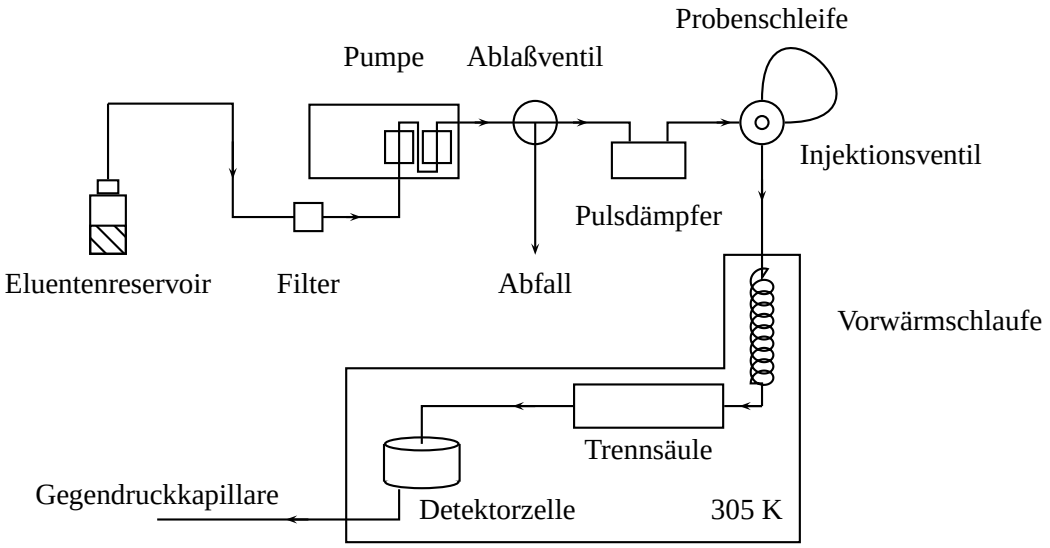


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau eines Ionenchromatographen zur Zuckertrennung.

Die Konzentration des Eluenten wirkt sich direkt auf die Trennung und die Geschwindigkeit als auch auf die Empfindlichkeit der Detektion aus. Die besten Trennergebnisse werden bei einem pH-Wert in der Nähe des pK-Wertes erhalten [11].

Auch bei starken pH-Werten beobachtet man keine Lowbry de Bruyn-van Ekenstein Umlagerungen, weder Epimerisierungen noch Tautomerisierungen, von Monosacchariden [41]. Bei Oligosacchariden, die stärker mit der stationären Phase wechselwirken, beobachtet man einen Epimerisierungsgrad von bis zu 15 %. Bei Zuckeralkoholen beobachtet man keine Epimerisierungen, von daher kann man eventuell auftretende Epimerisierungen dadurch verhindern, das man den entsprechenden Zucker zum Zuckeralkohol reduziert und dann bestimmt.

3.4 Apparativer Aufbau eines Systems zur Trennung von Kohlenhydraten mittels Anionenaustausch

Der in dieser Arbeit verwendete Aufbau des chromatographischen Systems ist in Abbildung 3.2 wiedergegeben, welcher sich hauptsächlich im verwendeten Detektorsystem unterscheidet. Eine detaillierte Aufstellung der verwendeten Geräte mit Parametern ist im Anhang in Kapitel 8.6 auf Seite 209 gegeben.

Aufgrund der stark alkalischen Eluenten sind alle Teile der Apparatur, die mit der mobilen Phase in Kontakt kommen, stahlfrei und aus Poly-Ether-Ether-Keton (PEEK) hergestellt. Nach dem Purgeventil ist ein Pulsdämpfer geschaltet, um Flussratenschwankungen der Pumpe auszugleichen. Das Injektionsventil ist ein in der HPLC bekanntes Sechswegeventil, welches es ermöglicht, die Probe in den konstanten Eluentenstrom einzubringen. Nach dem Injektionsventil ist eine Vorwärmschlaufe angebracht, die wie die Säule selbst und der Detektor, in einem Thermostaten eingebaut ist. Durch die Vorwärmschlaufe wird der Eluentenstrom auf die Standardtemperatur von 305 K für die Messung thermostatisiert. Bei dieser Temperatur haben die bei der Detektion ablaufenden Reaktionen ein Optimum. Die Temperatur hat auch einen Einfluss auf die Selektivitäten bei der

Trennung [20]. Die Vorwärmschlaufe dient durch ihren spiralförmigen Aufbau auch als weiterer Pulsdämpfer. Vom Detektor werden die Signale über ein Interface direkt zur Aufzeichnung an einem Computer weitergeleitet.

3.5 Bestimmung von Kohlenhydraten mittels amperometrischer Detektion

In der Flüssigkeitschromatographie ist der amperometrische Detektor zur Bestimmung polarer aliphatischer Verbindungen gut geeignet. Die Entwicklung dieser Detektoren für die Bestimmung der Zucker geht auf Arbeiten von Johnson zurück [42] [43]. Kohlenhydrate konnten bisher nur durch Derivatisierung sensitiv bestimmt werden. Die amperometrische Detektion kommt ohne Derivatisierung aus. Dazu müssen die zu untersuchenden Analyten oxidierbar oder reduzierbar sein.

Das geeignete Potential kann durch voltammetrische Experimente bestimmt werden (z.B. Cyclovoltammetrie) [44] [45]. Durch Untersuchungen von Strom-Spannungskurven in Abhängigkeit der Elektrodenreaktion [6] können Rückschlüsse auf optimale Potentiale zur Oxidation der Analyten gefunden werden. Die hydrodynamische oder gepulste Voltammetrie liefert die am besten übertragbaren Ergebnisse. Ein Grundelektrolyt von ca. 0,1 mol L^{-1} sorgt für einen genügend geringen Widerstand der Lösung und verhindert ein Wandern der Depolarisatoren im Gefälle des elektrischen Feldes.

3.5.1 Funktionsweise eines amperometrischen Detektors

Die eigentlich Bestimmung des Analyten erfolgt über die amperometrische Messung, bei der grundsätzlich folgende Reaktion abläuft:

$$A \rightleftharpoons B + n \cdot e \tag{3.1}$$

Der Analyt A gibt bei einem angelegten Potential n Elektronen an die Elektrode B ab und wird dabei oxidiert oder die Rückreaktion tritt ein, bei der Analyt B Elektronen von der Goldelektrode aufnimmt und reduziert wird. Die meisten Analyten, wie auch die untersuchten Kohlenhydrate, werden an der Elektrode anodisch oxidiert.

3.5.2 Elektrochemische Vorgänge bei der Detektion von Zuckern an den Elektroden

Die Oxidation der Kohlenhydrate an der Goldelektrode verläuft in mehreren Schritten. Dabei werden wie in Abbildung 3.3 auf der nächsten Seite dargestellt, in einem ersten schnellen Schritt zwei Elektronen von der Aldehydgruppe des Zuckers abgegeben und diese zur Carbonsäure oxidiert [43]. In weiteren schnellen Schritten wird die Bindung zwischen den Kohlenstoffen C_1–C_2 unter Bildung von Ameisensäure gespalten und gleichzeitig die Hydroxylgruppen an C_2 und C_6 zu Carbonsäuren oxidiert. Ein weiterer Abbau auf diesem Weg kann vorkommen, ist aber von der Reaktionsgeschwindigkeit deutlich langsamer. Für den ersten Schritt wird eine Aktivierungsenergie benötigt. Diese ist bei aromatischen Verbindungen herabgesetzt, da die Zwischenprodukte, radikalische Zwischenstufen, stabilisiert werden [46] [43]. Daher kann die Oxidation von Phenolen, Aminophenolen und Catecholaminen aufgrund der π-Resonanz bei relativ niedrigen Potentialen geschehen.

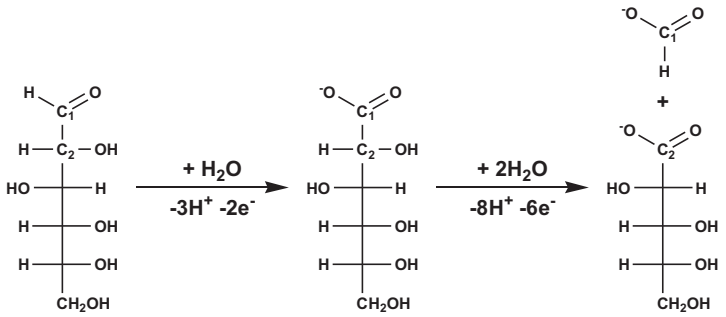


Abbildung 3.3: Anodische Oxidation von Kohlenhydraten.

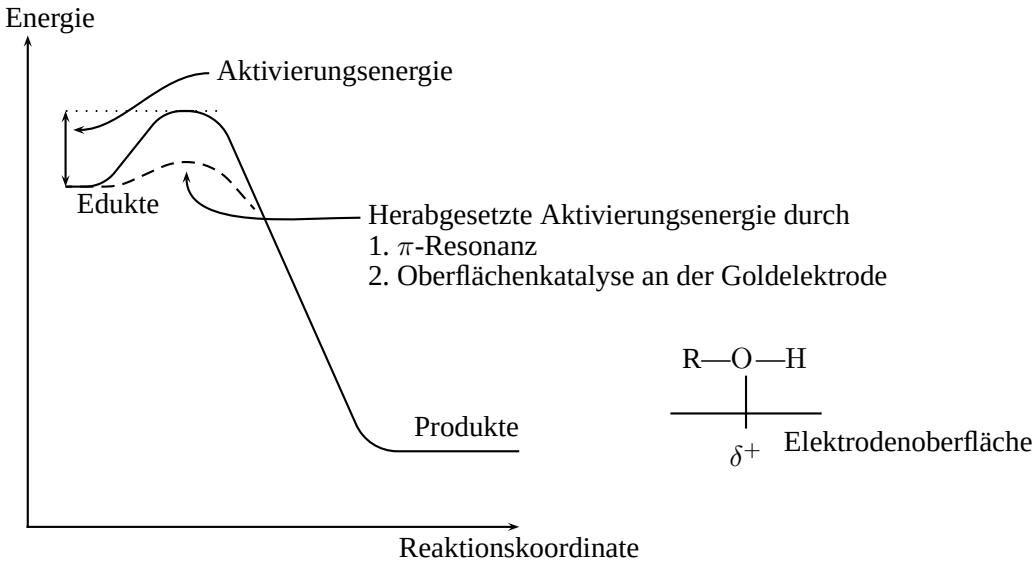


Abbildung 3.4: Elektrochemisches Reaktionsdiagramm, nach [43].

Aliphatische Verbindungen wie Zucker besitzen diese Möglichkeit der Stabilisierung nicht. Allerdings können diese Verbindungen trotzdem bei niedrigen Potentialen oxidiert werden, wenn die Elektrode elektrostatisch die radikalischen Zwischenprodukte stabilisiert. Da Edelmetalle wie Gold unbesetzte d-Orbitale besitzen, können diese, wie in Abbildung 3.4 dargestellt, die radikalischen Zwischenstufen durch Adsorption stabilisieren [43].

3.5.3 Pulssequenzen

Die Amperometrie bei festem Arbeitspotential besitzt den Nachteil, das sich die oxidierten oder reduzierten Produkte auf der Elektrodenoberfläche absetzen und damit die Oberflächencharakteristik verändern. Durch die Reaktion wird die Elektrodenoberfläche sehr schnell vergiftet, weshalb eine Pulssequenz zum ständigen Reinigen der Oberfläche zwischen den Messzyklen zwingend erforderlich ist [44]. Die wichtigsten Pulssequenzen werden Mode 1 und Mode 2 genannt und werden im folgenden erläutert [47] [48].

Mode 1: In der gepulsten amperometrischen Detektion werden im sogenannten Mode 1 die in Abbildung 3.5 auf der nächsten Seite links gezeigten drei unterschiedlichen Potentiale angelegt. Das erste Potential

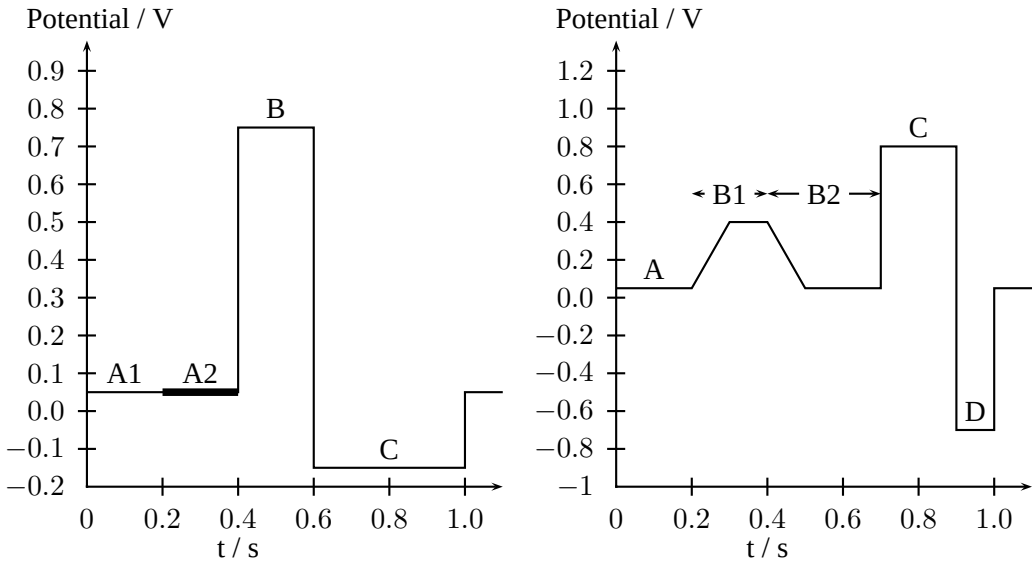


Abbildung 3.5: Pulssequenzen — links: Mode 1, rechts: Mode 2.

reicht aus, um den Analyten wie oben beschrieben zu oxidieren und dieser scheidet sich auf der Oberfläche ab (Abschnitt A1 und A2). Das zweite Potential wird deutlich höher als das erste angelegt und oxidiert die Elektrodenoberfläche zu Goldoxid, was zur Desorption der Analyten führt (Abschnitt B). Anschließend wird ein negatives Potential angelegt, und die Goldoberfläche wieder in ihren Ausgangszustand, elementares Gold, reduziert (Abschnitt C). Das Potential wird wieder auf das Startpotential eingestellt und der nächste Messzyklus begonnen. Da das Ändern des Potentials einen kleinen Strom verursacht, ist es nötig, eine kurze Verzögerung vor der Messzeit einzubauen (Abschnitt A1), damit die Schwankung der Potentialänderung das Messsignal (Abschnitt A2) nicht beeinflusst.

Mode 2: Aliphatische Amine oder Aminosäuren können leicht durch aktivierte Zwischenprodukte bei der Oxidation an der Edelmetalloberfläche (AuOH) anodisch oxidiert werden. Diese beschleunigen den anodischen Oxidationsprozess der Amingruppe. Dazu wird zunächst das Potential langsam vom Ausgangspotential (Abschnitt A) in Abbildung 3.5 rechts erhöht, um die Edelmetalloberfläche langsam zu oxidieren (Abschnitt B1), und dabei die oben beschriebenen Zwischenprodukte zu erhalten. Dabei fließt ein kleiner Strom, der sich nicht vermeiden lässt. Von diesen Zwischenprodukten werden dann die Analytmoleküle oxidiert, was dann den Hauptstrom verursacht. Anschließend wird das Potential wieder langsam auf das Ausgangsniveau abgesenkt (Abschnitt B2), wobei ein Strom in die entgegengesetzte Richtung fließt, der sich mit dem im ersten Schritt fließenden Strom nahezu ausgleicht. Integriert man also über die gesamte Zeit den Stromfluss, so erhält man nahezu das reine Analytsignal.

Die amperometrische Detektion ist gut für die Analyse von Analyten mit pK-Werten größer sieben geeignet. Diese sind aufgrund ihrer geringeren Dissoziation durch Leitfähigkeitsmessung nur schwer zu bestimmen. Die amperometrische Messzelle ist meist in einer Drei-Elektroden-Anordnung aufgebaut, bestehend aus einer Arbeitselektrode, einer Referenzelektrode und einer Gegenelektrode. Als Arbeitselektrode werden edle Metalle wie Gold, Nickel, Kupfer oder Platin verwendet [49] [50]. Auch Legierungen oder chemisch modifizierte Elektroden, bei der Metalle in einer organischen/anorganischen Matrix fixiert werden, finden Anwendung [51] [52].

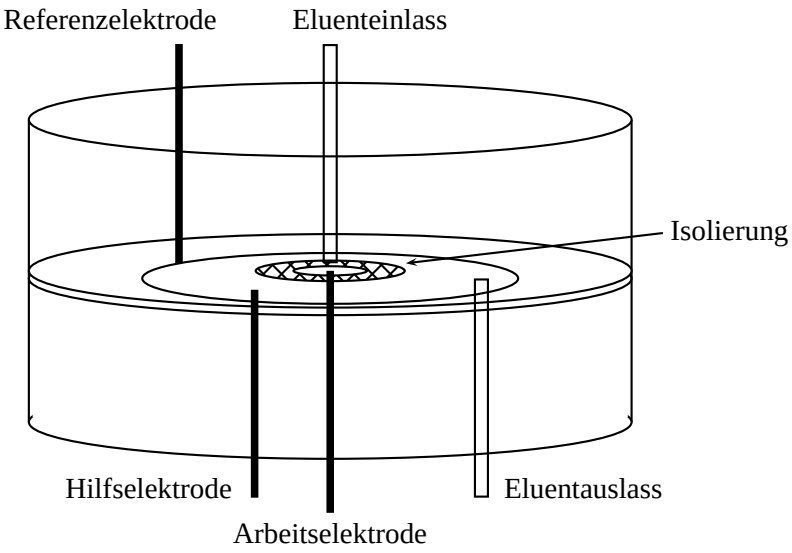


Abbildung 3.6: Amperometrische Messzelle.

An dieser Elektrode werden die elektroaktiven Spezies oxidiert oder reduziert. Der in dieser Arbeit verwendete Detektor der Firma Metrohm besitzt die oben beschriebene Elektrodenanordnung.

Der in Abbildung 3.6 gezeigte Detektor ist in zwei Hälften aufgebaut. Die beiden Hälften werden von einer Distanzscheibe (25-120 μm) getrennt. In der einen Hälfte ist die Referenzelektrode und die Zuführung des Eluenten untergebracht. Diese Zuführung zeigt direkt auf die Oberfläche der Gold-Arbeitselektrode, welche nur durch den Platzhalter der Distanzscheibe von der anderen Hälfte getrennt wird. Dadurch ergibt sich ein sehr kleines Messzellenvolumen. Die Hilfselektrode ist um die Goldelektrode angebracht. In dieser befindet sich auch der Eluentenauslass.

4 Stationäre Phasen in der Ionenchromatographie

4.1 Prinzipieller Aufbau von stationären Phasen

In der Ionenchromatographie werden im Gegensatz zur klassischen HPLC in der Regel stationäre Phasen auf organischer Polymerbasis verwendet. Diese Trägermaterialien zeichnen sich durch eine hohe mechanische und chemische Stabilität aus. Die bessere Stabilität gegenüber höheren pH-Werten macht sie bei der Verwendung alkalischer Eluenten unverzichtbar, da auf Kieselgelgerüsten basierende Phasen unter diesen Bedingungen abgebaut werden. Der strukturelle Aufbau der organischen Polymerphasen kann dagegen sehr unterschiedlich sein und reicht von klassischen, partikelförmigen Teilchen, über beschichtete oder agglomerierte Phasen bis zu monolithischen Phasen. Dennoch finden auch Silikagele Anwendung in der Ionenchromatographie. Ihre hervorragende mechanische Stabilität und Trennleistung wird vor allem dort genutzt, wo schwach saure Eluenten zum Einsatz kommen. So werden mit Sulfonsäuregruppen oder mit Carbonsäuren versehene Austauscherharze zur Trennung von Kationen verwendet [11]. Da in dieser Arbeit ausschließlich Anionenaustauscher auf organischer Polymerbasis verwendet werden, sollen diese in diesem Kapitel eingehender betrachtet werden. In Abbildung 4.1 auf der nächsten Seite ist eine Klassifizierung der Anionenaustauscher auf Basis organischen Polymerphasen, die in dieser Arbeit Verwendung finden, dargestellt.

Große Bedeutung unter den kommerziellen Trägermaterialien haben derzeit sphärische Polymerpartikel aus Polystyrolderivaten wie Polystyrol-Divinylbenzol (PS-DVB), Ehthylvinylbenzol-Divinylbenzol (EVB-DVB) oder Vinylbenzylchlorid-Divinylbenzol (VBC-DVB) und Polyvinyl-Polymeren. Auch Trägermaterialien auf Basis von Polymethacrylaten sind möglich [53]. Diese porösen Copolymere haben einen mittleren Partikeldurchmesser von 2 bis 10 μm und sind über den gesamten pH-Bereich von 0 bis 14 sehr stabil [11]. Die Copolymerisation dient der Stabilisierung der Partikel durch Quervernetzung. Ein Ausschnitt aus einem PS-DVB-Copolymer ist in Abbildung 4.2 gegeben. PS-DVB-Polymere besitzen aufgrund ihrer vielen aromatischen Einheiten einen eher hydrophoben Charakter. Man unterscheidet bei diesen Polymeren zwischen gelartigen und netzförmigen Substraten [11]. Gelartige Substrate werden durch Suspensionspolymerisation hergestellt, bei der die einzelnen Monomere durch schnelles und gleichmäßiges Rühren als feine Tröpfchen in Wasser suspendiert werden. Die daraus entstandenen Polymere sind mikroporös und ihre Größenverteilung hängt von der Rührgeschwindigkeit ab. Bei netzförmig hergestellten Substraten wird neben dem polaren Lösungsmittel ein chemisch inertes Lösungsmittel zugegeben, worin das Produktpolymer nicht löslich ist. Dadurch wird Lösungsmittel im Polymer eingeschlossen, was letztendlich nach Trocknen des Polymers zu kugelförmigen Teilchen mit sehr großer Oberfläche führt. Netzförmige Substrate besitzen wegen ihres großen Vernetzungsgrades eine größere mechanische Stabilität als gelartige Substrate und neigen zu einem geringerem Quellen und Schrumpfen bei Einsatz organischer Lösungsmittel als Eluenten.

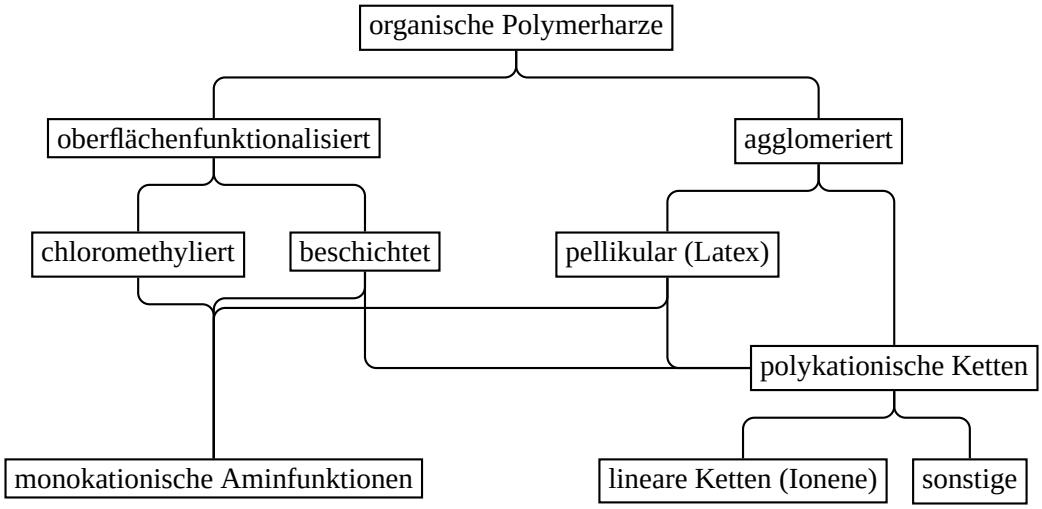


Abbildung 4.1: Übersicht über die in dieser Arbeit hergestellten Anionenaustauscher auf Basis von organischen Polymerphasen.

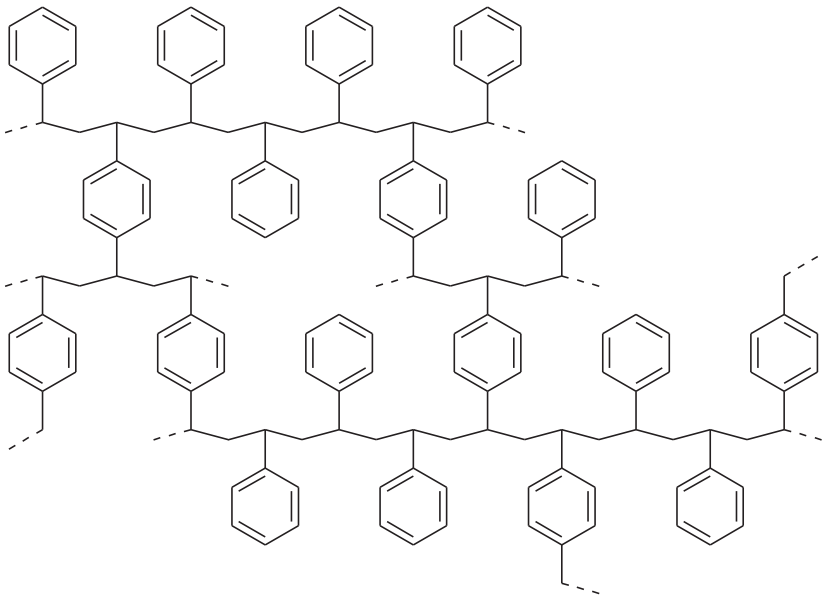


Abbildung 4.2: Ausschnitt aus einem PS-DVB-Polymer.

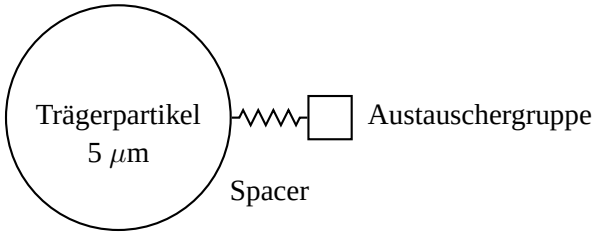


Abbildung 4.3: Schematischer Aufbau eines Trägerpartikels für Ionenaustauscher.

Der allgemeine Aufbau eines Ionenaustauscherpartikels ist in Abbildung 4.3 dargestellt. Um vom Trägermaterial zum fertigen Ionenaustauscher zu kommen, müssen die Trägerpartikel mit Austauschergruppen funktionalisiert werden. Die Verbindung vom Trägerpartikel zur Austauschergruppe wird durch eine Abstandsgruppe (engl. *Spacer*) hergestellt, welche ihrerseits vor der Funktionalisierung eine präfunktionelle Gruppe trägt. Diese präfunktionelle Gruppe wird dann in einem weiteren Reaktionsschritt in eine Austauschergruppe umgewandelt. In den folgenden Unterkapiteln werden die für diese Arbeit wichtigsten Möglichkeiten der Funktionalisierungen erläutert.

4.1.1 Oberflächenmodifizierte Trägerpartikel

Die einfachste Form der Modifizierung des Trägermaterials findet sich in der direkten Funktionalisierung der Oberfläche. Die aromatischen Systeme von PS-DVB-Polymeren bieten viele Möglichkeiten der Funktionalisierung. Meist werden die Polymere nicht total funktionalisiert, sondern nur an der Oberfläche. Diese haben eine deutlich höhere chromatographische Effizienz, da kürzere Wege zu einem besseren Massentransfer beitragen. Um zu diesen pellikularen Substraten zu gelangen, wird zunächst ein Spacer am Polymergrundgerüst eingefügt, an der später die Austauschergruppe (siehe Kapitel 4.2 auf Seite 59) angefügt wird [11] [14]. Im Falle der Sulfonierung kann die Oberflächenmodifizierung direkt zur Kationenchromatographie verwendet werden oder dient als Grundlage für agglomerierte Materialien, welche in der Anionenchromatographie Verwendung finden.

Die Spacergruppen bestimmen den Abstand der Austauschergruppe von der Polymeroberfläche. In der Regel wird ein kurzer Spacer eingeführt, weit verbreitet ist die Chlormethylgruppe.

4.1.2 Chloromethylierung

Die Chloromethylierung ist die am häufigsten verwendete Methode zur Einführung von Spacergruppen [54]. In Folge der Reaktion wird ein C_1-Spacer eingeführt, welcher ein Chloratom als weitere präfunktionelle Gruppe trägt. Dieses kann in einem weiteren Schritt durch nukleophile Substitution mit einem tertiären Amin in eine Austauschergruppe umgewandelt werden. In der Literatur werden drei mögliche Synthesewege beschrieben, alle führen bei geeigneten Reaktionsbedingungen zu hochkapazitiven Materialien (siehe Kapitel 4.4.2 auf Seite 73). In dieser Arbeit sind Trägermaterialien durch Chloromethylierungen nach Hauptmann zum Einsatz gekommen.

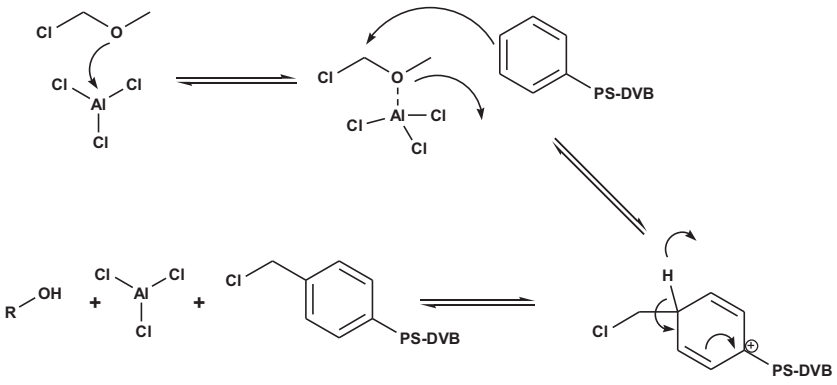


Abbildung 4.4: Reaktionsmechanismus zur Einführung einer Chlormethylgruppe mit Chloromethylmethylether, nach [54].

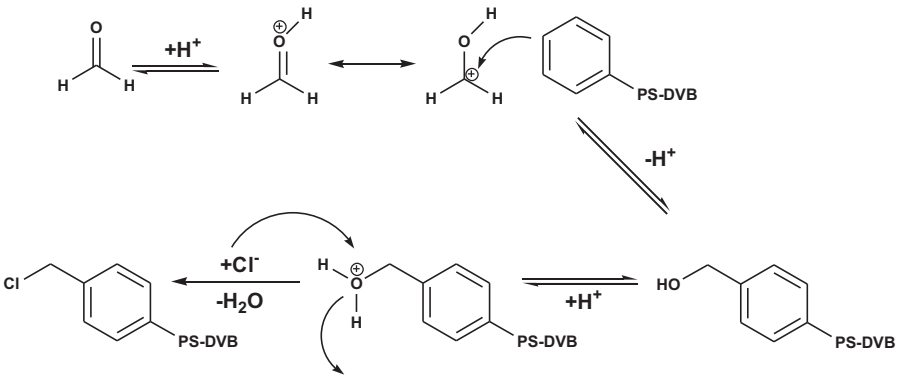


Abbildung 4.5: Reaktionsmechanismus zur Einführung einer Chlormethylgruppe nach Fritz.

Eine frühe Form der Chloromethylierung besteht in der Umsetzung von Chloromethylmethylether (CMME) mit einer Lewis-Säure (Aluminium-(III)-chlorid, Zink-(II)-chlorid) als Katalysator (siehe Abbildung 4.4) [55]. Nach dem Reaktionsmechanismus für Friedel-Crafts-Alkylierungen bilden sich vorwiegend parasubstituierte Aromaten. Die Reaktivität von CMME ist sehr gross, es werden hohe Funktionaliserungsgrade erreicht. Problematisch ist die große Toxizität von CMME und seine karzinogene Wirkung. Höhere Homologe von CMME, wie z.B. Chloromethyloctylether sind zwar deutlich weniger toxisch, jedoch Aufgrund des langen Alkylrests auch deutlich weniger reaktiv.

Um die toxischen Wirkungen beim Umgang mit CMME zu umgehen hat Fritz ein Verfahren entwickelt, in dem auf CMME verzichtet werden kann. Der Reaktionsweg ist in Abbildung 4.5 dargestellt [56]. Als Ausgangsstoff dient Formaldehyd, welcher zusammen mit dem Polymer in einem inerten Lösungsmittel wie 1,2-Dichlorethan vorgelegt wird. Durch Einleiten von Chlorwasserstoff entsteht durch Protonierung in situ ein Hydroxymethylenkation, welches elektrophil mit dem Polymer reagiert. Der gebildete Benzylalkohol reagiert weiter mit Chlorwasserstoff unter Wasserabspaltung.

Eine Alternative zu den beiden bisher beschriebenen Wegen ist die Chloromethylierung nach Hauptmann. Als Ausgangsverbindung wird Dimethoxymethan (DMM) verwendet. Dieses wird zusammen mit dem Polymer unter Kühlung mit Sulfurylchlorid versetzt und bildet in einem erstem Schritt intermediär das toxische CMME. Nachdem sich genug CMME gebildet hat, wird Chlorsulfonsäure zugegeben und der CMME an der Etherfunk-

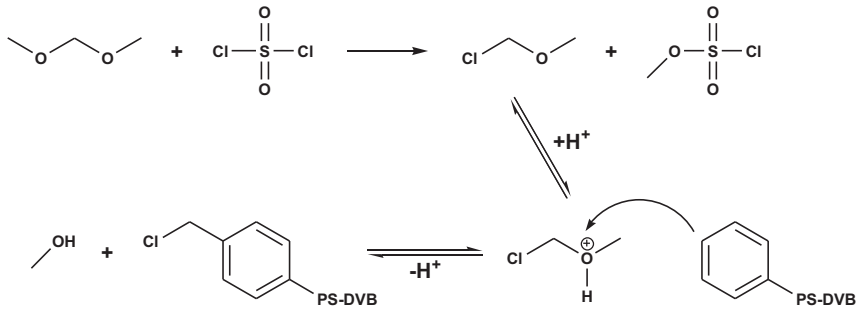


Abbildung 4.6: Reaktionsmechanismus der Chloromethylierung nach Hauptmann et al.

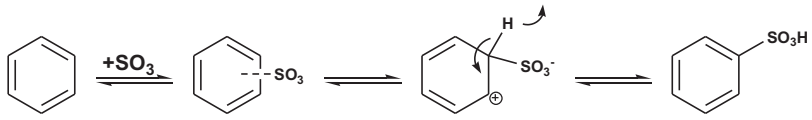


Abbildung 4.7: Reaktionsmechanismus zur Sulfonierung mit Schwefeltrioxid.

tion protoniert. Das gebildete Elektrophil greift den aromatischen Ring des Polymergrundgerüstes an und bildet unter Methanolabspaltung die Chlormethylgruppe. Der Reaktionsmechanismus ist in Abbildung 4.6 dargestellt.

4.1.3 Sulfonierungen

Durch die Sulfonierung von PS-DVB-Polymeren werden Kationenaustauscher hergestellt. Durch Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure wird die Oberfläche des Austauscherharzes mit Sulfonsäuregruppen modifiziert, wobei die Kapazität durch den Sulfonierungsgrad festgelegt wird. Neben konzentrierter Schwefelsäure sind auch rauchende Schwefelsäure, Schwefelsäureester, Chlorsulfonsäuren oder Schwefeldioxid geeignete Sulfonierungsmittel. Durch Festlegung der Reaktionsbedingungen kann der Sulfonierungsgrad beeinflusst werden. Die Reaktionen werden im Falle von konzentrierter Schwefelsäure als Sulfonierungsreagenz im Ultraschallbad bei erhöhter Temperatur durchgeführt. Reaktionszeit, Reaktionstemperatur und die Stärke des Ultraschallbads können variiert werden. Typische Austauschkapazitäten liegen im Bereich zwischen 0,005 und 2,0 mmol g^{-1} [11], wobei hohe Kapazitäten leicht zu erreichen sind [57]. Im Falle niedriger Sulfonierungsgrade werden stark inhomogene Produkte erhalten. Der Reaktionsmechanismus der Sulfonierung mit konz. Schwefelsäure ist in Abbildung 4.7 dargestellt. In konz. Schwefelsäure befindet sich aufgrund der Gleichgewichtseinstellung in Gleichung 4.1 immer ein Anteil an Schwefeltrioxid. Dieses führt einen elektrophilen Angriff am aromatischen System durch. Anschließend erfolgt mit Abspaltung eines Protons die Rückbildung des aromatischen Systems.

$$2\mathrm{H_2SO_4} \rightleftharpoons \mathrm{SO_3} + \mathrm{H_3O^+} + \mathrm{HSO_4^-} \tag{4.1}$$

Ein weiterer Weg, sulfonierte PS-DVB-Polymere zu erhalten stammt aus der Entwicklung hochtemperaturbeständinger Kationenaustauscherharze in Katalysatoren [58] [59]. Bei Temperaturen über 403 K findet in wäßrigen Systemen eine hydrolytische Spaltung aromatischer Sulfonsäuregruppen zum PS-DVB-Polymer und

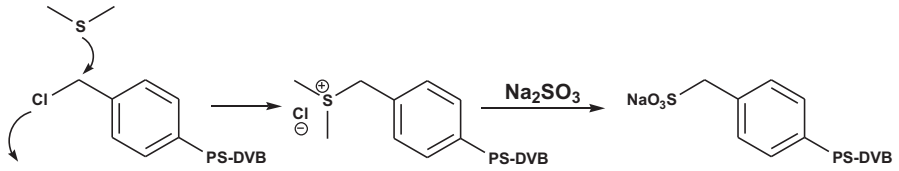


Abbildung 4.8: Reaktionsmechanismus zur Sulfomethylierung mit Dimethylsulfid und Natriumsulfitlösung, nach [58].

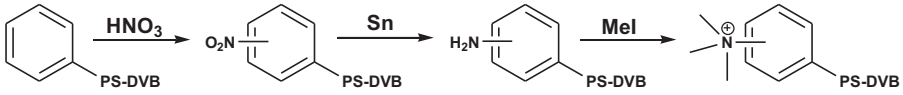


Abbildung 4.9: Reaktionsmechanismus zur Nitrierung mit anschließender Reduktion und Quarternisierung, nach [60].

Schwefelsäure statt. Durch Einführung einer Methylengruppe soll die Temperaturstabilität gesteigert werden. Als Ausgangspunkt für diese Sulfomethylierungen können chloromethylierte PS-DVB-Polymere eingesetzt werden. Eine direkte Umsetzung dieser Chlorverbindungen mit Natriumsulfit erzielt erst bei höheren Temperaturen über 423 K geringe Umsatzraten, da bei diesen Temperaturen auch eine Hydrolyse der Chlorverbindung stattfindet. Zudem verhindert die Hydrophobie des chloromethylierten Polymers den Transport des gelösten Natiumsulfits zum Reaktionsort. Eine Umsetzung bei niedrigeren Temperaturen kann durch Überführen der Chloromethylgruppe in ein Sulfoniumsalz geschehen. Durch Umsetzen mit Dimethylsulfid erhält man das in Abbildung 4.8 gezeigte hydrophile Zwischenprodukt. Dieses kann dann bei relativ niedrigen Temperaturen von 353 K mit wässriger Natriumsulfitlösung in die entsprechende Sulfonsäure überführt werden. Der Vorteil dieser Methode gegenüber der direkten Sulfonierung mit Schwefelsäure liegt in der leichter einstellbaren Kapazität, welche durch den Chloromethylierungsgrad vorbestimmt wird. Vor allem niedrige Sulfonierungsgrade sind so einfacher einstellbar.

4.1.4 Nitrierungen

Für die Analyse von Kohlenhydraten werden, wie in Kapitel 4.2 auf Seite 59 gezeigt, ausschließlich starke Anionenaustauscher auf Basis von quartären Ammoniumionen verwendet. Solche Materialien können auf einfache Weise auch durch direkte Nitrierungen von PS-DVB-Polymeren erreicht werden [60]. Die PS-DVB-Trägerteilchen werden in einem ersten Schritt mit rauchender Salpetersäure und Schwefelsäure nitriert. Die auf diese Weise eingeführten Nitrogruppen werden mit metallischem Zinn reduziert und anschließend mit einem Methylierungsmittel wie Iodmethan oder Dimethylsulfat quarternisiert. Das Reaktionsschema ist in Abbildung 4.9 gezeigt.

4.1.5 Beschichtete Phasen

Eine einfache Möglichkeit zur Oberflächenmodifizierung ist die Beschichtung von Trägermaterialien [11]. Für die Beschichtung wird ein weiterer Polymerisationsschritt mit funktionellen Monomeren durchgeführt. Dies

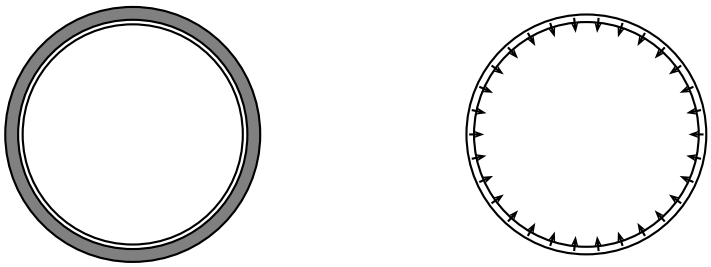


Abbildung 4.10: Vergleich von Trägermaterialien versehen mit einer Beschichtungs- oder Pfropfpolymerisation. Die Beschichtungsreaktion führt zu einer geschlossenen Schale um das Trägerteilchen und muss muss keine chemische Verbindung zu diesem besitzen. Im Falle der Pfropfpolymerisation wird eine chemische Verbindung zwischen Oberfläche und aufgebrachter Beschichtung hergestellt.

führt zu einer weiteren Schicht auf dem Trägerpartikel, welche entweder direkt die funktionelle Austauschergruppe oder eine präfunktionelle Gruppe beinhaltet. In einem weiteren Aminierungsschritt kann diese präfunktionelle Gruppe in eine Austauschergruppe umgewandelt werden. Es können geringe Schichtdicken erreicht werden, was zu effizienten Materialien führt, da die Wegstrecken für den Massentransfer zwischen mobiler und stationärer Phase kurz bleiben. Die Beschichtung kann je nach eingesetzten Materialien und Monomeren den Partikel ganz umschließen oder nur mit geeigneten Polymerteilen des Trägerteilchennetzwerkes reagieren. Im ersten Falle spricht man von einer Beschichtung (engl. *coating*), im zweiten von einer Pfropfpolymerisation (engl. *grafting*). In Abbildung 4.10 sind diese beiden Fälle schematisch dargestellt.

Der Vorteil von Beschichtungsreaktionen liegt im breiten Spektrum an einsetzbaren Monomeren zur Beschichtung. Raskop untersuchte jüngst verschiedene Arten von Beschichtungsreaktionen und unterschiedliche Monomere zur Beschichtung von PS-DVB-Trägermaterialien [61]. Diese Untersuchungen beinhalteten sowohl Beschichtungsreaktionen mit präfunktionellen Monomeren wie Vinylbenzylchlorid als auch Pfropfpolymerisationen mit funktionellen Monomeren, welche eine Ionenaustauschfunktion vorgebildet hatten. In Abbildung 4.11 auf der nächsten Seite sind ein Teil der verwendeten Monomere aufgeführt. Der Einsatz solcher Phasen zur Trennung von anorganischen Anionen wurde mit Erfolg durchgeführt. Zudem ist es mit den von Raskop entwickelten Phasen möglich, Anionenaustauscher mit hohen Kapazitäten und hoher pH-Stabilität herzustellen. Damit eignen sich diese Phasen auch zur Trennung von Kohlenhydraten.

4.1.6 Pellikulare Phasen

Die Entwicklung von pellikularen Phasen für die Ionenchromatographie beruht auf der Immobilisierung von kleinen, runden Partikeln auf dem Trägermaterial. Diese Latexaustauschermaterialien bestehen aus einem Grundkörper mit einem Durchmesser von 5-25 μm, welcher im Falle der Anionenchromatographie mit Sulfonsäuregruppen oberflächenfunktionalisiert ist. Auf diesem Grundkörper werden durch elektrostatische Wechselwirkungen kleinere, aminierte Teilchen agglomeriert, welche Durchmesser um die 0,1 μm aufweisen. Die Schicht zwischen dem Grundkörper und dem Latexpartikel bildet außerdem eine Donnanmembran für Anionen aus, so dass diese nicht in das Innere des Partikels diffundieren können. Damit ergeben sich schnelle Aus-

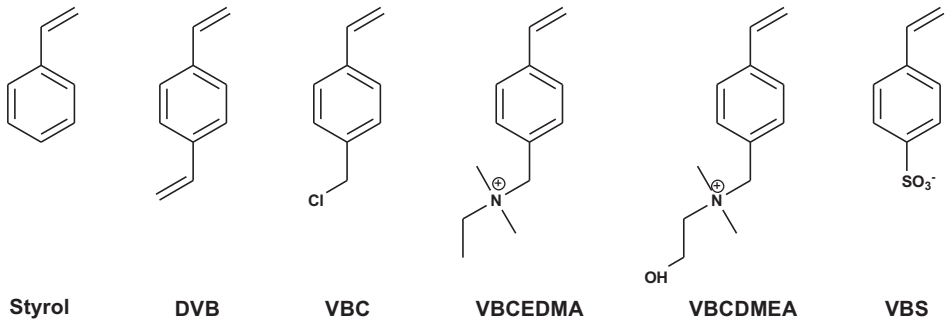


Abbildung 4.11: Monomere zur Beschichtung von PS-DVB-Grundmaterialien, nach [60]. Von links nach rechts: Styrol und Divinylbenzol (DVB) als Monomere des Grundkörpers, Vinylbenzylchlorid (VBC) als präfunktionelles Monomer zur Oberflächenmodifizierung, VBCEDMA und VBCDMEA als funktionelle Monomere mit vorgebildeter Anionenaustauschfunktion. 4-Vinylbenzolsulfonsäure (VBS) zur Herstellung von Kationenaustauschern.

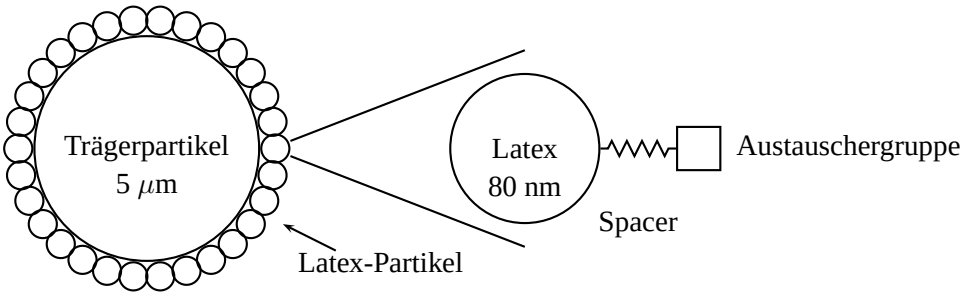


Abbildung 4.12: Schematischer Aufbau eines Latex-Ionenaustauschers.

tauschprozesse an der Oberfläche der pellikularen Partikel. Das erklärt auch die hohe Trennleistung der Latexaustauscher, obwohl die Anionenaustauschkapazität der Materialien relativ niedrig ist (ca. 30–100 μmol g^{-1}). Die elektrostatische Bindung zwischen dem Latexpartikel und dem Trägermaterial ist sehr stabil. Selbst alkalische Eluenten mit Konzentrationen über 3 mol L^{-1} können die ionischen Bindungen zwischen dem Substrat und dem Latex nicht aufbrechen [57].

Latexaustauscher bieten die Möglichkeit, die Entwicklung des Grundpartikels und des Latexpartikels getrennt vorzunehmen. Auch können die Polymergrundgerüste für den Grundpartikel und den Latexpartikel unterschiedlich sein. Der schematische Aufbau einer stationären Phase auf Basis von Latex-Partikeln ist in Abbildung 4.12 gegeben. Im Falle von PS-DVB-Latexpartikeln können im Prinzip alle Funktionalisierungsreaktionen, welche in Kapitel 4.1.1 auf Seite 53 für die Oberflächenfunktionalisierung für Trägerpartikel beschrieben sind, auch auf Latexpartikel angewandt werden. Ein weiterer Weg stellt der Ersatz von Polystyrol durch Vinylbenzylchlorid (VBC) dar, welches eine Chlormethylgruppe am Aromaten trägt. In diesem Falle wird die präfunktionelle Gruppe in dem gesamten Polymer eingebaut. Mit einem geringen Anteil an quervernetzenden Divinylbenzol entstehen hochgradig funktionalisierbare VBC-DVB-Latexpartikel.

4.1.7 Weitere Oberflächenmodifizierungsreaktionen

Eine effiziente Form, um eine Ankerkette mit variabler Kettenlänge einzufügen ist die Reaktion von Substraten mit ω-Bromalkenen wobei mit 6-Brom-1-hexen ein einfach verzweigter C_5-Spacer entsteht. Die Acylierung

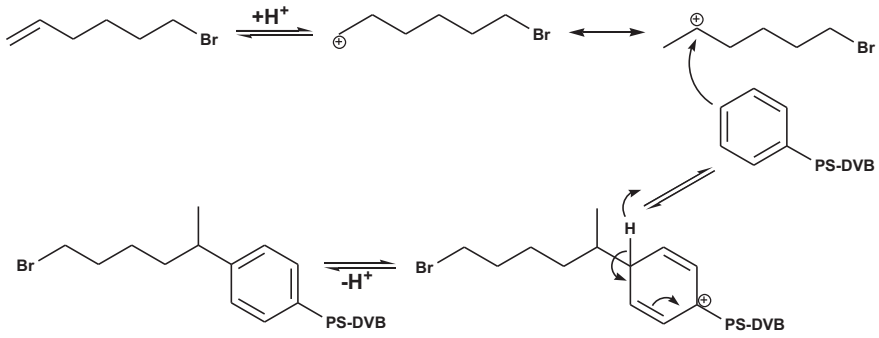


Abbildung 4.13: Reaktionsmechanismus zur Einführung eines Spacers mittels 6-Brom-1-hexen, nach [54].

mit ω-Bromcarbonsäurechloriden bietet ebenfalls die Möglichkeit, eine Spacergruppe mit variabler Kettenlänge zu generieren. Dabei entstehen Spacergruppen, die eine Carbonylfunktion tragen. Bei der Reaktion von Bromessigsäurechlorid wird ein C_4-Spacer eingeführt, welcher mit der Carbonylfunktion eine polare Funktion trägt. In Abbildung 4.13 ist der Reaktionsmechanismus zur Einführung einer Spacergruppe mittels 6-Brom-1-hexen aufgeführt. Als Katalysator wird in diesem Falle eine Supersäure in Form von Trifluormethansulfonsäure eingesetzt [54] [62].

4.2 Funktionelle Gruppen in der Anionenchromatographie

Die funktionelle Gruppe in der Anionenchromatographie besitzt eine zentrale Rolle bezüglich der Wechselwirkung des Analyts zur stationären Phase. Während das Trägermaterial hauptsächlich die Diffusionswege und Massentransportwege der Analyten bestimmt, findet an der funktionellen Gruppe die eigentliche Wechselwirkung mit der stationären Phase statt. Somit trägt das Trägermaterial hauptsächlich zur Effizienz, und die funktionelle Gruppe verstärkt zur Selektivität des Anionenaustauschers bei. Der Aufbau einer funktionellen Gruppe kann je nach Fragestellung und Austauschertyp sehr unterschiedlich sein und definiert die chemische Umgebung des Austauscherplatzes. So kann eine funktionelle Gruppe je nach Aufbau die Polarität der Umgebung beeinflussen, sie kann sterisch anspruchsvoll gestaltet werden oder neben der kationischen Funktion, welche für die Anionenaustauschchromatographie nötig ist, weitere funktionelle Elemente beinhalten wie z.B. Mehrfachbindungen für $\pi - \pi$-Wechselwirkungen. Diese Funktionen der Austauschergruppe müssen zudem in den verwendeten, meist basischen Eluenten, stabil sein.

Betrachtet man die kommerziell verfügbaren Materialien in Kapitel 4.5 auf Seite 75, so werden in modernen stationären Phasen ausschließlich funktionelle Gruppen auf Stickstoffbasis verwenden. Dies ist vor allem auf die hohe chemische Stabilität der Stickstoffverbindungen gegenüber den analogen Phosphor-, Arsen-, oder Antimonverbindungen oder Kronenetherphasen zurückzuführen [11]. Zudem stehen als Ausgangsverbindungen kommerziell viele Arten von Aminen zur Verfügung, welche reaktiv genug sind, um hohe Umsetzungsgrade auf der Polymeroberfläche zu erreichen. Je nach Anzahl der organischen Reste an den Stickstoffatomen unterscheidet man zwischen schwach basischen und stark basischen stickstoffbasierten Anionenaustauschern. Zu den schwach basischen Anionenaustauschergruppen zählen alle vom Ammoniak abgeleiteten primären, sekundären oder tertiären Amine. Diese liegen, wie in Abbildung 4.14 auf der nächsten Seite dargestellt in basischen Eluenten neutral, in neutralen oder sauren Eluenten kationisch vor. Stark basische Anionenaustauscher basie-

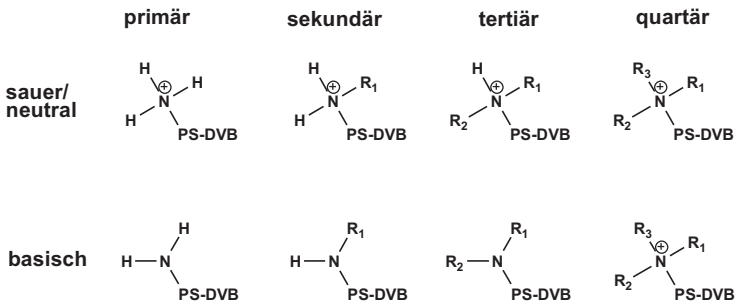


Abbildung 4.14: Einfache Austauschergruppen auf Stickstoffbasis bei unterschiedlichen pH-Werten.

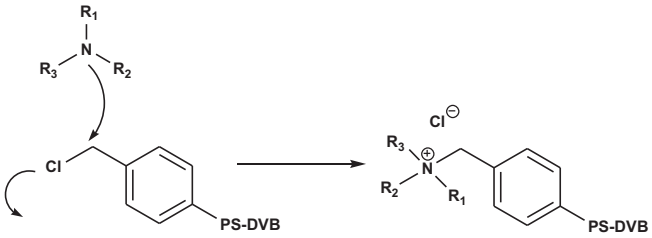


Abbildung 4.15: Allgemeine Aminierungsreaktion.

ren auf quartären Ammoniumionen, welche ihre positive Ladung auch in basischen Eluenten nicht verlieren. Da gerade in der Anionenchromatographie von Kohlenhydraten stark basische Eluenten verwendet werden, kommen in diesem Bereich ausschließlich stark basische Austauschergruppen zum Einsatz.

Die in Kapitel 4.1 auf Seite 51 modifizierten Polymere können an ihrer Ankergruppe mit tertiären Aminen zu Anionenaustauschern mit quartären Ammoniumionen als funktioneller Gruppe umgesetzt werden. Daher werden Aminierungsreaktionen mit unterschiedlichsten tertiären Aminen durchgeführt. Dabei verlaufen die Aminierungen nach dem in Abbildung 4.15 gezeigten nukleophilen S_N-Mechanismus. Quartäre Ammoniumfunktionen können wie in Kapitel 4.1.4 auf Seite 56 gezeigt, ebenfalls sehr einfach durch Reduktion von Nitrogruppen im Polymermaterial generiert werden. Dabei wird zunächst das Material direkt nitriert, anschließend die Nitrogruppe reduziert und letztendlich das primäre Amin mit einem Methylierungsmittel zum quartären Ammoniumion umgesetzt.

Weitere Entwicklungen tendieren zu immer komplexeren Aminstrukturen mit erhöhter Anzahl an Austauschergruppen pro Ankerstelle und verschiedenen Spacergruppen zwischen den Stickstoffatomen [63] [64] [65]. Da diese einen entscheidenden Anteil dieser Arbeit darstellen, werden sie in den folgenden Kapiteln näher betrachtet. Eine weitere neue Entwicklung, die Verwendung von Polyelektrolyten, im Falle der Anionenchromatographie von polykationischen Ketten, ist in Kapitel 4.3 auf Seite 64 zu finden.

4.2.1 Monokationische Austauschergruppen

Die einfachsten stark basischen Austauschergruppen für die Anionenchromatographie werden von tertiären Aminen gebildet. Die organischen Reste der Amine können in verschiedener Weise die Eigenschaften der Austauschergruppe beeinflussen. Eine breite Auswahl an möglichen Aminen und deren gebildeten Ammoniumfunktionen ist in Abbildung 4.16 auf der nächsten Seite gezeigt.

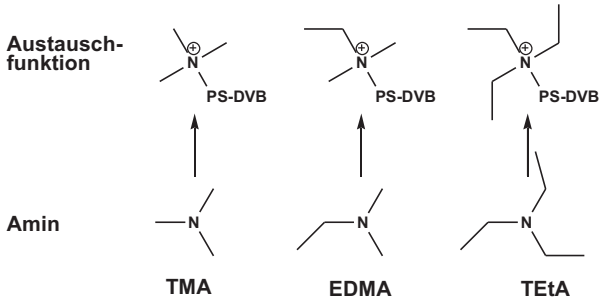


Abbildung 4.16: Auswahl an unpolaren tertiären Aminen und deren quartären Ammoniumfunktionen am Ionenaustauscher mit einer Stickstofffunktion. Von links nach rechts: Trimethylamin (TMA), Ethyldimethylamin (EDMA), Triethylamin (TEA).

Der einfachste Vertreter dieser Gruppe ist das Trimethylamin (TMA). Wegen seiner weiten Verbreitung werden auf Trimethylammoniumgruppen basierende Anionenaustauscher auch als Typ–I-Austauscher bezeichnet. Eine Verlängerung einer oder aller Alkylreste um Methylengruppen führt zu größeren, sterisch anspruchsvolleren Austauscherfunktionen. Damit nimmt die Reaktivität bei der Aminierungsreaktion in einer solchen Reihe mit wachsender Alkylrestlänge gegenüber dem Trimethylamin drastisch ab. Zudem nimmt die Polarität in einer solchen Reihe ab. Dies hat großen Einfluss auf die Polarisierbarkeit und damit die Hydratisierung der Austauschergruppe. Für die Kohlenhydrate als Analyten führt dies zu sekundären Sorptionswechselwirkungen der Austauschergruppe, wie sie auch für polarisierbare anorganische Anionen wie Bromid und Nitrat gefunden werden [11] [2]. Durch diese Wechselwirkungen können, neben den schwächer ausgeprägten elektrostatischen, stabilere Ionenpaare gebildet werden.

Um die Polarität der Austauscherfunktion zu erhöhen werden im allgemeinen Hydroxylgruppen an den Alkylresten eingeführt. Der einfachste Vertreter dieser Gruppe, das Dimethylethanolamin (DMEA), führt eine Alkoholgruppe ein. Da auch diese Gruppe eine weite Verbreitung im Bereich der Ionenchromatographie besitzt, werden auf Dimethylethanolamin basierende Anionenaustauscher auch als Typ–II-Austauscher bezeichnet. Durch weiteren Austausch der beiden Alkylreste des Dimethylethanolamins gegen Ethanolgruppen gelangt man zum Diethanolmethylamin (DEMA) und Triethanolamin (TEA). Insgesamt ist die Trennung von Kohlenhydraten bei polaren Aminen als funktioneller Austauschergruppe deutlich schlechter als bei unpolaren Aminen [66]. Die Analyten erfahren deutlich weniger Retention. Die Alkoholgruppen sind unter den verwendeten alkalischen Bedingungen zu einem Teil deprotoniert und schirmen mit der negativen Ladung die positive Ladung des Stickstoffs in ihrer Nähe ab. Nowak stellt für bromoacylierte Anionenaustauscher den in Abbildung 4.17 auf der nächsten Seite gezeigten Mechanismus auf [54]. Es bildet sich ein inneres Ionenpaar und die positive Ladung wird neutralisiert. Dieser Effekt kann in ähnlicher Weise auch bei Austauschergruppen mit Hydroxyfunktionen auftreten. Dies kann mit Hilfe des pK_s-Wertes abgeschätzt werden. Der pK_s-Wert von Ethanolamin liegt bei 9,5 [67] und dieses wäre damit acider als die untersuchten Kohlenhydrate. Für quartäre Ammoniumionen mit Ethanolfunktionen sind keine pK_s-Werte bekannt.

Hydroxylgruppen erhöhen zusätzlich die Hydratisierung der Austauschergruppe, wodurch sekundäre Sorptionswechselwirkungen in den Hintergrund rücken, welche jedoch gerade bei den Kohlenhydraten eine wichtige Rolle einnehmen.

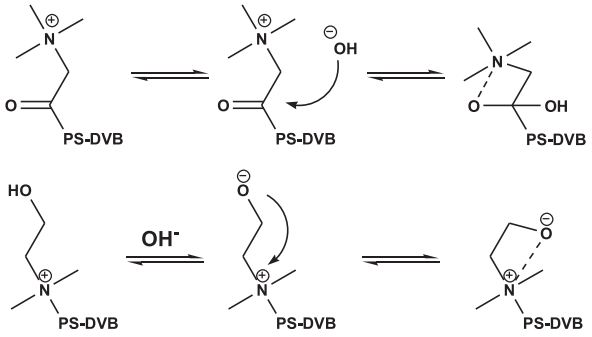


Abbildung 4.17: Oben: Bildung eines inneren Ionenpaares bei bromoacylierten Materialien, nach [54]. Unten: Abschirmung der positiven Ladung der quartären Ammoniumgruppe von polaren Austauscherfunktionen mit Hydroxyfunktion unter alkalischen Bedingungen.

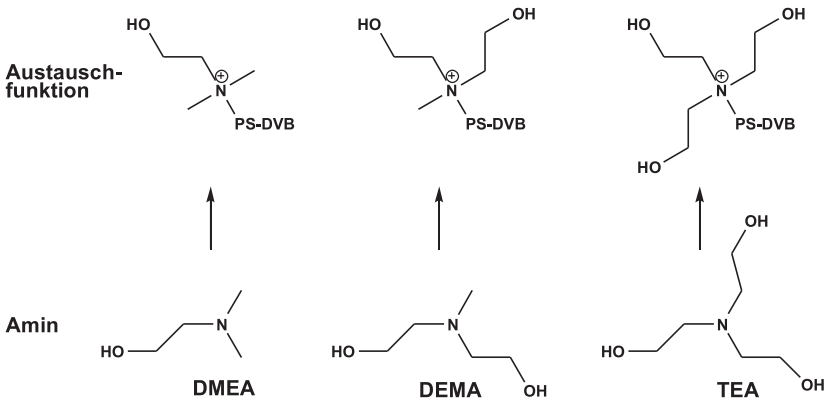


Abbildung 4.18: Auswahl an polaren tertiären Aminen und deren quartären Ammoniumfunktionen am Ionenaustauscher mit einer Stickstofffunktion. Von links nach rechts: Dimethylethanolamin (DMEA), Diethanolmethylamin (DEMA), Triethanolamin (TEA).

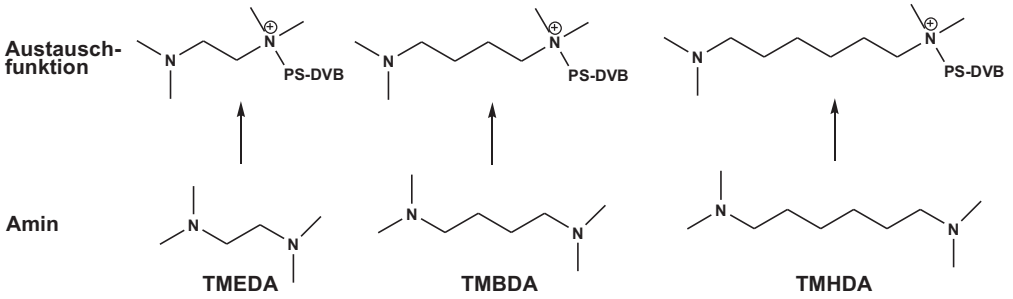


Abbildung 4.19: Auswahl an linearen tertiären Diaminen. Von links nach rechts: Tetramethylethylendiamin (TMEDA), Tetramethylbutylendiamin (TMBDA), Tetramethylhexylamin (TMHDA).

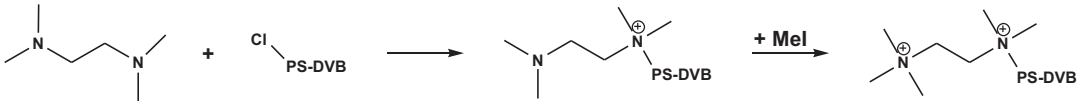


Abbildung 4.20: Aminierung und anschließende Alkylierung der tertiären Aminfunktionen zu quartären Ammoniumfunktionen.

4.2.2 Multikationische Austauschergruppen

Unter multikationischen Austauschergruppen werden Ammoniumfunktionen mit mehr als einer Stickstofffunktion aufgefasst. Um diese einfach herzustellen, werden tertiäre Diamine oder Triamine verwendet, welche die zweite oder dritte Stickstofffunktion schon vorgebildet haben. In Abbildung 4.19 ist eine Auswahl an möglichen Aminen mit mehreren tertiären Aminen gegeben.

Eine einfach Umsetzung nach dem in Kapitel 4.15 auf Seite 60 gezeigten Mechanismus ergibt zunächst eine quartäre Ammoniumgruppe, welche als Austauscherfunktion fungiert, während die weiteren Aminfunktionen zunächst tertiär bleiben. Eine mehrfache Reaktion eines Di- oder Triamins mit mehreren präfunktionellen Gruppen auf der Oberfläche des Trägermaterials ist aufgrund der Verteilung der präfunktionellen Gruppen auf der Oberfläche unwahrscheinlich, zudem wird mit einem großen Überschuss an Amin gearbeitet.

Diese Austauscher besitzen somit zwei unterschiedliche Arten von Austauschergruppen, einen stark basischen Anionenaustauscher mit permanent positiver Ladung, und eine schwach basische Austauscherfunktion in Form einer oder mehrerer tertiärer Amingruppen. Da bei der Trennung von Kohlenhydraten ausschließlich stark basische Eluenten verwendet werden, tragen die schwach basischen Austauschergruppen keinen Beitrag zur Austauschkapazität bei, da diese nicht protoniert sind. Jedoch können die Stickstofffunktionen aufgrund ihrer Elektronendichte durch das freie Elektronenpaar zu weiteren Sorptionswechselwirkungen, z.B. in Form von Wasserstoffbrückenbindungen beitragen.

Werden mit Hilfe eines einfachen Alkylierungsmittels wie Ethylbromid (EtBr) oder Methyliodid (MeI) in einem zweiten Schritt die restlichen tertiären Amine in quartäre Ammoniumgruppen umgewandelt, so entstehen multikationische Austauschergruppen, wie in Abbildung 4.20 gezeigt. Die Umsetzung ist von der Reaktivität des Alkylierungsmittel und Verfügbarkeit der Austauschergruppe unter den auf dem Austauscherharz vorherrschenden Bedingungen abhängig und meist unvollständig.

Wird anstatt eines einfachen Alkylierungsmittels ein mindestens bifunktionelles Halogenalkyl verwendet, so werden neben den neu gebildeten quartären Ammoniumgruppen neue präfunktionelle Gruppen eingeführt.

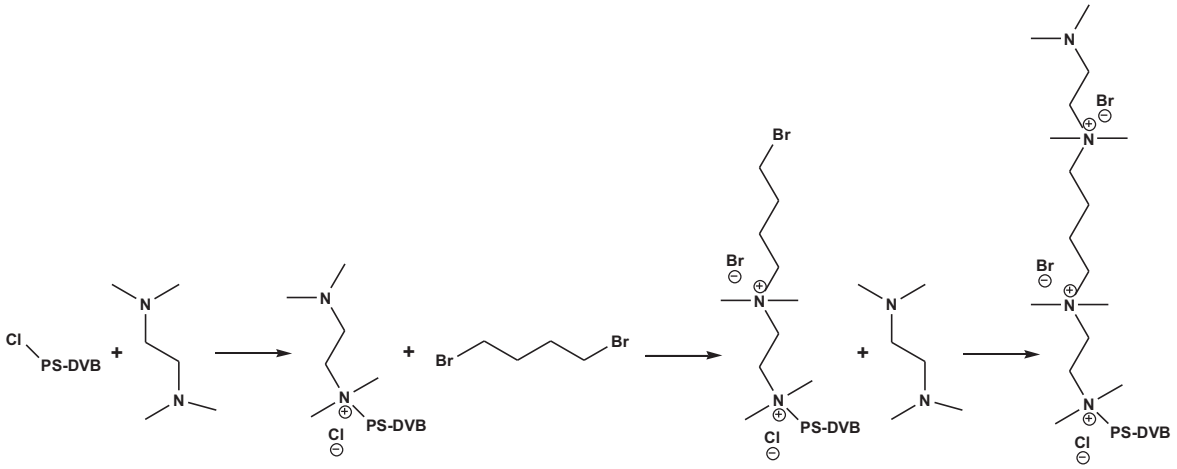


Abbildung 4.21: Sequentielle Reaktionsführung zur Synthese einer polykationischen Kette auf einem Trägermaterial.

Diese können wiederum mit Bi- oder Triaminen umgesetzt werden und die Reaktionsfolge kann wiederholt werden. Prinzipiell ist es nach diesem Verfahren möglich, wie in Abbildung 4.21 gezeigt, Ketten im Falle von bifunktionellen Molekülen, oder auch verzweigte, dendrimerartige Strukturen, mit quartären Ammoniumfunktion zu synthetisieren. Die Austauscherfunktion wächst hierbei Schritt für Schritt in der Länge und in der Anzahl der quartären Ammoniumfunktionen. Der Vorteil dieser Methode beruht in der guten Steuerung des Kettenwachstums. Der Prozess kann bei jeder gewünschten Kettenlänge abgebrochen werden. Unterschiedliche bifunktionelle Verbindungen können in jedem Schritt gezielt eingesetzt werden. Nachteile der Methode liegen in der starken Beanspruchung des Trägermaterials und in einem hohen Zeitaufwand dieser sequentiellen Abfolge. Nach jeder Umsetzung ist eine Aufarbeitung der stationären Phase notwendig, um überschüssige Reagenzien zu entfernen.

Ebenso können, wie bei der Einführung einer präfunktionellen Gruppe in Kapitel 4.1.1 auf Seite 53 gezeigt, im Falle der multikationischen Austauschergruppen die Abstände zwischen quartären Ammoniumgruppen zu Unterschieden in der chromatographischen Trennung führen. Kurze Alkylabstände führen zu stärker polaren Austauscherkomplexen als lange Abstände. Zudem können definierte Abstände zu speziellen Wechselwirkungen mit polyvalenten Anionen führen, welche gut mit den Ladungen in dem vorgegebenen Abstand wechselwirken können.

4.3 Polykationische Ketten — Ionene

Ein spezieller Fall von multikationischen Austauschergruppen auf Stickstoffbasis kann durch Immobilisierung von Polyelektrolyten auf Trägermaterialien erfolgen. Dabei sind vor allem polykationische Ketten in Form von Ionenen von Interesse. Diese Ionene stellen hierbei eine spezielle Klasse von Polyelektrolyten dar, die durch einfache Syntheseschritte zugänglich ist. Zudem gibt es schon eine breite kommerzielle Nutzung und ein breites Spektrum an Edukten. Ein besonderes Merkmal ist ein hohes Maß an Variabilität der Polymerstruktur.

Ionene zeichnen sich durch eine regelmäßige Abfolge von quartären Ammoniumionen zwischen Alkylspacern aus. Der Begriff Ionene (engl. *ionenes*, von *ionic amines*) für solche Polyelektrolyte wurde von Rembaum 1968

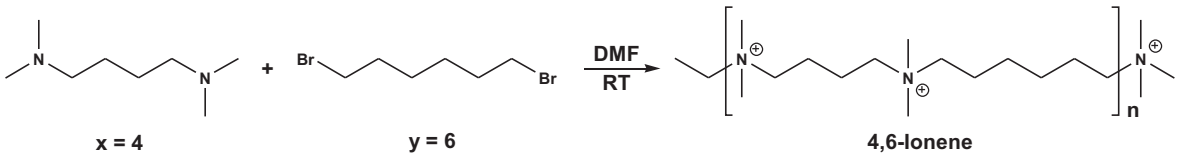


Abbildung 4.22: Synthese von Ionenen über wiederholte Menshutkin-Reaktion.

eingeführt [68]. Die erste Erwähnung von polykationischen Polymeren auf Stickstoffbasis geht bis in das Jahr 1930 zurück [69]. Werden diese Ionene ähnlich Latexpartikeln auf einer stationären Phase immobilisiert, so erhält man einen Anionenaustauscher. Der Vorteil dieser Art von Ionenaustauschermaterialien liegt, wie bei den agglomerierten Materialien auf Latexbasis, in der zweigleisigen Synthese der einzelnen Komponenten. Auch hier kann die Entwicklung des Grundpartikels und der des Ionenes getrennt durchgeführt und speziellen Bedingungen angepasst werden.

4.3.1 Synthese von Ionenen

Das klassische Aufbauprinzip von Ionenen beruht auf einer Polyaddition von $\alpha - \omega$-Dihalogenalkanen mit ditertiären Diaminen. Diese Polyquaternisierung von tert. Aminstickstofffunktionen ist eine wiederholte Abfolge von Menshutkin-Reaktionen. Dies ist in Abbildung 4.22 gezeigt [70]. Alternativ sind auch andere Syntheseprinzipien denkbar. Die Addition bifunktioneller Aminbasen an bivinologe Carbonylverbindungen oder die Polykondensation von bifunktionellen Carbonylverbindungen mit polyfunktionellen Aminen führt zu kationischen Polymeren mit gleicher Strukturcharakteristik, aber mit weiteren Funktionalitäten oder zu quaternären Polyamidaminen.

Die Menshutkin-Reaktion ist eine klassische bimolekulare Substitutionsreaktion (S_N2) von tertiären aliphatischen α, ω - Diaminen mit aliphatischen α, ω - Dihalogeniden. Die Parameter x, y stehen im Falle linearer Ionene mit Alkylspacern für die Anzahl an Methylengruppen in den Spacern der Monomere. Der Abstand der Ammoniumgruppen kann somit durch Wahl der Monomere eingestellt werden. Ionene mit Kettenspacerlängen von C_2 bis C_{22} wurden bereits realisiert [71] [72] [73].

Nahezu alle Parameter dieser Reaktion wie die Polarität des Lösungsmittels [74], die sterische Hinderung der Substituenten [75], der Einfluss der Nukleophilie [76] und die Beweglichkeit der Abgangsgruppe [77] sind in der Vergangenheit eingehend untersucht worden. Schon Rembaum untersuchte intensiv den Mechanismus und die Kinetik der Ionenebildung, sowie ihre Lösungseigenschaften und Ionenleitfähigkeit [78] [79].

Der Polymerisationsgrad der Ionene hängt aber nicht nur von den Reaktionsbedingungen wie Lösungsmittel, Temperatur und Reaktionsdauer ab, sondern auch von den eingesetzten Monomerenverhältnissen. Der höchste Polymerisationsgrad ist von einem Monomerenverhältnis von 1:1 und einer Konzentration von 1 mol L^{-1} an Diamin und Dihalogonid zu erwarten. Bei Monomerenverhältnissen um 10:1 werden nur kurze Fragmente erhalten, vorwiegend Penta- und Heptamere. Ist das Monomerenverhältnis größer als 15:1, so entstehen fast ausschließlich Trimere [80]. Ist ein Anteil an niedermolekularen Bestandteilen unerwünscht, so kann er durch Dialyse in einem Hohlfasermodul entfernt werden [81].

Tiefe Einblicke in die Reaktionskinetik und die Reaktivität der wachsenden ionischen Polyfragmente konnten mittels in situ NMR-Studien erlangt werden [82]. Die Menshutkin-Reaktion ist sehr schnell in polaren,

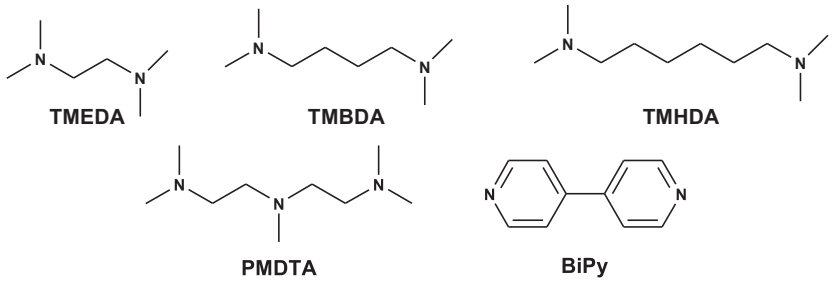


Abbildung 4.23: Auswahl an linearen Diaminen mit unterschiedlichen Spacerlängen und komplexeren Aminen zur Ionenesynthese. Oben von links nach rechts: Tetramethylethylendiamin (TMEDA), Tetramethylbutylenamin (TMBDA), Tetramethylhexylendiamin (TMHDA). Unten von links nach rechts: Pentamethyldiethylentriamin (PMDTA), 4,4'-Bipyridin (BiPy).

aprotischen Lösungsmitteln wie Dimethylformamid (DMF) oder Dimethylsulfoxid (DMSO) ab, welche den Übergangszustand der S_N2 Reaktion gut stabilisieren können. In einem 50:50 Vol% DMF/Methanol-Gemisch ist die Reaktionsgeschwindigkeit um bis zu fünffach langsamer. Das schrittweise stattfindende Kettenwachstum der Ionene führt aufgrund der unterschiedlichen Reaktivität der eingesetzten Monomere und der schon gebildeten Reaktionsprodukte zu einer sehr breiten Molmassenverteilung mit einem signifikanten Anteil an niedermolekularen Fraktionen. Diese niedermolekularen Fraktionen werden vor allem auch durch ablaufende Nebenreaktionen hervorgerufen. Auch die im Laufe der Reaktion steigende Salzkonzentration der Lösung beeinflusst die Reaktivität der geladenen Teilchen. Durch gezielte Zugabe einer Tertbutylammoniumbromid-Lösung kann die Polymerisationsrate erhöht werden [82].

4.3.2 Mögliche Monomere und Nomenklatur von Ionenen

Die Auswahl an Monomeren für die Ionenesynthese ist sehr groß. Durch entsprechende Wahl des Diamins und des Dihalogonids können die Eigenschaften des Ionenes entscheidend beeinflusst werden. Man unterscheidet primär zwischen aliphatischen Ionenen mit Alkylspacern und aromatischen Ionenen. Ionene mit aromatischen Einheiten werden auch als Viologene bezeichnet [83].

Auf der Seite der Diamine sind vor allem N,N,N',N'-tetramethylierte Diamine mit variabler Alkylkettenlänge leicht erhältlich. Aber auch Bipyridyle oder Komplexe Amine mit mehr als zwei oder drei tertiären Aminfunktionen können zu Ionenen umgesetzt werden. Die Reaktivität des Diamins ist bei kurzer Spacerkettenlänge am höchsten und nimmt zu den längeren und komplexeren Strukturen ab. Eine Übersicht über eingesetzte Amine zur Ionenesynthese und ihre Namensgebung ist in Abbildung 4.23 gegeben.

Bei den Dihalogeniden ist die Auswahl an möglichen Monomeren noch größer als bei den Aminen. Bevorzugt werden hier wegen der höheren Reaktivität Bromverbindungen gegenüber Chlorverbindungen. Eine Übersicht über eingesetzte Halogenverbindungen zur Ionenesynthese und ihre Namensgebung ist in Abbildung 4.24 auf der nächsten Seite gegeben. Anstatt Halogeniden können aber auch endständige Epoxide verwendet werden. Ein in der Industrie häufig gewähltes Reagenz ist Epichlorhydrin, was durch Epoxidöffnung zu einem C_3-Spacer mit Hydroxyfunktion am C_2-Atom führt. Dies erhöht nochmals die Hydrophilie des Ionenes.

Die Namensbildung erfolgt nach den Spacern zwischen den funktionellen Gruppen der Edukte. Im Falle von aliphatischen Ionenen mit Alkylketten als Spacern zwischen den quartären Ammoniumionen werden die Al-

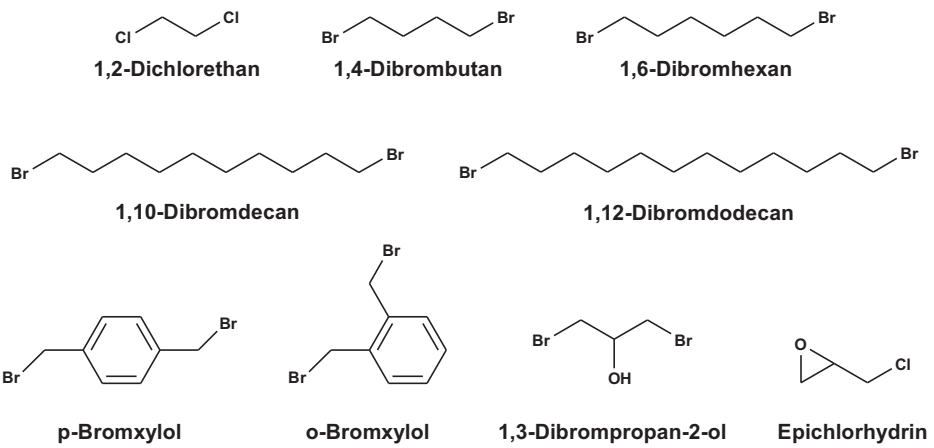


Abbildung 4.24: Auswahl an linearen Dihalogenverbindungen zur Ionenesynthese.

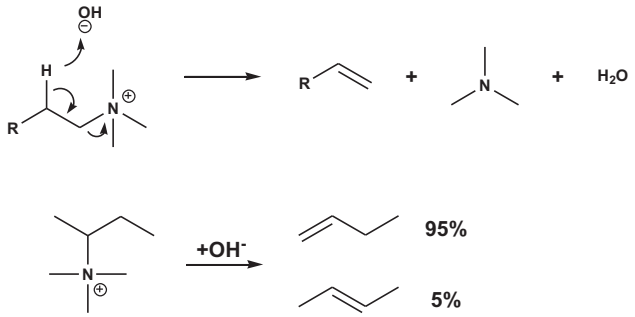


Abbildung 4.25: Nebenreaktionen der Menshutkin-Reaktion: Oben: Hofmann-Eliminierung von quartären Ammoniumionen. Unten: Verteilung der Eliminierungsprodukte nach der Hofmannregel, nach [84].

kylkettenlängen als Zahlen vorangestellt. Ein Ionene aus TMEDA und 1,6-Dibromhexan wird daher z.B. 2,6-Ionene genannt. Sind aromatische Systeme involviert, oder andere Funktionalitäten, so ist die Namensgebung nicht einheitlich. Im Rahmen dieser Arbeit sind vor allem lineare Ionene mit variablen Alkylspacerlängen untersucht worden.

4.3.3 Nebenreaktionen

Bei der Synthese der Ionene kommt es zu Nebenreaktionen durch Hoffmann-Eliminierungen und intramolekulare Zyklisierungen. Bei Reaktionstemperaturen über 313 K oder Reaktionszeiten über drei Wochen kann es zur Hofmann-Eliminierung kommen, wie in Abbildung 4.25 gezeigt. Die Hofmann-Eliminierung ist die Spaltung von Tetraalkylammoniumionen unter β-Eliminierung in ein tertiäres Amin, ein Alken und Wasser unter alkalischen Bedingungen [22]. Enthält die quartäre Ammoniumgruppe Substituenten, aus denen bei der Eliminierung mehrere isomere Olefine entstehen können, so bildet sich überwiegend das Alken mit der geringsten Zahl von Alkylgruppen (Hofmann-Regel).

Zudem können besonders durch Einsatz von Monomeren mit kurzen Alkylspacern ($x, y < 4$) intramolekulare Zyklisierungen zu kleinen Ringfragmenten oder zu linearen Diammoniumverbindungen niedriger Molmasse

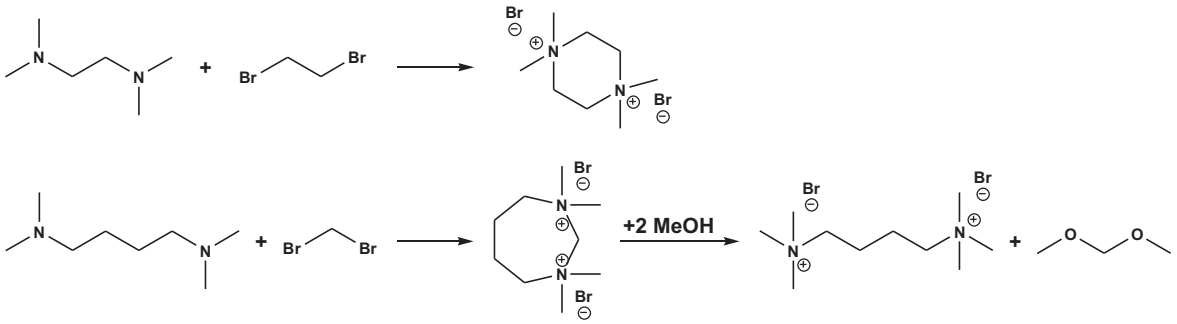


Abbildung 4.26: Nebenreaktionen der Menshutkin-Reaktion: Oben: Zyklisierung zur Diamoniumverbindung. Unten: Reaktionssequenz zur linearen Diammoniumverbindung, nach [79].

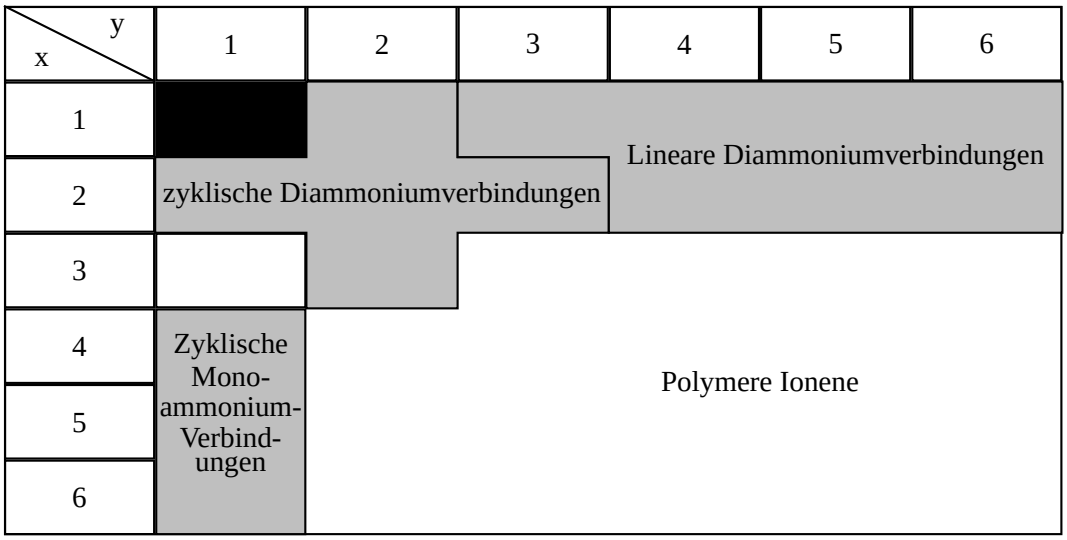


Abbildung 4.27: Abhängigkeit der Reaktionsprodukte der Ionenesynthese von der Kohlenstoffkettenlänge der Monomere, nach [79].

führen [79]. Eine Übersicht der Ergebnisse ist in Abbildung 4.27 zu finden. Eine Reaktion zwischen Edukten mit nur einer Methylengruppe als Spacer führt zu keiner Produktbildung. Liegt die Spacerlänge beider Komponenten zwischen eins und drei, so dominieren zyklische Diammoniumverbindungen, wie in Abbildung 4.26 oben gezeigt. Setzt man zur Synthese eine kurzkettige und eine langkettige Komponenten um, so erhält man kurze Monoammoniumverbindungen oder lineare Diammoniumverbindungen, wie in Abbildung 4.26 unten gezeigt.

Mittels NMR-Untersuchungen konnte gezeigt werden, das diese Nebenreaktionen unter normalen Synthesebedinungen bei Raumtemperatur und Reaktionszeiten unter einer Woche im Falle der Hofmann-Eliminierung einen Stoffmengenanteil von unter 5% ausmachen [82].

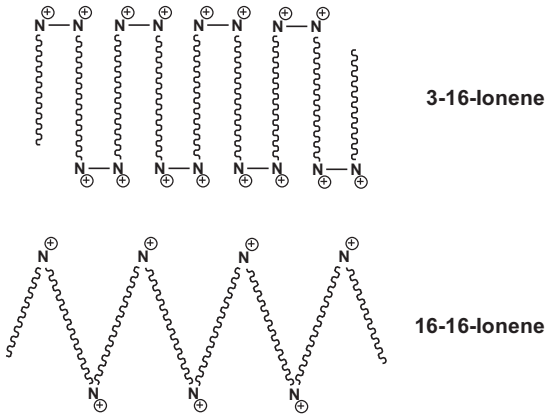


Abbildung 4.28: Schematische Darstellung der Konformation eines Mizellenartigen Ionenes in wässriger Lösung. Nach [87] [88].

4.3.4 Eigenschaften

Ionene sind wasserlösliche, ambiphile, ionische Polymere mit einer alternierenden Abfolge von Spacergruppen. Sie kommen in Form weißer, salzartiger Pulver vor und sind in der Regel stark hygroskopisch.

Es ist bekannt, das Ionene mit kurzen Spacerkettenlängen ($x = 3,\ y < 14$), wie andere typische Polyelektrolyte, in wässriger Lösung lang ausgebreitet vorliegen [85]. Mit einer hohen Ladungsdichte steigt die Kettensteifigkeit [86]. Dagegen formen Ionene mit mindestens einer sehr langen Spacerkettenlänge ($x = 3,\ y > 14$) zunehmend kompakte globulare oder mizellenartige Strukturen [87]. Ein Hinweis darauf zeigen die Messungen der intrinsischen Viskosität, welche für Ionene mit langkettigen Spacerabständen deutlich kleiner ist als für solche mit kurzen Abständen. Die Konformation in Lösung kann als intramolekulare Zusammenballung in Form eines Akkordeons beschrieben werden [87] [88]. Eine Vesikel- oder lamellareartige Struktur entsteht. Dies ist in Abbildung 4.28 veranschaulicht. Diese mizellenartigen Ionene zeigen ein anderes Verhalten in Bezug auf ihre Lösungseigenschaften und Gegenionenbindung oder ihre katalytischen Eigenschaften.

4.3.5 Größe und Größenverteilung von Ionenen

Ein Problem der Charakterisierung von Ionenen stellt bis heute die Größenbestimmung dar. In der Literatur finden sich für die Molmasse von aliphatischen Ionenen meist Angaben von 10000-40000 g mol^{-1}.

Die Größenauschlusschromatographie von Polyelektrolyten, vor allem von Polykationen, ist aufgrund ihrer Tendenz, mit der stationären Phase Wechselwirkungen einzugehen, sehr schwierig [89] [90]. Durch Zugabe von niedermolekularen Substanzen, welche noch stärker als die Analyten mit der Oberfläche der stationären Phase wechselwirken, kann versucht werden, die für die zusätzliche Retention verantwortlichen funktionellen Gruppen zu blockieren. Ein anderer Weg ist die Verwendung von stark salzhaltigen Eluenten, welche die elektrostatischen Interaktionen der Analyten unter sich und der stationären Phase abschirmen. Eine zu hohe Salzkonzentration im Eluenten kann dagegen die Lösungseigenschaften des Polyelektrolyten herabsetzten. Auch die Zugabe von organischen Zusätzen kann die Wechselwirkungen mit der stationären Phase unterdrücken.

Eine exakte Kalibration der Größenbestimmung ist aufgrund von fehlenden Standardverbindungen mit niedriger Größenverteilung auf Ionenebasis nicht möglich. Als Vergleichssubstanzen wird auf Polyethyleneoxide (PEO) [91], Polyvinylpyridiniumsalze oder Pulullan [92] zurückgegriffen.

Tabelle 4.1: Größenbestimmung und Molmassenverteilung einiger Ionene.

Ionene	M_n / g mol^{-1}	M_w / g mol^{-1}	$\frac{M_w}{M_n}$	Literatur
4-4-Ionene	26000	32000	1,2	[92]
6-6-Ionene	16000	20000	1,2	[92]
6-10-Ionene	37100	44900	1,2	[81]

Die Massenspektrometrie kann ebenso verwendet werden, um kleine Ionene zu untersuchen [93]. Die untersuchten Ionene besitzen allerdings alle ein Molekulargewicht kleiner 1000. Bei größeren Ionenen werden zwar ebenfalls Signale erhalten, sie sind aber Aufgrund der Mischung und der unterschiedlichen Anzahl an Bromid-Gegenionen zu Komplex als das sie ausgewertet werden können. Selbst neuste hochauflösenden Techniken, wie die FT-ICR-Massenspektrometrie, können dieses Problem noch nicht lösen.

Weitere Wege zur Größenbestimmung bieten die Dynamische Lichtstreuung (DLS, engl. *dynamic light scattering*) [94], Viskositätsmessungen mittels Kapillarviskosimetrie [95] oder die Ultrazentrifugation [92] [94]. Im Falle der Dynamischen Lichtstreuung und der Viskositätsmessungen können diese mit der Größenausschlusschromatographie gekoppelt werden, um Informationen über die Molmasse und die Molmassenverteilung zu bekommen [81]. Einige Ergebnisse solcher Messungen aus der Literatur sind in Tabelle 4.1 aufgeführt.

Mit Hilfe von Fraktionierungsmehtoden wie der kontinuierlichen Fraktionierung (CPF, engl. *continuous polymer fractionation*) können mehrere Faktionen unterschiedlicher durchschnittlicher Molmasse mit kleinerer Molmassenverteilung erhalten werden [95] [96] [97]. Das Verfahren beruht auf dem Prinzip der Gegenstromextraktion. Der Unterschied zur konventionellen Gegenstromextraktion von niedermolekularen Substanzen ist die Mischbarkeit von Lösungsmittel (LM) und Fällungsmittel (FM). Als Extraktionsagens (EA) fungiert eine Mischung aus LM und FM, die aber im Vergleich zur Ursprungslösung mehr FM enthalten muss. Das Gesamtsystem aus Ionene, LM und FM muß bei der Betriebstemperatur der CPF eine Mischungslücke aufweisen, wodurch bei Zugabe von EA zwei Phasen entstehen. Es stellt sich ein Fraktionierungseffekt ein, da sich die verschieden langen Polymerketten aufgrund ihres unterschiedlichen Löslichkeitsverhaltens unterschiedlich auf die zwei Phasen verteilen. Betrachtet man die Ergebnisse der Molmassenverteilung für ein untersuchtes 6-10-Ionene so erhält man Fraktionen mit einer Verteilung an durchschnittlichen Größen von 10000 – 244000 g mol^{-1} [95].

Eine weitere Möglichkeit der Fraktionierung von Ionenen kann über einen schwachen Kationenaustauscher erfolgen [98]. Mit Hilfe des Ionenaustauschers CM-Sephadex C-50 und einem salzhaltigen Eluenten im Gradientenbetrieb gelang es, mehrere Fraktionen mit unterschiedlichen Polymerisationgraden zu erhalten.

Volumetrische Verfahren können ebenfalls zur Größenbestimmung herangezogen werden, wie die Endgruppentitration [80]. Hierzu werden die Endkuppen der Ioneneketten nachträglich mit einem Dimethylamin umgesetzt, überlicherweise durch Kochen des Ionene mit TMEDA unter Rückfluss für einen Tag. Somit ist gewährleistet, das jedes Molekül bei der Titration gegen Salzsäure zwei Protonen aufnehmen kann. Der Nachteil liegt in der schwierigen Endpunktbestimmung. Eine weitere volumetrische Bestimmungsmethode bietet die Trübungstitration (turbidimetrische Titration) mit Hilfe des Natriumsalzes der Polystyrolsulfonsäure und einer photometrischen Endpunktbestimmung [98]. Bei diesen Verfahren werden jedoch keine Informationen über die Größenverteilung erhalten.

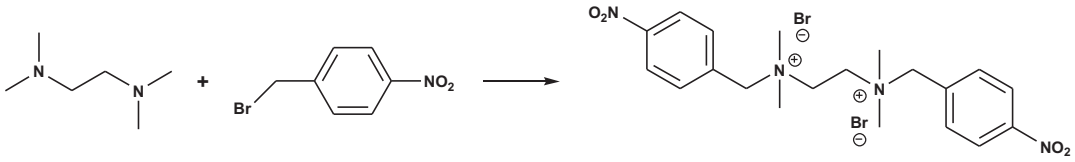


Abbildung 4.29: Dastellung von 1,2-Bis(dimethylnitrobenzylammonium)ethylendibromid (DAEB).

Um einen Anhaltspunkt für die Molmasse zu erhalten, können die Ionene auch mit einem Chromophor an den beiden Kettenenden versehen werden [98]. Aliphatische Ionene selbst besitzen keine starken Absorptionsbanden. Dazu müssen die Ionene zunächst wie bei der Endgruppentitration an beiden Enden Aminfunktionen tragen, was durch nachträgliche Umsetzung mit einem Diamin erfolgen kann. Nun kann in einem weiteren Reaktionsschritt ein gut alkylierendes Chromophor mit hohem Extinktionskoeffizient ϵ eingeführt werden. Mit ϵ_{272} = 11900 L mol^{-1} cm^{-1} in Etherlösung besitzt Nitrobenzylbromid (BNT, Bromnitrotoluol) diese Eigenschaften. In Abbildung 4.29 sind die Syntheseschritte für eine Bezugsverbindung, 1,2-Bis(dimethylnitrobenzylammonium)ethylendibromid (DAEB) dargestellt. Mit Hilfe dieser Bezugsverbindung mit bekannter Molmasse kann der Extinktionskoeffizient in wäßriger Lösung über die Extinktion $E(\lambda)$, Stoffmengenkonzentration c und Schichtdicke des Strahlengangs d mit Hilfe des Gesetzes von Bouguer, Lambert und Beer bestimmt werden.

$$\epsilon(\lambda) = \frac{E(\lambda)}{c \cdot d} \tag{4.2}$$

Für das DAEB wird ein Extinktionskoeffizient von ϵ_{260} = 10400 L mol^{-1} cm^{-1} in wäßriger Lösung gefunden [98]. Die selbst synthetisierte Bezugsverbindung zeigt einen Extinktionskoeffizienten von ϵ_{263} = 11120 L Mol^{-1} cm^{-1}. Unter der Annahme, dass sich der Extinktionskoeffizient bei gleichartiger chemischer Umgebung an den Kettenenden durch die Länge der Kette des Ionenes nur wenig verändert, kann über das Gesetz von Bouguer, Lambert und Beer die Stoffmengenkonzentration $c = n \cdot V$ von Ionenelösungen unbekannten Gehaltes berechnet werden. Bei bekannter Massenkonzentrationen $\beta = \frac{m}{V}$ kann die Molmasse M berechnet werden.

$$M = \frac{m}{n} = \frac{m}{c \cdot V} = \frac{\beta}{c} \tag{4.3}$$

Die Nachteile dieser Methode liegen in der aufwendigen Präparation der Ionene, welche zweimal nachträglich funktionalisiert werden müssen. Zudem handelt es sich um eine 1-Punkt Kalibration, da sich alle Berechnungen auf eine Bezugsverbindung reduzieren. Auch wird keine Information über die Größenverteilung erhalten.

4.3.6 Einsatzgebiete

Ionene besitzen vor allem als Hilfsstoffe in großtechnischen Prozessen immense wirtschaftliche Bedeutung [86]. Sie werden als Retentionsmittel und zur Entwässerungsbeschleunigung bei der Papierherstellung, oder bei der Schlammentwässerung kommunaler oder industrieller Schlämme in großen Mengen eingesetzt. Dabei ist die Effizienz der Ionene in der Anwendung insbesondere mit deren Molekulargewicht verbunden.

Ebenso ist bekannt, das kationische Polyelektrolyte generell eine mehr oder weniger stark ausgeprägte biozide Eigenschaft besitzen [86] [99]. Hier korreliert die Polymerstruktur mit der Effizienz und weniger das Molekulargewicht. Eine kommerzielle Anwendung findet diese Eigenschaft z.B. in Algizidformulierungen für Klein-

schwimmbecken. Hier kommen eher niedermolekulare Polymere zum Einsatz, welche vor allem ein 6,6-Ionene enthalten. Dem 6,6-Ionene wird dabei eine besonders hohe Wirksamkeit zugesprochen.

4.3.7 Einsatz von Ionenen in der Ionenchromatographie

Es finden sich in der analytischen Chemie bereits einige Anwendungen von Ionenen. So sind beispielsweise Anwendungen von mizellenbildenden Ionenen als Ersatz für traditionelle Mizellenbildner wie Hexadecyltrimethylammoniumbromid bekannt [87] [100]. Diese polymeren Mizellenbildner zeigen einige Vorteile gegenüber den niedermolekularen Verbindungen. Zum einen bilden sie kaum Schaum und zum anderen können Analytmoleküle leichter wieder extrahiert werden, da die polymeren Ionene in organischen Lösungsmitteln leichter entfernt werden können. So werden Ionene erfolgreich als Eluentadditive z.B. in der Dünnschichtchromatographie und der Kapillarelektrophorese eingesetzt [87].

Ionene mit langen Spacerabständen können auf Silikaphasen aufgebracht werden [72]. Dazu wird das Silika-Gel mit Trimethylaminotriethoxysilan vorbehandelt. Diese Aminopropylsilikaphase wird anschließend in methanolischer Lösung 240 Stunden bei 313 K mit dem Ionene gerührt. Die auf diese Art hergestellten Säulen können zum Trennen von ortho-, meta-, und paradisubstituierten Benzenen in der klassischen HPLC eingesetzt werden.

Ein erster Schritt zur Herstellung von Ionenaustauschern durch Immobilisieren von Ionenen auf Trägermaterialien wurde mit Hilfe anionischer Tenside ebenfalls durch das Belegen einer Silikaphase erzielt [101]. In diesem Fall wurde eine Silasorb-C_8-Phase mit Dodecylbenzolsulfonsäure belegt. Die anschließende Aufgabe von Polyelektrolyten führte zu Anionenaustauschern mit geringer Kapazität, da nicht alle negativen Ladungen des anionischen Tensids neutralisiert werden und die kationischen Ladungen des Ionenes verbleiben. Als Polyelektrolyte kamen neben verschiedenen kationischen Polymeren mit quartären Ammoniumgruppen außerhalb der Kette auch ein 2,5-Ionene zum Einsatz. Die Anionenaustauschkapazität dieser Säule betrug 10 μmol. Die Untersuchungen der Selektivität von anorganischen Anionen an dieser Phase wurde mit Kaliumhydrogenphthalate einer Konzentration von 1 mmol L^{-1} und einem pH-Wert von 6 durchgeführt. Durch die dynamische Belegung der stationären Phase mit anionischen Tensiden wurde trotz des schwachen Eluenten über die Zeit ein starker Kapazitätsverlust beobachtet.

Weitere Untersuchungen beziehen sich auf die Auswirkungen unterschiedlicher Spacerkettenlängen auf die Selektivität der Trennung anorganischer Anionen [83] [102] [103]. Die dafür synthetisierten Ionene waren 2,4-, 3,4-, 2,8-, 3,8-, 4,6-, 6,8- und 6,10-Ionene. Die Ionene mit kurzen Spacerketten zeichnen sich durch eine hohe Ladungsdichte aus. Dies führte zum einen zu sehr kurzen Retentionszeiten. Zum anderen konnten Selektivitätsänderungen für Sulfat erkannt werden. Dies wird auf die besondere Wechselwirkung des Dianions mit zwei positiven Ladungen in einem C_2- oder C_3-Abstand erklärt. Die Molekularmassen der verwendeten Ionene wurden zu 8000–14000 g mol^{-1} berechnet. Diese Untersuchungen wurden aufgrund der schlechten Langzeitstabilitäten der bisherigen mit anionischen Tensiden belegten Silikamaterialien nun mit chemisch gebundenen Sulfonsäuregruppen durchgeführt. Die dafür eingesetzten Materialien auf Silikabasis zeigten eine bessere Stabilität bei Verwendung neutraler Eluenten. Jedoch besitzen die meisten dieser Materialien eine zu hohe Kationenaustauschkapazität. Dadurch werden bei der Belegung mit der polykationischen Kette alle Ladungen neutralisiert und es wird keine Anionenaustauschkapazität erhalten. Es wurde auch ein sulfoniertes Material auf Polymerbasis, das AG 50W-X2 von Bio-Rad, USA, getestet. Dieses führte jedoch mit einer Kationenaustauschkapazität von 1 mmol g^{-1} ebenso zu keiner resultierenden Anionenaustauschkapazität. Die

Untersuchungen ergaben aber, das eine erhöhte Temperatur von 343 K bei der Belegung des Kationenaustauschers mit Ionene eine Steigerung der Trennleistung bewirkt. Auch der Einfluss von Ionenen mit aromatischen Spacerketten auf Selektivität der Trennung anorganischer Anionen wurde untersucht [83].

Untersuchungen solcher Materialien bezüglich ihrer Eignung zur Trennung von Kohlenhydraten existieren bisher nicht. Durch die bisherige Verwendung von Materialien auf Silikabasis ist eine Trennung von Kohlenhydraten über Anionenaustauschchromatographie mit elekrochemischer Detektion nicht durchführbar. Welche Anforderungen an solche Materialien gestellt werden, ist in Kapitel 4.4 aufgeführt.

4.4 Anforderungen an die stationäre Phase zur Trennung von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie

4.4.1 Chemische Robustheit gegenüber Hydroxideluenten

Substrate auf Silikabasis zeichnen sich durch eine hohe mechanische Stabilität aus und man beobachtet keine Schrumpf- oder Quellphänomene. Sie können für die Zuckertrennung nicht verwendet werden da sie nicht über eine genügend hohe chemische Stabilität gegenüber alkalischen Eluenten verfügen. Betrachtet man die organischen Polymerharze, so zeichnen sich diese gegenüber den auf Silikabasis beruhenden Materialien durch eine bessere pH-Stabilität aus [3]. PS-DVB-Copolymere können über den gesamten pH-Bereich von PH 0 bis 14 eingesetzt werden, Methacrylatpolymere aufgrund ihrer hydrophilen Funktionen im pH-Bereich von 1-14.

4.4.2 Ionenaustauschkapazität Q

Die Ionenaustauschkapazität Q eines Ionenaustauschers wird durch die Anzahl der zur Verfügung stehenden Austauschergruppen pro Gewichtseinheit des Austauschermaterials definiert [11]. Für einwertige Austauschergruppen, welche in der Regel üblich sind, ist die Einheit mmol g^{-1}. Jedoch wird in der Fachliteratur zu Ionenaustauschermaterialien häufig die Einheit Milliäquivalente bzw. Mikroäquivalente pro Gramm (mequiv g^{-1} bzw. μequiv g^{-1}) verwendet. Da sich die Methoden zur Bestimmung der Kapazität deutlich unterscheiden und methodenbedingt zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen können, muss die Angabe der Kapazität von der Bestimmungsart begleitet werden.

Dynamischer Ionenaustausch: Um die Kapazität mittels dynamischen Ionenaustauschs zu bestimmen wird eine definierte Menge des Säulenmaterials mit einem entsprechenden Gegenion belegt. Hierbei werden stark konzentrierte Salzlösungen verwendet, im Falle von Anionenaustauschern meist chloridhaltige Salzlösungen, im Falle von Kationenaustauschern mit Säuren. Nach dem Spülen der stationären Phase mit Wasser werden die Gegenionen entweder mit einem Konkurrenzion wieder eluiert und bestimmt oder im Falle stark saurer Kationenaustauscher direkt titriert. In diesem Fall werden alle unter dynamischen Bedingungen zugänglichen Austauschergruppen bestimmt, und diese Größe wird dynamische Kapazität genannt.

Elementaranalyse: Da in der Anionenchromatographie in der Regel funktionelle Gruppen auf Stickstoffbasis verwendet werden und das Trägermaterial meist frei von Stickstoffverbindungen ist, kann der Massenanteil des Stickstoffs eine Aussage über die Ionenaustauschkapazität geben. Jedoch wird in diesem

Tabelle 4.2: Klassifizierungen von Kapazitäten für Anionenaustauscher.

Klasse	Kapazität
Niederkapazitive Säulen	Q < 0,1 mmol/Säule
Mittelkapazitive Säulen	Q < 0,2 mmol/Säule
Hochkapazitive Säulen	Q > 0,2 mmol/Säule

Tabelle 4.3: Klassifizierungen von Kapazitäten für klassische Austauscherharze.

Klasse	Kapazität
Niederkapazitive Säulen	Q < 0,1 mmol/g
Mittelkapazitive Säulen	Q < 1 mmol/g
Hochkapazitive Säulen	Q > 1 mmol/g

Fall der Gesamtstickstoff bestimmt, wodurch auch Austauschergruppen bestimmt werden, welche unter den dynamischen Bedingungen einer chromatographischen Trennung nicht erfasst werden. Dies wird statische Kapazität genannt. Für stark saure Kationenaustauscher kann ebenso der Schwefelgehalt bestimmt werden.

Retentionsfaktoren: Auch über die Retentionszeiten der Ionenaustauscher kann die Kapazität bestimmt werden. In Gleichung 2.36 auf Seite 36 wird ein Zusammenhang zwischen Kapazität und Retentionsfaktor verdeutlicht. Jedoch sind viele Parameter unbestimmt. Eine einfache Methode ist der Vergleich der Retentionsfaktoren mit einer Reihe von Säulen unterschiedlicher bekannter Kapazitäten unter gleichen Bedingungen.

In der Praxis wird die Bestimmung der dynamischen Kapazität bevorzugt, da sie nahe an den realen Bedingungen ermittelt wird. Daher sind alle Kapazitätsbestimmungen dieser Arbeit auf diese Art bestimmt. Eine Versuchsvorschrift findet sich in Kapitel 8.5.1 auf Seite 208.

Die Ionenaustauschkapazität nimmt vor allem Einfluss auf die Retentionszeit der Analyten. Aus Gleichung 2.36 auf Seite 36 wird deutlich, dass eine Erhöhung der Kapazität zu längeren Retentionszeiten führt. Dies kann durch eine Erhöhung der Eluentkonzentration teilweise wieder ausgeglichen werden. In der Ionenchromatographie anorganischer Anionen können jedoch nicht beliebig hohe Eluentkonzentrationen verwendet werden, da die Suppression dieser Eluenten für die Leitfähigkeitsdetektion nicht möglich ist. Daher haben sich im Bereich der Anionenaustauscher Säulen mit niedriger Kapazität durchgesetzt [11] [104]. Eine Einteilung kann wie in Tabelle 4.2 erfolgt vorgenommen werden. Da für die Bestimmung von Zuckern mit Hilfe amperometrischer Detektion hohe Eluentkonzentrationen nötig sind, um die Kohlenhydrate zu deprotonieren und zu detektieren, können für solche Analyten auch hochkapazitive Ionenaustauscher verwendet werden. Da die in Tabelle 4.2 getroffene Einteilung für hochkapazitive Säulen wenig Einteilungsraum bietet, wird in dieser Arbeit die Kapazität nach der Klassifizierung für klassische Ionenaustauscherharze in Tabelle 4.3 vorgenommen.

Als Basismaterialien für die Zuckertrennung werden meist Polystyrol-Divinylbenzol-Polymere verwendet, die entweder direkt auf der Oberfläche mit tertiären Aminen funktionalisiert oder mit Latexpartikeln beschichtet werden, welche quartäre Ammoniumgruppen auf der Oberfläche tragen.

Tabelle 4.4: Strukturell-chemische Eigenschaften der für die Kohlenhydratanalyse geeigneten Latexaustauscher, aus [11] [55].

Trennsäule	CarboPac PA1	CarboPac PA10	CarboPac PA-100	CaboPac PA20	CarboPac PA-200
Abmessungen (Länge x I.D.)	250 x 4 mm 250 x 9 mm	250 x 4 mm 250 x 9 mm	250 x 4 mm 250 x 2 mm 250 x 9 mm 250 x 22 mm	150 x 3 mm	250 x 3 mm
Trägermaterial	PS-DVB	PS-DVB	EVB-DVB	EVB-DVB	EVB-DVB
Partikel-durchmesser	10 μm	10 μm	10 μm	6,5 μm	5,5 μm
Vernetzungsgrad	5%	5%	6%	55%	55%
Latex-durchmesser	350 nm	400 nm	350 nm	130 nm	43 nm
Funktionelle Gruppe	$-N^+R_3$	$-N^+R_3$ difunktionell	$-N^+R_3$	$-N^+R_3$ difunktionell	$-N^+R_3$
Kapazität	100 μmol	100 μmol	90 μmol	65 μmol	90 μmol
Flussrate	1 mL min^{-1}	1,5 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}
Max. Druck	34 MPa	27 MPa	34 MPa	21 MPa	28 MPa
pH-Stabilität	0 – 14	0 – 14	0 – 14	0 – 14	0 – 14
Lösemittel-stabilität	0%	90%	100%	100%	100%

4.5 Kommerzielle Materialien zur Trennung von Kohlenhydraten — Stand der Technik

Während auf dem Markt für die Anionen- und Kationenchromatographie von anorganischen Anionen eine breite Vielzahl unterschiedlicher Typen von stationären Phasen zur Verfügung steht, beschränken sich die Materialien zur Trennung von Kohlenhydraten mittel amperometrischer Detektion auf sehr wenige. Aufgrund der hohen Anforderungen an die stationären Phasen, welche in Kapitel 4.4 dargestellt wurden, kommen nur Materialien auf Polymerbasis in Frage.

4.5.1 Kommerzielle Latexaustauscher auf Polymerbasis

Stationäre Phasen auf der Basis von Latexanionenaustauschern werden in unterschiedlichen Ausführungen von der Firma Dionex Corporation, Sunnyvale, CA 94085, USA, angeboten. Die strukturell-chemischen Eigenschaften sind in Tabelle 4.4 zusammengefasst [11] [105] [106] [107]. Eine CarboPac PA1 ist für Routineanalysen von sauren, basischen und neutralen Mono- und Disacchariden ausgelegt. Zudem können Polysaccharide bis zu einem Polymerisationgrad von 60 einzeln aufgelöst werden. Die Trennung von Epimeren der Glucose, Mannose und Galactose, gelingt bei sehr niedrigen Eluentkonzentrationen von 1 mmol L^{-1} Basislinien getrennt. Eine CarboPac PA10 dient neben der Trennung von Mono- und Disacchariden auch der Trennung von Aminozuckern. Der lösemittelstabile Austauscher erreicht mit geeigneten funktionellen Gruppen eine deutliche bessere Trennleistung von Monosacchariden als eine CarboPac PA1. Durch die höheren Flussraten und durch höhere Eluentkonzentrationen benötigt man für die isokratische Trennung von Monosacchariden weniger als 10 Minuten. Für die Trennung von Polysacchariden ist die CarboPac PA100 optimiert. Neben der CarboPac PA1

ermöglicht sie die Polymerverteilung bis in hohe Polymerisationsgrade über 50, z.B. aus Dextran-Hydrolysaten. Dabei erreicht sie eine höhere Auflösung als die CarboPac PA1. Die Neuentwicklungen CarboPac PA20 und CarboPac PA200 erreichen durch Verkleinerung der Dimensionen bei gleicher Trennleistung schnellere Analysenzeiten als ihre Vorgänger CarboPac PA10 und CarboPac PA100. Die sechs häufigsten Kohlenhydrate und Glucoproteine werden auf der CarboPac PA20 in unter 10 Minuten bei halbierter Flussrate getrennt. Die CarboPac PA200 verbessert nochmals die Trennleistung von Polysacchariden gegenüber ihrem Vorgänger. Diese Steigerung wird vor allem durch die drastisch kleineren Latex-Partikel erreicht.

4.5.2 Kommerzielle hochkapazitive Austauscher auf Polymerbasis

Für die Trennung von Zuckeralkoholen reicht die Kapazität der Latex-Anionenaustauscher der CarboPac PA-Serie nicht aus. Hierzu werden hochkapazitive, oberflächenfunktionalisierte Ionenaustauscher benötigt. Dionex bietet mit der CarboPac MA1 einen solchen Anionenaustauscher an. Mit diesem total aminierten, makroporösen Material ist die Basislinien aufgelöste Trennung von wichtigen Zuckeralkoholen aus Lebensmitteln wie Xylit, Arabit, Sorbit und Dulcit in 20 Minuten möglich. Die verwendete Eluentkonzentration ist mit 0,5 mol L^{-1} sehr hoch, die Flussrate beträgt 0,4 mL Min^{-1}. Mono- und Disaccharide werden unter diesen Bedingungen nur sehr langsam eluiert, wichtige Zucker wie Fructose und Saccharose eluieren nach knapp 30 und 45 Minuten.

Die einzige von Metrohm zur Zuckertrennung angebotene Säule, die MetroSep Carb 1, basiert ebenfalls auf einem hochkapazitiven Ionenaustauscher. Die Kapazität ist jedoch deutlich geringer als die der CarboPac MA1. Die Eluentkonzentration kann daher auf 0,1 mol L^{-1} gesenkt werden. Bei einer Flussrate von 1 mL min^{-1} werden Inosit, Arbit und Sorbit in 8 Minuten Basislinien getrennt. Fructose eluiert unter diesen Bedingung nach 10 Minuten, Saccharose nach 30 Minuten. Ebenso ist eine Trennung von Polysacchariden möglich.

Seit kurzem ist eine weitere Säule zur Analyse von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie und elektrochemischer Detektion erhältlich. Die ESA Sucrebead I von ESA Bioscience basiert ebenfalls auf Polymerbasis. Mit diesem Austauscher sind sowohl Trennungen von Zuckeralkolen als auch von Monosacchariden und Disacchariden möglich. Die Trennung der Zuckeralkohole Inosit, Xylit, Sorbit und Mannit erfolgt bei einer hohen Eluentkonzentration von 0,2 mol L^{-1} Basislinien getrennt in 30 Minuten. Dies ist zwar deutlich langsamer als bei der CarboPac MA1, jedoch wird bei einer sehr geringen Flussrate von 0,1 mL min^{-1} gearbeitet. Die Trennung von Monosacchariden erfolgt unter gleichen Bedingungen in 40 Minuten. Dieses Profil zeigt, das es sich bei dieser Säule ebenfalls um einen hochkapazitiven Austauscher und nicht um einen Latexaustauscher handelt.

Die strukturell-chemischen Eigenschaften der Säulen sind in Tabelle 4.5 auf der nächsten Seite zusammengefasst [11] [105]. Für die Untersuchungen an neuen stationären Phasen auf Polymerbasis in dieser Arbeit stand die MetroSep Carb 1 zu Referenzzwecken zur Verfügung. Unter den vom Hersteller vorgeschlagenen Standardbedinungen werden für die in Kapitel 3.1.1 auf Seite 39 vorgestellten Testanalyten die in Tabelle 4.6 aufgeführten Trennergebnisse erhalten. Das Chromatogramm in Abbildung 4.30 auf Seite 78 zeigt die isokratische Trennung der zehn Testanalyten. Die Zuckeralkohole eluieren vor den Monosacchariden. Die Epimere Glucose und Galactose werden unter diesen Bedingungen nicht mehr vollständig getrennt. Ebenso eluiert Xylose nur kurze Zeit später, gefolgt von Fructose. Die Disaccharide Lactose und Saccharose sind getrennt, das Saccharosesignal wird jedoch von dem sehr breiten Signal der Ribose überlagert. Maltose eluiert unter diesen

Tabelle 4.5: Strukturell-chemische Eigenschaften der für die Kohlenhydratanalyse geeigneten, oberflächenfunktionalisierten Austauscher, aus [11] [105] [108].

Trennsäule	CarboPac MA1	MetroSep Carb 1	ESA Sucrebead I
Abmessungen (Länge x I.D.)	250 x 4 mm	250 x 4,6 mm 150 x 4,6 mm	250 x 2 mm
Trägermaterial	VBC/DVB	PS-DVB	PS-DVB
Partikel-durchmesser	8,5 μm	5 μm	7 μm
Vernetzungsgrad	15%		
Funktionelle Gruppe	-N^+R_3	-N^+R_3	-N^+R_3
Kapazität	4500 μmol	1530 μmol	
Flussrate	0,5 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	
Max. Druck	13 MPa	15 MPa	
pH-Stabilität	0 – 14	0 – 14	
Lösemittel-stabilität	0%	50%	

Tabelle 4.6: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten auf der kommerziellen Säule MetroSep Carb 1 unter Standardbedingungen. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

MetroSep Carb 1	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k’	0,52	1,89	4,12	4,36	4,68	5,74	6,38	8,29	7,31	20,21
Trennleistung TP m^{-1}	22000	1000	26000	24000	28000	11000	16000	1000	22000	29000
Asymmetriefaktor A_s	0,96	1,89	0,84	0,84	0,81	1,06	0,90	1,51	0,89	1,00
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,13	0,46	1,00	1,06	1,14	1,39	1,55	2,01	1,77	4,91

Bedingungen sehr spät. Die Trennleistung für alle Analyten liegt bis auf Sorbitol und Ribose, deren Signale eine starke Asymmetrie aufweisen, in einem hohem Bereich über 20000 TP m^{-1}. Die Asymmetrie aller anderen Analyten liegt nahe eins.

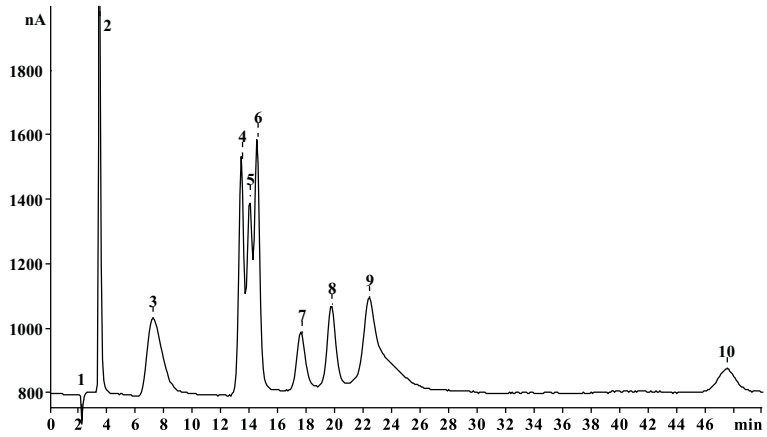


Abbildung 4.30: Trennung von Kohlenhydraten auf einem kommerziell erhältlichen Ionenaustauscher. Säule: MetroSep Carb 1. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, 6 - Xylose, 7 - Fructose, 8 - Lactose, 9 - Saccharose und Ribose, 10 - Maltose.

5 Mobile Phasen in der Ionenchromatographie

Der Eluent enthält in der Ionenaustauschchromatographie das Konkurrenzion, welches dafür sorgt, dass die Analytmoleküle wieder von der Säule eluieren und nicht darauf festgehalten werden. Wie in Kapitel 2.2.1 auf Seite 27 gezeigt tritt in einer reversiblen Reaktion das Eluention in Konkurrenz zum Analytion um die Ionenaustauschplätze [11] [14].

5.1 Eluenten zur Trennung von Kohlenhydraten

Die Trennung von Kohlenhydraten hängt entscheidend von der Art und der Konzentration des Eluentions ab. Ebenso bestimmt der pH-Wert des Eluenten den Deprotonierungsgrad der Kohlenhydrate. Bei den zur Zuckertrennung verwendeten Natronlaugeeluenten bildet das Hydroxidion das Konkurrenzion. Es ist von der Elutionskraft als schwach gegenüber dem Carbonation und dem Hydrogencarbonation einzustufen. Dafür lassen sich mit Natriumhydroxid Eluenten herstellen, die stark alkalisch sind und welche die Kohlenhydrate in ausreichender Menge deprotonieren. Zudem wird auch zur amperometrischen Detektion der Kohlenhydrate ein hoher pH-Wert benötigt.

5.1.1 Konzentration der Hydroxideluenten

Eine Änderung der Eluentkonzentration hat immer gleich zwei unterschiedliche Auswirkungen auf die Trennung von Kohlenhydraten. Zum einen steigt bei einer Erhöhung der Eluentkonzentration der Deprotonierungsgrad der Zucker, da der pH-Wert alkalischer wird. Damit steigt die Retention der Kohlenhydrate. Zum anderen steigt aber auch die Konzentration des Konkurrenzions. Dies führt zu einer stärkeren Verdrängung auf der stationären Phase und die Retention wird wieder verringert [11]. Ist der pH-Wert so hoch, dass die Dissoziation des Zuckers nur noch wenig steigt, so führt eine weitere Erhöhung der Eluentkonzentration nur noch zu einer Verringerung der Retention.

Abbildung 5.1 auf der nächsten Seite zeigt die Retentionsfaktoren von neun Kohlenhydraten bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen. Im allgemeinen steigt die Retentionszeit bei sinkender Eluentkonzentration. Durch die geringere Eluentkonzentration sinkt die Elutionskraft des Eluenten, die Retentionszeiten werden länger. Nach den theoretischen Betrachtungen in Kapitel 2.3 auf Seite 35 kann nach Gleichung 2.37 aus der Steigung m einer doppelt logarithmischen Auftragung von Konzentration und Retentionsfaktor die Ladung der Kohlenhydrate berechnet werden.

$$\underbrace{\log k'_A}_{y} = C_1 - \underbrace{\frac{x}{y}}_{m} \underbrace{\log c(\mathrm{E}^{y-})_M}_{x} \tag{5.1}$$

Die erhaltenen Kurven sollten alle einen linearen Zusammenhang aufweisen, wenn sich das Ladungsverhältnis von Eluention und Analytion nicht ändert. Wie in der rechten Abbildung zu erkennen ist, trifft dies auch bis

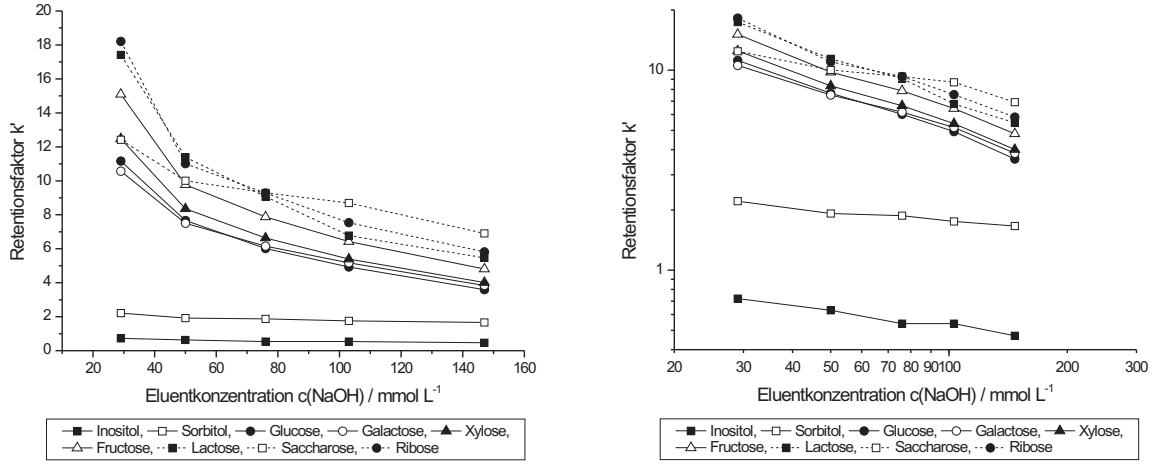


Abbildung 5.1: Einfluss der Natronlaugekonzentration auf die Retentionsfaktoren, aus [66]. Links: einfache Auftragung. Rechts: doppelt logarithmische Auftragung. Säule: MetroSep Carb 1, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Temperatur: 305 K.

auf den Analyt Saccharose bei Konzentrationen oberhalb einer Konzentration von 30 mmol L^{-1} zu. Für die Steigung, und damit die Ladung der Kohlenhydrate unter Annahme eines einfach negativ geladenen Eluentmoleküls, ergibt sich eine durchschnittliche Ladung von ca. $-0,7$ [66]. Hierbei sind die Konzentrationen der verwendeten Hydroxidlösungen noch durch die Aktivitäten der Lösungen korrigiert worden [37] [109].

Die Ermittlung der durchschnittlichen Ladung nach dem beschriebenen Verfahren setzt voraus, dass die Ladung der Kohlenhydrate unabhängig von der Eluentkonzentration konstant bleibt. Bei Kohlenhydraten ist dies jedoch nicht der Fall. Oberhalb von einer Konzentration von 30 mmol L^{-1} Hydroxidionen ändert sich bis auf Saccharose der Deprotonierungsgrad alle weiteren Kohlenhydrate wenig. Eine Erhöhung der Konzentration des Eluenten bewirkt durch Erhöhung der Elutionskraft eine stetige Abnahme der Retentionszeit. Unter einer Konzentration von 30 mmol L^{-1} Hydroxidionen sinkt der pH-Wert in die Nähe der pK_s-Werte der Kohlenhydrate und diese werden je nach pK_s-Wert weniger deprotoniert. Der Deprotonierungsgrad des Analyten sinkt. Bei Saccharose beginnt dieser Prozess aufgrund des hohen pK_s-Wertes deutlich früher als bei allen anderen Kohlenhydraten. Der Effekt der niedrigeren Elutionskraft des Eluenten dominiert noch über die Retentionszeitabnahme durch geringere Deprotonierung der Kohlenhydrate, jedoch wird die Steigung deutlich flacher. Bei deutlich niedrigeren Konzentrationen tritt dieser Effekt, wie in Kapitel 5.2 auf Seite 82 gezeigt auch bei allen anderen Kohlenhydraten zu Tage.

Im Gegensatz zu den Kohlenhydraten ändert sich der Grad an Deprotonierung bei den untersuchten Zuckeralkoholen im gewählten Konzentrationsbereich noch nicht. Sie besitzen über den gesamten Bereich eine flache Steigung von etwa $-0,2$. Es ist zu vermuten, das die Zuckeralkohole Aufgrund ihrer höheren pK_s-Werte erst bei sehr viel höheren Konzentrationen stärker deprotoniert werden und die Retention dann nur noch von der Elutionskraft des Eluenten bestimmt wird. Daher werden Trennungen von Zuckeralkoholen bevorzugt bei sehr hohen Eluentkonzentrationen durchgeführt.

5.1.2 Isokratische Trennungen

Im Rahmen dieser Arbeit wird ausschließlich isokratisch gearbeitet. Zuckeralkohole werden Aufgrund ihrer hohen pk_s-Werte bei hohen Eluentkonzentration von 0,4–0,6 mol L^{-1} getrennt. Für Mono- und Disaccharide erhält man die besten Trennungen bei Eluentkonzentrationen um 0,02 mol L^{-1} [110].

Bei Verwendung von Eluentkonzentrationen um 0,02 mol L^{-1} tritt neben einem Empfindlichkeitsverlust des Detektors ein Verlust an Kapazität der Säule auf [11]. Der Eluent kann die an den Anionenaustauscherplätzen befindlichen Carbonationen nicht mehr verdrängen. Daher müsste die Säule nach jedem Lauf zunächst mit konzentrierter Natronlauge regeneriert werden. Außerdem verlängern sich die Retentionszeiten sehr stark, so dass mit dem Regenerationszyklus die Gesamtanalysendauer stark ansteigt. Im allgemeinen nutzt man daher auf hochkapazitiven Anionenaustauschern Eluenten in Form von 100 mmol/L Natronlauge. Neue Wege, um das störende Carbonat aus dem Eluentenstrom zu entfernen werden in Kapitel 5.3 auf Seite 90 vorgestellt [111].

5.1.3 Trennung durch Gradientenelution

Eluenten mit hohen Natronlaugekonzentration größer 100 mmol L^{-1} setzt man zur Trennung von Oligosacchariden und Zuckersäuren ein, da diese eine starke Wechselwirkung mit der stationären Phase eingehen. Ebenso kann Acetat oder Nitrat zugegeben werden, welche eine größere Elutionskraft besitzen und damit stärker mit der stationären Phase wechselwirken. Somit werden die Retentionszeiten der Analyten verkürzt. Dabei werden meist Gradientenprogramme gefahren, um eine optimale Trennung zu erhalten und die Elution von Analyten zu beschleunigen, die stark mit der stationären Phase interagieren.

Zur Trennung von Monosacchariden, gerade bei Epimeren, eignen sich solche Konzentrationen allerdings nicht, da diese unter diesen Bedingungen gleiches Retentionsverhalten zeigen. Diese können durch Absenken des pH-Wertes besser getrennt werden, da die Selektivitäten bei einem pH-Wert in der Nähe des pK_s-Wertes deutlich größer sind.

Neben positiven Gradienten zur Elution stark retardierender Analyten gegen Ende der Analyse können in der Trennung von Zuckern auch inverse Gradienten benutzt werden [11]. Durch Konditionierung der Trennsäule mit Natronlauge einer Konzentration von 10 mmol L^{-1} wird der Austauscher in die Hydroxidform überführt. Während der Trennung wird auf entionisiertes Wasser umgestellt. Nun reicht die Basiszität des Ionenaustauschers aus, die Kohlenhydrate teilweise zu deprotonieren. Zudem kommen nun auch nichtionische Wechselwirkungen für den Retentionsmechanismus stärker zum Tragen. Somit ist es möglich, sonst nur schwer trennbare Monosaccharide wie Xylose und Mannose Basislinien getrennt zu untersuchen.

Trennungen mit Gradientenprogrammen können allerdings zu einem Drift der Basislinie führen. Dieser Drift kann nur verhindert werden, wenn der pH-Wert in der Detektorzelle über den gesamten Verlauf der Messung konstant gehalten wird. Hierzu kann das in Kapitel 5.2.1 auf der nächsten Seite vorgestellte System zur Nachsäulenaddition genutzt werden. Durch Zuführung einer konzentrierten Natriumhydroxidlösung werden die Konzentrationsunterschiede und damit der Drift in der Detektorzelle kleiner.

Bei Verwendung von Gradientenprogrammen muss neben der Detektorzelle auch die Trennsäule regeneriert werden. Dazu ist ein Spülen der Säule mit dem Starteluenten notwendig um die Gleichgewichtseinstellungen von mobiler und stationärer Phase am Anionenaustauscher wiederherzustellen [112] [113].

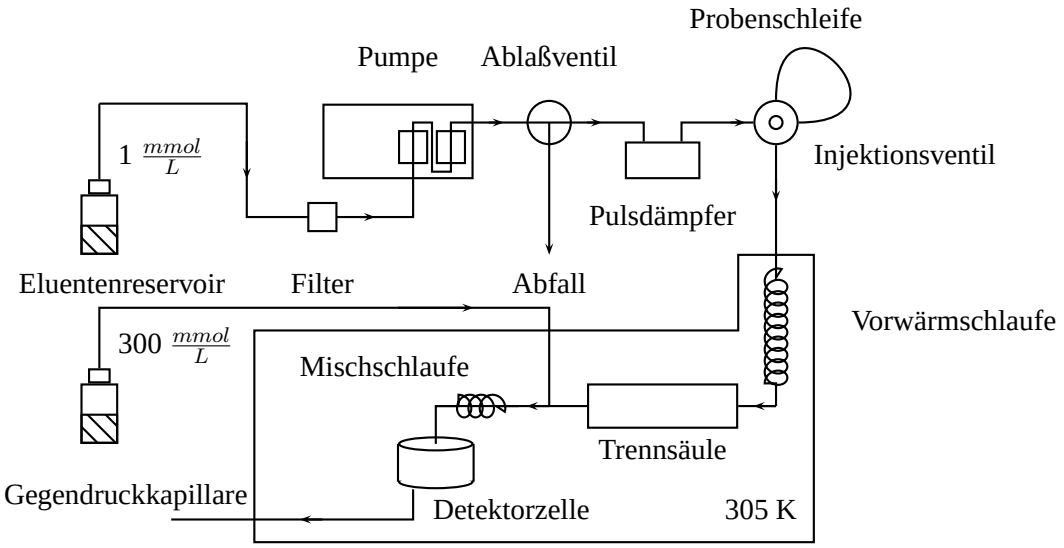


Abbildung 5.2: Schematischer Aufbau eines Ionenchromatographen zur Zuckertrennung mit Nachsäulenadditionsmodul.

5.2 Untersuchungen bei niedrigen Eluentkonzentrationen

Der Vorteil von Eluenten geringer Konzentration oder von reinem Wasser liegt in der besser einstellbaren Trennleistung und Selektivität für spezielle Fragestellungen [3] [2]. In vielen Fällen ist die gleichzeitige Bestimmung von vielen ähnlichen Kohlenhydraten nötig [110] [114]. Da sich die pK_s-Werte nur sehr gering unterscheiden, muss versucht werden, den pH-Wert sehr nah an den pK_s-Wert der zu trennenden Kohlenhydrate anzupassen. Damit kann die Retentionsreihenfolge und damit die Selektivität einfach durch Wahl der Eluentkonzentration angepasst werden. Zudem soll untersucht werden, ob sich bei sehr niedrigen Eluentkonzentrationen tatsächlich der Grad der Deprotonierung ändert.

5.2.1 Nachsäulenadditionsmodul

Ein Absenken der Konzentration des Eluenten auf unter 25 mmol L^{-1} sollte bei Messungen mit amperometrischer Detektion vermieden werden, da in diesem Falle die elektrochemische Aktivität der Goldelektrode und damit die Empfindlichkeit des Detektors stark verringert wird. Zudem kommt es zu Ablagerungen auf der Elektrode. Bei Anwendung einer klassischen Pulssequenz muss daher die Konzentration des Eluenten nach der Trennsäule wieder erhöht werden. Dies kann durch Zugabe von Natronlauge hoher Konzentration, etwa 0,3 mol L^{-1}, erfolgen. Diese wird über ein metallfreies T-Stück eingespeist. Anschließend folgt eine Mischspirale, um eine gute Durchmischung von Säuleneffluat und zudosierter Natronlauge zu erreichen. Der Aufbau ist in Figur 5.2 nochmals verdeutlicht. Die Zugabe der konzentrierten Natronlauge kann entweder über eine pneumatische Pumpe oder eine Kolbenpumpe mit guter Pulsdämpfung erfolgen, da die Detektion stark druckabhängig ist. Mit Hilfe eines solchen Nachsäulenadditionsmoduls ist es möglich, die Eluentkonzentration bis auf 1 mmol L^{-1} Natriumhydoxid zu senken.

Tabelle 5.1: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen für Messungen bei niedrigen Eluentkonzentrationen unter Standardbedingungen. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

ident$_S$	O311002 AG EDMA	L140202 AG EDMA-L
Dimensionen	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	12,2 MPa	17,2 MPa
Kapazität	617 μmol	198 μmol
Amin	EDMA	EDMA

Tabelle 5.2: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten bei niedrigen Eluentkonzentrationen unter Standardbedingungen. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

O311002 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,35	1,4	2,21	n.b.	n.b.	3,24	4,1	5	5,3	n.b.
Trennleistung TP m^{-1}	2100	600	4300	n.b.	n.b.	2500	5400	280	8400	n.b.
Asymmetriefaktor A_s	1,96	2,11	1,8	n.b.	n.b.	3,4	2,7	2,13	0,99	n.b.

L140202 AG EDMA-L	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,35	1,4	2,21	n.b.	n.b.	3,24	4,1	5	5,3	n.b.
Trennleistung TP m^{-1}	3100	1000	4500	n.b.	n.b.	3000	3600	1200	5000	n.b.
Asymmetriefaktor A_s	1,79	1,83	1,65	n.b.	n.b.	1,8	1,89	1,91	1,4	n.b.

5.2.2 Messungen bei sehr niedrigen Eluentkonzentrationen

Für die Untersuchungen werden unterschiedliche Säulen verwendet. Neben der MetroSep Carb 1 als Referenz findet eine mit dem Amin EDMA oberflächenfunktionalisierte Säule mit einer C_5-Spacergruppe Verwendung. Zudem werden Messungen auf einem Latexaustauscher durchgeführt. Dieser ist ebenfalls mit dem unpolaren Amin EDMA funktionalisiert. Die Kenngrößen der hergestellten Säulen sind in Tabelle 5.1 aufgeführt. Die Ergebnisse der chromatorgraphischen Trennungen finden sich in Tabelle 5.2. Die Länge aller Säulen beträgt 250 mm, um vor allem bei der Latexsäule eine ausreichende Kapazität für eine Trennung der Signale zu erhalten.

Für die Untersuchungen an den beiden Ionenaustauschern werden Hydroxideluenten aus konzentrierter, 50%iger Natriumhydroxidlösung, in unterschiedlichen Konzentrationen angesetzt. Die Konzentrationen reichen von 1 mmol L^{-1} bis 100 mmol L^{-1}. Zur Feststellung der Hydroxidkonzentrationen werden die Lösungen mit Salzsäure gegentitriert. In Abbildung 5.3 auf der nächsten Seite sind beispielhaft drei Chromatogramme aus einer Messreihe dargestellt.

Mit Hilfe des vorgestellten Additionsmoduls ist es möglich, selbst bei niedrigen Eluentkonzentrationen eine gleichbleibende Empfindlichkeit des Detektors zu gewährleisten. Der Verlust an Signalhöhe liegt unter 10%. Durch die Verwendung einer guten Schlauchpumpe mit entsprechend hoher Drehzahl und kleinem Pumpvolumen kann der Puls der Pumpe minimiert werden. Gegenüber einer Messung ohne Addition ist das Rauschen der Basislinie jedoch deutlich erhöht. Zudem treten zeitweise Schwankungen in der Basislinie auf. Der Grundstrom des Eluenten ist bei niedrigeren Eluentkonzentrationen deutlich geringer.

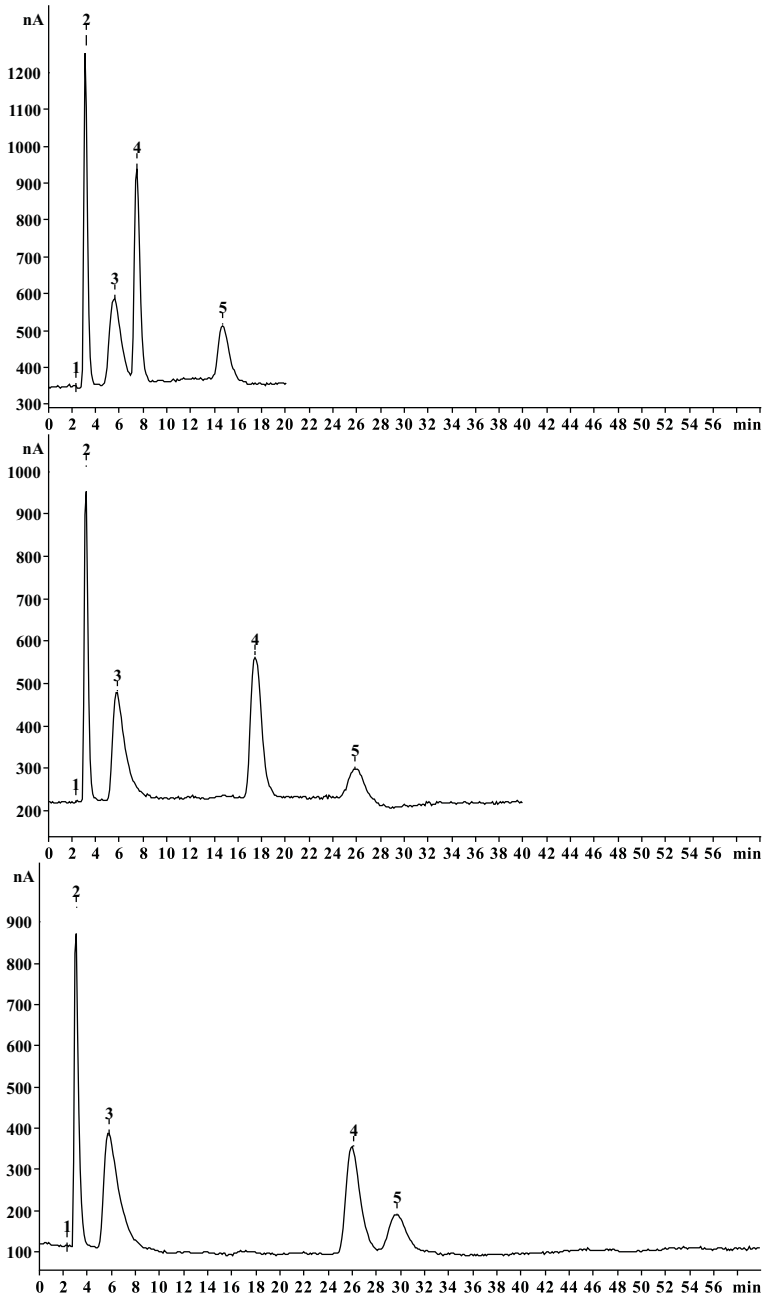


Abbildung 5.3: Beispieltrennungen von Kohlenhydraten mit Additionsmodul bei unterschiedlichen Konzentrationen. Säule: O311002 AG EDMA. Eluentkonzentration: Oben: 100 mmol L^{-1} NaOH, Mitte: 16 mmol L^{-1} NaOH, Unten: 1 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Nachsäulenaddition: 275 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: ca. 0,3 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Saccharose.

Betrachtet man die Trennungen bei niedrigen Eluentkonzentrationen, so sind wie zu erwarten starke Änderungen in der Selektivität für einige Kohlenhydrate erkennbar. Im gewählten Beispiel sind diese bei Glucose und Saccharose besonders stark während sich die Selektivität für die Zuckeralkohole kaum verändert.

Retentionszeitverlust bei niedrigen Eluentkonzentrationen

Werden Messungen bei niedrigen Eluentkonzentrationen über einen längeren Zeitraum verfolgt, so stellt sich über die Zeit ein Retentionszeitverlust der Analyten ein bis schließlich eine Gleichgewichtseinstellung beobachtet wird. Im Falle hoher Eluentkonzentration liegt diese Gleichgewichtseinstellung im Bereich von ca. 30 Minuten. Dies wird im allgemeinen als Einlaufzeit für einen neuen Eluenten betrachtet. Bei Eluenten niedriger Hydroxidkonzentration ist dieser Prozess jedoch deutlich länger. Dies wird auf gelöstes Carbonat im Eluenten zurückgeführt. In Hydroxideluenten ist herstellungsbedingt immer Carbonat enthalten, welches sich in alkalischen Lösungen leicht bildet. Da Carbonat ein viel stärkeres Eluention als das Hydroxidion oder die Analytionen ist, stellt sich ein Gleichgewicht von Carbonat und Hydroxidionen an den Austauscherplätzen ein. Dies verändert die Elutionskraft des Eluenten und die Belegung der Austauscherplätze, je nach Carbonatgehalt. Stark alkalische Hydroxideluenten können die Spuren von Carbonat schnell von der Säule eluieren. Hydroxideluenten niedriger Konzentration können dies nicht. Das Carbonat akkumuliert auf der Säule und es treten Schwankungen in der Retentionszeit auf. Dies macht sich besonders bei Reproduzierbarkeitsmessungen über lange Zeit bemerkbar.

In Abbildung 5.4 auf der nächsten Seite sind die Einlaufkurven von Hydroxideluenten niedriger Konzentration aufgeführt. Bei diesen Experimenten wurde zum Zeitpunkt $t = 0$ der Eluent von der hohen Standardkonzentration von 100 mmol L^{-1} auf die jeweilige neue, niedrigere Eluentkonzentration umgeschaltet. Nach kurzer Zeit ist ein Ansteigen der Retentionsfaktoren für die Analyten zu beobachten, wie sie vom Retentionsmodell auch erwartet werden. Auch die Selektivität ändert sich entsprechend der Hydroxidkonzentration. Anschließend folgt jedoch eine stetige Abnahme der Retentionsfaktoren. Diese ist umso länger und stärker ausgeprägt, je niedriger die neue Eluentkonzentration ist. Über die Zeit sammelt sich Carbonat auf dem Ionenaustauscher an und verringert die Kapazität des Ionenaustauschers. Am Ende stellt sich eine Gleichgewichtskonzentration ein. Die Carbonataufnahme entspricht nun der Elutionsrate durch die Elutionskraft des verdünnten Eluenten für Carbonat. Es ist bemerkenswert, wie stark der Retentionszeitverlust bei den niedrigsten Eluentkonzentrationen von 1 mmol L^{-1} ist. In Abbildung 5.5 auf Seite 87 sind Retentionszeitverluste in % bei unterschiedlichen Konzentrationen aufgeführt. Betragen diese bei hohen Konzentrationen über 30 mmol L^{-1} noch unter 50%, so verlieren sie bei niedrigeren Konzentrationen bis zu 90%. Der Retentionszeitverlust ist für alle Analyten nahezu gleich, außer bei den Zuckeralkoholen. Diese werden durch ihre schwache Dissoziation und ihrer geringen Ladung wegen weniger von Effekten auf der stationären Phase beeinflusst. Zwischen der benötigten Zeit zur Gleichgewichtseinstellung und der Konzentration des Hydroxideluenten besteht bei logarithmischer Auftragung der Zeit ein linearer Zusammenhang, wie in Abbildung 5.6 auf Seite 88 zu erkennen.

Deprotonierungsgrade bei sehr niedrigen Eluentkonzentrationen

Um die Annahme zu überprüfen, ob der Deprotonierungsgrad bei niedrigen Eluentkonzentrationen, wie in Kapitel 5.1.1 auf Seite 80 vermutet, für alle Kohlenhydrate sinkt, werden die Retentionsfaktoren für die reinen

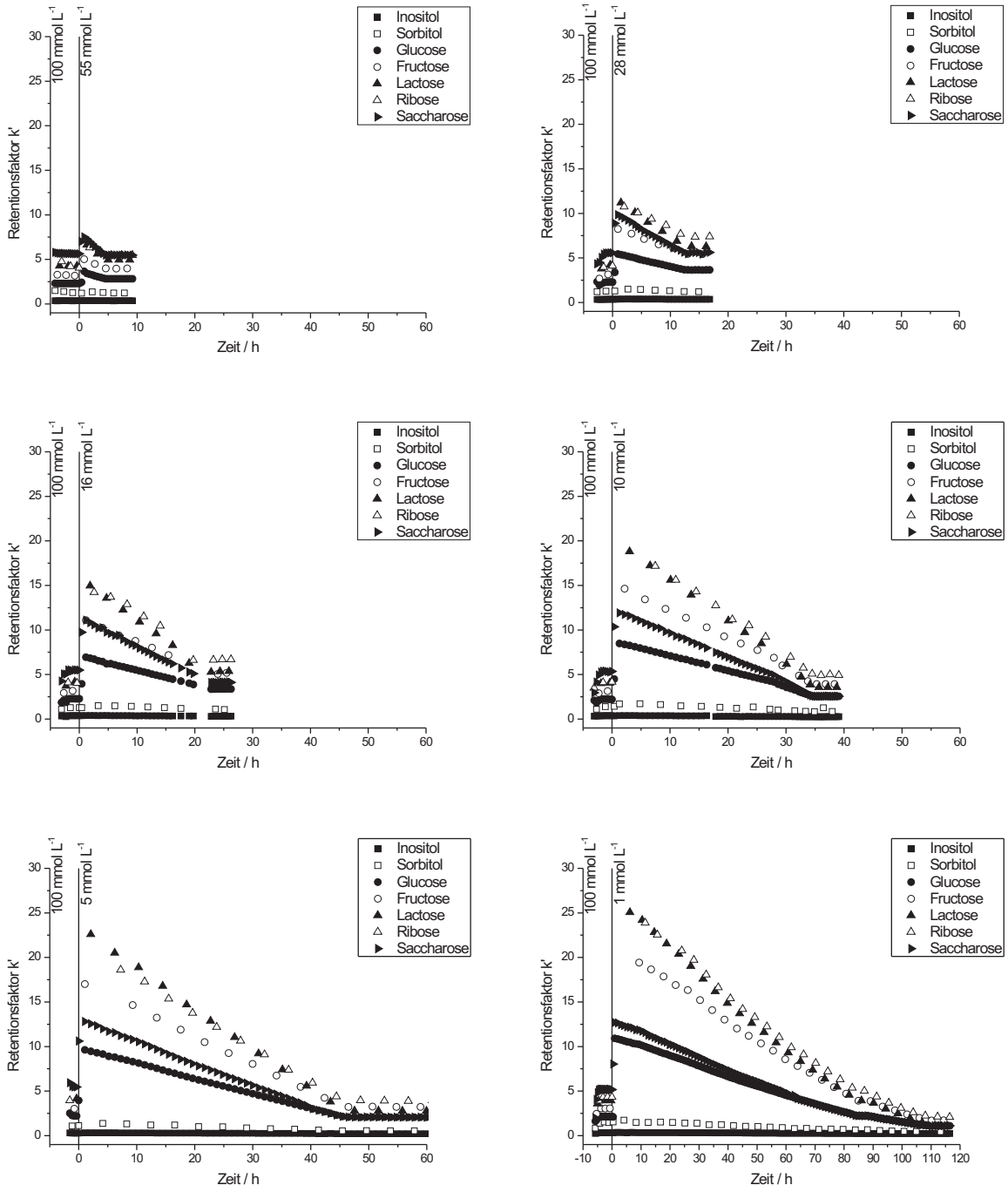


Abbildung 5.4: Einfluss der Natronlaugekonzentration auf die Retentionsfaktoren k' gemessen auf einer mit EDMA oberflächenfunktionalisierten Säule. Säule: O311002 AG EDMA, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Temperatur: 305 K.

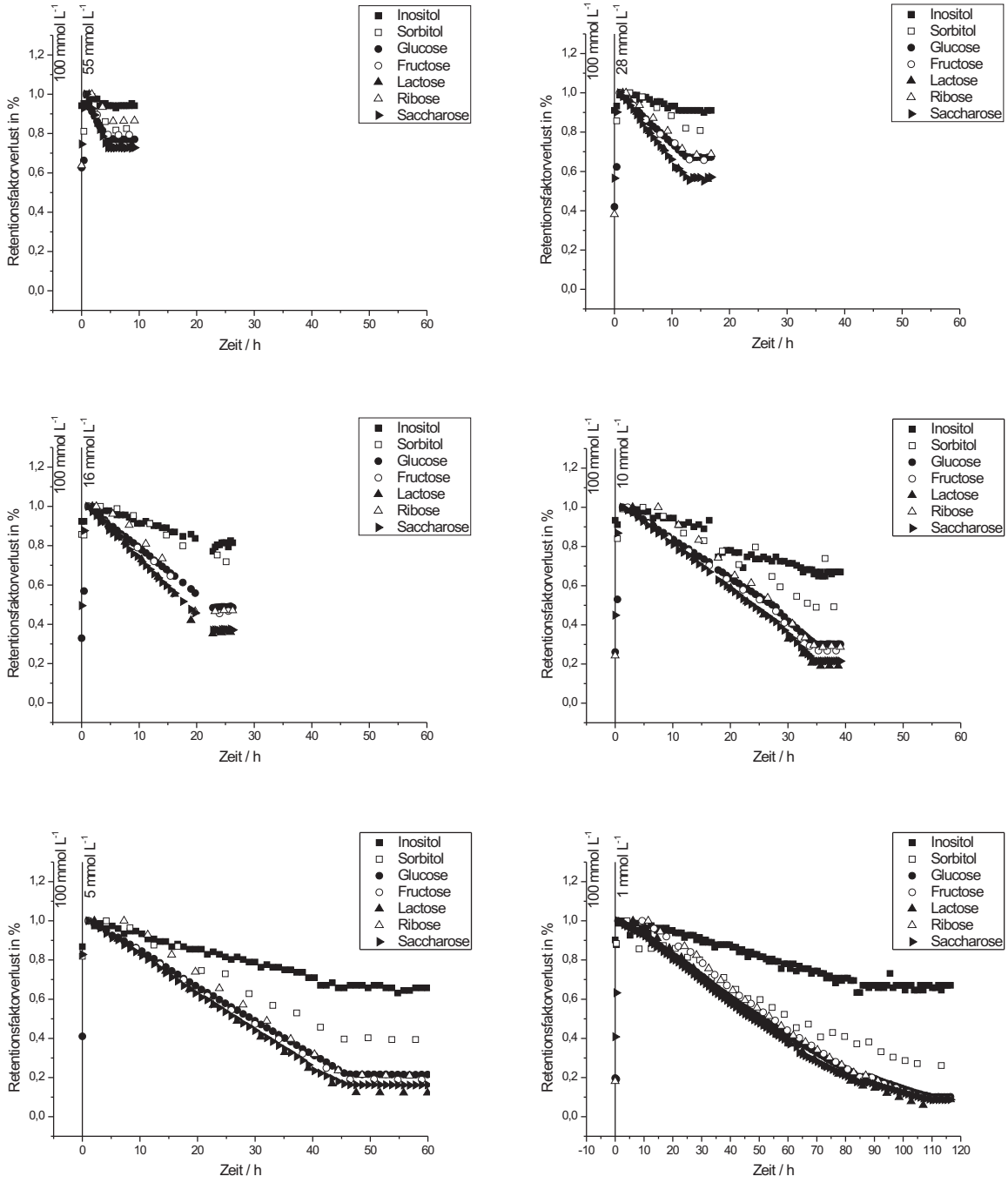


Abbildung 5.5: Retentionszeitverlust in % bei unterschiedlichen Natronlaugekonzentration gemessen auf einer mit EDMA oberflächenfunktionalisierten Säule. Säule: O311002 AG EDMA, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Temperatur: 305 K.

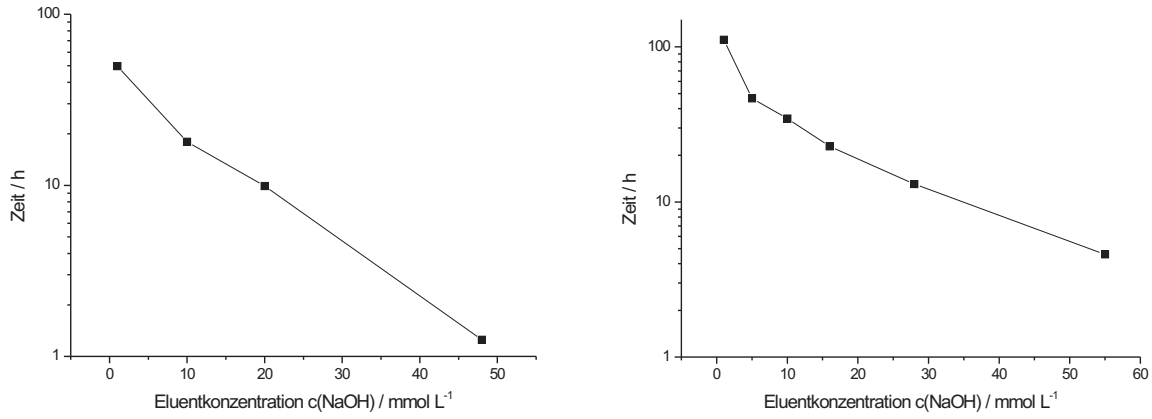


Abbildung 5.6: Benötigte Zeit bis zur Gleichgewichtseinstellung bei niedrigen Eluentkonzentrationen auf einem Latexaustauscher (links) und einem oberflächenfunktionalisiertem Austauscher (rechts).

Tabelle 5.3: Ergebnisse für die Steigungen, erhalten durch lineare Regression der Geraden, bei Konzentrationen von 1–20 mmol L^{-1} und 20–100 mmol L^{-1} für die beiden Ionenaustauscher.

Säule:	L140202 AG EDMA-L		O311002 AG EDMA	
Eluentonzentration:	1–20 mmol L^{-1}	20–100 mmol L^{-1}	1–20 mmol L^{-1}	20–500 mmol L^{-1}
Inositol	-0,01	-0,01	-0,01	-0,07
Sorbitol	-0,01	-0,01	-0,01	-0,32
Glucose	-0,10	-0,58	-0,14	-0,70
Fructose	-0,23	-0,66	-0,21	-0,77
Lactose	-0,18	-0,93	-0,16	-0,86
Ribose	-0,25	-0,56	-0,15	-0,75
Saccharose	-0,09	-0,41	-0,03	-0,57

Hydroxideluenten benötigt. Diese können aufgrund der Carbonataufnahme nur schwer absolut erhalten werden. Jedoch ist ein Vergleich möglich. Dazu werden die Retentionsfaktoren bei einer Eluentkonzentration von 100 mmol L^{-1} als Ausgangswerte definiert. Nun wird der in Abbildung 5.4 auf Seite 86 erhaltene linearen Abfall des Retentionsfaktors für alle Analyten bis zur Umschaltung des Eluenten von der hohen auf die niedrige Konzentration extrapoliert. An dieser Stelle erhält man die Retentionsfaktoren für den verdünnten Eluenten mit gleicher Carbonatkonzentration wie bei einer Eluentkonzentration von 100 mmol L^{-1}.

Das Ergebnis dieser Extrapolationen für die beiden untersuchten Ionenaustauscher ist in Abbildung 5.7 auf der nächsten Seite gezeigt. Sowohl für den Latexaustauscher als auch für die oberflächenfunktionalisierte Säule ergibt sich ein ähnliches Ergebnis. Die Steigung der Kurven wird für beide Ionenaustauscher bei niedrigen Eluentkonzentrationen geringer. Es werden für alle Analyten bei einer Eluentkonzentration von 1–20 mmol L^{-1} ähnliche Steigungen bis -0.25 erhalten. Alle Werte sind in Tabelle 5.3 aufgeführt. Damit gleichen sich nun die Steigungen denen von Saccharose und den Zuckeralkoholen an. Alle Analyten liegen nicht mehr in ihrer maximalen deprotonierten Form vor.

Auf dem oberflächenfunktionalisierten Ionenaustauscher sind zudem Eluentkonzentrationen bis 500 mmol L^{-1} gemessen worden. Wie in der rechten Auftragung in Abbildung 5.7 zu erkennen, nimmt die Steigung der Kurven für die Zuckeralkohole bei diesen hohen Eluentkonzentrationen zu. Besonders steigt der Wert für Sorbitol

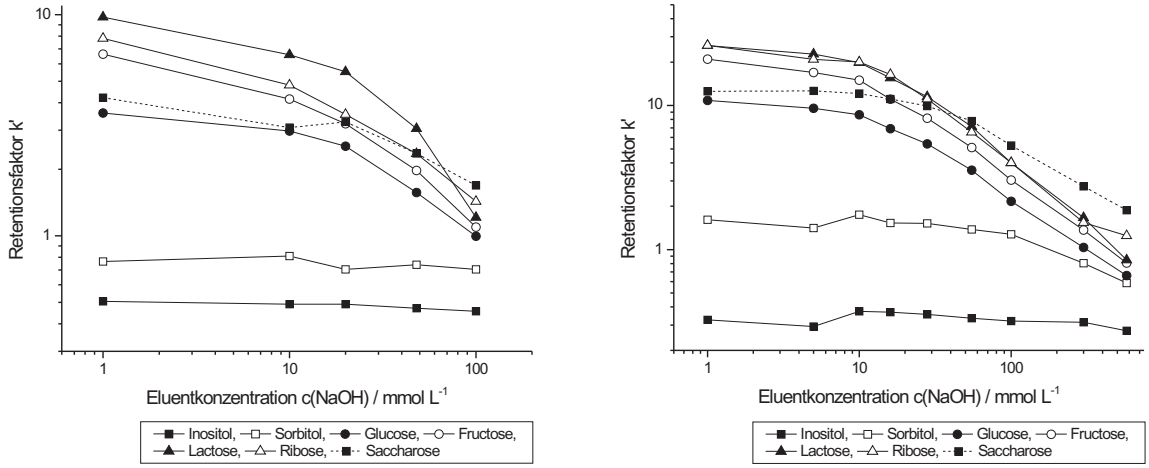


Abbildung 5.7: Einfluss der Eluentkonzentration auf die extrapolierten Retentionsfaktoren k' auf einem Latex-austauscher (links) und einem oberflächenfunktionalisiertem Austauscher (rechts).

deutlich an. Dies sind erste Anzeichen dafür, das der Deprotonierungsgrad für die Zuckeralkohole bei diesen hohen Eluentkonzentrationen nur noch wenig steigt und der Retentionsfaktor nur noch von der Eluentkonzentration bestimmt wird. Somit stellen sich je nach pK_S-Wert der Zuckeralkohole nun auch unterschiedliche Selektivitäten ein. Dies zeigt sich auch in der verbesserten Selektivität der Zuckeralkoholtrennung bei hohen Eluentkonzentrationen um 300 mmol L^{-1} [11].

Änderung der Selektivität

Mit Hilfe der extrapolierten Retentionsfaktoren können nun auch die Selektivitätsfaktoren bei unterschiedlichen Konzentrationen berechnet werden. Diese Selektivitätsfaktoren werden zur besseren Vergleichbarkeit immer auf Glucose als Standard normiert, welches dadurch automatisch den Selektivitätsfaktor 1 erhält. In Abbildung 5.8 auf der nächsten Seite sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Betrachtet man vor allem die Kurven bei niedrigen Konzentrationen, so sind hier mehrere Selektivitätsänderungen erkennbar. Bezogen auf Glucose erhält man vor allem eine bessere Auftrennung der Zuckeralkohole von den Monosacchariden. Auch die Selektivität innerhalb der Monosaccharide wird je nach betrachteter Eluentkonzentration und gewähltem Analyten besser. Die stärksten Selektivitätsänderungen durchlaufen jedoch Saccharose und die Zuckeralkohole. Für den Latex-Austauscher beträgt die Retentionsreihenfolge der Kohlenhydrate bei 100 mmol L^{-1} Hydroxidionen.

$$Inositol < Sorbitol < Glucose < Fructose < Lactose < Ribose < Saccharose$$

Wird die Eluentkonzentration auf 1 mmol L^{-1} Hydroxidionen gesenkt, so ändert sich die Retentionsreihenfolge für Saccharose wie auch Ribose. Zudem erhöht sich die Selektivität zu den Zuckeralkoholen drastisch.

$$Inositol < Sorbitol << Glucose < Saccharose < Fructose < Ribose < Lactose$$

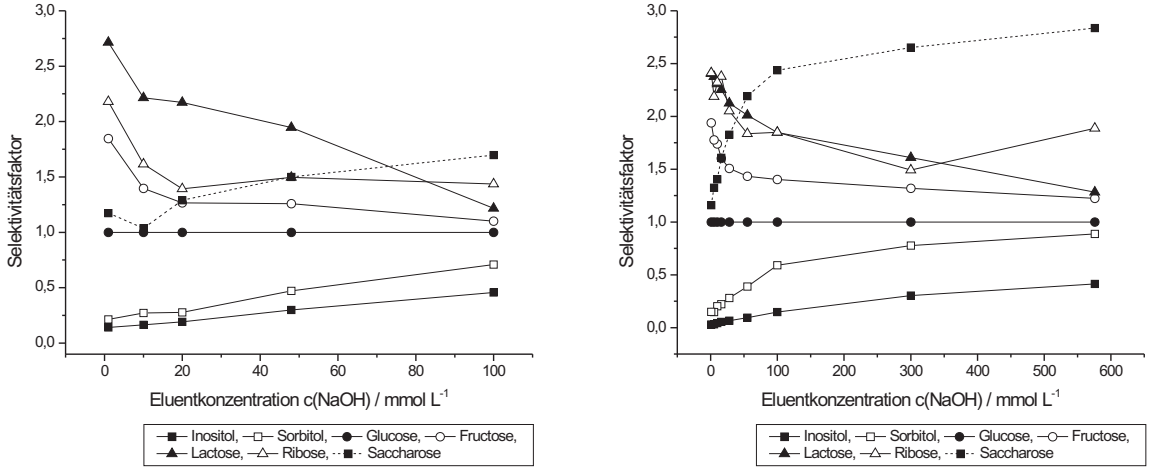


Abbildung 5.8: Einfluss der Eluentkonzentration auf die Selektivitätsfaktoren bezogen auf Glucose auf einem Latexaustauscher (links) und einem oberflächenfunktionalisierten Austauscher (rechts).

Für den oberflächenfunktionalisierten Anionenaustauscher beträgt die Retentionsreihenfolge der Kohlenhydrate bei 100 mmol L^{-1} Hydroxidionen.

$$Inositol < Sorbitol < Glucose < Fructose < Lactose/Ribose < Saccharose$$

Lactose und Ribose eluieren in diesem Fall zur gleichen Zeit. Bei niedrigen Eluentkonzentrationen eluiert nur die Saccharose früher.

$$Inositol < Sorbitol << Glucose < Saccharose < Fructose < Lactose/Ribose$$

Das Retentionsverhalten der Ribose kann nicht vollständig erklärt werden. Neben der Saccharose besitzt sie von den Zuckern den zweithöchsten pK_s-Wert und sollte demnach ebenfalls Selektivitätsänderungen bei niedrigen Eluentkonzentrationen aufweisen. Erschwerend für die Bestimmung der Ribose ist jedoch die schlechte Form des Signals der Ribose. Dies kann durch zusätzlichen Wechselwirkungen der Ribose mit der stationären Phase hervorgerufen werden. Auch Änderungen der Konformation der Ribose unter den unterschiedlichen Bedingungen können einen Einfluss haben, wie in Abbildung 5.10 auf Seite 93 gezeigt.

5.3 Neue Lösungsstrategien zur Unterdrückung von Carbonat in Hydroxideluenten

Ein Problem von Hydroxideluenten ist immer das Vorhandensein von Carbonat, welches sich durch Kohlendioxid aus der Luft in alkalischen Lösungen leicht bildet, besonders in den stark alkalischen Eluenten. Unter Standardbedingungen ist die Sättigung von Carbonat in Wasser in etwa 33 mmol [115]. Carbonat ist ein viel stärkeres Eluention, besetzt damit viele der Austauschplätze und verringert die Retention der Kohlenhydrate. Dies macht sich besonders bei Reproduzierbarkeitsmessungen über lange Zeit bemerkbar. Für stabile Retentionszeiten wird daher die Trennsäule nach jedem Lauf mit konzentrierter Hydroxidlösung gespült, um das

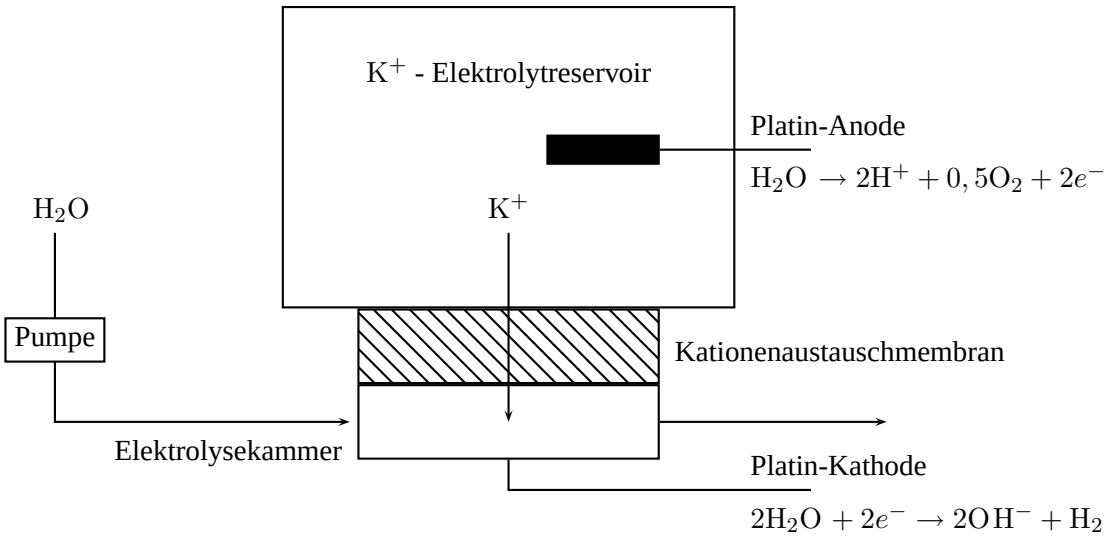


Abbildung 5.9: Schematische Darstellung der elektrolytischen Erzeugung cabonatfreier Eluenten mittels Eluent Generator™ nach [11].

angesammelte Carbonat zu entfernen [110] [116]. Dies führt zu deutlich längeren Analysendauern. Daher sind einige Versuche unternommen worden, die Adsorption von Carbonat zu verringern [3]. Die Herstellung der Eluenten bietet nur wenig Möglichkeiten, Einfluss auf den Carbonatgehalt zu nehmen. Eluenten werden am besten aus carbonatfreier ($< 0,2\%$), stark konzentrierter Natronlauge (50%) hergestellt. Während der Messungen wird nun entweder ein Inertgas (N_2, He) über die Lösungen geleitet, oder ein spezielles Kohlendioxidabsorberröhrchen in den Luftraum integriert.

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Zugabe von Erdalkalimetallen, welches eventuell vorhandenes Carbonat als schwerlösliches Carbonat fällt. Eine elegante Methode besteht in der Verwendung von Systemen, in denen der alkalische Eluent direkt elektrochemisch hergestellt wird [4]. Neben der Vorstellung der beiden bisherigen Ansätze zur Carbonatunterdrückung soll ebenso ein neues, einfaches und effektives Verfahren zur Carbonatentfernung aus dem Eluentenstrom vorgestellt werden.

5.3.1 Eluent Generator™

Eine elegante Methode zur Erzeugung carbonatfreier Eluenten ist die elektrochemische Generierung von Hydroxideluenten [11] [117]. Das unter dem Handelsnamen Eluent Generator™ kommerziell erwerbliche Modul erzeugt auf elektrolytischem Wege aus Wasser und mit Hilfe einer speziellen Kartusche als Kaliumquelle Kaliumhydroxid. Wie in Abbildung 5.9 schematisch dargestellt, besteht der Eluent Generator™ aus einer Elektrolysekammer mit einer Platinkathode, einer Kationenaustauschmembran und der Kartusche mit der Platinanode. Die Anode ist eine perforierte Platinelektrode und ist in dem Elektrolytreservoir eingelassen. Dieser ist mit Kaliumhydroxidlösung der Konzentration 4 mol L^{-1} gefüllt. Die gleiche Elektrode wird in der Elektrolysekammer als Kathode verwendet. Wenn nun reines Wasser durch die Elektrolysekammer gepumpt und eine

Gleichspannung zwischen den Elektroden angelegt wird, finden an den Elektroden die folgenden Reaktionen statt.

$$\mathrm{H_2O} \rightleftharpoons 2\mathrm{H^+} + 0,5\mathrm{O_2} + 2e^- \tag{5.2}$$

$$2\mathrm{H_2O} + 2e^- \rightleftharpoons 2\mathrm{OH^-} + \mathrm{H_2} \tag{5.3}$$

Die Menge der an der Kathode erzeugten Hydroxidionen hängt proportional von Elektrolysestrom und der Flussrate der mobilen Phase ab. Die Konzentration steigt bei höherem Elektrolysestrom und fällt mit höherer Flußrate. Die Kationenaustauschermembran verhindert ein Übertreten der gebildeten Hydroxidionen. Zum Ladungsausgleich ermöglicht sie zudem die Wanderung der Kaliumionen aus dem Elektrolysereservoir in die Elektrolysezelle. Um den an der Kathode gebildeten Wasserstoff aus dem Eluentenstrom zu entfernen, befindet sich nach dem Eluent Generator™ eine Hochdruckentgasungseinheit mit einer druckstabilen, semipermeablen Membran. Da noch Spuren von Wasserstoff bei der amperometrischen Detektion von Zuckern zu einem leicht erhöhten Hintergrundstrom führen, verbindet man die Hochdruckengasungseinheit mit einer Vakuumentgasung, wodurch die Effizienz deutlich gesteigert wird.

Dieses System zur Eluentenherstellung bietet viele Vorteile. Die Herstellung von Eluenten aus Natronlaugekonzentraten entfällt, der Ionenchromatograph muss nur noch mit Reinstwasser gespeist werden. Dies verlängert auch die Lebenszeit der Pumpen. Für die Zuckertrennung ist es möglich, hochreine und carbonatfreie Eluenten herzustellen. Es ist kein Retentionszeitverlust bei Eluenten niedriger Konzentration beobachtbar. Die Retentionszeiten bleiben über hunderte Messungen stabil. Ein großer Vorteil des Systems ist ebenso die einfache Bedienung und Erstellung von Gradientenprogrammen ohne zusätzliche Pumpen und Mischventile. Die Hydroxidkonzentration kann zu jedem Zeitpunkt über den Elektrolysestrom geändert werden. Auf der anderen Seite ist man mit dem Eluent Generator™ instrumentell auf diesen Typ Chromatographiegeräte festgelegt. Benutzer von Geräten mit anderen Leistungskenndaten brauchen andere Lösungen. Die Kartusche mit dem Elektrolytreservoir muss zudem regelmäßig gewechselt werden. Bei einer Flussrate von 1 mL $\mathrm{Min^{-1}}$ hält eine Kartusche bei der Herstellung von Kaliumhydroxidlösung einer Konzentration von 0,05 mol $\mathrm{L^{-1}}$ ca. 1000 Stunden. Zudem ist die maximal herstellbare Konzentration mit 100 mmol $\mathrm{L^{-1}}$ begrenzt. Dies schließt die Messungen von Zuckeralkoholen bei hohen Eluentkonzentrationen aus. Für einfache Anwendungen im isokratischen Betrieb ist der Preis unter den hier vorgestellten Methoden sicherlich der höchste zur Herstellung von carbonatfreien Hydroxideluenten.

5.3.2 Eluentzusätze

Eine deutliche kostengünstigere Methode, das Carbonat aus dem Eluenten zu entfernen besteht in der Fällung des Carbonats in Form eines seiner schwerlöslichen Salze. Dazu werden in der Regel Erdalkalimetalllösungen zum Eluenten gegeben. So fällt durch Zugabe von Bariumhydroxid das schwerlösliche Bariumcarbonat aus. Der Niederschlag an schwerlöslichem Carbonat setzt sich nach einigen Stunden ab.

$$\mathrm{Ba^{2+}} + \mathrm{CO_3^{2+}} \rightleftharpoons \mathrm{BaCO_3} \tag{5.4}$$

Der Einfluss dieser erdalkalimetallhaltigen Eluenten auf die Trennung von Kohlenhydraten ist ausgiebig untersucht worden [115] [118] [119] [120]. Durch Zugabe von von stark verdünnten Barium- oder Strontiumlösungen in Form ihrer Hydroxide, Nitrate oder Acetate kann eine deutlich bessere Stabilität der Retentionszeit

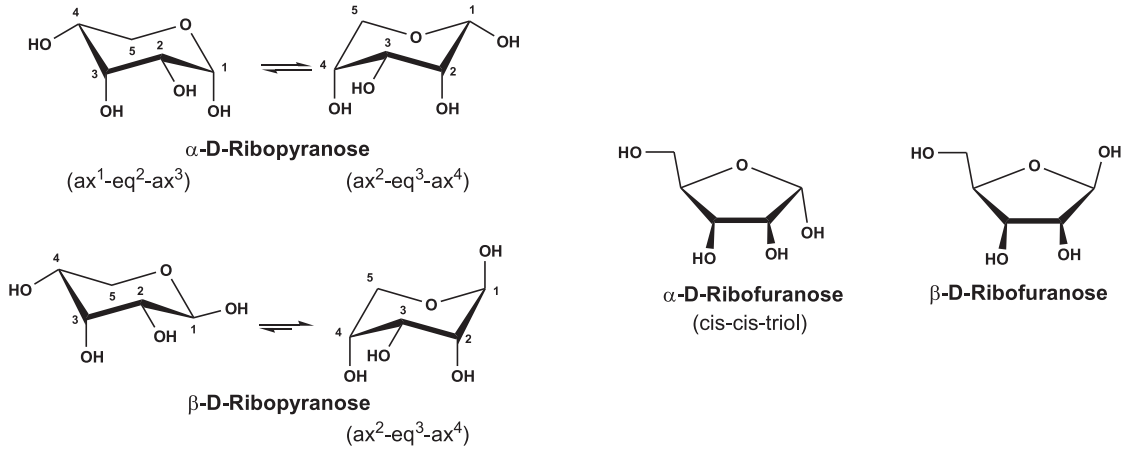


Abbildung 5.10: Häufige Vorkommensformen der D-Ribose.

erreicht werden. Innerhalb von 4 Stunden beträgt der Retentionsfaktorverlust unter 4%. Die relativen Standardabweichungen der Retentionsfaktoren bei Zugabe von Bariumionen betragen innerhalb von vier Tagen für die Kohlenhydrate von 0,52–0,84% (n = 8) [121].

Auch die Trenneigenschaften der stationären Phase für einige Kohlenhydrate werden von den Erdalkalimetallionen positiv beeinflusst. Vor allem die meist stark asymmetrischen Signale für Sorbitol und Ribose werden durch die Verwendung von bariumhaltigen Eluenten verbessert. Der Asymmetriefaktor sinkt von 1,90 auf 1,07 [121]. Die Trennleistung steigt dadurch für diese Analyten um 25%. Dies wird vor allem auf Komplexwechselwirkungen zwischen den Bariumionen im Eluenten und den Kohlenhydraten erklärt. Je nach Stellung der Hydroxylgruppen in axialer oder äquatorialer Stellung werden unterschiedlich starke Komplexe eingegangen. Eine besonders starker Komplex entsteht, wenn eine Sequenz von axial, äquatorial und axial bei sechsgliedrigen Kohlenhydraten oder drei aufeinanderfolgende cis-Hydroxygruppen bei fünfgliedrigen Kohlenhydraten vorkommt [122] [11]. In Abbildung 5.10 sind die häufigsten Vorkommensformen der Ribose aufgeführt. Alle Formen sind durch mehrere tautomere Umlagerungen möglich. In wäßriger Lösung liegt vorwiegend eine in etwa 3:1 Mischung der β-D-Ribopyranoseformen vor. Die linke Form der β-D-Ribopyranose besitzt mit drei äquatorialen Hydroxylgruppen eine niedrigere freie Energie als die rechte Form mit einer äquatorialen Hydroxylgruppe. Durch Zugabe eines Erdalkalimetalls, welches besonders starke Komplexe mit der rechten Form eingehen kann, wird das Gleichgewicht nach rechts verschoben. Dies führt zu einer Änderung in der Gleichgewichtseinstellung zur stationären Phase und zu den verbesserten Symmetrien der Ribosesignale. Durch die unterschiedlich starke Komplexbildung der Erdalkalimetalle zu den verschiedenen Kohlenhydraten werden auch geänderte Selektivitäten beobachtet. Dies führt zum Teil zu gewünschten oder auch unerwünschten Änderungen in der Retentionsreihenfolge der Kohlenhydrate.

Auch die Detektion wird von Erdalkalimetallionen im Eluenten beeinflusst [123]. Durch die Zugabe von 1 mmol L^{-1} Strontium- oder Bariumlösung zum Eluenten konnten bei angepassten Potentialen Empfindlichkeitssteigerungen von 30–50% beobachtet werden. Von der Verwendung von calciumhaltigen Eluenten wird abgeraten, da diese bei den angelegten Potentialen die Empfindlichkeit der Goldelektrode negativ beeinflussten.

Die Vorteile dieser Methode liegen in der einfachen und kostengünstigen Handhabung. Zudem kann die Trennleistung von einigen Analyten und die Empfindlichkeit der Detektion verbessert werden. Jedoch enstehen durch

Tabelle 5.4: Leistungsdaten des kommerziellen Anionenaustauschers DOWEX 1X8.

Name:	DOWEX 1X8 p.a.
Typ:	PS-DVB-Copolymer
Quervernetzung:	8%
Austauschergruppe:	quartäre Ammoniumgruppe
Gegenion:	Chlorid
Wasser:	50–60%
Korngröße:	0,30–0,84 mm (20–50 Mesh)
Anionenaustauschkapazität:	1–1,5 mol L^{-1}

die Komplexwechselwirkungen andere Selektivitäten, welche berücksichtigt werden müssen. Die Bildung des Niederschlages im Eluentenvorratsgefäß und das Absetzen des gebildeten Niederschlags bedeutet eine längere Eluentenvorbereitungszeit. Es birgt zudem die Gefahr, das Teile des Niederschlages in das chromatographische System gelangen und es zu einer Beschädigung der Pumpe oder Verstopfungen in den Kapillarverbindungen kommt.

5.3.3 Vorsäule als Anionenfänger

Die Entstehung des Carbonats in alkalischen Eluenten ist nur schwer zu unterdrücken. Nahezu alle Möglichkeiten, das Carbonat bei der Herstellung zu vermeiden bieten keine Garantie, das zum Zeitpunkt der Messung kein neues Carbonat gebildet wurde und im Eluentenstrom vorhanden ist. Daher sollten Wege gefunden werden, das Carbonat direkt vor der Trennsäule zu entfernen. Eine einfache und kostengünstige Lösung bietet die Verwendung einer Vorsäule als Anionenfänger. Die Verwendung von Vorsäulen, um Störstoffe aus dem Eluenten oder der Probenmatrix zu entfernen ist weit verbreitet. Dieses Verfahren sollte sich auch auf das Entfernen von Carbonat erweitern lassen.

Das Problem der hohen Affinität des Carbonats zur stationären Phase bietet auch gleichzeitig die Lösung zum Entfernen von Carbonat aus dem Eluentenstrom. Das Carbonation geht deutlich stärke Wechselwirkungen mit dem Anionenaustauscher ein. Somit kann das Carbonat auf einen starken, hochkapazitiven Anionenaustauscher angereichert werden. Wird dieser hochkapazitiver Anionenaustauscher in Form einer Säule zwischen Pumpe und Injektionsventil eingebaut, so wird das Carbonat und andere stark retardierende Anionen auf dem Ionenaustauscher zurückgehalten und aus dem Eluentenstrom entfernt. Ist die Kapazität der Anionenaustauschersäule erschöpft, kann eine Regeneration durchgeführt werden. Dazu wird das System mit einem hochkonzentrierten Hydroxideluenten gespült. Das Carbonat wird von der Säule eluiert und der Ionenaustauscher wieder in seine Hydroxidform überführt.

Für die folgenden Untersuchungen wurde ein kommerzieller stark basischer Anionenaustauscher verwendet. Die Leistungsdaten dieses Anionenaustauscher sind in Tabelle 5.4 aufgeführt. Als Säulenkörper wurde eine Stahlsäule, 125 x 8 mm I.D., verwendet. Die Anionenaustauschkapazität der Säule betrug 7,6 mmol. Die Säule produziert durch ihre lockere Packung keinen zusätzlichen Staudruck im System. Abbildung 5.11 auf der nächsten Seite zeigt nun den kompletten Aufbau des Ionenchromatographen mit Vorsäule und Additionsmodul.

Betrachtet man im Vergleich die Einlaufphase nach einer Eluentenumstellung mit und ohne Vorsäule, so ist ein deutlicher Effekt zu beobachten. In Abbildung 5.12 auf Seite 96 ist der Eluentwechsel von 100 mmol L^{-1} auf

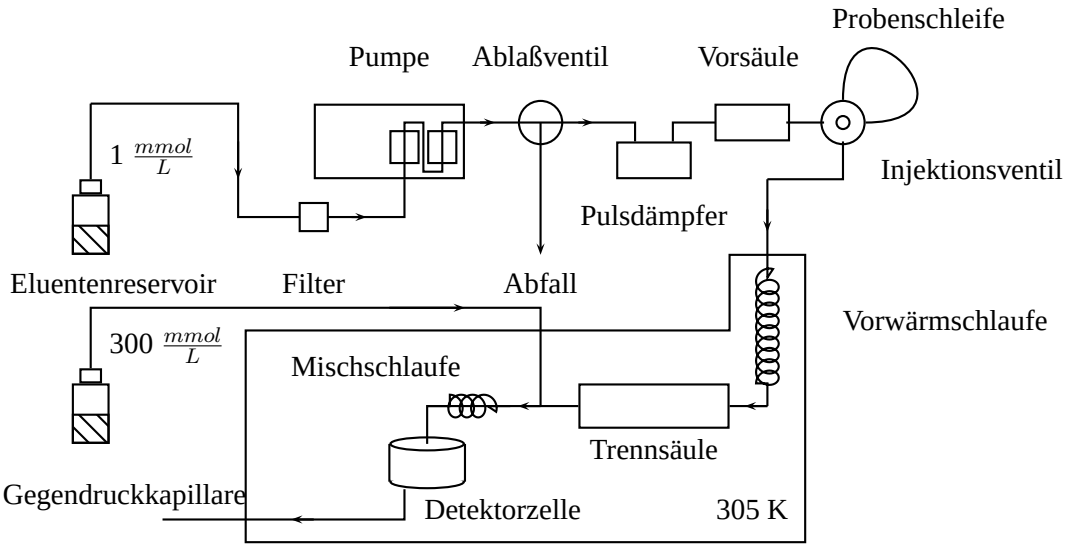


Abbildung 5.11: Schematischer Aufbau eines Ionenchromatographen zur Zuckertrennung mit Nachsäulenaddionsmodul und Vorsäule zum Entfernen von Carbonat.

10 mmol L^{-1} dargestellt. Für den Analyten Saccharose ist ohne Verwendung einer Vorsäule der gleiche Retentionszeitverlust beobachtbar, wie in Kapitel 5.2.2 auf Seite 85 dargestellt. Dagegen zeigt der Retentionsfaktor bei Verwendung des hochkapazitiven Anionenaustauscher als Trap-Säule für das Carbonat keine Abnahme mehr und bleibt stabil.

Daneben ist auch ein Zugewinn an Retentionszeit zu beobachten. Der Retentionsfaktor liegt bei Verwendung der Vorsäule deutlich höher als der extrapolierte Retentionsfaktor zum Zeitpunkt des Eluentenwechsel $t = 0$ ohne Vorsäule. Die Retentionszeitzunahme erklärt sich durch die vollständige Entfernung des Carbonats von der Trennsäule. Der Eintrag an Carbonat ist bei Verwendung der Vorsäule deutlich geringer als die Elution des Carbonats von der Säule. Durch Verwendung der Vorsäule wird auch das Carbonat, welches bei Verwendung von hohen Eluentkonzentrationen noch auf der Säule verbleibt, eluiert. In Abbildung 5.13 auf der nächsten Seite sind die Retentionsfaktorzugewinne bei längerer Verwendung der Vorsäule für alle untersuchten Kohlenhydrate aufgeführt.

Zur Untersuchung der Langzeitstabilität der Retentionsfaktoren wurden sowohl auf der Latexsäule als auch auf der kommerziell erhältlichen MetroSep Carb 1 Wiederholungsmessungen durchgeführt. Die Wiederholungsmessungen beschränken sich dabei auf einige ausgewählte Analyten. In Abbildung 5.14 auf Seite 97 sind die Retentionsfaktoren für drei Kohlenhydrate über eine Messdauer von fünf Tagen auf dem Latexaustauscher gezeigt. Wie in der linken Abbildung gezeigt ist für alle Analyten eine hohe Stabilität der Retentionsfaktoren über den gesamten Zeitraum gegeben. Die Schwankungen der Retentionszeit über den Zeitraum liegen meist unter 3% gegenüber der Startmessung. Die erhaltenen Daten der Langzeitmessungen auf der MetroSep Carb 1 zeigen ebenfalls eine hohe Stabilität der Retentionsfaktoren über den betrachteten Zeitraum. Die Vorsäule wurde für diese Messungen zum ersten mal nach ca. 500 Stunden Betriebsdauer vorher regeneriert. Dazu wurde für 14 Stunden mit 300 mmol L^{-1} Hydroxidlösung bei einer Flussrate von 1 mL min^{-1} gespült. Die Schwankungen der Retentionsfaktoren zeigen nochmals eine deutliche Verbesserung und liegen mit Ausnahme von Fructose unter 1% gegenüber der Startmessung. Dies ist in Abbildung 5.15 auf Seite 97 gezeigt.

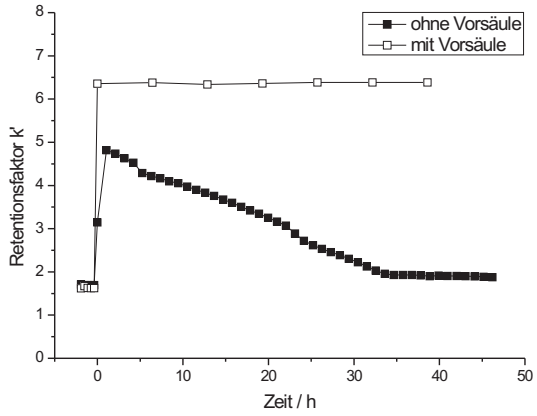


Abbildung 5.12: Vergleich des Retentionszeitverlusts von Saccharose mit Vorsäule (leere Symbole) und ohne (ausgefüllte Symbole) Vorsäule. Säule: L140202 AG EDMA-L, Eluentkonzentration: 10 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Nachsäulenaddition: 275 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: ca. 0,3 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

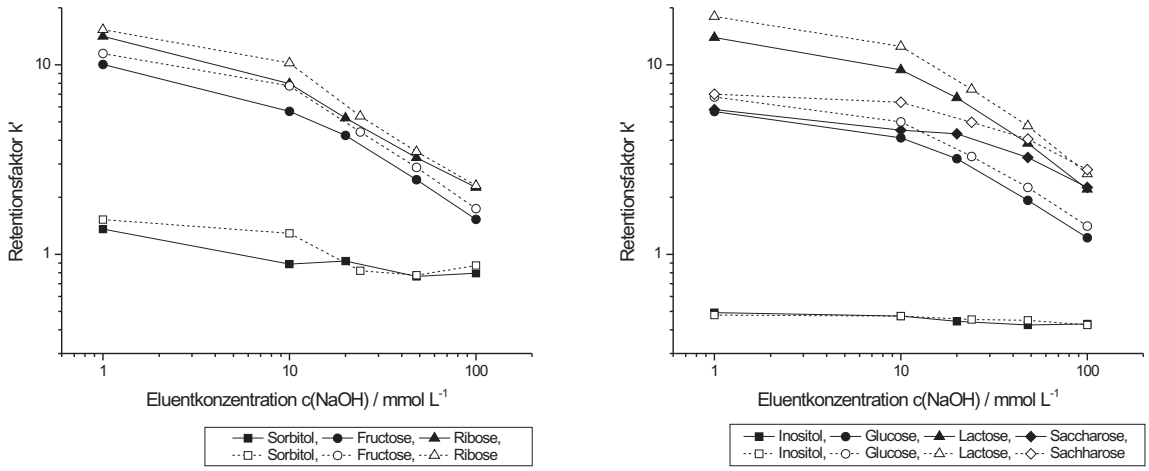


Abbildung 5.13: Zugewinn an Retentionszeit durch Verwendung der Vorsäule für die untersuchten Kohlenhydrate. Säule: L140202 AG EDMA-L, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Nachsäulenaddition: 275 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: ca. 0,3 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

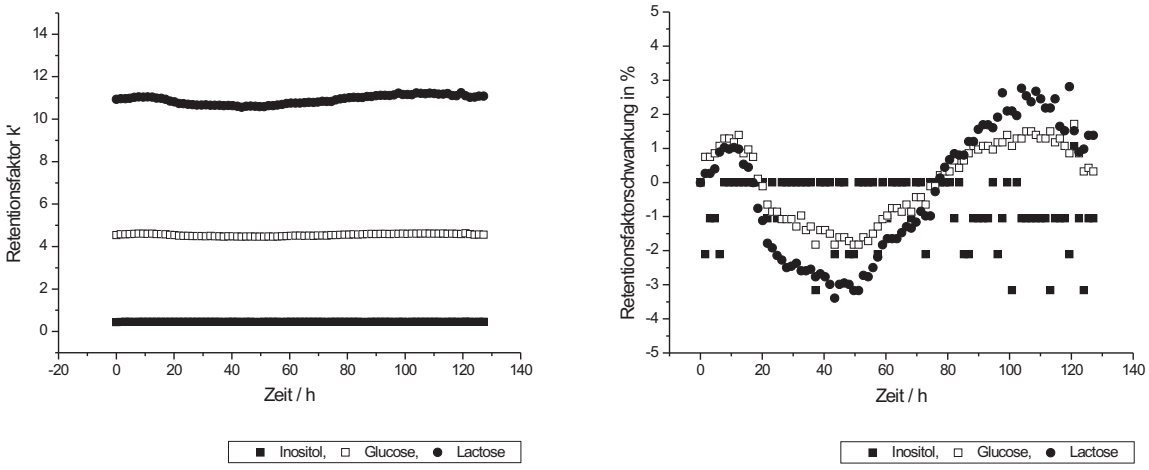


Abbildung 5.14: Langzeitmessung zur Stabilitätsbestimmung des Retentionsfaktors k' für drei ausgewählte Kohlenhydrate über eine Dauer von fünf Tagen unter Verwendung der Vorsäule. Säule: L140202 AG EDMA-L, Eluentkonzentration: 10 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Nachsäulenaddition: 275 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: ca. 0,3 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

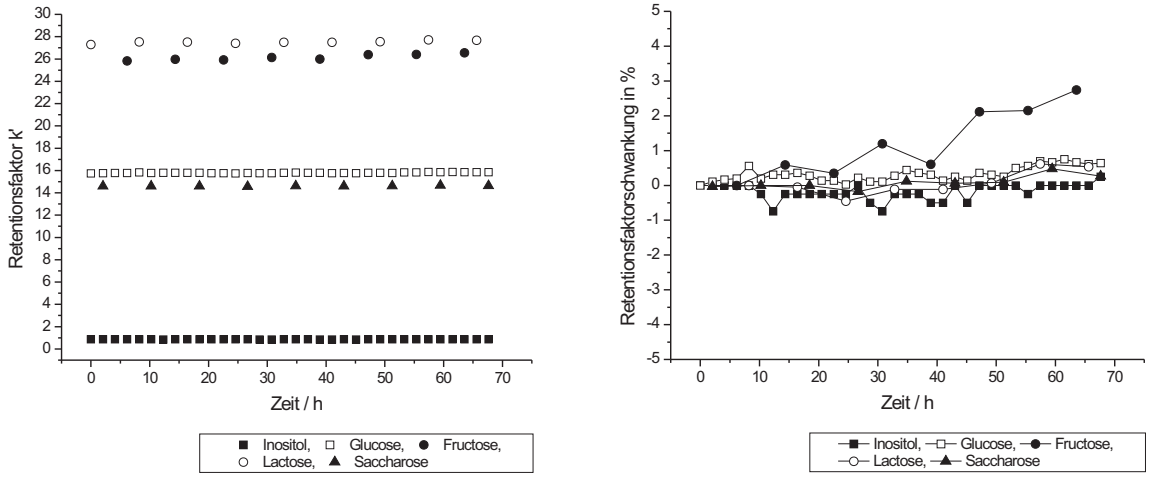


Abbildung 5.15: Schwankung des Retentionsfaktors k' in % für fünf ausgewählte Kohlenhydrate über eine Dauer von drei Tagen unter Verwendung der Vorsäule. Säule: MetroSep Carb 1, Eluentkonzentration: 10 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Nachsäulenaddition: 275 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: ca. 0,3 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

Tabelle 5.5: Relative Standardabweichungen (RSD) der Retentionsfaktoren für Inositol, Glucose und Lactose aus den Langzeitmessungen.

	L140202 AG EDMA-L RSD / % (n = 80)	MetroSep Carb 1 RSD / % (n = 30)
Inositol	1,02	0,50
Glucose	1,13	0,22
Fructose		1,02
Lactose	1,92	0,45
Saccharose		0,20

In Tabelle 5.5 sind die relativen Standardabweichungen für die untersuchten Kohlenhydrate aufgeführt. Verglichen mit den relativen Standardabweichungen (RSD) durch Zugabe von Erdalkalimetallen mit einer RSD von 0,52-0,84% (n=8) liegen die erzielten Ergebnisse in einem ähnlichen Rahmen. Durch eine häufigere Regeneration der Vorsäule kann deren Effektivität noch gesteigert werden. Durch Wahl der Säulendimensionen kann die Kapazität noch erhöht werden. Die Anzahl an Regenerationszyklen wird geringer.

Verglichen mit den bereits vorgestellten Methoden zur Unterdrückung von Carbonat in Hydroxideluenten hat sich die Verwendung der Vorsäule bewährt. Durch ihren Einbau entstehen keine Nachteile im System. Der Staudruck erhöht sich nicht, es entsteht kein zusätzliches Totvolumen. Die Vorsäule kann nachträglich in allen Systemen eingebaut werden. Die Installation ist einfach und kostengünstig. Sie bietet stabile Retentionsfaktoren bei niedrigen Eluentkonzentrationen ohne durch Zusätze Einfluss auf die Trennung auszuüben. Die Regeneration des Anionenaustauschers ist erst nach mehreren Wochen Betrieb nötig und einfach durchzuführen.

6 Untersuchungen an oberflächenfunktionalisierten Materialien

Der Einsatz hochkapazitiver, oberflächenfunktionalisierter Materialien zur Trennung von Kohlenhydraten ist weit verbreitet. Sowohl die CarboPac MA1 von Dionex als auch die MetroSep Carb 1 von Metrohm basieren auf diesen Materialien. Sie sind je nach verwendetem Eluentsystem besonders für die Trennung von Zuckeralkoholen geeignet. Durch Anpassung des Eluenten sind aber auch Trennungen von Mono- und Disacchariden auf solchen Materialien möglich.

Ziel dieses Kapitels ist es, die Herstellung hochkapazitiver Anionenaustauscher und ihre Eignung für die Trennung von Kohlenhydraten zu untersuchen. Dazu sollen unterschiedliche Oberflächenmodifizierungen auf dem Grundmaterial durchgeführt und verglichen werden. Da bei der Verwendung von hochkapazitiven Materialien mit hohen Eluentkonzentrationen gearbeitet wird, müssen die synthetisierten Austauscher eine große Stabilität gegenüber Hydroxideluenten aufweisen. Auch sollen die unterschiedlichen Reaktionstypen zur Synthese in Bezug auf Materialbeanspruchung untersucht werden. Dies kann neben abbildenden Verfahren wie Lichtmikroskopie- und Rasterelektronenmikroskopie (REM) auch im Retentionsverhalten und der Trennleistung der gefertigten Austauscher ermittelt werden.

Die Materialien sollen weiterhin als Basis für verschiedene Untersuchungen mit neuen Austauschergruppen dienen. Neben den etablierten Gruppen mit monokationischen Funktionen sollen auch Gruppen mit mehreren Funktionalitäten, wie Di- und Triamine, Verwendung finden. Die dafür nötigen Funktionalisierungen sollen zeigen, ob und wie durch die Wahl der Austauschergruppe Einfluss auf die Trennung von Kohlenhydraten genommen werden kann.

6.1 Eingesetzte Grundmaterialien

Als Trägermaterial für alle Untersuchungen wurden PS-DVB-Copolymere eingesetzt. Diese wurden zum einen im Arbeitskreis im Rahmen der Dissertation von Schütze [53], zum anderen von der Fa. Metrohm hergestellt. Die Materialien wurden in drei Schritten nach dem Ugelstadt-Verfahren hergestellt [124].

Am Anfang steht die Synthese eines quellfähigen Saatteilchens aus Polystyrol oder PS-DVB über Emulsionspolymerisation. Die in etwa 1 μm durchmessenden Teilchen werden in einem zweiten Schritt mit einer hydrophilen Verdünnermischung vorgequollen und anschließend mit der Monomerenmischung und weiteren Lösungsmitteln aufgequollen. Dabei vergrößert sich der Durchmesser der Teilchen bis auf die gewünschten 5 μm. Als Monomere finden eine Mischung aus DVB und EVB Verwendung. Die Polymerisation der gequollenen Teilchen wird im letzten Schritt radikalisch durch Dioctanylperoxid als Radikalstarter und weitere Hilfstoffen in Form einer Microemulsion initiiert. Die einzelnen Wachstumsschritte sind in Abbildung 6.1 auf der nächsten Seite nochmals verdeutlicht.

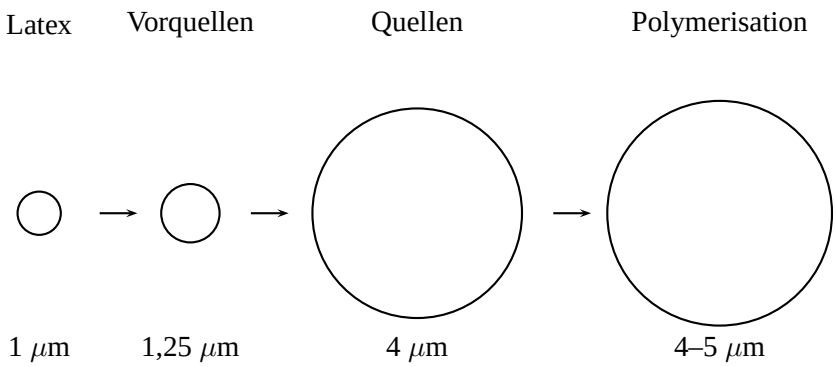


Abbildung 6.1: Schematische Darstellung des Quellverfahrens nach Ugelstadt.

Tabelle 6.1: Charakteristische Kenndaten einiger verwendeter Grundmaterialien [53] [127].

	Partikeldurchmesser / μm	Partikeldichte / g mL^{-1}	Porenvolumen / mL g^{-1}
P101001 Snd	4,5	0,45	1,27
P170402 SNa	4,6	0,42	1,39
P040302 Bpc	4,6	—	—
P040921 Bmh	4,6	—	—
P050111 Cmsh	5	—	—
D050207 Dmsh	4,5-5	—	—

Die Vorteile des Verfahrens liegen neben dem geringen Syntheseaufwand in der Möglichkeit, durch inerte Lösungsmittelanteile die Porosität des Teilchens beeinflussen zu können. Zudem können hohe Anteile an quervernetzenden Monomeren zugegeben werden, was die mechanische Stabilität der erzeugten Teilchen deutlich erhöht. Die Synthese erzeugt sphärische Teilchen bei enger Partikelgrößenverteilung und einer guten Reproduzierbarkeit [125] [126].

Für die folgenden Synthesen wurden unterschiedliche Grundmaterialien verwendet. Die charakteristischen Kenndaten finden sich in Tabelle 6.1. Diese Trägermaterialien sind PS-DVB-Copolymere mit 55% Quervernetzungsanteil. Die durchschnittliche Größe der Teilchen beträgt zwischen 4,5 und 5 μm mit einer engen Größenverteilung. Die Größe der Teilchen wurde nach dem Coulter-Counter-Verfahren bei der Firma Metrohm oder durch REM-Aufnahmen ermittelt. Partikeldichte und Porenvolumen entstammen SEC-Messungen aus der Dissertation von Schütze [53]. Eine Auswahl von Lichtmikroskopie- und REM-Aufnahmen sind in Abbildung 6.2 auf der nächsten Seite und 6.3 auf der nächsten Seite gezeigt.

6.2 Oberflächenmodifizierung mittels Chloromethylierung

Die Chloromethylierung ist eine etablierte Methode zur Einführung einer präfunktionellen Gruppe. Alle Modifizierungen werden nach der Vorschrift von Hauptmann durchgeführt. Der Reaktionsmechanismus ist in Kapitel 4.1.2 auf Seite 54 erläutert. Die Chloromethylierung erreicht sehr hohe Funktionalisierungsgrade, da die Reaktivität der Reaktanden sehr hoch ist [128]. Dies führt aber zu reaktionstechnischen Problemen, da viele der zur Chloromethylierung nach Hauptmann eingesetzten Reagenzien stark hygroskopisch und korrosiv sind.

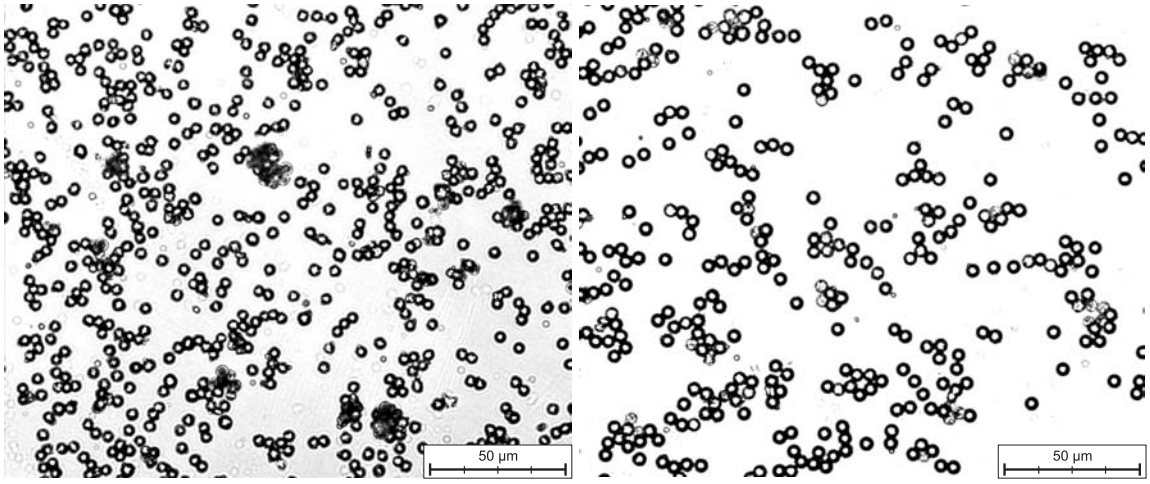


Abbildung 6.2: Lichtmikroskopieaufnahmen des des Grundmaterials P040302 Bpc (links) und P170402 SNa (rechts) bei 500-facher Vergrößerung.

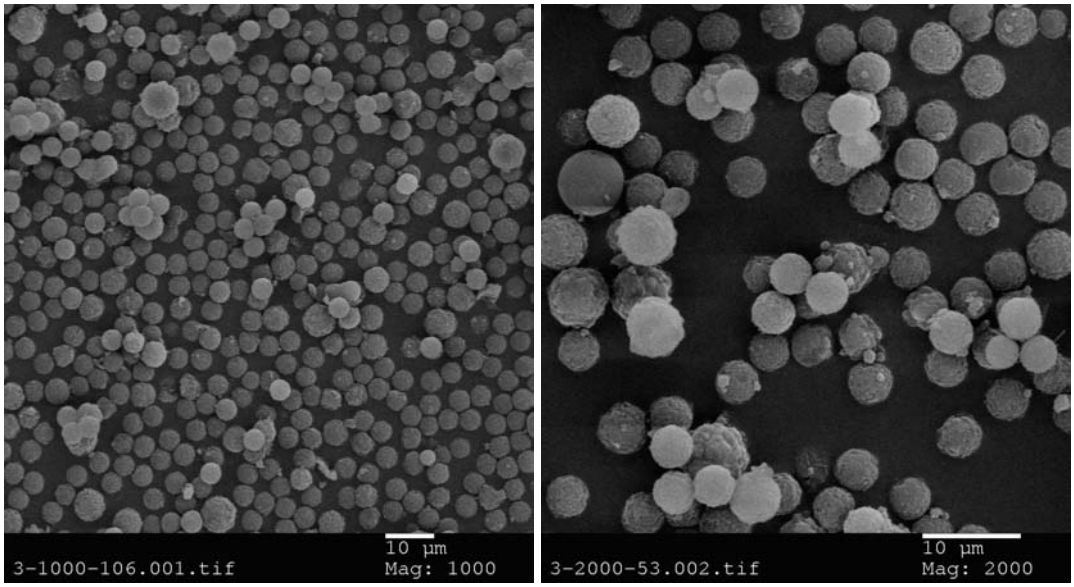


Abbildung 6.3: REM-Aufnahmen des Grundmaterials in verschiedenen Vergrößerungen.

Im Gegensatz zu anderen Vorschriften zur Chloromethylierung kann aber auf den Einsatz von gasförmigen oder karzinogenen Reagenzien verzichtet werden. Dennoch ist der Umgang mit Chlorsulfonsäure und Sulfurylchlorid schwierig. Sowohl Sulfurylchlorid als auch Chlorsulfonsäure sind stark hygroskopisch. Daher ist die Verwendung von geschlossenen Systemen nötig, um Luftfeuchtigkeit auszuschließen. Der Umgang mit Chlorsulfonsäure ist besonders gefährlich, da bei Kontakt mit Wasser eine explosionsartig ablaufende Hydrolyse zu Salz- und Schwefelsäure eintritt.

Eine weitere Schwierigkeit in der Durchführung einer Chloromethylierung nach Hauptmann liegt in der kontrollierten Zugabe der aggressiven Reagenzien während der Synthese. Um eine Temperaturkontrolle der teilweise stark exothermen Reaktion zu gewährleisten, müssen die reaktiven Reagenzen wie Sulfurylchlorid und Chlorsulfonsäure unter reproduzierbaren Bedingungen dosiert werden können. Eine konventionelle Reaktionsführung mit Tropftrichter und Thermometer führt zu starken Schwankungen der Reaktionstemperatur und benötigt ständige Kontrolle.

6.2.1 Aufbau der Syntheseapparatur

Nowak erarbeitete eine Automatisierung der Chloromethylierung von Polymerharzen [54]. Mit Hilfe des Dosiersystems Liquino 711 und der Dosierautomaten Dosino 700 der Firma Metrohm gelang eine fast vollständig automatisch gesteuerte Chloromethylierung. Die Dosino 700 Dosierautomaten sind durch ihre innere Konstruktion geeignet, auch mit aggressiven Reagenzien umzugehen. Alle mit der Lösung in Kontakt kommenden Teile sind aus Glas oder Teflon. Die Dosiergeschwindigkeit ist in einem Bereich von 0,01–100 mL min^{-1} frei wählbar und die Genauigkeit der Zugabe liegt nach Herstellerangaben bei 0,01 mL. Somit können auch kleinste Reagenzmengen kontinuierlich gefördert werden. Die Dosiervolumen ohne Nachfüllen sind durch unterschiedliche Aufsätze von 2–50 mL einstellbar. Die Dosiereinheit selbst wird auf eine Vorratsflasche des Reagenzes aufgeschraubt und kann sich nach beendeter Dosierung selbständig wiederbefüllen. Die Gewinde des Dosino passen auf gängige Glasbehälter und Orginalflaschen verschiedener Chemikalienhersteller. Die gesamte Steuerelektronik und der Motor ist oberhalb des Dosiervolumens angebracht.

Durch ein Thermoelement, welches neben den Dosierautomaten an den Liquino angeschlossen wird, kann eine temperturkontrollierte Zugabe der Reagenzien erfolgen. Die Reaktionstemperatur kann mit einer oberen und unteren Grenze angegeben werden. Da für die Chloromethylierung nach Hauptmann vier flüssige Reagenzien benötigt werden (Wasser, Dimethoxymethan, Chlorsulfonsäure und Sulfurylchlorid) werden für eine vollständige Automatisierung vier Dosiereinheiten benötigt. Dafür wurden die folgenden Dosierautomaten und Reagenzflaschen verwendet.

Dosino 1: Reagenz: Dimethoxymethan, Dosiervolumen: 50 mL, Vorratsflasche: 1 L

Dosino 2: Reagenz: Sulfurylchlorid, Dosiervolumen: 20 mL, Vorratsflasche: 250 mL

Dosino 3: Reagenz: Chlorsulfonsäure, Dosiervolumen: 10 mL, Vorratsflasche: 250 mL

Dosino 4: Reagenz: Wasser, Dosiervolumen: 50 mL, Vorratsflasche: 1 L

Die Vorgabe des Dimethoxymethans (DMM) kann jedoch auch ebenso manuell vor dem Reaktionsstart erfolgen, da hier keine temperaturkontrollierte Zugabe erforderlich ist. Somit ist eine Durchführung auch mit

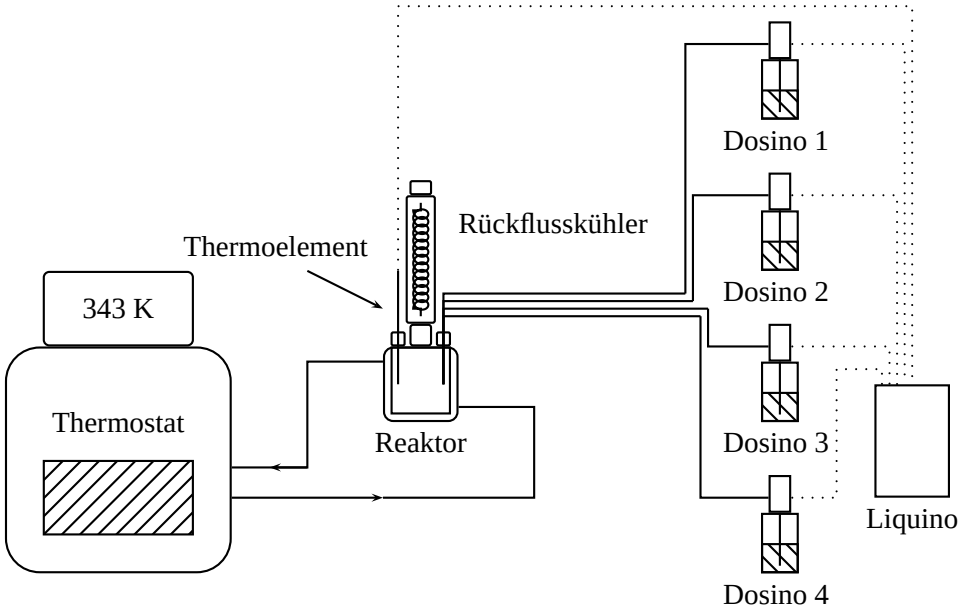


Abbildung 6.4: Schematischer Versuchsaufbau für die Chloromethylierung von PS-DVB-Copolymeren mit Hilfe des Metrohm Liquino 711 und vier Dosierautomaten Dosino 700.

drei Dosierautomaten durchführbar. In Abbildung 6.4 ist der in dieser Arbeit verwendete Aufbau schematisch dargestellt. Er ist dem von Nowak weitgehend identisch.

Für die Verwendung der Dosierautomaten am Liquino muss ein Steuerprogramm definiert werden. Das Steuerprogramm wird im Liquino in einzelne Unterprogramme unterteilt. Jedes der Unterprogramme ist eine Steuerabfolge für einen Dosino. Somit können die einzelnen Schritte der Synthese jeweils in ein Unterprogramm programmiert werden. Eine Anpassung der Syntheseparameter erfolgt dann im entsprechenden Unterprogramm. Im Steuerprogramm werden dann alle Unterprogramme zu einer Sequenz zusammengefügt. Um dies zu verdeutlichen, sind im folgenden die einzelnen Reaktionsschritte den einzelnen Unterprogrammen für eine Beispielsynthese zugeordnet.

1. Vorbereitung und Thermostatisierung des Reaktionsgefäßes

   Durchführung: Der Reaktor wird mit Intensivkühler, Thermoelement und Rührmagnet versehen. Der Thermostat senkt die Temperatur auf 268 K ab.

2. Vorlage des PS-DVB-Copolymers im Reaktionsgefäß.

   Durchführung: Einwaage von 7 g des Polymers P170402 SNa und Einfüllen in den Reaktor. Aufsetzen der Dosierzuführung.

3. Versetzen des PS-DVB-Polymers mit Dimethoxymethan

   Programm: Start Unterprogramm DOS DMM. Der Dosino 1 steuert automatisch die Zugabe an Dimethoxymethan im zuvor festgelegten Unterprogramm DOS-DMM.

4. Temperaturkontrollierte Zugabe von Sulfurylchlorid

   Programm: Start Unterprogramm DOS SC. Der Dosino 2 steuert automatisch die Zugabe an Sulfurylchlorid im zuvor festgelegten Unterprogramm DOS-SC. Die Zugabe stoppt, wenn die Temperatur 273 K überschreitet.

5. Temperaturkontrollierte Zugabe der Chlorsulfonsäure

   Programm: Start Unterprogramm DOS CSS. Warten für eine Stunde bei 268 K, um die Bildung des Chloromethylmethylether zu ermöglichen. Der Dosino 3 steuert automatisch die Zugabe an Chlorsulfonsäure im zuvor festgelegten Unterprogramm DOS-CSS. Die Zugabe stoppt, wenn die Temperatur 273 K überschreitet.

6. Erwärmen der Lösung auf 303 K und 24 h rühren

   Durchführung: Da der verwendete Thermostat nicht über die serielle Schnittstelle an den Liquino angeschlossen werden kann und die temperaturkontrollierte Zugabe der Reagenzien zuvor in einer unbestimmten Zeit erfolgt, muss nun der Thermostat von Hand auf 303 K eingestellt werden. Da nach den ersten Synthesen aus Erfahrung bekannt war, das die Zugabe der Reagenzien vier Stunden nicht überschreitet, kann auch ein Temperaturprogramm am Thermostaten geschrieben werden, welches vier Stunden nach Synthesebeginn die Temperatur auf 303 K erhöht.

7. Temperaturkontrollierte Zugabe von Wasser

   Programm: Start Unterprogramm DOS WATER. Warten für 24 Stunden bei 303 K. Anschließend steuert der Dosino 4 automatisch die Zugabe an Wasser im zuvor festgelegten Unterprogramm DOS-WATER. Die Zugabe stoppt, wenn die Temperatur 313 K überschreitet.

8. Aufarbeitung der Reaktionslösung

   Durchführung: Das Reaktionsgemisch wird wie im Anhang in Kapitel 8.1.1 auf Seite 197 geschildert aufgearbeitet.

Das in dieser Arbeit verwendete Steuerprogramm orientiert sich stark an den Vorgaben von Nowak [54]. An einigen Stellen sind Änderungen in den Reaktionszeiten, Dosiervolumen und -geschwindigkeiten und Temperaturvorgaben vorgenommen, um das Programm an die Synthesen anzupassen. Zudem wurden die Spülschritte und Entleerungsschritte der Dosinos aus der kompletten Programmsequenz entfernt und in eine eigene Spülsequenz nach der Synthese integriert. Dies hat den Vorteil, dass jeder Dosierautomat nur ein Steuerprogramm in der Sequenz enthält und nach erfolgter Zugabe zunächst nicht weiter angesteuert wird. Die Dosierautomaten werden trotz robuster und chemischer Stabilität stark beansprucht. Die Chemikalien werden erst direkt vor der Zugabe in den Dosierautomat gefördert. Nach der Zugabe durch die aggressiven Reagenzien kann es in seltenen Fällen zum Ausfall der Umschalt- und/oder Dosiermechanik kommen. Die von Nowak durchgeführten Spül- und Entleerungsschritte können dann nicht durchgeführt werden und die komplette Reaktionssequenz bricht ab. Falls solche Probleme in der Umschaltmechanik entstehen, können diese nach der Synthese meist einfach gelöst werden und das Spülprogramm dann entsprechend manuell durchgeführt werden. Ebenso wurde auf die Verwendung des Unterprogrammes COOLDOWN verzichtet, da die Zugabe des Sulfurylchlorides erst bei einer Temperatur von 273 K startete. Ein kommentiertes Beispiel für ein Steuerprogramm ist im Anhang 8.1.1 auf Seite 198 zu finden.

Tabelle 6.2: Synthesebedingungen und Reagenzmengen zur Herstellung von chloromethylierten Materialien. Variation der Synthese und Aufarbeitung. Die unterschiedlichen Aufarbeitungsmethoden sind im Anhang in Kapitel 8.1.1 auf Seite 197 erläutert.

ident$_{CM}$	O270204 AG CHM	O050304 AG CHM	O270404 AG CHM
PS-DVB-Copolymer	P170402 SNa	P170402 SNa	P170402 SNa
Einwaage / g	7	7	7
Dimethoxymethan / mL	100 (1,10 Mol)	100 (1,10 Mol)	150 (1,65 Mol)
Sulfurylchlorid / mL	81 (1,00 Mol)	81 (1,00 Mol)	40 (0,50 Mol)
Chlorsulfonsäure / mL	70 (1,05 Mol)	70 (1,05 Mol)	35 (0,50 Mol)
Wasser / mL	100	100	100
Reaktionszeit / h	24	24	24
Reaktionstemperatur / K	303	313	313
Aufarbeitungsmethode	A	B	C

6.2.2 Optimierung der Syntheseparameter

Für die Herstellung von oberflächenfunktionalisierten Materialien durch Chloromethylierung wurde zunächst eine Reihe von Ansätzen durchgeführt, um die Syntheseparameter und die Aufarbeitung zu optimieren. Ziel war es, möglichst hohe Anionenaustauschkapazitäten zu erreichen. Es sollte untersucht werden, ob bei höheren Temperaturen und geringeren Reagenzmengen ähnlich hohe Umsatzraten erreicht werden können. Zudem sind verschiedene Methoden der Aufarbeitung durchgeführt worden. In Tabelle 6.2 sind die Syntheseparameter der ersten drei Ansätze zusammengefasst. Im Gegensatz zu Nowak wird auf eine Auswertung der Gewichtszunahme zur Bestimmung des Reaktionsumsatzes verzichtet. Die Verfärbung des Polymers von weiß nach braun während der Zugabe der farblosen Chlorsulfonsäure deutet auf verschiedenste, wahrscheinlich schwefelhaltige Verunreinigungen, welche sich nicht mehr aus dem Polymernetzwerk herauswaschen lassen. Dadurch kann durch die Gewichtszunahme nicht mehr auf die Menge an Chlormethylgruppen zurückgeschlossen werden. Auch Angaben aus einer Elementaranalyse zur Bestimmung des Chlorgehaltes können nicht herangezogen werden, da die Verunreinigungen neben Schwefel auch einen unbekannten Anteil an Chlor aus der Chlorsulfonsäure oder dem Sulfurylchlorid enthalten könnten.

Eine einfache Bestimmung des Umsatzgrades der Chloromethylierung kann durch Aminierung des Materials und Bestimmung der Anionenaustauschkapazität des Materials erfolgen. Die Durchführung ist im Anhang in Kapitel 8.5.1 auf Seite 208 beschrieben. Für einen Vergleich von verschiedenen Ansätzen bietet dies zudem den Vorteil, das nach dieser Methode nur die für die Aminierung und den Ionenaustausch erreichbaren Chlormethylgruppen erfasst werden. Dazu wurden alle Materialien nach der allgemeinen Aminierungsvorschrift im Anhang in Kapitel 8.3 auf Seite 205 mit dem Amin EDMA und dem Diamin TMEDA funktionalisiert. In Tabelle 6.3 auf der nächsten Seite sind die erreichten Kapazitäten aufgeführt.

Allgemein ist zu beobachten, dass die Kapazitäten der mit EDMA funktionalisierten Säulen über denen der mit dem Diamin umgesetzten liegen. Dies kann mit einer höheren Reaktivität von EDMA gegenüber TMEDA begründet werden. Die zweite Stickstofffunktion schwächt den +I-Effekt des Alkylrestes auf die erste Stickstofffunktion. Der Versuch bestätigt auch die Vermutung, das ein Diamin aufgrund der Verteilung der Chloromethylgruppen auf der Oberfläche des Grundmaterials nicht in der Lage ist, mit beiden Aminfunktionen eine Reaktion einzugehen. In diesem Falle müssten die Kapazitäten deutlich höher liegen.

Tabelle 6.3: Austauschkapazitäten nach der Chloromethylierung und Aminierung. Abmessungen der Säulen: 100 x 4 mm I.D.

ident$_S$	Amin	ident$_{CH}$	Reaktions-temperatur / K	Aufarbeitung	Kapazität / μmol
C020304 AG EDMA	EDMA	O270204 AG CHM	303	A	410
C220304 AG EDMA	EDMA	O050304 AG CHM	313	B	710
C120304 AG TMEDA	TMEDA	O270204 AG CHM	303	A	320
C300304 AG TMEDA	TMEDA	O050304 AG CHM	313	B	600
C110504 AG TMEDA	TMEDA	O270404 AG CHM	303	C	680

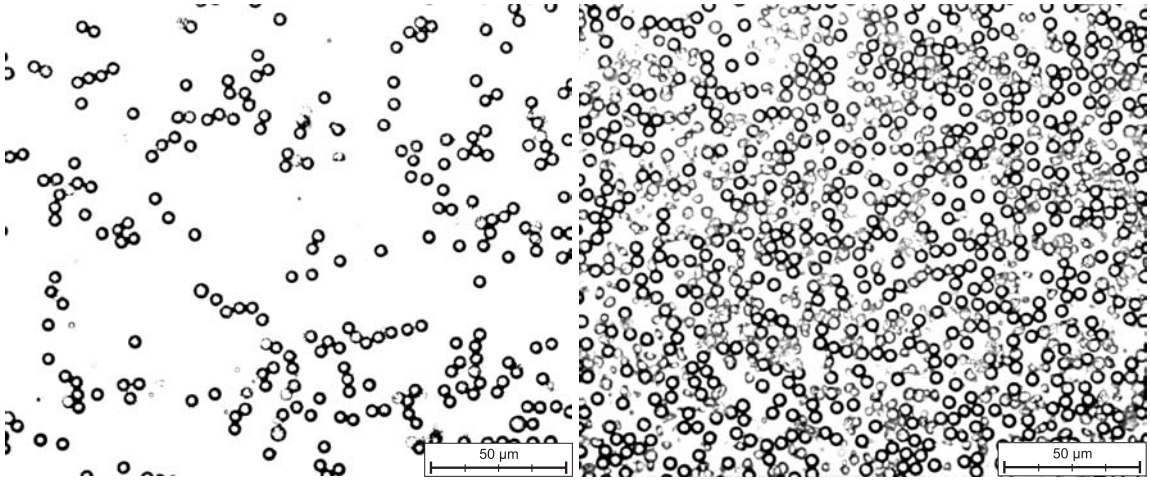


Abbildung 6.5: Lichtmikroskopieaufnahmen des Grundmaterials P170402 SNa vor (links) und des Materials 270404 AG CHM nach (rechts) der Chloromethylierung. 500-fache Vergrößerung.

Ebenso kann beobachtet werden, das eine Erhöhung der Reaktionstemperatur von 303 K auf 313 K zu höheren Kapazitäten führt. Wie durch den letzten Ansatz gezeigt werden konnte, wird durch eine Halbierung der Reagenzmengen, welche von Nowak übernommen wurden, keine Verminderung der Kapazität festgestellt. Dies führt zu einem verminderten Verbrauch und weniger Abfall von hochreaktiven Reagenzien. Ebenso haben die optimierten Vorschriften der Aufarbeitung vor allem die Isolierung und Handhabung verbessert.

6.2.3 Aufarbeitung von chloromethylierten Materialien

Die im vorherigen Kapitel gefertigten Säulen zeigten im Betrieb alle einen sehr hohen Staudruck von weit über 10 MPa bei einer Flussrate von 1 mL min^{-1}. Einige Trennsäulen, wie die C110504 AG TMEDA, konnten nicht mit Flussraten über 0,3 mL min^{-1} betrieben werden, ohne einen Staudruck von über 15 MPa aufzubauen. Für Packungsmaterialien in dieser Größenordnung wären Staudrücke von 5–7 MPa zu erwarten.

Hohe Staudrücke lassen auf eine erhöhte Größenverteilung der Teilchen schließen. Um dies zu überprüfen, wurden zunächst Lichtmikroskopieaufnahmen der Polymere erstellt. In Abbildung 6.5 werden Lichtmikroskopieaufnahmen von chloromethylierten Materialien mit dem Grundmaterial vor der Synthese verglichen. Vor der Synthese (linke Aufnahme) sind gleichmäßige, runde Partikel zu erkennen. Demgegenüber zeigt die rechte Aufnahme einen großen Anteil an kleinen Fragmenten. Diese Fragmente stammen von zerstörten Polymerteilchen.

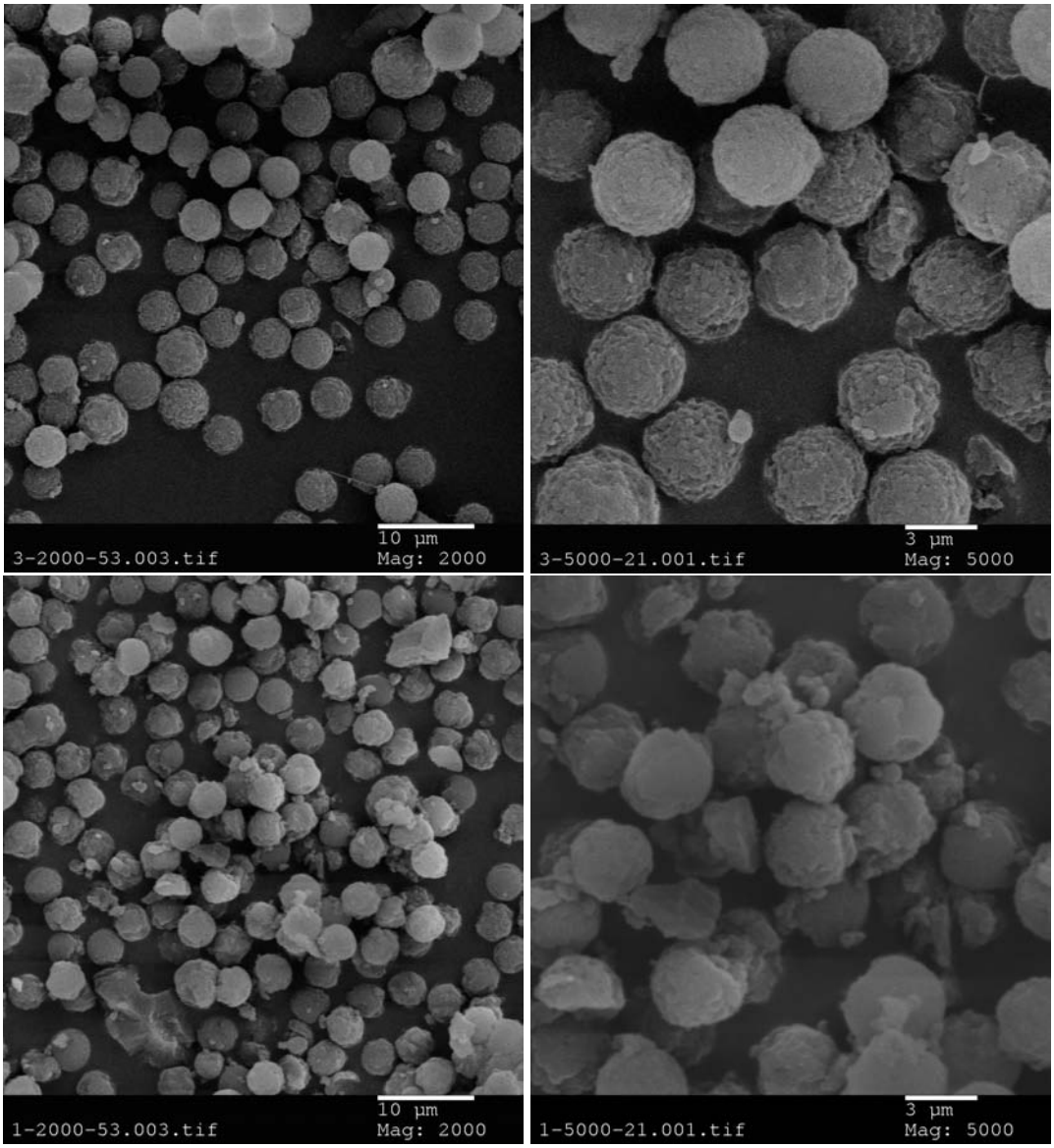


Abbildung 6.6: Oben: REM-Aufnahmen von Grundmaterialien vor der Chloromethylierung. Unten: REM-Aufnahmen von Grundmaterialien nach der Chloromethylierung.

Die Chloromethylierung bedient sich äußerst aggressiver Chemikalien. Selbst unter den moderaten Synthesebedingungen kann ein Angriff auf die Grundstruktur der Polymerpartikel nicht verhindert werden. Analog sind in Abbildung 6.6 REM-Aufnahmen von chloromethylierten Materialien nach der Synthese dem Grundmaterial gegenübergestellt. In diesen Bildern sind die Auswirkungen der Chloromethylierung noch stärker zu erkennen. Ein Teil der Polymerteilchen ist gespalten oder zerrissen. Die Oberfläche ist uneben, der Rand der Teilchen ist nicht rund. Dies führt zu schlechten Packungen und hohen Staudrücken.

Ein Weg, um den Anteil an zerstörten Partikeln und Bruchstücken zu entfernen, ist die Sedimentation der Materialien. Dazu werden die Polymerteilchen in einer Sedimentationslösung suspendiert. Die Sedimentationslösung ist eine Lösung aus Ethanol mit 25% Cyclohexanol. Als Gefäße dienen große Sedimentationsrohre, in denen einen lange Sedimentationsstrecke zur Verfügung steht. Die Durchführung und die Verwendeten Se-

Tabelle 6.4: Synthesebedingungen und Reagenzmengen zur Herstellung von chloromethylierten Materialien. Synthese und Aufarbeitung aller durchgeführten Umsetzungen. Die unterschiedlichen Aufarbeitungsmethoden sind im Anhang in Kapitel 8.1.1 auf Seite 197 erläutert.

ident$_{CM}$	O270704 AG CHM	O151004 AG CHM	O291104 AG CHM
PS-DVB-Copolymer	P170402 SNa	P170402 SNa	P170402 SNa
Einwaage / g	7	10	7
Dimethoxymethan / mL	150 (1,65 Mol)	150 (1,65 Mol)	150 (1,65 Mol)
Sulfurylchlorid / mL	81 (1,00 Mol)	81 (1,00 Mol)	81 (1,00 Mol)
Chlorsulfonsäure / mL	70 (1,05 Mol)	70 (1,05 Mol)	70 (0,50 Mol)
Wasser / mL	150	150	150
Reaktionszeit / h	24	24	24
Reaktionstemperatur / K	303	313	313
Aufarbeitungsmethode	C	C	C

ident$_{CM}$	O260504 AG CHM	O170604 AG CHM	O240604 AG CHM	O010704 AG CHM
PS-DVB-Copolymer	P040302 Bpc	P040302 Bpc	P040302 Bpc	P040302 Bpc
Einwaage / g	7	7	7	7
Dimethoxymethan / mL	150 (1,65 Mol)	150 (1,65 Mol)	150 (1,65 Mol)	150 (1,65 Mol)
Sulfurylchlorid / mL	81 (1,00 Mol)	81 (1,00 Mol)	40 (0,50 Mol)	40 (0,50 Mol)
Chlorsulfonsäure / mL	70 (0,50 Mol)	70 (0,50 Mol)	35 (0,25 Mol)	35 (0,25 Mol)
Wasser / mL	100	100	100	100
Reaktionszeit / h	24	24	24	24
Reaktionstemperatur / K	313	313	313	313
Aufarbeitungsmethode	B	B	B	C

dimentationslösungen sind im Anhang in Kapitel 8.4.1 auf Seite 206 aufgeführt. Die Sedimentation erfolgt demnach am besten nach dem letzten Funktionalisierungsschritt.

Für diese und alle folgenden Untersuchungen wurden neben dem Polymer P170402 SNa auch das Polymer P040302 Bpc in mehreren Synthesen chloromethyliert. Die Synthesebedingungen für alle Synthesen mit beiden Grundmaterialien sind in Tabelle 6.4 zusammengefasst. Die Reaktionstemperatur betrug für alle Synthesen 313 K und alle Produkte wurden entweder nach der Aufarbeitungsmethode B oder C aufgearbeitet. Alle Trägermaterialien wurden vor der Umsetzung nach der im Anhang in Kapitel 8.4.2 auf Seite 207 geschilderten Methode gesiebt. Die Fraktion, welche das kleinste Sieb mit 20 μm Maschenweite durchdrang wurde verwendet.

Vergleicht man die Lichtmikroskopie- und REM-Aufnahmen in den Abbildungen 6.7 und 6.8 auf der nächsten Seite mit den zuvor ohne Sieben und Sedimentation gewonnenen Materialien, so ist eine deutliche Abnahme der Anzahl an Bruchstücken erkennbar. Gleichzeitig beträgt der Gewichtsverlust an Material durch Sedimentation ca. 10%. Die Effektivität der Sedimentation wird bestätigt, wenn die Staudrücke von Trennsäulen vor und nach der Sedimentation verglichen werden. In Tabelle 6.5 auf Seite 110 sind der Staudruck und die Trennleistung von verschiedenen untersuchten Trennsäulen einer Chloromethylierung aufgelistet. Eine Sedimentierung vor der Chloromethylierung hatte kaum Effekt auf den Staudruck oder die Trennleistung der fertigen Anionenaustauscher. Die Materialien, die nach der Chloromethylierung und vor der Funktionalisierung mit dem Amin TMEDA sedimentiert wurden, zeigten einen deutlich geringeren Staudruck. Einige Materialien mussten mehrfach sedimentiert werden, um zu niedrigen Staudrücken zu gelangen. Die besten Ergebnisse wurden erzielt, wenn die Sedimentation nach dem letzten Funktionalisierungsschritt erfolgte. Dies ist vor allem auch an der

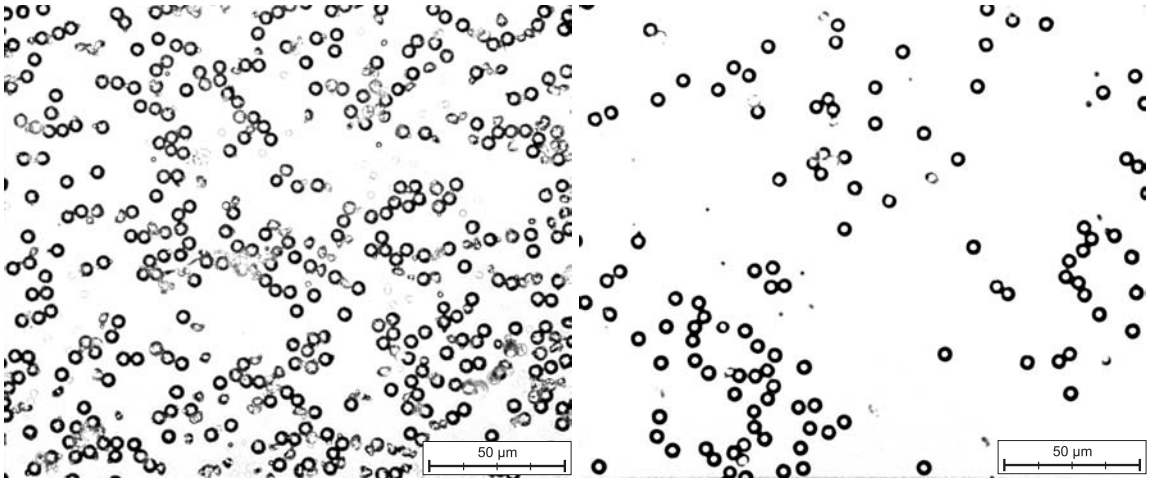


Abbildung 6.7: Lichtmikroskopieaufnahmen des Materials O170604 AG CHM vor (links) und nach (rechts) Chloromethylierung, und Sieben und Sedimentieren.

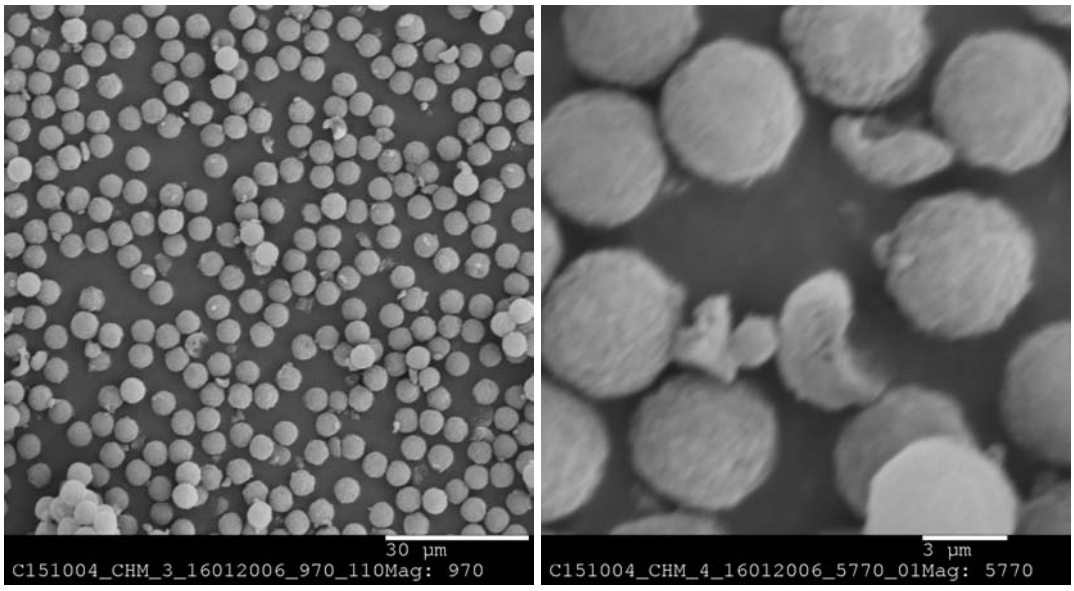


Abbildung 6.8: REM-Aufnahmen von Grundmaterialien nach Chloromethylierung, Sieben und Sedimentieren. Der Anteil an kleine Fragmenten ist deutlich weniger. Dennoch sind vereinzelt immer noch zerstörte Polymerteilchen der Chloromethylierung zu finden.

Tabelle 6.5: Austauschkapazität, Staudruck und Trennleistung für Xylose vor und nach der Sedimentierung für unterschiedliche Chloromethylierungssynthesen. Amin: TMEDA, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Abmessungen der Säulen: 100 x 4 mm I.D.

ident$_S$	Sedimentation	ident$_{CH}$	Staudruck / MPa	Trennleistung Xylose / TP m^{-1}	Kapazität / μmol
C250604 AG TMEDA	keine	O170604 AG CHM	18,4	n.b.	600
C280704 AG TMEDA	nach Chlorometh.	O170604 AG CHM	12,7	6600	318
C250604 AG TMEDA	nach Aminierung	O170604 AG CHM	4,6	36400	388
C230604 AG TMEDA	keine	O260504 AG CHM	17,3	n.b.	687
C050804 AG TMEDA	nach Chlorometh.	O260504 AG CHM	7,7	21200	339
C230604 AG TMEDA	nach Aminierung	O260504 AG CHM	5,5	32000	380
C080704 AG TMEDA	nach Chlorometh.	O240604 AG CHM	19,3	n.b.	615
C080704 AG TMEDA	zweite Sediment.	O240604 AG CHM	12,8	22580	458
C060904 AG TMEDA	nach Aminierung	O240604 AG CHM	7,8	21800	194

großen Steigerung an Trennleistung zu erkennen. In Abbildung 6.9 auf der nächsten Seite sind die überlagerten Trennungen von drei Kohlenhydratmischungen gezeigt. Vor der Sedimentierung kann aufgrund der breiten Signale nicht von einer Trennung der Analyten gesprochen werden. Nach der Sedimentierung werden für die Kohlenhydratmischungen sehr gute Trennungen erreicht. Eine genauere Beurteilung der chromatographischen Eigenschaften folgt in Kapitel 6.2.4.

Wie man den Daten entnehmen kann, sinkt die spezifische Anionenaustauschkapazität nach der Sedimentation. Dies ist auch zu erwarten, da kleinere Teilchen eine größere Oberfläche haben und damit eine größere Anzahl an funktionellen Gruppen tragen. Durch die Sedimentation wird der Anteil an an Bruchstücken verringert, die sich durch die Chloromethylierung gebildet haben. Weiterhin entstehen die Bruchstücke an Stellen, an denen die Reaktion sehr reaktiv verläuft. Dort entstehen hohe Funktionalisierungsgrade, aber es findet ebenso eine Zerstörung des Materials statt. Mit der Sedimentation geht auch ein Teil der hochfunktionalisierten Bruchstücke verloren, was zu einer niedrigeren Anionenaustauschkapazität führt. Betrachtet man die erhaltenen Trennungen von Kohlenhydraten in Abbildung 6.9 auf der nächsten Seite, so führt dies zu geringfügig kürzeren Retentionszeiten. Durch die inhomogene Packung der Teilchen vor dem Sedimentieren kommt es zu diffusen Wegen der Analyten durch die Trennsäule. Dies trägt hauptsächlich zur Verschlechterung der Trennleistung bei.

In Abbildung 6.10 auf der nächsten Seite sind als Vergleich die Kapazitäten der synthetisierten chloromethylierten Materialien nach Aminierung mit TMEDA und Sedimentierung aufgeführt. Die resultierenden Kapazitäten der mit TMEDA funktionalisierten Anionenaustauscher liegen um 400 μmol pro Säule. Damit liegen sie in dem erforderlichen hohen Bereich für die Trennung von Kohlenhydraten. Die Schwankung der Kapazitäten ist zum einen synthesebedingt, vor allem aber auch durch die schwer reproduzierbare Sedimentierung verursacht.

6.2.4 Chromatographische Eigenschaften

Die chromatographischen Eigenschaften von chloromethylierten Materialien hängen stark von der Optimierung der Synthese ab. Da die Reaktion sehr aggressiv ist, sind lange Aufarbeitungsprozeduren notwendig, um Anionenaustauscher mit hoher Trennleistung zu erhalten. Dafür besitzen alle hergestellten Austauscher eine hohe Kapazität und sind damit zur Trennung von Kohlenhydraten geeignet. Dagegen scheitert die Trennung

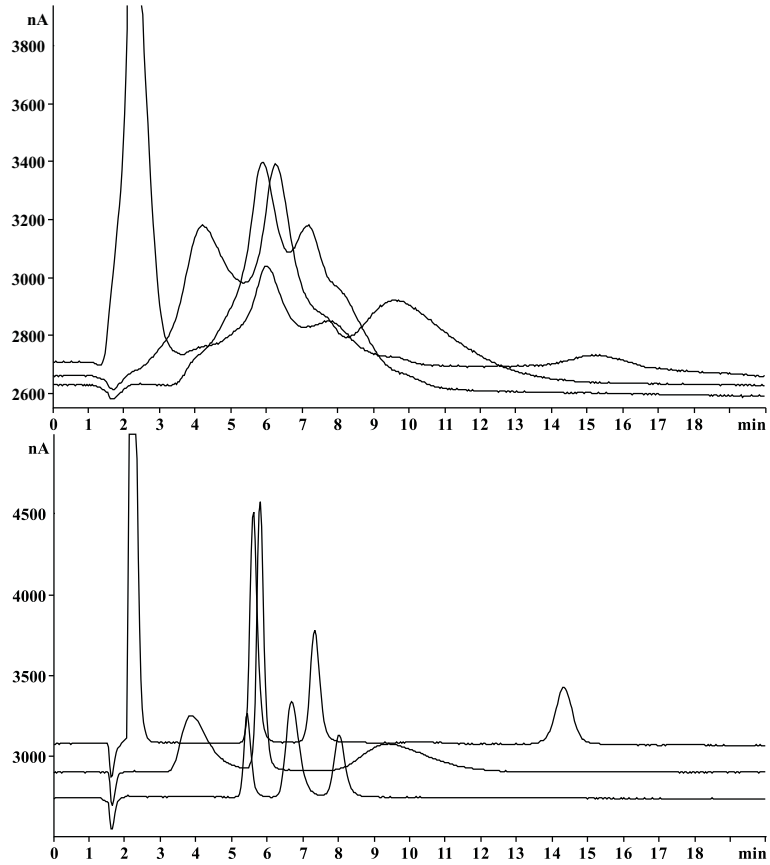


Abbildung 6.9: Einfluss der Sedimentation auf die Trennleistung von chloromethylierten Materialien. Oben: Überlagerte Trennung von drei Kohlenhydratmischungen ohne Sedimentierung. Unten: Überlagerte Trennung von drei Kohlenhydratmischungen nach der Sedimentierung. Die Sedimentierung erfolgte nach der Funktionalisierung mit TMEDA. Säule: C250604 AG TMEDA, Kapazität: 388 μmol, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

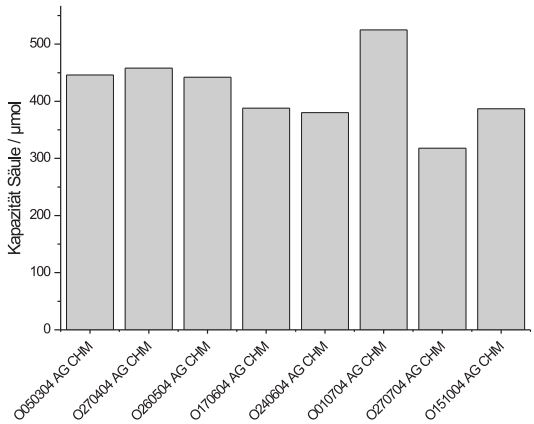


Abbildung 6.10: Vergleich der resultierenden Anionenaustauschkapazitäten von unterschiedlichen chloromethylierten Materialien nach Aminierung mit TMEDA und Sedimentierung. Säulendimension: 100 x 4 mm I.D.

von anorganischen Ionen in einem vernünftigen Zeitrahmen von 30 min. Diese können in der suppressierten Anionenchromatographie am besten mit Ionenaustauschern getrennt werden, welche eine Kapazität von unter 100 μmol besitzen.

Ein großer Nachteil der chloromethylierten Materialien ist die lange Konditionierungszeit der Trennsäulen nach dem Packen. Die amperometrische Detektion führt erst nach über 20 Stunden Laufzeit mit dem Eluenten zu einer stabilen Basislinie am Detektor. Zudem bilden sich bei zu frühem Einschalten der Messzelle schnell schwarze Ablagerungen auf der Goldelektrode. Dies alles deutet darauf hin, dass auch nach Aufarbeitung, Aminierung und Sedimentierung immer noch Reagenzien von der Synthese aus dem Polymermaterial ausgeschwemmt und eluiert werden. Redoxaktive Schwefel- oder Chlorspezies aus der eingesetzten Chlorsulfonsäure oder dem Sulfurylchlorid können zu einem Vergiften der Goldelektorde führen. Dies macht sich vor allem in einem erhöhten Grundstrom und einer stark rauschenden Basislinie bemerkbar. Um dies zu vermeiden wurden alle gefertigten Anionenaustauscher für 24 Stunden mit Natronlauge einer Konzentration von 100 mmol L^{-1} bei 0,5 mL min^{-1} Flussrate gespült. Dennoch bleibt bei den Austauschern ein deutlich zu hoher Grundstrom von meist über 2000 nA erhalten.

Um die Leistungsfähigkeit der chloromethylierten Materialien zu testen, wurde ein mit TMEDA und ein mit EDMA umgesetztes Material hergestellt. Die Säulendimensionen der EDMA-Säule wurde zu Vergleichszwecken mit anderen Oberflächenmodifizerungsverfahren auf 250 mm Länge erhöht. Die Säulenparameter und chromatographischen Kenndaten finden sich in Tabelle 6.6 und Tabelle 6.7 auf Seite 114. Die EDMA-Trennsäule erreicht mit ihrer Länge von 250 mm eine Kapazität von fast 1000 μmol und ist eine der höchstkapazitiven Anionenaustauscher, welcher in dieser Dissertation hergestellt wurde. Die Bruttoretentionszeit von Maltose liegt bei über 50 Minuten. Die Trennleistung dieser Säule ist jedoch deutlich schlechter. Sie beträgt in etwa die Hälfte der kürzer dimensionierten 100 mm Säulen. Auch ein erneutes Sedimentieren und Packen der Säule führte zu keiner besseren Trennleistung. Auch die Asymmetrie, die sich bei dieser Säule in einem Fronting zeigt, deutet auf eine schlechte Packung in der Säule, konnte jedoch, auch durch Erhöhung des Packdruckes auf 45 MPa, nicht verbessert werden.

In Abbildung 6.11 auf der nächsten Seite sind die Trennungen von Kohlenhydratmischungen für die untersuchten Trennsäulen gezeigt. Verglichen werden die Trennungen auf einem mit dem Diamin TMEDA funktionalisiertem Austauscher und einem mit EDMA umgesetztem Material. Unter diesen Bedingungen ist die Basislinien getrennte Messung der Kohlenhydratmischungen möglich. Die drei Mischungen wurden so zusammengestellt, um eine Coelution der drei Saccharide Glucose, Galactose und Xylose, bzw. der Fructose und Lactose zu verhindern. Eine Trennung aller Analyten in einem Lauf ist jedoch mit keinem der beiden Materialien möglich. Die beiden Epimere Glucose und Galactose und auch die Xylose eluieren nahezu gleichzeitig. Nur auf dem mit EDMA funktionalisiertem Austauscher ist, wie auch in Abbildung 6.15 auf Seite 118 gezeigt, eine Trennung der Epimere von Glucose und Galactose annähernd gegeben, jedoch eine gleichzeitige Bestimmung der Xylose unmöglich. Das Herabsetzen der Eluentkonzentration führt wie in Kapitel 5.1.1 auf Seite 79 gezeigt zu weiteren Selektivitätsänderungen, vor allem für die Saccharose, welche deutlich früher eluiert. Sorbitol und Ribose zeigen auf diesen Materialien ein deutliches Tailing und damit eine sehr niedrige Trennleistung. Unter diesen Bedingungen eluieren Fructose und Saccharose zur gleichen Zeit.

Vor allem durch Anpassung der chromatographischen Parameter kann die Trennleistung nochmals verbessert werden. Bei einer Flussrate von 0,5 mL min^{-1} und einer Eluentkonzentration von 50 mmol L^{-1} Natriumhydroxid betragen die Trennleistungen für die meisten Analyten über 30000 TP m^{-1}. Diese sind für oberflächenfunktionalisierte Ionenaustauscher für die Trennung von Kohlenhydraten sehr hoch.

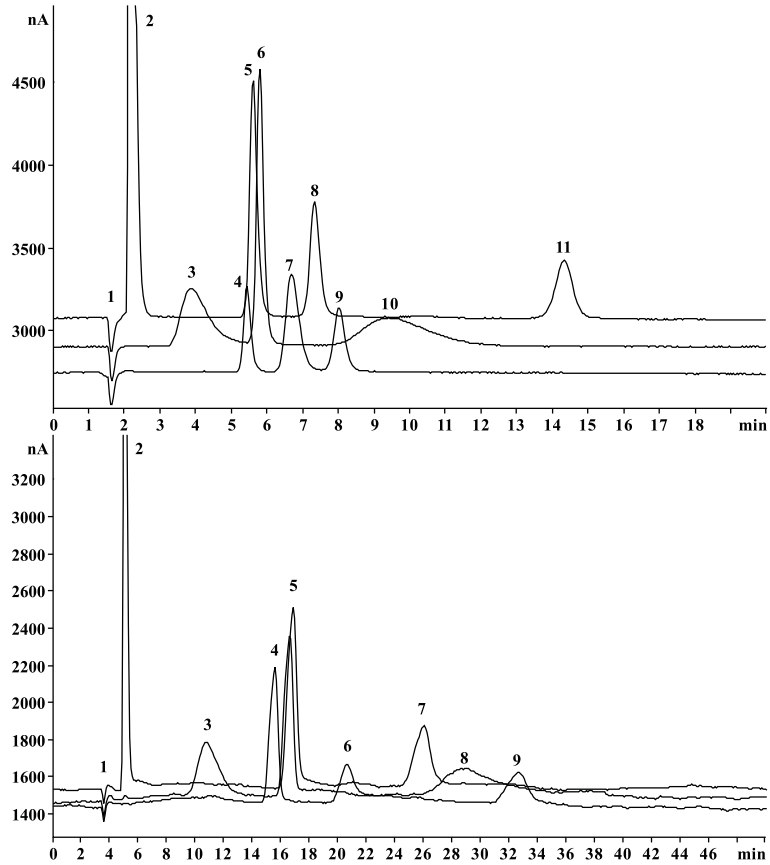


Abbildung 6.11: Trennung von Kohlenhydraten auf einem chloromethylierten und mit TMEDA bzw. EMDA funktionalisiertem Anionenaustauscher. Nach der Aminierung sedimentiert. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: Säule: C250604 AG TMEDA, 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, 6 - Xylose, 7 - Fructose, 8 - Lactose, 9 - Saccharose. 10 - Ribose, 11 - Maltose. Unten: Säule: C240804 AG EDMA, 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, Xylose, 6 - Fructose, 7 - Lactose, 8 - Ribose, 9 - Saccharose.

Tabelle 6.6: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen auf chloromethylierten Materialien nach Funktionalisierung mit dem Amin TMEDA und dem Diamin EDMA.

ident$_S$	C250604 AG TMEDA	C240804 AG EDMA
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}
Staudruck	4,5 MPa	8,4 MPa
Kapazität	388 μmol	984 μmol
ident$_{CH}$	O170604 AG CHM	O270404 AG CHM
Amin	TMEDA	EDMA

Tabelle 6.7: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten auf einem chloromethyliertem und mit TMEDA und EDMA funktionalisiertem Anionenaustauscher. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

C250604 AG TMEDA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,43	1,33	2,31	2,44	2,52	3,07	3,48	4,72	3,89	7,78
Trennleistung TP m^{-1}	3200	1100	25600	29700	33700	13600	23000	1200	24000	40400
Asymmetriefaktor A_s	0,64	2,46	1,48	1,37	1,30	1,60	1,29	1,76	1,24	0,99
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,19	0,58	1,00	1,06	1,09	1,33	1,51	2,04	1,68	3,37

C240804 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,44	2,04	3,31	3,75	3,7	4,7	6,4	7,16	8,02	12,47
Trennleistung TP m^{-1}	6200	1000	12000	10700	13500	8300	10200	1100	9100	9300
Asymmetriefaktor A_s	1,83	1,62	0,73	0,97	0,74	0,89	0,82	2,12	0,92	0,84
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,13	0,62	1,00	1,13	1,12	1,42	1,93	2,16	2,42	3,77

Langzeitstabilität

Für die Einsetzbarkeit von chloromethylierten Materialien in der Ionenchromatographie ist ebenfalls die Langzeitstabilität der Anionenaustauscher von Bedeutung. Gerade der Einsatz von stark alkalischen Eluenten und der leicht erhöhten Temperatur während der Trennung können zum Abbau der funktionellen Gruppen durch Hofmann-Eliminierung führen. Zudem kann durch das langfristige Ausschwemmen von Syntheserückständen die Packung der Polymerteilchen zunehmend schlechter werden. Um dies zu untersuchen, wurde die mit TMEDA funktionalisierte Säule über 30 Stunden ein Mischstandard wiederholt injiziert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.12 auf der nächsten Seite abgebildet. Wie zu erkennen ist, nimmt der Retentionsfaktor über die Zeit nur wenig ab. Die Asymmetrien werden über die gesamte Messzeit jedoch etwas schlechter. Auch die Trennleistung nimmt entsprechend ab. Nach der langen Konditionierungszeit haben sich die chloromethylierten Materialien allerdings als sehr stabil erwiesen.

6.2.5 Vergleich unterschiedlicher Austauschergruppen

Die hergestellten chloromethylierten Materialien sollen als Grundlage für verschiedene Experimente mit unterschiedlichen Austauschergruppen dienen. Zum Vergleich wird das monofunktionelle Amin Ethyldimethylamin (EDMA) eingesetzt. Tetramethylethylendiamin (TMEDA) und Tetramethylpropylendiamin (TMPDA) stehen als Vertreter der Diamine mit einer Ethyl- bzw. Propyleinheit als Abstandsgruppe. Pentamethyldiethylentriamin (PMDTA) wird als Triamin verwendet. In Tabelle 6.8 auf der nächsten Seite sind die Kenndaten der verwendeten Säulen aufgeführt.

Betrachtet man die resultierenden Anionenaustauschkapazitäten der gefertigten Austauscher, so besitzt die mit EDMA funktionalisierte Trennsäule die höchste Austauschkapazität. Von den untersuchten Aminen ist EDMA das strukturell kleinste und reaktivste. Die Reaktivität der Diamine wird mit länger werdenden Alkylspacern geringer. Dies führt zu einer sehr niedrigeren Kapazität der gefertigten TMPDA-Trennsäulen. Ein Einfluss des chloromethylierten Grundmaterials sollte trotz Einsatz von Materialien aus unterschiedlichen Synthesen minimal sein, da, wie in Abbildung 6.10 auf Seite 111 gezeigt, die verwendeten Materialien alle im Falle einer Funktionalisierung mit TMEDA eine in etwa gleiche Kapazität besitzen.

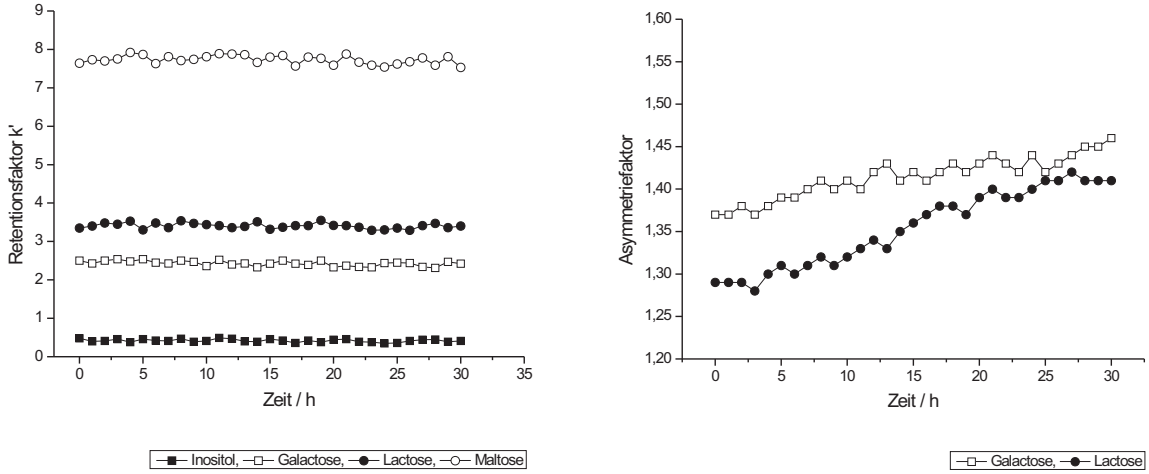


Abbildung 6.12: Untersuchung der Langzeitstabilität eines chloromethylierten Materials. Säule: C250604 AG TMEDA.

Tabelle 6.8: Technische Daten der verwendeten Trennsäulen zum Vergleich von unterschiedlichen Aminen auf chloromethylierten Materialien.

ident$_S$	C070904 AG EDMA	C250604 AG TMEDA	C100804 AG TMPDA	C220205 AG PMDTA
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}
Staudruck	3,8 MPa	4,4 MPa	4,5 MPa	3,8 MPa
Kapazität	532 μmol	388 μmol	189 μmol	334 μmol
ident$_{CH}$	O270404 AG CHM	O170604 AG CHM	O010704 AG CHM	O291104 AG CHM
Amin	EDMA	TMEDA	TMPDA	PMDTA

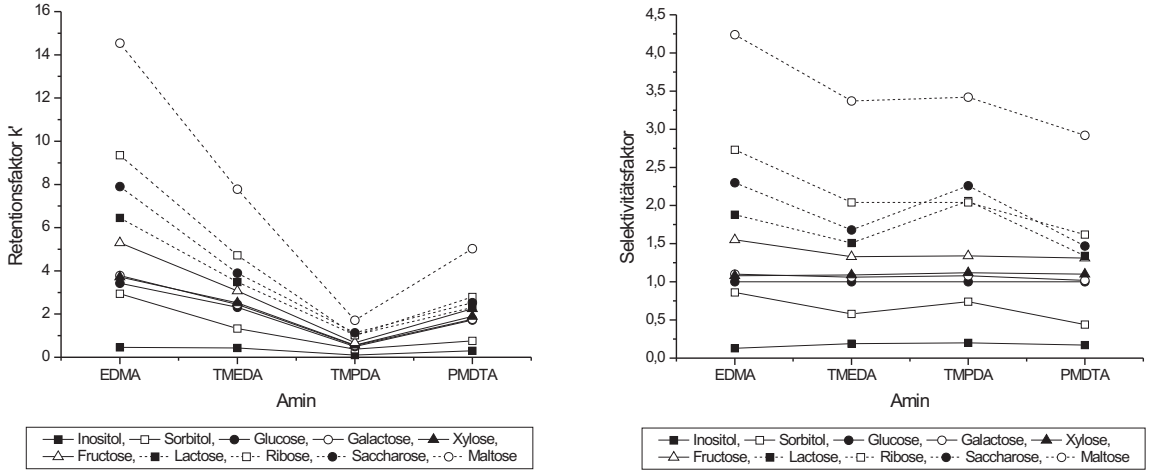


Abbildung 6.13: Retentionsfaktoren und Selektivitätsfaktoren, bezogen auf Glucose, von verschiedenen unpolaren funktionellen Gruppen auf chlormethylierten Anionenaustauschern. Links: Retentionsfaktoren. Rechts: Selektivitätsfaktoren.

Die unterschiedlichen Reaktivitäten und die daraus resultierenden Kapazitäten der Austauschermaterialien wirken sich auch auf die Retentionsfaktoren und die Trennleistung der erhaltenen Anionenaustauscher aus. In Abbildung 6.13 sind die Retentionsfaktoren und Selektivitätsfaktoren bezogen auf Glucose für die untersuchten Kohlenhydrate aufgeführt. Die Retentionszeit der Kohlenhydrate ist direkt von der Kapazität der Anionenaustauscher abhängig. Ein Einfluss des zweiten, tertiären Amins ist nicht zu erkennen. Die Kohlenhydrate erfahren auf dem mit TMPDA funktionalisiertem Austauscher kaum Retention. Eine Trennung der drei Kohlenhydrate Inositol, Galactose und Lactose ist noch möglich. Eine Trennung innerhalb der Gruppen Zuckeralkohole, Monosaccharide und Disaccharide ist dagegen nicht mehr zu erreichen. Im Vergleich zu den anderen Austauschern, wie in Abbildung 6.14 auf der nächsten Seite und Abbildung 6.17 auf Seite 120 dargestellt, ist das Retentionszeitfenster auf dem mit TMPDA funktionalisiertem Austauscher aufgrund der niedrigen Kapazität zu klein. Die Trennung von Kohlenhydraten auf dem mit EDMA funktionalisiertem Austauscher liefert aufgrund der hohen Kapazität die beste Auflösung der Signale und besitzt eine hohe Peakkapazität.

Für die Selektivitätsfaktoren, bezogen auf Glucose, zeigen sich für alle untersuchten Austauscher kaum Änderungen. Ein Einfluss der zweiten, nicht quarternisierten Stickstofffunktion kann nicht festgestellt werden. Die Schwankungen auf dem mit TMPDA funktionalisiertem Austauscher, vor allem des Signals der Ribose, ist Aufgrund der kurzen Retentionszeiten und breiten Signale nicht aussagekräftig. Jedoch ist eine leichte Änderung der Selektivität auf dem mit EDMA funktionalisierten Austauscher erkennbar. Die drei Kohlenhydrate Glucose, Galactose und Xylose eluieren auf der MetroSep Carb 1, auf dem mit TMEDA und dem mit PMDTA funktionalisiertem Austauscher, in der Reihenfolge:

$$Glucose < Galactose < Xylose$$

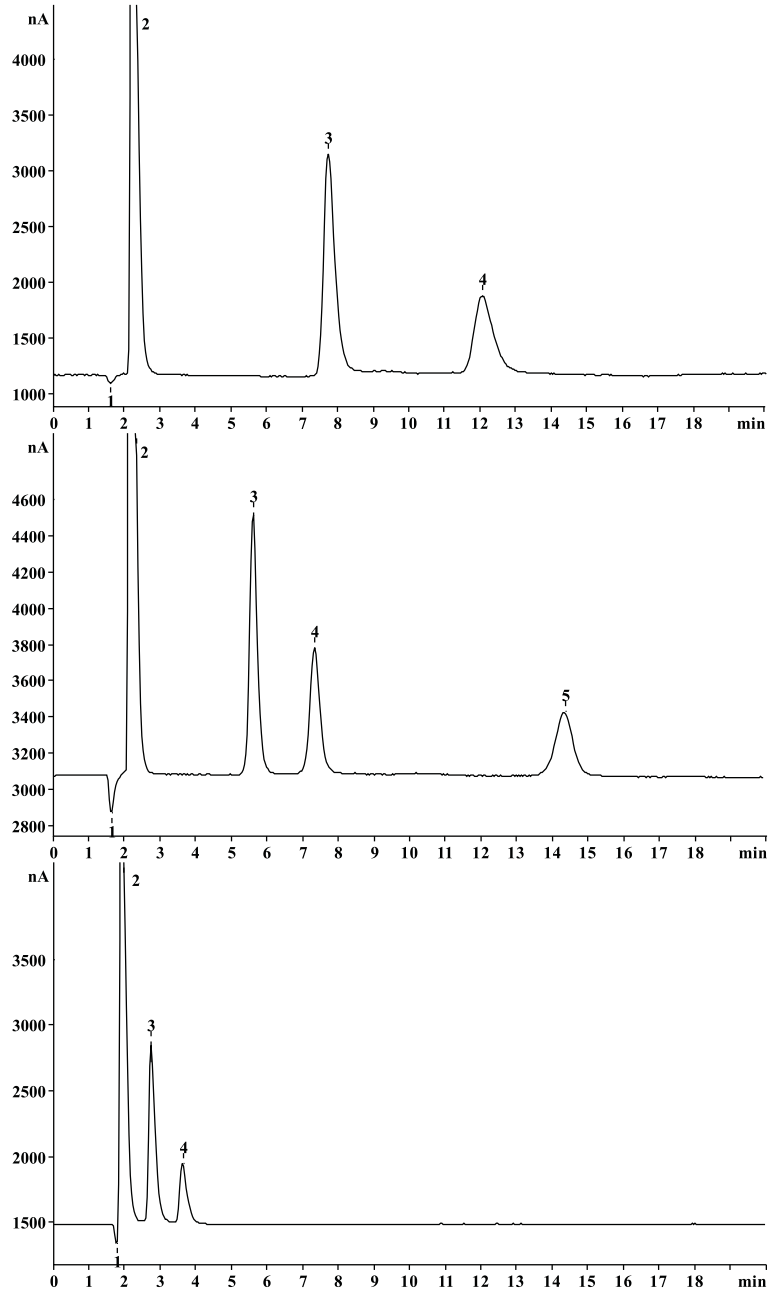


Abbildung 6.14: Einfluss des Amins auf die Trennung von Kohlenhydratmischungen auf chloromethylierten Anionenaustauschern. Oben: Ethyldimethylamin (EDMA). Mitte: Tetramethylethylendiamin (TMEDA). Unten: Tetramethylpropylendiamin (TMPDA). Säule: Oben: C070904 AG EDMA, Mitte: C250604 AG TMEDA, Unten: C100804 AG TMPDA, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Galactose, 4 - Lactose, 5 - Maltose.

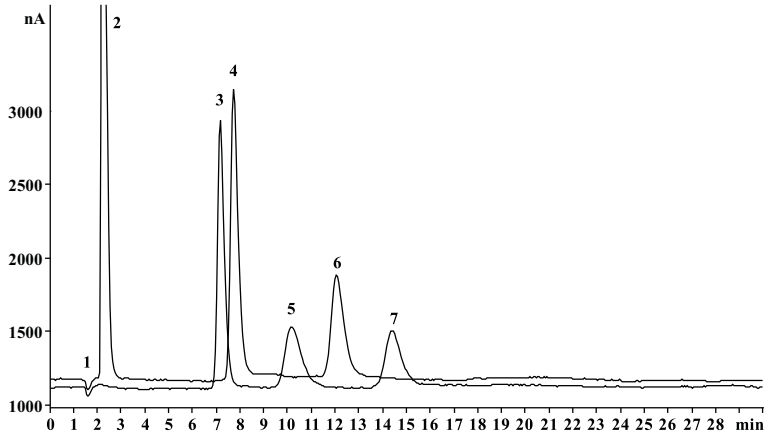


Abbildung 6.15: Trennungen von mehreren Kohlenhydraten auf einem mit EDMA funktionalisiertem chloromethyliertem Material. Säule: C070904 AG EMDA, Kapazität: 532 μmol, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Glucose, 4 - Galactose, 5 - Fructose, 6 - Lactose, 7 - Saccharose.

Die Signale sind nicht Basislinien getrennt und eluieren in kurzer Folge. Die Retentionsreihenfolge auf dem mit EDMA umgesetzten Austauscher zeigt eine Coelution von Galactose und Xylose.

$$Glucose < Galactose, Xylose$$

Dadurch wird, wie in Abbildung 6.15 dargestellt, die Trennung der Epimere Glucose und Galactose stark verbessert und die Bestimmung der beiden Saccharide ist unter den gewählten Bedingungen fast Basislinien getrennt möglich. Dieser Effekt in der Selektivität ist jedoch sehr klein und im weiteren auch stark von Messbedingungen wie Temperatur und Eluentkonzentration abhängig.

Die Trennleistung der verschiedenen Säulen ist für alle Amine bis auf das TMPDA sehr hoch. Abbildung 6.16 auf der nächsten Seite vergleicht die Trennleistung und die Asymmetriefaktoren für alle vier Anionenaustauscher. Mit durchschnittlich 20000 TP m^{-1} liegen die Trennleistungen im selben Bereich wie die der kommerziell erhältlichen Säule MetroSep Carb 1. Die höchsten Trennleistungen werden auf dem mit EDMA umgesetzten chloromethyliertem Material erhalten. Für die drei Saccharide Glucose, Galactose und Xylose liegen sie um 30000 TP m^{-1}. Die niedrigen Trennleistungen für Sorbitol und Ribose sind aufgrund der hohen Asymmetrie der Signale mit Werten zwischen zwei und drei sehr schlecht. Die Asymmetrien aller weiteren untersuchten Kohlenhydrate ist mit Werten zwischen 1,0–1,5 als gut zu bezeichnen.

Aufbau von mono- und dikationischen Austauschergruppen

Für die Trennung von Kohlenhydraten sind hohe Anionenaustauschkapazitäten notwendig, um eine zur Trennung genügende Retention der nur schwach anionisch vorliegenden Saccharide zu erreichen. Ein einfacher Weg, die Anzahl an positiven Ladungen auf dem Austauscher zu erhöhen liegt in der Umsetzung mit Di- oder Triaminen. Die nach der Funktionalisierung als tertiäre verbleibende zweite bzw. dritte Aminfunktion kann mit einem Quarternisierungsmittel wie Methyliodid oder Ethylbromid in eine weitere quartäre Ammoniumgruppe umgewandelt werden.

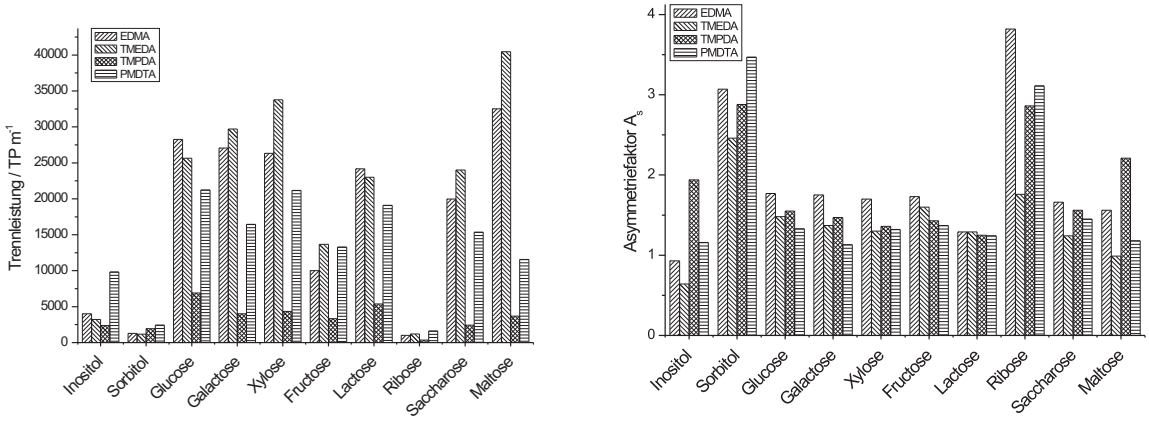


Abbildung 6.16: Vergleich der Trennleistung und der Asymmetriefaktoren von unpolaren Funktionellen Gruppen auf chloromethylierten Anionenaustauschern.

Tabelle 6.9: Technische Daten der verwendeten Trennsäulen zum Vergleich von Quarternisierungsversuchen von Di- und Triaminen auf chloromethylierten Materialien.

ident$_S$	C251004 AG TMEDA	C240205 AG TMEDA-EtBr	C020904 AG PMDTA	C220205 AG PMDTA-EtBr
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}	0,5 mL min^{-1}
Staudruck	3,4 MPa	3,1 MPa	3,0 MPa	3,8 MPa
Kapazität	498 μmol	613 μmol	367 μmol	536 μmol
ident$_{CH}$	O270704 AG CHM	O270704 AG CHM	O260504 AG CHM	O260504 AG CHM
Amin	TMEDA	TMEDA	PMDTA	PMDTA

Der Einsatz der Amine Tetramethylethylendiamin (TMEDA) und das Pentamethyldiethylentriamin (PMDTA) hat in den zuvor gezeigten Untersuchungen zu Anionenaustauschern mit genügender Kapazität zur Analyse von Kohlenhydraten geführt. Durch Umsetzung mit Ethylbromid als Alkylierungsreagenz soll die Kapazität weiter gesteigert werden. In Tabelle 6.9 sind die Kenndaten der für diese Untersuchung hergestellten Austauscher aufgeführt. Die Alkylierungsvorschrift findet sich im Anhang in Kapitel 8.3.3 auf Seite 206. Für den Vergleich vor und nach der Alkylierung wurde zunächst das chloromethylierte Material mit dem Di- bzw. Triamin funktionalisiert. Ein Teil des Produktes wurde für die Herstellung einer Referenzsäule benutzt. Der Rest des Materials ist mit Ethylbromid umgesetzt und anschließend auf die Trennung von Kohlenhydraten hin untersucht worden.

Durch die Alkylierung mit Ethylbromid sollte sich die Kapazität des Materiales im Falle des Diamins verdoppeln. Bei einer Messung der Kapazität des Materials nach der Untersuchung konnte nur eine Steigerung der Kapazität um 22% gemessen werden. Im Falle des Triamins, welches eine bis zu dreifache Kapazität erreichen könnte, ist eine Steigerung der Kapazität um 46% zu verzeichnen. In Abbildung 6.17 auf der nächsten Seite sind die für das Triamin erhaltenen Trennungen von vier Kohlenhydraten vor und nach der Alkylierung beispielhaft aufgeführt. Wie zu erwarten ist auch bei einer Zunahme der Kapazität um die Hälfte auch eine Steigerung der Retention aller Analyten zu beobachten. In Abbildung 6.18 auf Seite 121 sind die Retentionsfaktoren für alle Analyten vor und nach der Alkylierung aufgeführt. Im Falle des Diamins wirkt sich die Steigerung der Kapa-

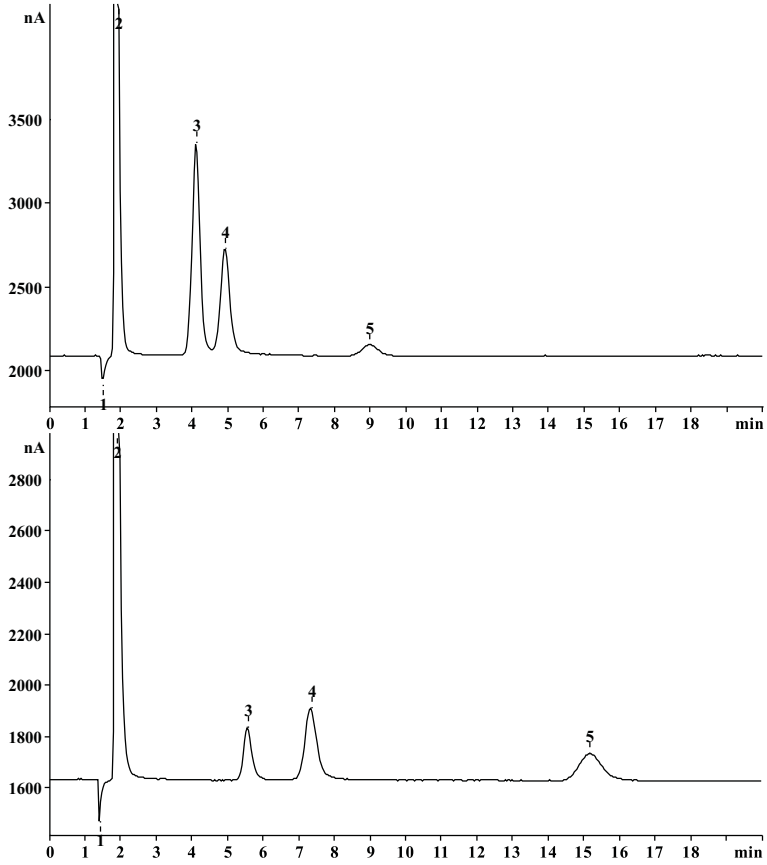


Abbildung 6.17: Vergleich der Trennung von vier Kohlenhydraten auf einem mit PMDTA funktionalisiertem Anionenaustauscher. Oben: Nach der Aminierung. Unten: Nach der Quarternisierung mit Ethylbromid. Säule: Oben: C020904 AG PMDTA, Unten: C220205 AG PMDTA-EtBr, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Galactose, 4 - Lactose, 5 - Maltose.

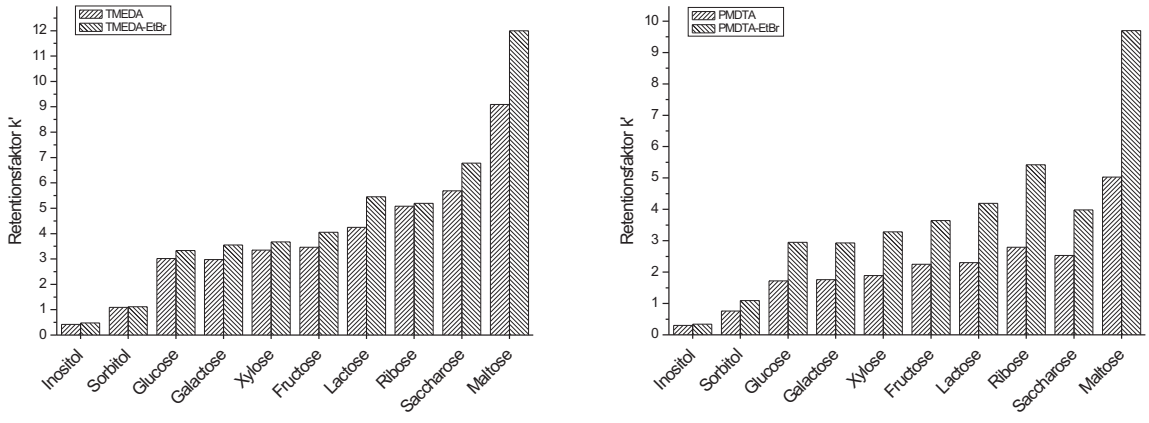


Abbildung 6.18: Links: Vergleich der Retentionsfaktoren von Kohlenhydraten auf einem mit TMEDA funktionalisiertem Anionenaustauscher und der anschließenden Quarternisierung der zweiten Stickstofffunktion mit Ethylbromid. Säulen: C251004 AG TMEDA, C240205 AG TMEDA-EtBr. Rechts: Vergleich auf einem mit einem Triamin (PMDTA) funktionalisiertem Anionenaustauscher und anschließender Quarternisierung der zweiten/dritten Stickstofffunktion mit Ethylbromid. Säulen: C020904 AG PMDTA, C220205 AG PMDTA-EtBr.

zität um 20% kaum aus. Die Trennleistungen, die in Abbildung 6.19 auf der nächsten Seite vor und nach der Alkylierung miteinander verglichen werden, sind in beiden Fällen uneinheitlich. Während bei dem Diamin für früh eluierenden Kohlenhydrate eine Abnahme der Trennleistung nach der Alkylierung beobachtet wird, wird diese bei den später eluierenden teilweise deutlich besser. Im Falle des Triamins sind die Trennleistungen nach der Alkylierung im Durchschnitt besser als vor der Alkylierung.

6.3 Oberflächenmodifizierung durch Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid

Die Beschichtung von Trägermaterialien ist eine einfach Möglichkeit, neue Funktionalitäten, welche im Trägermaterial noch nicht vorhanden sind, nachträglich hinzuzufügen. Beschichtungen sind im Bereich der Silika- oder Zirkoniumträgermaterialien eine weit verbreitete Methode, um durch weitere Funktionalisierungen Anwendungen in der Umkehrphasenchromatographie zu ermöglichen [129]. Im Falle der verwendeten PS-DVB-Polymere besitzt das Polymer selbst keine Funktionalität zur Generierung eines Anionenaustauschers durch direkte Umsetzung mit einem Amin. Die einzigen verfügbaren Funktionalitäten sind die aromatischen Systeme, welche erst in chemischen Reaktionen, wie der Chloromethylierung oder Alkylierung, modifiziert werden müssen.

Beschichtungsreaktionen an PS-DVB-Polymeren zum Einsatz in der Ionenchromatographie anorganischer Anionen sind von Raskop [61] eingehend untersucht worden. Es wurden verschiedene Synthesekonzepte entwickelt, welche die Einführung einer präfunktionellen Gruppe oder einer funktionellen Gruppe auf solchen Materialien ermöglicht. Dabei standen morphologisch selektive Funktionalisierungen im Vordergrund, um Probleme in der Asymmetrie und der Selektivität der Trennung anorganischer Anionen auf PS-DVB-Materialien zu

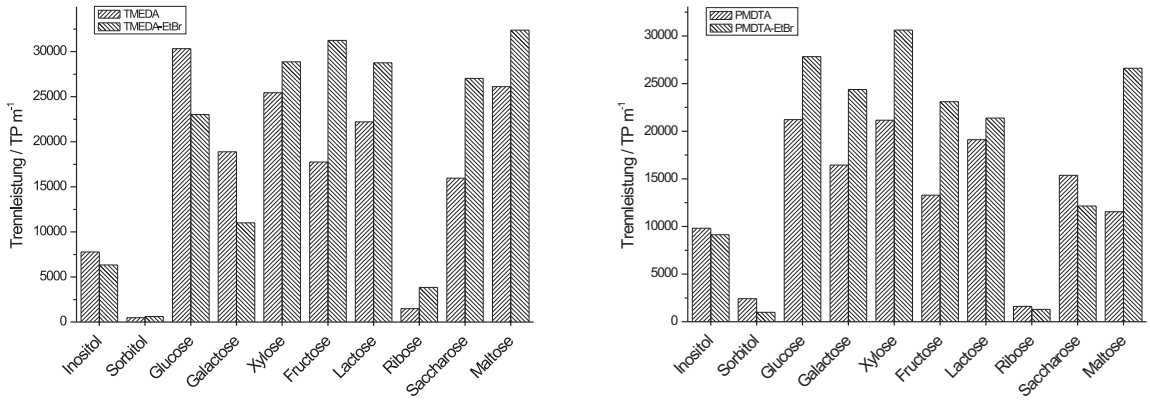


Abbildung 6.19: Links: Vergleich der Trennleistung von Kohlenhydraten auf einem mit Diamin (TMEDA) funktionalisiertem Anionenaustauscher und der anschließenden Quarternisierung der zweiten Stickstofffunktion mit Ethylbromid. Säulen: C251004 AG TMEDA, C240205 AG TMEDA-EtBr. Rechts: Vergleich auf einem mit einem Triamin (PMDTA) funktionalisiertem Anionenaustauscher und anschließender Quarternisierung der zweiten/dritten Stickstofffunktion mit Ethylbromid. Säulen: C020904 AG PMDTA, C220205 AG PMDTA-EtBr.

verbessern. Die Durchführbarkeit und das Trennverhalten, sowie die Verbesserung der mechanischen Stabilität der aufgebrachten Schichten durch Quervernetzung sind ein Teil dieser Untersuchungen von Raskop.

Je nach Durchführung lassen sich die Beschichtungsreaktionen in zwei Typen unterteilen. Die Beschichtung mit einem präfunktionellen Monomer, wie Vinylbenzylchlorid (VBC), führt zunächst zu einem dem Produkt der Chloromethylierung ähnlichen Material. Dieses kann in einem zweiten Schritt mit einem tertiären Amin zu einer quartären Ammoniumgruppe umgesetzt werden. Daneben kann zur Beschichtung mittels Pfropfpolymerisation gleich ein funktionalisiertes Monomer eingesetzt werden. Dazu wird zunächst ein Styrolderivat wie VBC durch Umsetzung mit einem tertiären Amin in ein Monomer mit quartärer Ammoniumfunktion überführt. Es ensteht ein sogenanntes Ionomer. Dieses führt nach dem Beschichten direkt zu einem fertigen Ionenaustauscher.

In den folgenden Untersuchungen soll geprüft werden, inwieweit sich diese Materialien für die Trennung von Kohlenhydraten eignen. Raskop konnte zeigen, das diese Materialien hervorragende Eigenschaften und eine gute Stabilität für die Trennung von anorganischen Anionen aufweisen. Zum Einsatz kamen Carbonat/Hydrogencarbonateluenten und Hydroxideluenten niedriger Konzentration. Da bei der Trennung anorganischer Anionen vorzugsweise mit Trennsäulen niedriger Kapazitäten gearbeitet wird, sollen in diesen Untersuchungen hochkapazitive Anionenaustauscher hergestellt werden, welche die Trennung von Kohlenhydraten ermöglichen. Zudem soll die Langzeitstabilität der Materialien gegen konzentrierte Hydroxideluenten von 100 mmol L^{-1} getestet werden, welche häufig zur Bestimmung von Sacchariden mittels Ionenchromatographie eingesetzt werden.

Die Beschichtungsreaktion mit Vinylbenzylchlorid (VBC) stellt eine einfache Möglichkeit dar, eine präfunktionelle Gruppe auf der Oberfläche des Trägermaterials aufzubauen. Die Beschichtung erfolgt mittels radikalischer Polymerisation des Monomers in Suspension mit dem Trägermaterial unter geeigneten Bedingungen. Dabei ist die Reaktionstemperatur wichtig für den Verlauf der Beschichtungsreaktion. Durch die Temperatur wird der

Tabelle 6.10: Reaktionsbedingungen für die Beschichtung von Trägermaterialien mit Vinylbenzylchlorid. Variation der Menge an Vinylbenzylchlorid.

ident$_{BES}$	O130405 AG	O030505 AG	O170505 AG
PS-DVB-Copolymer	D050207 Dmsh	D050207 Dmsh	D050207 Dmsh
Einwaage / g	5	5	5
Vinylbenzylchlorid / g	0,5	1	2
Monomer/Polymerverhältnis / m/m	0,1	0,2	0,4
Radikalstarter KPS / g	0,5	1	1
Ethanol / mL	40	40	40
Wasser / mL	160	160	160
Reaktionszeit / h	4	4	4
Reaktionstemperatur / K	343	343	343

Radikalstarter thermisch initialisiert und somit die Konzentration der freien Radikale bestimmt. Zudem unterscheidet sich die Löslichkeit des Monomers in der flüssigen Phase bei unterschiedlichen Temperaturen. Durch eine geeignete Wahl der Reaktionsbedingungen muss zudem verhindert werden, dass das Monomer mit sich selbst in der flüssigen Phase zu Latexpartikeln polymerisiert. Diese Parameter wurden von Raskop in seinen Untersuchungen bestimmt und finden hier Anwendung.

6.3.1 Einfluss der Monomermenge

Raskop untersuchte auch den Einfluss der eingesetzten Monomermenge auf die Austauschkapazität bei Styrolderivaten [61]. Die umgesetzte Menge an Monomer VBC während der radikalischen Polymerisation bestimmt die mögliche Austauschkapazität. Der Verlauf der Anionenaustauschkapazität nach Funktionalisierung mit dem Amin Ethyldimethylamin (EDMA) zeigte einen linearen Berich bei einem Monomer/Polymerverhältnis von 0,2-0,5. Bei höheren Verhältnissen waren die Materialien durch Bildung von Hydrogelen schwer zu isolieren und konnten nicht in Säulen gepackt werden.

Es soll untersucht werden, wie sich die Monomermenge auf die Trennung von Kohlenhydraten unter alkalischen Bedingungen auswirkt. Für die Herstellung von beschichten Materialien wurden verschiedene Monomer/Polymerverhältnisse getestet, um zum einen möglichst hohe Anionenaustauschkapazitäten zu erreichen, und zum anderen möglichst stabile Austauschermaterialien zu erhalten. In Tabelle 6.10 sind die gewählten Reaktionsbedingungen für die durchgeführten Beschichtungen von Trägermaterialien mit VBC aufgeführt. Die Produkte wurden anschließend einmal sedimentiert. Anschließend wurden alle Materialien mit dem Diamin Tetramethylethylendiamin (TMEDA) funktionalisiert. Die Kenndaten der erhaltenen Säulen sind in Tabelle 6.11 auf der nächsten Seite wiedergegeben.

Alle Materialien zeigten nach der Aufarbeitung leichte Tendenzen zur Gelbildung. Durch die Funktionalisierung sinkt der hydrophobe Charakter des Grundmaterials und es bildet sich leichter eine Hydrathülle auf den Materialien. Dieser Effekt ist bei den hochkapazitiven Materialien stärker ausgeprägt. Der Staudruck der angefertigten Säulen steigt ebenfalls mit der Menge an Vinylbenzylchlorid. Durch die Erhöhung des Anteils an Monomers steigt die Schichtdicke auf den Trägermaterialien. Ohne stabilisierenden Quervernetzungsanteil ist diese Schicht aus linearen Polymeren ohne ausreichende Stabilität. Es resultieren Deformationen, welche zu den hohen Staudrücken führen.

Tabelle 6.11: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zur Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid.

$ident_S$	O180505 AG TMEDA	O280405 AG TMEDA	O290505 AG TMEDA
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	6,0 MPa	9,8 MPa	19,1 MPa
Kapazität	256 μmol	365 μmol	453 μmol
$ident_{BES}$	O130405 AG	O030505 AG	O170505 AG
Monomer/Polymerverhältnis / m/m	0,1	0,2	0,4
Amin	TMEDA	TMEDA	TMEDA

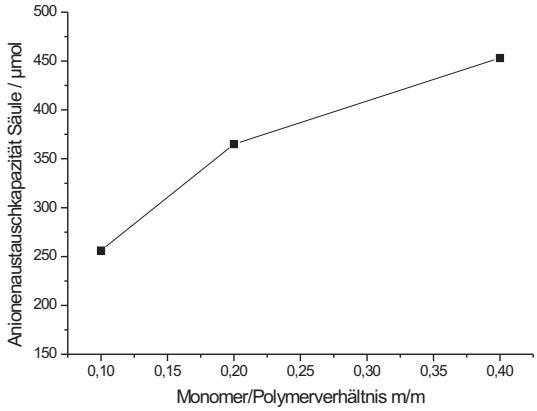


Abbildung 6.20: Abhängigkeit der resultierenden Anionenaustauschkapazität von beschichteten Trägermaterialien mit unterschiedlichen Mengen an VBC.

Die Anionenaustauschkapazität steigt wie erwartet mit dem Anteil an eingesetztem Monomer VBC an. In Abbildung 6.20 sind die Kapazitäten gegen das eingesetzte Monomeren/Polymerenverhältnis in Massenanteilen aufgetragen. Es ergibt sich wie von Raskop beschrieben ein linearer Zusammenhang innerhalb des betrachteten Bereiches.

In Abbildung 6.21 auf der nächsten Seite sind Lichtmikroskopieaufnahmen von beschichteten Polymerteilchen nach der Funktionalisierung gezeigt. In Abbildung 6.22 auf der nächsten Seite finden sich die entsprechenden Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen. Wie vor allem auf den Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen deutlich zu sehen, sind keine Beschädigungen an den Polymerteilchen zu erkennen. Der Anteil an kleinen Teilchen ist sehr gering. Die Beschichtung verläuft im Gegensatz zu den Chloromethylierungen unter sehr milden Bedingungen. Es kommt zu keiner Zerstörung des Trägermaterials durch aggressive Reagenzien.

In Abbildung 6.23 auf Seite 126 sind die Trennungen von vier Kohlenhydraten auf zwei Austauschern gezeigt. Die Trennung der Kohlenhydratmischungen gelingt auf allen drei Austauschern, mit unterschiedlichen Mengen an VBC beschichtet, Basislinien getrennt. Die Retentionszeit erhöht sich mit steigender Kapazität der Trennsäule. In Abbildung 6.24 auf Seite 127 sind die Werte für die Retentionsfaktoren k' und die Selektivitätsfaktoren, bezogen auf Glucose, aufgetragen. In Abbildung 6.25 auf Seite 127 befinden sich die graphischen Auftragungen für die Trennleistung und die Asymmetriefaktoren. Die Trennleistung ist mit 6000-12000 TP m^{-1} ausreichend für eine Trennung von einfachen Kohlenhydratmischungen. Sie liegt für oberflächenfunktionalisierte Materialien in einem guten Bereich. Die Werte für die Asymmetrien der Signale erreichen für die meisten Analyten

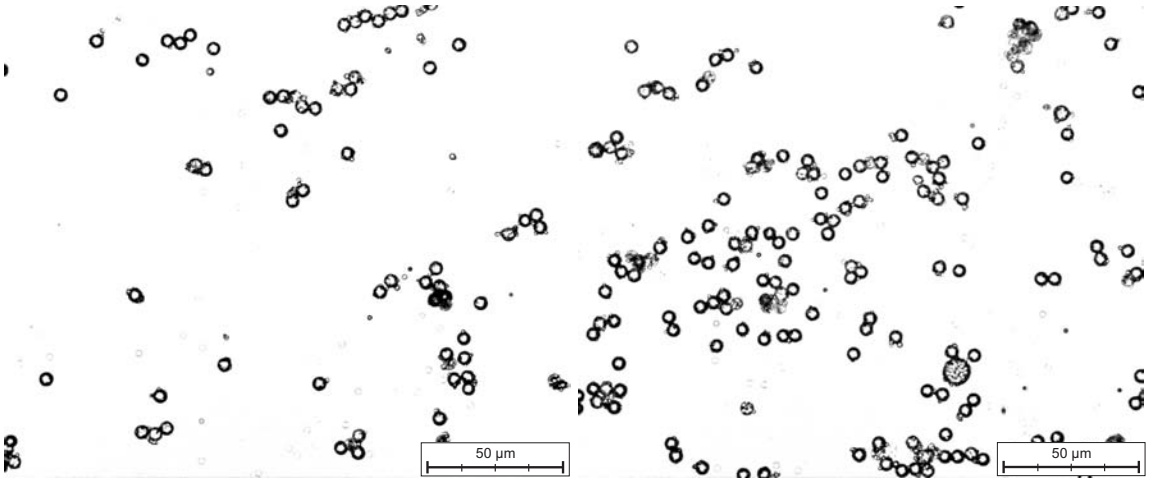


Abbildung 6.21: Lichtmikroskopieaufnahmen von VBC beschichteten Trägermaterialien nach der Beschichtung und Funktionalisierung mit TMEDA. 500-fache Vergrößerung.

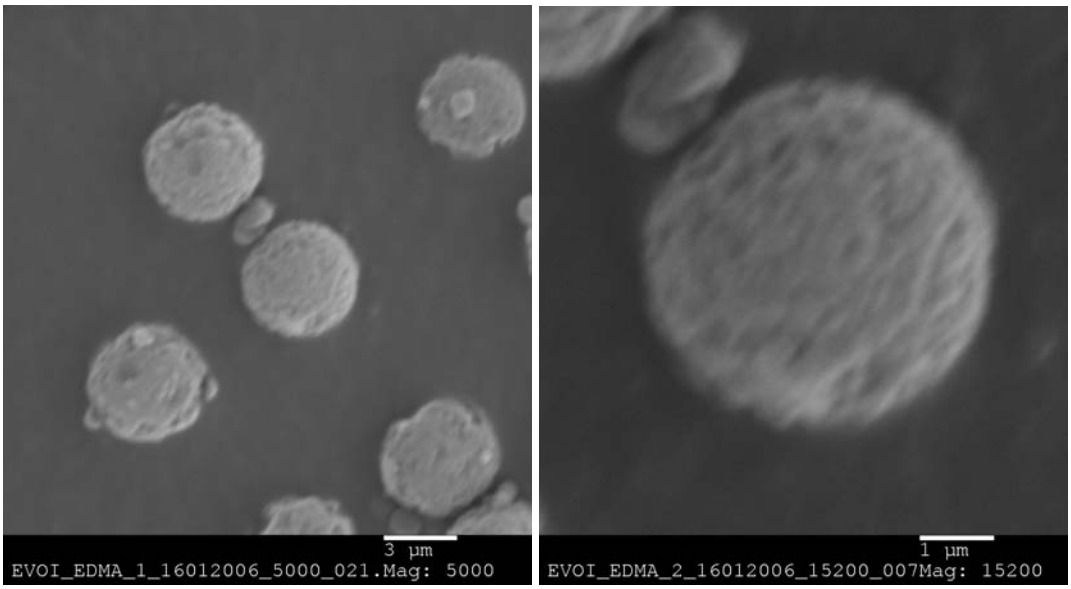


Abbildung 6.22: REM-Aufnahmen von VBC beschichteten Trägermaterialien nach der Beschichtung und der Funktionalisierung mit TMEDA.

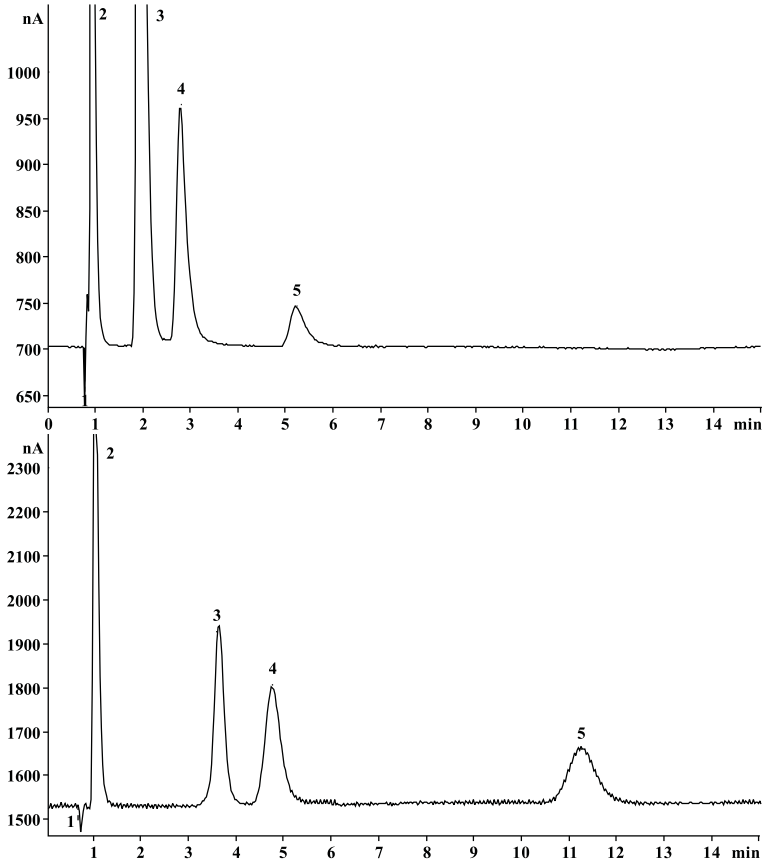


Abbildung 6.23: Einfluss der Monomermenge an VBC bei der Beschichtung von Trägermaterialien auf die Trennung von vier Kohlenhydraten. Oben: Monomer/Polymerverhältnis 0,1. Unten: Monomer/Polymerverhältnis 0,4. Säule: Oben: O180505 AG TMEDA, Unten: O290505 AG TMEDA, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Galactose, 4 - Lactose, 5 - Maltose.

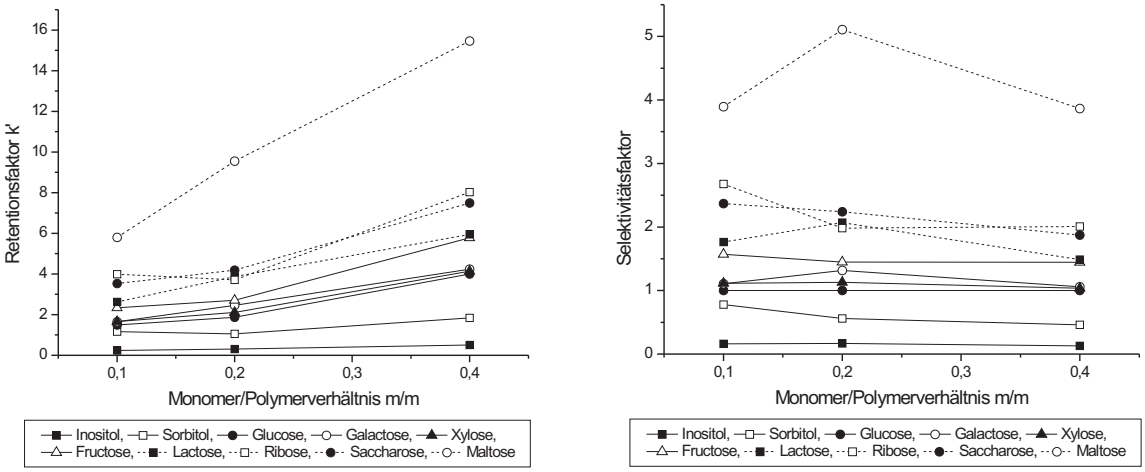


Abbildung 6.24: Vergleich der Retentionsfaktoren und Selektivitätsfaktoren von Kohlenhydraten auf beschichteten Austauschern mit unterschiedlichen Monomer/Polymerverhältnissen. Säulen: O280405 AG TMEDA, O180505 AG TMEDA, O290505 AG TMEDA. Links: Retentionsfaktor. Rechts: Selektivitätsfaktor.

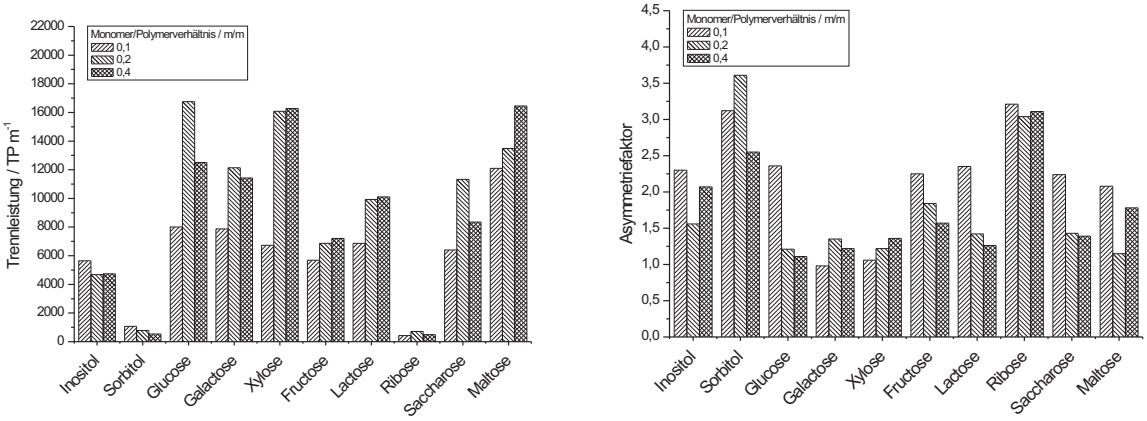


Abbildung 6.25: Vergleich der Trennleistungsdaten von Kohlenhydraten auf beschichteten Austauschern mit unterschiedlichen Monomer/Polymerverhältnissen. Säulen: O280405 AG TMEDA, O180505 AG TMEDA, O290505 AG TMEDA. Links: Trennleistung TP m^{-1}. Rechts: Asymmetriefaktor.

Tabelle 6.12: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zur Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid.

$ident_S$	O290505 AG TMEDA	O210805 AG EDMA
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	19,1 MPa	13,3 MPa
Kapazität	453 μmol	930 μmol
$ident_{BES}$	O170505 AG	O030505 AG
Monomer/Polymerverhältnis / m/m	0,4	0,2
Amin	TMEDA	EDMA

ebenso gute Werte. Ausnahmen bilden wieder das Sorbitol und die Ribose. Zudem zeigt die Trennsäule mit der kleinsten Monomermenge für die Beschichtungsreaktion eine generelle Tendenz zu schlechten Signalformen.

6.3.2 Chromatographische Eigenschaften

Für die Trennung von Kohlenhydraten werden hohe Anionenaustauschkapazitäten benötigt. Die Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid und anschließender Aminierung führt zu Kapazitäten, die für die Trennung von Kohlenhydraten ausreichend sind. Die auf diesem Wege hergestellten Anionenaustauscher zeichnen sich, verglichen mit denen aus der Chloromethylierung, durch eine einfache Herstellung aus. Durch die Abwesenheit von aggressiven Chemikalien während der Herstellung sind die Konditionierungszeiten für die chromatographischen Bedingungen zur Trennung von Kohlenhydraten sehr kurz.

Für die Untersuchungen der chromatographischen Eigenschaften wurden ein mit TMEDA und ein mit EDMA funktionalisiertes beschichtetes Material verwendet. Die Kenndaten der hergestellten Austauscher sind in Tabelle 6.12 aufgeführt. Die Säulendimension des mit EDMA funktionalisierten Anionenaustauscher wurde zu Vergleichszwecken auf 250 mm Länge erhöht. Der hohe Staudruck der mit TMEDA funktionalisierten Trennsäule resultiert aus dem hohen Monomer/Polymerverhältnis. Der Staudruck für die 250 mm lange EDMA-Trennsäule ist mit 13,3 MPa gering. Die Kapazität dieser Säule ist mit 930 μmol sehr hoch und führt zu hohen Retentionszeiten. Wie in Abbildung 6.26 auf der nächsten Seite gezeigt, ist eine Trennung von allen untersuchten Kohlenhydraten auf einer Trennsäule dieses Types unter den gewählten Standardbedingungen nicht möglich.

Die Ergebnisse der chromatographischen Trennungen sind in Tabelle 6.13 auf der nächsten Seite aufgelistet. Die Trennleistungen liegen für Oberflächenfunktionalisierte Anionenaustauscher auf einem gutem Niveau. Die Symmetrien der Signale sind für die meisten Kohlenhydrate zwischen 1,0 und 1,5. Sorbitol zeigt auf der 250 mm langen Trennsäule einen Asymmetriefaktor von nur 1,23. Dies ist für diesen Zuckeralkohol sehr niedrig. Dennoch ist das Signal sehr breit und die Trennleistung liegt bei sehr niedrigen 200 TP m^{-1}.

Interessant ist die abweichende Selektivität, in Bezug auf Glucose, von Galactose und Xylose für beide Ionenaustauscher. Die pK_s-Werte von Glucose und Galactose unterscheiden sich kaum, der von Xylose ist etwas kleiner. Demnach sollten diesen drei Kohlenhydrate in der Reihenfolge

$$Glucose <= Galactose < Xylose$$

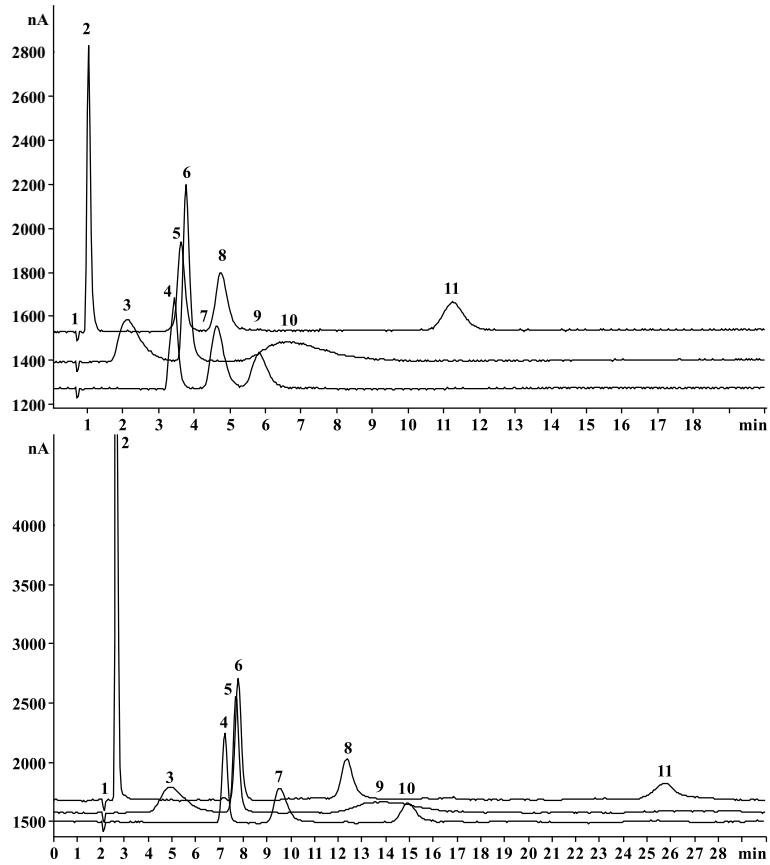


Abbildung 6.26: Trennung von Kohlenhydraten auf einem mit VBC beschichtetem Trägermaterial nach der Funktionalisierung mit dem Amin TMEDA und EDMA. Säule: Oben: O290505 AG TMEDA, Unten: O210805 AG EDMA, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Xylose, 6 - Galactose, 7 - Fructose, 8 - Lactose, 9 - Saccharose. 10 - Ribose, 11 - Maltose.

Tabelle 6.13: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten zur Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

O290505 AG TMEDA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k’	0,51	1,84	4,00	4,24	4,14	5,78	5,95	8,03	7,49	15,46
Trennleistung TP m^{-1}	4700	500	12500	11400	16300	7200	10100	500	8400	16400
Asymmetriefaktor A_s	2,07	2,55	1,11	1,22	1,36	1,57	1,26	3,11	1,39	1,78
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,13	0,46	1,00	1,06	1,04	1,45	1,49	2,01	1,87	3,87

O210805 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k’	0,27	1,29	2,39	2,66	2,59	3,48	4,80	5,41	6,02	11,09
Trennleistung TP m^{-1}	7500	200	19500	16500	16400	6100	11200	600	9900	16300
Asymmetriefaktor A_s	0,79	1,23	1,17	1,23	1,19	1,66	1,39	1,57	1,66	0,99
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,11	0,54	1,00	1,11	1,08	1,46	2,01	2,26	2,52	4,64

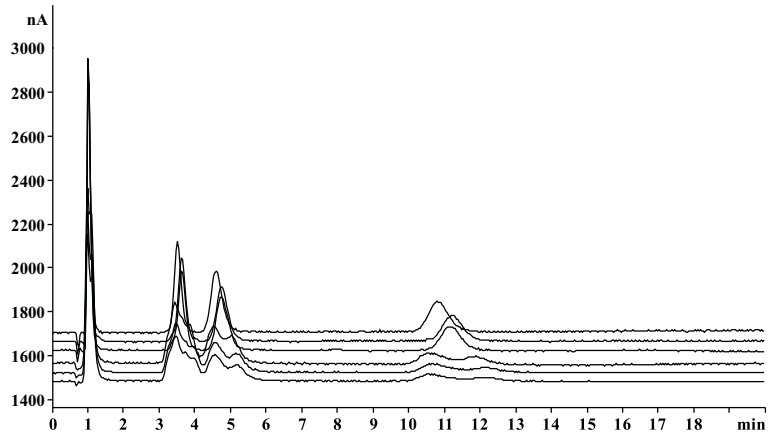


Abbildung 6.27: Langzeitstabilität eines mit einer hohen Menge an VBC beschichtetem Anionenaustauscher nach Funktionalisierung mit TMEDA. Säule: O290505 AG TMEDA, Staudruck: Anfang: 19,0 MPa, Ende: 20,7 MPa Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

eluieren. Auf diesen mit TMEDA und EDMA funktionalisiertem Material eluieren sie in der Reihenfolge

$$Glucose < Xylose <= Galactose$$

Diese Selektivitätsverschiebungen sind sehr gering, können sich aber auf eine Trennung der Epimere Glucose und Galactose positiv auswirken. Eine ähnliche Selektivitätsänderung wurde bei chloromethylierten Materialien nur für die mit EDMA funktionalisierte Säule gefunden.

Langzeitstabilität

Ein wichtiges Kriterium für die Verwendbarkeit zur Trennung von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie ist die Stabilität gegenüber konzentrierten Hydroxideluenten. Die Beschichtung eines Trägerteilchens kann, wenn sie nicht vollständig ist, oder keine stabilen Verbindungen zur Oberfläche des Trägerteilchens besitzt, vom aggressiven Eluenten auf dem Trägerteilchen gelöst werden. Dies würde im Falle dieser Anionenaustauscher zu einem Retentionszeitverlust führen. Auch ein Quellen der nicht quervernetzten, geladenen Beschichtung unter diesen hohen Ionenstärken des Eluenten kann zu Veränderungen der Packungsgüte führen.

Die zunächst hohe Trennleistung auf dem mit der höchsten Menge an VBC umgesetzten Anionenaustauscher ist nicht konstant. Der hohe Staudruck von 19 MPa führt zu einem schnellen Abbau der Trennleistungsdaten. Staudrücke von über 15 MPa sind in der Ionenchromatographie unerwünscht und führen auf Dauer zu einer Verschlechterung der Packungsgüte. In Abbildung 6.27 sind die Chromatogramme nach der Konditionierung der Trennsäule aufgezeigt. Zwischen den ersten drei und den letzten drei Messungen liegt jeweils eine Stunde, zwischen diesen beiden Messeinheiten wurden innerhalb von sechs Stunden die Einzelstandards vermessen. Die Trennleistung aller Signale lag am Ende unter 4000 TP m^{-1} bei sehr schlechten Signalformen. Ein Retentionszeitverlust ist nicht zu beobachten. Dies spricht für eine chemisch stabile, aber deformierbare Beschichtung des Trägermaterials mit dem VBC. Für die folgenden Untersuchungen wurden Grundmaterialien eingesetzt, welche mit einem Monomer/Polymerverhaltnis m/m von 0,2 hergestellt wurden. Diese zeigten über die gesamte Verwendungsdauer keinerlei Retentionszeitverlust und nur eine geringe Abnahme an Trennleistung.

Tabelle 6.14: Synthesebedingungen für die Beschichtung von Trägermaterialien mit Vinylbenzylchlorid für die Untersuchung an unterschiedlichen Austauschergruppen.

$ident_{BES}$	O110802 AG	O160802 AG
PS-DVB-Copolymer	P050111 Cmh	P050111 Cmh
Einwaage / g	5	5
Vinylbenzylchlorid / g	1	1
Monomer/Polymerverhältnis / m/m	0,2	0,2
Radikalstarter KPS / g	1	1
Ethanol / mL	40	40
Wasser / mL	160	160
Reaktionszeit / h	4	4
Reaktionstemperatur / K	343	343

6.3.3 Vergleich unterschiedlicher Austauschergruppen

Bei der Trennung von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie haben sich unpolare Austauschergruppen bewährt. In kommerziellen Produkten wird nahezu ausschließlich auf die Trimethylammoniumgruppe zurückgegriffen. Es existieren kaum systematische Studien über den Einfluss der quartären Ammoniumgruppe auf die Trennung von Kohlenhydraten [65]. Eine Variation verschiedener unpolarer Austauschergruppen ist im Vorfeld dieser Arbeit eingehend untersucht worden [66]. Dabei hat vor allem der Einfluss von π-Systemen im Vordergrund gestanden. Untersucht wurde der Einfluss von Doppel- und Dreifachbindungen oder benzylischen Systemen an funktionellen Gruppen auf die Trennung von Kohlenhydraten. Ein direkter Zusammenhang von diesen Gruppen auf die Retentions- und Selektivitätsfaktoren konnte nicht hergestellt werden.

Ziel dieser Untersuchungen soll es sein, den Einfluss von Alkylketten an der Austauschfunktion auf die Trennung von Kohlenhydraten zu untersuchen. Durch die Länge der Alkylkette wächst der hydrophobe Anteil in der Nähe der Austauschergruppe. Sekundäre, unpolare Wechselwirkungen mit den Analytmolekülen werden verstärkt. Dies sollte zu einer Steigerung der Retentionszeit führen. Gleichzeitig wird die positiv geladene Austauschergruppe vom hydrophoben Rest abgeschirmt. Es kommt zu einer verringerten elektrostatischen Wechselwirkung mit den schwach ionisierten Kohlenhydraten. Durch Einfügen einer zweiten Aminfunktion am Ende der Alkylkette durch Funktionalisierung mit einem ditertiären Diamin wird eine weitere Funktionalität eingeführt. Diese kann aufgrund ihrer hohen Elektronendichte ebenfalls mit den Analyten wechselwirken.

Herstellung der Materialien

Für diese Untersuchungen wurden zwei mit VBC beschichtete Trägermaterialien eingesetzt. Die Synthesevorschriften sind identisch. Die Materialien wurden mit einem Monomer/Polymerverhältnis m/m von 0,2 beschichtet. Jeder der zwei Ansätze wurde doppelt durchgeführt und die beiden erhaltenen Chargen nach der Synthese vereinigt. In Tabelle 6.14 sind die Synthesebedingungen aufgeführt. Nach der Beschichtung der Materialien wurden die beschichteten Trägermaterialien mit unterschiedlichen Aminen funktionalisiert. Zum Einsatz kamen die in Abbildung 6.28 auf der nächsten Seite gezeigten Amine. Die Länge einer Alkylkette wurde von einer Ethylgruppe über eine Hexylgruppe bis zur Dodecylgruppe von 2–12 Methyleneinheiten variiert. Die eingesetzten tertiären Amine sind Ethyldimethylamin (EDMA), Dimethylhexylamin (DMHA) und Dimethyldodecylamin (DMDDA). Zur Untersuchung der Diaminfunktion standen ein Ethyl- und ein Hexylspacer zur

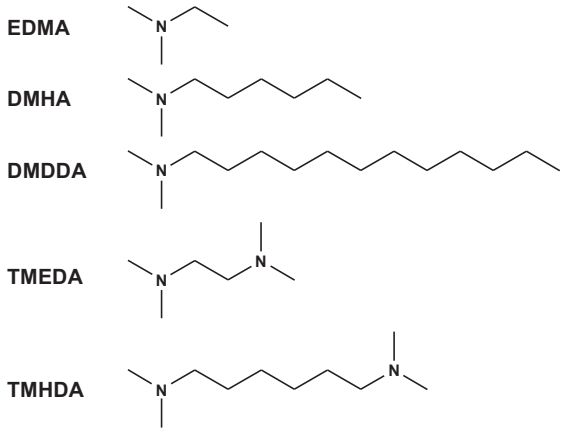


Abbildung 6.28: Unterschiedliche Amine und Diamine zur Funktionalisierung von beschichteten Trägermaterialien mit steigendem hydrophoben Anteil.

Tabelle 6.15: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zur Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid mit unterschiedlichen Funktionalitäten. Eluent: 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid.

ident$_S$	O070905 AG EDMA	O040106 AG DMHA	O050106 AG DMDDA
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	8,9 MPa	12,2 MPa	8,0 MPa
Kapazität	512 μmol	467 μmol	321 μmol
ident$_{BES}$	O110802 AG	O110802 AG	O110802 AG
Amin:	EDMA	DMHA	DMDDA

ident$_S$	O021105 AG TMEDA	O081105 AG TMHDA
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	8,5 MPa	12,2 MPa
Kapazität	378 μmol	412 μmol
ident$_{BES}$	O160802 AG	O160802 AG
Amin:	TMEDA	TMHDA

Verfügung. Die entsprechenden Amine Tetramethylethylendiamin (TMEDA) und Tetramethylhexylendiamin (TMHDA) sind ebenfalls in Abbildung 6.28 aufgeführt.

Die Funktionalisierung des beschichteten Materials mit Dimethyldodecylamin führte zu einem sehr hydrophoben Produkt. Sowohl das mit Vinylbenzylchlorid beschichtete Material, als auch die funktionalisierten Anionenaustauscher mit ihrer hohen Ladungsdichte, sind polar genug, um in reinem Wasser suspendiert zu werden. Im Gegensatz dazu lässt sich das mit dem sehr langen Dodecylrest funktionalisierte Austauschermaterial nicht mehr in reinem Wasser suspendieren. Es verhält sich ähnlich dem Grundmaterial vor der Beschichtung und bildet mit Wasser ein Zweiphasensystem. Die Herstellung einer Trennsäule mit diesem Material gelang nur durch den Zusatz von 10% Ethanol im Packslurry und im Packeluenten.

Die Kenndaten der erhaltenen Säulen sind in Tabelle 6.15 wiedergegeben. Die Staudrücke der erhaltenen Austauschersäulen liegen in einem guten Bereich von meist unter 10 MPa. Die Anionenaustauschkapazität nimmt innerhalb der Amine mit variabler Alkylkettenlänge mit wachsender Kettenlänge ab. Dieser Zusammenhang

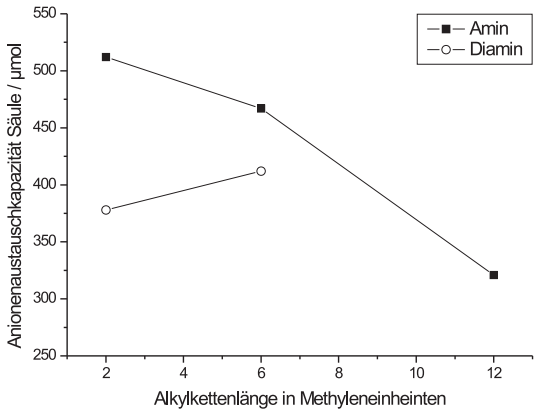


Abbildung 6.29: Resultierende Anionenaustauschkapazitäten der Trennsäulen nach Funktionalisierung mit unpolaren Aminen und Diaminen in Abhängigkeit der Alkylkettenlängen in Methyleneinheiten.

ist in Abbildung 6.29 verdeutlicht. Die Reaktivität der kleineren Amine ist deutlich höher. Der sterische Anspruch des langen Alkylrestes während der nukleophilen Substitution setzt die Reaktionsgeschwindigkeit herab. Im Falle der beiden untersuchten Diamine ist allerdings ein gegenteiliger Effekt beobachtbar. Die Anionenaustauschkapazität der resultierenden Säulen steigt leicht mit wachsendem Alkylspacer an. Eine mögliche Erklärung ist die Reaktion beider Aminfunktionen mit präfunktionellen Gruppen auf der Oberfläche. Durch die Beschichtung mit reinem VBC auf der Oberfläche ohne Quervernetzer liegen die präfunktionellen Gruppen sehr dicht beieinander. Bei genügend langer Alkylspacerkette könnten unter günstigen Bedingungen beide Aminfunktionen mit den präfunktionellen Gruppen reagieren.

Einfluss der Alkylkettenlänge an der funktionellen Gruppe auf die Trennung von Kohlenhydraten

Durch das Vergrößern der Alkylsubstituenten am Amin kann die Umgebung der funktionellen Gruppe hydrophober gestaltet werden. Die Trennung von Kohlenhydraten auf diesen Anionenaustauschern mit steigender Kettenlänge eines Alkylrestes an der Austauschergruppe ist in Abbildung 6.30 auf der nächsten Seite gezeigt. Es werden für alle drei Ionenaustauscher ähnliche Chromatogramme erhalten. Die Retentionszeit der Maltose, dem letzten eluierenden Saccharid, liegt zwischen 14 und 16 Minuten. Betrachtet man die Retentionsfaktoren k' genauer, wie in Abbildung 6.31 auf Seite 135 aufgetragen, so ist ein leichter Anstieg der Retention der Analytmoleküle mit steigender Kettenlänge des Alkylrestes zu erkennen. Dies ist aufgrund der abnehmenden Anionenaustauschkapazität bei steigender Kettenlänge des Alkylrestes nicht zu erwarten. Die resultierende Anionenaustauschkapazität erwies sich bisher als der dominante Faktor für die Retention. Durch die lange Alkylkette wird die Umgebung um die funktionelle Gruppe hydrophober. Dies führt wie Eingangs erwähnt zu weiteren hydrophoben Wechselwirkungen mit den Kohlenhydraten. Zudem verkleinert sich durch den hydrophoben Rest auch die Hydrathülle um die funktionelle Gruppe. Dies erschwert das Vordringen des Konkurrenzions Hydroxid aus dem Eluentenstrom zur funktionellen Gruppe. Es resultiert eine schwächere Elutionskraft des Hydroxidions an der funktionellen Gruppe, welches zu längeren Retentionszeiten des Analyten führt.

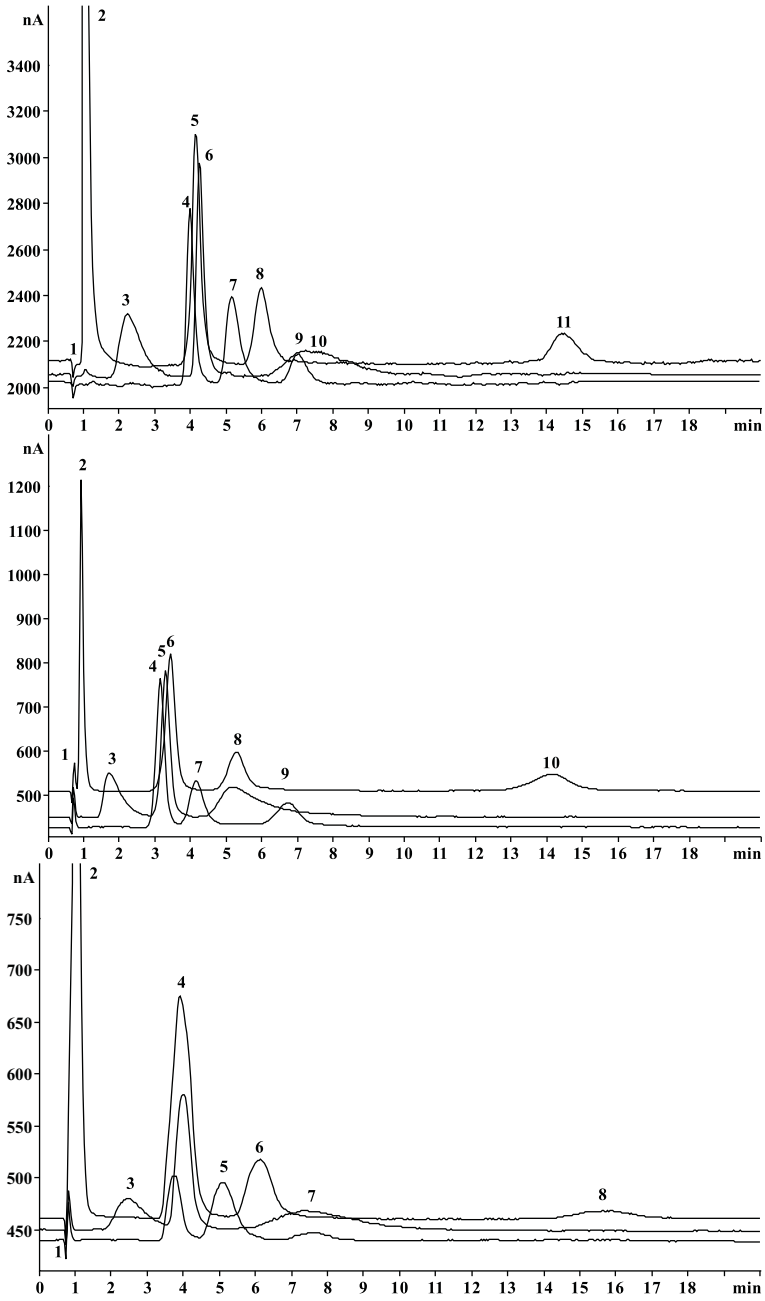


Abbildung 6.30: Trennung von Kohlenhydraten auf beschichteten Trägermaterialien unter Variation der Länge eines Alkylrestes der funktionellen Gruppe. Flussrate: 1 mL min^{-1}, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: Säule: O070905 AG EDMA, 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, 6 - Xylose, 7 - Fructose, 8 - Lactose, 9 - Saccharose. 10 - Ribose, 11 - Maltose. Mitte: Säule: O040106 AG DMHA, 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Xylose, 6 - Galactose, 7 - Fructose, 8 - Lactose, Ribose, 9 - Saccharose. 10 - Maltose. Unten: Säule: O050106 AG DMDDA, 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, Galactose, Xylose, 5 - Fructose, 6 - Lactose, 7 - Saccharose, Ribose, 8 - Maltose.

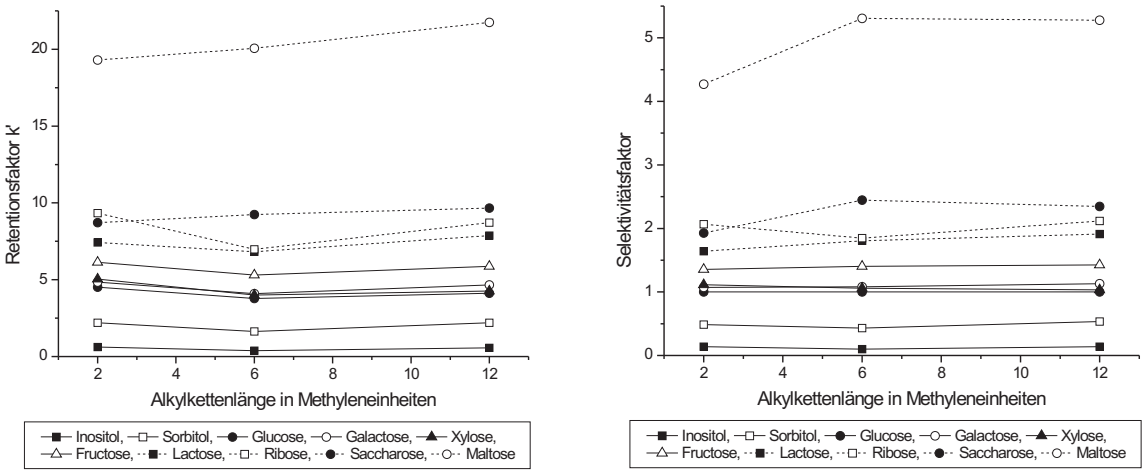


Abbildung 6.31: Vergleich der Trennleistungsdaten von Kohlenhydraten auf beschichteten Austauschern nach Funktionalisierung mit verschiedenen unpolaren Aminen. Säulen: O070905 AG EDMA, O040106 AG DMHA, O050106 AG DMDDA. Links: Retentionsfaktor k'. Rechts: Selektivitätsfaktor

Selektivitätsänderungen sind wenige zu beobachten. Die Ribose und das Sorbitol zeigen aufgrund ihrer sehr unsymmetrischen Signale teilweise deutliche Selektivitätsänderungen. Diese lassen sich jedoch nicht in Abhängigkeit zur Alkylkettenlänge auf der stationären Phase bringen. Die drei Saccharide Glucose, Galactose und Xylose zeigen ebenfalls eine leichte Änderung der Selektivität bei hydrophoberen funktionellen Gruppen, jedoch ist die Trennung auf dem mit Dimethyldodecylamin funktionalisiertem Austauscher zu schlecht, um eine Aussage treffen zu können.

In Abbildung 6.32 auf der nächsten Seite sind die Trennleistungsdaten und die Asymmetriefaktoren für die einzelnen Trennsäulen aufgezeigt. Die Trennleistung sinkt mit wachsender Alkylkettenlänge der funktionellen Gruppe deutlich. Durch den hydrophoben Rest können die Analyten unspezifische unpolare Wechselwirkungen mit der funktionellen Gruppe eingehen. Diese führen zu einer starken Verbreiterung der Signale für die Kohlenhydrate. Die Asymmetriefaktoren sind für alle Saccharide in einem guten Bereich für oberflächenmodifizierte Anionenaustauscher. Bis auf die Ausnahmen Sorbitol und Ribose liegen sie meist unter 1,5. Auffällig ist die verbesserte Symmetrie der Sorbitol- und Ribosesignale bei dem Austauscher mit der längsten Alkylkette an der funktionellen Gruppe. Da die schlechte Symmetrie dieser beiden Signale hauptsächlich auf Konformationsänderungen der offenen Kette des Sorbitol, bzw. der Umwandlung der beiden Formen der β-D-Ribopyranose zurückzuführen sind, können diese durch die zusätzlichen unpolaren Wechselwirkungen beeinflusst werden. Jedoch ist zu beachten, dass diese Signale auf dieser Trennsäule extrem breit sind, so dass auch die Bestimmung der Asymmetrie mit großen Fehlern behaftet ist.

Einfluss des Alkylkettenspacers von ditertiären Diaminen als funktionelle Gruppe auf die Trennung von Kohlenhydraten

Durch Funktionalisierung mit einem Diamin wird nicht nur durch Wahl des Alkylspacers zwischen den beiden Aminfunktionen die hydrophoben Eigenschaften der Austauschergruppe bestimmt, sondern auch eine zweite

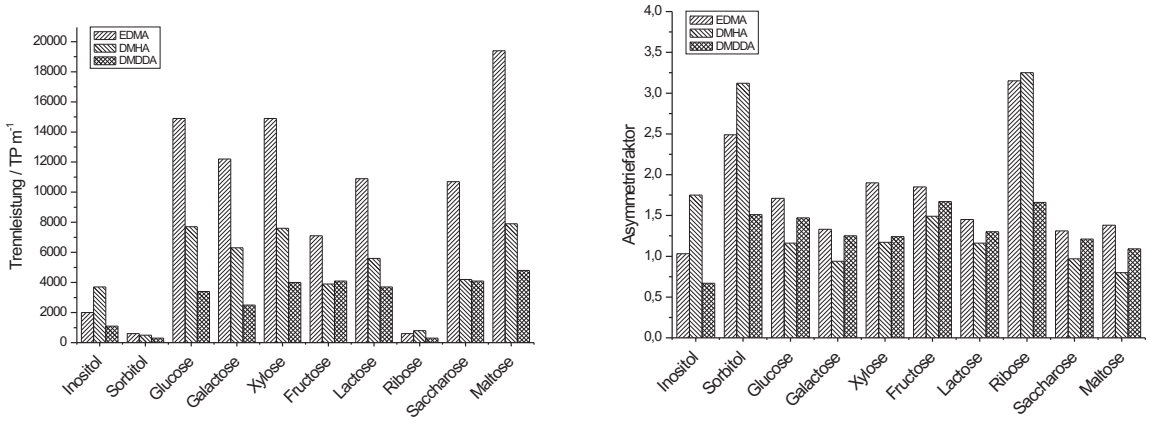


Abbildung 6.32: Vergleich der Trennleistungsdaten von Kohlenhydraten auf beschichteten Austauschern nach Funktionalisierung mit verschiedenen unpolaren Aminen. Säulen: O070905 AG EDMA, O040106 AG DMHA, O050106 AG DMDDA. Links: Trennleistung TP m^{-1}. Rechts: Asymmetirefaktor.

funktionelle Gruppe mit hoher Elektronendichte angeboten. In Abbildung 6.33 auf der nächsten Seite sind die Trennungen auf den mit TMEDA und TMHDA funktionalisierten Ionenaustauschern dargestellt. Sowohl auf dem mit TMEDA als auch auf dem mit TMHDA funktionalisierten Austauschern ist eine Trennung der Kohlenhydratmischungen möglich. Auffällig ist die nahezu gleichzeitige Elution von Sorbitol und Glucose, vor allem auf dem mit längeren Alkylspacer umgesetzten Material. Eluiert das Sorbitol aufgrund seines hohen pK_s-Wertes in der Regel deutlich vor der Glucose, so fällt das Signalmaximum des Glucosesignals nun in das stark auslaufende Signal des Sorbitols. Auch die Ribose erfährt mehr Retention und eluiert deutlich nach der Saccharose. In Abbildung 6.34 auf Seite 138 sind die Retentionsfaktoren und Selektivitätsfaktoren bezogen auf Glucose nach der Funktionalisierung mit ditertiären Diaminen mit verschieden langen Alkylspacerketten aufgeführt.

Trotz annähernd gleicher Kapazität beider Trennsäulen zeigen die Kohlenhydrate auf dem mit dem längeren Hexylspacer umgesetzten Austauscher deutlich mehr Retention. Dies kann wieder auf zusätzliche hydrophobe Wechselwirkungen mit der größeren unpolaren Austauschergruppe zurückgeführt werden. Verglichen mit den Retentionsfaktoren für einfache Austauschergruppen mit einem Amin in Abbildung 6.31 auf der vorherigen Seite liegen die Retentionsfaktoren für den kurzen Alkylrest im Amin EDMA deutlich höher als dem mit dem tertiären Diamin TMEDA. Dies kann dadurch erklärt werden, das die hohe Elektronendichte an der nicht quarternisierten zweiten Aminfunktion die positive Ladung an der quarternisierten Aminfunktion abschirmt. Ein ähnlicher, wie der in Abbildung 4.17 auf Seite 62 gezeigter Mechanismus, führt zur Blockierung der Austauschergruppe. Dieser Effekt würde mit dem Abstand der zweiten Aminfunktion deutlich abnehmen und tritt bei dem mit TMHDA funktionalisierten Material nicht mehr in Erscheinung.

Die starke Selektivitätsänderung des Sorbitols und der Ribose bei länger werdender Alkylspacerkettenlänge können komplexierenden Wechselwirkungen der zweiten, nicht quarternisierten Aminfunktion zugeschrieben werden. Wie die Funktionalisierung mit dem einfachen Amin Dimethylhexylamin (DMHA) gezeigt hat, tritt dort diese Selektivitätsänderung nicht auf. Das Retentionsverhalten von Ribose, als auch von Sorbitol, zeigt starke Änderungen in Gegenwart von Komplexbildnern, wie in Kapitel 5.3 auf Seite 90 gezeigt.

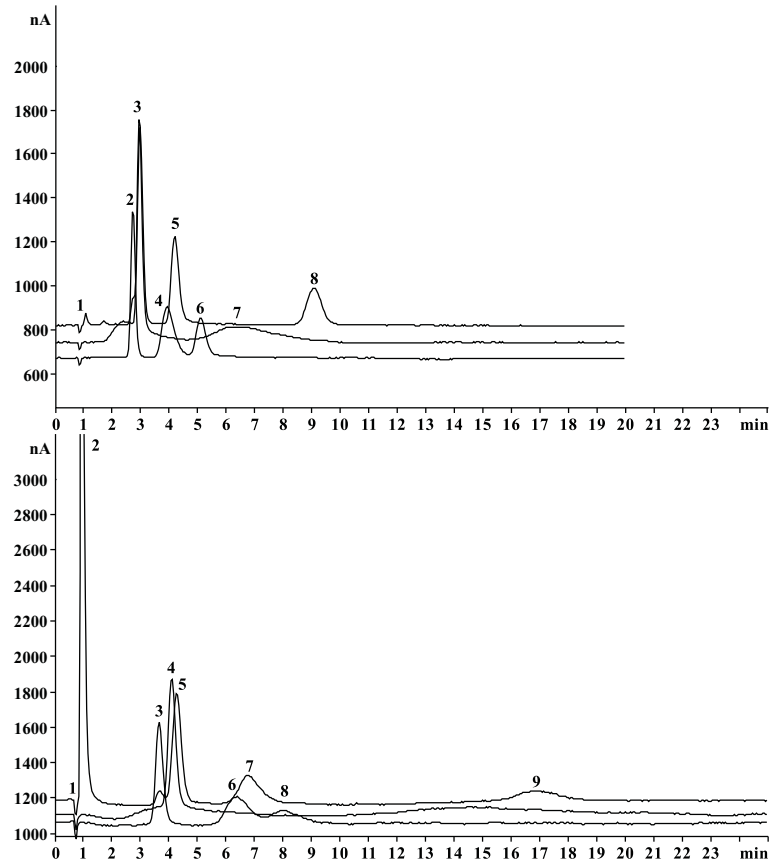


Abbildung 6.33: Trennung von Kohlenhydraten auf beschichteten Trägermaterialien nach Umsetzung mit ditertiären Diaminen als funktionelle Gruppe. Flussrate: 1 mL min^{-1}, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: Säule: O280405 AG TMEDA, 1 - Totvolumen, 2 - Sorbitol, Glucose, 3 - Galactose, Xylose, 4 - Fructose, 5 - Lactose, 6 - Saccharose. 7 - Ribose, 8 - Maltose. Unten: Säule: O081105 AG TMHDA, 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, Glucose, 4 - Xylose, 5 - Galactose, 6 - Fructose, 7 - Lactose, 8 - Saccharose. 9 - Maltose.

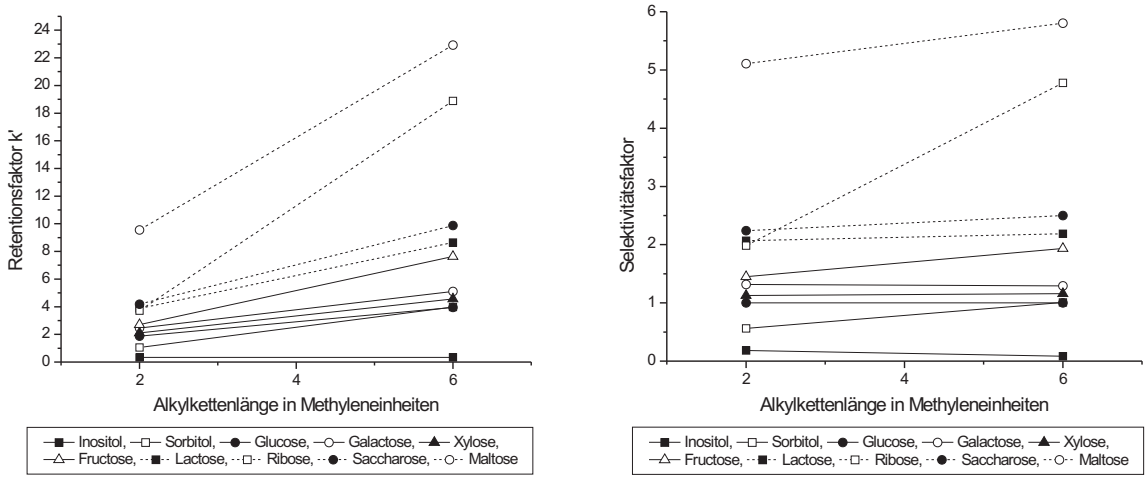


Abbildung 6.34: Vergleich der Trennleistungsdaten von Kohlenhydraten auf beschichteten Austauschern nach Funktionalisierung mit verschiedenen unpolaren Diaminen. Säulen: O280405 AG TMEDA, O081105 AG TMHDA. Links: Retentionsfaktor. Rechts: Selektivitätsfaktor.

In Abbildung 6.35 auf der nächsten Seite sind die Trennleistungsdaten und die Asymmetriefaktoren für die einzelnen Trennsäulen aufgezeigt. Mit bis zu 16000 TP m^{-1} ist die Trennleistung für eine Trennung von Kohlenhydraten in einem guten Bereich. Die Trennleistung der größeren Austauschergruppe ist für alle Analyten deutlich schlechter und beträgt weniger als die Hälfte. Dieser Effekt ist schon beim Vergleich der Alkylrestlänge von einfachen Aminen im vorangegangen Kapitel aufgetreten und kann durch die unspezifischen sekundären Wechselwirkungen neben dem reinen Ionenaustausch erklärt werden. Die Asymmetriewerte entsprechen denen bisher beobachteter Werte für beschichtete Materialien.

6.4 Oberflächenbeschichtung durch Pfropfpolymerisation von Ionomeren

Die bisher betrachteten Oberflächenfunktionalisierungen von Trägermaterialien zeichnen sich durch eine hohe erreichbare Anionenaustauschkapazität aus. Im Falle der Chloromethylierung wird durch den Einsatz von hochreaktiven Funktionalisierungsreagenzien das eingesetzte Trägermaterial stark mechanisch und chemisch beansprucht. Dies führt aufgrund der Reaktivität der Funktionalisierungreaktion zu einer unselektiven Verteilung der funktionellen Gruppen. Die hohe mechanische und chemische Belastung führt zu vielen Bruchstellen in dem Trägermaterial, welche erst durch aufwendige Aufarbeitungsmethoden beseitigt werden können. Die Beschichtung der Trägermaterialien mit Vinylbenzylchlorid führt zunächst zu einer Präfunktionalisierung des Trägermaterials durch Einführung einer Chlorgruppe, welche im Anschluss durch Umsetzung mit einem Amin zur fertigen Ionenaustauschergruppe funktionalisiert wird. Durch die Menge an zugesetztem Vinylbenzylchlorid wird die Schichtdicke und damit die maximale erzielbare Austauschkapazität bestimmt. Mit der Stärke der Schichtdicke sinkt jedoch auch die Belastbarkeit des Materials und es entstehen hohe Staudrücke, da die Stabilität der Beschichtung abnimmt.

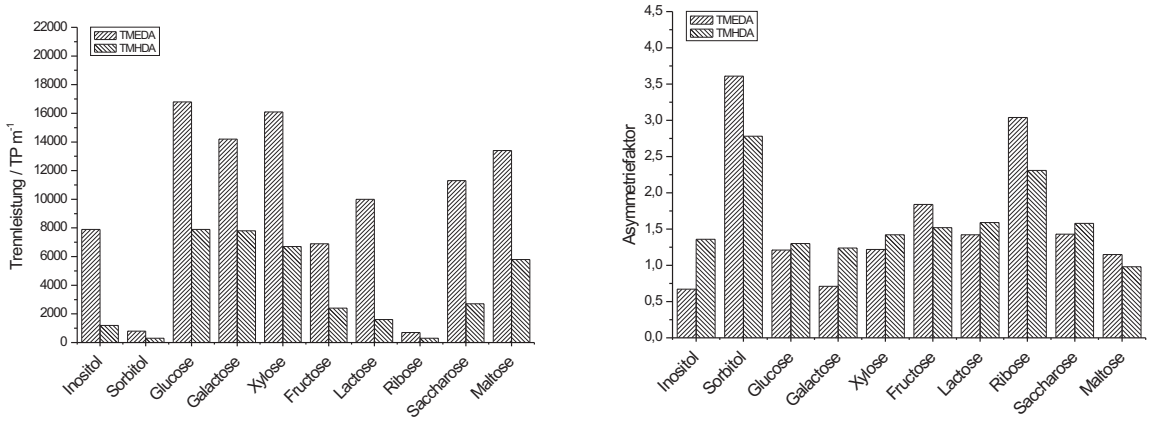


Abbildung 6.35: Vergleich der Trennleistungsdaten von Kohlenhydraten auf beschichteten Austauschern nach Funktionalisierung mit verschiedenen unpolaren Diaminen. Säulen: O280405 AG TMEDA, O081105 AG TMHDA. Links: Trennleistung TP m^{-1}. Rechts: Asymmetriefaktor.

Eine weitere Vorgehensweise zur Herstellung eines Anionenaustauschers stellt Beschichtung eines Trägermaterials durch Pfropfpolymerisation von Monomeren auf das Trägermaterial dar. In diesem Falle wird auf das Trägermaterial nicht eine Schicht aufgebracht, sondern die Monomere werden kovalent auf die Oberfläche des Trägermaterial polymerisiert. Dies führt bei längerer Reaktionszeit zu längeren Polymerketten und bei flächendeckender Durchführung zu einer geschlossen Beschichtung analog der Beschichtung mit Vinylbenzylchlorid.

Raskop untersuchte die Pfropfpolymerisation bereits funktionalisierter Monomere auf einem PS-DVB-Trägermaterial [61] für die Trennung von anorganischen Anionen. Werden anstatt unpolarer präfunktioneller Monomere, wie Vinylbenzylchlorid oder Methacrylate, tensidartige Monomere wie das in Abbildung 4.11 auf Seite 58 gezeigte VBCEDMA zur Pfropfpolymerisation eingesetzt, so wird das Kettenwachstum auf der Oberfläche des Trägermaterials unterdrückt. Durch die Tensideigenschaften ordnen sich die Monomere vor der Polymerisation in dem polaren Lösungsmittel auf dem Trägermaterial an. Der hydrophobe aromatische Bereich wird sich dem unpolaren Trägermaterial zuwenden, die polare Ionenaustauschfunktion wird von der umgebenden wässrigen Phase hydratisiert. Durch diesen stark hydrophilen Bereich wird die Anlagerung weiterer Monomermoleküle in der Nähe verhindert, da sich die Ladungen des polaren Tensidsbereich abstoßen. Ein Kettenwachstum des Monomers auf der Oberfläche wird verhindert. Es kommt nur zu einer Funktionalisierung der Oberfläche. Damit verbunden sind sehr kurze Massentransferwegen. Die tensidartigen Monomere besitzen darüber hinaus eine geringe Tendenz, in das unpolare Trägerteilchen einzudringen. Dies verhindert eine Funktionalisierung der inneren Porenstrukturen. Da sich die Austauschergruppen nur auf der Oberfläche befinden, ist die Trennleistung solcher Materialien demnach gegenüber den traditionellen Beschichtungs- oder Oberflächenfunktionalisierungsmethoden, wie die Chloromethylierung, deutlich besser .

6.4.1 Synthese der Materialien

Die Synthese aller Materialien beruht auf den Arbeiten von Raskop [61]. Die Herstellung von Anionenaustauschern durch Pfropfpolymerisation von Ionomeren verläuft in zwei Schritten. Im ersten Schritt wird das

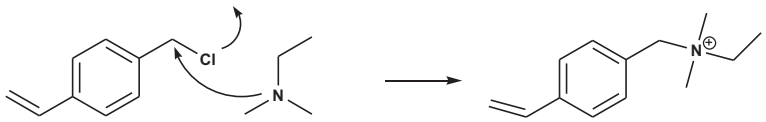


Abbildung 6.36: Herstellung des Ionomers VBCEDMA durch Umsetzung von Vinylbenzylchlorid (VBC) mit Ethyldimethylamin (EDMA).

Tabelle 6.16: Synthesebedingungen für die Pfropfpolymerisation von Trägermaterialien mit VBCEDMA. Variation der Menge an Ionomer.

$ident_{BES}$	O250805 AG	O081105 AG
PS-DVB-Copolymer	P050207 Dmsh	P050207 Dmsh
Einwaage / g	5	5
VBCEDMA / g	1,5	2,5
Ionomer/Polymerverhältnis / m/m	0,3	0,5
Radikalstarter KPS / g	1	2,5
Ethanol / mL	40	40
Wasser / mL	160	160
Reaktionszeit / h	4	4
Reaktionstemperatur / K	343	343

Ionomer hergestellt. Im folgenden Schritt wird das isolierte Ionomer durch Pfropfpolymerisation radikalisch auf die Oberfläche polymerisiert.

Die Herstellung des Ionomers VBCEDMA erfolgte im Rahmen der Dissertation von Raskop und wurde unverändert eingesetzt. Zur Herstellung des verwendeten Ionomers wird, wie in Abbildung 6.36 dargestellt, das präfunktionelle Monomer Vinylbenzylchlorid (VBC) mit dem tertiären Amin Ethyldimethylamin (EDMA) umgesetzt. Da für die Reaktion mit Inhibitor stabilisiertes VBC verwendet wurde, ist das Reaktionsprodukt nach der Reaktion als Salz isoliert worden. Dies ermöglicht zudem die Charakterisierung des Ionomers.

Die Pfropfpolymerisation auf dem Trägermaterial erfolgt ähnlich der Beschichtung von Trägermaterialien mit VBC. Das Trägermaterial wird unter Ausschluss von Sauerstoff in einer Wasser-Ethanolmischung vorgelegt und das Ionomer zugegeben. Nach Erreichen der Reaktionstemperatur von 343 K wird der Radikalstarter Kaliumperoxodisulfat (KPS) zugegeben. Nach vier Stunden Reaktionszeit wird die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und die Suspension filtriert und mehrfach mit Ethanol und Wasser gewaschen. Das erhaltene Material wird anschließend einmal Sedimentiert. Für die verschiedenen Untersuchungen wurden insgesamt zwei Ansätze mit unterschiedlichen Mengen an VBCEDMA durchgeführt. Die Daten zur Synthese sind in Tabelle 6.16 aufgelistet.

Raskop untersuchte den Einfluss der Ionomermenge auf die resultierende Anionenaustauschkapazität der erhaltenen Austauschersäulen. Er beobachtete einen linearen Zusammenhang in einem Bereich von 200–400 mg Ionomerzugabe auf 2,5 g Polymermaterial. Die erreichten Anionenaustauschkapazitäten lagen bei Einsatz von 400 mg Ionomer auf 2,5 g Polymermaterial, was einen Ionomer/Polymerverhältnis von 0,08 entspricht, für eine Trennsäule mit einer Dimension von 100 x 4 mm I.D. bei unter 100 μmol. Dies liegt deutlich unter denen im vorangegangenen Kapitel vorgestellten Ionenaustauschern, die durch Beschichtung mit VBC und anschließender Funktionalisierung mit EDMA erreicht wurden. Durch die Unterbindung von Kettenwachstum auf der Oberfläche des Trägermaterials werden deutlich weniger funktionelle Gruppen gebildet, als durch die Beschichtung

Tabelle 6.17: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zur Pfropfpolymerisation mit VBCEDMA.

ident$_S$	O151105 AG EDMA	O181105 AG EDMA	O251105 AG EDMA
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	6,7 MPa	11,2 MPa	12,6 MPa
Kapazität	189 μmol	563 μmol	673 μmol
ident$_{BES}$	O250805 AG	O250805 AG	O081105 AG
Amin	EDMA	EDMA	EDMA

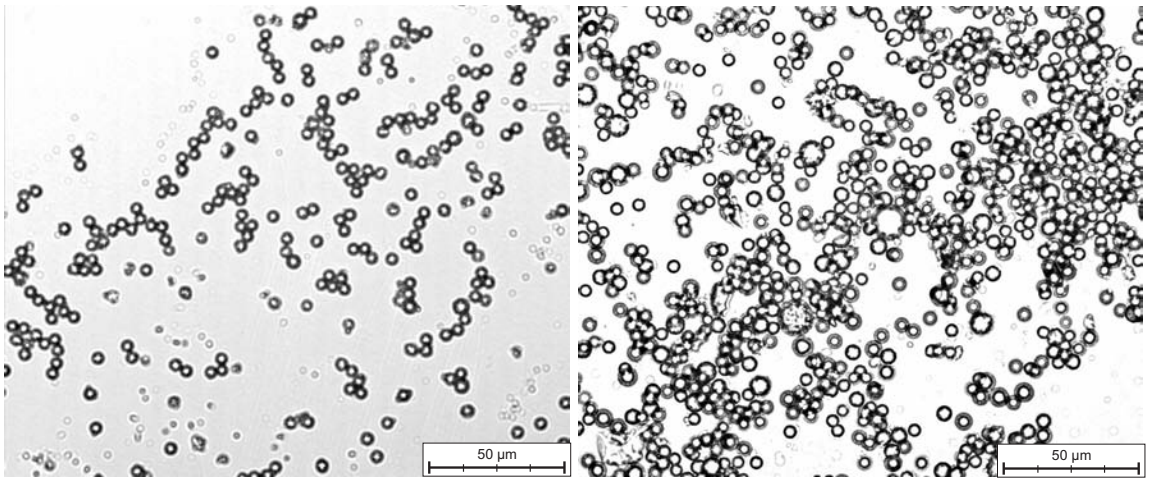


Abbildung 6.37: Lichtmikroskopieaufnahmen von Trägermaterialien vor (links) und nach (rechts) der Pfropfpolymerisierung mit VBCEDMA. 500-fache Vergrößerung.

mit VBC und anschließender Aminierung. Die nach dieser Methode erreichten Anionenaustauschkapazitäten sind für eine Trennung von Kohlenhydraten nicht ausreichend. Daher wurde versucht, die Menge an Ionomer während der Synthese zu erhöhen. Es wurden jeweils 1,5 g, bzw. 2,5 g VBCEDMA auf 5 g Polymer eingesetzt. Die erhaltenen Ionenaustauscher sind in Tabelle 6.17 aufgeführt. Zu Vergleichszwecken wurde eine Säule mit den gleichen Dimensionen von 100 x 4 mm I.D. hergestellt. Außerdem wurden, um eine hohe Anionenaustauschkapazität zu erhalten, Säulen der Dimensionen 250 x 4 mm I.D. gefertigt.

Wie an der erreichten Anionenaustauschkapazität für die Säule O151105 AG EDMA erkannt werden kann, steigt die Anionenaustauschkapazität auch in einem Bereich über einem Verhältnis von Ionomer/Polymer von 0,08 weiter an. Die erreichte Austauschkapazität hat sich bei einem Ionomer/Polymerverhältnis von 0,3 fast verdoppelt. Wird die Anionenaustauschkapazität der beiden Säulen O181105 AG EDMA und O251105 AG EDMA verglichen, so wird nur noch eine geringe Steigerung der Anionenaustauschkapazität bei einer Steigerung des Ionomer/Polymerverhältnisses von 0,3 auf 0,5 erreicht. Hier wird die Grenze der Pfropfpolymerisation von VBCEDMA auf dem Trägermaterial erreicht. Die niedrigen Staudrücke der Austauschersäulen bei einer Flussrate von 1 mL min^{-1} sprechen für eine schonende Umsetzung des Materials und sind kaum abhängig von der Menge an pfropfpolymerisiertem Ionomer. Dies zeigt sich auch in den erstellten Lichtmikroskopie- und REM-Aufnahmen. In Abbildung 6.37 sind Lichtmikroskopieaufnahmen von den mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Trägermaterialien dem Grundmaterial gegenübergestellt. In Abbildung 6.38 auf der nächsten Seite finden sich die entsprechenden Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen. Auf den Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen sind kaum Beschädigungen an den Polymerteilchen zu erkennen. Der Anteil an kleinen Teilchen

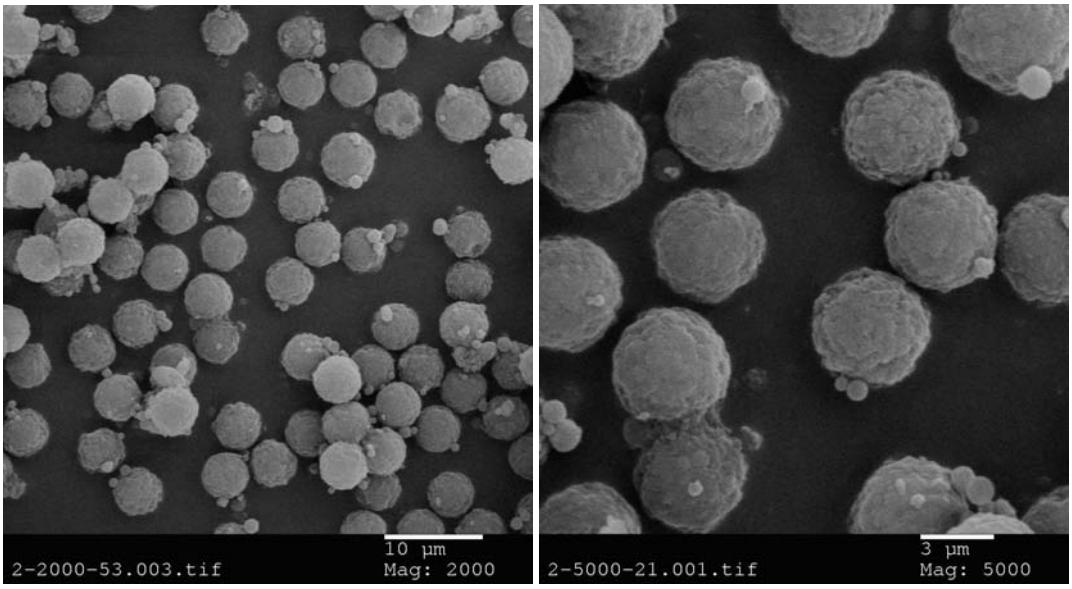


Abbildung 6.38: REM-Aufnahmen von Trägermaterialien nach der Pfropfpolymerisation mit VBCEDMA.

ist gering. Die Pfropfpolymerisation verläuft im Gegensatz zu anderen Oberflächenmodifizierungen unter sehr milden Bedingungen. Es kommt zu keiner Zerstörung des Trägermaterials durch aggressive Reagenzien.

6.4.2 Chromatographische Eigenschaften

Die hergestellten Anionenaustauscher sollen auf ihre Eigenschaften zur Trennung von Kohlenhydraten untersucht werden. Die nach dieser Methode erhaltenen Ionenaustauscher besitzen eine niedrigere Anionenaustauschkapazität als andere, durch Oberflächenfunktionalisierung hergestellte, Materialien. Daher eignen sie sich neben der Trennung von Kohlenhydraten hervorragend auch zur Trennung von anorganischen Anionen. Die Synthesebedingungen sind, ähnlich den Beschichtungsreaktionen mit Vinylbenzylchlorid, sehr schonend. Die Trennsäulen besitzen nach der Herstellung eine kurze Konditionierungszeit und generieren einen niedrigen Hintergrundstrom um 1000 nA.

In Abbildung 6.39 auf der nächsten Seite sind die erhaltenen Chromatogramme unter Standardbedingungen von 100 mmol L^{-1} Hydroxideluent und einer Flussrate von 1 mL min^{-1} für die drei hergestellten Ionenaustauscher gegenübergestellt. Die Ergebnisse der chromatographischen Trennungen sind in Tabelle 6.18 auf der nächsten Seite aufgelistet. Auch auf diesen Materialien ist eine Basislinien getrennte Bestimmung der Kohlenhydratmischungen möglich. Die Elutionsreihenfolge entspricht der auf der MetroSep Carb 1 beobachteten. Auffällig ist die sehr frühe Elution von Sorbitol und Ribose. Sorbitol eluiert nahe dem Inositol und deutlich separiert von der Glucose. Die Ribose wandert in der Elutionsreihenfolge zwischen Fructose und Lactose. Dies steht völlig im Gegensatz zu der Selektivität bezogen auf Glucose, welche auf mit Vinylbenzylchlorid beschichteten und mit dem Diamin TMHDA funktionalisierten Austauscher O081105 AG TMHDA, beobachtet wird. Dort werden diese Kohlenhydrate extrem stark retardiert und eluieren sehr spät. Warum dieser Effekt nur bei diesen beiden Kohlenhydraten auftritt kann nicht erklärt werden. Die Selektivität der anderen Kohlenhydrate zueinander wird nicht beeinflusst. Ein Unterschied zwischen den mit Vinylbenzylchlorid beschichteten und den pfropfpolymerisierten Anionenaustauschern liegt nach Raskop in der Verteilung der Austauschergruppen auf der Oberfläche [61]. Im Falle der Pfropfpolymerisation liegen die Austauschergruppen aufgrund der

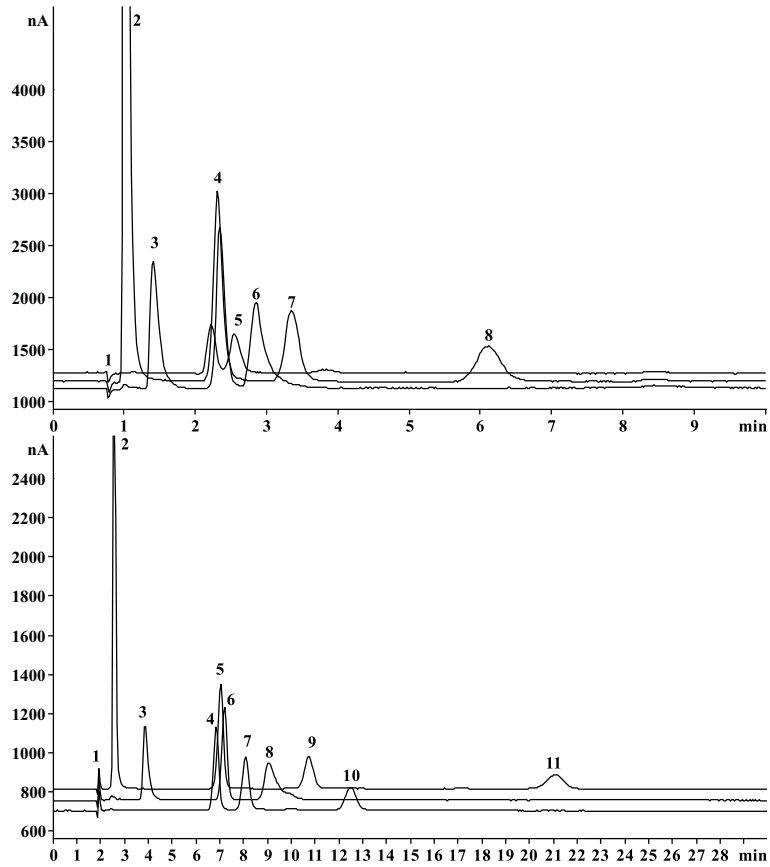


Abbildung 6.39: Trennung von Kohlenhydraten auf pfropfpolymerisierten Trägermaterialien. Eingesetztes Ionomer: VBCEDMA. Flussrate: 1 mL min^{-1}, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: Säule: O151105 AG EDMA, Dimensionen: 100 x 4 mm I.D., 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, Galactose, Xylose, 5 - Fructose, 6 - Lactose, 7 - Saccharose. 8 - Maltose. Unten: Säule: O251105 AG EDMA, Dimensionen: 250 x 4 mm I.D., 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, 6 - Xylose, 7 - Fructose, 8 - Ribose, 9 - Lactose, 10 - Saccharose. 11 - Maltose.

Tabelle 6.18: Chromatographische Daten der Trennung von Kohlenhydraten auf pfropfpolymerisierten Trägermaterialien. Eingesetztes Ionomer: VBCEDMA. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

O151105 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,33	0,80	1,82	1,93	1,99	2,27	3,23	2,63	3,88	6,73
Trennleistung TP m^{-1}	3600	6000	15800	13800	16700	11600	15000	8000	16000	16600
Asymmetriefaktor A_s	1,65	2,59	1,77	1,44	1,33	1,20	1,25	2,54	0,75	1,19
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,18	0,44	1,00	1,06	1,09	1,25	1,77	1,45	2,13	3,70

O251105 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,34	1,12	2,74	2,67	2,94	3,41	4,6	3,95	5,82	10,01
Trennleistung TP m^{-1}	13500	5600	17300	16700	18800	14800	15700	5100	13000	16600
Asymmetriefaktor A_s	1,57	2,20	0,99	0,95	1,02	1,10	1,08	3,9	1,07	0,91
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,12	0,41	1,00	0,97	1,07	1,24	1,68	1,44	2,12	3,65

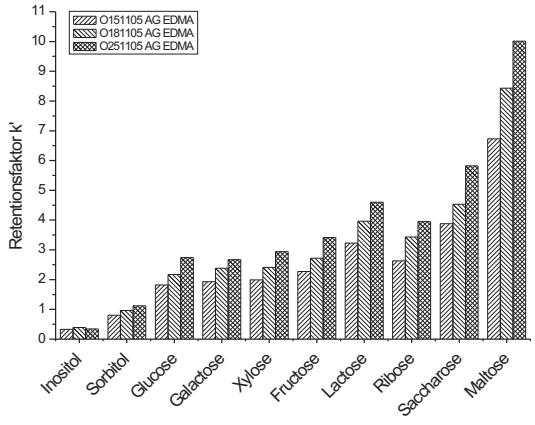


Abbildung 6.40: Vergleich der Retentionsfaktoren von Kohlenhydraten auf pfropfpolymerisierten Ionenaustauschern.

Tensidfunktion des Monomers in definierten Abständen auf der Oberfläche des Trägermaterials. Auf den mit Vinylbenzylchlorid beschichteten Phasen bildet sich eine hohe Dichte an funktionellen Gruppen, die sich auch in der hohen Kapazität niederschlägt. Der beobachtete Effekt der Selektivitätsänderung von Ribose und Sorbitol könnte daher auf die unterschiedliche lokale Kapazität an Austauschergruppen auf diesen Materialien zurückgeführt werden. Diese ist auf den pfropfpolymerisierten Trägermaterialien deutlich geringer. Die Analyten reagieren anscheinend aufgrund ihrer stärker ausgeprägten Konformationsgleichgewichte empfindlicher auf Änderungen der chemischen Umgebung der Austauschergruppe, was im Falle der Ribose auch bei anderen funktionellen Gruppen auf Basis von chloromethylierten Materialien beobachtet werden konnte. Auch die schlechte Symmetrie der Signale deutet auf diesen Sachverhalt hin.

Auf den 250 mm langen, hochkapazitiven Trennsäulen können bis auf die drei Monosaccharide Glucose, Galactose und Xylose alle Zuckeralkohole, Mono- und Disaccharide getrennt werden. In Abbildung 6.40 sind die Retentionsfaktoren für die einzelnen Säulen gegenübergestellt. Da alle Säulen mit dem gleichen Ionomer funktionalisiert wurden, ist eine Selektivitätsänderung unter den Säulen nicht zu erwarten und wird nicht beobachtet.

Die Trennleistung liegt für alle erhaltenen Ionenaustauscher sehr hoch. In Abbildung 6.41 auf der nächsten Seite ist die Effizienz der Trennung miteinander verglichen. Mit Spitzenwerten von über 22000 TP m^{-1}, auch für die 250 mm langen Trennsäulen, erreichen die Werte die von kommerziellen Austauschern, wie der MetroSep Carb 1. Damit übertreffen die Effizienzen der Trennung von Kohlenhydraten auf pfropfpolymerisierten Trägermaterialien die von mit VBC beschichteten.

Langzeitstabilität

Zur Untersuchung der Langzeitstabilität wurde auf dem Anionenaustauscher O181105 AG EDMA direkt nach der Herstellung wiederholt eine Kohlenhydratmischung aus Inositol, Galactose, Lactose und Maltose getrennt. Für die Trennungen wurde eine hohe Hydroxidkonzentration von 100 mmol L^{-1} gewählt. In Abbildung 6.42 auf der nächsten Seite sind die Chromatogramme der Messungen verglichen. Die Retentionszeiten für die

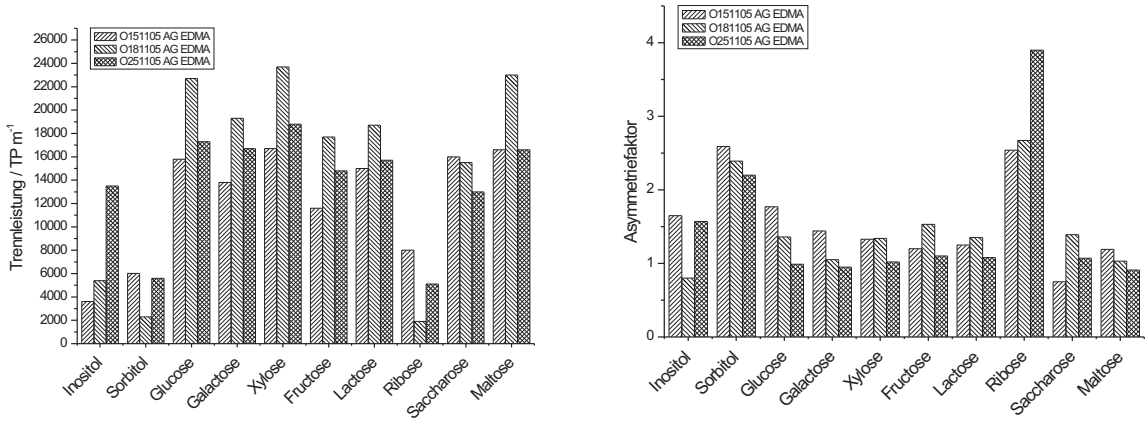


Abbildung 6.41: Vergleich der Trennleistungsdaten von Kohlenhydraten auf pfropfpolymerisierten Ionenaustauschern. Links: Trennleistung TP m^{-1}. Rechts: Asymmetriefaktor.

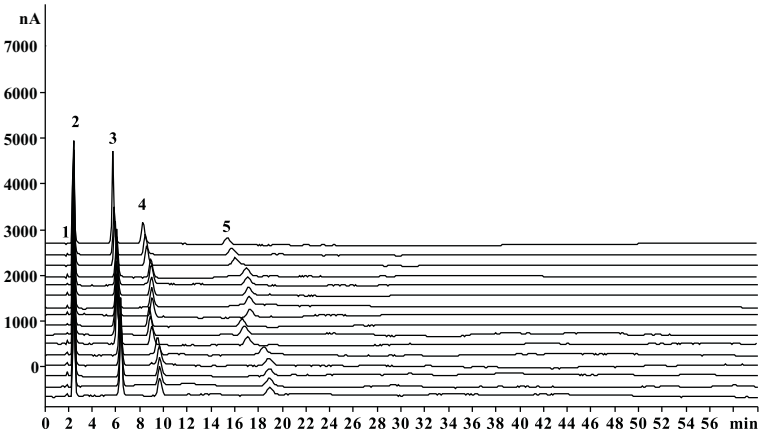


Abbildung 6.42: Langzeitstabilität der Trennung von Kohlenhydraten eines mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Materials. Säule: O181105 AG EDMA, Säule: O181105 AG EDMA, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Galactose, 4 - Lactose, 5 - Maltose.

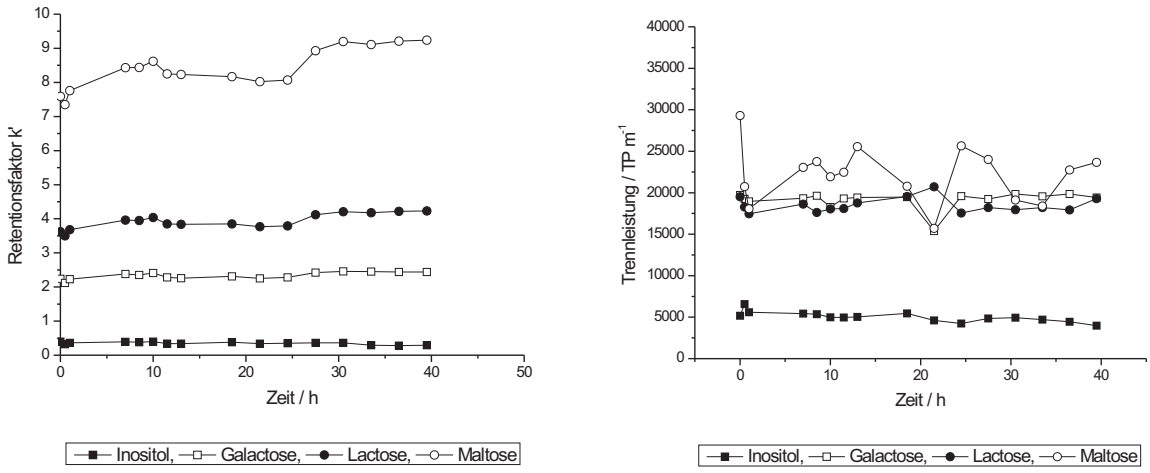


Abbildung 6.43: Langzeitstabilität eines mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Materials. Säule: O181105 AG EDMA, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid.

einzelnen Kohlenhydrate schwanken etwas zwischen den Messtagen, es ist aber kein Retentionszeitverlust beobachtbar.

In Abbildung 6.43 sind die Retentionsfaktoren und die Trennleistung des mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Materials gezeigt. Die dargestellten Werte beginnen mit der Konditionierungsphase der Trennsäule direkt nach der Herstellung. Über den gesamten Messverlauf von knapp zwei Tagen kann kein Retentionszeitverlust auf dieser Trennsäule beobachtet werden. Daraus kann geschlossen werden, das die Kapazität der Säule auch bei Verwendung von konzentrierten Hydroxideluenten über die gesamte Dauer stabil bleibt. Auch die Trennleistung bleibt über den betrachteten Zeitraum auf einem hohen Niveau von 20000 TP m^{-1} stabil. Dies deutet darauf hin, das sich, im Gegensatz zu beschichteten Phasen mit Vinylbenzylchlorid und einer hohen Schichtdicke, die Packungsgüte durch den Einsatz von Hydroxideluenten über den betrachteten Zeitraum nicht verschlechtert.

Temperaturabhängigkeit

Die Temperatur, bei der eine chromatographische Messung stattfindet, beeinflusst die Eigenschaften der Trennung von Kohlenhydraten in mehreren Bereichen. Neben den Änderung der Viskosität der mobilen Phase findet vor allem auch eine Beeinflussung von Verteilungsgleichgewichten an der stationären Phase statt [20] [2]. Die Temperatur führt auch zu Änderungen in der Selektivität in der Trennung von verschiedenen Kohlenhydraten [130]. Die Kohlenhydrate können bei höheren Temperaturen durch Konformationsänderungen völlig andere Eigenschaften aufweisen. Mit einer Erhöhung der Temperatur ändert sich auch der Grad der Deprotonierung. Dies führt ebenfalls zu Selektivitätsänderungen bei der Trennung von einigen Sacchariden. Mit einer Temperaturerhöhung steigt aber auch die Gefahr, das Umlagerungen, wie Epimerisierungen oder Tautomerisierungen, auftreten.

Da sich die nach dieser Methode synthetisierten Materialien durch eine hohe Trennleistung und Stabilität auszeichnen, eignen sie sich in besonderem Maße für eine Messung der Temperaturabhängigkeit über einen größeren Bereich. In der folgenden Versuchsreihe wurde die Temperatur während der Trennung mit Hilfe eines

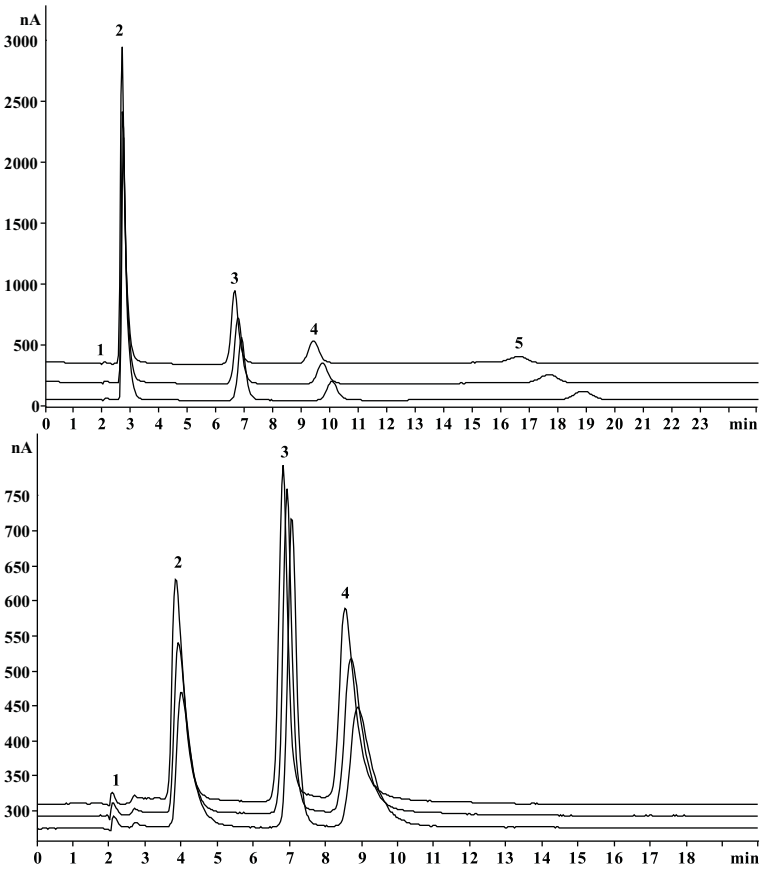


Abbildung 6.44: Chromatogramme zur Messung der Temperaturabhängigkeit der Trennung von Kohlenhydraten auf beschichteten Trägermaterialien. Säule: O251105 AG EDMA, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Galactose, 4 - Lactose, 5 - Maltose. Unten: 1 - Totvolumen, 3 - Sorbitol, 4 - Xylose, 5 - Ribose.

externen Säulenofens über eine Bereich von 305 K bis 345 K variiert. Diese hohen Temperaturen lassen sich mit dem eingebauten Thermostaten im Bioscan nicht erreichen.

In Abbildung 6.44 werden die erhaltenen Chromatogramme bei den drei verschiedenen Temperaturen von 305, 325 und 345 K für zwei Kohlenhydratmischungen miteinander verglichen. Mit steigender Temperatur ist für alle Analyten eine Abnahme der Retentionszeit zu beobachten. Durch die erhöhte Temperatur werden die Austauschprozesse an der stationären Phase beschleunigt und es kommt zu einer schnelleren Elution der Analyten. Zudem sinkt die Viskosität der mobilen Phase. Es werden über die gesamte Dauer der Messung keine Produkte von Umlagerungen beobachtet.

In Abbildung 6.45 auf der nächsten Seite sind die erhaltenen Retentionsfaktoren k' und Selektivitätsfaktoren α, bezogen auf Glucose, gegen die Temperatur aufgetragen. Es zeigt sich, dass die Retentionsfaktoren für alle Kohlenhydrate, bis auf die Zuckeralkohole, den gleichen Retentionszeitverlust bei höheren Temperaturen aufweisen. Änderungen in der Selektivität sind nicht zu beobachten. Der Unterschied im Retentionszeitverlust von den Zuckeralkoholen zu den restlichen Kohlenhydraten zeigt, dass auch die Deprotonierung der Analyten von der Temperatur abhängig ist. Die aufgrund ihrer hohen pK_s-Werte schwächer deprotonierbaren Zuckeralkohole werden von einer Temperaturerhöhung weniger betroffen, als die stärker deprotonierbaren Mono- und Disaccharide.

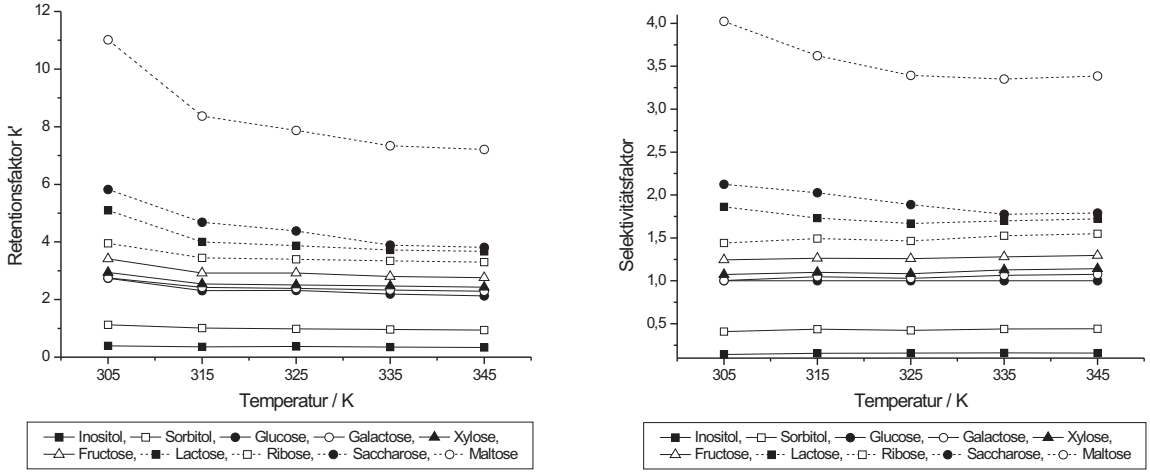


Abbildung 6.45: Auftragungen zur Temperaturabhängigkeit der Trennung von Kohlenhydraten auf die Retentionsfaktoren k' (links) und die Selektivitätsfaktoren (rechts), bezogen auf Glucose, auf einem mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Material. Säule: O251105 AG EDMA, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid.

Das Aufheizen und Abkühlen der Trennsäule führte in einem ersten Messdurchlauf zu einer kleinen Verschiebung der Retentionszeiten am Ende der Messungen gegenüber den zu Beginn gemessenen Retentionszeiten. Die Retentionszeiten bei 303 K waren nach den Messungen bei hohen Temperaturen größer als vorher. In Abbildung 6.46 auf der nächsten Seite sind die Messungen der Retentionszeiten des ersten Durchgangs der Temperaturschleife aufgeführt. In einem zweiten und dritten Durchgang konnte eine solche Abweichung nicht mehr festgestellt werden. Der Hintergrundstrom der Messung ist ebenfalls nach dem ersten Durchlaufen der Temperaturschleife deutlich abgesunken. Betrug der Hintergrundstrom vor den Messungen 1300 nA, so fällt er bei einer Temperatur von 345 K auf unter 600 nA und steigt nach dem Abkühlen auf 305 K nur noch auf 1000 nA wieder an. Dies deutet auf ein teilweises Auswaschen von Reaktionsprodukten aus der Synthese und damit verbunden einer Freisetzung von Austauschergruppen durch die erhöhte Temperatur hin. Der Ionenaustauscher war zuvor unter den normalen Temperaturbedingungen von 305 K 16 Stunden konditioniert worden und zeigte keine Schwankungen mehr im Hintergrundstrom oder den Retentionszeiten.

Die Effizienz der Trennung sollte durch eine Temperaturerhöhung aufgrund der erhöhten Austauschkinetik steigen. Dies kann, wie in Abbildung 6.47 auf der nächsten Seite gezeigt, nicht bestätigt werden. Die Trennleistung bleibt für alle Analyten im Mittel gleich, wobei die höchsten Ergebnisse bei Temperaturen um 325 K gefunden werden. Dagegen führt eine Erhöhung der Temperatur zu einer Verbesserung der Signalform für Ribose und Sorbitol. Zeigen diese beiden Analyten bei niedrigen Temperaturen meist stark asymmetrische Signale mit Asymmetriefaktoren von 2,5–3,0, so sinkt der Asymmetriefaktor bei erhöhten Temperaturen um etwa 0,5. Eine Erhöhung der Temperatur führt zu einer schnelleren Gleichgewichtseinstellung der unterschiedlichen Konformationen dieser beiden Analyten.

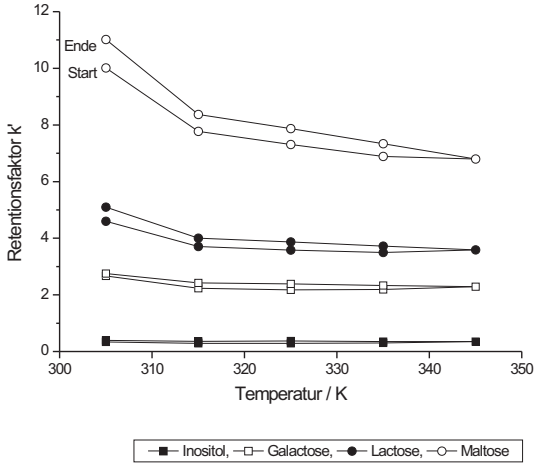


Abbildung 6.46: Temperaturabhängigkeit der Trennung von Kohlenhydraten auf die Retentionsfaktoren k' im ersten Durchlauf von kleinen nach großen Temperaturen und zurück. Die Retentionszeiten steigen nach Durchlauf der Temperaturschleife. Säule: O251105 AG EDMA, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid.

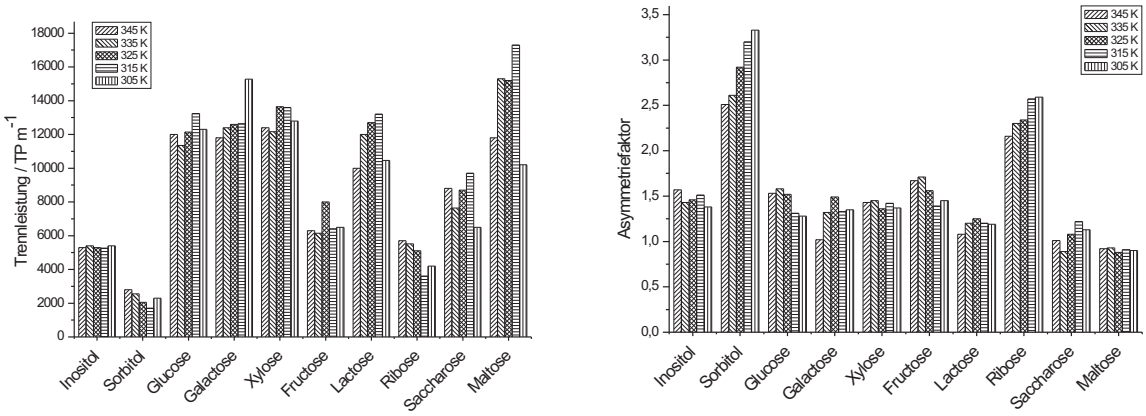


Abbildung 6.47: Temperaturabhängigkeit der Trennung von Kohlenhydraten auf die Trennleistung und die Asymmetriefaktoren auf einem mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Material. Säule: O251105 AG EDMA, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid.

Tabelle 6.19: Technische Daten der Trennsäulen zum Vergleich von unterschiedlichen Oberflächenmodifizierungsmethoden.

ident$_S$	MetroSep Carb 1	C240804 AG EDMA	O210805 AG EDMA	O181105 AG EDMA
Dimensionen	250 x 4,6 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	9,7 MPa	17,3 MPa	13,3 MPa	11,2 MPa
Kapazität	1530 μmol	984 μmol	930 μmol	563 μmol
Oberflächen-modifizierung		O270404 AG CHM chloromethyliert	O030505 AG VBC beschichtet	O250805 AG VBCEDMA pfropfpolym.
Amin	-N$^+$R$_3$	EDMA	EDMA	EDMA

6.5 Vergleich der oberflächenmodifizierten Anionenaustauscher

In den vorhergehenden Kapiteln konnte gezeigt werden, dass durch unterschiedliche Oberflächenmodifizierungsreaktionen Anionenaustauscher zur Trennung von Kohlenhydraten hergestellt werden können. Ein Vergleich der chromatographischen Leistung dieser Anionenaustauscher soll zeigen, welche Vor- und Nachteile diese Oberflächemodifikationen besitzen.

Da sich die Oberflächenmodifikationen in den einzelnen Synthesewege stark unterscheiden, ist es schwer, vergleichbare Bedingungen zu wählen. Als Beispiel führt die unterschiedliche Aufarbeitung der Materialien der Chloromethylierung zu starken Unterschieden in den Trennleistungen. Bei der Anionenaustauschkapazität von beschichteten Materialien ist die Menge der eingesetzten Beschichtungsreagenzien entscheidend. Um möglichst vergleichbare Bedingungen zu wählen, wurden die Synthesewege ausgewählt, welche zu den höchsten Trennleistungen der Austauscher führten. Als funktionelle Gruppe wurde das unpolare Ethyldimethylamin (EDMA) gewählt, da mit diesem die höchsten Anionenaustauschkapazitäten erzielt wurden. Von jeder Art des oberflächenmodifizierten Materials wurde eine 250 mm lange Säule angefertigt. Die technischen Daten der verwendeten Säulen sind in Tabelle 6.19 aufgeführt. Als Vergleich ist die kommerziell erwerbliche Trennsäule MetroSep Carb 1 aufgeführt.

Auf allen Trennsäulen wurden unter den gleichen Bedingungen die Trennung der Kohlenhydratmischungen durchgeführt. Die Flussrate betrug 1 mL min^{-1} und die Eluentkonzentration 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid. Der Staudruck aller Trennsäulen war unter diesen Bedingungen noch mit dem verwendeten System messbar. Das chloromethylierte Material liegt jedoch nahe an der Grenze für den Dauerbetrieb und eine hohe Langzeitstabilität ist mit einem Staudruck von 17,3 MPa nicht zu erwarten. Betrachtet man den Vergleich der erhaltenen Staudrücke in Abbildung 6.48 auf der nächsten Seite, so liegen die Staudrücke der beschichteten Materialien deutlich niedriger. Obwohl die Materialien weniger Aufarbeitung in Form von Sedimentation benötigen, liefert die schonende Synthese gut in Säulen überführbare Materialien. Die MetroSep Carb 1 hat den niedrigsten Staudruck der vier Trennsäulen. Diese Trennsäule besitzt aber im Gegensatz zu den anderen Trennsäulen einen Innendurchmesser von 4,6 mm. Dieser breitere Querschnitt wirkt sich positiv auf den Staudruck aus und der resultierende Druck ist somit nicht direkt vergleichbar.

Die erhaltenen Anionenaustauschkapazitäten liegen bei allen Trennsäulen auf einem hohen Niveau. Sowohl die durch Chloromethylierung modifizierte, als auch die mit VBC beschichtete Trennsäule erreicht eine Anionenaustauschkapazität von knapp 1000 μmol für eine 250 mm lange Trennsäule bei einem Innendurchmesser

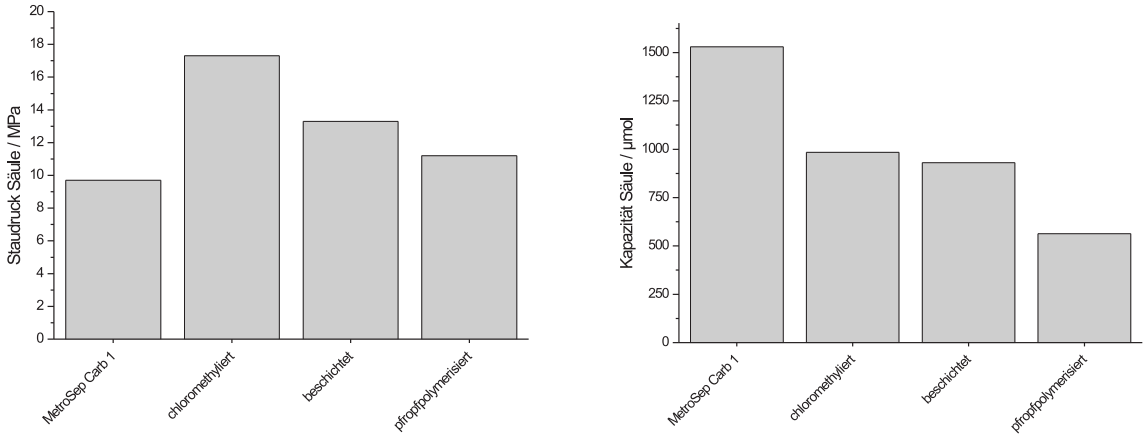


Abbildung 6.48: Vergleich des Staudrucks und der resultierenden Anionenaustauschkapazität auf oberflächenmodifizierten Anionenaustauschern.

von 4 mm. Verglichen mit der MetroSep Carb 1 liegen sie damit nur wenig unter der Anionenaustauschkapazität dieser Säule, welche mit ihren etwas größeren Säulendimensionen auch 15% mehr Austauschermaterial enthält. Die Trennsäule mit dem pfropfpolymerisierten Material erreicht reaktionsbedingt eine niedrigere Anionenaustauschkapazität. Im Vergleich zur Beschichtung mit VBC wird das Kettenwachstum, und damit die Schichtdicke, durch den Einsatz eines Ionomers herabgesetzt. Dies führt zu einer dünnen Schicht funktioneller Gruppen auf der Oberfläche und damit zu einer geringeren Anzahl an Austauschergruppen.

In Abbildung 6.49 auf der nächsten Seite sind zum Vergleich die Chromatogramme der selbst hergestellten Trennsäulen dargestellt. Eine Trennung der drei Kohlenhydratmischungen gelingt auf allen drei Trennsäulen Basislinien getrennt. Die Trennung der drei Kohlenhydrate Glucose, Galactose und Xylose ist auf keiner der drei Trennsäulen, wie auch auf der MetroSep Carb 1 in Abbildung 4.6 auf Seite 77, möglich. Die Bestimmung von Lactose und Saccharose ist aufgrund des breiten Ribosesignals auf allen Trennsäulen erschwert. Die chromatographischen Ergebnisse der gezeigten Trennungen sind in Tabelle 6.20 auf Seite 153 übersichtlich zusammengefasst.

In Abbildung 6.50 auf Seite 153 findet sich ein Vergleich der Retentionsfaktoren und der Selektivitätsfaktoren für die untersuchten Trennsäulen. Die Retentionszeiten der Analyten sind proportional zur Anionenaustauschkapazität der Trennsäulen. Die Selektivitätsfaktoren, bezogen auf Glucose, ändern sich nur wenig zwischen den verschiedenen oberflächenfunktionalisierten Säulen. Die Selektivität wird in der Trennung von Kohlenhydraten hauptsächlich durch Wahl der Eluentkonzentration und dem Aufbau der Austauschergruppe bestimmt. Beide wurden in dieser Untersuchung konstant gehalten. Einen Einfluss der Oberflächenmodifizierung der stationären Phase kann nur im Retentionsverhalten von Sorbitol und Ribose beobachtet werden. Sowohl der Zuckeralkohol Sorbitol, als auch die Ribose eluieren auf dem pfropfpolymerisierten Austauscher deutlich früher. Dies könnte, wie in Kapitel 6.4.2 auf Seite 142 ausgeführt, an der besonders gleichmäßigen Verteilung und der geringen Dichte der Austauscherfunktionen auf der Oberfläche dieses Material liegen.

Die Trennleistung der Austauschermaterialien ist sehr unterschiedlich. Die MetroSep Carb 1 erreicht für nahezu alle Kohlenhydrate eine Trennleistung von 20000–25000 TP m^{-1}. Nur für die sehr breiten Signale von Sorbitol

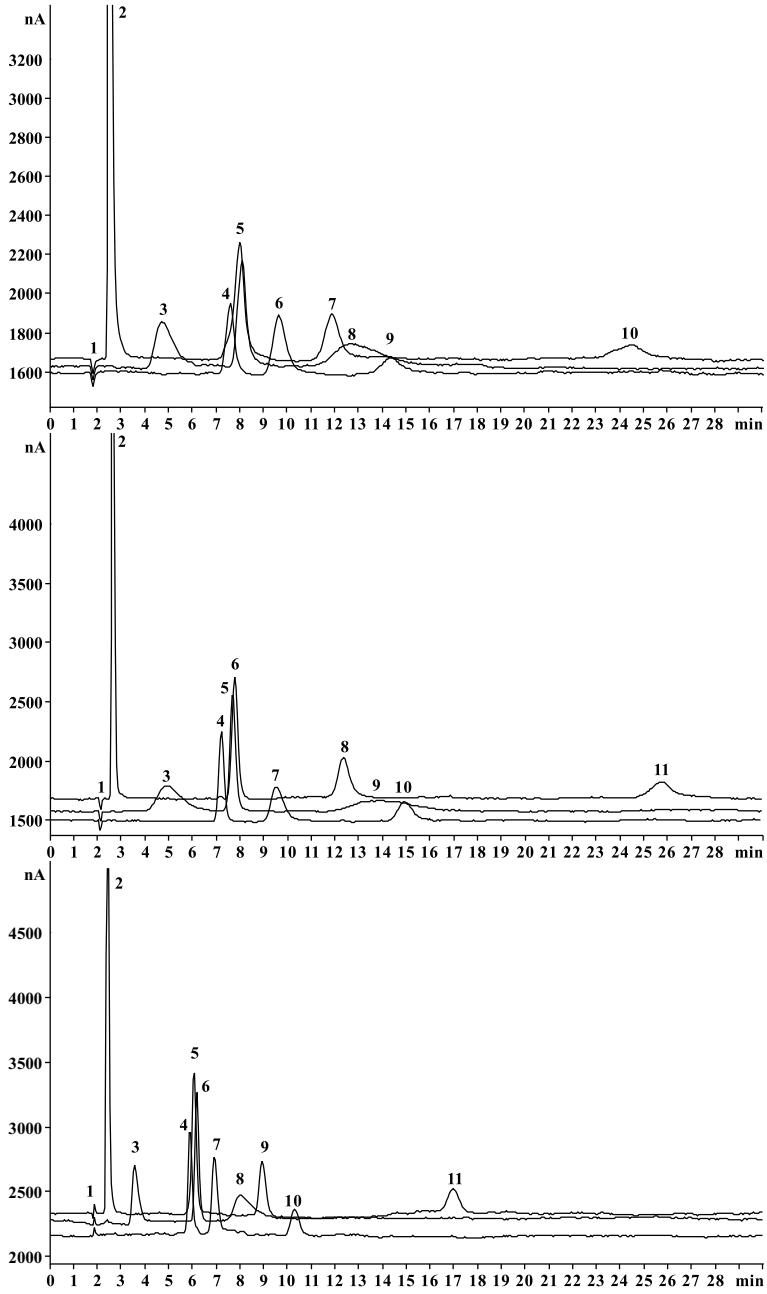


Abbildung 6.49: Chromatogramme der Trennung von neun Kohlenhydraten auf oberflächenfunktionalisierten Anionenaustauschern. Säule: Oben: chloromethyliertes Material, Mitte: Vinylbenzylchlorid beschichtet, Unten: VBCEDMA pfropfpolymerisiert, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, Xylose, 6 - Fructose, 7 - Lactose, 8 - Saccharose. 9 - Ribose, 10 - Maltose. Mitte: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Xylose, 6 - Galactose, 7 - Fructose, 8 - Lactose, 9 - Saccharose. 10 - Ribose, 11 - Maltose. Unten: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Xylose, 6 - Galactose, 7 - Fructose, 8 - Ribose, 9 - Lactose, 10 - Saccharose. 11 - Maltose.

Tabelle 6.20: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten auf oberflächenmodifizierten Materialien. Vergleich von chloromethylierten und beschichteten stationären Phasen mit der MetroSep Carb 1. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

Referenz:

MetroSep Carb 1	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,52	1,89	4,12	4,36	4,68	5,74	6,38	8,29	7,31	20,21
Trennleistung TP m^{-1}	22000	1000	26000	24000	28000	11000	16000	1000	22000	29000
Asymmetriefaktor A_s	0,96	1,89	0,84	0,84	0,81	1,06	0,90	1,51	0,89	1,00
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,13	0,46	1,00	1,06	1,14	1,39	1,55	2,01	1,77	4,91

chloromethyliert:

O240804 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,42	1,60	3,19	3,37	3,47	4,30	5,48	5,99	6,92	12,33
Trennleistung TP m^{-1}	3600	700	8300	5200	7900	4500	5900	900	3400	5400
Asymmetriefaktor A_s	1,25	2,20	1,13	0,81	1,25	1,68	1,33	1,80	1,24	0,93
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,13	0,50	1,00	1,06	1,09	1,35	1,72	1,88	2,17	3,87

VBC beschichtet:

O210805 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,27	1,29	2,39	2,66	2,59	3,48	4,80	5,41	6,02	11,09
Trennleistung TP m^{-1}	7500	200	19500	16500	16400	6100	11200	600	9900	16300
Asymmetriefaktor A_s	0,79	1,23	1,17	1,23	1,19	1,66	1,39	1,57	1,66	0,99
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,11	0,54	1,00	1,11	1,08	1,46	2,01	2,26	2,52	4,64

VBCEDMA pfropfpolymerisiert:

O181105 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,39	0,96	2,17	2,38	2,41	2,72	3,96	3,43	4,53	8,43
Trennleistung TP m^{-1}	5400	2300	22700	19300	23700	17700	18700	1900	15500	23000
Asymmetriefaktor A_s	0,80	2,39	1,36	1,05	1,34	1,53	1,35	2,67	1,39	1,03
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,18	0,44	1,00	1,10	1,11	1,25	1,82	1,58	2,09	3,88

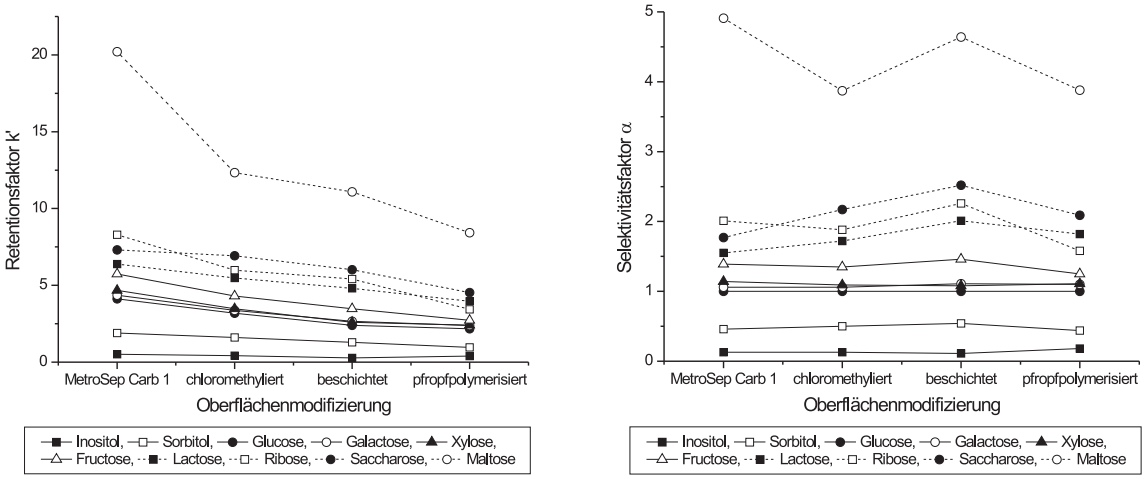


Abbildung 6.50: Vergleich der Retentionsfaktoren und Selektivitätsfaktoren, bezogen auf Glucose, von Kohlenhydraten auf oberflächenmodifizierten Anionenaustauschern.

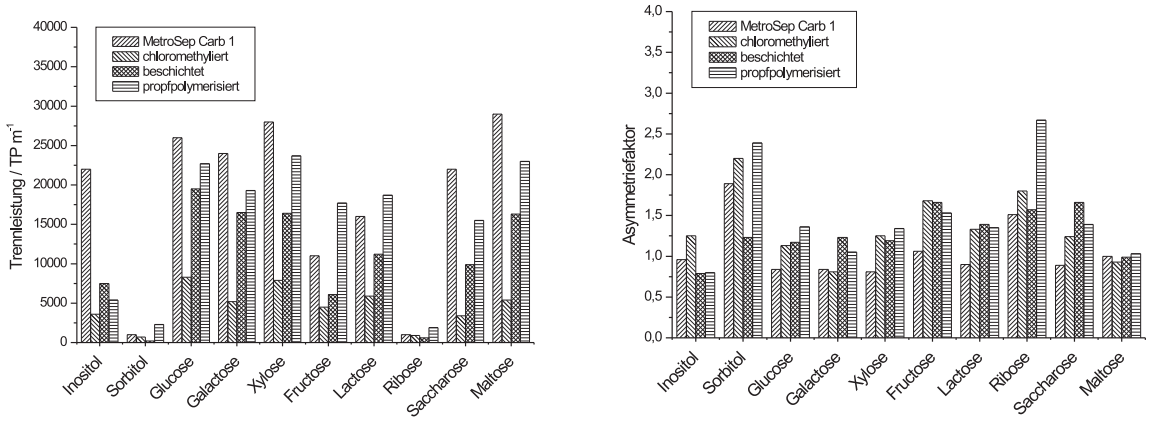


Abbildung 6.51: Vergleich der Trennleistungsdaten und der Asymmetriefaktoren von Kohlenhydraten auf oberflächenmodifizierten Anionenaustauschern.

und Ribose werden sehr niedrige Trennleistungen erhalten. Ähnliche Trennleistungen erreicht nur der pfropfpolymerisierte Anionenaustauscher. Aufgrund der geringen Schichtdicke und der gleichmäßigen Verteilung der Austauschergruppen durch die Beschichtung mit Ionomeren wird der Massentransfer an der stationären Phase stark verbessert. Auch der mit VBC beschichtete Austauscher erreicht für die Monosaccharide, mit Ausnahme von Fructose, eine hohe Trennleistung von bis zu 20000 TP m^{-1}. Die durch Chloromethylierung modifizierte Trennsäule erreicht bei diesen Säulendimensionen nur eine sehr niedrige Trennleistung. Im Gegensatz zu den 100 mm langen Trennsäulen, wo Trennleistungen über 20000 TP m^{-1} erreicht werden, liegen sie für die 250 mm lange Trennsäule unter 5000 TP m^{-1}. Das Material ist durch die Chloromethylierung schon stark beansprucht und läßt sich schwer in Säulen dieser Dimension packen. Dies führt zu dem beobachteten hohen Staudruck der Trennsäule und damit zu einer niedrigen Trennleistung. In Abbildung 6.51 befinden sich die graphischen Auftragungen für die Trennleistung und die Asymmetriefaktoren. Die Asymmetriefaktoren sind für alle Trennsäulen in etwa gleich. Sie schwanken für alle Analyten bis auf Sorbitol und Ribose, bedingt durch die sehr breiten Signale, zwischen 1,0 und 1,5 und sind damit sehr gut.

Insgesamt ist eine Trennung von Kohlenhydraten auf allen hergestellten Austauschermaterialien durchführbar. Die mit VBC beschichteten Austauscher eignen sich aufgrund ihrer hohen Anionenaustauschkapazität besser für Trennungen von Mono- und Disacchariden. Durch die höhere Kapazität können durch Anpassung des Eluenten oder der funktionellen Gruppe die leichten Selektivitätsunterschiede zwischen den sehr ähnlichen Sacchariden verstärkt werden. Diese Materialien sind leicht herzustellen. Die chloromethylierten Materialien sind sehr aufwendig in der Herstellung und Aufarbeitung. Da sie ähnliche Trenneigenschaften wie die mit VBC beschichteten Materialien aufweisen, sind die beschichteten Materialien den chloromethylierten vorzuziehen. Die besten Ergebnisse werden auf den pfropfpolymerisierten Materialien erhalten. Auf ihnen ist eine schnelle und effiziente Trennung von Kohlenhydraten möglich. Auch ist die Selektivität zwischen den Zuckeralkohlen und Kohlenhydraten erhöht, womit das Spektrum der trennbaren Analyten vergrößert wird. Diese Trennsäulen zeichnen sich außerdem durch eine leichte Herstellung und Konfektionierbarkeit aus.

7 Untersuchungen an agglomerierten Materialien

Agglomerierte Ionenaustauscher zeichnen sich im allgemeinen durch eine hohe Trenneffizienz gegenüber oberflächenfunktionalisierten Austauschermaterialien aus. Die bisher kommerziell verwirklichten Konzepte beruhen bisher alle auf kleinen, pellikularen Partikeln, im folgenden Latexpartikel genannt. Die Latexpartikel werden durch Funktionalisierung mit einem tertiären Amin mit positiven Austauscherfunktionen ausgestattet. Diese werden auf sulfonierten Trägermaterialien fixiert, wobei ein Teil der Ladung zur elektrostatischen Fixierung verwendet wird. Der restliche Teil der Ladung wird für die Anionenaustauschchromatographie zur Verfügung gestellt. Ein großer Teil der bisher kommerziell verfügbaren Materialien basiert auf sogenannten Latexaustauschern. Die von Dionex angebotene CarboPac PA Serie basiert auf Latexaustauschern mit einer Latexpartikelgröße von 40–400 nm.

Ein bisher nicht realisiertes Konzept in der Trennung von Kohlenhydraten mittels Ionenchromatographie ist die Immobilisierung von polykationischen Ketten auf negativ geladenen Trägerteilchen. Bisherige Untersuchungen scheiterten an der Synthese geeigneter Trägermaterialien für die Fixierung der polykationischen Ketten. Zudem stellt die Verwendung von hochkonzentrierten Hydroxideluenten hohe Anforderungen an die Stabilität der verwendeten Materialien.

Ziel dieser Untersuchungen ist es, die Trennung von Kohlenhydraten auf dem etablierten Konzept der Latexaustauscher mit denen von polykationischen Ketten zu vergleichen. In den folgenden Untersuchungen sollen Ionene, eine besondere Art von Polyelektrolyten auf Basis quartärer Ammoniumionen, Verwendung finden. Diese zeichnen sich durch eine einfache Synthese und ein breites Spektrum an möglichen Monomeren zur Synthese aus.

7.1 Immobilisierung von Latexpartikeln auf sulfonierten Trägermaterialien

Die Herstellung von Latexpartikeln und die Anwendungen in der Ionenchromatographie sind in der Vergangenheit Grundlage einer Vielzahl von Untersuchungen gewesen. Viele finden sich heute, geschützt durch Patente, in kommerziellen Produkten wieder. Die Synthese der Latexpartikel soll zu kleinen, runden Partikeln mit einer engen Größenverteilung führen. Aus Stabilitätsgründen werden vorzugweise quervernetzte Latexpartikel aus organischen Polymeren auf Styrolbasis hergestellt. Die eingesetzten Monomere zur Herstellung von Latexpartikeln sind in der Regel Divinylbenzol (DVB) als quervernetzendes Monomer und Vinylbenzylchlorid (VBC) als präfunktionelles Monomer. Dieses lässt sich in einem zweiten Schritt durch eine nukleophile Substitution mit einem tertiären Amin in eine quartäre Austauschergruppe umwandeln.

Tabelle 7.1: Eingesetzte Latexchargen zur Herstellung von Latexaustauschern, aus [132].

ident$_L$	Quervernetzungsgrad / %	Partikelgröße / nm vor Aminierung	nach Aminierung
MT400101	1,5	67	234
MT400101	6,9	66	140
MT400902	9,5	n.b.	n.b.
MT401902	15,0	86	133
MT401801	17,9	122	145

Die Untersuchungen zur Agglomeration von Latexpartikeln auf sulfonierten Trägermaterialien sollen sich auf wenige Gebiete beschränken und dienen hauptsächlich zum Vergleich einer neuen Art von agglomerierten Austauschern, der Immobilisierung von polykationischen Ketten auf Trägermaterialien. Auf die Herstellung und Eignung von polykationischen Ketten wird im Detail im folgenden Kapitel 7.2 auf Seite 165 eingegangen. Die Herstellung von Latexaustauschern führt zu niederkapazitiven Materialien, welche sich in der in dieser Arbeit verwendeten isokratischen Elution von Kohlenhydraten bei einer Eluentkonzentration von 100 mmol L^{-1} nur bedingt einsetzen lassen. Um die für eine Trennung ausreichende Retention zu erreichen, ist der Einsatz von groß dimensionierten (250 x 4 mm) Säulenkörpern notwendig. Die Retention ist im Falle der Latexaustauscher ebenso vom Quervernetzungsgrad der Latexpartikel abhängig. Durch den Quervernetzungsgrad wird das Quellen des Latex im Eluenten beeinflusst. Dies hat Auswirkungen auf die Dichte der Austauscherfunktionen im Latexpartikel und auf den pH-Wert an den Austauschergruppen. Der pH-Wert bestimmt den Deprotonierungsgrad der Kohlenhydrate und deren Retention.

7.1.1 Eingesetzte Materialien

Für die Herstellung eines Latexaustauschers für die Anionenchromatographie wird ein Trägerteilchen benötigt, welches anionische Funktionen auf der Oberfläche trägt. Dies wird durch totale Sulfonierung von PS-DVB-Copolymerharzen erreicht. Verschiedene Wege zur Sulfonierung solcher Materialien sind in Kapitel 4.1.3 auf Seite 55 geschildert worden. Auf dem Trägerteilchen werden kleinere, aminierte Teilchen agglomeriert. Die Herstellung dieser Teilchen erfolgt über Emulsionspolymerisation. Die Größe der Teilchen liegt um 80 nm.

Als Trägerteilchen dient ein von Schütze im Rahmen ihrer Dissertation synthetisiertes PS-DVB-Copolymer (P180302 Sna). Die Teilchengröße betrug 4,8 μm [53]. Das Trägermaterial wurde von Holland im Rahmen seiner Dissertation nach einer modifizierten Reaktionsvorschrift von Klingenberg sulfoniert [131]. Die Kationenaustauschkapazität des sulfonierten Materials betrug 2 μmol g^{-1}. Als Latexpartikel dienten verschiedene, von Raskop synthetisierte VBC-DVB-Materialien [132]. In Tabelle 7.1 sind die eingesetzten Latexchargen aufgeführt. Dabei wurden vor allem verschiedene Quervernetzungsgrade durch das Einstellen des Monomerenverhältnis von VBC zu DVB in der Synthese gewählt. Die Aminierung der Latexpartikel erfolgte durch nukleophile Substitution der Chlorgruppen mit dem Amin Ethyldimethylamin (EDMA). Vor und nach der Aminierung wurde die Partikelgröße der Latexteilchen mittels Laserlichtstreuung untersucht. Während sich die Größe der nicht aminierten Latexteilchen kaum ändert, ist eine drastische Größenzunahme der Latexpartikel bei niedrigen Quervernetzungsgraden zu beobachten. Dies ist auf die erhöhte Quellfähigkeit der Latexteilchen bei niedrigen Quervernetzungsgraden zurückzuführen. Von den hergestellten Austauschermaterialien sind ebenso

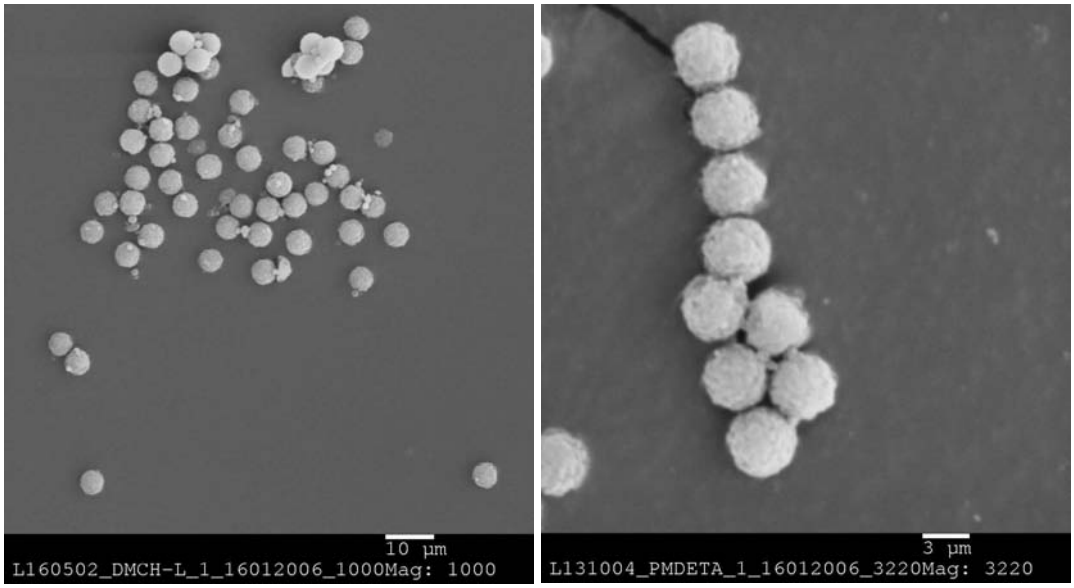


Abbildung 7.1: REM-Aufnahmen des Grundmaterials nach Agglomeration von Latexpartikeln.

Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen erstellt worden. In Abbildung 7.1 ist das Trägermaterial nach der Belegung mit Latexteilchen dargestellt. Im Vergleich zum Trägermaterial in Abbildung 6.3 auf Seite 101 können in der Partikelform nur schwer Unterschiede erkannt werden. Durch die Sulfonierung des Trägermaterials steigt der Anteil an kleinen Bruchstücken. Ein Teil dieser Bruchstücke kann durch Sedimentation entfernt werden. Ein Größenzuwachs der Teilchen, welcher durch agglomerierte Latexteilchen bis zu 0,3 μm betragen kann, ist aufgrund der Unregelmäßigkeit der Teilchen und des Auflösungsvermögens des verwendeten Rasterelektronenmikroskops nicht eindeutig feststellbar.

7.1.2 Einfluss des Quervernetzungsgrades

Bei der Trennung von Kohlenhydraten auf Latexaustauschern hat der Quervernetzungsgrad der Latexpartikel einen Einfluss auf die Retentionsfaktoren der Analyten. Im Gegensatz zu den hochquervernetzten, oberflächenfunktionalisierten Teilchen ist ein Latexteilchen bis auf den meist geringen Quervernetzeranteil ($<$5%) vollständig aus präfunktionellem Monomer wie Vinylbenzylchlorid (VBC) aufgebaut. Durch die Funktionalisierung mit Amin entsteht eine hohe Dichte an funktionellen Gruppen im Latexteilchen. Diese führt neben den kurzen Massentransferwegen zur hohen Trennleistung dieser Phasen. Gleichzeitig führt eine hohe Dichte an ionischen Gruppen zum Quellen der Latexteilchen, da die hohe Ladung innerhalb der Teilchen durch die Anlagerung von Wasser kompensiert wird. Dies ändert die Polarität der Phasen und hat damit Einfluss auf die Trennung von Kohlenhydraten.

Zur Untersuchung des Einflusses des Quervernetzungsgrades wurden fünf Latexaustauscher angefertigt. Die Quervernetzung der Latexteilchen wurde in einem Bereich von 1,5–17,9% variiert. Die Funktionalisierung erfolgte nach der im Anhang in Kapitel 8.3 auf Seite 205 gegebenen Vorschrift. Die Kenndaten der erhaltenen Ionenaustauscher sind in Tabelle 7.2 auf der nächsten Seite aufgeführt. Die Anionenaustauschkapazität sollte mit steigendem Quervernetzungsanteil geringer werden, da weniger präfunktionelles Monomer VBC in diesen Latexteilchen vorhanden ist. Die beobachteten Anionenaustauschkapazitäten für die hergestellten Austauscher

Tabelle 7.2: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zur Untersuchung des Quervernetzeranteils in Latexpartikeln.

$ident_S$	L171002 AG EDMA-L	L161002 AG EDMA-L	L110202 AG EDMA-L
Dimensionen	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	15,3 MPa	17,0 MPa	18,5 MPa
$ident_L$	MT400101	MT400601	MT400902
Quervernetzung	1,7%	6,9%	9,1%
Anionenaustauschkapazität	135 μmol	186 μmol	240 μmol
Amin	EDMA	EDMA	EDMA

$ident_S$	L151002 AG EDMA-L	L211005 AG EDMA-L
Dimensionen	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	16,3 MPa	18,2 MPa
$ident_L$	MT401501	MT401801
Quervernetzung	15,0%	17,9%
Anionenaustauschkapazität	199 μmol	201 μmol
Amin	EDMA	EDMA

zeigen jedoch keine eindeutige Abhängigkeit vom Quervernetzungsanteil. Die Trennsäule mit dem niedrigsten Quervernetzungsanteil zeigt die kleinste Kapazität. Der Staudruck ist mit bis zu 19 MPa für einen stabilen Betrieb über längere Zeit zu hoch. Die Kohlenhydrate erfahren auf diesen Trennsäulen nur wenig Retention. Die erhaltenen Retentions- und Selektivitätsfaktoren sind in Abbildung 7.2 auf der nächsten Seite aufgeführt.

Zu höheren Quervernetzungsgraden kann eine leichte Abnahme der Retention beobachtet werden. Es ist keine Abhängigkeit zu den gefundenen Anionenaustauschkapazitäten der Trennsäulen erkennbar. Die Quervernetzung der stationären Phase bestimmt den Wasseranteil der Latexpartikel. Je geringer der Wasseranteil durch eine hohe Quervernetzung ist, umso dichter ist die Verteilung der funktionellen Gruppen im Wasser. Dies soll zu einem höheren pH-Wert der stationären Phase führen und durch stärkere Deprotonierung der Kohlenhydrate die Retention erhöhen [63]. Gleichzeitig führt ein geringeres Quellen der Latexpartikel durch höhere Quervernetzung zu einer Erhöhung der Ladungsdichte. Eine Erhöhung der Polarität der stationären Phase führt zu einer höheren Elutionskraft des Eluenten an der stationären Phase, wie sie auch bei polaren Austauscherfunktionen mit Hydroxyfunktionen beobachtet wird. Eine Verringerung der Retention ist die Folge. Die sehr hohe Funktionalisierungsdichte der Latexteilchen führt zu einer geringen Retention der Kohlenhydrate, welche durch eine Erhöhung der Quervernetzung noch verstärkt wird.

Die Trenneffizienz der Ionenaustauscher bleibt über alle untersuchten Quervernetzungsgrade stabil. Die erzielten Trennleistungen liegen im Durchschnitt bei über 20000 TP m^{-1}. Auch die Asymmetriefaktoren liegen für alle Trennsäulen zwischen 1,0 und 1,5.

7.1.3 Chromatographische Eigenschaften

Um das Trennverhalten von Kohlenhydraten auf einem Latexaustauscher mit anderen agglomerierten und oberflächenfunktionalisierten Phasen vergleichen zu können, wurden zwei Latexaustauscher hergestellt. Als Amine kamen das ditertiäre Diamin Tetramethylethylendiamin (TMEDA) und Ethyldimethylamin (EDMA) zum Einsatz. Die Kenndaten der hergestellten Austauscher sind in Tabelle 7.3 auf der nächsten Seite aufgeführt. Die

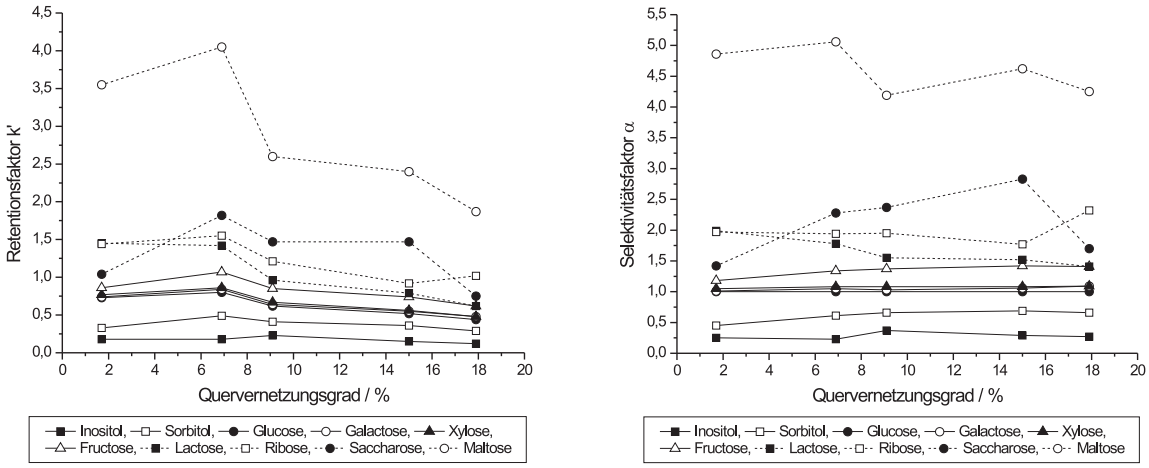


Abbildung 7.2: Vergleich der Retentionsfaktoren und Selektivitätsfaktoren von Latexaustauschern bei unterschiedlichen Quervernetzungsgraden der Latexpartikel.

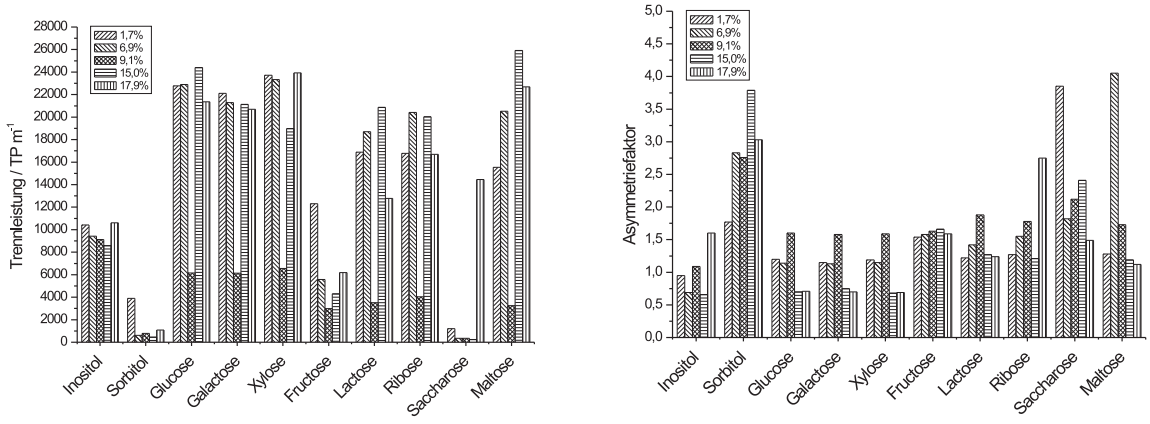


Abbildung 7.3: Vergleich der Trennleistung und Asymmetriewerte von Latexaustauschern bei unterschiedlichen Quervernetzungsgraden der Latexpartikel.

Tabelle 7.3: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zur Ermittlung der chromatographischen Eigenschaften.

ident$_S$	L030603 AG TMEDA-L	L161002 AG EDMA-L
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	12,0 MPa	17,2 MPa
ident$_L$	MT400601	MT400601
Quervernetzung	6,9%	6,9%
Anionenaustauschkapazität	38 μmol	186 μmol
Amin	TMEDA	EDMA

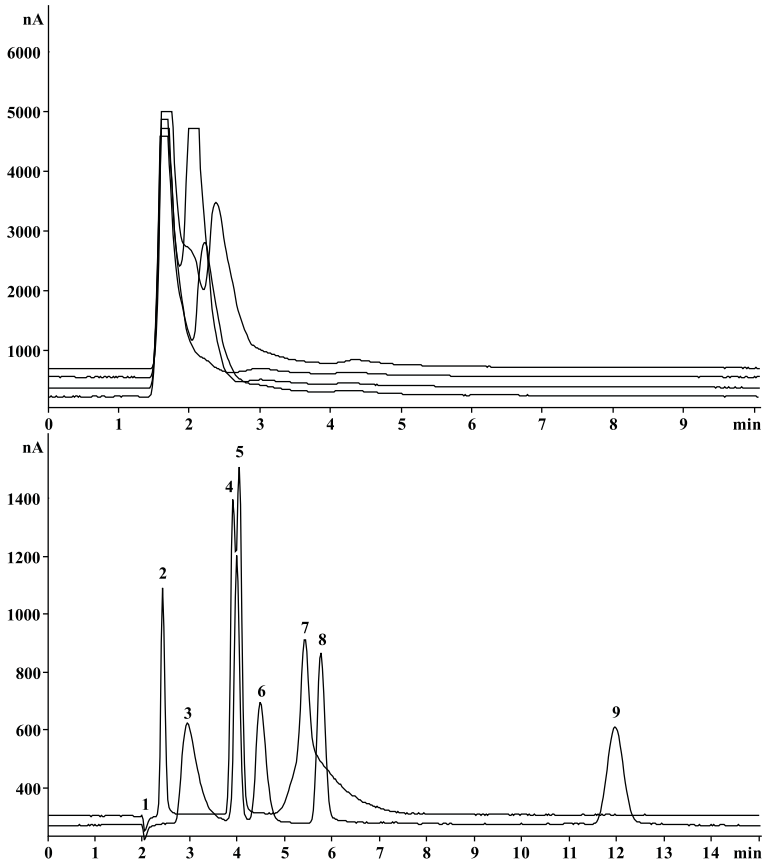


Abbildung 7.4: Trennung von Kohlenhydraten auf Latexaustauschern nach der Funktionalisierung mit dem Amin TMEDA (oben) und EDMA (unten). Säule: Oben: L030603 AG TMEDA-L, Unten: L161002 AG EDMA-L, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Unten: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, Xylose, 6 - Fructose, 7 - Lactose, Ribose, 8 - Saccharose, 9 - Maltose.

Trennung auf dem 100 mm kurzen und mit TMEDA funktionalisierten Latexaustauscher ist sehr schlecht. Die Analyten erfahren kaum Retention. Die Anionenaustauschkapazität ist sehr gering und für eine Trennung von Kohlenhydraten nicht ausreichend. Der Staudruck für die 250 mm lange und mit EDMA funktionalisierte Trennsäule ist mit 17,2 MPa sehr hoch und nicht für einen dauerhaften Betrieb in der Ionenchromatographie geeignet. Die Anionenaustauschkapazität dieser Säule ist mit 186 μmol deutlich höher. Wie in Abbildung 7.4 gezeigt, ist aber eine Trennung von allen untersuchten Kohlenhydraten auf einer Trennsäule dieses Types unter den gewählten Standardbedingungen nicht möglich. Die Trennleistung ist, verglichen mit oberflächenfunktionalisierten Materialien, deutlich höher, doch das Retentionszeitfenster ist aufgrund der niedrigen Kapazität für eine vollständige Trennung der Analyten unter den gewählten chromatographischen Bedingungen zu klein. Sowohl Sorbitol als auch Ribose zeigen stark asymmetrische Signale. Die Ergebnisse der chromatographischen Trennungen sind in übersichtlicher Form in Tabelle 7.4 auf der nächsten Seite aufgelistet.

7.1.4 Aufbau von mono- und dikationischen Austauschergruppen

Die hergestellten Latexpartikel besitzen durch die Verwendung des Monomers Vinylbenzylchlorid (VBC) eine präfunktionelle Gruppe. Durch die Umsetzung mit einem tertiären Amin wird eine monokationi-

Tabelle 7.4: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten auf Latexaustauschern. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

L161002 AG EDMA-L	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,19	0,43	0,91	0,94	0,98	1,19	1,66	1,48	1,80	4,83
Trennleistung TP m^{-1}	15300	1300	25100	21200	25700	8300	21200	800	21700	21900
Asymmetriefaktor A_s	1,20	2,55	1,17	1,19	1,31	1,57	1,18	4,83	1,15	1,09
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,21	0,47	1,00	1,03	1,08	1,31	1,82	1,63	1,98	5,31

sche Austauschergruppe generiert. Die Verwendung von ditertiären Diaminen wie Tetramethylethylendiamin (TMEDA) oder Tetramethylpropylendiamin (TMPDA) oder tritertiären Triaminen wie Pentamethyldiethylentriamin (PMDTA) führt zu neuen Austauschergruppen mit einer hohen Anzahl an Funktionalitäten. Die nach der Funktionalisierung verbleibenden tertiären Aminfunktionen können in einem zweiten Schritt mit einem Quarternisierungsmittel wie Methyliodid oder Ethylbromid in weitere quartäre Ammoniumfunktionen umgewandelt werden. Untersuchungen dieser Art auf oberflächenfunktionalisierten Materialien zur Trennung von Kohlenhydraten finden sich in Kapitel 6.2.5.

Da die in dieser Arbeit verwendeten Latexaustauscher eine zu geringe Retention für die Trennung von Kohlenhydraten aufweisen, soll in diesen Kapitel der Vergleich von mono- und dikationischen Austauschergruppen anhand der Trennung von anorganischen Anionen untersucht werden. Dafür wird der Latex in einem ersten Schritt mit einem Di- oder Triamin in einer Ethanol/Wassermischung umgesetzt. Es entstehen monokationische Austauschergruppen mit einer bzw. zwei weiteren tertiären Aminfunktionen. Im nächsten Schritt muss der Latex isoliert werden, um die überschüssige Lösung aus Ethanol/Wasser und Amin vor der Quarternisierung zu entfernen. Im Gegensatz zu oberflächenfunktionalisierten Trägermaterialien, welche sich durch ihre Größe von 5 μm einfach durch Filtration der Lösung isolieren lassen, ist die Isolierung von Latex aufgrund der kolloidalen Eigenschaften der Lösung nicht möglich. Durch Zugabe von Aceton zu einer konzentrierten Latexsuspension quellen die Partikel auf und der Latex kann ausgefällt werden. Nach Zentrifugation kann der Niederschlag isoliert werden. Die Zugabe des Quarternisierungsmittels führt zur Ausbildung der weiteren quartären Ammoniumfunktionen. Anschließend wird der Latex wieder in Wasser suspendiert. Die Latexpartikel schrumpfen wieder und die Lösung zeigt die gleichen kolloidalen Eigenschaften wie vor dem Ausfällen. Anschließend wird eine definierte Menge der Latexsuspension zum sulfonierten Trägermaterial gegeben und das Austauschermaterial in Säulenkörper gefüllt.

In einem ersten Versuch wurde der mit 3,3% DVB quervernetzte Latex L0011 B mit dem Diamin TMEDA funktionalisiert. Eine definierte Menge der Latexsuspenion wurde für die Herstellung eines Austauschers mit einer kationischen Funktion verwendet. Die Größe des Latexteilchens vor der Funktionalisierung betrug 68 nm. Die gleiche Menge Latexsuspension wurde durch Ausfällen in Aceton isoliert und anschließend mit Methyliodid als Alkylierungsreagenz umgesetzt. Der Latex wird nochmals isoliert und wieder in Wasser gelöst. Die Größenbestimmung ergibt nun einen Durchmesser von 158 nm. Auch mit diesem Latex wurde das sulfonierte Trägermaterial belegt und ein Austauscher konfektioniert. Die erhaltenen Kenndaten der Säulen sind in Tabelle 7.5 auf der nächsten Seite aufgeführt.

Beide Austauscher wurden unter gleichen Bedingungen hergestellt. Die Kapazität des Austauschers nach der Quarternisierung der zweiten Aminfunktion hat sich mit 86 μmol gegenüber 52 μmol um 65% erhöht. Die

Tabelle 7.5: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zum Aufbau von mono- und dikationischen Austauschergruppe auf einem mit einem Diamin funktionalisierten Latexaustauscher vor und nach der Quarternisierung der zweiten tertiären Aminfunktion.

ident$_S$	L111203 AG TMEDA-L	L141203 AG TMEDA-L-MeI
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	9,6 MPa	9,2 MPa
ident$_L$	L0011 B	L0011 B
Quervernetzung	3,3%	3,3%
Anionenaustauschkapazität	52 μmol	86 μmol
Amin	TMEDA	TMEDA

Tabelle 7.6: Chromatographische Daten der Trennung von sieben ausgewählten anorganischen Anionen auf einem mit einem Diamin funktionalisierten Latexaustauscher vor und nach der Quarternisierung der zweiten tertiären Aminfunktion. Eluentkonzentration: 7,5 mmol L^{-1} $\mathrm{Na_2CO_3}$, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 303 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

L111203 AG TMEDA-L	Fluorid	Chlorid	Nitrit	Bromid	Nitrat	Phosphat	Sulfat
Retentionsfaktor k'	0,00	2,31	3,55	10,35	12,83	4,10	10,82
Trennleistung TP m^{-1}	3700	25800	23100	28600	17400	26200	31800
Asymmetriefaktor A$_s$	1,33	1,45	1,62	1,33	2,29	1,29	1,17
Selektivitätsfaktor (Chlorid)	0,00	1,00	1,54	4,48	5,55	1,77	4,68

L171203 AG TMEDA-L-MeI	Fluorid	Chlorid	Nitrit	Bromid	Nitrat	Phosphat	Sulfat
Retentionsfaktor k'	0,00	4,21	3,83	10,47	10,57	6,94	54,28
Trennleistung TP m^{-1}	2000	12200	11000	9400	10000	11600	9400
Asymmetriefaktor A$_s$	4,79	0,95	1,06	1,14	1,23	0,91	0,68
Selektivitätsfaktor (Chlorid)	0,00	1,00	0,91	2,49	2,51	1,65	12,89

erhaltenen Chromatogramme der Trennung von acht anorganischen Anionen sind in Abbildung 7.5 auf der nächsten Seite aufgeführt. Sofort ersichtlich ist die drastische Selektivitätsänderung des Sulfats. Während alle anderen Ionen nur leichte Selektivitätsänderungen erfahren, erhöht sich die Retention des Sulfats auf einem Latexaustauscher mit dikationischer Funktionen drastisch. Somit eignet sich dieser Austauscher sehr gut für die Bestimmung von anorganischen Anionen in stark sulfathaltigen Proben, da die Sulfatmatrix auf dem Austauscher zurückgehalten wird. In Tabelle 7.6 sind die erhaltenen chromatographischen Ergebnisse aufgelistet. Ein Vergleich der Trennleistung zeigt, dass durch die Beanspruchung des Latex durch Ausfällen in Aceton eine Abnahme der Effizienz der Trennung nach der Quarternisierung der zweiten Aminfunktion stattfindet.

Um den Einfluss von multikationischen Austauschergruppen auf die Selektivität von anorganischen Anionen, im speziellen Sulfat, weiter zu untersuchen, wurden mit TMPDA und PMDTA weitere multifunktionelle Amine umgesetzt und anschließend quarternisiert. Außerdem wurde das sehr giftige Quarternisierungsmittel Methyliodid durch Ethylbromid ersetzt. Die Reaktivität von Ethylbromid ist jedoch etwas geringer als die des Methyliodids. Zudem wird eine Ethylgruppe an der Austauscherfunktion eingeführt, welche aber nur einen geringen Einfluss auf die Trennung der anorganischen Anionen gegenüber einer Methylgruppe haben sollte. Die Herstellung der Austauschermaterialien erfolgte analog der zuvor geschilderten Vorgehensweise. Die Kenndaten der hergestellten Austauscher sind in Tabelle 7.7 auf Seite 164 aufgeführt. Wie an der Umsetzung mit TMEDA als

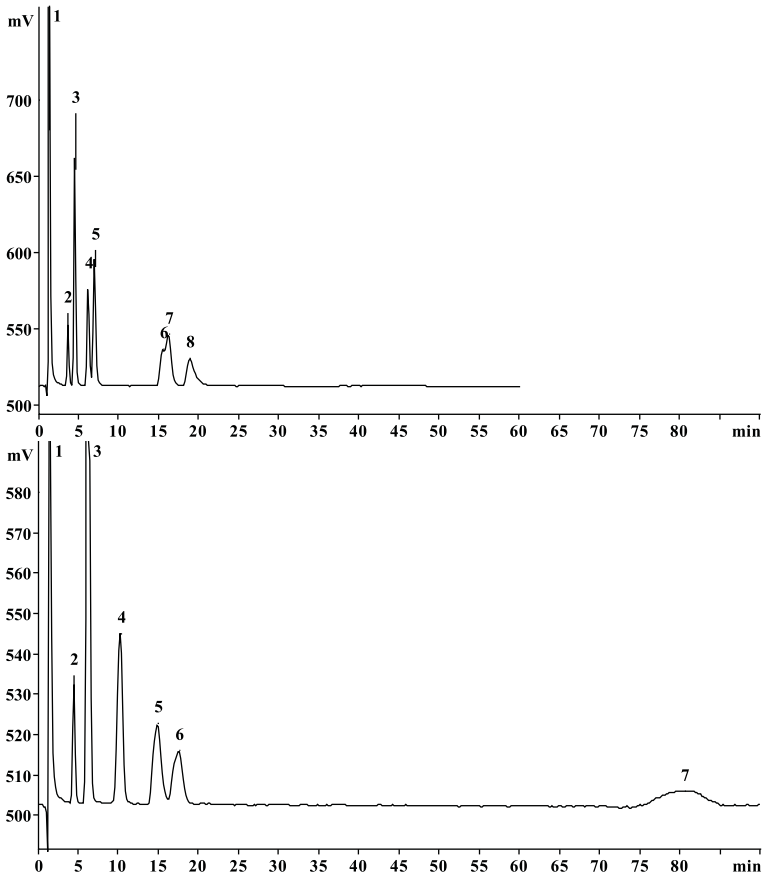


Abbildung 7.5: Trennung anorganischer Anionen auf einem mit einem Diamin funktionalisierten Latexaustauscher vor und nach der Quarternisierung der zweiten tertiären Aminfunktion. Säule: Oben: L111203 AG TMEDA-L, Unten: L171203 AG TMEDA-L-MeI, Eluentkonzentration: 7,5 mmol L^{-1} Na_2CO_3, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 303 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: 1 - Totvolumen, Fluorid, 2 - Bromat, 3 - Chlorid, 4 - Nitrit, 5 - Phosphat, 6 - Bromid, 7 - Sulfat, 8 - Nitrat. Unten: 1 - Totvolumen, Fluorid, 2 - Bromat, 3 - Nitrit, Chlorid, 4 - Phosphat, 5 - Nitrat, 6 - Bromid, 7 - Sulfat.

Tabelle 7.7: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zum Aufbau von mono- und dikationischen Gruppen mit verschiedenen Di- und Triaminen.

ident$_S$	L090904 AG TMEDA-L	L090904 AG TMEDA-L EtBr	L140904 AG TMPDA-L
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	9,0 MPa	7,0 MPa	7,0 MPa
ident$_L$	L230204 A	L230204 A	L230204 A
Quervernetzung	5,5%	5,5%	5,5%
Anionenaustauschkapazität	23 μmol	29 μmol	26 μmol

ident$_S$	L150904 AG TMPDA-L EtBr	L121004 AG PMDETA-L	L131004 AG PMDETA-L EtBr
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	6,8 MPa	9,4 MPa	8,9 MPa
ident$_L$	L230204 A	L230204 A	L230204 A
Quervernetzung	5,5%	5,5%	5,5%
Anionenaustauschkapazität	37 μmol	41 μmol	45 μmol

Diamin vor und nach der Quarternisierung erkannt werden kann, ist die Steigerung der Anionenaustauschkapazität mit Ethylbromid als Alkylierungsmittel geringer als mit Methyliodid. Der Zuwachs der Kapazität beträgt nur noch 28%. Dies ist vergleichbar mit der Steigerung der Austauschkapazität, die auf oberflächenfunktionalisierten Materialien erreicht wurde. Für die mit TMPDA und PMTDA umgesetzten Latexaustauscher wurde ein Zuwachs der Anionenaustauschkapazität von 42% für TMPDA und 9% für PMDTA erreicht.

Auf allen hergestellten Austauschern wurde unter den gleichen Bedinungen wie in Tabelle 7.6 auf Seite 162 eine Trennung von anorganischen Anionen durchgeführt. Die erhaltenen Retentions- und Selektivitätsfaktoren sind in Abbildung 7.6 auf der nächsten Seite aufgeführt. Für alle Austauscher läßt sich eine Erhöhung der Retention des Sulfats nach der Quarternisierung der weiteren Aminfunktionen beobachten. Die größte Selektivitätsänderung wird bei der Umsetzung mit TMEDA beobachtet. Der kurze Ethylenabstand führt zu einer starken Wechselwirkung mit dem Dianion Sulfat. Obwohl der Kapazitätszuwachs auf dem mit TMPDA umgesetzten Austauscher nach der Quarternisierung deutlich höher ist, wird nur eine geringe Selektivitätssteigerung beobachtet. Dabei sollte bei einem höheren Kapazitätszuwachs die Anzahl der diaktionischen Gruppen auf dem Austauscher steigen. Der längere Propylenspacer zwischen den Ammoniumfunktionen hat einen geringeren Einfluss auf die Wechselwirkung mit dem Sulfat. Das Triamin PMDTA besitzt durch seinen Aufbau drei mögliche kationische Funktionen mit einem Ethylenspacer. Dennoch wird kaum eine Selektivitätsänderung für das Sulfat beobachtet. Allerdings beträgt der Zuwachs an Kapazität dieser Austauscherfunktion nur 9%. Es sind also kaum di- oder trikationische funktionelle Gruppen gebildet worden. Interessant ist bei dieser Austauschergruppe jedoch die sehr späte Elution der polarisierbaren Anionen Nitrat und Bromid, sowohl vor, als auch nach der Quarternisierung. Durch die zwei zusätzlichen Aminfunktionen besitzt die Austauschergruppe eine hohe Elektronendichte. Diese kann in Wechselwirkung mit den leicht polarisierbaren Anionen treten und für die zusätzliche Retention verantwortlich sein.

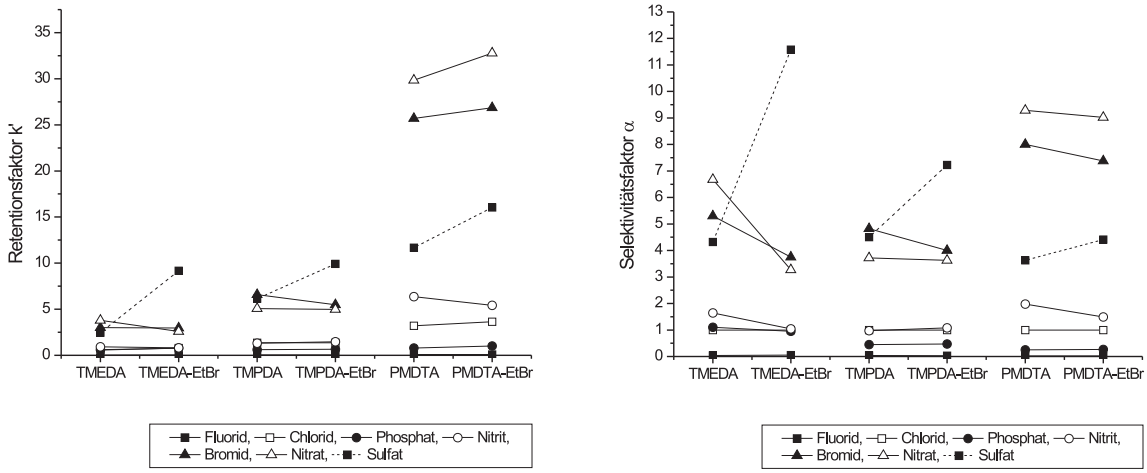


Abbildung 7.6: Vergleich der Retentions- und Selektivitätsfaktoren zum Aufbau von mono- und dikationischen Austauschergruppen mit verschiedenen Di- und Triaminen.

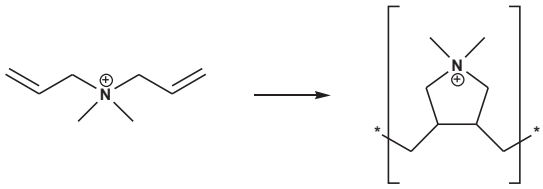


Abbildung 7.7: Synthese von Polydiallyldimethylammoniumchlorid (PDMDAA).

7.2 Immobilisierung von polykationischen Ketten auf beschichteten Trägermaterialien

Im Bereich der agglomerierten Anionenaustauscher stellen Polyelektrolyte eine interessante Alternative zur Verwendung von Latexpartikeln dar. Vor allem auf quartären Ammoniumionen basierende Polyelektrolyte können vergleichbare Eigenschaften zu Latexpartikeln haben. Im Bereich der polykationischen Ketten auf Stickstoffbasis sind Polyelektrolyte auf Basis von Polydimethyldiallylammoniumchlorid (PDMDAA) weit verbreitet. Durch radikalische Polymerisation von Diallyldimethylammoniumchlorid werden, wie in Abbildung 7.7 gezeigt, polykationische Ketten mit einer quartären Ammoniumfunktion in der Seitenkette erhalten. Diese werden z.B. von der Firma Katpol-Chemie GmbH unter dem Namen Polyquat kommerziell vermarktet. Der mittlere Molmassenbereich liegt nach Firmenangaben zwischen 3000–100000 g mol^{-1}. Der Nachteil dieser Art von polykationischen Ketten liegt in der geringen Bandbreite der zur Verfügung stehenden Monomere. Da diese Polyelektrolyten hauptsächlich großindustriell als Flockungsmittel für hydrophobe Verbindungen in der Papierindustrie eingesetzt werden, ist ein bestimmter Aufbau der polykationischen Kette nicht notwendig.

Um die Anzahl der möglichen Monomere zum Aufbau einer polykationischen Kette zu erhöhen, muss eine Synthese gewählt werden, für die einfache organische Verbindungen mit einer großen Vielzahl von variablen Funktionalitäten zur Verfügung stehen. Die Synthese von Ionenen erfüllt diese Voraussetzung. Wie in Kapitel 4.3 auf Seite 64 gezeigt, kann mit Hilfe der Menshutkin-Reaktion ein beliebiges Dihalogenalkyl mit einem

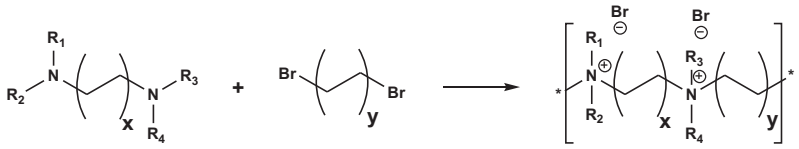


Abbildung 7.8: Darstellung von Ionenen mittels Mentshutkin-Reatkion. Alle Alkylreste R_1 bis R_4 und die beiden Spacer x und y können variiert werden.

ditertiären Diamin umgesetzt werden. Dies führt, wie in Abbildung 7.8 nochmals verdeutlicht, zu einer polykationischen Kette mit quartären Ammoniumionen in der Kette. Alle organischen Reste R_1 bis R_4 und die Spacer x und y zwischen dem Diamin, bzw. der Dihalogenfunktion, können beliebig variiert werden. Kommerziell ist vor allem einen große Bandbreite an verschiedenen Dihalogenverbindungen verfügbar.

Im Gegensatz zu Latexpartikeln lassen sich Ionene einfach in chemischen Reaktionen darstellen und isolieren. Die Darstellung von Latexpartikeln setzt eine anspruchsvolle Polymersynthese voraus. Da es sich um eine radikalische Emulsionspolymerisation handelt, müssen viele Parameter, wie die Tensidmenge, Radikalstarterkonzentration und zuletzt die eingesetzten Monomere auf die Synthese abgestimmt werden. Die Synthese der Ionene ist im wesentlichen von der Reaktivität der eingesetzten ditertiären Diamine und Dihalogenide abhängig. Daher erhalten auf der Seite der Dihalogenkomponente Bromverbindungen Vorzug gegenüber den entsprechenden Chlorverbindungen.

Die effiziente Verwendung von polykationischen Ketten als Austauschergruppen für die Ionenchromatographie scheiterte bisher an geeigneten Trägermaterialien zur Fixierung der Makromoleküle. Dies wurde bisher von Pirogov untersucht [102] [83]. Die Fixierung von polykationischen Ketten auf konventionell sulfonierten Trägermaterialien zeigte meist keine oder geringe resultierende Anionenaustauschkapazität für die Trennung von anorganischen Anionen. Für die Trennung von Kohlenhydraten liegen noch keine Untersuchungen vor. Im Gegensatz zu Latexpartikeln, welche eine räumliche Ausdehnung besitzen, haben polykationische Ketten eine eindimensionale, kettenförmige Ausdehnung. Latexpartikel können auf sulfonierten Trägermaterialien mit hoher Kapazität immobilisiert werden. Ein Teil der kationischen Funktionen des Latexpartikels wird zur elektrostatischen Bindung genutzt, ein weiterer Teil steht zum Anionenaustausch zur Verfügung. Dies wird ermöglicht, da die makroskopischen Partikel des Latex durch ihren quervernetzten Aufbau stabile dreidimensionale Sphären mit 50–400 nm Durchmesser bilden. Auf der einen Seite findet die Wechselwirkung mit dem Trägerpartikel statt, auf der anderen Seite findet der Anionenaustausch statt. Dies führt dazu, das nicht alle negativen Ladungen des Trägermaterials kompensiert werden, sodass Latexaustauscher auch nach der Belegung mit den Latexpartikeln noch über eine Kationenaustauschkapazität verfügen.

Ionene können mit ihrer molekularen Struktur eine Vielzahl möglicher Konformationen einnehmen. Diese Konformation ist außerdem, wie in Kapitel 4.3 auf Seite 64 gezeigt, vom Aufbau des Ionenes abhängig. Kurze Spacerabstände führen zu stäbchenförmigen, linearen Ketten. Lange, unpolare Spacerabstände führen zu akkordeonähnlichen, micellenartigen Strukturen. Beiden Konformationen ist gemein, das sie eine geringe räumliche Ausdehnung besitzen. Die Immobilisierung der Ionene erfolgt durch elektrostatische Bindung an die sulfonierte Trägermaterialoberfläche. Ist die Anzahl an anionischen Gruppen auf der Oberfläche des Trägermaterials zu groß, so werden alle kationischen Funktionen des Ionenes zur Bildung der elektrostatischen Bindung genutzt. Alle positiven Ladungen werden kompensiert und es stehen keine positiven Austauschergruppen zum

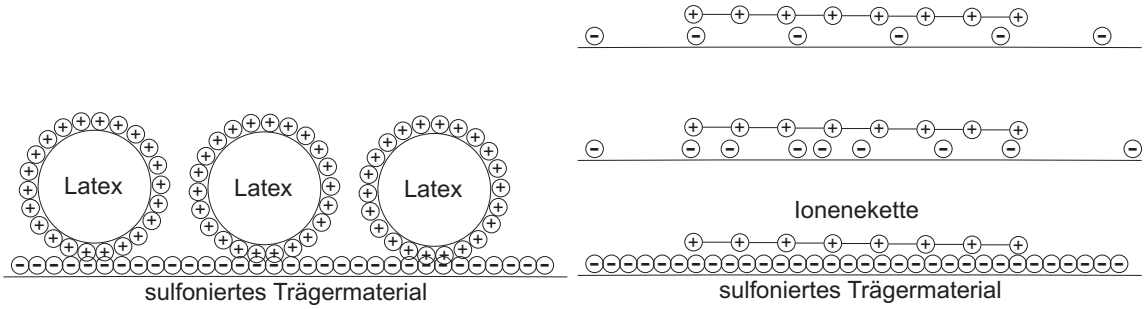


Abbildung 7.9: Vergleich der Belegung von sulfoniertem Trägermaterial mit Latexpartikeln und mit Ioneneketten. Links: Durch die räumliche Ausdehnung der Latexpartikel geht nur ein Teil der positiven Austauschergruppen eine Wechselwirkung mit dem sulfonierten Trägermatieral ein. Rechts: Von unten nach oben nimmt die Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials ab. Im mittleren Ausschnitt ist die Verteilung der negativen Gruppen inhomogen. Erst durch eine weite, vorzugsweise gleichmäßige Verteilung der Sulfonsäuregruppen werden überschüssige kationische Funktionen der Ionenekette zum Anionenaustausch erhalten.

Anionenaustausch mehr zur Verfügung. Die resultierende Anionenaustauschkapazität ist null. Eine resultierende Anionenaustauschkapazität kann erst erreicht werden, wenn die Anzahl und die Verteilung der anionischen Funktionen auf dem Trägermaterial gering genug ist, dass nur ein Teil der kationischen Funktionen des Ionene zur Bildung der elektrostatischen Bindung genutzt werden. In Abbildung 7.9 ist dieser Zusammenhang nochmals verdeutlicht.

7.2.1 Herstellung der Trägermaterialien

Ein wichtiger Bestandteil von agglomerierten Phasen ist das Trägermaterial. Die bisher zur Herstellung von Latexaustauschern verwendeten sulfonierten Materialien eignen sich aufgrund ihrer hohen Kationenaustauschkapazität nicht für die Immobilisierung von Ioneneketten. Außerdem ist die Verteilung der Sulfonsäuregruppe durch die Sulfonierung mit konz. Schwefelsäure wegen der Reaktivität der Umsetzung inhomogen. Die Herstellung von definierten, niederkapazitiven sulfonierten Trägermaterialien war bislang nicht möglich. Durch die Beschichtung von Trägermaterialien mit Ionomeren, wie in Kapitel 6.4.1 auf Seite 139 gezeigt, kann dies nun erreicht werden. Durch den Einsatz von 4-Vinylbenzolsulfonsäure-Natriumsalz (VBS) als Ionomer kann durch Pfropfpolymerisation eine Schicht von Sulfonsäuregruppen auf das Trägermaterial gebracht werden. Durch die Menge an eingesetztem Ionomer kann die Menge an Sulfonsäuregruppen einfach eingestellt werden. Auch niederkapazitive Kationenaustauscher sind auf diesem Wege zugänglich. Da auch das VBS Tensideigenschaften besitzt, verteilen sich die Monomere vor der Pfropfpolymerisation wegen der elektrostatischen Abstoßung ihrer polaren, geladenen Enden auf der Oberfläche des Trägermaterials und führen so zu einer gleichmäßigen Verteilung der Sulfonsäuregruppen auf der Oberfläche.

Zum Einsatz kommen die gleichen PS-DVB-Trägermaterialien, die auch zur Oberflächenmodifizierung eingesetzt wurden. Als Iononmer wird das kommerziell erwerbliche 4-Vinylbenzolsulfonsäure-Natriumsalz eingesetzt. Die Struktur ist in Abbildung 4.11 auf Seite 58 abgebildet. Für die folgenden Untersuchungen wurden verschiedene Kationenaustauschkapazitäten hergestellt. Jeweils 7,5 g Polymer wurden mit unterschiedlichen Mengen an Ionomer umgesetzt. Die Syntheseparameter sind in Tabelle 7.8 auf der nächsten Seite aufgeführt.

Tabelle 7.8: Synthesebedingungen für die Pfropfpolymerisation von Trägermaterialien mit VBS. Variation der Menge an Ionomer.

ident$_{BES}$	O270605 AG	O091106 AG	O270605 AG
PS-DVB-Copolymer	P0500111 Dmsh	n.b.	P050111 Dmsh
Einwaage / g	7,5	7,5	7,5
VBS / g	0,03	0,15	0,5
Ionomer/Polymerverhältnis / m/m	0,01	0,02	0,07
Radikalstarter KPS / g	0,30	0,15	0,50
Ethanol / mL	40	40	40
Wasser / mL	160	160	160
Reaktionszeit / h	4	4	4
Reaktionstemperatur / K	343	343	343
Kationenaustauschkapazität / μmol g^{-1}	4	25	62

ident$_{BES}$	O220605 AG	O240605 AG	O040705 AG
PS-DVB-Copolymer	P050111 Dmsh	P0500111 Dmsh	P0500111 Dmsh
Einwaage / g	7,5	7,5	7,5
VBS / g	0,75	1,00	2,50
Ionomer/Polymerverhältnis / m/m	0,10	0,13	0,33
Radikalstarter KPS / g	0,75	1,00	2,50
Ethanol / mL	40	40	40
Wasser / mL	160	160	160
Reaktionszeit / h	4	4	4
Reaktionstemperatur / K	343	343	343
Kationenaustauschkapazität / μmol g^{-1}	73	85	210

Von allen Beschichtungen wurden zwei identische Ansätze mit je 7,5 g Polymer in zwei Reaktoren durchgeführt und die Ansätze anschließend zusammengeführt. Durch Variation der Menge an VBS konnten Kationenaustauschkapazitäten von 4–210 μmol g^{-1} hergestellt werden. In Abbildung 7.10 auf der nächsten Seite sind die erhaltenen Kationenaustauschkapazitäten gegen das Ionomer/Polymerverhältnis gegeneinander aufgetragen. Es ist annähernd eine lineare Abhängigkeit der Kationenaustauschkapazität von der Ionomerzugabe zu beobachten. Damit ist das Verfahren gut geeignet, um Trägermaterialien mit einer definierten Kationenaustauschkapazität über einen grossen Bereich herzustellen.

Um das Verhalten von diesen niedrigkapazitiven Kationenaustauschermaterialien beurteilen zu können, wurden ebenfalls zwei hochkapazitive Materialien für die folgenden Untersuchungen verwendet. Das Material O120305 AG wurde durch Sulfomethylierung aus dem chloromethylierten Material O010704 AG CHM hergestellt. Hierbei wird zunächst die Chlormethylgruppe mit Dimethylsulfid in ein hydrophiles Zwischenprodukt umgewandelt, wodurch die anschließende Überführung in ein Sulfoniumsalz mit Natriumsulfit unter moderaten Bedingungen stattfinden kann. Die resultierende Kationenaustauschkapazität ist dann von der zur Verfügung stehenden Menge an Chlormethylgruppen im Ausgangsmaterial abhängig und kann über diese eingestellt werden. Die Versuchsdurchführung ist im Anhang in Kapitel 8.2.3 auf Seite 204 aufgeführt. Die erhaltene Kationenaustauschkapazität nach Sulfomethylierung betrug 463 μmol g^{-1}. Das zur Herstellung von Latexaustauschern verwendete hochkapazitive sulfonierte Trägermaterial P190503 BmhS2 stellt mit einer Kationenaustauschkapazität von 1980 μmol g^{-1} die obere Grenze des untersuchten Bereichs dar.

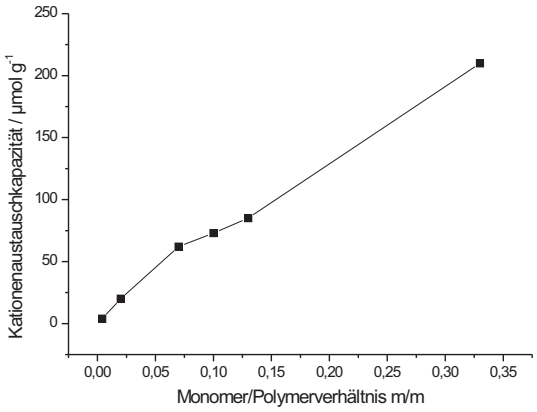


Abbildung 7.10: Abhängigkeit der resultierenden Kationenaustauschkapazität von beschichteten Trägermaterialien mit unterschiedlichen Mengen an VBS.

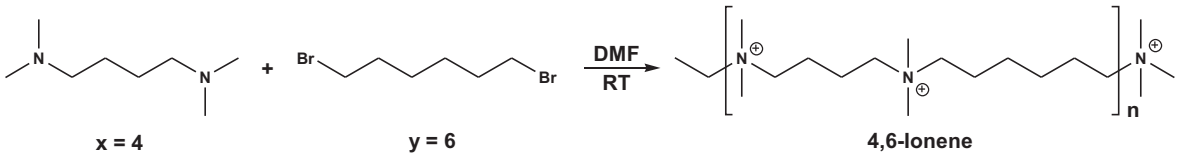


Abbildung 7.11: Synthese von Ionenen mit unterschiedlichen Alkylkettenspacerlängen x und y.

7.2.2 Herstellung der Ionene

Verglichen mit dem Aufbau von polykationischen Austauschergruppen auf einer Polymeroberfläche, in der die chemische Umgebung durch das Polymer bestimmt wird, ist die Synthese einer polykationischen Kette in Lösung eine einfach durchzuführende organische Reaktion, deren Reaktionsbedingung durch Wahl des Lösungsmittel und der Temperatur gut gesteuert werden kann. Die Synthese der Ionene in dieser Arbeit erfolgte nach den Vorschriften von Rembaum. In Form der klassischen bimolekularen Substitutionsreaktion (S_N2) von tertiären, aliphatischen α,ω-Diaminen mit aliphatischen α,ω-Dihalogeniden entstehen polykationische Ketten. Die positive Ladung ist in Form einer quartären Ammoniumgruppe in der Kette lokalisiert. Durch Wahl geeigneter Edukte kann der Spacer variiert werden. Dies verändert die Eigenschaften des Ionenes.

Die Auswahl an möglichen Monomeren für die Darstellung von Ionenen ist nahezu unbegrenzt. Um die Einsetzbarkeit von Ionenen auf Trägermaterialien zur Trennung von Kohlenhydraten zu untersuchen, sollen in dieser Arbeit der Einfluss von grundlegenden Eigenschaften der Ionene untersucht werden. Zu diesem Zweck wurden hauptsächlich Ionene mit unterschiedlich langen Alkylspacerketten hergestellt. In Abbildung 7.11 ist nochmals das Reaktionsschema verdeutlicht. Die Alkylspacerlängen x und y sind in einem weiten Bereich von 2-12 Methyleneinheiten geändert worden. Die Ionene werden nach ihren Spacerabständen x,y-Ionene genannt.

Da die Verfügbarkeit von aliphatischen α,ω-Diaminen mit höheren Alkylkettenspacerlängen nicht gegeben ist, war die Länge einer Alkylspacerkette mit Tetramethylhexylendiamin (TMHDA) auf sechs Methyleneinheiten beschränkt. Mit 1,12-Dibromdodecan stellt diese Dihalogenverbindung die längste Alkylkette zur Verfügung.

Tabelle 7.9: Synthesebedingungen für die Herstellung von Ionenen. Alle Reaktionen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

ident$_{IO}$	Diamin		Dihalogenalkyl		Lösungsmittel
IO181104 AG 2-2	Tetramethylethylendiamin	7,55 g	1,2-Dibromethan	9,93 g	50 mL DMF
IO290903 AG 2-6	Tetramethylethylendiamin	7,55 g	1,6-Dibromhexan	12,20 g	50 mL DMF
IO180205 AG 6-6	Tetramethylhexylendiamin	8,60 g	1,6-Dibromhexan	12,20 g	50 mL DMF
IO010805 AG 2-10	Tetramethylethylendiamin	7,55 g	1,10-Dibromdecan	15,00 g	100 mL DMF
IO190805 AG 3-10	Tetramethylpropylendiamin	6,50 g	1,10-Dibromdecan	15,00 g	100 mL DMF
IO181105 AG 4-10	Tetramethylbutylendiamin	3,60 g	1,10-Dibromdecan	7,50 g	50 mL DMF
IO180205 AG 6-10	Tetramethylhexylendiamin	8,60 g	1,10-Dibromdecan	15,00 g	100 mL DMF
IO090805 AG 6-12	Tetramethylhexylendiamin	4,30 g	1,12-Dibromdodecan	8,20 g	50 mL DMF

In Tabelle 7.9 sind die Daten zur Synthese dieser Ionene aufgeführt. Die Mengen an Monomeren wurde so eingesetzt, dass equimolare Lösungen von Diamin und Diahalogenalkyl verwendet wurden. Die Menge an Lösungsmittel Dimethylformamid (DMF) wurde so gewählt, das die Lösung eine Gesamtkonzentration von 1 mol L^{-1} für die einzelnen Monomere aufwies. Bei der Synthese von Ionenen mit längeren Alkylspacerketten ($y > 10$) hat es sich als vorteilhaft erwiesen, eine größere Menge an Lösungsmittel zu wählen, da die Lösung im Reaktionsverlauf sehr viskos wird. In diesem Falle wurde mit einer Gesamtkonzentration von 0,5 mol L^{-1} gearbeitet. Die Reaktionen wurden im Rundkolben bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Reaktionsdauer war je nach Reaktivität der Amine und Halogenide unterschiedlich. Im Verlauf der Reaktion trübt sich die Lösung durch die Bildung der sehr polaren, polymeren Produkte. Bei den reaktiven Monomeren mit kurzen Alkylspacerketten konnte eine schnelle Trübung der Lösung, im Falle des 2-6-Ionene schon nach wenigen Stunden, beobachtet werden. Die Reaktionen wurden meist in 24 bzw. 48 Stunden, längstens 144 Stunden für das 6-10 und 6-12 Ionene durchgeführt. Die Suspension wurde anschließend in einen großen Überschuss Aceton gegeben. Dabei fiel das Ionene als weißer Niederschlag aus. Nach Abfiltrieren und waschen mit Aceton wurden die Niederschläge im Hochvakuum getrocknet. Die Ausbeuten an getrocknetem Ionene lagen in allen Synthesen bei 80-95%. Da die polareren Ionene mit kurzen Spacerkettenabständen leicht hygroskopisch sind, erfolgte die Lagerung in gut verschließbaren Schraubdeckelgläsern.

Neben den Ionenen mit unterschiedlich langen Alkylspacerketten sind auch Ionene mit weiteren funktionellen Gruppen synthetisiert worden. Die Selektivität der Austauschergruppe wird stark von der chemischen Umgebung mitbestimmt. Im Falle von Ionenen kann durch das Einführen von weiteren Funktionalitäten in den Spacer die chemische Umgebung der quartären Ammoniumgruppe verändert werden. Es sind sehr viele Dihalogenverbindungen erhältlich, welche nicht nur über ein Alkylgerüst verfügen. Somit ist es auf einfachem Wege möglich aromatische Systeme oder Hydroxyfunktionen in das Ionene einzubauen. Um den Einfluss solcher Gruppen zu verstehen, sind in dieser Arbeit einige weitere Ionene untersucht worden. Zum einen wurde durch die Verwendung von ortho-, bzw. para-Dibromxylol ein Aromat in die Ionenekette eingefügt. Zum anderen gelang durch die Verwendung von 1,3-Dibrompropan-2-ol die Einführung einer Hydroxyfunktion. Dieses enthält eine 2-Hydroxykomponente und ist vom Substitutionsmuster an der quartären Ammoniumgruppe dem Dimethylethanolamin (DMEA) ähnlich. Die resultierenden Ionene sind in Abbildung 7.12 auf der nächsten Seite dargestellt. Die Reaktionen mit Dibromxylolen sind sehr reaktiv. Durch Zugabe der Reagenzien ist eine starke Wärmeentwicklung festzustellen. Die Vorlage mit dem Diamin wird daher im Gegensatz zu den anderen Synthesen in einem Eisbad temperiert. Das 6-3OH-Ionene ist stark polar. Daher ist die Aufarbeitung sehr schwierig. Das Ausfällen in Aceton gelingt nur in sehr trockenem Aceton, besser in vorgetrocknetem Die-

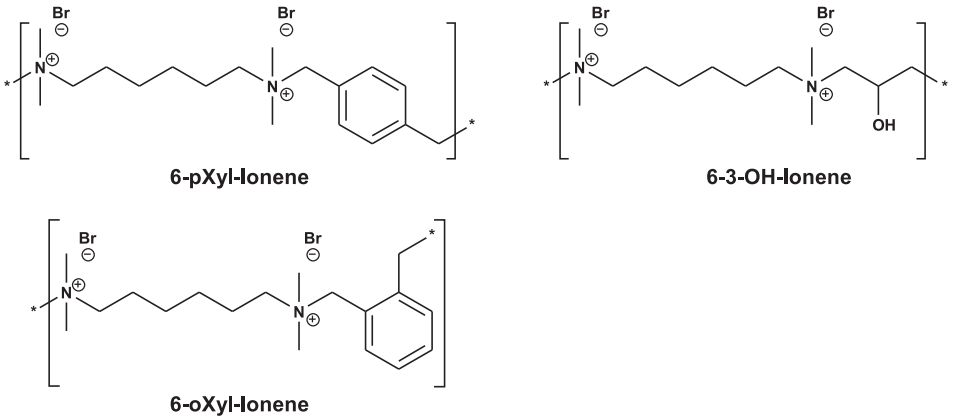


Abbildung 7.12: Ionene mit polaren und aromatischen Spacern. Links oben: Ionene aus Tetramethylhexylendiamin (TMHDA) und p-Bromxylol. Links unten: Ionene aus TMHDA und o-Bromxylol. Rechts: Ionene aus Tetramethylethylendiamin (TMEDA) und 1,3-Dibrompropan-2-ol.

Tabelle 7.10: Synthesebedingungen für die Herstellung von Ionenen mit funktionellen Einheiten im Spacer. Alle Reaktionen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

ident$_{IO}$	Diamin		Dihalogenalkyl		Lösungsmittel
IO220405 AG 6-pXyl	Tetramethylhexylendiamin	4,30 g	p-Bromxylol	6,60 g	25 mL DMF
IO040505 AG 6-oXyl	Tetramethylhexylendiamin	4,30 g	o-Bromxylol	6,60 g	25 mL DMF
IO220405 AG 6-3OH	Tetramethylhexylendiamin	4,30 g	1,3-Dibrompropan-2-ol	5,42 g	25 mL DMF

thylether. Das Reaktionsprodukt ist stark hygroskopisch und muss gut verschlossen aufbewahrt werden. Die Ausbeute ist deutlich geringer und beträgt nur 40%. Die verwendeten Syntheseparameter sind in Tabelle 7.10 aufgelistet.

7.2.3 Belegung des Trägermaterials mit Ionene

Zur Immobilisierung des Ionenes auf dem Trägermaterial wird eine definierte Menge an Ionene in Form einer Lösung auf das Trägermaterial gegeben. Für die Durchführung bieten sich zwei Wege an. Zum einen kann zunächst das Trägermaterial in einen Säulenkörper gefüllt werden. Anschließend wird die Ionenelösung durch den Säulenkörper gepumpt. Da eine höhere Temperatur die kinetischen Prozesse der Belegung wie auch die Konformation der Ionene beeinflusst, kann dieses bei erhöhter Temperatur in einem Säulenofen durchgeführt werden. Dies wird im folgenden dynamische Belegung genannt. Daneben kann die Belegung auch zuvor in einer Suspension des Trägermaterials erfolgen. Hierfür wird das Trägermaterial in einer definierten Menge Wasser suspendiert und anschließend mit der Ionenelösung versetzt. Auch hier bietet es sich an, die Belegung bei erhöhter Temperatur durchzuführen.

Die Temperatur während der Belegung mit Ionene nimmt großen Einfluss auf Konformation des Ionenes während der Belegung. Pirogov untersuchte die Trenneigenschaften von anorganischen Anionen bei unterschiedlichen Belegungstemperaturen von 303 K und 343 K [102]. Die Trenneffizienz konnte bei erhöhten Temperaturen während der Belegung deutlich verbessert werden. Auch die Retentionsfaktoren für die untersuchten anorganischen Anionen stiegen an. Pirogov führt dies auf die flexible Struktur der Ioneneketten zurück, die vor allem

Tabelle 7.11: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen bei unterschiedlichen Belegungsarten und Temperaturen.

ident$_S$	IO060202 6-10	IO060116 6-10	IO060111 6-10
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	13,4 MPa	7,3 MPa	7,1 MPa
Kationenaustauschkapazität	25 μmol	25 μmol	25 μmol
Anionenaustauschkapazität	141 μmol	137 μmol	150 μmol
ident$_{BES}$	O091106 AG	O091106 AG	O091106 AG
Ionene	6-10	6-10	6-10
Zugabe an Ionene	500 mg	500 mg	500 mg
Art der Belegung	dynamisch	Suspension	Suspension
Belegungstemperatur	343 K	303 K	343 K
Belegungszeit	840 min	30 min	30 min

im Falle von langkettigen Spacern zwischen den Stickstofffunktionen, zu unterschiedlichen Konformationen führen kann. Durch die Änderung der Temperatur entspannt sich die Konformation der Ioneneketten und die Bildung von größeren micellaren Strukturen wird ermöglicht. Somit steigt die räumliche Ausdehnung der Ionene und damit auch die Anzahl an positiven Austauschergruppen, die für den Ionenaustausch zur Verfügung stehen. Diese Konformation wird nach dem Abkühlen beibehalten und führt zu höheren Retentionsfaktoren. Durch die erhöhte Temperatur wird die Belegung ebenfalls einheitlicher. Dies führt zur verbesserten Trennleistung.

Es wurden insgesamt drei Ionenaustauscher hergestellt, um die Abhängigkeit der Trennleistung von der Belegungsart und der Temperatur zu untersuchen. Alle Trägermaterialien werden mit 6-10-Ionene belegt. Die Daten der Belegung sind in Tabelle 7.11 aufgeführt. Für die dynamische Belegung wurden zunächst 500 mg Ionene in 50 mL Wasser gelöst und bei Raumtemperatur im Kreislauf durch die Trennsäule gepumpt. Jedoch stieg der Staudruck schnell von 6,7 MPa für den angefertigten Kationenaustauscher auf über 20 MPa an. Der Ionenaustauscher konnte nicht weiter vermessen werden. Der in der Tabelle aufgeführte zweite Ansatz wurde bei erhöhter Temperatur von 343 K und einer stark verdünnten Ionenelösung (500 mg auf 500 mL) durchgeführt. Auch hier steigt der Staudruck der Trennsäule stetig im Verlauf der Belegung von 6,5 MPa für den gepackten Kationenaustauscher auf 10,7 an. Nach der Umstellung auf einen Hydroxideluenten und einer Konditionierungsphase von 60 min erreichte der Staudruck 13,4 MPa. Zur Belegung des Trägermaterials in einer wässrigen Suspension wurde dieses in 40 mL Wasser suspendiert und anschließend 500 mg Ionene, gelöst in 10 mL Wasser, zugegeben. Nach Abtrennen des Rückstandes wird das Material mit Wasser gewaschen und eine Trennsäule angefertigt. Die Konditionierung mit Hydroxideluent verlief ohne Druckänderung. Die Ergebnisse der chromatographischen Trennungen sind in Tabelle 7.12 auf der nächsten Seite aufgelistet.

Durch die dynamische Belegung werden die höchsten Retentionszeiten erzielt. Eine Trennung der vier Kohlenhydrate ist, wie in Abbildung 7.13 auf Seite 174 dargestellt, möglich. Jedoch ist die Trennleistung schlechter als bei der Belegung in Suspension. Dies spricht für eine uneinheitliche Belegung des Trägermaterials mit Ionene. Auch die Form der Signale zeigt eine deutliche Tendenz zu Doppelpeaks. Die Packungsgüte verschlechtert sich während der Belegung. Dies wird auch durch den steigenden Staudruck während der Belegung bestätigt. Die Belegung des Trägermaterials in Suspension bei Raumtemperatur ergibt bei deutlich weniger Retention für die Analyten ein ähnliches Ergebnis in der Trennleistung. Erst die Belegung bei erhöhter Temperatur in Suspension

Tabelle 7.12: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten zur Belegung von Trägermaterialien mit 6-10-Ionene. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

dynamische Belegung:

IO060202 6-10	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,34	0,82	2,20	2,22	2,20	2,59	4,10	4,80	5,10	8,38
Trennleistung TP m^{-1}	1900	1900	2600	2900	2200	1700	2500	2100	2500	2100
Asymmetriefaktor A_s	2,10	2,03	1,35	1,58	1,43	1,57	1,36	2,89	1,13	1,20
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,15	0,37	1,00	1,01	1,00	1,18	1,86	2,18	2,32	3,81

Suspension bei Raumtemperatur:

IO060116 6-10	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,30	0,53	1,05	1,00	1,04	1,21	1,51	1,69	1,74	2,70
Trennleistung TP m^{-1}	1500	1800	2100	3200	3000	1700	3700	2100	3500	4900
Asymmetriefaktor A_s	1,97	2,31	1,21	1,87	1,75	1,74	1,83	2,69	1,35	1,53
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,29	0,50	1,00	0,95	0,99	1,15	1,44	1,61	1,66	2,57

Suspension bei 343 K:

IO060111 6-10	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,27	0,71	1,76	1,79	1,78	2,11	3,11	2,35	3,95	6,22
Trennleistung TP m^{-1}	5300	3400	11900	14600	16200	11400	13800	4800	11700	16500
Asymmetriefaktor A_s	1,57	3,69	1,91	1,55	1,45	1,54	1,26	4,37	1,22	1,14
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,15	0,40	1,00	1,02	1,01	1,20	1,77	1,34	2,24	3,53

führt zu einer deutlichen Erhöhung der Trennleistung. Auch die Retentionszeiten steigen gegenüber der Belegung bei Raumtemperatur. Für alle folgenden Untersuchungen wurden die Säulen in Suspension bei erhöhter Temperatur von 343 K durchgeführt.

Von den in Suspension belegten Ionenaustauschern wurden REM-Aufnahmen vor und nach der Belegung erstellt. Diese sind in Abbildung 7.14 auf Seite 175 gezeigt. Durch die Belegung mit Ionenen ist keine Veränderung auf dem Material erkennbar. Auch eine Vergrößerung des Durchmessers der Teilchen durch die Belegung ist nicht feststellbar. Die Ionene liegen als flache Schicht auf dem Trägermaterial.

7.2.4 Einfluss der Kapazität des Trägermaterials

Die Kapazität des Trägermaterials sollte einen großen Einfluss auf die resultierende Anionenaustauschkapazität nach der Belegung mit Ionene haben. Ist die Kationenaustauschkapazität zu hoch, so verbleiben keine freien positiven Ladungen zum Anionenaustausch. Ist die Kapazität zu niedrig, werden die Ionene nicht dauerhaft elektrostatisch gebunden und können von den Kationen im Eluenten mit der Zeit von der Säule eluiert. Zudem nimmt die Menge an Ionene, die gebunden werden kann, bei sinkender Kationenaustauschkapazität ab. Im folgenden sollen drei Verfahren getestet werden, um Ionene auf Trägermaterialien zu fixieren. Zunächst können die Ionene auf reinen Trägermaterialien ohne anionische Funktionen mit Hilfe eines Tensids fixiert werden. Die mit VBS pfropfpolymerisierten Austauscher dienen als Trägermaterialien mit einer gut einstellbaren, niedrigen Kationenaustauschkapazität. Zuletzt können auch die auf konventionelle Weise sulfonierten oder durch Sulfomethylierung hergestellten hochkapazitiven Materialien mit Ionene belegt werden.

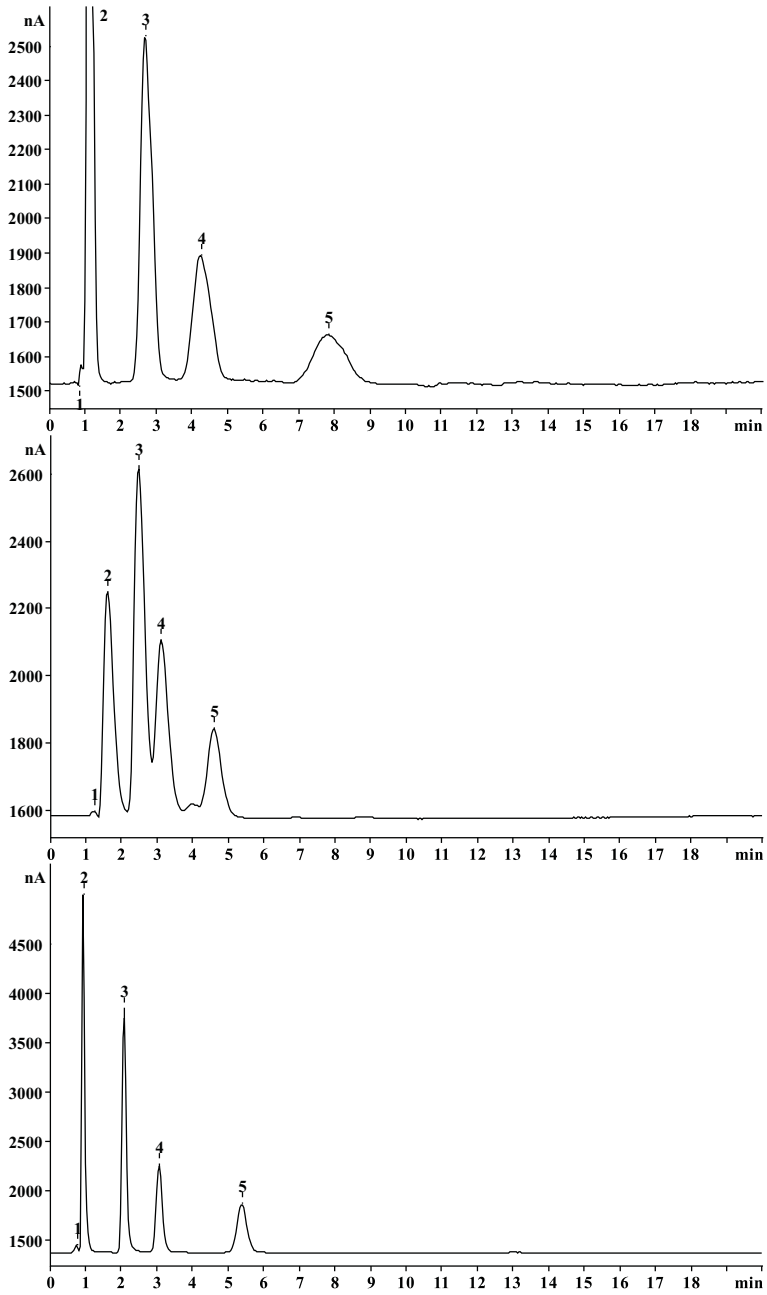


Abbildung 7.13: Vergleich der Trennung von vier Kohlenhydraten bei unterschiedlichen Belegungsarten mit 6-10-Ionene. Oben: Durch dynamische Belegung bei erhöhter Temperatur von 343 K. Mitte: In Suspension bei Raumtemperatur. Unten: In Suspension bei erhöhter Temperatur von 343 K. Säule: Oben: IO060202 6-10, Mitte: IO060116 6-10, Unten: IO060111 6-10, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Galactose, 4 - Lactose, 5 - Maltose.

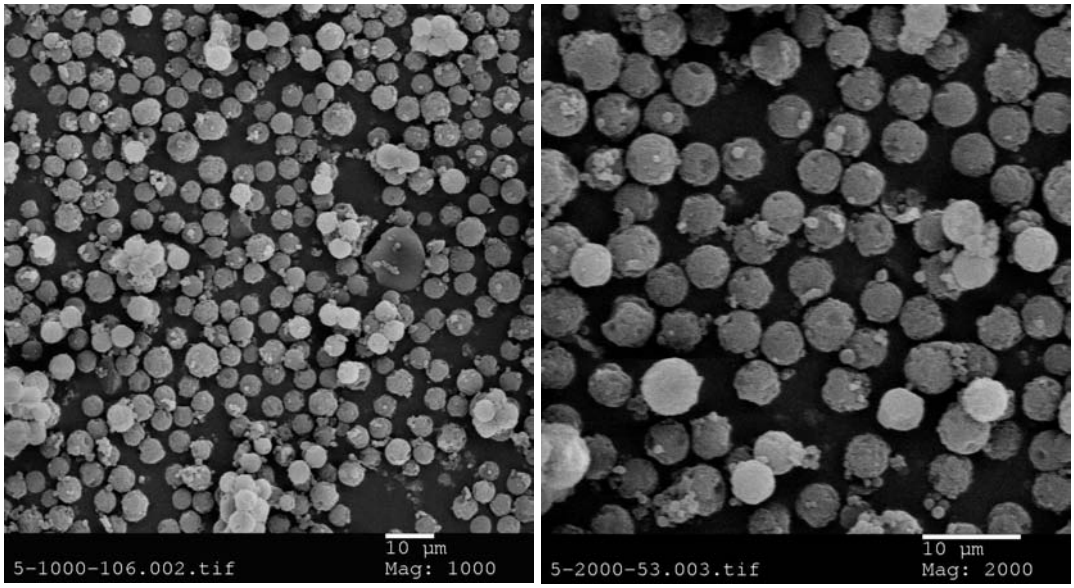


Abbildung 7.14: REM-Aufnahmen des Grundmaterials nach der Beschichtung mit VBS (links) und nach der Belegung mit 6-10-Ionene (rechts).

Immobilisierung von Ionenen mittels eines Tensids auf nicht funktionalisierten Trägermaterialien

Besitzt das Trägermaterial gar keine anionischen Funktionen, so ist eine Immobilisierung der Ionene aufgrund von elektrostatischen Wechselwirkungen nicht möglich. Die polaren, polykationischen Ketten finden keine Möglichkeit der Wechselwirkung mit dem unpolaren Trägerteilchen. Eine einfache Möglichkeit, das Trägermaterial für die Ionene zugänglich zu machen liegt in der Verwendung eines Tensids. Wird zu einer Lösung aus Ionenen ein anionisches Tensid gegeben, so findet eine Komplexbildung statt. Als anionisches Tensid kann Natriumdodecylsulfat (SDS, engl. *Sodium Dodecylsulphate*) verwendet werden. Bei Einsatz einer stöchiometrischen Menge an Ionene und SDS in wässriger Lösung, bildet sich ein 1:1 Komplex [133]. Dieser Komplex fällt in wässriger Lösung sofort aus. Durch einen Überschuss von SDS löst sich der Komplex wieder in Wasser.

In diesem Kapitel soll untersucht werden, ob sich Ionene durch Zugabe von SDS auf unpolaren Trägermaterialien immobilisieren lassen. Zudem soll bestimmt werden, ob die resultierenden Anionenaustauscher eine ausreichende Stabilität gegenüber den in der Ionenchromatographie verwendeten Eluenten besitzen. Für alle Untersuchungen wurde jeweils 2 g des Ionene IO290903 AG 2-6 verwendet. Als Trägermaterial wurden jeweils 2 g des Polymer P040921 Bmh verwendet. Um sowohl das unpolare Trägermaterial als auch das polare Ionene homogen in Lösung zu halten, sind alle Versuche in 50 mL einer Mischung aus Ethanol und Wasser im Verhältnis 1:1 durchgeführt worden. Die Durchführung erfolgte bei Raumtemperatur.

In drei Versuchen wurde zunächst bestimmt, welchen Einfluss die Reihenfolge der Zugabe der drei Komponenten Trägermaterial, Ionene und SDS besitzt. Dazu wurden zwei Komponenten in der Ethanol/Wasser-Mischung vorgelegt und 18 h gerührt. Anschließend wurde die dritte Komponente in 30 mL Ethanol/Wasser zugegeben und für weitere 24 h gerührt. Im Falle von Polymer und SDS als Vorlage sollten sich zunächst das Polymer mit SDS bedecken und damit einen Kationenaustauscher bilden. Durch Zugabe von Ionene wird der Anionenaustauscher gebildet. Werden zunächst Ionene und SDS vorgelegt, so bildet sich in der Lösung ein Komplex aus Ionene und SDS. Durch Zugabe des Trägermaterials adsorbieren die unpolaren Reste des Komplexes aus

Tabelle 7.13: Synthesebedingungen für die Belegung von Trägermaterialien mit Ionenen unter Verwendung von SDS. Es wurden jeweils 2 g Trägermaterial mit 2 g Ionene umgesetzt.

ident$_S$	SDS / g	Ionene/SDS-Verhältnis	Belegungsreihenfolge Vorlage	Zugabe	Staudruck / MPa	Kapazität / μmol Säule
IO021204 AG SDS-1	0,50	4	Polymer + Ionene	SDS	5,7	17
IO091204 AG SDS-2	0,50	4	Polymer + SDS	Ionene	12,9	34
IO101205 AG SDS-4	0,50	4	Ionene + SDS	Polymer	8,2	27
IO161204 AG SDS-5	0,25	8	Ionene + SDS	Polymer	6,7	16
IO161204 AG SDS-6	1,00	2	Ionene + SDS	Polymer	12,7	15

SDS und Ionene mit dem unpolaren Trägermaterial. Die dritte Möglichkeit, eine Vorlage aus Trägermaterial und Ionene, sollte zunächst zu keiner Komplexbildung führen. Erst durch die Zugabe von SDS wird in einem Schritt der Komplex von SDS und Ionene auf dem Trägermaterial gebildet. Die erhaltenen Materialien wurden abgetrennt und Trennsäulen hergestellt.

Zudem wurde die Menge an SDS in zwei weiteren Versuchen verändert. Um einen neutralen Komplex zu vermeiden, dieser würde keine Anionenaustauschkapazität mehr besitzen, muss das SDS im Unterschuss zum Ionene zugegeben werden. Das 2-6-Ionene hat pro positive Ladung eine Molmasse von 182 g mol^{-1}. Das SDS besitzt eine Molmasse von 288 g mol^{-1}. Das Verhältnis von Ionene zu SDS in m/m muss daher über 0,63 liegen.

Die Daten zur Belegung sind in Tabelle 7.13 aufgeführt. Alle Materialien konnten nach der Belegung in Wasser suspendiert und in Säulen gepackt werden. Die Staudrücke sind für alle Trennsäulen in einem moderaten Rahmen. Da alle Ionenaustauscher eine sehr geringe Anionenaustauschkapazität ergeben, wurde auf eine chromatographische Bestimmung von Kohlenhydraten verzichtet. Die Trennung von anorganischen Anionen ist auf diesen Austauschern jedoch möglich und dient zur Charakterisierung der Materialien. In Abbildung 7.15 auf der nächsten Seite sind drei Chromatogramme der Belegungsversuche gegenübergestellt. Durch die Belegung der Trägermaterialien mit SDS und Ionene können auf sehr einfache Weise Ionenaustauscher hergestellt werden. Die beste Trennleistung wird erzielt, wenn zunächst das SDS mit dem Ionene in Lösung einen Komplex bildet, und anschließend das Trägermaterial hinzugegeben wird. In Lösung wird zunächst ein gleichmäßiger Komplex aus Ionene und SDS gebildet, welcher auf der Oberfläche adsorbiert wird. Dieser Vorgang kann in Lösung homogener ablaufen, als auf der Oberfläche des Trägermaterials. Durch die Erhöhung des Anteils an SDS wird die Trennleistung und auch die Auflösung der Signale deutlich verbessert. Jedoch nehmen auch die Retentionszeiten ab, da durch das zusätzliche SDS weniger quartäre Ammoniumfunktionen für den Anionenaustausch zur Verfügung stehen.

Die Belegung des Grundmaterials mit SDS und dem Ionene besitzt keine feste Verbindung. Durch die Verwendung von ionischen Eluenten besteht die Gefahr, das die adsorbierten SDS-Ionenekomplexe von dem Trägermaterial wieder eluiert werden und damit Anionenaustauschkapazität verloren geht. Dies kann auch bei den in dieser Reihe hergestellten Ionenaustauschern beobachtet werden. Obwohl die Konzentration des Eluenten zur Trennung der anorganischen Anionen mit 4,5 mmol L^{-1} sehr gering ist, wird ein Retentionszeitverlust für alle Analyten über die Betriebsdauer beobachtet. Für das Sulfatsignal beträgt der Retentionszeitverlust unter diesen Bedingungen in etwa 10% in sechs Stunden. Die Lebensdauer der Trennsäulen ist daher stark begrenzt. Eine Eignung für die Trennung von Kohlenhydraten ist ebenfalls ausgeschlossen, da neben der ohnehin niedrigen Kapazität der Materialien für diese Messungen hochkonzentrierte Hydroxideluenten verwendet werden.

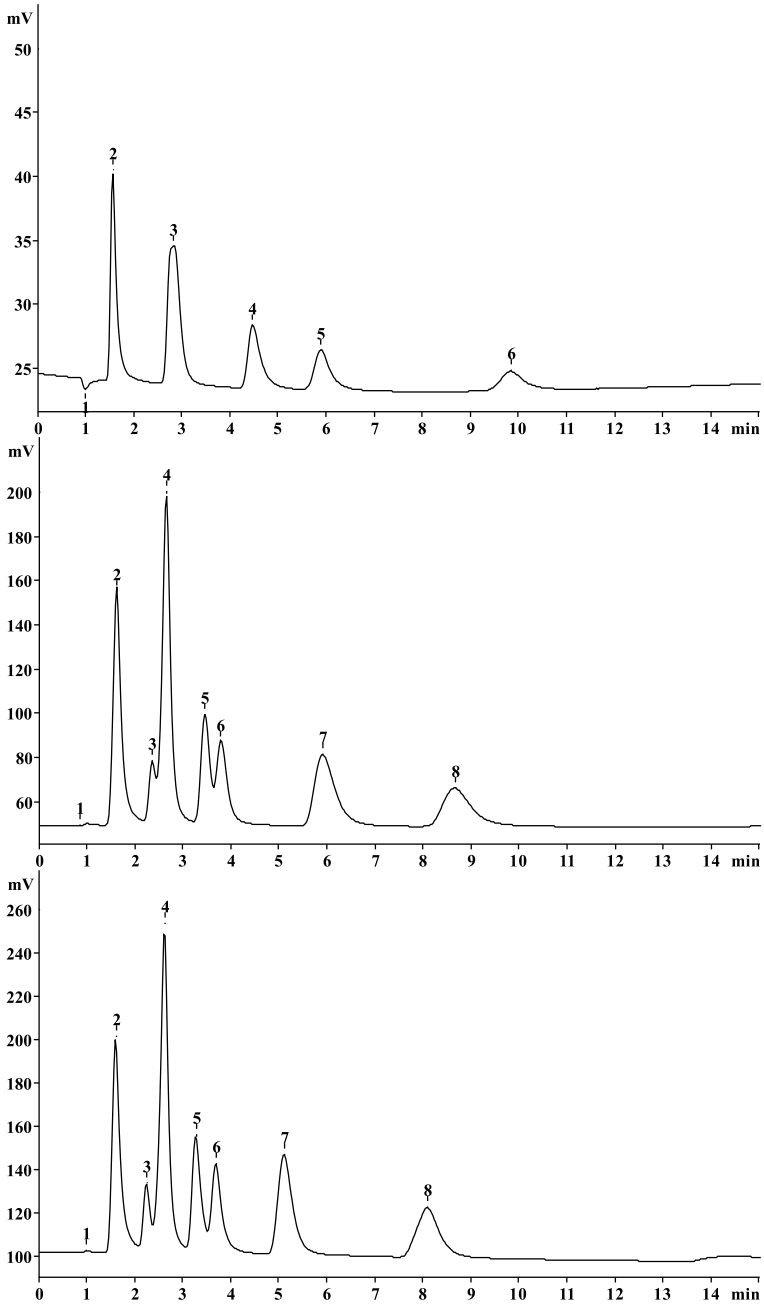


Abbildung 7.15: Vergleich der Trennung von anorganischen Anionen nach der Belegung mit Ionenen und unterschiedlichen Mengen an SDS. Säule: Oben: IO161204 AG SDS-5, Mitte: IO101205 AG SDS-4, Unten: IO161204 AG SDS-6, Eluentkonzentration: 4,5 mmol L^{-1} Na_2CO_3, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: 1 - Totvolumen, 2 - Fluorid, 3 - Bromat, Chlorid, Nitrit, 4 - Bromid, Nitrat, 5 - Phosphat, 6 - Sulfat. Mitte, Unten: 1 - Totvolumen, 2 - Fluorid, 3 - Bromat, 4 - Chlorid, Nitrit, 5 - Bromid, 6 - Nitrat, 7 - Phosphat, 8 - Sulfat.

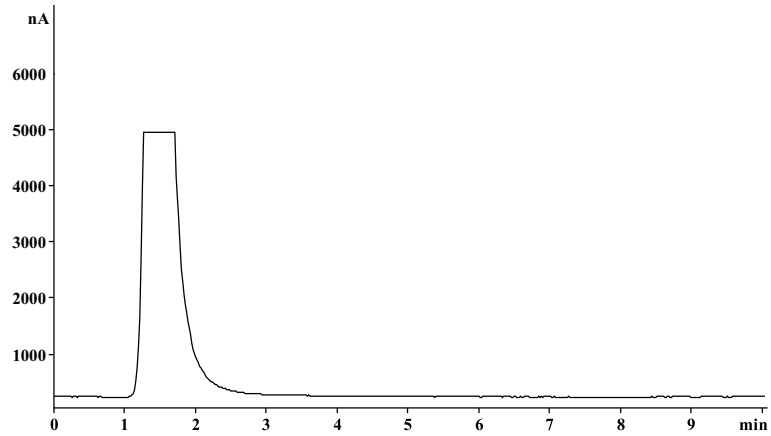


Abbildung 7.16: Trennung von Kohlenhydraten auf einem total sulfonierten und mit 6-10-Ionene belegten Anionenaustauscher. Säule: IO280503 AG 6-10.

Immobilisierung von Ionenen auf konventionell sulfonierten oder sulfomethylierten Trägermaterialien

Die Kationenaustauschkapazität der sulfomethylierten und konventionell sulfonierten Trägermaterialien ist sehr hoch. Mit knapp 500 μmol für das sulfomethylierte Material und 2000 μmol für das konventionell sulfonierte Material sind die Kapazitäten so hoch, das alle kationischen Gruppen des Ionenes durch die negativen Sulfonsäuregruppen kompensiert werden. Es resultiert keine messbare Anionenaustauschkapazität. Sowohl die Trennung von Kohlenhydraten, als auch die von anorganischen Anionen ist auf diesen Materialien nicht durchführbar. Eine drastische Erhöhung der Ionenemenge bei der Belegung oder der Zusatz von Salzen führt zu keiner Verbesserung der Ergebnisse. In Abbildung 7.16 ist beispielhaft der chromatographische Lauf eines Kohlenhydratgemischs mit vier Analyten dargestellt. Es wird weder Retention, noch eine Trennung der Analyten beobachtet.

Immobilisierung von Ionenen auf pfropfpolymerisierten Trägermaterialien

Die Abhängigkeit der Kationenaustauschkapazität auf die resultierende Anionenaustauschkapazität nach der Belegung sollte im Falle von pfropfpolymerisierten Trägermaterialien sehr groß sein. Je weniger die Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials ist, desto mehr quartäre Ammoniumionen aus den Ionenen bleiben für den Anionenaustausch zur Verfügung. Durch die Pfropfpolymerisaton von 4-Vinylbenzolsulfonsäure auf das Trägermaterial konnten sehr kleine Kationenaustauschkapazitäten von 5–200μmol g^{-1} erreicht werden. Diese wurden mit je 500 mg des 6-10-Ionenes IO180205 AG 6-10 belegt. Die Belegung erfolgte in Suspension bei 343 K. Anschließend erfolgte die chromatographische Charakterisierung durch die Trennung von Kohlenhydraten und eine Bestimmung der Anionenaustauschkapazität.

Für die hergestellten Trennsäulen wurden die in Tabelle 7.14 auf der nächsten Seite aufgeführten Kenndaten erhalten. Wie zu erkennen ist, verändert sich die Anionenaustauschkapazität für die Belegung mit dem 6-10-Ionene über den untersuchten Bereich bei einer Kationenaustauschkapazität von 4–210 μmol g^{-1} weniger als erwartet. Die Auftragung in Abbildung 7.17 auf Seite 180 deutet einen leichten Verlust an Kapazität bei höheren Kationenaustauschkapazitäten an. Jedoch ist eine stärkere Abnahme der Anionenaustauschkapazität erwartet worden. Für sulfomethylierte Materialien mit einer Kationenaustauschkapazität von 460 μmol g^{-1} wird,

Tabelle 7.14: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen bei unterschiedlichen Kationenaustauschkapazitäten der Trägermaterialien nach Belegung mit 6-10-Ionene.

ident$_S$	IO040705 6-10	IO060111 6-10	IO270605 6-10
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	6,9 MPa	7,1 MPa	6,4 MPa
Kationenaustauschkapazität	4 μmol	25 μmol	62 μmol
Anionenaustauschkapazität	172 μmol	150 μmol	153 μmol
ident$_{BES}$	O270605 AG	O090106 AG	O270605 AG
Ionene	6-10	6-10	6-10
Zugabe an Ionene	500 mg	500 mg	500 mg
Art der Belegung	Suspension	Suspension	Suspension
Belegungstemperatur	343 K	343 K	343 K
Belegungszeit	30 min	30 min	30 min

ident$_S$	IO220605 6-10	IO240605 6-10	IO040705 6-10
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	8,6 MPa	7,8 MPa	8,5 MPa
Kationenaustauschkapazität	72 μmol	85 μmol	210 μmol
Anionenaustauschkapazität	155 μmol	134 μmol	140 μmol
ident$_{BES}$	O220605 AG	O240605 AG	O040705 AG
Ionene	6-10	6-10	6-10
Zugabe an Ionene	500 mg	500 mg	500 mg
Art der Belegung	Suspension	Suspension	Suspension
Belegungstemperatur	343 K	343 K	343 K
Belegungszeit	30 min	30 min	30 min

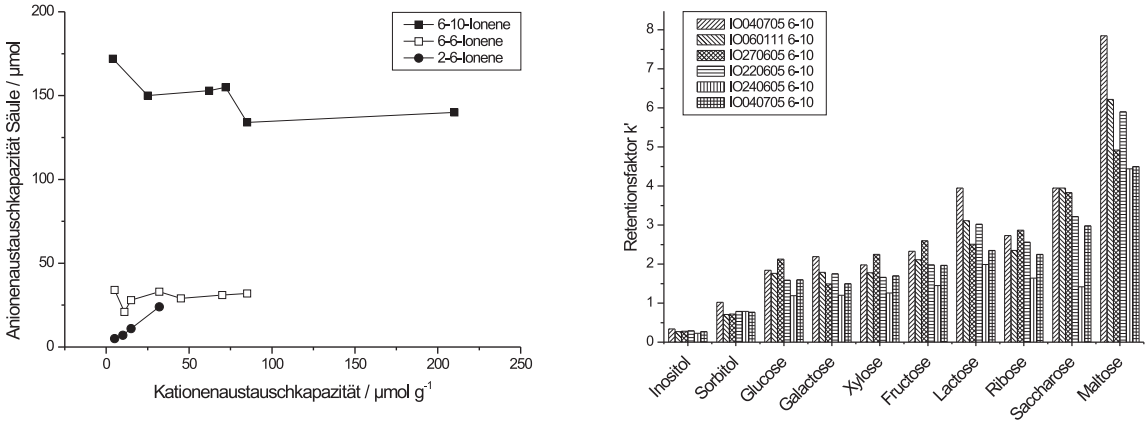


Abbildung 7.17: Links: Abhängigkeit der Anionenaustauschkapazität von der Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials bei der Belegung von sulfonierten Trägermaterialien mit verschiedenen Ionenen. Rechts: Vergleich der Retentionsfaktoren für die mit 6-10-Ionene belegten Anionenaustauscher.

wie im vorangegangen Kapitel gezeigt, keine Anionenaustauschkapazität mehr gefunden. Dies lässt darauf schließen, dass es bei niedrigen Kationenaustauschkapazitäten zu Konformationseffekten auf der Oberfläche des Trägerteilchen kommt. Ist der Abstand der Sulfonsäuregruppen sehr groß und ihre Anzahl gering, so stehen mehr quartäre Ammoniumgruppen pro Ionenekette frei zur Verfügung. Erhöht sich die Dichte der Sulfonsäuregruppen, so werden mehr quartäre Ammoniumgruppen kompensiert, es werden aber insgesamt auch mehr Ioneneketten auf der Oberfläche fixiert. Irgendwann führt eine weitere Erhöhung der Dichte der Sulfonsäuregruppen nur noch zu einer weiteren Kompensation der quartären Ammoniumgruppen ohne das mehr Ionenketten gebunden werden. Dies wird durch Untersuchungen mit anderen Ionenen bestätigt. In Abbildung 7.17 sind ebenso die Anionenaustauschkapazitäten von Ionenesäulen mit 2-6-Ionene und 6-6-Ionene dargestellt. Diese wurden in der Dissertation von Raskop auf das Trennverhalten für anorganische Anionen untersucht [61]. Das 6-6-Ionene zeigt ein ähnliches Verhalten, während das 2-6-Ionene einen linearen Anstieg der Anionenaustauschkapazität zeigt. Das Verhalten des 2-6-Ionene könnte in den extrem kurzen Spacerabstände zwischen den quartären Ammoniumionen begründet sein. Es treten immer zwei quartäre Ammoniumionen nebeneinander auf, wodurch sich die zusätzliche freie Kapazität für jedes Segment immer verdoppeln würde. Die beobachteten Anionenaustauschkapazitäten sind jedoch auch sehr gering, sodass nur schwer Aussagen getroffen werden können. Die mit dem 6-10-Ionene belegten Materialien zeigen alle ein ähnliches chromatographisches Verhalten. Die Retentionsfaktoren k' der untersuchten Zucker sind, abhängig von der Anionenaustauschkapazität der Trennsäule, sehr ähnlich.

7.2.5 Einfluss der Ionene-Konzentration

Neben der Art der Ionenezugabe kann auch die Menge an Ionene, mit der der Anionenaustauscher belegt wird, verändert werden. Durch Zugabe von sehr geringen Mengen kann eine nicht vollständige Belegung erreicht werden. Die Zugabe von einem großem Überschuss an Ionene führt zu einer starken Konkurrenzsituation

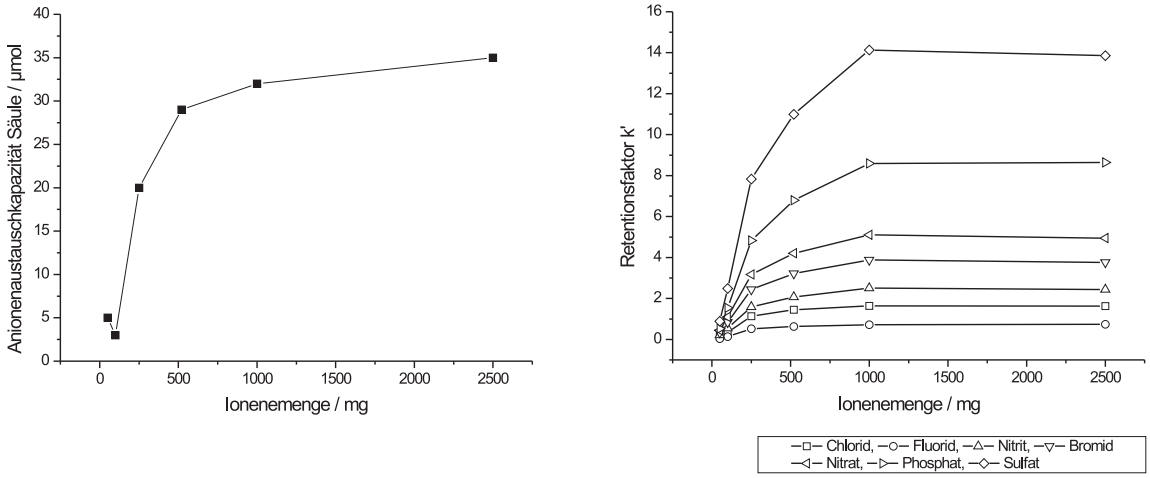


Abbildung 7.18: Links: Einfluss der zugegebenen Menge an Ionene auf die resultierende Anionenaustauschkapazität. Rechts: Einfluss der zugegebenen Menge an Ionene auf die Retentionsfaktoren zur Trennung von anorganischen Anionen.

während der Belegung. Dies kann dazu führen, das sich die polykationischen Ketten nicht flach auf den Ionenaustauscher legen, sondern die Enden oder auch Zwischenteile der Kette von der Oberfläche abstehen. Diese würden zu einer Erhöhung der Anionenaustauchkapazität beitragen. Ab einer gewissen Konzentration sollte der Belegungsgrad mit Ionene nicht mehr von der zugegebenen Menge an Ionene abhängig sein.

Um den Einfluss der Ionenemenge auf die resultierende Anionenaustauschkapazität zu bestimmen, wurden auf je 2 g eines definierten Trägermaterial mit einer Kationenaustauscherkapazität von 20 μmol g^{-1} unterschiedliche Mengen des Ionenes IO180205 AG 6-6 gegeben. Das Trägermaterial ist im Rahmen der Dissertation von Raskop funktionalisiert worden [61]. Die Menge wurde dabei von 50 bis auf 2500 mg erhöht. Die Belegung fand in Suspension bei erhöhter Temperatur von 343 K statt. Die erhaltenen Anionenaustauschermaterialien wurden identisch hergestellt. Die Ergebnisse der Kapazitätsbestimmung sind in Abbildung 7.18 gezeigt. Die Bestimmung der Kapazität bei sehr geringen Mengen an Ionene ist sehr schwierig, da die Gesamtanionenaustauschkapazität unter 10 μmol g^{-1} pro Säule liegt. Der Fehler der Bestimmung ist in diesem Bereich sehr groß. Die Anionenaustauschkapazitäten der Austauscher steigen mit der Menge an zugegebenen Ionene stark an. Jedoch ist der Anstieg nicht linear und läuft in eine Sättigung. Ab einer Menge von etwa 1 g Ionene auf 2 g Trägermaterial kann keine weitere Steigerung der Anionenaustauschkapazität mehr erreicht werden.

Die erreichten Anionenaustauschkapazitäten von unter 35 μmol g^{-1} pro Säule sind für eine Trennung von Kohlenhydraten nicht ausreichend. Daher wurden zur chromatographische Charakterisierung anorganische Anionen auf diesen Austauschern bestimmt. In Abbildung 7.18 sind die erhaltenen Retentionsfaktoren für die einzelnen Austauscher gegen die zugegebene Menge an Ionene aufgeführt. Der Verlauf der Kuren ist ähnlich dem der Anionenaustauschkapazität. Die Retentionszeit steigt ab einer Zugabe von 1000 mg Ionene kaum noch an.

7.2.6 Chromatographische Eigenschaften

Die Trennung von Kohlenhydraten auf sulfonierten Materialien mit polykationischen Ketten als Austauschergruppe ist bisher in der Literatur nicht beschrieben worden. Durch die Entwicklung neuer Sulfonierungsmetho-

Tabelle 7.15: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen zur Bestimmung der chromatographischen Eigenschaften.

$ident_S$	IO270605 6-10	0200106 6-10
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	6,4 MPa	13,5 MPa
Kationenaustauschkapazität	62 μmol	30 μmol
Anionenaustauschkapazität	153 μmol	386 μmol
$ident_{BES}$	O270605 AG	O090106 AG
Ionene	6-10	6-10
Zugabe an Ionene	500 mg	500 mg
Art der Belegung	Suspension	Suspension
Belegungstemperatur	343 K	343 K
Belegungszeit	30 min	30 min

den wie der Pfropfpolymerisation mit 4-Vinylbenzolsulfonsäure können nun auf niederkapazitiven Grundmaterialien vor allem Ionene mit langen Spacerabständen zwischen den Ammoniumfunktionen immobilisiert und für die Bestimmung der Kohlenhydraten eingesetzt werden.

Um die chromatographischen Eigenschaften dieser Materialien zu bestimmen wurden sowohl eine 100 mm als auch eine 250 mm lange Trennsäule angefertigt. Als Ionene wurde das 6-10-Ionene gewählt, welches mit seinen langen Alkylspacerketten bisher die besten Trennergebnisse erzielte. Das Trägermaterial wurde in Suspension bei erhöhter Temperatur mit 500 mg des Ionene belegt. Für die Trennsäulen wurden die in Tabelle 7.15 aufgeführten Kenndaten erhalten. Der Staudruck beider Trennsäulen ist mit 6,4 MPa und 13,5 MPa typisch für die in dieser Dissertation verwendeten Materialien. Die Kapazität der Materialien liegt deutlich über denen, die für Latexaustauscher erreicht werden. Sowohl für die kurze Trennsäule, als auch für die 250 mm lange Trennsäule beträgt die resultierende Anionenaustauschkapazität das doppelte einer Latexaustauschersäule.

In Abbildung 7.19 auf der nächsten Seite sind die Trennungen von Kohlenhydratmischungen für die untersuchten Trennsäulen gezeigt. Auf beiden Austauschern ist die Trennung der Kohlenhydratmischungen Basislinien getrennt möglich. Interessant ist die sehr frühe Elution von Sorbitol und Ribose. Eine solch frühe Elution wurde bisher in dieser Form nur auf oberflächenfunktionalisierten, mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Materialien beobachtet worden. Da die Kationenaustauschermaterialien für die mit Ionene belegten Säulen nach der gleichen Methode hergestellt werden, ist dieser Effekt also der Beschichtungsreaktion zuzuordnen. Die sehr breiten Signale der Ribose und des Sorbitol deuten in der Regel auf unspezifische Wechselwirkungen mit dem Trägermaterial hin. Wie im Falle der mit Diaminen funktionalisierten Säulen in Kapitel 6.3.3 auf Seite 135 gezeigt werden konnte, wird dieser Effekt durch die zweite Aminfunktion noch verstärkt. Durch weitere Wechselwirkungen mit der zweiten Aminfunktion erhöhen sich die Retentionsfaktoren dieser beiden Kohlenhydrate. Sowohl die oberflächenfunktionalisierten, pfropfpolymerisierten Materialien, als auch die mit Ionene belegten Materialien zeichnen sich durch eine sehr dünne und gleichmäßige Schicht von Austauschergruppen auf der Trägeroberfläche aus. Bei den oberflächenfunktionalisierten Materialien entsteht die gleichmäßige Verteilung durch die Verwendung von tensidartigen Ionomeren bei der Polymerisation. Bei der Belegung mit Ionenen entstehen durch die definierten Ioneneketten sehr gleichmäßige Abfolgen von Austauschergruppen.

Die Ergebnisse der chromatographischen Trennungen sind in Tabelle 7.16 auf Seite 184 aufgeführt. Die Trennleistungen der erhaltenen Anionenaustauscher ist mit durchschnittlich 20000 bis 25000 TP m^{-1} für die kurze

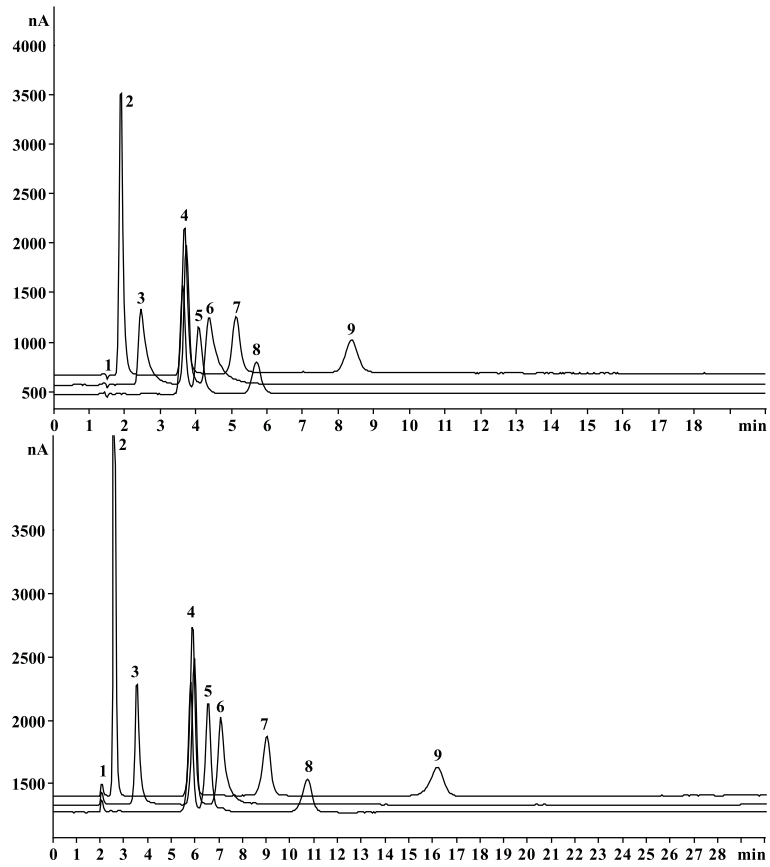


Abbildung 7.19: Chromatogramme der Trennung von Kohlenhydraten auf einem mit 6-10-Ionene belegten Anionenaustauscher. Säule: Oben: IO040705 AG 6-10, Unten: 0200106 6-10, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: Oben: 0,5 mL min^{-1}, Unten: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, Galactose, Xylose 5 - Fructose, 6 - Ribose, 7 - Lactose, 8 - Saccharose. 9 - Maltose.

Tabelle 7.16: Chromatographische Daten der Trennung von Kohlenhydraten auf einem mit 6-10-Ionene belegten Anionenaustauscher. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

IO220605 AG 6-10	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,24	0,63	1,43	1,43	1,51	1,75	2,40	1,92	2,83	4,55
Trennleistung TP m^{-1}	14300	5100	20500	26900	24100	20100	23200	9000	21800	24400
Asymmetriefaktor A_s	1,82	3,68	2,17	1,22	0,98	1,37	1,24	3,65	1,33	1,05
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,17	0,44	1,00	1,00	1,06	1,22	1,68	1,34	1,98	3,18

IO200106 AG 6-10	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,27	0,71	1,81	1,86	1,88	2,17	3,36	2,42	4,20	6,84
Trennleistung TP m^{-1}	13100	6900	16000	14900	16100	11800	13300	8000	10800	14600
Asymmetriefaktor A_s	0,98	1,89	2,42	0,84	0,90	0,93	0,88	2,19	0,83	0,80
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,15	0,39	1,00	1,03	1,04	1,20	1,86	1,34	2,32	3,78

100 mm lange und bis 15000 TP m^{-1} für 250 mm lange Trennsäule sehr hoch. Die Trennleistung erreicht damit ähnlich hohe Werte, wie sie mit Latexaustauschern oder pfropfpolymerisierten Säulen erreicht werden. Die Asymmetriefaktoren sind ebenfalls für alle Kohlenhydraten bis auf Sorbitol und Ribose sehr gut. Diese Kohlenhydrate zeigen auf Austauschern auf Ionenebasis ein sehr ausgeprägtes Tailing.

Langzeitstabilität

Die Langzeitstabilität ist für agglomerierte Phasen besonders wichtig. Da zwischen dem Ionene und dem Grundmaterial nur elektrostatische Wechselwirkungen herrschen, können die Ionene durch konzentrierte Eluenten mit hoher Ionenekonzentration wieder eluiert werden. Für die Trennung von Kohlenhydraten werden in der Regel Eluenten bis 300 mmol L^{-1} Natriumhydroxid verwendet. Diese bergen zudem die Gefahr, das durch den hohen pH-Wert dieser Eluenten ein Abbau der Ioneneketten stattfindet. Dieses würde ebenfalls zu einem schnellen Verlust an Anionenaustauschkapazität führen.

Um die Langzeitstabilität zu untersuchen, wurden zwei verschiedene Ionenesäulen hergestellt. Als Ionene fand das 6-10-Ionene Anwendung. Die chromatographischen Ergebnisse von Ionenen mit kürzeren Spacerketten sind zu gering, um eindeutige Aussagen über die Stabilität der stationären Phase treffen zu können. Um den Einfluss der Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials zu untersuchen, wurden zwei unterschiedliche Grundmaterialien mit einer Kapazität von 20 und 30 μmol g^{-1} gewählt. Je höher die Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials ist, desto stärker sollten auch die Wechselwirkungen der Sulfonsäuregruppen mit den Ionenen sein. In Abbildung 7.20 auf der nächsten Seite sind die Retentionsfaktoren für die beiden untersuchten Trennsäulen gegen die Betriebsdauer nach der Herstellung aufgetragen. Auf dem mit 20 μmol g^{-1} Kationenaustauschkapazität belegten Ionenaustauscher kann ein leichter Abfall der Retentionszeiten in der Konditionierungsphase beobachtet werden. Anschließend bleiben die Retentionsfaktoren stabil. Auf dem mit 30 μmol g^{-1} Kationenaustauschkapazität belegten Ioneneaustauscher schwanken die Retentionszeiten stärker, bleiben aber nach einer Konditionierungsphase ebenfalls stabil. Insgesamt kann für beide Trennsäulen eine gute Stabilität der Trennsäule über den beobachteten Zeitraum festgestellt werden. Auch die Trennleistung und die Symmetrien der Signale bleiben über den beobachteten Zeitraum erhalten.

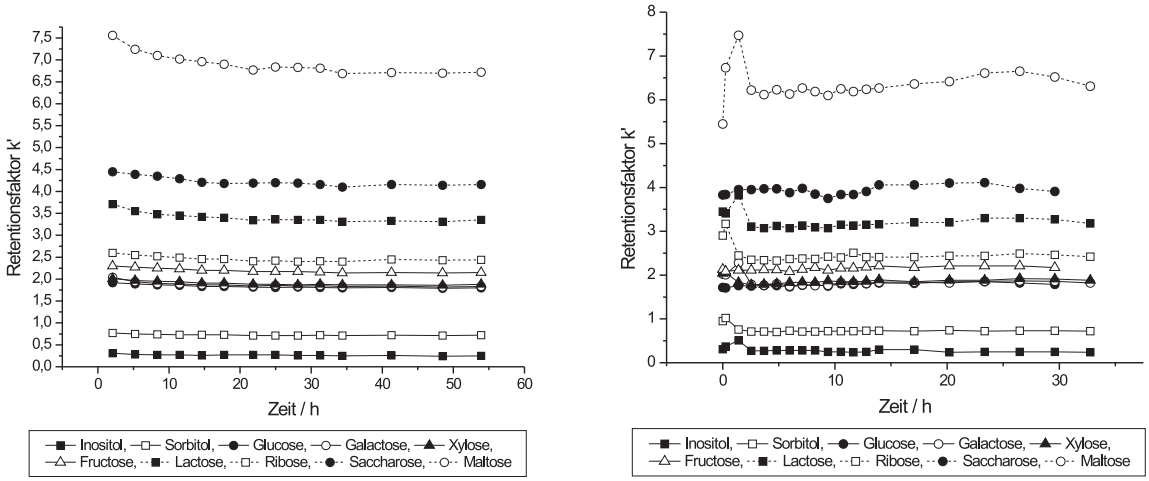


Abbildung 7.20: Langzeitstabilität von 6-10-Ionenesäulen. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid, Flussrate: 1 mL min^{-1}. Links: Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials 20 μmol g^{-1}. Rechts: Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials 30 μmol g^{-1}.

7.2.7 Einfluss der Spacerabstände von Ionenen auf die Trennung von Kohlenhydraten

Durch Synthese von Ionenen unterschiedlicher Spacerlängen können definierte Austauschergebiete geschaffen werden. Der Abstand der quartären Ammoniumionen entscheidet, ob die Austauscherumgebung eher stark polar und hydrophil ist, oder durch lange Alkylketten unpolar und hydrophob wird. In zwei Reihen soll untersucht werden, inwiefern sich die Spacerabstände in Ionenen auf die Trennung von Kohlenhydraten auswirkt. Dabei wird jeweils ein Spacerabstand konstant gehalten, ein zweiter wird über einen Bereich variiert.

Für die erste Messreihe wird ein Spacerabstand auf sechs Methyleneinheiten festgelegt. Dieser kann sowohl durch Einsatz des Amins Tetramethylhexylendiamin (TMHDA) oder des Dihalogenids 1,6-Dibromhexan bei der Synthese generiert werden. Für die Untersuchungen wurde der zweite Spacerabstand von 2–12 Methyleneinheiten variiert. Die zweite Messreihe wurde so erstellt, das immer ein langer Spacerabstand von 10 Methyleneinheiten im Molekül vorhanden ist. Der zweite, kleinere Spacerabstand wurde von 2–6 Methyleneinheiten variiert. Die Kenndaten für die hergestellten Trennsäulen sind in Tabelle 7.17 auf der nächsten Seite aufgeführt. Der Staudruck aller angefertigten Säulen liegt zwischen 6,0 und 8,5 MPa. Die resultierende Anionenaustauschkapazität steigt innerhalb der Reihen zu größeren Spacerkettenlängen schnell an. Für kurze Spacerkettenabstände werden Anionenaustauschkapazitäten von unter 30 μmol für eine 100 mm lange Trennsäule erhalten. Dies ist in den meisten Fällen für eine Trennung von Kohlenhydraten nicht mehr ausreichend. Warum die Anionenaustauschkapazität bei kurzen Spacerabständen sehr klein werden, kann nicht eindeutig erklärt werden. Ein Grund kann die zunehmende Unflexibilität der Ionenekette bei abnehmendem Spacerkette sein. Kurze Abstände führen zu linearen, starren Ketten, welche weniger räumliche Konformationen auf der Oberfläche einnehmen können. Dies führt zu geringeren Anionenaustauschkapazitäten, da mehr Ladungen kompensiert werden. In Abbildung 7.21 auf Seite 187 sind beispielhaft zwei Trennungen von Kohlenhydratmischungen für die untersuchten Trennsäulen zum Einfluss der Spacerkettenlänge von x-10-Ionenen gezeigt. Die Trennung der vier Kohlenhydrate auf dem mit 2-10-Ionene belegten Trägermaterial ist nicht mehr Basislinien getrennt. Die

Tabelle 7.17: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen mit Variation der Spacerkettenlänge.

ident$_S$	R2 20eq 2-6	R3 20eq 6-6	R1 20eq 6-10	R5 20eq 6-12
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	8,5 MPa	8,3 MPa	8,2 MPa	8,7 MPa
Kationenaustauschkapazität	20 μmol	20 μmol	20 μmol	20 μmol
Anionenaustauschkapazität	19 μmol	29 μmol	158 μmol	188 μmol
ident$_{BES}$	O171105 AG	O171105 AG	O171105 AG	O171105 AG
Ionene	2-6	6-6	6-10	6-12
Zugabe an Ionene	500 mg	500 mg	500 mg	500 mg
Art der Belegung	Suspension	Suspension	Suspension	Suspension
Belegungstemperatur	343 K	343 K	343 K	343 K
Belegungszeit	30 min	30 min	30 min	30 min

ident$_S$	IO110805 AG 2-10	IO211105 AG 4-10	IO270605 AG 6-10
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	6,3 MPa	8,6 MPa	6,1 MPa
Kationenaustauschkapazität	62 μmol	62 μmol	62 μmol
Anionenaustauschkapazität	25 μmol	39 μmol	70 μmol
ident$_{BES}$	O270605 AG	O270605 AG	O270605 AG
Ionene	2-10	4-10	6-10
Zugabe an Ionene	500 mg	500 mg	500 mg
Art der Belegung	Suspension	Suspension	Suspension
Belegungstemperatur	343 K	343 K	343 K
Belegungszeit	30 min	30 min	30 min

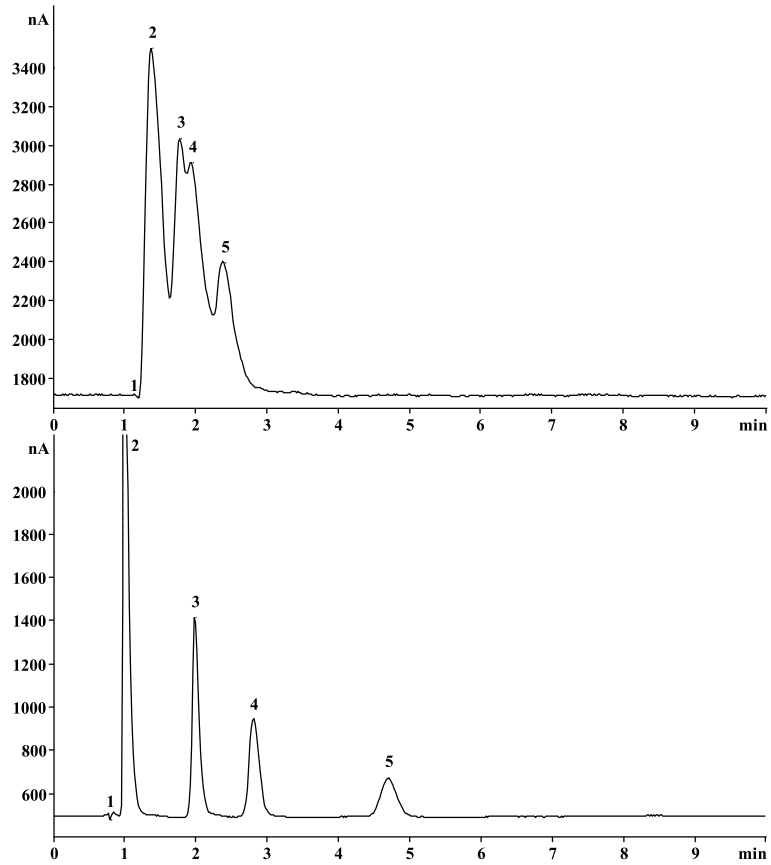


Abbildung 7.21: Trennung von Kohlenhydratmischungen auf einem mit x-10-Ionene belegten Anionenaustauscher. Säule: Oben: IO110805 AG 2-10, Unten: IO270605 AG 6-10 Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1} Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Galactose 4 - Lactose, 5 - Maltose.

Retentionszeiten sind sehr klein. Die erhaltene Anionenaustauschkapazität wirkt sich direkt auf die Retentionsfaktoren der Kohlenhydrate aus. Die daraus erhaltenen Retentionsfaktoren der beiden Versuchsreihen mit x-6 und x-10 Ionene sind in Abbildung 7.22 gegenübergestellt. Für die beiden 6-10-Ionene in den beiden Versuchsreihen werden leicht unterschiedliche Retentionsfaktoren erhalten. Dies wird von den unterschiedlichen Kationenaustauschkapazitäten der verwendeten Trägermaterialien verursacht. Die beiden Versuchsreihen sind daher nicht miteinander vergleichbar. Dennoch kann festgehalten werden, dass mit steigender Alkylkettenlänge die Anionenaustauschkapazität und die Retentionsfaktoren der untersuchten Kohlenhydrate schnell ansteigen. Änderungen in der Retentionsreihenfolge sind nicht zu beobachten. In Abbildung 7.23 auf der nächsten Seite sind die erhaltenen Selektivitätsfaktoren bezogen auf Glucose aufgeführt. Die Selektivitätsänderung der Ribose für das 2-10-Ionene ist aufgrund der kurzen Retentionszeiten dieser Trennsäule nicht aussagekräftig. Die Trennung der einzelnen Analyten wird verbessert. Durch die frühe Elution des Sorbitols bei größeren Kettenlängen wird eine bessere Trennung der Zuckeralkohole von den Monosacchariden erreicht. Für die Disaccharide Lactose, Saccharose und Maltose die Selektivitätsfaktoren bei steigender Alkylkettenlänge stark an, während die Monosaccharide Fructose und Ribose näher an die nahezu gleichzeitig eluierenden Monosaccharide Glucose, Galactose und Xylose wandern. Dies führt zu einer besseren Separation der Mono- und Disaccharide. Die Trennung innerhalb der Gruppen wird jedoch stark verschlechtert. In Abbildung 7.24 auf Seite 189 ist die Trennung

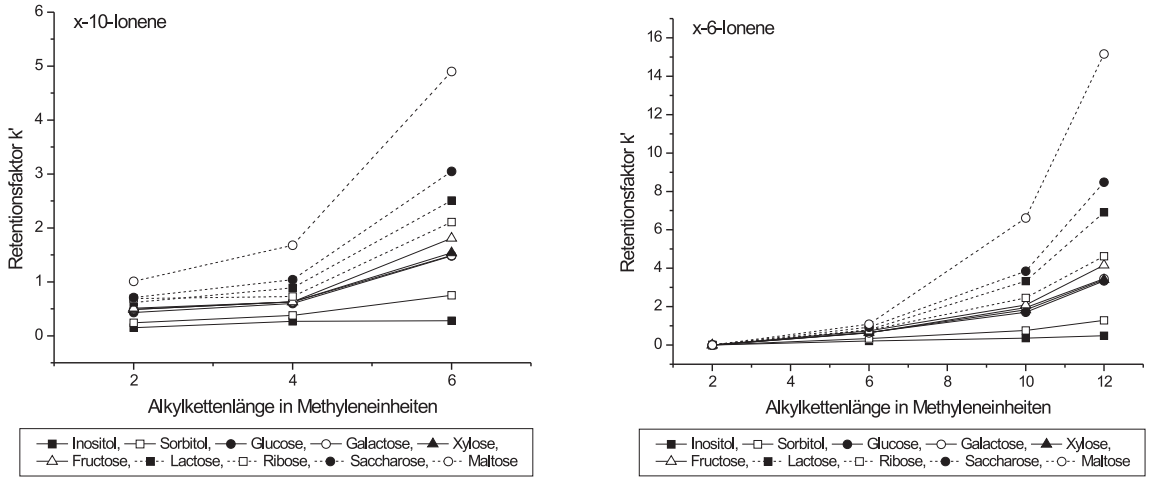


Abbildung 7.22: Retentionsfaktoren für die Trennung von Kohlenhydraten bei unterschiedlichen Spacerkettenlängen. Links: Retentionsfaktoren für x-10-Ionene. Rechts: Retentionsfaktoren für x-6-Ionene. Für das 2-6-Ionene wird keine Retention beobachtet.

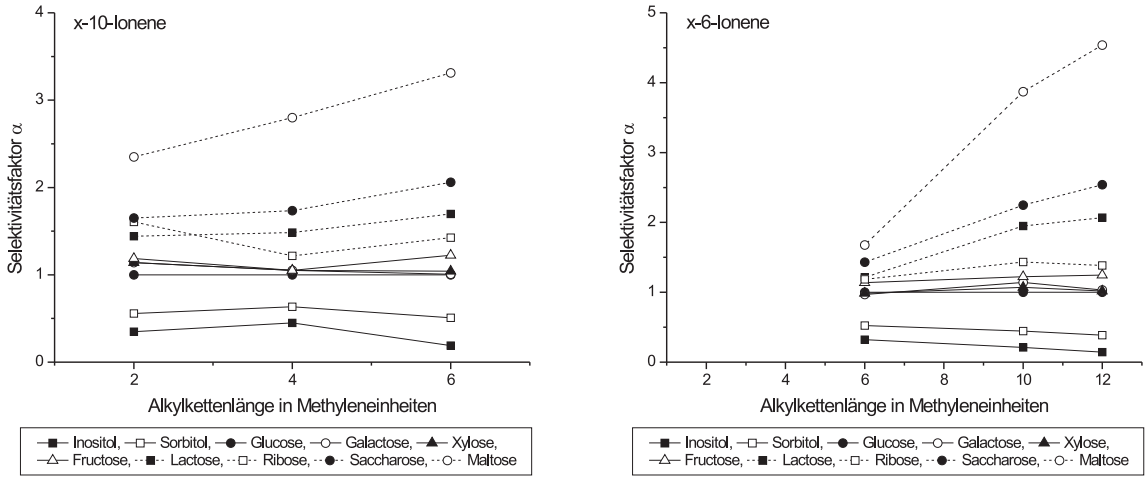


Abbildung 7.23: Selektivitätsfaktoren für die Trennung von Kohlenhydraten bei unterschiedlichen Spacerkettenlängen. Links: Selektivitätsfaktoren für x-10-Ionene. Rechts: Selektivitätsfaktoren für x-6-Ionene. Für das 2-6-Ionene wird keine Retention beobachtet, daher wird auf eine Berechnung der Selektivität verzichtet.

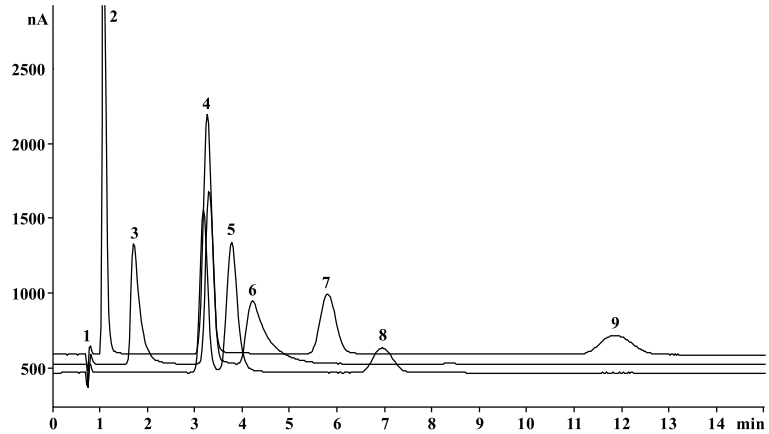


Abbildung 7.24: Trennung von Kohlenhydraten auf einem mit 6-12-Ionene belegten Anionenaustauscher. Säule: R5 20eq 6-12, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, Galactose, Xylose 5 - Fructose, 6 - Ribose, 7 - Lactose, 8 - Saccharose. 9 - Maltose.

Tabelle 7.18: Technische Daten der untersuchten Trennsäulen mit aromatischen und polaren Spacern.

$ident_S$	IO180705 AG 6-oXyl	IO180705 AG 6-pXyl	IO250705 AG 6-3-OH
Dimensionen	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.	100 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	6,4 MPa	6,8 MPa	6,9 MPa
Kationenaustauschkapazität	85 μmol	85 μmol	30 μmol
Anionenaustauschkapazität	22 μmol	26 μmol	16 μmol
$ident_{BES}$	O240605 AG	O240605 AG	O090106 AG
Ionene	6-oXyl	6-pXyl	6-3-OH
Zugabe an Ionene	500 mg	500 mg	500 mg
Art der Belegung	Suspension	Suspension	Suspension
Belegungstemperatur	343 K	343 K	343 K
Belegungszeit	30 min	30 min	30 min

von Kohlenhydraten auf einem mit 6-12-Ionene belegten Anionenaustauscher gezeigt. Die Signale 2–3 für die Zuckeralkohole, 4–6 für die Monosaccharide und 7–9 für die Disaccharide liegen dicht beieinander.

7.2.8 Einfluss von aromatischen und polaren funktionellen Gruppen im Spacer auf die Trennung von Kohlenhydraten

Durch das Einfügen von aromatischen oder polaren Gruppen in das Grundgerüst des Ionenes können dessen Eigenschaften weiter verändert werden. Der aromatische Kern in den auf Xylol basierenden Ionenen erniedrigt die Polarität des Ionenes. Die Länge eines solchen Xylolfragmentes entspricht in etwa dem eines Hexylspacers. Die 2-Hydroxypropylverbindung erhöht mit der Hydroxyfunktion die Polarität des Ionenes. Es wird ein kurzer Propylspacer eingeführt. Das Ionenefragment ist vergleichbar mit der Substitution des Dimethylethanolamin (DMEA).

Basierend auf den Ionenen 6-pXyl-, 6-oXyl- und 6-3-OH-Ionene werden nach den zuvor beschriebenen Methoden Anionenaustauscher hergestellt. In Tabelle 7.18 sind die technischen Daten der hergestellten Austauscher

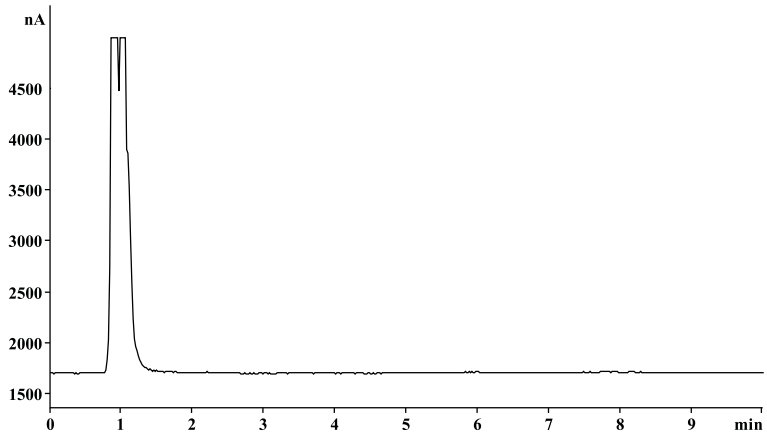


Abbildung 7.25: Chromatogramm der Trennung von Kohlenhydraten auf einem mit 6-pXyl-Ionene belegten Anionenaustauscher. Säule: IO180705 AG 6-pXyl, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

Tabelle 7.19: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten auf einem mit 6-pXyl-Ionene belegten Anionenaustauscher. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 0,5 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

IO180705 AG 6-pXyl	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,11	0,28	0,43	0,44	0,42	0,47	0,48	0,51	0,65	0,73
Trennleistung TP m^{-1}	1800	9800	15500	15500	15700	14600	16300	14100	10700	14300
Asymmetriefaktor A_s	1,76	2,13	1,72	1,90	2,03	2,03	1,83	1,90	1,08	1,49
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,26	0,65	1,00	1,02	0,98	1,09	1,12	1,19	1,51	1,70

aufgeführt. Alle Austauscher besitzen eine sehr niedrige Anionenaustauschkapazität. Eine Untersuchung der Anionenaustauscher auf die Trennung von Kohlenhydraten ist aufgrund der niedrigen Retentionsfaktoren nicht möglich. Es findet keine genügende Retention der Analyten statt. In Tabelle 7.19 sind die chromatographischen Ergebnisse des mit 6-pXyl-Ionene belegten Anionenaustauschers, welcher die höchste Anionenaustauschkapazität der untersuchten Trennsäulen besitzt, bei einer Flussrate von 0,5 mL min^{-1} aufgeführt. Das entsprechende Chromatogramm einer Trennung von vier Kohlenhydraten ist in Abbildung 7.25 zu finden. Für die anderen Anionenaustauscher konnten keine Daten erhalten werden, da alle Analyten mit dem Totvolumen eluieren. Die niedrige Anionenaustauschkapazität dieser Materialien ist auf die kurzen Spacerabstände zurückzuführen. Wie schon bei der Variation der Spacerkettenlängen beobachtet, führt ein Unterschreiten der Spacerkettenlänge unter 6 Methyleneinheiten für beide Spacer zu sehr niedrigen Kapazitäten. Die Sperrigkeit der Ketten wird durch die Verwendung von aromatischen Ionenen noch erhöht. Dies führt zu noch weniger Konformationsmöglichkeiten auf der Oberfläche. Zudem erhöhen die kurzen Abstände die Polarität der Austauschergruppen erheblich. Dies führt, wie auch das Einführen einer Hydroxyfunktion, zu einer stärker ausgeprägten Hydrathülle um die Austauschergruppen. Die Hydroxidionen des Eluenten besitzen an diesen Austauscherfunktionen eine höhere Elutionskraft, da sie einfacher an die Austauschergruppe gelangen können. Dies führt zu niedrigen Retentionszeiten. Dieser Effekt wird auch bei der Verwendung von Ethanolaminen auf oberflächenfunktionalisierten Anionenaustauschern beobachtet.

Tabelle 7.20: Chromatographische Daten der Trennung von sieben ausgewählten anorganischen Anionen auf einem mit 6-pXyl-Ionene belegten Anionenaustauscher. Nach [61]. Säule: CIASSP41, Dimensionen: 100 x 4 mm I.D., Eluentkonzentration: 1,0 mmol L^{-1} Na_2CO_3 und 3 mmol L^{-1} $NaHCO_3$, Flussrate: 0,8 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 303 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

CIASSP41	Fluorid	Chlorid	Nitrit	Bromid	Nitrat	Phosphat	Sulfat
Retentionsfaktor k'	0,72	1,43	2,09	3,08	4,01	6,42	10,33
Trennleistung TP m^{-1}	8700	15200	19400	28000	30500	32600	38700
Asymmetriefaktor A_s	1,34	1,32	1,22	1,36	1,69	1,02	0,86
Selektivitätsfaktor (Chlorid)	0,50	1,00	1,46	2,15	2,80	4,49	7,22

Tabelle 7.21: Technische Daten der Trennsäulen zum Vergleich von agglomerierten Anionenaustauschern.

$ident_S$	MetroSep Carb 1	O181105 AG EDMA	L161002 AG EDMA-L	0200106 6-10
Dimensionen	250 x 4,6 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.	250 x 4 mm I.D.
Flussrate	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}
Staudruck	9,7 MPa	11,2 MPa	17,2 MPa	13,5 MPa
Kapazität	1530 μmol	563 μmol	186 μmol	386 μmol
Funktionalisierung		O250805 AG VBCEDMA pfropfpolym.	MT400601 Latexaustauscher	O090106 AG polykation. Kette
Amin	$-N^+R_3$	EDMA	EDMA	6-10-Ionene

Die Untersuchung dieser Anionenaustauscher auf anorganische Anionen erfolgt von Raskop im Rahmen seiner Dissertation [61]. Die Anionenaustauschkapazität der aromatischen Ionene ist hoch genug, um eine Basislinien getrennte Messung von sieben ausgewählten anorganischen Anionen zu erreichen. Dort zeigen vor allem die Ionene mit aromatischen Einheiten Vorzüge. Alle Analyten, auch die polarisierbaren Anionen wie Nitrat und Phosphat, zeigen sehr symmetrische Signale. Die erhaltenen Trennleistungsdaten für die Standardanionen aus diesen Untersuchungen sind in Tabelle 7.20 wiedergegeben.

7.3 Vergleich der agglomerierten Anionenaustauscher

In den zwei vorhergehenden Kapiteln konnte gezeigt werden, dass sich agglomerierte Anionenaustauscher gegenüber den oberflächenfunktionalisierten Materialien durch eine deutliche höhere Trennleistung auszeichnen. Die Effizienz der Trennung von Kohlenhydraten ist auf agglomerierten Austauschern deutlich höher. In diesem Kapitel soll ein Vergleich der chromatographischen Leistung der agglomerierten Anionenaustauscher mit der kommerziell erhältlichen MetroSep Carb 1 und der leistungsstärksten oberflächenfunktionalisierten, einem pfropfpolymerisierten Austauscher gezeigt werden.

Als Austauschergruppe wurde, wie bereits beim Vergleich der oberflächenfunktionalisierten Materialien, wenn möglich, die einfache, unpolare Austauschergruppe Ethyldimethylamin (EDMA) gewählt. Da es im Falle der polykationischen Ketten keine vergleichbare Gruppe gibt, wurde für diesen Vergleich ein mit 6-10-Ionene belegter Austauscher gewählt. Die Säulendimensionen und die Herstellung war für alle selbst hergestellten Austauscher identisch. In Tabelle 7.21 sind die Kenndaten der hier zum Vergleich anstehenden Trennsäulen aufgeführt.

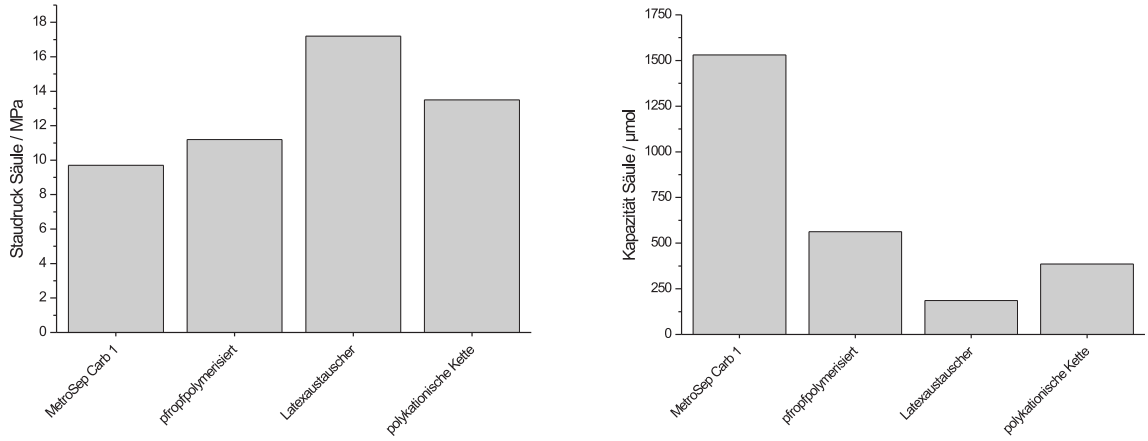


Abbildung 7.26: Vergleich des Staudrucks und der resultierenden Anionenaustauschkapazität auf agglomerierten Anionenaustauschern mit der MetroSep Carb 1 und einem pfropfpolymerisierten Material.

Auf allen Trennsäulen wurden unter den gleichen Bedingungen die Trennung von Kohlenhydratmischungen durchgeführt. Die Flussrate betrug 1 mL min^{-1} und die Eluentkonzentration 100 mmol L^{-1} Natriumhydroxid. Der Staudruck aller Trennsäulen ließ eine chromatographische Bestimmung im verwendeten System zu. Der Latexaustauscher ist ähnlich den chloromethylierten Materialien durch den hohen Staudruck von 17,2 MPa für den Dauerbetrieb nicht geeignet. Betrachtet man den Vergleich der erhaltenen Staudrücke in Abbildung 7.26, so liegen die Staudrücke der agglomerierten Materialien über denen der oberflächenfunktionalisierten, beschichteten Materialien. Die MetroSep Carb 1 besitzt den niedrigsten Staudruck der vier Trennsäulen. Diese Trennsäule besitzt aber im Gegensatz zu den anderen Trennsäulen einen Innendurchmesser von 4,6 mm, was den Staudruck herabsetzt.

Die erhaltene Anionenaustauschkapazität für den Latexaustauscher ist sehr gering. Verglichen mit der Immobilisierung von polykationischen Ketten beträgt sie fast die Hälfte. Zudem kann durch die Verwendung des 6-12-Ionene als Austauschergruppe die Anionenaustauschkapazität dieser Materialien noch weiter erhöht werden. Die Trennsäule mit dem pfropfpolymerisierten Material erreicht als oberflächenmodifiziertes Material eine höhere Anionenaustauschkapazität, ebenso wie die MetroSep Carb 1.

In Abbildung 7.27 auf der nächsten Seite sind die Chromatogramme der selbst hergestellten Trennsäulen unter diesen Bedingungen gegenübergestellt. Trotz der höheren Trennleistung ist die Trennung der drei Kohlenhydrate Glucose, Galactose und Xylose auf keiner der beiden agglomerierten Trennsäulen möglich. Die mit Latex agglomerierten Phasen weisen außerdem eine schlechte Signalform für Sorbitol und Ribose auf. Die chromatographischen Ergebnisse der gezeigten Trennungen sind in Tabelle 7.22 auf Seite 194 übersichtlich zusammengefasst.

In Abbildung 7.28 auf Seite 195 ist ein Vergleich der Retentionsfaktoren und der Selektivitätsfaktoren für die untersuchten Trennsäulen aufgeführt. Die Retentionszeiten der Analyten sind im wesentlichen proportional zur Anionenaustauschkapazität der Trennsäulen. Die Selektivitätsfaktoren, bezogen auf Glucose, ändern sich für die meisten Kohlenhydrate nur wenig. Eluieren Sorbitol und Ribose auf dem pfropfpolymerisierten Material

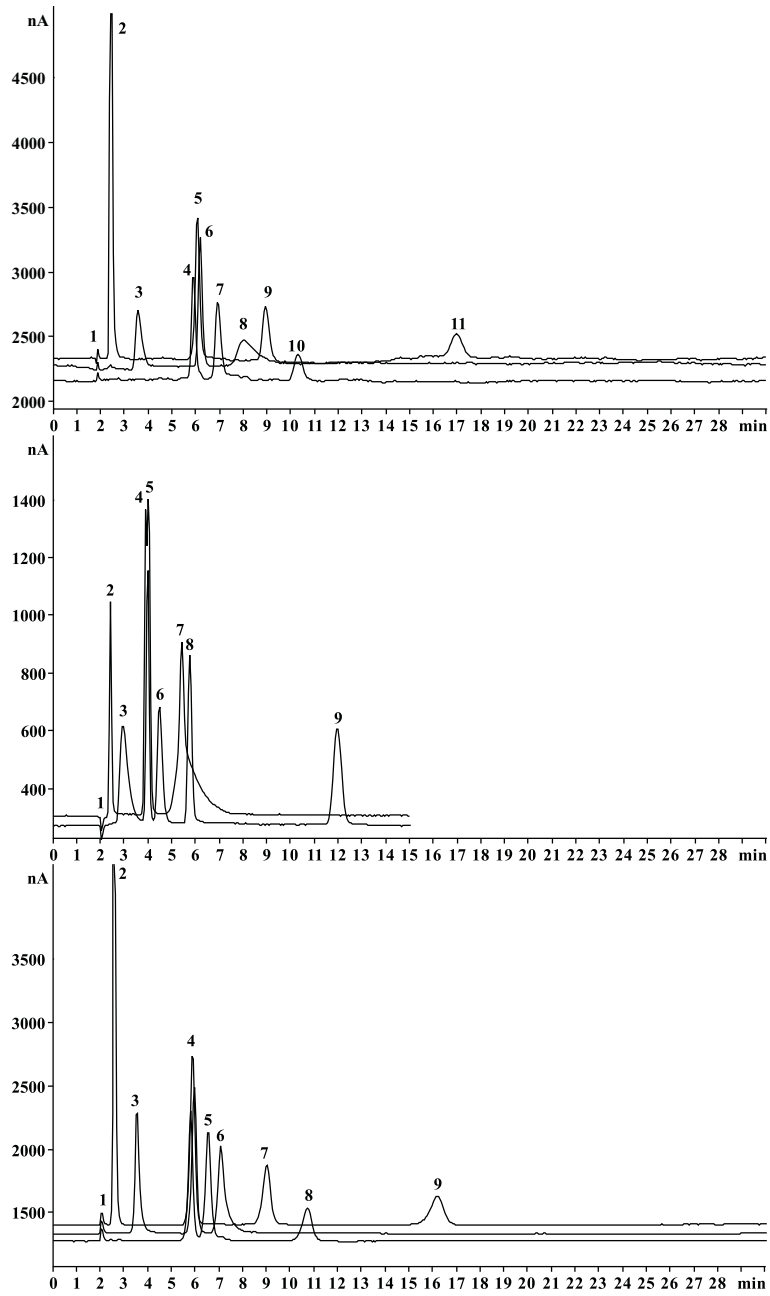


Abbildung 7.27: Trennung von Kohlenhydraten auf agglomerierten Anionenaustauschern im Vergleich mit dem mit VBCEDMA pfropfpolymerisierten Material. Säule: Oben: VBCEDMA pfropfpolymerisiert, Mitte: Latexaustauscher, Unten: polykationische Kette, Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL. Oben: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Xylose, 6 - Galactose, 7 - Fructose, 8 - Ribose, 9 - Lactose, 10 - Saccharose. 11 - Maltose. Mitte: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, 5 - Galactose, Xylose, 6 - Fructose, 7 - Lactose, Ribose, 8 - Saccharose, 9 - Maltose. Unten: 1 - Totvolumen, 2 - Inositol, 3 - Sorbitol, 4 - Glucose, Galactose, Xylose, 5 - Fructose, 6 - Ribose, 7 - Lactose, 8 - Saccharose. 9 - Maltose.

Tabelle 7.22: Chromatographische Ergebnisse der Trennung von Kohlenhydraten auf agglomerierten Anionenaustauschern im Vergleich mit einer propfpolymerisierten Phase und der MetroSep Carb 1. Eluentkonzentration: 100 mmol L^{-1} NaOH, Flussrate: 1 mL min^{-1}, Analytkonzentration: 10 mg L^{-1}, Temperatur: 305 K, Injektionsvolumen: 20 μL.

Referenz:

MetroSep Carb 1	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,52	1,89	4,12	4,36	4,68	5,74	6,38	8,29	7,31	20,21
Trennleistung TP m^{-1}	22000	1000	26000	24000	28000	11000	16000	1000	22000	29000
Asymmetriefaktor A_s	0,96	1,89	0,84	0,84	0,81	1,06	0,9	1,51	0,89	1,00
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,13	0,46	1,00	1,06	1,14	1,39	1,55	2,01	1,77	4,91

VBCEDMA pfropfpolymerisiert:

O181105 AG EDMA	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,39	0,96	2,17	2,38	2,41	2,72	3,96	3,43	4,53	8,43
Trennleistung TP m^{-1}	5400	2300	22700	19300	23700	17700	18700	1900	15500	23000
Asymmetriefaktor A_s	0,8	2,39	1,36	1,05	1,34	1,53	1,35	2,67	1,39	1,03
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,18	0,44	1,00	1,10	1,11	1,25	1,82	1,58	2,09	3,88

Latexaustauscher:

L161002 AG EDMA-L	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,19	0,43	0,91	0,94	0,98	1,19	1,66	1,48	1,80	4,83
Trennleistung TP m^{-1}	15300	1300	25100	21200	25700	8300	21200	800	21700	21900
Asymmetriefaktor A_s	1,20	2,55	1,17	1,19	1,31	1,57	1,18	4,83	1,15	1,09
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,21	0,47	1,00	1,03	1,08	1,31	1,82	1,63	1,98	5,31

polykationsche Kette:

IO200106 AG 6-10	Ino.	Sor.	Glu.	Gal.	Xyl.	Fru.	Lac.	Rib.	Sac.	Mal.
Retentionsfaktor k'	0,27	0,71	1,81	1,86	1,88	2,17	3,36	2,42	4,2	6,84
Trennleistung TP m^{-1}	13100	6900	16000	14900	16100	11800	13300	8000	10800	14600
Asymmetriefaktor A_s	0,98	1,89	2,42	0,84	0,90	0,93	0,88	2,19	0,83	0,80
Selektivitätsfaktor (Glu.)	0,15	0,39	1,00	1,03	1,04	1,20	1,86	1,34	2,32	3,78

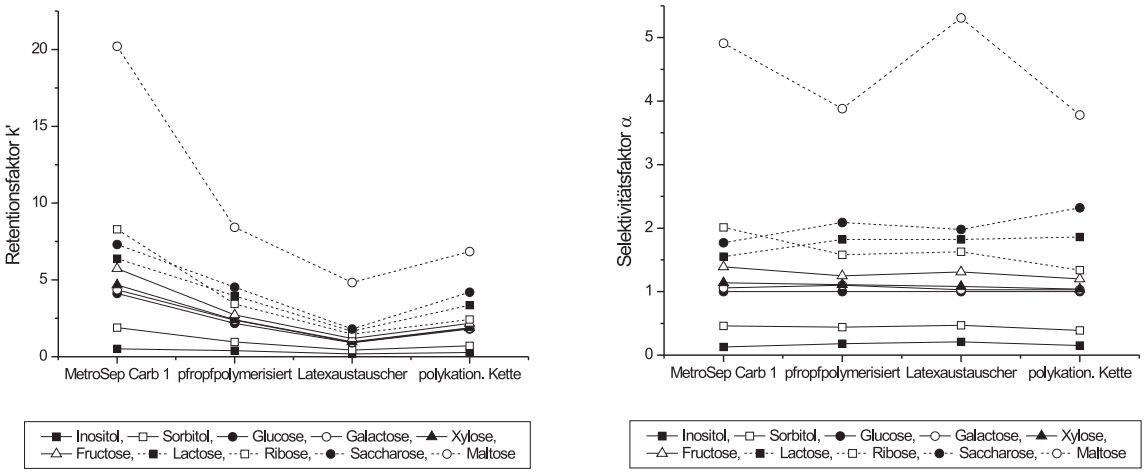


Abbildung 7.28: Vergleich der Retentionsfaktoren und Selektivitätsfaktoren, bezogen auf Glucose, von Kohlenhydraten auf agglomerierten Anionenaustauschern.

schon sehr früh für die oberflächenfunktionalisierten Austauscher, so findet sich bei den agglomerierten Austauschern ein weiterer Trend zu noch kürzeren Retentionszeiten. Besonders ausgeprägt ist dieses Verhalten auf dem mit 6-10-Ionene belegten Austauscher. Ähnlich wie bei den pfropfpolymerisierten Austauschern haben auch die mit polykationischen Ketten belegten Materialien eine sehr gleichmäßige Verteilung der Ladungen auf der Oberfläche des Materials, die zudem nur auf der Oberfläche, und nicht in der Porenstruktur der Trägerteilchen, lokalisiert ist. Das Trägermaterial zur Immobilisierung von polykationischen Ketten wird zudem ebenfalls durch Pfropfpolymerisation von VBS hergestellt, sodass die frühe Elution dieser Analyten der Oberflächenmodifizierung zugeschrieben werden kann.

Die Trennleistung der Austauschermaterialien ist für alle Analyten sehr gut. Alle Trennsäulen erreichen wie die MetroSep Carb 1 für die meisten Kohlenhydrate eine Trennleistung von über 15000 TP m^{-1}. Erstaunlich ist die in diesem Rahmen liegende Trennleistung der oberflächenfunktionalisierten, pfropfpolymerisierten Anionenaustauschersäule. Für den Latexaustauscher werden Spitzenwerte bis zu 25000 TP m^{-1} für die Monosaccharide erreicht. Nur für die sehr breiten Signale von Sorbitol und Ribose werden sehr niedrige Trennleistungen erhalten. Eine Ausnahme bilden die mit polykationischen Ketten belegten Austauscher. Diese erreichen für beide Analyten eine hohe Trennleistung über 5000 TP m^{-1}, obwohl sie für alle anderen Kohlenhydrate die schlechtesten Trenneffizienzen erzielen. In Abbildung 7.29 auf der nächsten Seite befinden sich die graphischen Auftragungen für die Trennleistung und die Asymmetriefaktoren. Die Asymmetriefaktoren sind für alle Trennsäulen in einem guten Bereich zwischen 1,0 und 1,5. Als Ausnahmen sind wieder die Symmetrien der Sorbitol und Ribosesignale zu betrachten. Auf dem Latexaustauscher zeigt sich hierbei eine besonders schlechte Profilform des Ribosesignals.

In einem Vergleich der selbst hergestellten Anionenaustauscher bleibt festzustellen, dass eine Trennung von Kohlenhydraten auf allen hergestellten Austauschermaterialien durchführbar ist. Auf die pfropfpolymerisierte Austauschersäule wurde schon bei den oberflächenfunktionalisierten Materialien eingegangen. Im Vergleich mit den agglomerierten Austauschern zeigt sie starke Ähnlichkeiten in den chromatographischen Leistungen. Sie vereinigt die hohe Anionenaustauschkapazität der oberflächenfunktionalisierten Materialien mit der ho-

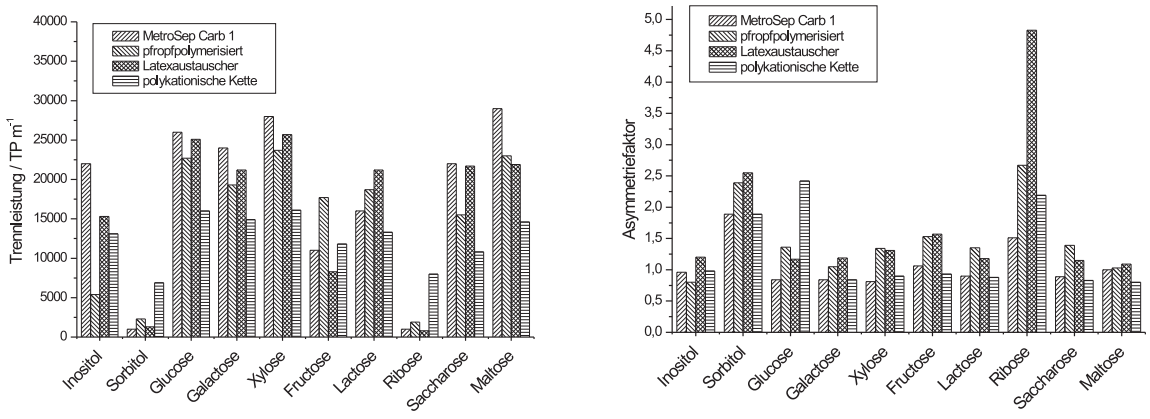


Abbildung 7.29: Vergleich der Trennleistungsdaten und der Asymmetriefaktoren von Kohlenhydraten auf agglomerierten Anionenaustauschern.

hen Trennleistung der agglomerierten Austauscher. Die Latexaustauscher eignen sich bis heute aufgrund der hervorragenden Trennleistung am besten für die Trennung von Kohlenhydraten. Durch die Verwendung der in dieser Arbeit nicht zur Verfügung stehenden Gradientenelution kann bei niedrigen Eluentkonzentrationen durch die hohe Trenneffizienz der Materialien auch die Trennungen von Kohlenhydraten mit sehr ähnlichem Retentionsverhalten gelingen. Die mit polykationischen Ketten belegten Austauscher zeigen in diesen ersten Versuchsreihen interessante Möglichkeiten auf. Es können höhere Kapazitäten im Vergleich zu Latexaustauschern erreicht werden. Außerdem kann durch die vielfältige Auswahl an Monomeren zur Synthese großen Einfluss auf den Aufbau der Austauschergruppe genommen werden. Eine Synthese von Ionenen mit spezifischen Funktionalitäten zur Wechselwirkung mit einzelnen Gruppen von Kohlenhydraten mit ähnlichen Eigenschaften ist denkbar.

8 Experimenteller Teil

8.1 Oberflächenmodifizierungen auf PS-DVB-Materialien

In Tabelle 8.1 auf der nächsten Seite sind alle zur Durchführung der Oberflächenmodifizierungen notwendigen Geräte und Chemikalien aufgeführt. Die Lösungsmittel wurden wenn nötig nach gängigen Methoden gereinigt und getrocknet.

8.1.1 Chloromethylierungen

Die Chloromethylierung wird in einem stark automatisierten Versuchsaufbau durchgeführt. Die Reaktion findet in einem thermostatisierten Reaktor statt, wie er in Abbildung 8.1 abgebildet ist. Es wird ein spezieller Rührmagnet in Hantelform verwendet, um die Auflagefläche des Rührmagneten zu minimieren. Bei Verwendung von geraden Rührmagneten kommt es bei langer Reaktionsdauer zu einer stärkeren Beanspruchung des Materials. Die Polymerteilchen werden zwischen dem Rührmagneten und dem ebenen Reaktorboden mechanisch zermahlen.

Vor dem Synthesestart wird der Thermostat auf 273 K eingestellt und in Betrieb genommen. Der Intensivkühler und das Temperaturelement wird am Reaktor angebracht. Nach Einwaage des Polymers und Überführung in den Reaktor wird nach Aufsatz der Dosierzuführung die Synthesesequenz wie in Kapitel 6.2.1 auf Seite 103 beschrieben gestartet. Das weiße PS-DVB-Copolymer färbt sich nach Zugabe der Chlorsulfonsäure langsam braun. Durch Zugabe von Wasser im letzten Synthesesequenzschritt wird die Reaktion abgebrochen. Im Verlauf dieser Arbeit wurden verschiedene Aufarbeitungsmethoden angewendet.

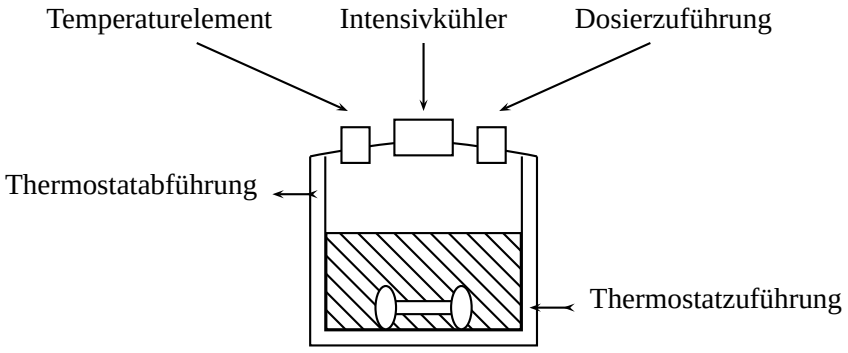


Abbildung 8.1: Schematische Darstellung des verwendeten Reaktors.

Tabelle 8.1: Eingesetzte Geräte und Chemikalien zur Oberflächenmodifizierung von PS-DVB-Materialien.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Magnetrührwerk	RCT Basic	IKA
Rührmagnet	Hantelform, 3 cm	
Reaktor ($d = 10$ cm)	500 mL, 2 x NS19, 1 x NS29	
Thermoelement	Pt-100	
Dosiersteuerungsgerät	Liquino 711	Metrohm
Dosierautomaten	4 x Dosino 700	Metrohm
Thermostat	Haake F8 C35	Haake
Glasfilternutsche	Pore 3, 26D, ($d = 120$) mm	Schott
div. Glasgeräte	u.a. Intensivkühler	
Laborwaage	Model 572	Kern

Chemikalien	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Methanol, Ethanol, Aceton	rein, dest.	Diverse	
Formaldehyddimethylacetal (Dimethoxymethan (DMM))	zur Synthese	Fluka	109-87-5
Sulfurylchlorid (SC)	pract	Fluka	7791-25-5
Chlorsulfonsäure (CSS)	purum	Fluka	7790-94-5
2-Propanol	purum	Fluka	67-63-0
1,2-Dichlorpropan	puriss	Fluka	78-87-5
Kaliumperoxodisulfat	reinst	Merck	7727-21-1
Vinylbenzylchlorid	nicht stabilisiert	Merck	1073-67-2

Methode A Dies ist die Aufarbeitung nach Nowak [54]. Die Reaktionsmischung wird nach Ende der Synthesesequenz direkt durch einen Glasfaserfilter abfiltriert. Anschließend wird der Rückstand mit 250 mL Wasser gewaschen. Dabei ist eine deutliche Gasentwicklung durch Zersetzung von überschüssiger Chlorsulfonsäure beobachtbar. Anschließend wird mit jeweils 200 mL 2-Propanol, Methanol und Aceton gewaschen.

Methode B Die Reaktionsmischung wird nach Ende der Synthesesequenz direkt durch eine Glasfilternutsche abfiltriert. Anschließend wird der Rückstand vorsichtig mit 250 mL Wasser gewaschen und das Material mehrfach in der Glasfilternutsche aufgeschlemmt. Anschließend wird mit jeweils 200 mL 1,2-Dichlorpropan, Methanol und Aceton gewaschen.

Methode C Die Reaktionsmischung wird nach Ende der Synthesesequenz nochmals kräfitg für 30 min durchgerührt, um eine bessere Zersetzung der überschüssigen Chlorsulfonsäure zu gewährleisten. Anschließend wird durch eine Glasfilternutsche abfiltriert. Der Rückstand wird nun erst mit 200 mL 1,2-Dichlorpropan aufgenommen und 30 min bei 343 K gekocht, um unpolare Verunreinigungen auszuwaschen. Anschließend wird zunächst mit je 200 mL Wasser, Ethanol und Aceton gewaschen.

Im folgenden werden die Parametereinstellungen der einzelnen Unterprogramme der Synthesesequenz aufgeführt. Diese Programme können im Festspeicher des Liquino oder auf austauschbaren Speicherkarten abgelegt werden. Parameter, die nicht aufgeführt sind, entsprechen den Standardeinstellungen des Liquino.

SYNTH Hauptprogramm der Synthese.

Mode: SEQ

1. Befehl: METHOD, Methode: DOS-DMM
2. Befehl: METHOD, Methode: DOS-SC
3. Befehl: METHOD, Methode: DOS-CSS
4. Befehl: METHOD, Methode: DOS-WATER
5. Befehl: METHOD, Methode: END-SEQ
6. Befehl: METHOD, Methode: NO OPERATION

DOS-DMM, DOS-SC, DOS-CSS, DOS-WATER Unterprogramme der Synthesesequenz

Mode: XDOS

	DOS-DMM	DOS-SC	DOS-CSS	DOS-WATER
XDOS-Parameter:				
XDOS-Typ	Volumen&Rate	Volumen&Rate	Volumen&Rate	Volumen&Rate
Volumen	XX mL	XX mL	XX mL	XX mL
Dos.-Rate	20 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	1 mL min^{-1}	2 mL min^{-1}
Temperaturmessung	aus	ein	ein	ein
Füllrate	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}
Autom. Füllen	aus	aus	aus	aus
XDOS-Dosiereinheit:				
Verwendung	einfach	einfach	einfach	einfach
Dosierer	DOS1	DOS2	DOS3	DOS4
Dos.Einheit	DMM	SC	CSS	WATER
Port-Verwendung	standard	standard	standard	standard
XDOS-Überwachung:				
Temperatur	aus	ein	ein	ein
Untergrenze	—	-5°C	-5°C	35°C
Obergrenze	—	-0°C	-0°C	45°C
Aktion	—	warten	warten	warten
Alarm-Pins	—	keine	keine	keine
Volumen	—	aus	aus	aus
XDOS-Vorwahl:				
Startverzög.	00:00:10	00:00:10	01:00:00	24:00:00

CLEAN Spülprogramm nach der Synthese.

Mode: SEQ

1. Befehl: METHOD, Methode: RINS-SC
2. Befehl: METHOD, Methode: RINS-CSS
3. Befehl: METHOD, Methode: CLEAN-SC
4. Befehl: METHOD, Methode: CLEAN-CSS
5. Befehl: METHOD, Methode: END-SEQ
6. Befehl: METHOD, Methode: NO OPERATION

RINS-SC, RINS-CSS, CLEAN-SC, CLEAN-CSS Unterprogramme der Reinigungssequenz

Mode: XDOS

	RINS-SC	RINS-CSS	CLEAN-SC	CLEAN-CSS
XDOS-Parameter:				
XDOS-Typ	Volumen&Rate	Volumen&Rate	Volumen&Rate	Volumen&Rate
Volumen	4 mL	4 mL	10 mL	10 mL
Dos.-Rate	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}
Temperaturmessung	aus	aus	aus	aus
Füllrate	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}	max mL min^{-1}
Autom. Füllen	aus	aus	aus	aus
XDOS-Dosiereinheit:				
Verwendung	einfach	einfach	einfach	einfach
Dosierer	DOS2	DOS3	DOS2	DOS3
Dos.Einheit	SC	SC	CSS	CSS
Port-Verwendung	spezial	spezial	spezial	spezial
Dosier-Port	2	2	1	1
Füll-Port	2	2	3	3
Abfall-Port	4	4	1	1
XDOS-Überwachung:				
Temperatur	aus	ein	ein	ein
XDOS-Vorwahl:				
Startverzög.	00:00:10	00:00:10	00:00:10	00:00:10

8.1.2 Beschichtung von PS-DVB-Trägermaterial mit Vinylbenzylchlorid

Die Reaktion wird nach einer Vorschrift von Raskop durchgeführt [61]. In einem Reaktor werden 160 mL Wasser vorgelegt. Dieses wird durch den Thermostaten auf 343 K unter Schutzgasatmosphäre erwärmt. Anschließend werden 5 g des PS-DVB-Polymers, gelöst in 40 mL Ethanol unter Rühren zugegeben. Nachdem die Lösung wieder die Reaktionstemperatur von 343 K erreicht hat, wird je nach Monomer/Polymerverhältnis Vinylbenzylchlorid zugegeben und die Suspension für 5 min gerührt. Nach Zugabe des Radikalstarters Kaliumperoxodisulfat zum Starten der Reaktion wird die Suspension für 240 min bei 343 K unter Schutzgas gerührt. Anschließend wird die Suspension auf 278 K abgekühlt und der Feststoff abfiltriert. Nach Waschen mit Ethanol und Wasser wird das Material in einem leicht feuchten Zustand gelagert. Das erhaltene Produkt wird anschließend einmal sedimentiert.

8.1.3 Beschichtung von PS-DVB-Trägermaterial dem Ionomer VBCEDMA

Die Herstellung des Ionomers erfolgte im Rahmen der Dissertation von Raskop [61]. In einem Reaktor werden 160 mL Wasser vorgelegt. Dieses wird durch den Thermostaten auf 343 K unter Schutzgasatmosphäre erwärmt. Anschließend werden 5 g des PS-DVB-Polymers, gelöst in 40 mL Ethanol unter Rühren zugegeben. Nachdem die Lösung wieder die Reaktionstemperatur von 343 K erreicht hat, wird das Ionomer in der entsprechenden Menge zugegeben und die Suspension für 5 min gerührt. Nach Zugabe des Radikalstarters Kaliumperoxodisulfat zum Starten der Reaktion wird die Suspension für 240 min bei 343 K unter Schutzgas gerührt. Anschließend wird die Suspension auf 278 K abgekühlt und der Feststoff abfiltriert. Nach Waschen mit Ethanol und Wasser wird das Material in einem leicht feuchten Zustand gelagert. Das erhaltene Produkt wird anschließend einmal sedimentiert.

Tabelle 8.2: Eingesetzte Geräte und Chemikalien zur Herstellung und Immobilisierung von Ionenen.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Magnetrührwerk	RCT Basic	IKA
Rührmagnet	Stabform, 3 cm	
Büchnertrichter	$d = 55$ mm	Haldenwanger
Filter	Rundfilter 595, Dicke: 0,16 mm, Rückhaltebereich: 4–7 μm	Schleicher & Schuell
div. Glasgeräte	u.a. 100 mL Rundkolben, Rückflusskühler	
Laborwaage	Model 572	Kern

Chemikalien	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Ethanol	rein, dest.	Diverse	64-17-5
Methanol	rein, dest.	Diverse	67-56-1
Dimethylformamid	puriss, p.a.	Diverse	68-12-2
N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin	purum	Fluka	110-18-9
N,N,N',N'-Tetramethyl-1,3-propylendiamin	99%	Aldrich	110-95-2
N,N,N',N'-Tetramethyl-1,4-butylendiamin	purum	Fluka	111-51-3
N,N,N',N'-Tetramethyl-1,6-hexylendiamin	99%	Aldrich	111-18-2
1,2-Dibromethan	zur Synthese	Merck	106-93-4
1,6-Dibromhexan	zur Synthese	Merck	629-03-8
1,10-Dibromdecan	97%	Aldrich	4101-68-2
1,12-Dibromdodecan	98%	Aldrich	3344-70-5
α,α-Dibromo-o-xylol	purum	Fluka	91-13-4
α,α-Dibromo-p-xylol	purum	Fluka	623-24-5
1,3-Dibrom-2-propanol	techn., 95%	Aldrich	96-21-9
4-Nitrobenzylbromid	zur Synthese	Merck	100-11-8
Kaliumperoxodisulfat	reinst	Merck	7727-21-1
4-Vinyl-benzolsulfonsäure Natriumsalz	techn., 90%	Fluka	5695-37-6

8.2 Herstellung und Immobilisierung von Ionenen

In Tabelle 8.2 sind die benötigten Geräte und Chemikalien aufgeführt. Die Lösungsmittel wurden wenn nötig nach gängigen Methoden gereinigt und getrocknet.

8.2.1 Synthese von Ionenen

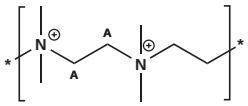
Eine allgemeine Arbeitsvorschrift für Ionene folgt diesem Muster: In einem 100 mL Rundkolben werden 30 mL Lösungsmittel (Dimethylformamid (DMF) oder Methanol) vorgelegt. Nach der Zugabe von 0,05 mol des ditertiären α, ω - Diamin wird unter starken Rühren eine Lösung von 0,05 mol Dihalogenalkyl in 20 mL Lösungsmittel zugegeben. Die Mengen an Monomeren wird so eingesetzt, dass equimolare Lösungen von Diamin und Diahalogenalkyl verwendet werden und die resultierende Lösung eine Gesamtkonzentration von 1 mol L^{-1} für die einzelnen Monomere aufweist. Bei der Synthese von Ionenen mit längeren Alkylspacerketten (y $>$ 10) wird eine größere Menge an Lösungsmittel verwendet, da die Lösung im Reaktionsverlauf sehr viskos wird. In diesem Falle wird mit einer Gesamtkonzentration von 0,5 mol L^{-1} gearbeitet. Die Reaktion wird bis zur Trübung der Lösung bei Raumtemperatur gerührt. Die Dauer ist von der Reaktivität der eingesetzten Monomere abhängig. Während der Reaktion trübt sich die Lösung durch die gebildeten Ioneneketten. Die Suspension wird nach Beendigung der Reaktion in einen großen Überschuss ($>$ 500 mL) Aceton gegeben. Das Ionene fällt als weißer, flockiger Niederschlag aus. Es wird gewartet, bis der Niederschlag sich absetzt und die überstehende

Lösung wird abdekantiert. Der Niederschlag wird nochmals mit 300 mL Aceton versetzt und kräftig gerührt. Nach Abfiltrieren und nochmaligem waschen mit Aceton wird der Niederschlag im Hochvakuum getrocknet. Da die polareren Ionene mit kurzen Spacerkettenabständen leicht hygroskopisch sind, erfolgt die Lagerung in gut verschließbaren Schraubdeckelgläsern. Die Ausbeuten an getrocknetem Ionene lagen in allen Synthesen bei über 80%.

Im folgenden wird die Herstellung einiger ausgewählter Ionene ausführlicher beschrieben und ergänzt. Zudem sind die Daten zur Charakterisierung aus NMR und CHN-Analysen angefügt. Alle NMR-Verschiebungen δ sind in ppm, die Ergebnisse der CHN-Analyse in Gewichtsprozent. Für einige Ionene sind zudem die Ergebnisse einer groben Größenbestimmung nach der in Kapitel 4.3.5 auf Seite 69 erläuterten Methode über UV/VIS-Spktroskopie aufgeführt [98].

2-2-Ionene

Die eingesetzten Monomere Tetramethylethylendiamin und 1,2-Dibromethan sind im Vergleich zu allen anderen Monomeren, mit Ausnahme der Xylole, sehr reaktiv. Die Reaktionsdauer beträgt nur 24 Stunden. Die Reaktion erfolgte in DMF bei Raumtemperatur.

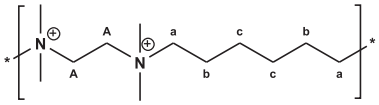


^{1}H-NMR: (D_2O, 300 MHz) δ = 3,20 (s, 6H, N-Me), 3,78 (bs, 4H, A)

CHN: ber.: C: 31,60, H: 6,63, N: 9,21
gef.: C: 31,35, H: 6,53, N: 9,11

2-6-Ionene

Die Reaktionsdauer beträgt 24 Stunden.



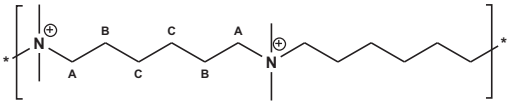
^{1}H-NMR: (D_2O, 300 MHz) δ = 1,41 (bs, 4H, c), 1,81 (bs, 4H, b), 3,17 (s, 12H, N-Me), 3,39–3,44 (m, 4H, a), 3,90 (bs, 4H, A)

CHN: ber.: C: 40,02, H: 7,84, N: 7,78
gef.: C: 38,48, H: 7,31, N: 7,88

Molmasse: 5700 g/mol

6-6-Ionene

Die Reaktionsdauer beträgt 48 Stunden.



^{1}H-NMR: (D_2O, 300 MHz) δ = 1,32 (bs, 4H, C), 1,68 (bs, 4H, B), 2,96 (s, 6H, N-Me), 3,11–3,28 (m, 4H, A)

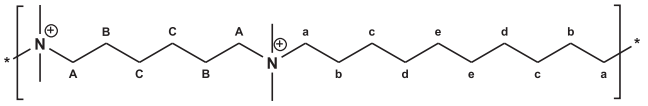
^{13}C-NMR: (D_2O, 75 MHz) δ = 21,9 (C-C), 25,3 (C-B), 50,5 (N-C), 64,0 (N-A)

CHN: ber.: C: 46,16, H: 8,72, N: 6,73
gef.: C: 45,56, H: 8,89, N: 6,85

Molmasse: 4500 g/mol

6-10-Ionene

Die Reaktionsdauer beträgt 72 Stunden.



^{1}H-NMR: (D_2O, 300 MHz) δ = 1,20–1,32 (m, 12H, C, d, e), 1,32–1,40 (m, 4H, c), 1,59–1,78 (bs, 8H, B, b), 2,96 (s, 12H, N-Me), 3,13–3,27 (m, 8H, A, a)

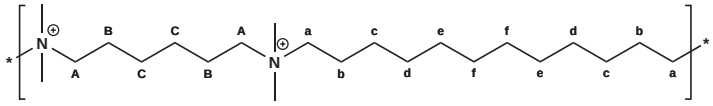
^{13}C-NMR: (D_2O, 75 MHz) δ = 21,9, 22,0 (C-C, C-c), 25,2, 25,5 (C-d, C-e), 28,3, 28,4 (C-b, C-B), 50,5 (N-Me), 63,9, 64,3 (C-a, C-A)

CHN: ber.: C: 50,85, H: 9,93, N: 5,93
gef.: C: 49,35, H: 9,43, N: 6,04

Molmasse: 25700 g/mol

6-12-Ionene

Die Reaktionsdauer beträgt 144 Stunden.



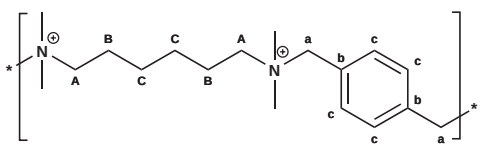
^{1}H-NMR: (D_2O, 300 MHz) δ = 1,17–1,23 (m, 8H, e, f), 1,23–1,30 (m, 8H, c, d), 1,30–1,37 (m, 4H, C), 1,58–1,73 (m, 8H, B, b), 2,95 (s, 12H, N-Me), 3,13–3,24 (m, 8H, A, a)

^{13}C-NMR: (D_2O, 75 MHz) δ = 21,8, 21,9 (C-C, C-c), 25,2, 25,6 (C-d, C-e), 28,7, 28,6, 28,3 (C-B, C-b, C-f), 50,6 (N-Me), 63,8, 64,2 (C-A, C-a)

CHN: ber.: C: 52,80, H: 9,67, N: 5,60
gef.: C: 51,73, H: 9,47, N: 5,49

6-pXyl-Ionene

Die Reaktionsdauer beträgt 24 Stunden. Die Reaktion ist stark exotherm. Die Zugabe des gelösten p-Brom-Xylols erfolgt langsam unter Kühlung bei 273 K.



^{1}H-NMR: (D_2O, 300 MHz) δ = 1,39 (bs, 4H, C), 1,85 (bs, 4H, B), 2,97 (s, 12H, N-Me), 3,19–3,38 (m, 4H, A), 4,38–4,55 (m, 4H, a), 7,61 (s, 4H, b)

^{13}C-NMR: (D_2O, 75 MHz) δ = 22,1, 25,3 (C-C, C-B), 49,7 (N-Me), 64,7, 67,1 (C-A, C-a), 129,7 (C-b), 133,6 (C-c)

CHN:	ber.:	C: 47,08,	H: 6,91,	N: 6,86
	gef.:	C: 46,84,	H: 7,03,	N: 6,38

8.2.2 Beschichtung von PS-DVB-Trägermaterial mit 4-Vinylbenzolsulfonsäure Natriumsalz

Die Reaktion wird nach einer Vorschrift von Raskop durchgeführt [61]. In einem Reaktor werden 160 mL Wasser vorgelegt. Dieses wird durch den Thermostaten auf 343 K unter Schutzgasatmosphäre erwärmt. Anschließend werden 7,5 g des PS-DVB-Polymers, gelöst in 40 mL Ethanol unter Rühren zugegeben. Nachdem die Lösung wieder die Reaktionstemperatur von 343 K erreicht hat, wird das 4-Vinylbenzolsulfonsäure Natriumsalz zugegeben und die Suspension für 5 min gerührt. Nach Zugabe des Radikalstarters Kaliumperoxodisulfat zum Starten der Reaktion wird die Suspension für 240 min bei 343 K unter Schutzgasatmosphäre gerührt. Anschließend wird die Suspension auf 278 K abgekühlt und der Feststoff abfiltriert. Nach Waschen mit Ethanol und Wasser das Material in einem leicht feuchten Zustand gelagert. Das erhaltene Produkt wird anschließend einmal sedimentiert.

8.2.3 Sulfomethylierung

4 g eines chloromethylierten PS-DVB-Polymers werden in 40 mL Methanol und 30 mL Dimethylsulfid suspendiert und bei Raumtemperatur 90 Stunden gerührt. Um ein zermahlen des Materials bei langen Reaktionszeiten zu verhindern, wurde der Rührmagnet durch einen Fish-Clip ™der Firma Bürkle GmbH in der Lösung gehalten, sodass kein Bodenkontakt vorhanden ist. Anschließend wird das Polymer abgetrennt und zweimal mit 50 mL Methanol gewaschen. Nach Zugabe von 40 mL gesättigter Natriumsulfitlösung zum Polymer wird die erhaltene Suspension für 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend langsam über 48 Stunden auf 353 K erwärmt. Nach Abtrennen des Polymers wird der Rückstand mit viel Ethanol und Wasser gewaschen und zuletzt mit 30 mL verd. Salzsäure in die Säureform überführt. Anschließend erfolgt die Kationenkapazitätsbestimmung mittels Titration gegen Natronlauge.

8.2.4 Belegung der Trägermaterialien mit Ionene

Belegung in Suspension

In einem 100 mL Rundkolben werden etwa 2 g des sulfonierten Trägermaterials in 40 mL Wasser suspendiert und unter Rühren auf 343 K erwärmt. Anschließend werden 500 mg des Ionenes, gelöst in 10 mL Wasser, unter Rühren schnell zugegeben. Die Suspension wird für weitere 30 min bei 343 K gerührt. Anschließend wird das Polymer nach Erkalten der Lösung über einen Filter abgetrennt und mit Wasser gewaschen.

Dynamische Belegung

In einem Erlenmeyerkolben werden 500 mg Ionene in 500 mL Wasser vollständig gelöst. Die Lösung wird mit einer HPLC-Pumpe bei einer Flussrate von 0,3 mL min^{-1} durch die Trennsäule gefördert. Die Temperatur der Trennsäule wird durch einen Säulenthermostaten während der Belegung auf 343 K gehalten. Nach 14 h wird die mit Ionene belegte Säule nochmals 60 min mit Natronlaugeeluent konditioniert.

Tabelle 8.3: Eingesetzte Geräte und Chemikalien zur Aminierung von präfunktionalisierten Materialien.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Magnetrührwerk	RCT Basic	IKA
Rührmagnet	Stabform, 3 cm	
Büchnertrichter	$d = 55$ mm	Haldenwanger
Filter	Rundfilter 595, Dicke: 0,16 mm, Rückhaltebereich: 4–7 μm	Schleicher & Schuell
div. Glasgeräte	u.a. 100 mL Rundkolben, Rückflusskühler	
Laborwaage	Model 572	Kern

Chemikalien	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Ethanol	rein, dest.	Diverse	64-17-5
Acetonitril	Gradient grade	Merck	75-05-8
Ethyldimethylamin	purum	Fluka	598-56-1
Dimethylhexylamin	purum	Fluka	4385-04-0
Diemthyldodecylamin	purum	Fluka	112-18-5
N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin	purum	Fluka	110-18-9
N,N,N',N'-Tetramethyl-1,3-propylendiamin	99%	Aldrich	110-95-2
N,N,N',N'-Tetramethyl-1,6-hexylendiamin	99%	Aldrich	111-18-2
N,N,N',N",N"-Pentamethyldiethylentriamin	zur Synthese	Merck	3030-47-5
Methyliodid	zur Synthese	Merck	74-88-4
Ethylbromid	zur Synthese	Merck	74-96-4

8.3 Aminierungsvorschriften

In Tabelle 8.3 sind die benötigten Geräte und Chemikalien aufgeführt. Die Lösungsmittel wurden wenn nötig nach gängigen Methoden gereinigt und getrocknet.

8.3.1 Aminierung von oberflächenfunktionalisierten Materialien

Die Aminierungsreaktionen werden alle nach einer abgewandelten Vorschrift von Nowak durchgeführt [54]. In einem Rundkolben mit Rückflusskühler werden 2–3 g des oberflächenmodifizierten Polymers vorgelegt. Eine Mischung (50 mL) bestehend aus 5-30 mL des Amins mit 20-45 mL Ethanol wird für 18 Stunden bei 348 K in einem 100 mL Rundkolben mit aufgesetztem Rückflusskühler gerührt. Amine mit niedrigem Siedepunkt wie EDMA werden bei einer niedrigeren Temperatur von 318 K umgesetzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Suspension über einen Büchnertrichter mit Rundfilter filtriert und mit je 50 mL Wasser und Ethanol gewaschen. Der Rückstand wird über Nacht an der Luft oder in wenigen Stunden im Trockenschrank bei 313 K getrocknet und anschließend bei Raumtemperatur gelagert.

8.3.2 Aminierungen von Latex-Partikeln

Die Aminierungsreaktionen werden alle nach einer Vorschrift von Holland durchgeführt [57]. In einem Rundkolben mit Rückflusskühler werden 5–15 mL der Latexsuspension vorgelegt. Eine Mischung (35 mL) bestehend aus 5-30 mL des Amins mit 5-30 mL Ethanol wird für 18 Stunden bei 348 K in einem 100 mL Rundkolben mit aufgesetztem Rückflusskühler gerührt. Amine mit niedrigem Siedepunkt wie EDMA werden bei einer niedrigeren Temperatur von 318 K umgesetzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Suspension mit

Tabelle 8.4: Eingesetzte Geräte und Chemikalien zur Aufarbeitung von Polymermaterialien.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Büchnertrichter	$d = 55$ mm	Haldenwanger
Filter	Rundfilter 595, Dicke: 0,16 mm, Rückhaltebereich: 4–7 μm	Schleicher & Schuell
div. Glasgeräte	Standard (Duranglas), Sedimentationsrohre	
Prüfsiebe	nach DIN 4188	verschiedene
Laborwaage	Model 572	Kern

Chemikalien	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Ethanol	rein, dest.	Diverse	64-17-5
Cyclohexanol	zur Synthese	Merck	108-93-0

75 mL Wasser versetzt und für 15 min. im Ultraschallbad behandelt. Die Lagerung erfolgt im geschlossenen Gefäß bei 278 K.

8.3.3 Quarternisierung von tertiären Aminen

In einem Rundkolben mit Rückflusskühler werden 1,5–2 g des aminierten Polymers in 10 mL Lösungsmittel (Acetonitril oder Ethanol) vorgelegt. Eine Lösung von 1 g Quarternisierungsmittel (Methyliodid oder Ethylbromid) in 5 mL des gleichen Lösungsmittel wird zugegeben und 1 Stunde stehengelassen. Anschließend wird noch 30 min auf 323 K erwärmt und die Lösung anschließend über einen Büchnertrichter mit Rundfilter filtriert. Nach Waschen des Niederschlags mit Ethanol erfolgt die Trocknung des Polymer für wenige Stunden bei 313 K in Trockenschrank.

8.4 Aufarbeitung von Polymermaterialien

In Tabelle 8.4 sind die benötigten Geräte und Chemikalien aufgeführt. Die Lösungsmittel wurden wenn nötig nach gängigen Methoden gereinigt und getrocknet.

8.4.1 Sedimentation

Die Sedimentation dient der Entfernung von kleinen Bruchstücken und Teilfragmenten von Polymerpartikellösungen. Die Polymerprobe wird hierzu in einer Sedimentationslösung suspendiert. Für die in dieser Arbeit verwendeten PS-DVB-Materialien haben hat sich als Sedimentationslösung eine Mischung aus Ethanol und 25% Cyclohexanol bewährt [53]. Dazu werden 2–4 g der Polymerprobe in etwa 100 mL Lösung suspendiert und in lange, unten geschlossene Glasrohre gefüllt. Diese Glasröhre werden verschlossen und etwa ein bis drei Tage in senkrechter Lage ruhig aufgehängt. Durch den Einfluss der Schwerkraft sollten sich die großen Partikel schneller Absetzen als die kleinen Bruchstücke. Nach einiger Zeit bilden sich Zonen aus. Ein Niederschlag am Boden des Sedimentationsrohres mit der Teilchenfraktion und eine trübe Lösung mit den Bruchstücken und Fragmenten. Findet das Absetzten der Teilchen zu schnell statt, so findet auch keine gute Trennung der Größen statt. In diesem Fall muss die Dichte der Sedimentationslösung durch Zugabe von Cyclohexanol angepasst werden.

Tabelle 8.5: Eingesetzte Geräte und Chemikalien zur Fertigung von Säulen und zum Herstellen von Eluenten und Zuckerstandards.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Packpumpe	Air Driven Fluid Pump	Haskel
Packapparatur	Sonderanfertigung	
HPLC-Pumpe	Pump 64	Knauer
Ultraschallbad		Bandelin
Analysenwaage	Model 770	Kern
Titrierautomat	785 DMP Titrino	Metrohm
Säulenkörper	PEEK, diverse Formate	Metrohm
Säulenkörper	Edelstahl, 125 x 8 mm I.D.	Bischoff
Kapillaren und Fittings	PEEK, diverse	Metrohm

Chemikalien	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Ethanol	rein, dest.	Diverse	64-17-5
Natronlauge (50%)	puriss, p.a., for HPLC	Fluka	1310-73-2
Natriumcarbonat	99,5%, wasserfrei	Grüssing	497-19-8
Natriumhydrogencarbonat	zur Analyse	Riedel-deHaen	144-55-8
Kaliumchlorid	99,5%	Roth	7447-40-7
Natriumnitrat	99% reinst DAB	Grüssing	7631-99-4
Natriumazid	reinst	Merck	26628-22-8

8.4.2 Sieben von Polymerproben

Eine einfache Möglichkeit zur Abtrennung von großen Polymerteilchen ist die Siebfiltration. Hierzu wird die Probe in Ethanol suspendiert und für wenige Minuten im Ultraschallbad behandelt. Mit Hilfe eines weichen Silikonschabers kann die suspendierte Probe vorsichtig durch verschiedene Prüfsiebe mit unterschiedlichen Maschenweiten gestrichen werden. Hierzu stehen Metallsiebe von 1250, 450, 200, 70 und 40 μm und ein Nylonsieb mit 20 μm zur Verfügung.

8.5 Fertigung von Säulen

In Tabelle 8.5 sind die benötigten Geräte und Chemikalien aufgeführt. Die Lösungsmittel wurden wenn nötig nach gängigen Methoden gereinigt und getrocknet. Zum Ansetzen von wässrigen Lösungen zur Chromatographie wurde Reinstwasser der Firma Millipore (Eschborn) mit einem Leitwert $< 0{,}054$ μS verwendet. Die Herstellung der Chromatographiesäule beeinflusst entscheident die chromatographische Effizienz der Trennsäule. Wie in Gleichung 2.14 auf Seite 25 gezeigt, hängt der Term A im wesentlichen von der Packungsgüte ab. Daher muss versucht werden, das Ionenaustauschermaterial homogen in den Säulenkörper zu überführen und gleichzeitig eine möglichst dichte Packung des Materials zu erhalten. Zum Packen wird ausschließlich die Down-Fill-Technik verwendet [14].

Zum Packen der Ionenaustauschermaterialien werden je nach Länge der Trennsäule etwa 2–3 g des trockenen Materials in einem Erlenmeyerkolben in dem späteren Eluentsystem, in Falle der Trennung von Kohlenhydraten meist Natronlauge, suspendiert. Die Suspension wird anschliessend 15 min mit Ultraschall behandelt. Die Packapparatur wird wie in Abbildung 8.2 auf der nächsten Seite abgebildet zusammengebaut und mit etwa 100 mL Wasser gespült.

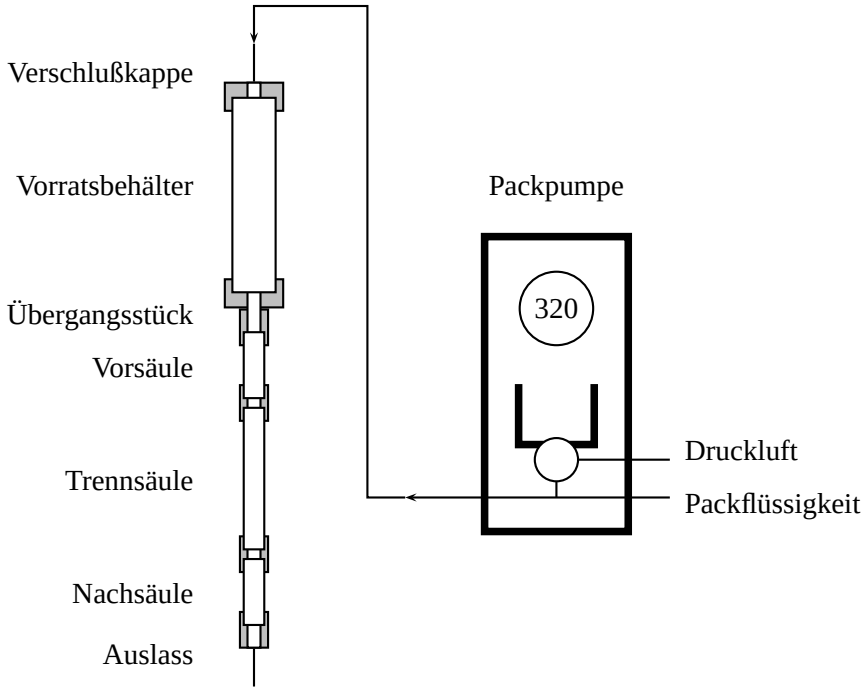


Abbildung 8.2: Schematische Darstellung der verwendeten Packapparatur.

Danach wird der obere Verschluss des Vorratsbehälters geöffnet und die in der Säulenapparatur stehende Lösung bis zum Verbindungsstück zur Vorsäule mit einer Spritze geleert. In den Vorratsbehälter wird nun die Polymersuspension eingefüllt und gegebenenfalls mit der Packlösung aufgefüllt. Nun wird der obere Verschluss wieder aufgesetzt sowohl gleichmäßig und zügig Druck auf die Apparatur gegeben. Der Druck wird auf etwa 320 bar eingestellt. Als Packflüssigkeit wird in der Regel Natronlauge oder Natriumcarbonatlösung verwendet.

Das Packen der Säule wird beendet, wenn über 100 mL Packflüssigkeit durch die Säule eluiert sind. Der Druck wird dann abgelassen und der Säulenkörper von der Vorsäule getrennt. Der Säulenanfang wird nach leichtem Antrocknen mit einem speziellen, passgenauen Schaber glattgestrichen und mit einer HDPE (High-Density-Polyethylene)-Fritte versehen. Ebenso wird mit dem Säulenende und der Nachsäule verfahren. Durch die Vor- und Nachsäule verbessert sich die Homogenität im eigentlichen Säulenkörper, der sich in der Mitte befindet. Am Ende werden beide Enden mit einem konischen PEEK-Flansch und einer Kunststoffverschraubung verschlossen.

8.5.1 Kapazitätsbestimmung

Um die Anionenaustauschkapazität der hergestellten Säulen zu untersuchen, wird in einem kontinuierlichen Verfahren die Austauschkapazität unter Gleichgewichtsbedingungen bestimmt. Dazu wird durch die Trennsäule zunächst 60 mL einer 0,1 mol L^{-1} Kaliumchloridlösung geleitet. Das überschüssige Chlorid wird mit 100 mL Wasser heruntergespült. Anschließend wird das auf der Säule befindliche Chlorid durch Spülen mit 75 mL einer 0,2 mol L^{-1} Kaliumnitratlösung verdrängt und in einem separaten Gefäß aufgefangen. Diese Lösung wird mit verdünnter Salpetersäure angesäuert und der Chloridgehalt durch Titration mit Silbernitrat ermittelt. Die Angabe der Ergebnisse erfolgt dann in μeq pro Säule.

Tabelle 8.6: Eingesetzte Geräte und Chemikalien zur Fertigung von Säulen und zum Herstellen von Eluenten und Zuckerstandards.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Pumpe	709 IC Pumpe	Metrohm
Interface	762 IC Interface	Metrohm
Probensampler	766 IC Sample Processor	Metrohm
Injektionsventil	812 Valve Unit	Metrohm
Detektor	817 Bioscan	Metrohm
Software	IC Net 2.3	Metrohm
Referenzsäule	MetroSep Carb 1	Metrohm

Chemikalien	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Natronlauge (50%)	puriss, p.a., for HPLC	Fluka	1310-73-2
Natriumazid	reinst	Merck	26628-22-8
Inositol	$>$ 99 %	Fluka	87-89-8
Sorbitol	$>$ 98 %	Fluka	50-70-4
Glucose	$>$ 98 %	Fluka	50-99-7
Galactose	p.A.	Riedel-deHaen	59-23-4
Xylose	$>$ 98 %	Acros	25990-60-7
Fructose	$>$ 98 %	Merck	57-48-7
Lactose	$>$ 98 %	Fluka	8002-43-5
Ribose	$>$ 98 %	Aldrich	50-69-1
Saccharose	$>$ 98 %	Merck	57-50-1
Maltose	$>$ 98 %	Merck	6363-53-7

8.6 Verwendetes Chromatographieequipment und Herstellung von Lösungen

In Tabelle 8.6 ist der für die Trennung von Kohlenhydraten verwendete Ionenchromatograph und die benötigten Geräte und Chemikalien zur Herstellung der Eluenten und Kohlenhydratstandards aufgeführt. Zum Ansetzen von wässrigen Lösungen wurde Reinstwasser der Firma Millipore (Eschborn) mit einem Leitwert $<$ 0,054 μS verwendet.

8.6.1 Herstellung der verwendeten Lösungen

Zuckerstandards

Je 200 mg des Zuckers und 1 mL einer Natriumazidlösung c = 2000 mg L^{-1} werden im 100 mL Messkolben mit Wasser aufgefüllt. Diese Zuckerstammlösungen werden im Kühlschrank aufbewahrt und sind bis zu einem halben Jahr verwendbar.

Aus diesen Zuckerstammlösungen werden spätestens alle drei Tage frische Messlösungen hergestellt. Dazu werden 250 μL der Zuckerstammlösung in einen 50 mL Messkolben überführt und anschließend mit Wasser aufgefüllt.

Natronlaugeeluenten

Der Hydroxideluent wird aus 50%iger Natronlauge durch verdünnen mit Wasser hergestellt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgt in regelmäßigen Abständen durch Titration gegen Salzsäure. Der Eluent wird anschließend unter vermindertem Druck entgast. Wird für die Messung bei niedrigen Eluentkonzentrationen ($c(NaOH) < 30$ mmol L^{-1}) keine Vorsäule verwendet, so wird während der Messung ständig Stickstoff über den Eluenten geleitet, um die Kontamination des Eluenten mit Kohlendioxid aus der Luft zu verringern.

9 Zusammenfassung und Ausblick

Die Trennung von Kohlenhydraten mittels Anionenchromatographie stellt nach wie vor eine der wichtigsten Vorraussetzungen für die Bestimmung von Kohlenhydraten dar. Die großen Fortschritte im Bereich der Biochemie führen zu einer kaum überschaubaren Anzahl an biologisch interessanten Oligo- und Polysacchariden. Häufig sind glykosidische Verknüpfungen mit Aminosäuren in Proteinen zu finden. Die strukturelle Ähnlichkeit der unzähligen Verbindungen in Form von Isomeren und Homologen erfordert eine hohe Trennleistung der eingesetzten stationären Phasen. Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zeigen verschiedene Ansätze auf, die Trenneigenschaften der stationären Phase zu verbessern. Die Weiterentwicklung bestehender Konzepte im Bereich der oberflächenfunktionalisierten und der agglomerierten Anionenaustauscher sollen es ermöglichen, in Zukunft Lösungen für spezielle Problemstellungen in der Anionenchromatographie von Kohlenhydraten anzubieten.

Neben der Optimierung der stationären Phase darf die mobile Phase nicht vernachlässigt werden. Um Ergebnisse von unterschiedlichen stationären Phasen richtig bewerten zu können, müssen alle weiteren Parameter des chromatographischen Prozesses gleich bleiben. Aus diesem Zweck sind in dieser Arbeit ebenfalls grundlegende Untersuchungen zur mobilen Phase durchgeführt worden. Die Herstellung der mobilen Phase in Form von Hydroxideluenten erfordert in der Anionenchromatographie von Kohlenhydraten besondere Beachtung. Durch Wahl der Hydroxidionenkonzentration wird nicht nur die Konkurrenzionenstärke des Eluenten eingestellt, sondern auch der Deprotonierungsgrad der Kohlenhydrate festgelegt. Dies führt je nach pK_s-Wert der untersuchten Analyten zu starken Selektivitätsänderungen. Um dies zu verhindern, sollte sich der Deprotonierungsgrad aller Kohlenhydrate nur wenig ändern. Für die in dieser Arbeit untersuchten Kohlenhydrate wurden die Retentionsfaktoren bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen untersucht. Ab einer Hydroxidkonzentration von 30 mmol L^{-1} ändert sich der Deprotonierungsgrad der Kohlenhydrate bis auf Saccharose nur wenig. Ab Konzentrationen von 100 mmol L^{-1} steigt auch für Saccharose und die Zuckeralkohole der Deprotonierungsgrad an. Um Selektivitätsänderungen aufgrund von leichten Änderungen in der Eluentkonzentrationen gering zu halten, wurden alle weiteren Untersuchungen an stationären Phasen mit Hydroxideluenten der Konzentration 100 mmol L^{-1} durchgeführt. Außerdem ermöglicht die hohe Hydroxidionenkonzentration eine gute Beurteilung der Stabilität der stationären Phasen.

Die tägliche Arbeit mit Hydroxideluenten führt zu weiteren Problemen in der Herstellung der mobilen Phase. Hydroxideluenten neigen zur Bildung von Carbonat aus dem Kohlendioxid der Luft. Dies führt aufgrund der erhöhten Elutionskraft des Carbonats gegenüber Hydroxidionen zu sinkenden Retentionszeiten. In verschiedenen Eluentexperimenten bei unterschiedlichen Hydroxidkonzentrationen konnte gezeigt werden, dass sich das Carbonat auf der Trennsäule anreichert, bis sich ein Gleichgewicht einstellt, in der die Elutionsrate des Carbonats von der stationären Phase von der Elutionskraft des verdünnten Hydroxideluenten abhängt. Dieser Effekt kann einen konstanten Retentionszeitverlust von bis zu 90% bei Hydroxidkonzentrationen unter 5 mmol L^{-1} hervorrufen. Es sind bereits viele Anstrengungen unternommen worden, das Carbonat aus dem Eluenten zu

entfernen, um stabile Retentionszeiten zu erhalten. Neben der Verwendung von Erdalkalimetallen zum Ausfällen des Carbonats als schwerlösliches Salz kommen elektrochemisch hergestellte Hydroxideluenten in Frage. Beide Methoden besitzen Vor- und Nachteile. In dieser Arbeit wurde zur Lösung dieses Problems ein bekanntes Konzept zur Entfernung von störenden Substanzen übertragen. Durch den Einbau eines hochkapazitiven Anionenaustauschers zwischen Pumpe und Injektionsventil wird die auf der Trennsäule störende hohe Affinität des Carbonats zur stationären Phase ausgenutzt, um dieses aus dem Eluentenstrom zu entfernen. Die Langzeituntersuchungen zeigten keinen Retentionszeitverlust bei hohen als auch bei niedrigen Eluentkonzententrationen. Für die Langzeitstabilität der Retentionszeiten wurden Standardabweichungen unter 1% für die Retentionszeiten der Kohlenhydrate erhalten. Die Regeneration erfolgt einfach und schnell durch Spülen mit konzentrierter Natronlauge. Die Verwendung eines preiswerten, kommerziell erhältlichen starken Anionenaustauschers als Vorsäule zur Entfernung von Carbonat im Eluentenstrom hat sich bei allen folgenden Messungen bewährt.

Der Hauptteil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Herstellung von neuen stationären Phasen für die Trennung von Kohlenhydraten mittels Anionenchromatographie. Die dazu durchgeführten Untersuchungen lassen sich auf zwei grundlegende Typen von Ionenaustauschern aufteilen: Oberflächenfunktionalisierte Ionenaustauscher und agglomerierte Ionenaustauscher. In beiden Fällen sollte zunächst eine Untersuchung und Optimierung bereits bestehender Systeme erfolgen und anschließend neue Wege erarbeitet werden. Die Basis aller Untersuchungen, das aus Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymer bestehende Trägerteilchen, ist in vorhergehenden Arbeiten zu dieser Arbeit entwickelt und eingehend charakterisiert worden.

Die Chloromethylierung ist eine etablierte Methode zur Oberflächenfunktionalisierung von Polymeren mit aromatischen Systemen. Sie erreicht hohe Funktionalisierungsgrade und eignet sich damit zur Herstellung hochkapazitiver Austauschermaterialien. Die in dieser Arbeit durchgeführten Chloromethylierungen sind aufgrund der schwierigen Zugabe der aggressiven Reagenzien während der Zugabe weitgehend automatisiert worden. Es konnten vor allem Verbesserungen in der Steuerung der Automation und in der Aufarbeitung des Produktes erreicht werden. Die REM-Aufnahmen der hergestellten Produkte zeigen eine deutliche Beanspruchung des Materials durch die aggressiven Reaktionsbedingungen. Der Anteil an beschädigten und deformierten oder gar völlig zerstörten Teilchen nimmt im Verlauf der Reaktion stark zu. Die erhaltenen Materialien lassen sich ohne weitere Aufarbeitung nur schwer in Säulenkörpern packen und zeichnen sich durch eine geringe Trennleistung aus. Es werden langen Konditionierungszeiten mit Eluenten beobachtet, da aus dem Material über lange Zeit Chemikalienrückstände aus der Synthese eluiert werden. Bedingt durch den hohen Staudruck besitzen die Austauscher nur eine kurze Lebensdauer. Durch mehrfache Sedimentation der Materialien konnten unter erhöhtem Materialverlust stabile und leistungsstarke Anionenaustauscher erhalten werden. Die Trennleistungen erreichten mit über 30000 TP m^{-1} für einige Kohlenhydrate ähnliche Größenordnungen wie die der Referenzsäule MetroSep Carb 1. Dennoch bleibt festzuhalten, dass trotz hohem Anteil an Automation sowohl die Reaktionsführung, als auch die Aufarbeitung der Materialien schwierig in definierter Weise durchzuführen ist und die so hergestellten Materialien für den kommerziellen Einsatz nicht geeignet sind.

Auf den erhaltenen chloromethylierten Materialien wurden verschiedene Austauscherfunktionen getestet. Der Vergleich unterschiedlicher Amine mit einer oder mehreren Stickstofffunktionen hat gezeigt, dass der Einfluss auf die Trennung von Kohlenhydraten vor allem durch die resultierende Anionenaustauschkapazität bestimmt wird. Diese ist wiederum maßgeblich von der Reaktivität des Amins bestimmt und nicht vom strukturellen Aufbau abhängig. Für den Einfluss von zusätzlichen Funktionalitäten in Form weiterer tertiärer und quartärer Stickstofffunktionen können leichte Änderungen in der Selektivität der Trennung von Kohlenhydraten beobachtet werden. Diese Änderungen sind jedoch sehr klein und schwer dem strukturellen Aufbau zuzuordnen.

Maßgeblich für die Retention der Kohlenhydrate bleiben die Anionenaustauschkapazität des Materials und die Zusammensetzung und der pH-Wert des Eluenten.

Durch die Beschichtung des Trägermaterials mit einem präfunktionellen Monomer ist es auf einfache Weise möglich, neue Funktionalitäten auf der Trägermaterialoberfläche aufzubauen. Die Beschichtungsreaktion von Vinylbenzylchlorid auf das Trägermaterial führt, wie die Chloromethylierung, zu einem Material mit hohem Funktionalisierungsgrad. Diese, für die Trennung von anorganischen Anionen eher ungeeigneten Materialien, zeigten nach der Aminierung für die Trennung von Kohlenhydraten vergleichbare Trenneigenschaften wie chloromethylierte Materialien. Der Einfluss der eingesetzten Monomermenge auf die Austauschkapazität und die Trennung von Kohlenhydraten wurde untersucht und ein Optimum gefunden. Der große Vorteil liegt in der deutlich einfacheren Synthese, welche ohne aggressive Chemikalien auskommt. Die in dieser Arbeit hergestellten Materialien ließen sich ohne große Aufarbeitung nach der Synthese und Funktionalisierung direkt in Säulenkörper füllen. Die Konditionierungszeiten der Trennsäule zum Einsatz zur Trennung von Kohlenhydraten sind kurz. Die Stabilität der Beschichtung gegenüber den verwendeten Hydroxideluenten konnte durch Langzeitexperimente bestätigt werden. Jedoch führt eine zu dicke Beschichtung zu einer Verschlechterung der Trennleistung nach kurzer Zeit.

Auch auf diesen Materialien wurden Untersuchungen zum Einfluss des strukturellen Aufbaus der Austauschergruppe auf die Trennung von Kohlenhydraten untersucht. Variiert wurde die Polarität der Austauschergruppe durch Verlängerung eines Alkylrestes der eingesetzten tertiären Amine mit und ohne einer zweiten tertiären Aminfunktion. Die Verlängerung des Alkylrestes von Ethyl- bis Dodecylgruppen an Austauschergruppen mit einer Aminfunktion führte zu Ionenaustauschern mit abnehmender Anionenaustauschkapazität und Trennleistung bei wachsendem Alkylrest. Dennoch werden ähnliche Retentionsfaktoren für alle Kohlenhydrate erhalten. Die resultierende Anionenaustauschkapazität erwies sich bisher als der dominierende Faktor für die Retention. Durch den längeren Alkylrest wird die Austauschergruppe unpolar und zusätzliche, hydrophobe Wechselwirkungen mit den Kohlenhydraten sind denkbar. Zudem sinkt mit fallender Polarität die Elutionskraft des Hydroxidions an der Austauscherfunktion, da die Hydratisierung solcher Austauscherfunktionen vermindert ist. Dieser Trend wird auch bei Austauscherfunktionen mit zwei Aminfunktionen beobachtet. Zudem sind dort starke Selektivitätsänderungen für die stark konformationsabhängigen Kohlenhydrate Sorbitol und Ribose zu beobachten, was auf zusätzliche Wechselwirkungen mit der zweiten, nicht quarternisierten Aminfunktion schließen lässt.

Eine dritte untersuchte Oberflächenmodifizierung von Trägermaterialien erfolgte in der Pfropfpolymerisation von Ionomeren auf das Trägermaterial. Das Ionomer ist ein Monomer zur Beschichtung des Trägermaterials, welches die Austauscherfunktion bereits vorgebildet hat. Eine anschließende Funktionalisierung ist nicht notwendig. Durch die tensidartigen Eigenschaften des Ionomers erfolgt eine sehr gleichmäßige Beschichtung der Oberfläche bei geringer Schichtdicke mit den Austauscherfunktionen. Dies konnte durch Untersuchungen zur eingesetzten Menge des Monomers bei der Beschichtung bestätigt werden. Die in dieser Arbeit hergestellten Phasen mit unpolaren Ionomeren konnten erfolgreich zur Trennung von Kohlenhydraten eingesetzt werden. Die Langzeit- und Temperaturstabilität gegenüber konzentrierten Hydroxideluenten zeigten keine Verschlechterung der chromatographischen Effizienz. Die resultierende Anionenaustauschkapazität der stationären Phasen liegt unter den Werten der bereits geschilderten Oberflächenfunktionalisierungsmethoden. Die chromatographischen Ergebnisse zeigen dagegen eine sehr hohe Trennleistung für die Trennung von Kohlenhydraten, welche eher mit agglomerierten Austauschern verglichen werden kann. Pfropfpolymerisierte Phasen zeigen damit weder

das klassische Bild eines oberflächenfunktionalisierten Austauschers noch das eines agglomerierten Austauschers, vereinigen aber für die Trennung von Kohlenhydraten die beiden nötigen Eigenschaften einer relativ hohen Austauschkapazität mit einer starken Trennleistung am besten.

Neben den oberflächenfunktionalisierten Phasen wurden ebenso Untersuchungen auf agglomerierten Phasen durchgeführt. Weit verbreitet und kommerziell vermarktet werden Latexaustauscher. Die Herstellung und Optimierung der Syntheseparameter der in dieser Arbeit verwendeten Latexpartikel und ihr Einsatz in der Anionenchromatographie anorganischer Anionen sind in vorangegangen Arbeiten auf diesem Gebiet ausführlich untersucht worden. Die Übertragung der Ergebnisse auf die Trennung von Kohlenhydraten war Gegenstand dieser Arbeit. Es konnte gezeigt werden, dass die Trennung von Kohlenhydraten auf Latexaustauschern mit unpolaren Aminen möglich ist. Die resultierende Anionenaustauschkapazität der Austauscher ist deutlich geringer als bei oberflächenfunktionalisierten Materialien. Durch die deutliche höhere Trennleistung wird dieser Nachteil jedoch ausgeglichen. Untersuchungen zum Quervernetzungsgrad der Latexpartikel zeigen erneut eine Abhängigkeit der Retentionsfaktoren von der Polarität der Austauschergruppe. Die hergestellten Latexaustauscher zeigten eine ausreichende Langzeitstabilität gegenüber den verwendeten Hydroxideluenten.

Weiterführende Untersuchungen zum Einfluss von mono- und dikationischen Austauschergruppen zur Trennung von anorganischen Anionen auf Latexaustauschern zeigen eine interessante Selektivität für das divalente Sulfatanion. Beim Einsatz von dikationischen Austauschergruppen erfährt das divalente Sulfatanion eine starke Retention. Untersuchungen zum Abstand der zwei quartären Ammoniumionen voneinander zeigten, das diese starke Wechselwirkung bei kleinen Abständen am stärksten ist.

Auch die Entwicklung von neuen agglomerierten Anionenaustauschern war ein Ziel dieser Arbeit. Die Verwendung von polykationischen Ketten in Form von Ionenen stellen eine interessante Alternative zur Verwendung von Latexpartikeln dar. Diese finden bereits in vielen Bereichen der Chemie Anwendung. Die Synthese ist im Vergleich zu einer Latexsynthese einfach und die Anzahl an einsetzbaren Monomeren sehr groß. Die Verwendung von Ionenen in der Ionenchromatographie scheiterte bisher an einstellbaren Kationenaustauschkapazitäten des Trägermaterials. Im Vergleich zu Latexpartikeln besitzen polykationische Ketten keine definierte dreidimensionale Ausdehnung, sondern bilden flexible, eindimensionale Ketten. Eine zu hohe Kationenaustauschkapazität des Grundmaterials führt zu einer vollständigen Kompensation aller Ladungen. Im Vergleich zu herkömmlichen Sulfonierungsreaktionen mit Schwefelsäure kann nun durch die Pfropfpolymerisation des Ionomer 4-Vinylbenzolsulfonsäure die Kationenaustauschkapazität des Grundmaterials in einfacher Weise eingestellt werden. Es konnten auf diesem Weg Anionenaustauscher mit einer ausreichenden Anionenaustauschkapazität für die Trennung von Kohlenhydraten hergestellt werden.

Der Einfluss der Kationenaustauschkapazität des Trägermaterials auf die resultierende Anionenaustauschkapazität wurde in einem weiten Bereich untersucht. Für Kationenaustauschkapazitäten von 4–200 μmol g^{-1} wird für Ionene mit langen Spacerkettenabständen eine annähernd gleiche Anionenaustauschkapazität erreicht. Wächst die Dichte an Sulfonsäuregruppen, so werden mehr quartäre Ammoniumionen kompensiert, aber auch insgesamt mehr Ioneneketten auf der Oberfläche fixiert. Bei höheren Kationenaustauschkapazitäten über 400 μmol g^{-1} überwiegt der Kompensationseffekt und es wird keine Anionenaustauschkapazität mehr beobachtet.

Für die Effizienz der Trennung auf diesen agglomerierten Austauschern ist die Durchführung der Belegung von entscheidender Bedeutung. Untersuchungen bei unterschiedlichen Temperaturen und Durchführungsformen sowie der Menge an zugesetztem Ionene zeigten, dass die besten Ergebnisse bei Belegungen mit 500 mg

Ionene auf 2 g Trägermaterial in Lösung und bei erhöhter Temperatur um 343 K erhalten werden. Die erhöhte Temperatur erlaubt den Ioneneketten eine optimale Konformation auf der Oberfläche einzunehmen. Eine hohe Menge an zugesetztem Ionene erhöht die Ionenstärke der Lösung und damit die Konkurrenz um die Austauscherplätze. Eine dynamische Belegung eines bereits gepackten Kationenaustauschers führt auch bei erhöhter Temperatur zu einer sehr inhomogenen Verteilung der Ionene und schlechten chromatographischen Kenndaten der Austauschersäule.

Von besonderem Interesse ist der Einfluss des strukturellen Aufbaus des Ionenes auf die Trennung von Kohlenhydraten. Durch die große Anzahl von möglichen Monomeren zur Synthese der Ionene konnte der strukturelle Aufbau der Ionene auf einfachem Weg verändert werden. Im Rahmen dieser Arbeit ist eine sehr große Anzahl an verschiedenen Ionenen synthetisiert worden. Leider ist nur ein Bruchteil dieser Ionene für die Trennung von Kohlenhydraten geeignet. Einige konnten sehr erfolgreich zur Trennung von anorganischen Anionen eingesetzt werden. Es hat sich gezeigt, das Ionene mit langen Abständen zwischen den Ammoniumfunktionen die besten Ergebnisse in der Trennung von Kohlenhydraten erzielen. Dies kann durch unterschiedliche Konformationen der Ioneneketten begründet werden. Durch die großen, unpolaren Zwischenräume bilden sich wahrscheinlich unpolare, teilweise micellenartige Strukturen aus. Dies führt zu flexiblen dreidimensionalen Strukturen, welche stärker mit mit den Kohlenhydraten wechselwirken können.

Die zur Kohlenhydrattrennung hergestellten Austauschersäulen auf Ionenebasis überzeugten vor allem durch ihre hohe Trennleistung. Mit bis zu 30000 TP m^{-1} erreichen diese Austauscher die gleichen Trennleistungen wie Latexaustauscher, bei deutlich einfacherer und schnellerer Herstellung. Die Verwendung von agglomerierten Austauschern in der Anionenchromatographie ist von der Langzeitstabilität unter den gewählten Eluentkonzentrationen abhängig. Es konnte gezeigt werden, dass die dynamische Belegung mit Hilfe eines Tensids zu keiner stabilen Fixierung der Ionene führt. Die Immobilisierung auf den durch Pfropfpolymerisation erhaltenen Materialien zeigte dagegen eine ausreichende Stabilität gegenüber den in der Trennung von Kohlenhydraten verwendeten Eluenten.

Die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse bilden die Basis für weitere Arbeiten auf dem Gebiet der Analyse von Kohlenhydraten mittels Anionenchromatographie. Durch den Einsatz von vielen, im Aufbau unterschiedlichen stationären Phasen auf dem gleichen Trägermaterial konnten Trends und Trenneigenschaften dieser Phasen miteinander verglichen werden. Bewährte Konzepte der Oberflächenfunktionalisierung durch Chloromethylierung und agglomerierte Latexaustauscher konnten weiterentwickelt und durch neue Methoden in Form von Beschichtungsreaktionen und der Immobilisierung polykationischer Ketten erweitert werden.

Viel versprechend sind in Zukunft die Entwicklungen im Bereich der beschichteten Austauscher. Die einfache und schonende Synthese ist Voraussetzung und Grundlage für effiziente Trennmaterialien. Weitere Entwicklungen sollten sich vor allem auf die Struktur und Form der Austauschergruppe konzentrieren. Auf den Trägermaterialien können nun in einfacher Weise weitere Austauscherfunktionen für die Trennung von Kohlenhydraten getestet werden. Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass eine unpolare Umgebung oder eine zweite Stickstofffunktion in der Austauschergruppe vor allem die Retention erhöhen und teilweise auch die Selektivität beeinflussen. Die auf Trimethylamin und Ethyldimethylamin basierenden einfachen monokationischen Austauscherfunktionen bieten keinen weiteren Raum für Entwicklungen. Daher sollten Austauscherfunktionen mit mehreren auf Aminen basierenden Funktionalitäten oder solche mit definierten, räumlich verzweigten Strukturen, interessante Wechselwirkungen mit einzelnen Gruppen von Kohlenhydraten zeigen.

Auf dem Gebiet der agglomerierten Austauscher sind durch den erfolgreichen Einsatz von polykationischen Ketten als Austauscherfunktionen eine Vielzahl von Möglichkeiten eröffnet worden, einfach und direkt Einfluss

auf die Umgebung der Austauscherfunktion zu nehmen. Die in dieser Arbeit untersuchten polykationischen Ketten in Form von Ionenen stellen nur ein mögliches Strukturelement dar. Auch andere Polyelektrolyte mit quartären Ammoniumionen außerhalb der Polymerkette können Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Die Substanzklasse der Ionene bietet jedoch durch die große Anzahl an verfügbaren Monomeren in Form von Dihalogenverbindungen und Diaminen die Möglichkeit, nahezu alle gewünschten funktionellen Gruppen in das Skelett des Ionenes einfügen zu können. Gegebenfalls müssen neue Methoden der Aufarbeitung gefunden werden. Auch die Quervernetzung solcher Materialien bietet einen weiteren Möglichkeiten zur Entwicklung und Optimierung neuer Materialien. Im Vergleich zur Latexsynthese kann bei der Herstellung der Ionene zur Herstellung der Monomere auch auf die Vielfalt der organischen Synthesechemie zurückgegriffen werden, um neue Funktionalitäten einzubinden. Hier wären vor allem Gruppen interessant, die in spezifischer Weise mit den Kohlenhydraten wechselwirken können und so direkt Einfluss auf die Selektivität der Trennung nehmen.

Abkürzungsverzeichnis

BiPy	Bipyridin
BNT	Nitrobenzylbromid (Bromnitrotoluol)
CMME	Chloromethylmethylether
DAEB	1,2-Bis(dimethylnitrobenzylammonium)ethylendibromid
DEMA	Diethanolamin
DMEA	Dimethylethanolamin
DMF	Dimethylformamid
DMM	Dimethoxymethan (Formaldehyddimethylacetal)
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDMA	Ethylendimethylamin
EtBr	Ethylbromid
EVB-DVB	Ehthylvinylbenzol-Divinylbenzol
GLC	engl. *Gas-Liquid-Chromatography*
GSC	engl. *Gas-Solid-Chromatography*
HETP	Höhe eines theoretischen Bodens, engl. *Height equivalent to a theoretical plate*
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, engl. *High Performance Liquid Chromatographie*
IC	Ionenchromatographie, engl. *Ion Chromatography*
ICE	Ionenausschlusschromatographie, engl. *Ion Chromatography Exclusion*
ident$_{BES}$	Identifikationsbezeichnung einer Beschichtungsreaktion
ident$_{CM}$	Identifikationsbezeichnung einer Chloromethylierungssynthese
ident$_{L}$	Identifikationsbezeichnung einer Latexcharge
ident$_{S}$	Identifikationsbezeichnung einer chromatographischen Trennsäule
IEC	Ionenaustauschchromatographie, engl. *Ion Exchange Chromatographie*
KPS	Radikalstarter Kaliumperoxodisulfat
LLC	engl. *Liquid-Liquid-Chromatography*
LM	Lösungsmittel
LSC	engl. *Liquid-Solid-Chromatography*
n.b.	nicht bestimmt
MeI	Methyliodid
NMR	Kernresonanzspektroskopie, engl. *Nuclear Magnetic Resonance*
PEEK	Poly-Ether-Ether-Ketone
PMDTA	Pentamethyldiethylentriamin
PS-DVB	Polystyrol-Divinylbenzol
RPIPC	Ionenpaarchromatographie, engl. *Reversed Phase Ion Pair Chromatography*
RSD	relative Standardabweichung
RT	Raumtemperatur
SEC	Größenausschlusschromatograhie, engl. *Size Exclusion Chromatography*
SFC	engl. *Supercritical-Fluid-Chromatography*
TEA	Triethanolamin
TMA	Trimethylamin
TMBDA	Tetramethylbutylendiamin
TMEDA	Tetramethylethylendiamin
TMHDA	Tetramethylhexylendiamin
TP/m	Trennböden pro Meter, engl. *Theoretical Plates per Meter*
VBC	Vinylbenzylchlorid
VBCEDMA	Ionomer aus Vinylbenzylchlorid und dem Amin Ethyldimethylamin
VBCDMEA	Ionomer aus Vinylbenzylchlorid und dem Amin Dimethylethanolamin
VBS	Vinylbenzylsulfonsäure (Natriumsalz)

Literaturverzeichnis

[1] SCHERZ, H. ; BONN, G.: *Analytical Chemistry of Carbohydrates*. 1. Ed. Thieme; Stuttgart New York, 1998 (Thieme organic chemistry monograph series)

[2] POHL, C.A. ; STILLIAN, J.R. ; JACKSON, P.E.: Factors controlling ion-exchange selectivity in suppressed ion chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 789 (1997), S. 29–41

[3] CATALDI, T.R.I. ; CAMPA, C. ; DE BENEDETTO, G.E.: Carbohydrate analysis by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection: the potential is still growing. In: *Fresenius J. Anal. Chem.* 368 (2000), S. 739–758

[4] DIONEX. *Analysis of Carbohydrates by High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection (HPAE-PAD)*. Technical Note 20

[5] SKOOG, D.A. ; LEARY, J.J.: *Instrumentelle Analytik: Grundlagen, Geräte, Anwendungen*. 1. Auflage. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 1996

[6] OTTO, M.: *Analytische Chemie*. 2. Aufl. Wiley-VCH Verlag GmbH Weinheim, 2000

[7] TSWETT, M.S.: In: *Trav. Soc. Nat. Var.* 14 (1903), S. 1903

[8] TSWETT, M.S.: *Chromatographic Adsorption Analysis*. Izd. Akad. Nauk SSSR Moskau, 1946

[9] JAMES, A.T. ; MARTIN, A.J.P.: In: *Analyst.* (1952), S. 915

[10] STAHL, E.: In: *Chemiker Ztg.* (1958), S. 323

[11] WEISS, J.: *Ionenchromatographie*. 2. erw. Aufl. VCH - Verlagsgesellschaft - Weinheim, 1991

[12] MARTIN, A.J.P. ; SYNGE, R.L.M.: A new form of chromatogram employing two liquid phases. 1. A theory of chromatography. 2. Application to the microdetermination of the higher monoaminoacids in proteins. In: *Biochem. J.* 35 (1941), S. 1358–1368

[13] SMALL, H. ; STEVENS, T.S. ; BAUMAN, W.C.: Novel ion exchange chromatographic method using conductimetric detection. In: *Anal. Chem.* 47 (1975), S. 1801–1809

[14] HADDAD, P.R. ; JACKSON, P.E.: *Journal of Chromatography Libary*. Bd. 46: *Ion Chromatography - principles and applications*. 1st Ed. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1990

[15] LEVSEN, K. ; PREISS, A. ; GODEJOHANN, M.: Application of HPLC coupled to nuclear magnetic resonance and HPLC coupled to mass spectrometry to complex environmental samples. In: *Trends Anal. Chem.* 19 (2000), S. 27–48

[16] SEUBERT, A. *Neue Einsatzgebiete der On-Line-Kopplung Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Atomspektrometrie in der Elementanalytik*. Habilitationsschrift, Universität Hannover. 1995

[17] EICKHORST, T.: *Anionenanalytik mit der On-line-Kopplung von Ionenchromatographie und induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie*, Universität Marburg, Diss., 2005

[18] HERMANN, T.: *Einsatz der On-line-Kopplung von Ionenchromatographie und ICP-MS zur Bestimmung von Anionen*, Universität Marburg, Diplomarbeit, 2006

[19] METROHM AG. *Metrohm Compact IC761*. Produktbroschüre. 1999

[20] PANAGIOTOPOULUS, C. ; SEMPÉRÉ, R. ; LAFONT, R. ; KERHERVÉ, P.: Sub-ambient temperature effects on the separation of monosaccharids by high-performance anion-exchange chromatography with pulse amperometric detection / Application to marine chemistry. In: *J. Chromatogr. A* 920 (2001), S. 13–22

[21] LINDHORST, T.K.: Struktur und Funktion von Kohlenhydraten. In: *Chem. unserer Zeit* 34 (2000), S. 38–52

[22] VOLLHARDT, K.P.C.: *Organische Chemie*. 1. korr. Nachdr. d. 1. Aufl. VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, 1990

[23] STREITWIESER, A.: *Organische Chemie*. 2. Aufl. VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, 1994

[24] SATO, H. ; KAJIHARA, Y.: An unambiguous assignment method by 2D selective-TOCSY-HSQC and selective-TOCSY-DQFCOSY and structural analysis by selective-TOCSY-NOESY experiments of a bi-antannary undecasaccharide. In: *Carbohydrate Research* 340 (2005), S. 469–479

[25] JIA, Z. ; CASH, M. ; DARVILL, A.G. ; YORK, W.S.: NMR characterization of endogenously O-acetylated oligosaccharides isolated from tomato (Lycopersicon esculentum) xyloglucan. In: *Carbohydrate Research* 340 (2005), S. 1818–1825

[26] HARVEY, D.J.: Matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry of carbohydrates. In: *Mass Spectrom. Rev* 18 (1999), S. 349–451

[27] CLOWERS, B.H. ; DWIVEDI, P. ; STEINER, W.E. ; H.H. HILL, Jr.: Separation of Sodiated Isobaric Disaccharides and Trisaccharides Using Electrospray Ionization-Atmospheric Pressure Ion Mobility-Time of Flight Mass Spectrometry. In: *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 16 (2005), S. 660–669

[28] FERNÁNDEZ, L.E.M. ; OBEL, N. ; SCHELLER, H.V. ; POEPSTORFF, P.: Differentiation of isomeric oligosaccharide structures by ESI tandem MS and GC-MS. In: *Carbohydrate Research* 339 (2004), S. 655–664

[29] HARVEY, D.J.: Fragmentation of Negative Ions from Carbohydrates: Part 1. Use of Nitrate and Other Anionic Adducts for the Production of Negative Ion Electrospray Spectra from N-linked Carbohydrates. In: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 16 (2005), S. 622–630

[30] HARDING, S.E.: Challanges for the modern analytical ultracentrifuge analysis of polysaccharides. In: *Carbohydrate Research* 340 (2005), S. 811–826

[31] MOLNÁR-PERL, I.: Role of chromatography in the analysis of sugars, carboxylic acids and amino acids in food. In: *J. Chromatogr. A* 891 (2000), S. 1–32

[32] MONTERO, C.M. ; DODERO, M.C.R. ; SÁNCHEZ, D.A.G. ; BARROSO, C.G.: Analysis of Low Molecular Weight Carbohydrates in Food and Beverages: A Review. In: *Chromatographia* 59 (2004), S. 15–30

[33] LEE, Y.C.: High Perfomance Anion-Exchange Chromatograhy for Carbohydrates Analysis. In: *Anal. Biochem.* 189 (1990), S. 151–162

[34] DEAN, A.: *Lange's Handbook of Chemistry*. 13 Ed. McGraw-Hill Companies, Inc., 1985

[35] MARTELL, A.E.: *Critical stability constants*. -. Plenum Press, 1974-77

[36] LANDOLT-BØRNSTEIN: *Landolt-Bernstein Zahlenwerte und Funktionen*. Bd. II: *Eigenschaften der Materie in ihren Aggregatzuständen*. 6. Auflage. Springer Verlag Berlin Göttingen Heidelberg, 1960

[37] J.D'ANS ; LAX, E.: *D'Ans Lax - Taschenbuch für Chemiker und Physiker*. Bd. 1; Physikalische Daten. 3. Auflage. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1967

[38] RENDLEMAN, J.A.: *Advances in Chemistry Series*. Bd. 117: *Ionization of Carbohydrates in the Presence of Metal Hydroxides and Oxides, Carbohydrates in Solution*. 1. Edition. American Chemical Society, Washington, D.C, 1973

[39] LIDE, David R.: *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 81st Edition. CRC Press, Inc., 2000

[40] DEGANI, C.: Ionisation constants of sugars: a predominant factor in the cyanogen-induced phosphorylation of sugars. In: *Carbohydrate Research* 18 (1971), S. 329–332

[41] LEE, Y.C.: Carbohydrates analysis with high performance anion-exchange chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 720 (1996), S. 137–149

[42] JOHNSON, D.C.: Carbohydrate detection gain potential. In: *Nature* 321 (1986), S. 451–452

[43] JOHNSON, D.C. ; LACOURSE, W.R.: Liquid Chromatography with Pulsed Electrochemical Detection at Gold and Platinum Electrodes. In: *Anal. Chem.* 62 (1990), S. 589A–595A

[44] LACOURSE, W.R. ; JOHNSON, D.C.: Optimization of Waveforms for Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates Based on Pulsed Voltammetry. In: *Anal. Chem.* 65 (1993), S. 50–55

[45] CASELLA, I.G. ; GATTA, M. ; CATALDI, T.R.I.: Amperometric determination of underivatized amino acids at a nickel-modified gold electrode by anion-exchange chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 878 (2000), S. 57–67

[46] BRUGGINK, C. *Backgrounds and possibilities for electrochemical detection in conjunction with anion exchange chromatography*. AVH Assiociation - 7th Symposium, Reims. 2000

[47] JANDIK, P. ; CLARKE, A.P. ; AVDALOVIC, N. ; ANDERSEN, D.C. ; CACIA, J.: Analyzing mixtures of amino acids and carbohydrates using bi-modal integrated amperometric detection. In: *J. Chromatgr. A* 732 (1999), S. 193–201

[48] CLARKE, A.P. ; JANDIK, P. ; ROCKLIN, R.D. ; Y.LIU ; ; AVDALOVIC, N.: An integrated amperometry waveform for the direct, sensitive detection of amino acids and amino sugars following anion-exchange chromatography. In: *Anal. Chem.* 71 (1999), S. 2774–2781

[49] SATO, K. ; JIN, J. ; TAKEUCHI, T. ; MIWA, T. ; TAKEKOSHI, Y. ; KANNO, S.: Nickeltitanium alloy electrodes for stable amperometric detection of underivatized amino acids in anion-exchange chromatography. In: *Talanta* 5 (2000), S. 1037–1044

[50] CASELLA, I.G. ; GATTA, M.: Determination of electroactive organic acids by anion-exchange chromatography using a copper modified electrode. In: *J. Chromatogr. A* 912 (2001), S. 223–233

[51] CASALLA, I.G. ; GUASCITO, M.R. ; CATALDI, T.R.I.: Electrocatalysis and amperometric detection of alditols and sugars at a gold–nickel composite electrode in anion-exchange chromatography. In: *Anal. Chim. Acta* 198 (1999), S. 153–160

[52] CATALDI, T.R.I. ; CENTONZE, D. ; CASALLA, I.G. ; DESIMONI, E.: Anion-exchange chromatography with electrochemical detection of alditols and sugars at a Cu_2O–Carbon composite electrode. In: *J. Chromatogr. A* 773 (1997), S. 115–121

[53] SCHÜTZE, S.: *Stationäre Phasen für die Anionenchromatographie - Neue Strategien zur Synthese und Modifizierung makroporöser Methacrylat-Copolymere*, Universität Marburg, Diss., 2004

[54] NOWAK, M.: *Stationäre Phasen für die Anionenchromatographie - Neue Strategien zur Herstellung und Charakterisierung*, Universität Hannover, Diss., 1999

[55] PEPPER, K.W. ; PAISLEY, H.M. ; YOUNG, M.A.: Properties of lon-exchange Resins in Relation to Their Structure. Part VI. Anion-exchange Resins derived from Styrene-Divinylbenzene Copolymers. In: *J. Chem. Soc.* 38 (1953), S. 4097

[56] FRITZ, J.S. ; GJERDE, D.T. ; POHLANDT, C.: *Ion Chromatography*. Dr. Alfred Hüthig Verlag - Heidelberg, 1982

[57] HOLLAND, S.: *Untersuchungen zur Herstellung von agglomerierten Anionenaustauschern auf Styrol- und Methacrylat-Basis*, Universität Marburg, Diss., 2005

[58] DÖSCHER, F. ; KLEIN, J. ; POHL, F. ; WIDDECKE, H.: Modifizierte Ionenaustauscherharze - Synthese und Eigenschaften 1 - Sulfomethylierte Styrol-Divinylbenzol-Harze. In: *Makromol. Chem.* 183 (1982), S. 93–102

[59] DÖSCHER, F. ; KLEIN, J. ; POHL, F. ; WIDDECKE, H.: Modifizierte Ionenaustauscherharze - Synthese und Eigenschaften 2 - Synthese sulfoethylierter und sulfopropylierter Styrol-Divinylbenzol-Harze. In: *Makromol. Chem.* 184 (1983), S. 1585–1596

[60] CORRADINI, C. ; CORRADINI, D. ; HUBER, C.G. ; BONN, G.K.: Synthesis of a polymeric-based stationary phase for carbohydrates separation by high-pH anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection. In: *J. Chromatogr. A* 685 (1994), S. 213–220

[61] RASKOP, M.: *Neue stationäre Phasen zum Einsatz in der Ionenchromatographie*, Universität Marburg, Diss., 2005

[62] KLINGENBERG, A. ; SEUBERT, A.: Sulfoacylated polystyrene-divinylbenzene copolymers as resins for cation chromatography - Influence of capacity on resin selectivity. In: *J. Chromatogr. A* 804 (1998), S. 63–68

[63] SLINGSBY, R.W. *Anion exchange resins including ion exchange groups with at least two nitrogen groups, and methods of making and using same.* U.S. Patent 6,248,798. 2001

[64] SLINGSBY, R.W. *Anion exchange resins with at least two diffrent nitrogen containing ion-exchange groups.* PCT Patent WO 97/31864. 1997

[65] MASUDA, T. ; NISHIMURA, Y. ; TONEGAWA, M. ; KITAHARA, K. ; ARAI, S. ; YAMASHITA, J. ; TAKAI, N.: High-performance liquid chromatographic separation of carbohydrates on stationary phases prepared from polystyrene-based resin and tertiary amines / Effect of chemical structure of anion-exchange sorbents. In: *J. Chromatogr. A* 845 (1999), S. 401–408

[66] GRIMM, A.: *Untersuchungen zur Trennung von Zuckern mittels Ionenchromatographie und elektrochemischer Detektion*, Universität Marburg, Diplomarbeit, 2002

[67] PERRIN, D.D. ; DEMPSEY, B.: *Buffers for pH and Metal Ion Control*. Chapman & Hall, London, New York, 1983

[68] REMBAUM, A. ; BAUMGARTNER, W. ; EISENBERG, A.: Aliphatic Ionenes. In: *Polymer Letters* 6 (1968), S. 159–171

[69] LITTMANN, E.R. ; MARVEL, C.S.: Cyclic quarternary ammonium salts from halogenated aliphatic tertiary amines. In: *J. Am. Chem. Soc.* 52 (1930), S. 287–294

[70] MENSHUTKIN, N.: In: *Z. Phys. Chem. Stoechiom. Verwandtschaftsl.* 6 (1890), S. 41–57

[71] NIEVES, V.E. R. ; RIBALDO, E.J. ; BAROUD, R. ; QUINA, F.H.: Acceleration of the rate of alkaline ester hydrolysis by linear amphiphilic ionenes. In: *J. Polym. Sci. Lett. Ed.* 20 (1982), S. 433–437

[72] SUZUKI, Y. ; QUINA, F.H. ; BERTHOD, A. ; WILLIAMS, R.W. ; CULHA, M. ; MOHAMMADZAI, I.U. ; HINZE, W.L.: Covalently Bound Ionene Polyelectrolyte-Silica Gel Stationary Phase for HPLC. In: *Anal. Chem.* 73 (2001), S. 1754–1765

[73] HADEK, V. ; NAGUCHI, H. ; REMBAUM, A.: Electrical Properties of 7,7',8,8'-Tetracyanoquinodimethane Salts of Ionene Polymers and Their Model Compounds. In: *Macromolecules* 4 (1971), S. 494–499

[74] ROSS, S.D. ; BARRY, J.E. ; PETERSEN, R.C.: Nucleophilic Displacement Reactions in Aromatic Systems. VI. Solvent Effects in the Reaction of 2,4-Dinitrochlorobenzene with Allylamine. In: *J Am. Chem Soc.* 83 (1961), S. 2133–2136

[75] BROWN, H.C. ; ELDRED, N. R.: Studies in Stereochemistry. XIV. Reaction of Triethylamine and Quinuclidine with Alkyl Halides; Steric Effects in Displacement Reactions. In: *J. Am. Chem. Soc.* 71 (1949), S. 445–450

[76] LAIDLER, K.J. ; HINSHELWOOD, C.N.: The activation energy of organic reactions. Part II. The formation of quaternary ammonium salts. In: *J. Chem. Soc.* 1 (1938), S. 858–862

[77] DAVIS, R.E.: Legate Ions. The Use of the Oxibase Scale to Predict Leaving Group Orders from Carbon in SN2 Reactions. In: *J. Am. Chem. Soc.* 87 (1965), S. 3010–3011

[78] CASSON, D. ; REMBAUM, A.: Solution Properties of Novel Polyelectrolytes. In: *Macromolecules* 5 (1972), S. 75–81

[79] REMBAUM, A. ; NAGUCHI, H.: Reactions of N,N,N',N'-Tetramethyl-α,ω-diaminoalkanes with α,ω-Dihaloalkanes. II. x-y Reactions. In: *Macromolecules* 5 (1972), S. 261–269

[80] SCHIPPER, E.T.W.M. ; VAN HEST, J.C.M. ; PIET, P. ; GERMAN, A.L.: Preparation and co-catalytic properties of amphiphilic diblock copolymers consisting of polystyrene and ionene. In: *Makromol. Chem.* 193 (1992), S. 2807–2820

[81] KRÄUTER, I.: *Synthese, Strukturnachweis und Abbildung wasserlöslicher, fluoreszenzmarkierter Polyrotaxane*, Universität Karlsruhe, Diss., 1999

[82] WANG, J. ; MEYER, W.H. ; WEGNER, G.: On the polymerisation of N,N,N',N'-tetramethyl-α, ω-alkanediamines with dibromoalkanes - an in-situ NMR study. In: *Macromol. Chem. Phys.* 195 (1994), S. 1777–1795

[83] PIROGOV, A.V. ; KROHKIN, O.V. ; PLATONOV, M.M. ; DERYUGINA, Ya.I. ; SHPIGUN, O.A.: Ion-chromatographic selectivity of polyelectrolyte sorbents based on some aliphatic and aromatic ionenes. In: *J. Chromatogr. A* 884 (2000), S. 31–39

[84] BECKER, H.G.O.: *Organikum*. 20. Auflage. Johann Ambrosius Barth Verlag, Hülthig GmbH, Heidelberg - Leipzig, 1996

[85] SOLDI, V. ; DE MAGALHÃES ERISMANN, N. ; QUINA, F.H.: Micelle-Mimetic Ionene Polyelectrolytes. In: *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988), S. 5137–5143

[86] HAHN, M.: Jahresbericht 2002 / Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung. 2002. – Forschungsbericht

[87] LINZE, W.L. ; MORENO, B. ; QUINA, F.H. ; SUZUKI, Y. ; WANG, H.: Analytical Applications and Implications of Intramolecular Micelle-Mimetic Ionene Aggretates. In: *Anal. Chem.* 66 (1994), S. 3449–3457

[88] KUNITAKE, T. ; NAKASHIMA, N. ; TAKARABE, K. ; NAGAI, M. ; TSUGE, A. ; YANAGI, H.: Vesicles of polymeric bilayer and monolayer membranes. In: *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981), S. 5945–5947

[89] KÜHN, A. ; FÖRSTER, S. ; LÖSCH, R. ; ROMMELFANGER, M. ; ROSENAUER, C. ; SCHMIDT, M.: Size-exclusion chromatography of cationic and anionic polyelectrolytes in aqueous media. In: *Makromol. Chem. Rapid. Commun.* 14 (1993), S. 433–438

[90] GUISE, G.B. ; SMITH, G.: Gel permeations chromatography of polyamide-epichlorhydrin resins and some other cationic polymers. In: *J. of Chrom.* 235 (1982), S. 365–376

[91] DUBIN, P.L. ; LEVY, I.J.: Gel permeation chromatography of cationic polymers on PW gel columns. In: *J. of Chrom.* 235 (1982), S. 377–387

[92] YAMAZAKI, S. ; MUROGA, Y. ; NODA, I.: Persistance Lengths of Ionenes in Methanol. In: *Langmuir* 15 (1999), S. 4147–4149

[93] DOLAN, A.R. ; MAZIARZ, E.P: The analysis of conducting polymers by electrospray Fourier transform mass spectrometry. Part I: ionene polymers. In: *Eur. J. Mass. Spectrom.* 6 (2000), S. 241–249

[94] BEYER, P. ; NORDMEIER, E.: Ultracentrifugation, viscometry, pH and dynamic light scattering studies of the complexation of ionene with poly(acrylic aid) and poly(methacrylic acid). In: *Eur. Polym. J.* 35 (1999), S. 1351–1365

[95] REISINGER, T. ; MEYER, W.H. ; WEGNER, G. ; HAASE, T. ; SCHULTES, K. ; WOLF, B.A.: Influence of chain length on the molecular dynamics of an aliphatic ionene. In: *Acta Polym.* 49 (1998), S. 710–714

[96] SCHULTES, K. ; WOLF, B.A.: Continuous fractionation of poly[(dimethylamino)decamethylene bromide] and molecular weight dependence of glass transition. In: *Macromol. Chem. Phys.* 196 (1995), S. 1005–1016

[97] SCHULTES, K. ; WOLF, B.A. ; MEYER, W.H. ; WEGNER, G.: Continuous fractionation of an ionene containing cycloaliphatic moieties and the dependence of the glass transition temperature on molar mass. In: *Acta Polymer* 46 (1995), S. 367–372

[98] ZELIKIN, A.N. ; AKRITSKAYA, N.I. ; IZUMRUDOV, V.A.: Modified Aliphatic Ionenes. Influence of Charge Density and Length of the Chains on Complex Formation with Poly(methacrylic acid). In: *Macromol. Chem. Phys.* 202 (2001), S. 3018–3026

[99] KONSTANTIN, P. ; RINCK, M. *Verfahren zur Immobilisierung von Linearpolymeren auf einem chemisch reaktionsträgen Trägermaterial*. Europäische Patentanmeldung EP 0 596 454 A1. 1994

[100] PIROGOV, A.V. ; BUCHBERGER, W.: Ionene-coated sulfonated silica as a packing material in the packed-capillary mode of electrochromatography. In: *J. Chromatogr. A* 916 (2001), S. 51–59

[101] KROKHIN, O.V. ; SMOLENKOV, A.D. ; SVINTSOVA, N.V. ; OBREZKOV, O.N. ; SHPIGUN, O.A.: Modified silica as a stationary phase for ion chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 706 (1995), S. 93–98

[102] PIROGOV, A.V. ; PLATONOV, M.M. ; SHPIGUN, O.A.: Polyelectrolyte sorbents based on aliphatic ionenes for ion chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 850 (1999), S. 53–63

[103] KROKHIN, O.V. ; PIROGOV, A.V. ; SHPIGUN, O.A.: New High-Performance Techniques for Ion-Exchange Separation. In: *Anal. Chem.* 57 (2002), S. 920–927

[104] WEISS, J. ; JENSEN, D.: Modern stationary phases for ion chromatography. In: *Anal. Bioanal. Chem.* 357 (2003), S. 81–98

[105] PAULL, P. ; NESTERENKO, P.N.: Novel ion chromatographic stationary phases for the analysis of complex matrices. In: *Analyst* 130 (2005), S. 134–146

[106] DIONEX. *CarboPac(tm) PA-100*. Produktinformation LPN 034465-02 3M. 1998

[107] DIONEX. *CarboPac(tm) PA-1, CarboPac(tm) PA-10, AminoTrap(tm), and BorateTrap(tm) Columns*. Produktinformation LPN 1168 3.5M. 1999

[108] DIONEX. *CarboPac(tm) MA-1*. Produktinformation LPN 034796-01 3M. 1998

[109] KÜSTER, F.W. ; THIEL, A.: *Rechentafeln für die chemische Analytik*. 103., bearb. Aufl. Walter de Gruyter Berlin New York, 1985

[110] KERHERVÉ, P. ; CHARRIÈRE, B. ; GADEL, F.: Determiniation of marine monosaccharide by high-pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. In: *J. Chromatogr. A* 718 (1995), S. 283–289

[111] GRIMM, A. ; SEUBERT, A.: Influence of Modifier-Free Hydroxide Eluents on the Separation of Carbohydrates. In: *Microchem. Acta* 146 (2004), S. 97–102

[112] ANDERSEN, R. ; SØRENSEN, A.: Separation and determination of alditols and sugars by high-pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. In: *J. Chromatogr. A* 897 (2000), S. 195–204

[113] SALVADOR, L.D. ; SUGANUMA, T. ; KITAHARA, K. ; TANOUE, H. ; ICHIKI, M.: Monosaccharide composition of sweetpotato fiber and cell wall polysaccharides from sweetpotato, cassava, and potato analyzed by the high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection method. In: *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000), S. 3448–3454

[114] NIEDERHAUSER, T.L. ; J.HALLING ; POLSON, N.A. ; LAMB, J.D.: High-performance anion-exchange chromatographic separations of carbohydrates on a macrocycle-based stationary phase with eluents of relatively low pH and concentration. In: *J. Chromatogr. A* 804 (1998), S. 69–77

[115] CATALDI, T.R.I. ; CENTONZE, D. ; MARGIOTTA, G. ; BUFO, S.A.: Role of barium ions in the anion-exchange chromatographic separation of carbohydrates with pulsed amperometric detection. In: *Anal. Chem.* 70 (1998), S. 3940–3945

[116] EGGLESTON, G.: Improved quantitative ion chromatography of industrial sugars: removal of interfering amino acids. In: *Food Chem.* 65 (1999), S. 483–491

[117] DIONEX. *EG50 Eluent Generator*. Produktinformation LPN 1512-01 8M 4/03. 2003

[118] CATALDI, T.R.I. ; MARGIOTTA, G. ; ZAMBONIN, C.G.: Determination of sugars and alditols in food samples by HPAEC with integrated pulsed amperometric detection using alkaline eluents containing barium or strontium ions. In: *Food Chem.* 62 (1998), S. 109–115

[119] CATALDI, T.R.I. ; CAMPA, C. ; CASALLA, I.G.: Study of sugars acids separation by high performance anion-exchange chromatography - pulsed amperometric detection using alkaline eluents spiked with Ba^{2+}, Sr^{2+}, or Ca^{2+} as acetate or nitrate salts. In: *J. Chromatogr. A* 848 (1999), S. 71–81

[120] CATALDI, T.R.I. ; CAMPA, C. ; ANGELOTTI, M. ; BUFO, S.A.: Isocratic separations of closely-related mono- and disaccharids by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection using dilute alkaline spiked with barium acetat. In: *J. Chromatogr. A* 855 (1999), S. 539–550

[121] CATALDI, T.R.I. ; CENTONZE, D. ; MARGIOTTA, G.: Separation and Pulsed Amperometric Detection of Alditols and Carbohydrates by Anion-Exchange Chromatography Using Alkaline Mobile Phases Modified with Ba(II), Sr(II), and Ca(II) Ions. In: *Anal. Chem.* 69 (1997), S. 4842–4848

[122] ANGYAL, S.J.: Complexes of Metal Cations with Carbohydrates in Solution. In: *Adv. Carbohyd. Chem. Biochem.* 47 (1989), S. 1–43

[123] CATALDI, T.R.I. ; CASELLA, I.G. ; CENTONZE, D.: Effect of Ca(II), Sr(II), and Ba(II) on the pulsed amperometric detection of alditols and carbohydrates at a gold electrode in alkaline solutions. In: *Anal. Chem.* 69 (1997), S. 4849–4855

[124] UGELSTADT, J.: Swelling capacity of aqueous dispersions of oligomer and polymer substances and mixtures thereof. In: *J. Makromol. Chem.* 179 (1978), S. 815–817

[125] FÜSSLER, R.: *Ausschluß- und ionenchromatographische Untersuchungen zur Porenstruktur von PS/DVB-Copolymeren als Trägermaterial für die Ionenchromatographie*, Universität Hannover, Diss., 2001

[126] KÖHLER, K.: *Herstellung, Modifizierung und Charakterisierung neuer Packungsmaterialien für die Anionenchromatographie*, Universität Hannover, Diss., 1998

[127] METROHM AG. *Persönliche Mitteilung*

[128] NOWAK, M.: *Herstellung und Einsatz hochquervernetzter Anionenaustauscher für die Spurenanalyse*, Universität Hannover, Diplomarbeit, 1996

[129] BRITTON, D. ; HEATLEY, F. ; LOVELL, P.A.: Chain Transfer to Polymer in Free-Radical Bulk and Emulsion Polymerization of Vinyl Acetate Studied by NMR Spectroscopy. In: *Macromolecules* 31 (1998), S. 2828–2833

[130] ROCKLIN, R.D. ; POHL, C.A.: Determination of carbohydrates by anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection. In: *J. Liq. Chromatogr.* 6 (1983), S. 1577–1590

[131] KLINGENBERG, A.: *Modifizierung und Charakterisierung von Packungsmaterialien für die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie*, Universität Hannover, Diplomarbeit, 1991

[132] RASKOP, M.: *Synthesen und Untersuchungen von Latexpartikeln für den Einsatz als stationäre Phase in der Ionenchromatographie*, Universität Marburg, Diplomarbeit, 2002

[133] ZHENG, X. ; CAO, W.: Interaction of main-chain polycation with sodium dodecyl sulfate. In: *Polym. Int.* 90 (2001), S. 484–486

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Andreas Grimm
Anschrift:	Universitätsstr. 49, D-35037 Marburg
Geburtstag:	12.12.1975

Schulausbildung

08.1982–07.1986	Grundschule am Lindenberg	Kassel
08.1986–07.1992	Gesamtschule Joseff v. Eichendorff	Kassel
08.1992–07.1995	Herderschule, Abitur	Kassel

Berufsausbildung

07.1995–08.1997	Ausbildung zum Chemisch-Technischen Assistenten	
	Elisabeth-Knipping Schule	Kassel

Studium

10.1997–08.2002	Diplomstudiengang Chemie	
	Philipps-Universität Marburg	Marburg
01.2002–08.2002	Diplomarbeit	
	Philipps-Universität Marburg	Marburg
	Arbeitsgruppe Prof. Dr. Andreas Seubert	
	Untersuchungen zur Trennung von Zuckern mittels	
	Ionenchromatgraphie und elektrochemischer Detektion	

Berufspraxis

10.2002–05.2006	Wissenschaftlicher Mitarbeiter	
	Philipps-Universität Marburg , Fachbereich Chemie	Marburg

Promotion

10.2002–05.2006	Dissertation	
	Philipps-Universität Marburg	Marburg
	Arbeitsgruppe Prof. Dr. Andreas Seubert	
	Entwicklung stationärer Phasen für die	
	Ionenchromatographie zur Trennung von Kohlenhydraten	

Marburg, 23.03.2006

Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation

Entwicklung stationärer Phasen für die Ionenchromatographie zur Trennung von Kohlenhydraten

selbstständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

_____ _____

Ort, Datum Unterschrift (Vor- und Zuname)